



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**  
POSGRADO EN CIENCIA E INGENIERÍA DE LOS MATERIALES  
INSTITUTO DE INVESTIGACIONES EN MATERIALES

MODIFICACIÓN DE MATRICES ORGÁNICAS ADSORBIENDO AMINOÁCIDOS SOBRE  
SU SUPERFICIE

TESIS  
QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:  
MAESTRA EN CIENCIA E INGENIERÍA DE LOS MATERIALES

PRESENTA:  
I. Q. MARIANA LIZETH DÍAZ RAMÍREZ

TUTOR  
DR. ENRIQUE JAIME LIMA MUÑOZ  
INSTITUTO DE INVESTIGACIONES EN MATERIALES

COMITÉ TUTOR  
DR. HERIBERTO PFEIFFER PEREA  
INSTITUTO DE INVESTIGACIONES EN MATERIALES  
DR. JORGE LUIS FLORES MORENO  
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA  
POSGRADO EN CIENCIAS E INGENIERÍA DE MATERIALES

México, D.F.

Junio 2014



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

## Agradecimientos

Investigación realizada gracias al Programa UNAM-DGAPA-PAPIIT con el proyecto no. IN-101214 y al financiamiento otorgado por CONACyT con el número de proyecto 128299.

A CONACyT por la beca otorgada con el número de becario 270279:

A los técnicos del IIM Adriana Tejeda (DRX) y Omar Novelo (SEM).

A Marco Vera (RMN) de la Universidad Autónoma Metropolitana, unidad Iztapalapa.

A los miembros del jurado por sus valiosos comentarios.

Al Dr. Enrique Jaime Lima Muñoz por su tutoría en el presente proyecto de investigación.

### **Miembros del jurado**

---

Dr. Raúl Escamilla Guerrero	Instituto de Investigaciones en Materiales
Dr. Enrique Jaime Lima Muñoz	Instituto de Investigaciones en Materiales
Dra. Gabriela Alicia Díaz Guerrero	Instituto de Física
Dra. Tatiana Eugenievna Klimova Berestneva	Facultad de Química
Dra. Julia Aguilar Pliego	Universidad Autónoma Metropolitana

---

# Contenido

1.	Introducción.....	4
2.	Antecedentes .....	5
2.1.	Celulosa.....	5
2.1.1.	Celulosa cristalina.....	9
2.2.	Aminoácidos.....	11
2.2.1.	Alanina.....	12
2.2.2.	Fenilalanina .....	13
2.2.3.	Prolina .....	13
2.3.	Conversión catalítica de la celulosa.....	15
2.3.1.	Conversión de celulosa a moléculas plataforma .....	16
2.3.2.	Conversión de celulosa a biocombustibles.....	18
2.3.3.	Conversión de celulosa a químicos finos .....	19
2.3.4.	Conversión de celulosa a azúcares .....	20
2.4.	Modificación de la celulosa.....	24
3.	Objetivos .....	27
3.1.	Objetivo general .....	27
3.2.	Objetivos específicos .....	27
4.	Metodología .....	28
4.1.	Síntesis de materiales.....	28
4.1.1.	Síntesis de celulosa microcristalina modificada con aminoácidos .....	28
4.1.2.	Síntesis de celobiosa modificada con aminoácidos.....	29
4.2.	Caracterización de materiales .....	30
4.2.1.	Difracción de rayos X .....	31
4.2.2.	Espectroscopia de infrarrojo.....	31
4.2.3.	Espectroscopia de resonancia magnética nuclear en estado sólido .....	31
4.2.4.	Técnicas de microscopía .....	32
4.2.5.	Dispersión de rayos X a bajo ángulo (SAXS) .....	32
4.3.	Evaluación catalítica de la celulosa .....	33
5.	Análisis y discusión de resultados.....	34
5.1.	Celulosa microcristalina modificada con aminoácidos .....	34
5.1.1.	Estructura.....	34
5.1.2.	Morfología .....	53
5.1.3.	Textura .....	56

5.2.	Celobiosa microcristalina.....	58
5.2.1.	Estructura.....	58
5.2.2.	Morfología .....	71
5.2.3.	Textura .....	73
5.3.	Degradación catalítica.....	75
5.3.1.	Celulosa .....	75
5.3.2.	Celobiosa.....	78
6.	Conclusiones .....	81
7.	Apéndice.....	83
7.1.	Tarjeta de identificación de la celobiosa .....	83
7.2.	Técnicas de Caracterización .....	84
7.2.1.	Difracción de rayos X .....	84
7.2.2.	Espectroscopia de infrarrojo por Transformada de Fourier.....	87
7.2.3.	Espectroscopia de Resonancia Magnética Nuclear en estado sólido.....	91
7.2.4.	Dispersión de rayos X a ángulos bajos (SAXS).....	96
7.2.5.	Técnicas de Microscopía.....	101
8.	Referencias .....	105

## 1. Introducción

Si bien es cierto que la celulosa es una materia prima renovable altamente disponible, actualmente los productos celulósicos son no renovables.

La celulosa es la fuente más importante de biomasa y es una alternativa potencial para la producción de sustitutos de combustibles fósiles o para la producción sustentable de compuestos químicos. Es por ello que se han realizado esfuerzos para convertir los materiales celulósicos en productos químicos de valor agregado, incluidos los combustibles renovables.

Sin embargo, debido a la gran estabilidad química de la celulosa, conferida por el empaquetamiento compacto de las cadenas de celulosa y por la extensa red de puentes de hidrógeno que protegen los enlaces  $\beta$ -1-4 glicosídicos, la hidrólisis de este polímero requiere condiciones severas de reacción (temperatura y presiones elevadas) utilizando ácidos minerales, un ácido de Lewis o agua en condiciones sub o supercríticas. Por ejemplo, la hidrólisis con ácido sulfúrico concentrado puede llevarse a cabo bajo condiciones de reacción menos agresivas, pero se requieren reactores resistentes a la corrosión y las aguas de desecho son altamente contaminantes. Las condiciones severas provocan la degradación de los azúcares producidos, lo cual baja la selectividad hacia la glucosa y afecta aplicaciones posteriores.

En investigaciones anteriores, se encontró que un pequeño cambio en la polaridad de la superficie de la celulosa provoca una mejora significativa en la conversión de la celulosa a glucosa.

En este trabajo se estudia el efecto que tiene la adsorción de una combinación de aminoácidos sobre la superficie de la celulosa. Se estudia la modificación de la red de puentes de hidrógeno en la estructura de la celulosa debido al cambio en la polaridad de la superficie y la relación que existe con la reactividad de este polímero.

## 2. Antecedentes

### 2.1. Celulosa

Los materiales poliméricos son abundantes y muy diversos. Estos pueden ser naturales o sintéticos y sus propiedades son diversas. Debido a ello son esenciales en la vida cotidiana desde los plásticos sintéticos y otros materiales de trabajo, hasta los polímeros naturales que son fundamentales para la estructura y la función biológica.

Entre los materiales poliméricos naturales más abundantes se encuentran los lignocelulósicos, los cuales consisten en una mezcla de polímeros de hidratos de carbono y un polímero aromático.

Los materiales lignocelulósicos consisten en tres precursores primarios:

- Hemicelulosa (polímeros de azúcares, principalmente pentosas)
- Celulosa (un polímero de glucosa)
- Lignina (un polímero de fenoles)

De ellos, la celulosa es el más abundante alcanzando más del 40% de la composición total de la biomasa, entendiéndose por biomasa toda aquella materia orgánica producida por el crecimiento de microorganismos, plantas o animales [1].

La hemicelulosa comprende cerca del 25%. La lignina es el segundo componente más abundante que no pertenece a los carbohidratos y es alrededor del 20-30%. Otros compuestos naturales como aceites, grasas, proteínas y otras sustancias corresponden a cerca del 5% de la biomasa en la corteza terrestre [2], [3].

A finales del siglo XX incrementó el interés por la biomasa debido a la preocupación por la disponibilidad y el costo del petróleo así como por la contribución de la quema de combustibles fósiles al aumento en la concentración de gases de efecto invernadero (GEI) en la atmósfera. El concepto emergente de "desarrollo sustentable" ha generado un fuerte incentivo para la investigación y el desarrollo de nuevas rutas de conversión de la biomasa para producir energía o compuestos químicos [4].

Los recursos obtenidos a partir de la biomasa podrían disminuir la emisión neta de gases de efecto invernadero en la atmósfera y reducir la dependencia de la economía global en recursos fósiles no renovables.

En el aspecto técnico, las moléculas extraídas de la biomasa ya están funcionalizadas, por lo que la síntesis de compuestos químicos podría requerir menos pasos que a partir de los alcanos y en consecuencia, reducir la cantidad de desechos generados.

Además, los productos finales pueden presentar propiedades únicas comparadas con los derivados de petróleo, por ejemplo, biodegradabilidad, biocompatibilidad y baja toxicidad para el ecosistema o el ser humano. En el aspecto económico, también tienen un valor agregado y su comercialización se facilita debido a su etiqueta de "natural" o "bio" [4], [5].

Para la producción de compuestos químicos, ya sea de una mezcla de material lignocelulósico o bien, a partir de polímeros individuales, la ruta principal involucra la despolimerización de estos materiales para obtener moléculas de glucosa, aunque existen otras alternativas.

Se ha investigado a profundidad sobre la conversión de almidón a otros compuestos, sin embargo, este es un material comestible y por ello su uso ha sido fuertemente criticado [6].

Los materiales lignocelulósicos son abundantes y están fuera de la cadena alimenticia humana por lo que son una materia prima altamente disponible y relativamente barata. Además, están disponibles como aguas de desecho urbano o industrial, en especial en aquéllos de la industria papelera y agricultora. [7].

La valoración de la hemicelulosa y la celulosa, podría resultar en una gran diversidad de precursores químicos como sus azúcares constituyentes y sus derivados (ácido levulínico, 5-hidroximetilfurfural (5-HMF), 2-furanmetanol, **etilenglicol**,  $\gamma$ -valerolactona y polioles), mientras que la lignina podría ser una fuente renovable de compuestos aromáticos [7].

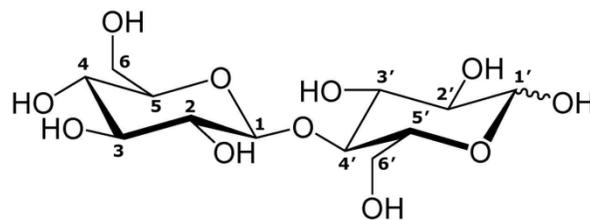
La celulosa es el principal componente de la biomasa lignocelulósica y ha atraído mucho interés en la investigación. Su conversión en medio acuoso en otros compuestos químicos de interés industrial o en combustibles es la principal línea de

investigación. Sin embargo, sus características estructurales provocan que sea complicado transformarla [7], [8].

La celulosa es el polímero orgánico más común. La pulpa de la madera es la fuente más importante para la obtención de celulosa, la cual, la mayoría se utiliza para la producción de papel y cartón [9].

Como materia prima se utiliza con dos propósitos generales: como material de construcción, usualmente en la forma de madera pura pero también en la forma de fibras textiles naturales como algodón y lino, o bien como papel y cartón. Por otro lado, es un material muy versátil para conversiones químicas y producir hilos, películas y derivados solubles estables [10].

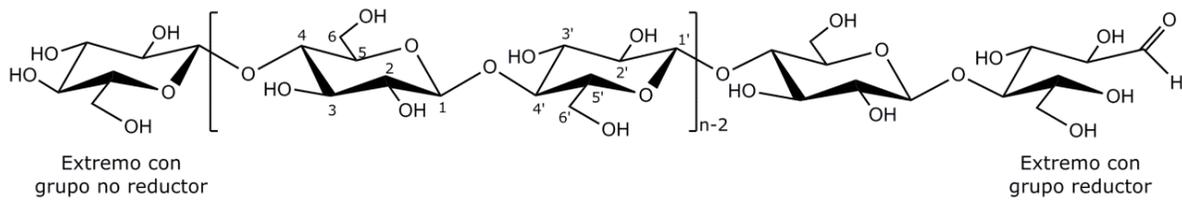
La celobiosa, Figura 2.1, puede considerarse la unidad estructural básica y repetitiva de la celulosa. Ésta está formada por dos moléculas de glucosa unidas **entre sí por el C1 y el C4'** mediante un átomo de oxígeno formando un enlace glucosídico.



**Figura 2.1 Estructura de la celobiosa**

Este dímero tiene una unión acetal (C1) y otra hemiacetal (C1'). Además, contiene ocho grupos hidroxilo ( $\text{—OH}$ ) los cuales dan lugar a fuertes enlaces de hidrógeno inter e intra-moleculares.

La celulosa, Figura 2.2, es un polímero lineal compuesto por unidades de celobiosa. La cadena de celulosa tiene una dirección debido a que los grupos terminales en cada lado de la cadena son diferentes: un extremo no reductor con estructura de anillo cerrado y un extremo reductor con estructura alifática y un grupo carbonilo en equilibrio con hemiacetales cíclicos [11].



**Figura 2.2 Estructura de la celulosa.**

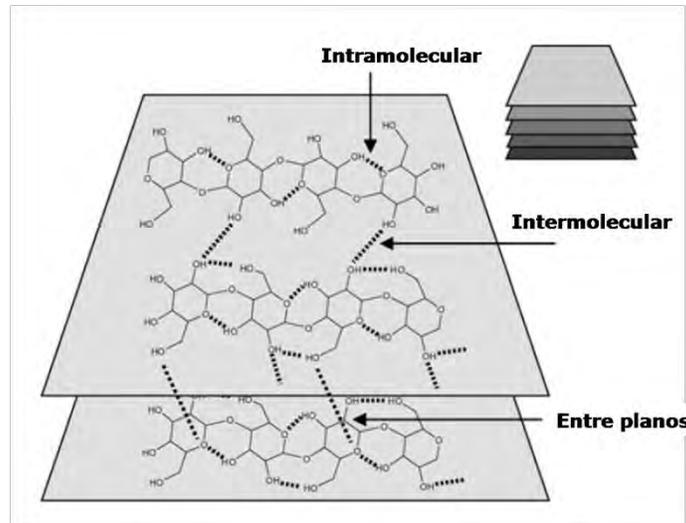
La estructura de la celulosa presenta puentes de hidrógeno intra e intermoleculares. La presencia de enlaces intramoleculares es de gran relevancia para la conformación de una cadena sencilla ya que éstos son los responsables de la rigidez de la cadena.

Todas las fases cristalinas de la celulosa presentan un puente de hidrógeno con el O3-H—O5 aunque en la estructura detallada de la red estos enlaces intermoleculares difieren de un tipo de celulosa a otro [10], [12].

Existe una cohesión entre cadenas que resulta favorecida por la gran regularidad espacial de los sitios formadores de puentes de hidrógeno y por la participación de los tres grupos hidroxilo en la formación de la red de puentes de hidrógeno. [10].

Los puentes de hidrógeno intermoleculares o las fuerzas de Van der Waals empaquetan eficientemente la estructura de la celulosa provocando que la mayoría de las funcionalidades químicas de la celulosa no están accesibles a los solventes, reactivos y enzimas [2].

Los grupos hidroxilo e hidroximetilo en una cadena de celulosa sobresalen del eje de la cadena debido a su configuración ecuatorial. Esto provoca que se formen puentes de hidrógeno con cadenas de celulosa cercanas y estas interacciones son la base para la formación de planos de cadenas de celulosa, las cuales al apilarse forman microfibras. El patrón de puentes de hidrógeno determina la cohesión interna del cristal de celulosa, por lo tanto determina su accesibilidad a los catalizadores y en consecuencia, su reactividad [7]. En la Figura 2.3 se muestran los diferentes tipos de puentes de hidrógeno presentes en la celulosa.



**Figura 2.3 Esquema de las diferentes formaciones de puentes de hidrógeno en la celulosa**

### **2.1.1. Celulosa cristalina**

Debido a su constitución química y a la distribución espacial de las moléculas, la celulosa tiende a agruparse de manera muy ordenada. No obstante, el orden no es uniforme a lo largo de toda la estructura y por lo tanto, también existen regiones de bajo orden.

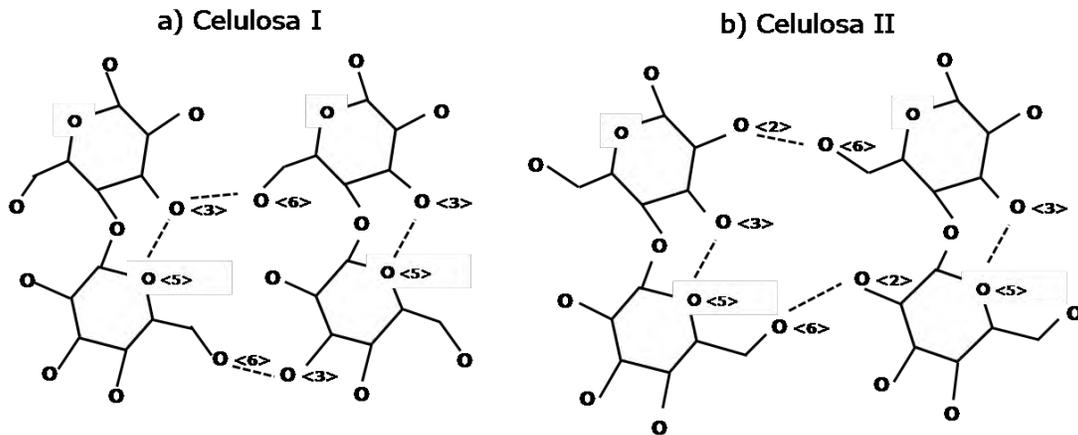
La celulosa cristalina existe en cuatro diferentes polimorfos llamados: celulosa I, II, III y IV [10]. Asimismo se encuentra abundantemente en forma amorfa, usualmente incorporada con celulosa I [11].

La celulosa I es la forma que se encuentra naturalmente y existe en dos alomorfos,  $I_\alpha$  y  $I_\beta$ , los cuales pueden encontrarse mezclados.

La celda unitaria de la celulosa  $I_\alpha$  es triclinica y la de la celulosa  $I_\beta$  es monoclinica. La diferencia principal entre ellas es el desplazamiento relativo de las hojas de celulosa en la dirección del eje de la cadena de celulosa. La relación  $I_\alpha/I_\beta$  depende del origen de la celulosa [9].

La celulosa II es la forma resultante de una recristalización o mercerización con una solución de hidróxido de sodio y tiene estructura monoclinica. Termodinámicamente es la forma cristalina más estable y es la más importante desde los puntos de vista técnico y comercial.

La diferencia principal entre la celulosa I y la II es la red de puentes de hidrógeno, como se muestra en la Figura 2.4.



**Figura 2.4. La diferencia principal entre a) celulosa I y b) celulosa II. No se indican los átomos de hidrógeno. El principal puente de hidrógeno intramolecular se encuentra en O3-H-O5 para ambos polimorfos. En la celulosa I existe un puente de hidrógeno intermolecular en O6-H-O3, mientras que la celulosa II lo tiene en la posición O6-H-O2.**

Las celulosas III<sub>I</sub> y III<sub>II</sub> se obtienen a partir de un tratamiento con amoníaco líquido de celulosa I y celulosa II respectivamente y la celulosa IV es el resultado de un tratamiento térmico de la celulosa III [11].

La celulosa microcristalina es celulosa parcialmente purificada y despolimerizada. Se presenta como un polvo blanco fino y sin olor, es insoluble en agua, en ácidos diluidos, en la mayoría de los solventes orgánicos y en soluciones diluidas de hidróxido de sodio.

Como ya se mencionó, la celulosa en su estado nativo tiene regiones amorfas y cristalinas, y las regiones amorfas son atacadas primero por los solventes y los reactivos químicos. La producción de celulosa microcristalina se lleva a cabo por medio de la hidrólisis de pulpa de madera purificada utilizando ácido clorhídrico para reducir el grado de polimerización. Este tratamiento deja solamente las pequeñas regiones cristalinas resistentes al ataque ácido. Puede presentarse como celulosa microcristalina en polvo (con tamaños de partícula entre 20-90  $\mu\text{m}$ ) o bien como celulosa microcristalina coloidal, la cual puede dispersarse en agua y tiene propiedades similares a las gomas solubles en agua [13].

## 2.2. Aminoácidos

Los aminoácidos son compuestos orgánicos que contienen los grupos funcionales amino ( $-\text{NH}_2$ ) y ácido carboxílico ( $-\text{COOH}$ ), además de una cadena lateral ( $-\text{R}$ ) específica para cada aminoácido que varía en estructura, tamaño y carga eléctrica. Estos parámetros influyen en la solubilidad de los aminoácidos. El carbono  $\alpha$  es un centro quiral.

Los aminoácidos se clasifican en cinco tipos según la polaridad y la carga de la cadena lateral a pH neutro. Éstos son:

- Grupos R alifáticos, no polares
- Grupos R aromáticos
- Grupos R neutros, polares
- Grupos R cargados positivamente
- Grupos R cargados negativamente

El carbono  $\alpha$  tiene un arreglo tetraédrico de los orbitales de enlace alrededor de él, en consecuencia, los cuatro diferentes grupos pueden ocupar solamente dos arreglos espaciales. Es por eso que los aminoácidos tienen dos posibles estereoisómeros, que al ser imágenes de espejo que no pueden superponerse, son enantiómeros.

Los aminoácidos tienen puntos de fusión superiores a 473 K, tienen momentos dipolares grandes, son menos ácidos que la mayoría de los ácidos carboxílicos y menos básicos que la mayoría de las aminas.

Al contener un grupo carboxilo ácido y un grupo amino básico en la misma molécula, se da una reacción interna ácido-base para dar como resultado un ión dipolar, llamado también zwitterion.

A pH mayor que el  $\text{pK}_a$  del grupo ácido carboxílico el ión negativo carboxilato predomina, mientras que para valores de pH menores que el  $\text{pK}_a$  del grupo amonio, el nitrógeno está predominantemente protonado como un grupo amonio alfa. Para valores de pH intermedios, la forma predominante de los aminoácidos contiene un anión carboxilato y un grupo amonio alfa positivo, dando como resultado una carga neta de cero.

Para cada aminoácido existe un pH característico en el que la molécula se encuentra completamente ionizada pero sin carga eléctrica neta y se denomina punto isoeléctrico (pI).

A causa de las cargas iónicas resultantes, un aminoácido tiene muchas propiedades de una sal. Además el  $pK_a$  de un aminoácido no es el  $pK_a$  del grupo carboxilo  $-CO_2H$  sino el del grupo  $-NH_3^+$ . Y el  $pK_b$  es el del grupo básico  $-CO_2^-$  y no el del grupo amino básico.

Si un aminoácido con cadena lateral no ionizable se disuelve en agua a pH neutro, entonces existe como ion dipolar y puede actuar como ácido o base y por lo tanto es un anfótero [14], [15].

### 2.2.1. Alanina

La alanina, Tabla 2.1, es el aminoácido más sencillo después de la glicina. Su cadena lateral es alifática: el carbono  $\alpha$  está unido a un grupo metilo y es un aminoácido no polar.

La L-alanina es el aminoácido quiral natural más pequeño. Este es un aminoácido no esencial, es decir, que puede sintetizarse por el cuerpo a partir de otros productos. En fuentes de origen animal se encuentra en la carne roja, los mariscos, productos lácteos, huevos y gelatina, mientras que en las de origen vegetal se encuentra en la soja, las leguminosas y los granos enteros.

La D-alanina se produce en las paredes celulares de ciertas bacterias y en algunos antibióticos peptídicos.

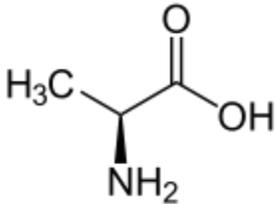
Alanina			
Estructura	$pK_1$	$pK_2$	pI
	2.34	9.69	6.01

Tabla 2.1 Estructura y algunas propiedades de la alanina

### 2.2.2. Fenilalanina

La fenilalanina, Tabla 2.2, es un aminoácido no polar con una cadena lateral aromática.

Es un derivado de la alanina con un grupo fenilo sustituyente en el carbono  $\beta$ . Es un aminoácido hidrofóbico y casi siempre se encuentra encerrado dentro de una proteína. Los electrones  $\pi$  del anillo pueden apilarse con otros sistemas aromáticos y usualmente lo hacen con proteínas plegadas, añadiendo estabilidad a la estructura.

Es un aminoácido esencial. El cuerpo humano transforma este aminoácido en tirosina que es un precursor de hormonas importantes como la epinefrina. De manera natural se encuentra en los huevos blancos, la soya, las nueces y semillas, la carne de res, pollo y puerco y en lácteos.

La fenilalanina puede utilizarse en el tratamiento de dolores crónicos, depresión, esclerosis múltiple, osteoartritis y artritis reumatoide.

La D-fenilalanina puede producirse por medio de síntesis orgánica convencional. Esta no participa en la síntesis de proteínas.

La DL-fenilalanina es una mezcla de D y L-fenilalanina vendido como suplemento alimenticio.

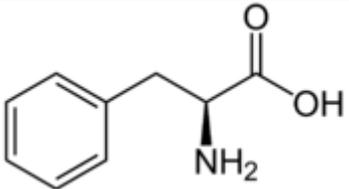
Fenilalanina			
Estructura	pK <sub>1</sub>	pK <sub>2</sub>	pI
	1.83	9.13	5.48

Tabla 2.2 Estructura y algunas propiedades de la fenilalanina

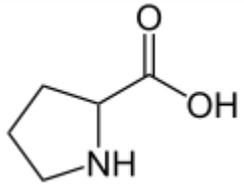
### 2.2.3. Prolina

La prolina, Tabla 2.3, tiene una cadena lateral alifática no polar distintiva, ya que es una estructura cíclica.

Es el único aminoácido natural con un grupo amino  $\alpha$  secundario, lo cual explica el carácter más básico con respecto a otros aminoácidos alfa. Además, en los residuos de prolina este grupo secundario se mantiene en una conformación rígida que reduce la flexibilidad estructural de las regiones de polipéptidos que contienen a este aminoácido.

La prolina es un aminoácido no esencial y, junto con algunos de sus derivados, se utilizan como catalizadores asimétricos en reacciones orgánicas.

La L-prolina es un soluto compatible, es decir, un compuesto orgánico que mantiene el equilibrio osmótico sin interferir con el metabolismo celular y se utiliza en muchas aplicaciones farmacéuticas y biotecnológicas.

<b>Prolina</b>			
<b>Estructura</b>	<b>pK<sub>1</sub></b>	<b>pK<sub>2</sub></b>	<b>pI</b>
	1.99	10.96	6.48

**Tabla 2.3 Estructura y algunas propiedades de la prolina**

### 2.3. Conversión catalítica de la celulosa

La celulosa es un polisacárido ampliamente disponible y es recurso prometedor para la producción de bio-productos (como la glucosa y sus derivados) o de biocombustibles.

Sin embargo, debido a su estructura cristalina y a su densa red de puentes de hidrógeno, es muy resistente a las transformaciones químicas.

La celulosa es insoluble en agua y en la mayoría de los solventes orgánicos. Además, los grupos funcionales y los enlaces glucosídicos están bien protegidos por la estructura secundaria de microfibrillas, lo que resulta en una vida media de hidrólisis de la celulosa no catalizada a 298 K entre 5 y 8 millones de años [7]. Es por ello que las transformaciones químicas de este polímero natural requieran el uso de catalizadores.

Una zona muy ordenada de la cadena polimérica generalmente impide su degradación. En el caso de un procesamiento químico, el cual se lleva a cabo en un medio de reacción heterogéneo, el rendimiento y el grado de conversión finales de las reacciones de celulosa dependen fuertemente de la disponibilidad o accesibilidad de los grupos hidroxilo en las unidades de anhidroglucosa [10].

La accesibilidad de reactivos o centros activos de catalizadores depende fuertemente de la estructura cristalina y de la forma de las microfibras de celulosa. Debido a ello es necesario perturbar la estructura cristalina para aumentar el grado de despolimerización o bien, alterar ligeramente la red de puentes de hidrógeno para aumentar la accesibilidad de los grupos hidroxilo a los catalizadores.

En cuanto a la conversión catalítica de la celulosa, se han estudiado diferentes oportunidades de aprovechar este polímero ya sea obteniendo azúcares, biocombustibles o químicos finos.

### **2.3.1. Conversión de celulosa a moléculas plataforma**

En general, elevar la temperatura de reacción (>423 K) es muy efectivo para aumentar la conversión de celulosa, sin embargo decrece la selectividad debido a la degradación de la glucosa. Para evitarlo, se ha combinado la hidrólisis con otra reacción que convierta la glucosa a un compuesto de valor agregado y que sea más estable térmicamente.

Entre las rutas de conversión más estudiadas de celulosa a moléculas plataforma se encuentran la hidrogenación hidrolítica, la hidrogenólisis hidrolítica y la oxidación hidrolítica, Figura 2.5.

En la primera se lleva a cabo una hidrólisis ácida junto con una reacción de hidrogenación bajo presión de hidrógeno que transforma la celulosa en hexitoles como sorbitol, aunque debido a las condiciones de reacción pueden obtenerse otros productos como manitol o sorbitan. Estos hexitoles son más resistentes a la temperatura que la glucosa, por lo que el proceso se puede llevar a cabo a una temperatura elevada y con una concentración de celulosa más alta permitiendo velocidades de conversión mayores [7], [16].

Casi todos los sistemas catalíticos para estas reacciones muestran componentes similares: a) un ácido diluido o un soporte ácido y b) un catalizador a base de metales de transición, usualmente Pt o Ru, capaz de hidrogenar rápidamente las hexosas.

La reacción de hidrogenación hidrolítica se ha estudiado ampliamente. Se han probado diversos catalizadores entre los que se encuentran Pt/ $\gamma$ -Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> [6], Ru/C [17], [18] y diferentes catalizadores metálicos soportados en carbono o en soportes a base de óxidos (Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, TiO<sub>2</sub>, ZrO<sub>2</sub>) [19]. En este sistema, la presencia de platino incrementa la conversión de celulosa, indicando que el metal está involucrado en más reacciones además de la hidrogenación de la glucosa. Incluso se han evaluado catalizadores a base de níquel sobre nanotubos de carbono. En este caso, las

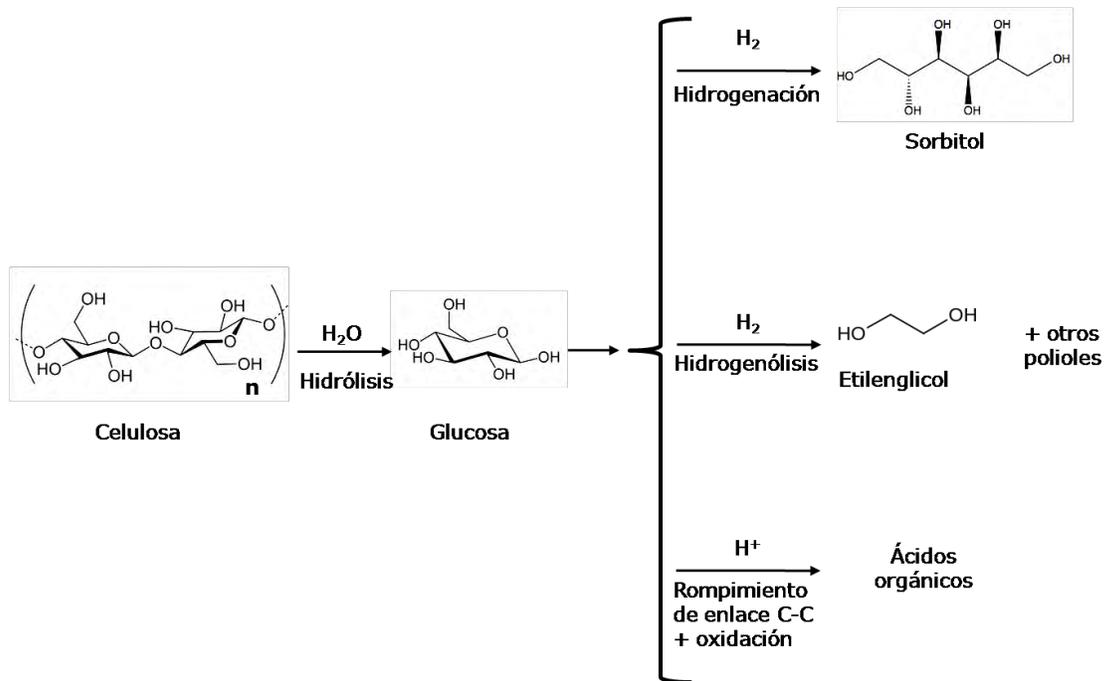
partículas de Ni muestran una gran selectividad hacia la hidrogenación de la glucosa [20].

En esta reacción también se ha estudiado el uso de ácidos solubles. Aunque esto sacrifica la naturaleza heterogénea del proceso, podría ser interesante industrialmente ya que el proceso a alta temperatura permite la conversión completa de celulosa con una concentración muy baja de ácido, disminuyendo las dificultades técnicas del uso de ácidos.

Además de la hidrogenación hidrolítica de la celulosa, se han propuesto otras reacciones para obtener químicos de valor agregado. Por ejemplo, si se utiliza un catalizador de  $W_2C$  y 2% en peso de níquel, se aumenta significativamente la selectividad hacia etilenglicol, un compuesto ampliamente utilizado en la manufactura de fibras de poliésteres y resinas, y en la industria automotriz como anticongelante [7], [21].

Así como la hidrólisis puede acompañarse de una hidrogenación, también puede combinarse con una reacción de oxidación para obtener ácidos orgánicos, algunos de los cuales son compuestos químicos importantes o intermediarios químicos. Un ejemplo es el ácido glucónico que es un intermediario importante en las industrias farmacéutica y alimentaria que usualmente se obtiene a partir de la oxidación enzimática de la glucosa [7], [22].

Se han investigado diversas rutas de oxidación, no obstante durante estos procesos la separación de algunos polímeros que contienen grupos carboxílicos ha resultado muy complicada. Por lo tanto, la transformación catalítica de la celulosa, para obtener selectivamente un producto particular es más atractiva [22].



**Figura 2.5 Posibles reacciones de conversión de la celulosa**

### **2.3.2. Conversión de celulosa a biocombustibles**

Existen muchos procesos en desarrollo para producir diesel a partir de biomasa. Uno de los enfoques consiste en deshidratar pentosas y hexosas en furfural e hidroximetilfurfural (HMF), respectivamente [23], [24].

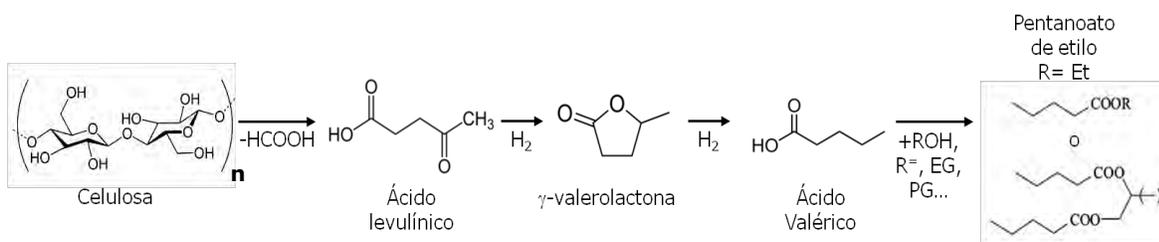
En una de las investigaciones se aprovecha la capacidad de estos aldehídos de someterse a una condensación aldólica, incluyendo una condensación cruzada con acetona, para producir intermediarios oxigenados que finalmente se hidroxigenan para producir alcanos líquidos de entre 8 y 15 carbonos. Los productos obtenidos tienen el peso molecular apropiado para usarse como componentes de combustibles para transporte [23], [25].

Se ha reportado la conversión directa de celulosa a productos furánicos, con rendimientos mayores a 80%, por conversión principalmente a 5-(clorometil) furfural, una molécula hidrofóbica, que se extrae con solventes orgánicos en un medio de reacción bifásico [24]

Los combustibles diesel también **pueden prepararse a partir de  $\gamma$ -valerolactona**, que a su vez se obtiene de carbohidratos derivados de la biomasa, a través de ácido levulínico.

La  $\gamma$ -valerolactona se somete a una descarboxilación a presiones elevadas (36 bar) sobre un catalizador de sílice/alúmina para obtener  $\text{CO}_2$  y butenos los cuales pueden oligomerizarse a alquenos de entre 8 y 16 carbonos.

Alternativamente, puede hidrogenarse a ácido valérico y transformarse a valerato de pentilo, el cual es un componente valioso para el diesel, Figura 2.6, [25], [26] .



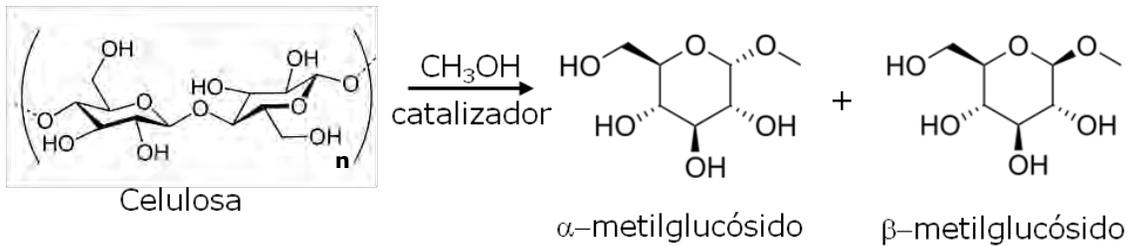
**Figura 2.6 Los combustibles valéricos se producen a partir de la hidrólisis ácida de la celulosa a ácido levulínico, seguido de su hidrogenación a  $\gamma$ -valerolactona, y su hidrogenación a ácido valérico. Finalmente, se lleva a cabo una esterificación. Esquema de reacción [26].**

### 2.3.3. Conversión de celulosa a químicos finos

Los metilglucósidos son intermediarios importantes para la producción de químicos finos. Éstos pueden producirse haciendo reaccionar a celulosa con metanol, sobre catalizadores ácidos a 468 K.

El ácido sulfúrico y algunos heteropoliácidos como  $\text{H}_2\text{SiW}_{12}\text{O}_{40}$  han resultado catalizadores exitosos, obteniéndose rendimientos entre 50-60% de metilglucósidos, con conversión completa de celulosa después de 1 hora de reacción [7].

En cuanto a la catálisis heterogénea, Figura 2.7, se ha reportado el uso de catalizadores a base de carbono sulfonado, obteniendo rendimientos cercanos al 90% de  $\alpha$  y  $\beta$  metilglucósidos con conversión completa de celulosa en tiempos cortos de reacción y temperaturas moderadas [27].



**Figura 2.7 Conversión catalítica de la celulosa a una mezcla de metilglucósidos**

### **2.3.4. Conversión de celulosa a azúcares**

En esta vía, con la ayuda de enzimas o catalizadores, los polisacáridos se degradan por medio de hidrólisis a sus azúcares constituyentes.

En la biocatálisis se utilizan celulasas, una mezcla compleja de enzimas, para degradar la celulosa a azúcares fermentables. El complejo de celulasa es muy específico para el substrato de celulosa y produce glucosa selectivamente bajo condiciones suaves de reacción (pH 4-8, 318-353 K) obteniéndose altos conversiones de celulosa con pocas cantidades de enzima. No existen problemas relacionados con la eliminación de desecho, sin embargo, se requiere un pretratamiento de la materia prima para mejorar la accesibilidad de los enlaces glucosídicos y para eliminar la lignina ya que inhibe la actividad enzimática. La hidrólisis con celulasas es lenta. Existen otras alternativas como las que se describen a continuación.

#### **2.3.4.1. Hidrólisis ácida de la celulosa a glucosa**

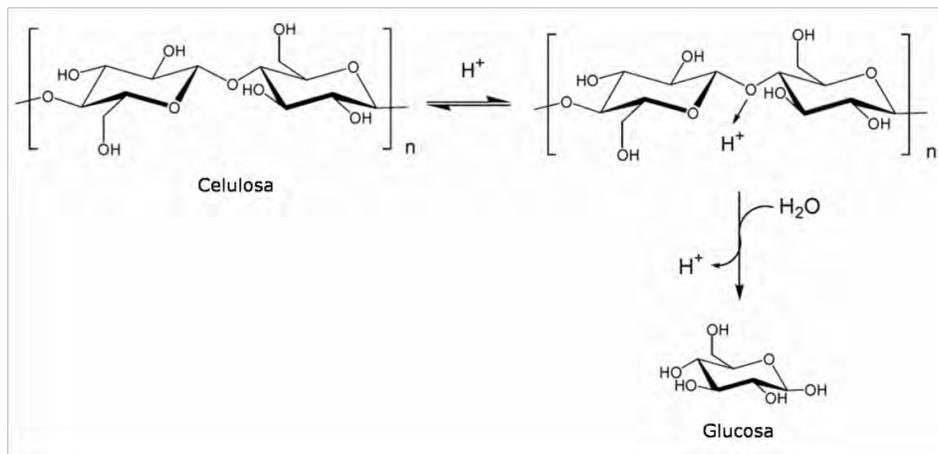
Existen muchas opciones para reducir la dependencia de las reservas fósiles como materia prima. Para la generación de energía se cuenta con alternativas atractivas como las energías eólica, hidráulica y solar. Además, para la producción de combustibles se pueden aprovechar recursos como el hidrógeno y la biomasa.

Sin embargo, para la producción de productos químicos se necesitan recursos que nos den elementos básicos como carbono, hidrógeno y oxígeno en cantidades abundantes. Para ello, la única opción viable es el uso de la biomasa. En este sentido, la hidrólisis de la celulosa a glucosa es un elemento clave para aprovechar la celulosa [6], [28].

Industrialmente, el proceso más importante es la hidrólisis ácida con ácidos minerales, Figura 2.8, ya sea concentrados o bien, diluidos.

Típicamente se utiliza ácido sulfúrico al 1% a altas presiones (>2.0 MPa) y temperaturas mayores a 493 K. Una ventaja de este proceso sobre la hidrólisis enzimática es la alta velocidad de hidrólisis. Sin embargo, bajo estas condiciones la glucosa obtenida se degrada significativamente, reduciendo los rendimientos hasta alrededor de 60%. Además, algunos de los subproductos podrían resultar inhibidores enzimáticos para procesos de fermentación subsecuentes [7], [29].

Los procesos que operan con ácido sulfúrico concentrado (60-90%) alcanzan rendimientos de glucosa de hasta 87% debido a que la celulosa pierde su forma cristalina y permitiendo el uso de condiciones de reacción más suaves (>373 K). La aplicación a gran escala de este proceso es complicada debido a los altos costos del reciclaje del ácido, la corrosión de los reactores y la formación de grandes cantidades de residuos de neutralización [29].



**Figura 2.8 Hidrólisis ácida de la celulosa**

La degradación de este compuesto se ha explorado ampliamente: por la vía enzimática, con ácidos diluidos y, con agua en condiciones supercríticas. Estos procesos presentan desventajas importantes como la separación de los productos y los catalizadores, peligro de corrosión, fluidos de desecho y condiciones de reacción muy controladas [28].

#### 2.3.4.2. *Hidrólisis de celulosa en medio ácido diluido*

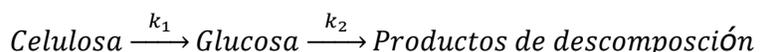
La hidrólisis convencional de la celulosa en medio ácido diluido se ha convertido en un concepto poco popular, si no es que totalmente abandonado. Esto se debe al hecho de que los azúcares se descomponen bajo las condiciones severas que se necesitan para promover la hidrólisis de la celulosa, es decir, alta temperatura y pH bajo [30].

Las reacciones de hidrólisis en medio ácido diluido son muy complejas. Es sustrato está en fase sólida, mientras que el catalizador se encuentra en fase líquida.

El mecanismo de reacción de la hidrólisis incluye: (i) la difusión de los protones a través de la matriz lignocelulósica, (ii) la protonación del oxígeno del enlace entre los monómeros del azúcar; (iii) el rompimiento del enlace del éter; (iv) la generación de un carbocatión como intermediario; (v) la solvatación del carbocatión con agua; (vi) la regeneración del protón con la cogeneración del monómero, oligómero o polímero de azúcar, dependiendo de la posición de enlace del éter; (vii) la difusión de los productos de reacción en la fase líquida si se permite por su forma y tamaño; (viii) el reinicio de la segunda etapa [31].

Aunque la reacción es heterogénea, puede tratarse como si fuera una reacción homogénea si la celulosa se dispersa en partículas finas (alrededor de 0.85 mm).

Bajo estas condiciones, la reacción puede describirse con un modelo de reacción pseudohomogénea de primer orden irreversible de la forma:



En el cual  $k_1$  es la constante de velocidad de generación y  $k_2$  es la constante de velocidad de descomposición. Éstas son función de la temperatura, la concentración de ácido y la energía de activación y dependen fuertemente del origen de las partículas de celulosa [30], [31].

#### 2.3.4.3. *Hidrólisis de celulosa sobre catalizadores ácidos sólidos*

Los procesos catalíticos heterogéneos presentan algunas ventajas sobre los procesos enzimáticos o los homogéneos, tales como la separación fácil del catalizador y de los productos y que no se requiere tanto control de las condiciones

de reacción. Sin embargo, también presentan desventajas como la necesidad de hidrógeno y metales nobles.

En este sentido, los catalizadores sólidos de mayor interés para la hidrólisis ácida de la celulosa son las zeolitas, la zirconia sulfatada soportada sobre sílica mesoporosa, Amberlyst® 15 y carbón activado sulfonado.

Onda et al., experimentaron con zeolitas ácidas, con diferentes estructuras y relaciones de Si/Al, una zirconia sulfatada, una resina de intercambio iónico, y carbón activado sulfonado como catalizadores en la hidrólisis ácida de la celulosa en condiciones hidrotermales.

Entre estos catalizadores, los que presentaron un rendimiento alto de glucosa fueron las zeolitas hidrofóbicas con altas relaciones de Si/Al. Y el carbón activado sulfonado presentó alta actividad y una gran selectividad hacia la glucosa [28].

El uso de catalizadores sólidos conllevaría ventajas como la eliminación de la necesidad de separar el catalizador del producto líquido, los reactores no se corroerían, no sería necesaria la neutralización y tampoco habría desechos de neutralización.

Sin embargo, aún es necesario desarrollar catalizadores que sean estables en agua caliente (entre 373 y 523 K) para evitar la pérdida de sitios activos o de área superficial. Además, es necesario que tengan una gran afinidad por los glucanos. En este sentido se han desarrollado catalizadores con sitios ácidos fuertes como  $-\text{SO}_3\text{H}$  en diferentes soportes como carbón activado, sílice-carbón y carbón mesoporoso CMK-3. Estos estudios han demostrado que la presencia de los sitios ácidos del grupo  $-\text{SO}_3\text{H}$  favorece la formación selectiva de glucosa.

En cuanto a la celulosa, es importante la calidad del contacto entre ésta y el catalizador sólido. Esto puede mejorarse con un pretratamiento para disminuir el tamaño de la partícula o la cristalinidad [6], [7].

#### ***2.3.4.4. Hidrólisis a través de heteropoliácidos***

Los heteropoliácidos se conocen por ser catalizadores activos para reacciones catalizadas tanto homogénea como heterogéneamente.

Éstos presentan ventajas como facilidad de manejo y de remoción, son fácilmente reusables, menos reacciones secundarias, acidez de Brønsted fuerte (cerca de la región superácida), una gran movilidad de protones, estabilidad y actividad catalítica.

Se ha estudiado la capacidad del heteropoliácido dodecatungstofosfórico ( $H_3PW_{12}O_{40}$ ) para catalizar la hidrólisis ácida de la celulosa a glucosa.

Entre los heteropoliácidos, éste se caracteriza por su fuerte acidez de Brønsted (clasificado como superácido) y su alta solubilidad en agua, lo que provoca que sus protones se disocien totalmente, por lo que hay una gran cantidad de protones  $H^+$  en el medio, de modo que están disponibles para interactuar con el átomo de oxígeno que se encuentra en el enlace glucosídico de la celulosa. Además, puede extraerse del medio de reacción por medio de dietiléter para su reutilización.

Este catalizador ha presentado alta eficiencia y una selectividad de 92% hacia la glucosa en condiciones suaves de reacción [32].

#### 2.4. Modificación de la celulosa

La celulosa es un compuesto abundante en la biomasa lignocelulósica y por lo tanto es una fuente renovable de carbono.

En este sentido, las investigaciones recientes se enfocan al desarrollo de nuevos derivados de la celulosa como polímeros con más de un grupo funcional con el fin de obtener nuevas propiedades como cromóforos, grupos redox activos, sustituyentes con propiedades magnéticas u ópticas especiales o bien con actividad biológica [33].

Es deseable que la celulosa se convierta en una materia prima aprovechable no sólo porque es renovable y altamente disponible, sino porque exhibe propiedades interesantes como hidrofobicidad, biocompatibilidad, grupos hidroxilo reactivos y la habilidad de formar superestructuras.

Sin embargo, la celulosa es muy poco reactiva y sólo se degrada a moléculas más pequeñas a través de procesos enzimáticos.

Tanto la cristalinidad como los puentes de hidrógeno tienen una fuerte influencia en el comportamiento químico de la celulosa. Una ruta para mejorar la conversión de

este compuesto es alterar la estructura cristalina para aumentar el grado de despolimerización o bien, alterar ligeramente la red de puentes de hidrógeno [33]. En 2011, Chundawat et al. [34], disminuyeron la cantidad de puentes de hidrógeno dentro de los planos (es decir, puentes intra e intercatenarios) y los aumentaron entre ellos como resultado de transformar celulosa I<sub>β</sub> a celulosa III<sub>I</sub> con amoníaco. En consecuencia, aumentó alrededor de 50% el número de puentes de hidrógeno de las cadenas de celulosa con agua expuestas al solvente y aumentaron las tasas de sacarificación al someter el material a ensayos enzimáticos. La mejora en la actividad de la celulasas se atribuyó a la naturaleza tipo amorfa de la superficie de las fibrillas de la celulosa III<sub>I</sub>.

Si bien es cierto que existen diferencias importantes entre las estructuras de la celulosa y la celobiosa, esta última se usa frecuentemente como un modelo simple de la celulosa. El estudio de las conversiones catalíticas de la celobiosa podría proporcionar herramientas útiles para desarrollar rutas eficientes para la transformación de la celulosa [35].

Recientemente, Tan et al. [7], [35] reportaron la oxidación selectiva acuosa hidrolítica de celobiosa utilizando un catalizador de nanopartículas de oro sobre nanotubos de carbono tratados previamente con ácido nítrico. Después de tres horas de reacción se alcanzó un rendimiento de ácido glucónico de 58% con 91% de conversión de celobiosa, a una temperatura de 418 K y sin control de pH. Para extender este proceso a la conversión de la celulosa, el uso de temperaturas de reacción más altas es inevitable, comprometiendo posiblemente la actividad y la selectividad del catalizador en este medio ligeramente ácido.

En un trabajo previo, se adsorbieron tres distintos aminoácidos en la superficie de celulosa microcristalina, ocasionando cambios en la polaridad y rugosidad de la superficie.

Se entiende como adsorción a un incremento en la concentración de una sustancia disuelta en la interfase de una fase condensada y una fase líquida debido a fuerzas de superficie. La adsorción también puede ocurrir en la interfase de una fase condensada y una gaseosa [36].

El adsorbato es una especie ya sea, gaseosa, líquida o disuelta que se adhiere o en una superficie sólida, llamada adsorbente [37].

La naturaleza exacta de las interacciones entre el adsorbato y el adsorbente depende de las especies involucradas. En general los procesos de adsorción se clasifican en fisisorción (cuya característica es que las interacciones son débiles, de tipo fuerzas de van der Waals) y quimisorción (en la que están involucrados enlaces covalentes).

Estas adsorciones modificaron parcialmente la red de puentes de hidrógeno de la estructura de la celulosa, dando como resultado celulosa más reactiva que se oxidó fácilmente a ácido glucónico en presencia de catalizadores de oro soportado en zeolita [38].

Tomando en cuenta estos resultados, en esta tesis se realizará una modificación parcial de la red de puentes de hidrógeno de la estructura de la celulosa microcristalina por medio de la interacción con una combinación de aminoácidos utilizando el método hidrotermal. Se evaluará la reactividad de la celulosa, tanto microcristalina como modificada con aminoácidos en la reacción de degradación a glucosa.

Se modificará la celobiosa del mismo modo que la celulosa, se evaluará su reactividad y se compararán los resultados obtenidos con los de la celulosa.

### 3. Objetivos

#### 3.1. Objetivo general

Aumentar la reactividad de la celulosa microcristalina alterando parcialmente la red de puentes de hidrógeno mediante la interacción con una combinación de aminoácidos en su superficie.

#### 3.2. Objetivos específicos

- Modificar celulosa microcristalina con tres combinaciones de aminoácidos (alanina-prolina, alanina-fenilalanina, prolina-fenilalanina) utilizando el método hidrotermal
- Modificar celobiosa con tres diferentes aminoácidos por separado (alanina, fenilalanina, prolina) y con tres combinaciones de ellos (alanina-prolina, alanina-fenilalanina, prolina-fenilalanina) utilizando el método hidrotermal
- Caracterizar los materiales modificados con aminoácido desde el punto de vista estructural, morfológico y textural
- Evaluar la reactividad de los materiales sintetizados en la reacción de hidrólisis de la celulosa en presencia de catalizadores ácidos

## 4. Metodología

### 4.1. Síntesis de materiales

En la Tabla 4.1 se presenta una lista de las especificaciones de los reactivos utilizados para la síntesis de los materiales modificados con aminoácidos. Todos los reactivos se obtuvieron de Sigma-Aldrich. No se aplicó ningún método de purificación a ninguno de los reactivos. Se utilizó agua desionizada (18.2 M $\Omega$ .cm) para todas las síntesis.

Reactivo	Fórmula	Pureza
Celulosa microcristalina		Altamente puro
D-(+)-Celobiosa	C <sub>12</sub> H <sub>22</sub> O <sub>11</sub>	≥98%
L-Alanina	C <sub>3</sub> H <sub>7</sub> NO <sub>2</sub>	≥98%
D-Fenilalanina	C <sub>9</sub> H <sub>11</sub> NO <sub>2</sub>	≥98%
L-Prolina	C <sub>5</sub> H <sub>9</sub> NO <sub>2</sub>	≥99%

**Tabla 4.1** Reactivos utilizados para la síntesis de la celulosa microcristalina modificada con aminoácidos

#### **4.1.1. Síntesis de celulosa microcristalina modificada con aminoácidos**

Para la síntesis de los materiales modificados, se pesaron 8 g de celulosa microcristalina y se agregaron 60 mL de agua. Se ajustó el pH a 5 con gotas de HCl 1M. Enseguida se utilizaron tres combinaciones de aminoácidos distintas: alanina-prolina, alanina-fenilalanina y prolina-fenilalanina.

Para cada combinación de aminoácidos, se pesó 1 g de cada uno y se disolvieron en 50 mL de agua. Se ajustó el pH a 5 con gotas de HCl 1M.

La solución de aminoácidos se agregó a la celulosa y se mantuvo a 100 °C con agitación y reflujo durante 5 h. Los materiales obtenidos se dejaron secar a temperatura ambiente y posteriormente se molieron en mortero de ágata. La cantidad de material obtenido y la etiqueta utilizada se reportan en la Tabla 4.2.

<b>Muestra</b>	<b>Etiqueta</b>	<b>Obtenido (g)</b>
Celulosa Alanina-Prolina	MC Ala-Pro	8.88
Celulosa Alanina-Fenilalanina	MC Ala-Phe	8.85
Celulosa Prolina-Fenilalanina	MC Pro-Phe	8.76

**Tabla 4.2**

#### ***4.1.1.1. Lavado ácido de celulosa microcristalina modificada con aminoácidos***

De cada uno de los materiales obtenidos (MC Ala-Pro, MC Ala-Phe, MC Pro-Phe) se pesaron 4 g y se lavaron con 400 mL de agua acidificada con HCl 1M (pH=5). Los lavados se repitieron 2 veces más. Los materiales lavados se recuperaron por sedimentación y dejaron secar a temperatura ambiente. Se etiquetaron de la siguiente manera: MC Ala-Pro L, MC Ala-Phe L y MC Pro-Phe L.

#### ***4.1.2. Síntesis de celobiosa modificada con aminoácidos***

Para la síntesis de los materiales modificados, se pesaron 8 g de celobiosa y se agregaron 60 mL de agua. Se ajustó el pH a 5 con gotas de HCl 1M.

Primero se modificó con los tres aminoácidos por separado: alanina, fenilalanina y prolina.

Para la síntesis de cada material, se pesaron 2 g del aminoácido correspondiente y se disolvieron en 50 mL de agua. Se ajustó el pH a 5 con gotas de HCl 1M. La solución de aminoácido se agregó a la celobiosa y se mantuvo a 100 °C con agitación y reflujo durante 5 h.

Además, se utilizaron tres combinaciones de aminoácidos distintas: alanina-prolina, alanina-fenilalanina y prolina-fenilalanina.

Para cada combinación de aminoácidos, se siguió el mismo método que para la modificación de la celulosa descrito en la sección 4.1.1.

Los materiales obtenidos se dejaron secar a temperatura ambiente. La cantidad de material obtenido y la etiqueta utilizada se reportan en la Tabla 4.3.

<b>Muestra</b>	<b>Etiqueta</b>	<b>Obtenido (g)</b>
Celobiosa Alanina	Cb Ala	9.82
Celobiosa Fenilalanina	Cb Phe	9.71
Celobiosa Prolina	Cb Pro	9.56
Celobiosa Alanina-Prolina	Cb Ala-Pro	9.20
Celobiosa Alanina-Fenilalanina	Cb Ala-Phe	9.66
Celobiosa Prolina-Fenilalanina	Cb Pro-Phe	9.76

**Tabla 4.3**

#### 4.2. Caracterización de materiales

Existe un gran número de técnicas para caracterizar la celulosa. Entre los métodos instrumentales para el análisis estructural de este compuesto dominan las técnicas espectroscópicas. Las más utilizadas son resonancia magnética nuclear (RMN), de absorción en el infrarrojo por transformada de Fourier (FT-IR) y ultravioleta-visible. Algunas veces, estos métodos, además de proporcionar datos integrales de la muestra completa, también proporcionan información adicional acerca de la distribución de las entidades químicas dentro de ésta y pueden utilizarse para evaluar las interacciones intermoleculares o entre el polímero y el medio circundante [10].

Una herramienta más para la obtención de información estructural y la identificación de fases cristalinas presentes es la difracción de rayos X (DRX).

El uso de una combinación de estas técnicas de caracterización ayuda en la elucidación de la estructura y la composición del compuesto.

#### **4.2.1. Difracción de rayos X**

Esta técnica es útil para obtener información estructural e identificación de las fases cristalinas presentes. Los difractogramas de rayos X se adquirieron en un difractómetro Bruker D8. Las muestras se analizaron en forma de polvo en un intervalo de 5-70°  $2\theta$  y con longitud de onda  $\text{CuK}\alpha=1.5418 \text{ \AA}$ . Se utilizó un voltaje-amperaje de 30 kV y 30 mA.

#### **4.2.2. Espectroscopia de infrarrojo**

Con ayuda de esta técnica se realizó la identificación de grupos funcionales en las muestras. Los espectros de absorción en el infrarrojo se adquirieron en un espectrómetro Nicolet Magna-IR 750.

La metodología utilizada para obtener los espectros fue moler finamente una cantidad de la muestra con KBr. Esta mezcla en polvo se comprimió en una prensa mecánica para formar una pastilla translúcida a través de la cual puede pasar el haz de luz del espectrómetro.

#### **4.2.3. Espectroscopia de resonancia magnética nuclear en estado sólido**

La espectroscopia de resonancia magnética nuclear es útil para obtener información estructural relacionada con el entorno químico de los átomos individuales, es decir, la obtención de ambientes químicos locales.

Los espectros de CP (polarización cruzada)  $^{13}\text{C}$ , RMN se adquirieron con giro al ángulo mágico (MAS) en un espectrómetro Bruker Avance II 300, con un campo magnético de 7.05 T. Se usó una sonda CP-MAS multinuclear. Las muestras se empacaron en rotores de  $\text{ZrO}_2$  con un diámetro externo de 4 mm. Los experimentos  $^{13}\text{C}$  CP/MAS se hicieron girando la muestra a 5 kHz. Los tiempos de **contacto fueron de 5 ms, el pulso  $\pi/2$  de 5  $\mu\text{s}$  y los desplazamientos químicos referenciados al grupo  $\text{CH}_2$  (38.2 ppm) de adamantano sólido relativo a trimetilsilano (TMS).**

También se obtuvieron espectros de  $^1\text{H}$  MAS girando la muestra a 40 kHz.

#### **4.2.4. Técnicas de microscopía**

La microscopía electrónica de barrido se utiliza principalmente para analizar la morfología externa (textura) y la estructura cristalina de una muestra.

Las micrografías se obtuvieron en un microscopio electrónico de barrido (SEM) Jeol 7600, con aumentos de 5,000 hasta 100,000 x.

#### **4.2.5. Dispersión de rayos X a bajo ángulo (SAXS)**

Para evaluar la dimensión fractal de la celulosa microcristalina, de la celobiosa, así como de todas las muestras modificadas con aminoácidos, se realizaron análisis de dispersión de rayos X a bajo ángulo (SAXS, por sus siglas en inglés), con la finalidad de conocer la superficie morfológica y los parámetros texturales.

Los perfiles de SAXS se obtuvieron en una cámara Kratky acoplada a un tubo de rayos X con ánodo de cobre. La radiación  $K\alpha$  se seleccionó por medio de un filtro de níquel. Las muestras se introdujeron en un tubo capilar. La intensidad  $I(Q)$  se midió por 9 minutos. Los datos obtenidos se procesaron con el programa ITP, donde el parámetro angular se define como  $Q = 2\pi \sin(\theta) / \lambda$  con  $\theta$  siendo el ángulo de incidencia de los rayos X y  $\lambda$  la longitud de onda.

De la pendiente de la curva  $\log I(Q)$  contra  $\log(Q)$  puede calcularse la dimensión fractal de las muestras, de acuerdo con la ley de Porod [39].

### 4.3. Evaluación catalítica de la celulosa

Para la evaluación de la modificación de la reactividad de los materiales modificados se llevó a cabo una hidrólisis ácida en un reactor de acero inoxidable de 50 mL, agitador magnético y controlador de temperatura eléctrico. Se utilizó agua como disolvente (35 mL). Las reacciones de hidrólisis se llevaron a cabo en la presencia de dos ácidos diferentes: ácido clorhídrico (HCl) ó ácido tungstofosfórico ( $H_3PW_{12}O_{40}$ ).

Las condiciones de reacción fueron las siguientes:

<b>T=</b>	150 °C
<b>rpm=</b>	600
<b>m<sub>cel</sub>=</b>	0.7 g
<b>[H<sup>+</sup>]=</b>	$1.10 \times 10^{-2}$ M
<b>P=</b>	4.3 MPa

**Tabla 4.4 Condiciones de reacción**

La evolución de la reacción se cuantificó mediante cromatografía de líquidos de alta eficacia (HPLC). Se utilizó una bomba Waters 1525 y una columna CAPCELL PAK NH2 UG80. La fase móvil fue agua.

La selectividad hacia glucosa se determinó por medio de cromatografía de gases en un cromatógrafo Bruker 450-GC con detector IF y columna FFAP.

Para conocer el grado de conversión de los materiales se utilizó la siguiente fórmula:

$$\text{Conversión} = 1 - \frac{\text{Masa del residuo sólido seco} - \text{Masa del aminoácido}}{\text{Masa inicial}}$$

## 5. Análisis y discusión de resultados

### 5.1. Celulosa microcristalina modificada con aminoácidos

#### 5.1.1. Estructura

Los patrones de difracción de la celulosa microcristalina (MC) y cada uno de los de la MC modificada con una combinación de aminoácidos se muestran en la Figura 5.1. Éstos corresponden a los reportados en la literatura para la celulosa microcristalina, además se indican los planos que corresponden a cada pico del patrón de difracción de celulosa [40].

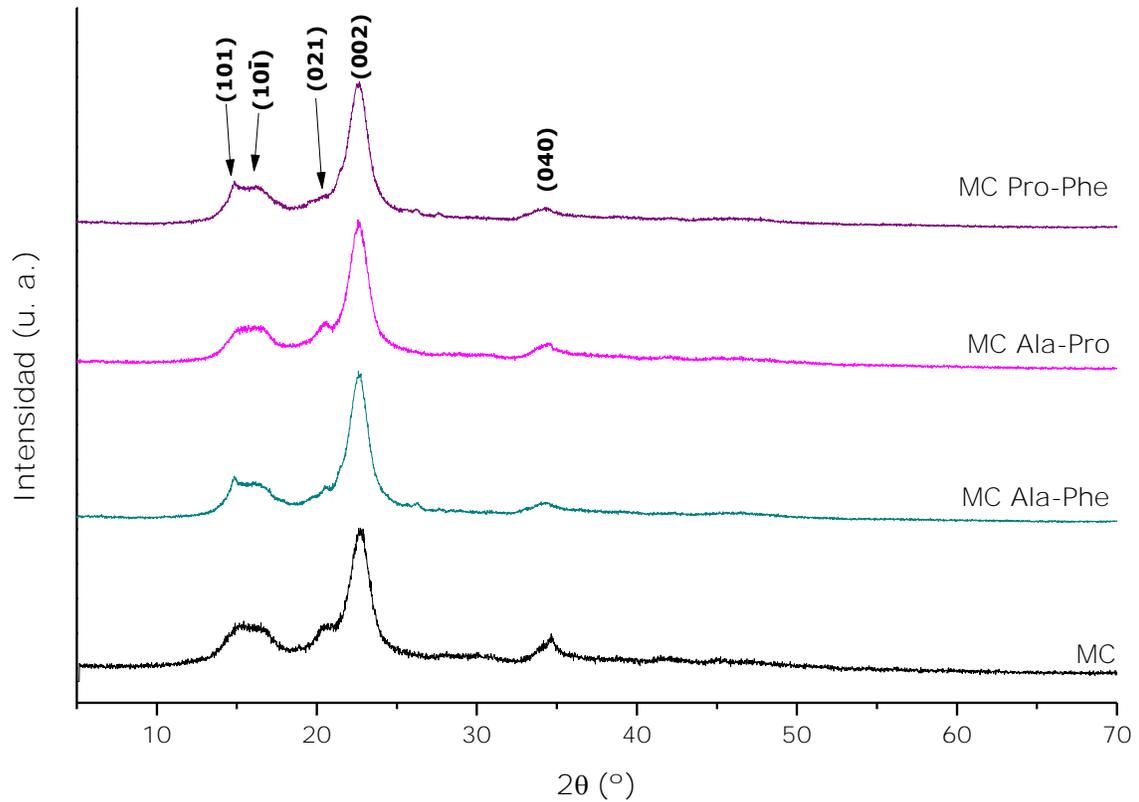
No es posible designar a cual polimorfo corresponden estas muestras, para ello sería necesario un estudio cristalográfico más detallado.

En la Tabla 5.1 se reportan las distancias interplanares de la reflexión (0 0 2), que son de alrededor 3.9 Å. Estas concuerdan con las reportadas en la literatura [41] y no cambian significativamente con la adición de los aminoácidos.

Además, al igual que los difractogramas de la celulosa modificada con un solo aminoácido reportados con anterioridad [42], los difractogramas de la celulosa modificada con las combinaciones de aminoácidos no presentan cambios significativos con respecto a los de la celulosa microcristalina.

	<b>(0 0 2)</b>	
<b>Muestra</b>	$2\theta$ (°)	$d_{002}$ (Å)
<b>MC</b>	22.71	3.914
<b>MC Ala-Phe</b>	22.60	3.934
<b>MC Ala-Pro</b>	22.56	3.939
<b>MC Pro-Phe</b>	22.65	3.925

**Tabla 5.1 Ángulos de difracción y distancias interplanares para la MC y las muestras modificadas con aminoácidos**



**Figura 5.1 Difractogramas de la celulosa microcristalina (MC) y cada una de las muestras modificadas con los aminoácidos indicados**

Solamente en la muestra MC Ala-Pro se resuelve el pico correspondiente al plano (0 2 1) localizado en  $2\theta = 20.5^\circ$ , éste presenta una intensidad relativa de 11.9% mientras que en las otras 2 muestras tratadas (MC Ala-Phe y MC Pro-Phe) está ausente, como se reporta en la Tabla 5.2. Esto se atribuye a la interacción de los aminoácidos con las fibras de celulosa que afectan las interacciones tipo puentes de hidrógeno dentro de la estructura, generando un acomodo diferente de las cadenas de celulosa.

<b>Muestra</b>	<b>Pico</b>	<b>2 <math>\theta</math></b>	<b><math>I_{(021)} / I_{(002)}</math></b>
<b>MC</b>	(0 2 1)	20.66	4.40%
	(0 0 2)	22.71	
<b>MC Ala-Phe</b>	(0 2 1)	Ausente	0
	(0 0 2)	22.6	
<b>MC Ala-Pro</b>	(0 2 1)	20.63	11.92%
	(0 0 2)	22.56	
<b>MC Pro-Phe</b>	(0 2 1)	Ausente	0
	(0 0 2)	22.65	

**Tabla 5.2 Intensidad relativa del pico relacionado al plano (0 2 1) en las muestras de celulosa modificada**

En ninguno de los difractogramas aparecen los picos de los aminoácidos, esto se debe a los límites de detección del equipo, referente al tamaño del cristal (que debe ser mayor a 30 Å).

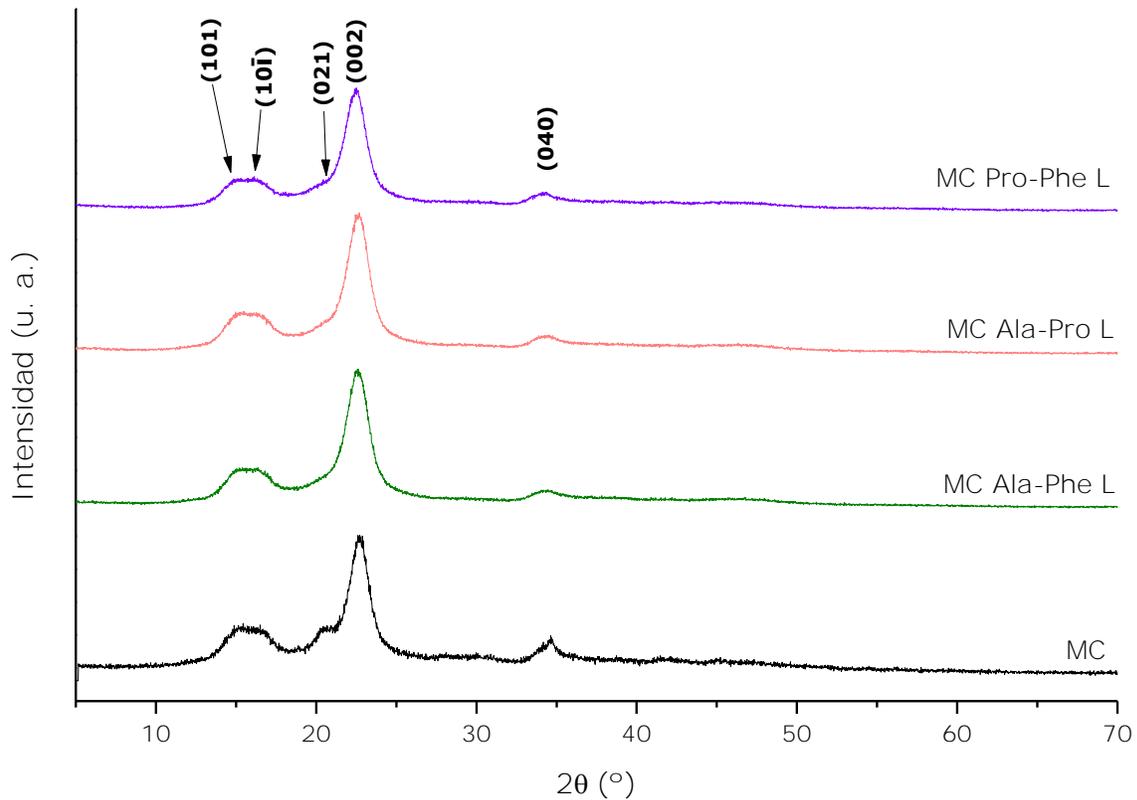
En general, las diferencias que se observan entre los difractogramas de cualquier muestra de celulosa microcristalina modificada y la celulosa microcristalina son mínimas, lo que significa que, como esperado, la modificación con los aminoácidos no altera significativamente la estructura cristalina de la celulosa.

En la Figura 5.2 se comparan los difractogramas de las muestras lavadas con el de la celulosa microcristalina.

Al igual que en las muestras modificadas, las distancias interplanares ( $d_{002}$ ) se mantienen alrededor de los 3.9 Å (Tabla 5.3).

	<b>(0 0 2)</b>	
<b>Muestra</b>	<b>2<math>\theta</math> (°)</b>	<b><math>d_{002}</math> (Å)</b>
<b>MC Ala-Phe L</b>	22.68	3.919
<b>MC Ala-Pro L</b>	22.61	3.931
<b>MC Pro-Phe L</b>	22.50	3.951

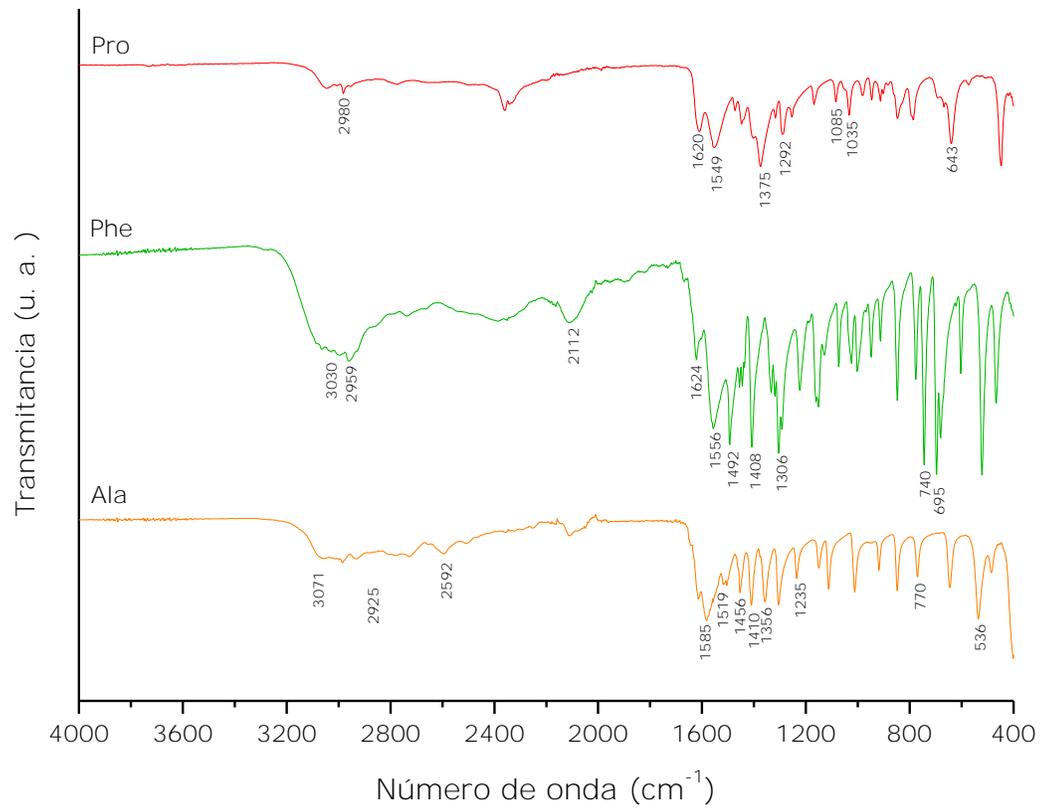
**Tabla 5.3 Ángulos de difracción y distancias interplanares para las muestras modificadas con aminoácidos después del lavado**



**Figura 5.2 Difractogramas de la celulosa microcristalina (MC) y cada una de las muestras modificadas después del lavado**

Como en las muestras anteriores, se conserva la estructura cristalina original de la MC; en ninguna de ellas aparece el pico relacionado con el plano (021). Esto indica que el lavado del material también modifica ligeramente el acomodo de las cadenas de celulosa.

La identificación de los grupos funcionales característicos de la celulosa y de los aminoácidos se realizó por medio de espectroscopia de absorción en el infrarrojo. En la Figura 5.3 aparecen los espectros de infrarrojo de los aminoácidos alanina (Ala), fenilalanina (Phe) y prolina (Pro). Se señalan las bandas características de cada aminoácido [43]–[48]. Los números de onda y las asignaciones de las bandas más importantes de absorción de cada aminoácido se resumen en la Tabla 5.4.

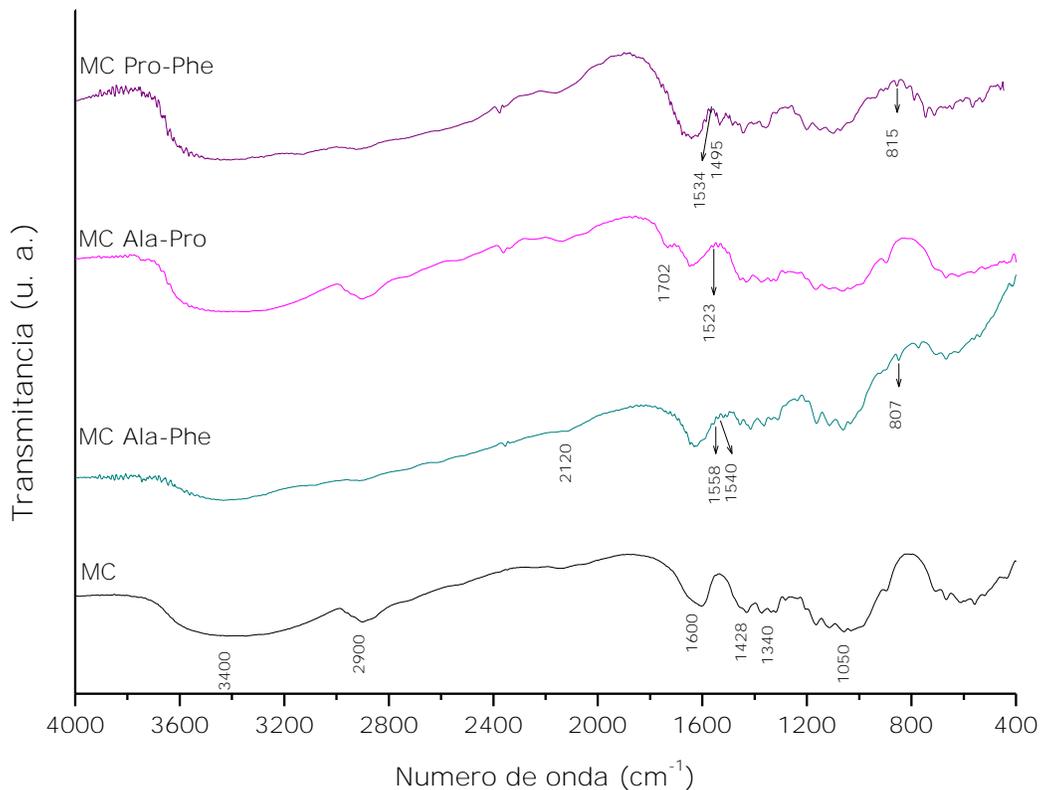


**Figura 5.3 Espectros de infrarrojo de alanina (Ala), fenilalanina (Phe) y prolina (Pro)**

Número de onda (cm <sup>-1</sup> )			Asignación de bandas
Alanina	Fenilalanina	Prolina	
3071			Estiramiento simétrico de NH <sub>3</sub> <sup>+</sup>
	3034		Estiramiento de CH
	2959	2980	Estiramiento asimétrico de CH <sub>2</sub>
2925			Estiramiento de CH en CH <sub>3</sub>
2592			Estiramiento de NH en NH <sub>3</sub> <sup>+</sup>
	2112		Estiramiento de C=C
	1624	1620	Deformación de -NH <sub>3</sub> <sup>+</sup>
1585			Estiramiento antisimétrico de COO <sup>-</sup>
	1553		Estiramiento antisimétrico de -C=O
		1549	Flexión de -NH
1519			Deformación de NH <sub>3</sub> <sup>+</sup>
1456			Flexión asimétrica de CH <sub>3</sub>
1410			Flexión simétrica de CH <sub>3</sub>
	1408		Estiramiento simétrico de -C=O
		1375	Flexión de C-H
1356	1492		Estiramiento simétrico de -COO <sup>-</sup>
	1306		Flexión de -OH
		1292	Torsión y flexión de -CH <sub>2</sub>
1235			Balanceo de NH <sub>3</sub> <sup>+</sup>
		1085	Estiramiento del anillo
		1035	Estiramiento de CCN y CC
770			Deformación de O-C-O
	740		Balanceo de -CH <sub>2</sub>
		643	Aleteo de -COO <sup>-</sup>
	695		Anillo bencénico
536			Flexiones de C-N y C=O
	520		Balanceo de -COO <sup>-</sup>
		450	Flexión de C-C=O en ácidos carboxílicos

**Tabla 5.4 Números de onda y asignación de las principales bandas de alanina, fenilalanina y prolina**

En la Figura 5.4 se muestran los espectros FTIR de las muestras de MC modificada y se comparan al de la celulosa microcristalina (MC).



**Figura 5.4 Espectros de infrarrojo de la celulosa microcristalina (MC) y la MC modificada con las 3 combinaciones de aminoácidos**

Las bandas de absorción características de la celulosa son [10]:

- 1) 3200-3400  $\text{cm}^{-1}$  característica de las vibraciones de estiramiento de los enlaces O—H
- 2) 2900  $\text{cm}^{-1}$  se observa la vibración de estiramiento de C—H
- 3) 1600  $\text{cm}^{-1}$  que corresponde a la deformación en el plano de la molécula H—O—H (adsorbida en la superficie de la celulosa)
- 4) 1426-1430  $\text{cm}^{-1}$  característica de las vibraciones de flexión del grupo  $\text{CH}_2$
- 5) 1340  $\text{cm}^{-1}$  flexión en el plano de O—H
- 6) Alrededor de 1000  $\text{cm}^{-1}$  se observa la vibración de tensión de C—O o de C—C

Los espectros de todas las muestras de celulosa microcristalina modificada con los aminoácidos son muy similares, sin embargo aparecen algunas bandas que indican la presencia de los aminoácidos.

En la muestra MC Ala-Phe aparece una banda en  $2120\text{ cm}^{-1}$  que se asigna al estiramiento del enlace C=C en la fenilalanina. También aparece una banda en  $1558\text{ cm}^{-1}$  que corresponde al estiramiento asimétrico de  $\text{—C=O}$  y por último aparece una banda en  $1540\text{ cm}^{-1}$ , asignada a la flexión de NH. Estas dos bandas se deben a la presencia de ambos aminoácidos.

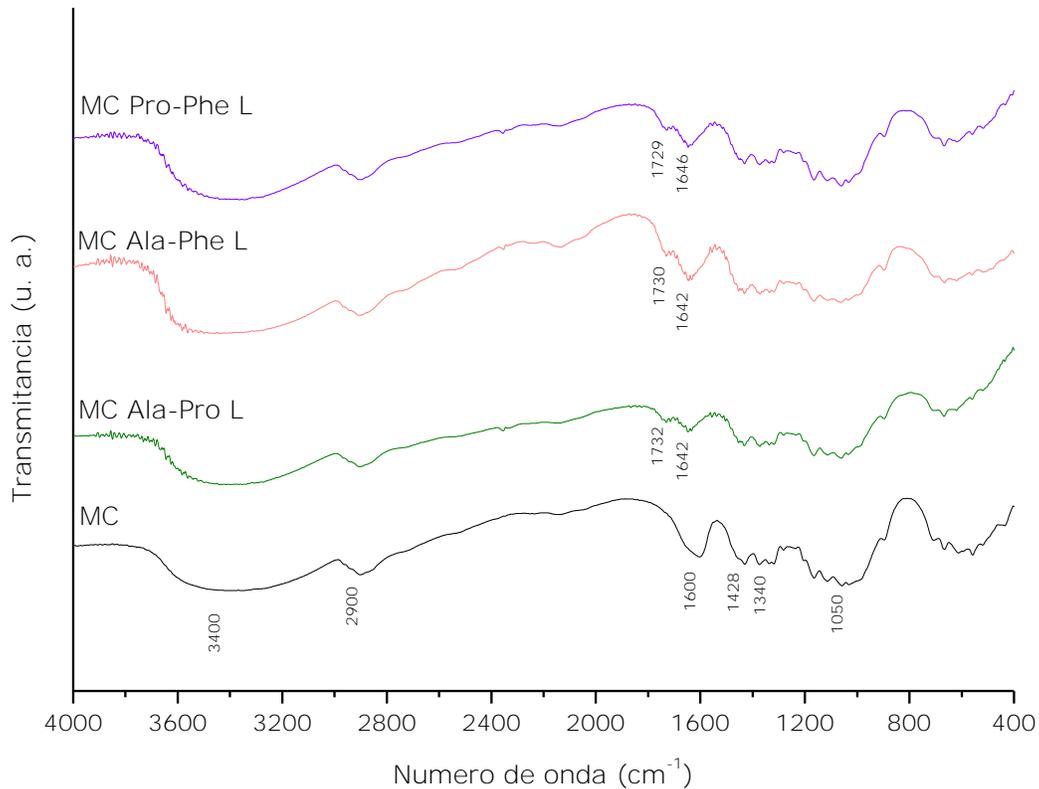
En la muestra MC Ala-Pro se aprecia una banda en  $1702\text{ cm}^{-1}$  que se debe al estiramiento del enlace C=O en el ácido carboxílico de ambos aminoácidos y otra en  $1523$  asignada a la deformación de  $\text{NH}_3^+$ .

En la muestra que contiene prolina y fenilalanina (MC Pro-Phe) la banda que aparece en  $1559\text{ cm}^{-1}$  se asigna al estiramiento antisimétrico de  $\text{—C=O}$  y la de  $1496\text{ cm}^{-1}$  se debe al estiramiento simétrico del anión carboxilato ( $\text{—COO}^-$ ).

Además en las muestras MC Ala-Phe y MC Pro-Phe aparece una banda alrededor de  $800\text{ cm}^{-1}$  ( $807\text{ cm}^{-1}$  y  $815\text{ cm}^{-1}$ , respectivamente) que se debe al aleteo del grupo amino,  $\text{—NH}_2$ .

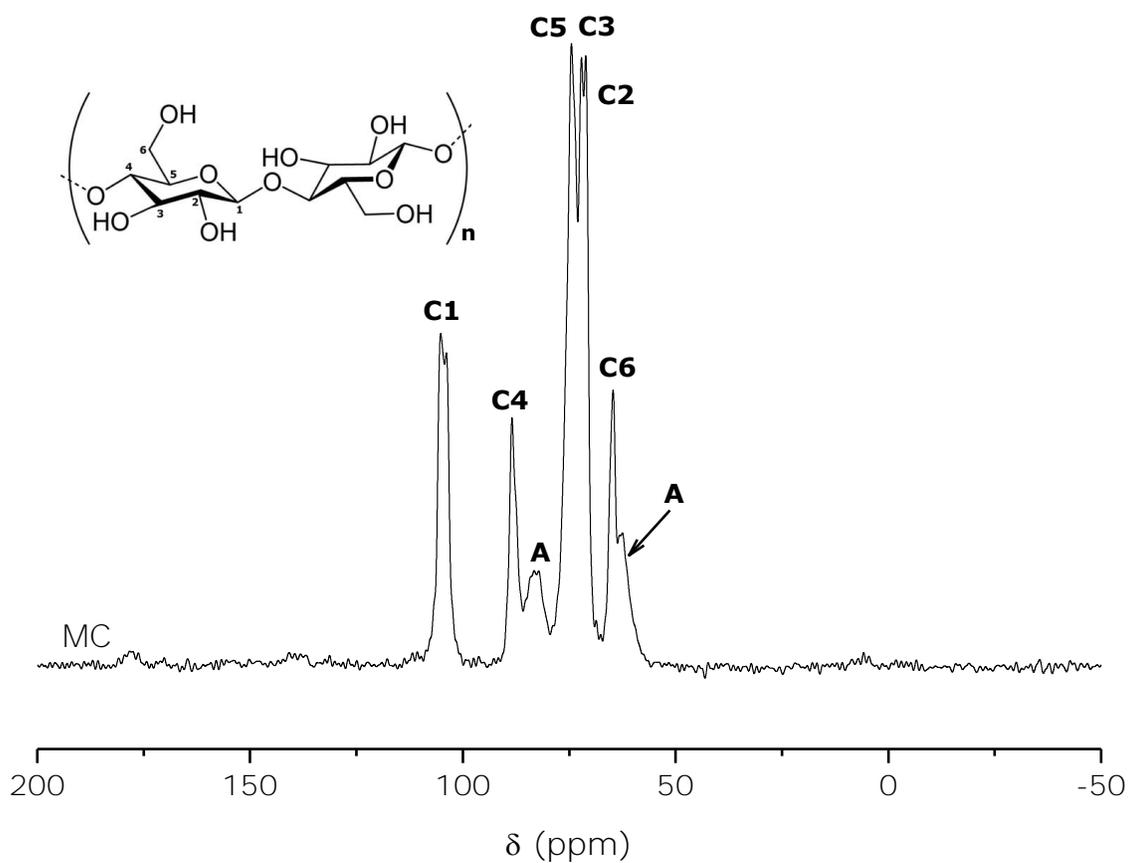
Los espectros de los materiales después del lavado, Figura 5.5, también conservan la forma del espectro de la celulosa microcristalina que no contiene aminoácidos.

En ninguno de ellos se observan las bandas de absorción características de los aminoácidos. Sin embargo en la región comprendida entre  $1750$  y  $1600\text{ cm}^{-1}$ , aparecen dos bandas alrededor de  $1730\text{ cm}^{-1}$  y  $1640\text{ cm}^{-1}$ . La primera se debe al estiramiento del enlace C=O en los grupos carboxílicos y la segunda al agua absorbida [10].



**Figura 5.5 Espectros de infrarrojo de la celulosa microcristalina (MC) y cada uno de los materiales lavados**

En la Figura 5.6 se muestra el espectro  $^{13}\text{C}$  CP-MAS RMN de la celulosa microcristalina y un modelo de la estructura de la celulosa indicando los diferentes tipos de carbono. El espectro consiste en seis señales, una para cada átomo de carbono que forma el anillo de anhidroglucosa.



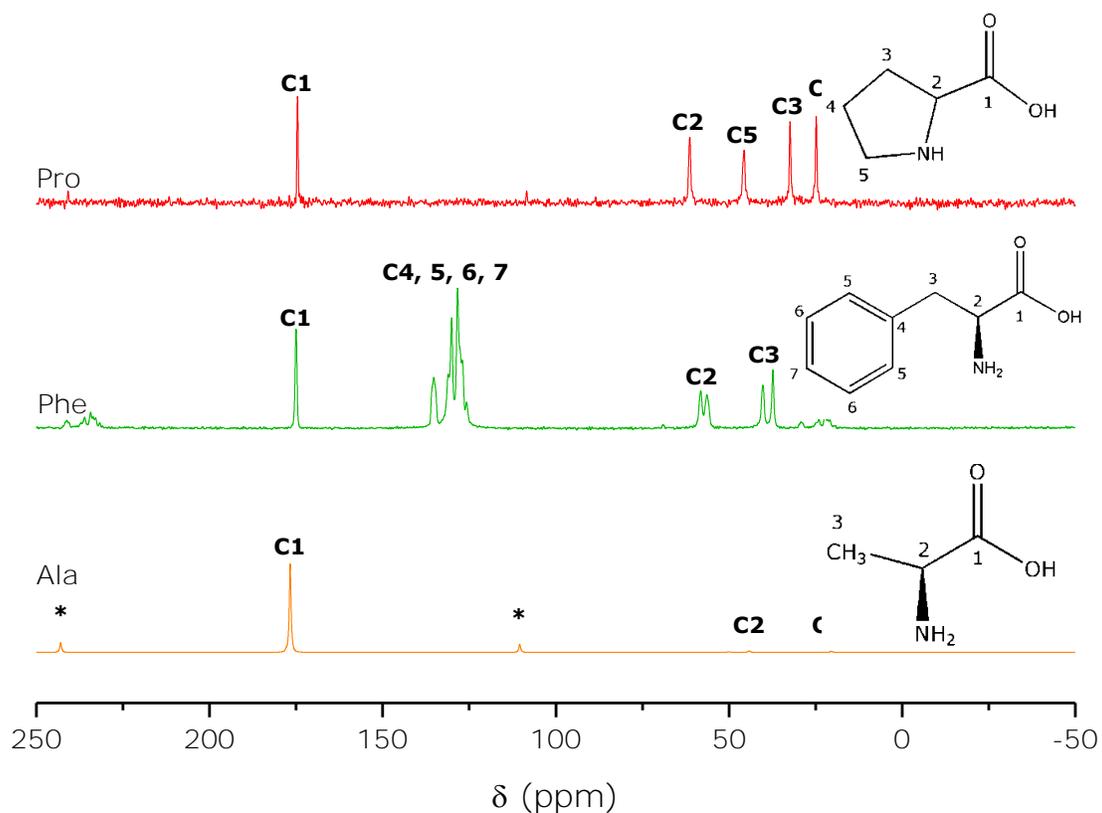
**Figura 5.6 Estructura de la celulosa y espectro de  $^{13}\text{C}$  CP-MAS RMN de la MC**

Los desplazamientos químicos que se reportan en la Tabla 5.5 se asignaron a los diferentes carbonos de las unidades primarias que conforman a la celulosa, de acuerdo a la estructura que aparece en la Figura 5.6. Las líneas de resonancia que aparecen en 62 y 82 ppm, etiquetados como "A" en el espectro, indican la presencia de celulosa amorfa [49]–[51].

Carbono	$^{13}\text{C}$ CP-MAS RMN $\delta$ (ppm)
C1	104
C2	71
C3	72
C4	88
C5	74
C6	64

**Tabla 5.5** Desplazamientos químicos de cada carbono de la estructura de la celulosa que se muestra en la Figura 5.6

Los espectros de  $^{13}\text{C}$  CP-MAS RMN de los aminoácidos y las estructuras que indican los diferentes tipos de carbono se muestran en la Figura 5.7.



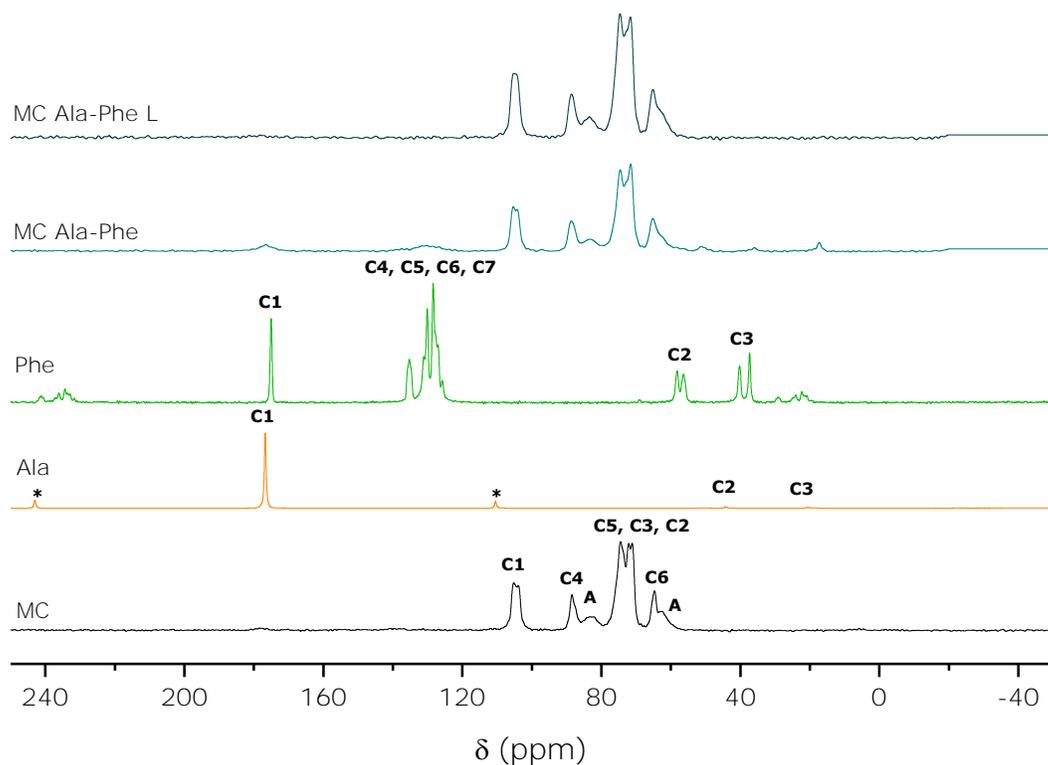
**Figura 5.7** Espectros de  $^{13}\text{C}$  CP-MAS RMN y estructuras de alanina (Ala), fenilalanina (Phe) y prolina (Pro). Los asteriscos (\*) en el espectro de alanina indican bandas de rotación (5 kHz).

Los desplazamientos químicos de los carbonos de cada aminoácido se reportan en la Tabla 5.6.

Carbono	<sup>13</sup> C CP-MAS RMN δ (ppm)		
	Alanina	Fenilalanina	Prolina
C1	176	175	174
C2	44	57	61
C3	20	38	32
C4		135	25
C5		128	45
C6		130	
C7		125	

**Tabla 5.6 Desplazamientos químicos de cada carbono de los aminoácidos (de acuerdo a las estructuras en la Figura 5.7)**

La Figura 5.8 muestra los espectros <sup>13</sup>C CP-MAS RMN de los aminoácidos y de la celulosa modificada con alanina y fenilalanina.



**Figura 5.8** Espectros de  $^{13}\text{C}$  CP-MAS RMN de la celulosa microcristalina (MC), alanina (Ala), fenilalanina (Phe), celulosa modificada con ambos aminoácidos (MC Ala-Phe) y la respectiva muestra lavada (MC Ala-Phe L). Los asteriscos (\*) en el espectro de la alanina indican bandas de rotación

Los desplazamientos químicos del espectro de la celulosa modificada con alanina y fenilalanina (MC Ala-Phe) no se modifican ni en intensidad relativa ni en posición con respecto a los de la celulosa microcristalina, sugiriendo que la red de celulosa permanece sin modificaciones.

Sin embargo, en esta muestra (MC Ala-Phe) además de los picos de celulosa aparecen picos en 176, 130, 51, 36 y 17 ppm. El primero, a 176 ppm, corresponde a la contribución de los grupos ácidos de la alanina y la fenilalanina. El grupo de picos que aparecen alrededor de 130 se asigna al anillo aromático de la fenilalanina (C4, C5, C6, C7) y los que aparecen en 51 y 36 corresponden a los carbonos alifáticos, C2 y C3 del mismo aminoácido. En el espectro de fenilalanina, el desplazamiento del C3 muestra dos picos finos, sin embargo, en el espectro de la muestra modificada (MC Ala-Phe), solamente aparece un pico ensanchado y

desplazado a campos más altos. Esto sugiere que se pierde cierta movilidad debido a interacciones de los grupos fenilo y carboxilo con la superficie de la celulosa.

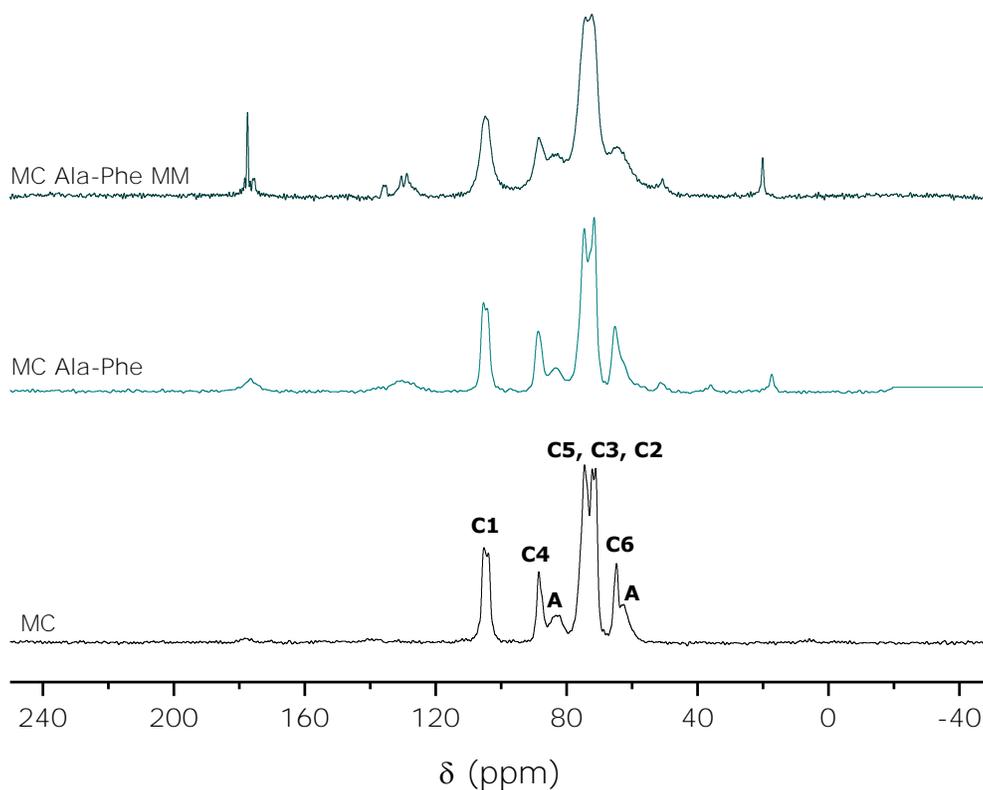
El ensanchamiento de los picos en el intervalo de 120-140 ppm y las diferentes intensidades de manera no proporcional pueden deberse a que el anillo aromático interacciona con la superficie de la celulosa. Al parecer, la estructura planar del anillo de la fenilalanina favorece estas interacciones.

Los espectros de la celulosa modificada y lavada son muy similares al de la celulosa microcristalina, indicando que el lavado ácido es suficiente para retirar la mayor parte o totalidad de los aminoácidos de la superficie de la celulosa.

No obstante, antes de los lavados los resultados de RMN sugieren que los aminoácidos se adsorben en la superficie de la celulosa.

Con el fin de confirmar esta idea, se preparó una mezcla física de celulosa con aminoácidos.

Como referencia de la muestra de celulosa modificada con alanina y fenilalanina, se hizo una mezcla mecánica manteniendo la relación en peso de los tres componentes. El espectro de  $^{13}\text{C}$  CP MAS de la mezcla mecánica se muestra en la Figura 5.9.



**Figura 5.9 Espectros de de  $^{13}\text{C}$  CP-MAS RMN de celulosa microcristalina (MC), MC Ala-Phe y la mezcla mecánica (MC Ala-Phe MM)**

En la región entre 170 y 180 ppm se encuentran las señales que corresponden a la contribución de los grupos ácidos de los dos aminoácidos presentes. En MC Ala-Phe se encuentra un solo pico ancho con su máximo en 176 ppm, mientras que en la mezcla mecánica aparece un pico en 177 ppm que corresponde al C1 de la alanina y otro de menor intensidad en 175 ppm que se asigna al C1 de la fenilalanina, que no haya un desplazamiento de estas señales y que sean picos finos es indicativo de que estos carbonos aún conservan cierto movimiento, en otras palabras, no existen interacciones entre los carbonos del grupo ácidos de los aminoácidos y la cadena de celulosa.

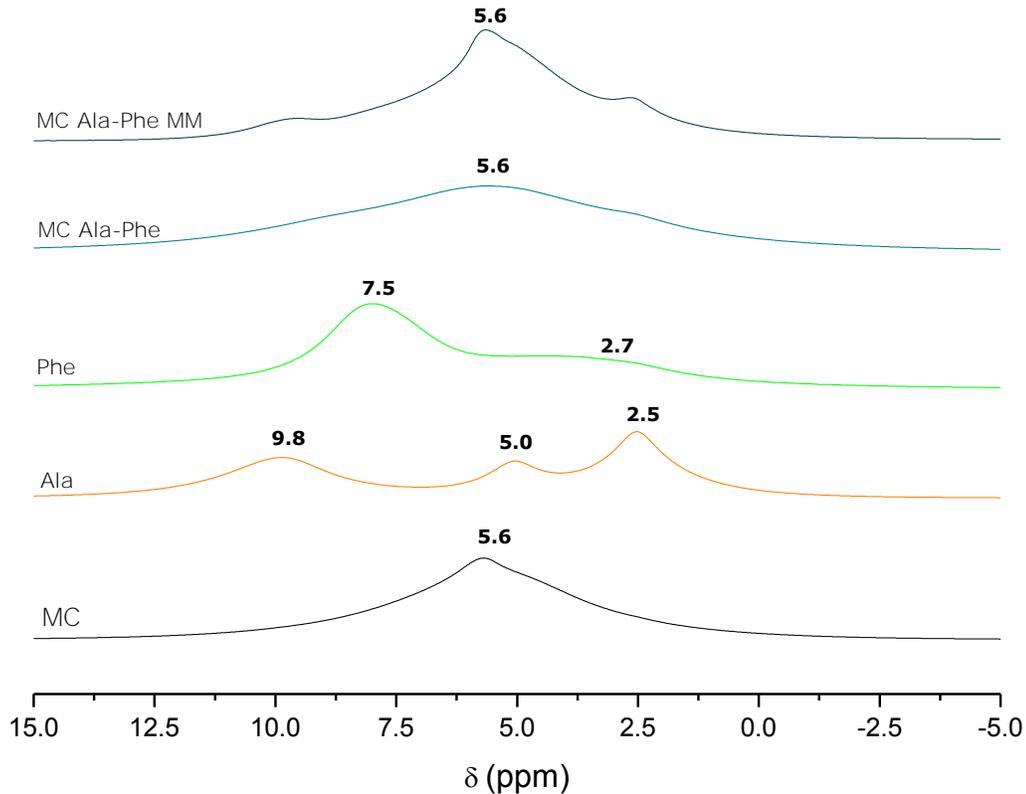
En la mezcla mecánica los picos que se asignan a las contribuciones del anillo aromático de la fenilalanina aparecen definidos, mientras que en la muestra MC Ala-Phe sólo aparece un pico ancho con máximo en 130.

En el espectro de la fenilalanina aparecen dos señales (58 y 56 ppm) que se asignan al C2 de este aminoácido, en la mezcla mecánica aparece un pico ancho alrededor de 50 ppm y en la muestra MC Ala-Phe aparece en 51 ppm.

En la muestra MC Ala-Phe aparece un pico alrededor de 36 ppm que se asigna al C3 de la fenilalanina, sin embargo en la mezcla mecánica este pico no existe.

En la mezcla mecánica aparece un pico en 20 ppm, el cual corresponde al C3 de la alanina, éste se mueve 3 ppm a campos más altos en la muestra MC Ala-Phe. Esto indica que en la mezcla mecánica no existen interacciones entre el C3 de este aminoácido y la cadena de celulosa.

Los espectros de de  $^1\text{H}$  RMN MAS para estas muestras confirman los resultados de  $^{13}\text{C}$  RMN MAS, Figura 5.10.

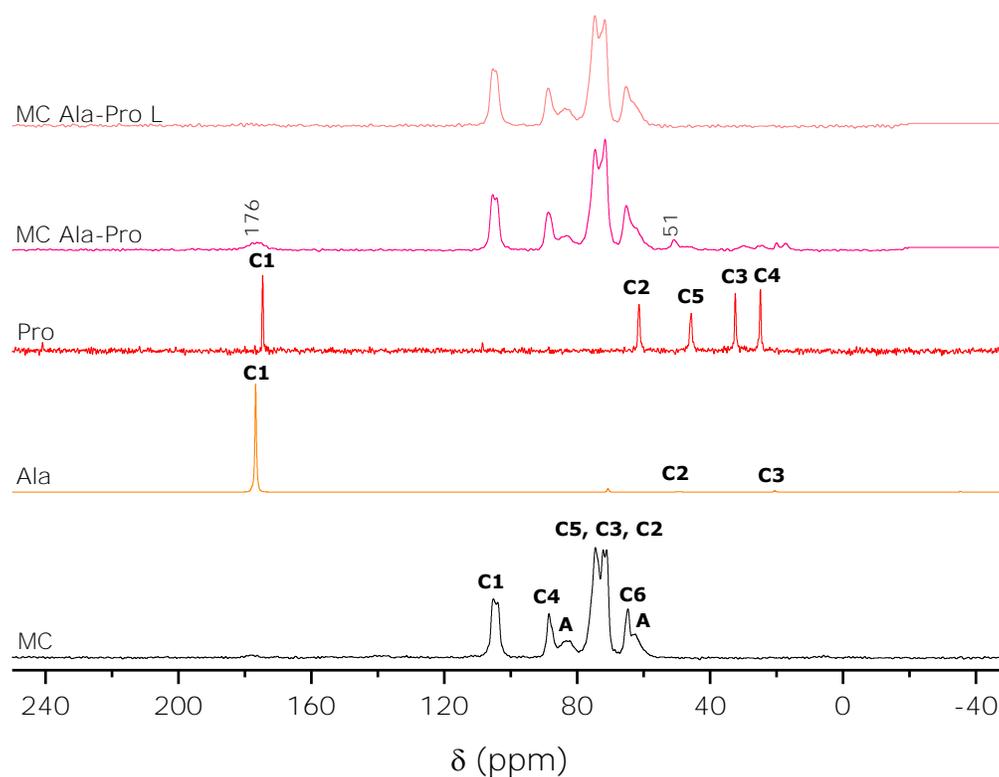


**Figura 5.10 Espectro de  $^1\text{H}$  MAS de celulosa microcristalina (MC), alanina (Ala), fenilalanina (Phe), celulosa modificada con Ala y Phe (MC Ala-Phe) y mezcla mecánica de MC, Ala y Phe (MC Ala-Phe MM)**

En el espectro de la celulosa microcristalina aparece un solo pico muy ancho en 5.6 ppm.

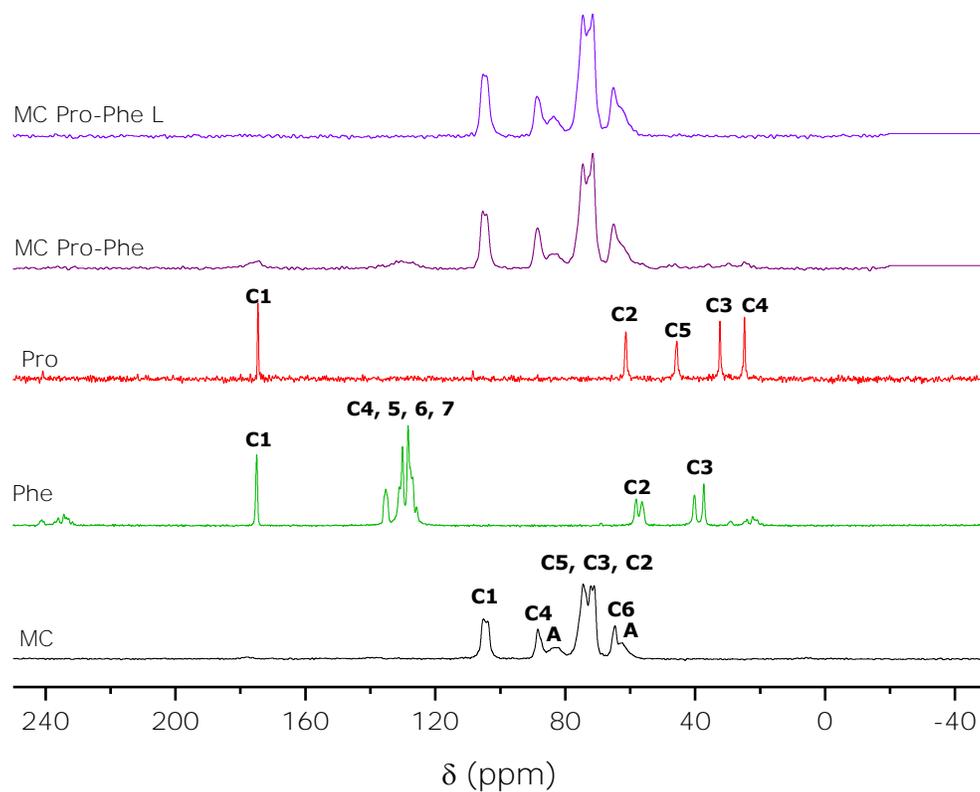
El espectro de la alanina se resuelve muy bien y los tres tipos de hidrógenos aparecen en 2.5, 5.0 y 9.8 ppm. En el caso de la fenilalanina solamente dos picos muy anchos aparecen, el primero centrado en 2.7 ppm corresponde a los hidrógenos alifáticos y el segundo, centrado en 7.5, se asigna a los hidrógenos aromáticos. Interesantemente, el espectro de MC Ala-Phe es un pico muy ancho evidenciando fuertes interacciones dipolares que deben atribuirse a una adsorción de aminoácidos en la celulosa microcristalina. Por otra parte, el espectro de la mezcla física es claramente una suma de los espectros de la celulosa, la alanina y la fenilalanina. Así, debe concluirse una adsorción en MC Ala-Phe.

En la Figura 5.11 aparecen los espectros  $^{13}\text{C}$  CP-MAS RMN de los aminoácidos prolina y alanina y de la celulosa modificada con estos dos aminoácidos. Los espectros sugieren el mismo comportamiento como en el caso de Ala-Phe, es decir que los aminoácidos interactúan con la celulosa microcristalina, contribuyendo con picos de muy baja intensidad al espectro si se comparan con los de la celulosa. Debe enfatizarse que el pico debido a los grupos carbonilos de los aminoácidos se ensancha cuando forma parte del material modificado. También, los carbonos C2 y C5 de la prolina se desplazan a campo alto y bajo, respectivamente, para dar una sola señal ancha a 51 ppm. Esta señal también tiene una contribución del C2 de la alanina que se desplaza a campo bajo, estos carbonos están en posición alfa con respecto al grupo amina. Así, estos aminoácidos, sin anillo aromático, interaccionan con la celulosa mediante sus grupos polares carbonilo y amina. Además, en el espectro del material después del lavado, nuevamente están ausentes las señales de los aminoácidos.



**Figura 5.11 Espectro de  $^{13}\text{C}$  CP-MAS RMN de la alanina (Ala), la prolina (Pro), la celulosa modificada con ambos aminoácidos (MC Ala-Pro) y la respectiva muestra lavada (MC Ala-Pro L). Los asteriscos (\*) en el espectro de la alanina indican bandas de rotación (5 kHz)**

Los espectros de la Figura 5.12 confirman que los aminoácidos prolina y fenilalanina se adsorben en la celulosa. Aparte de la interacción vía carbonilos, es difícil concluir si hay otros carbonos de los aminoácidos interaccionando con la celulosa.

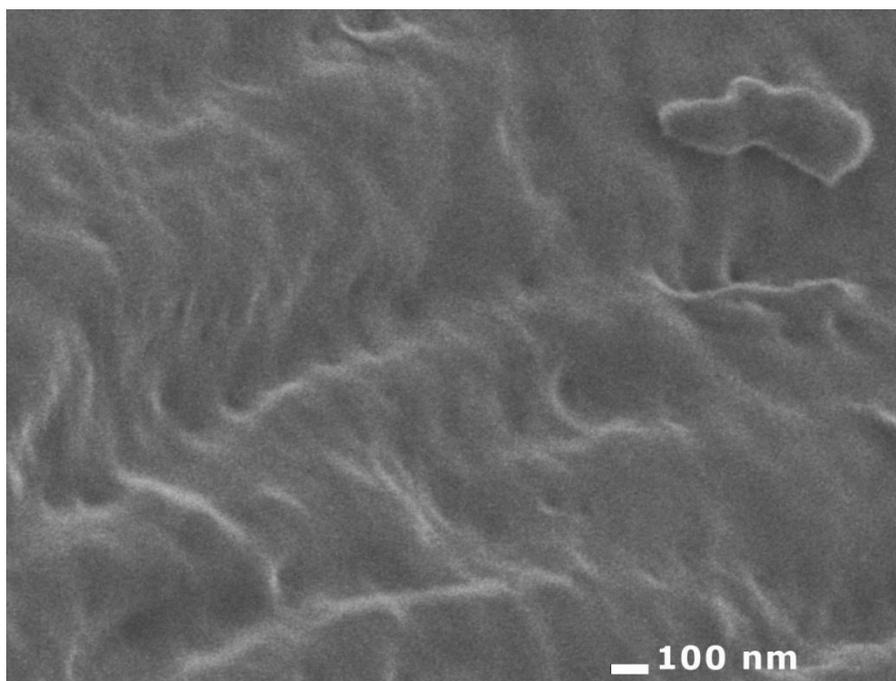


**Figura 5.12 Espectro de  $^{13}\text{C}$  CP-MAS RMN de la fenilalanina (Phe), la prolina (Pro), la celulosa modificada con ambos aminoácidos (MC Pro-Phe) y la respectiva muestra lavada (MC Pro-Phe L).**

De manera general y en resumen, se aprecia que efectivamente existe una interacción entre los aminoácidos y la celulosa. Además, el lavado ácido es suficiente para retirar los aminoácidos de la superficie, es decir que estas interacciones entre la superficie de la celulosa y el aminoácido no son muy fuertes.

### **5.1.2. Morfología**

La modificación de la celulosa microcristalina con los aminoácidos provocó cambios en la morfología del material, lo cual se observó a través de microscopía electrónica de barrido. En la Figura 5.13 se muestra la micrografía (50,000 aumentos) de la celulosa sin modificar, su superficie tiende a ser lisa y sin poros a esta escala microscópica; las fibras que forma la celulosa aún no se resuelven claramente a esta escala, sino que se observa como una red de canales.

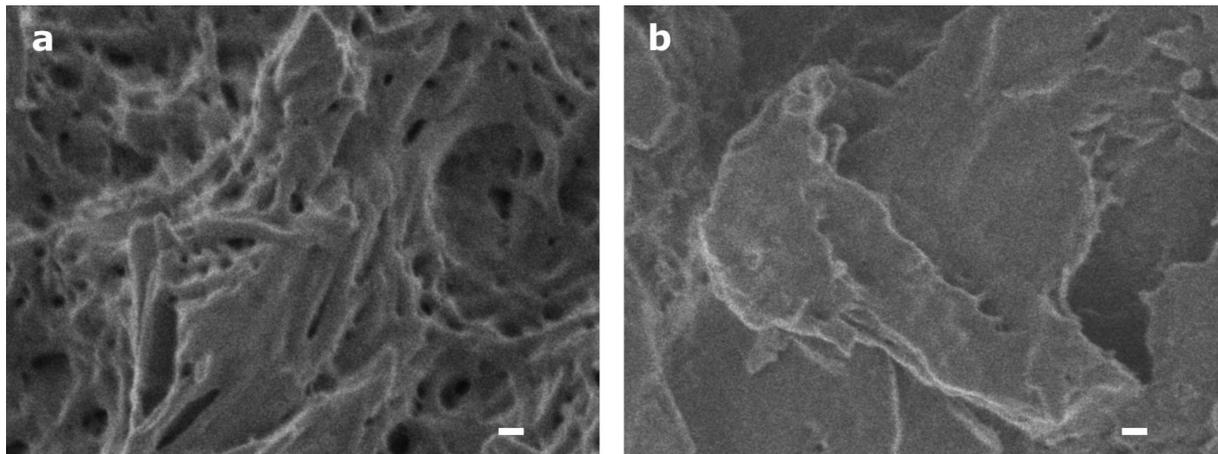


**Figura 5.13 Micrografía (50,000x) de la celulosa microcristalina (MC)**

En la Figura 5.14 se muestran las micrografías de la celulosa modificada con alanina y fenilalanina antes (a) y después del lavado ácido (b).

La presencia de los aminoácidos en la superficie del material genera cambios significativos en la morfología del mismo. En comparación con la celulosa microcristalina sin modificar, la que contiene los aminoácidos presenta fibrillas entrelazadas para formar una red irregular de poros. Por otro lado, en la muestra después del lavado ácido se pierde la porosidad pero no se recupera la morfología

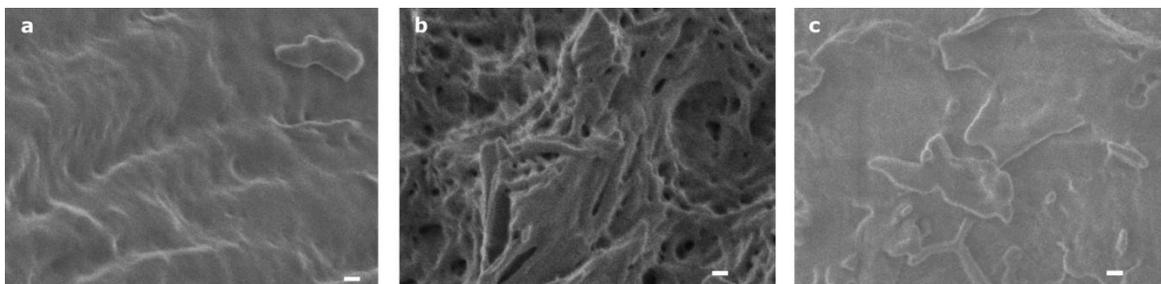
de la MC antes de la modificación. La muestra lavada es menos lisa, tiende a ser rugosa, escamosa.



**Figura 5.14 Micrografías (50,000x) de a) MC modificada con alanina y fenilalanina y b) MC Ala-Phe lavado. La barra equivale a 100 nm**

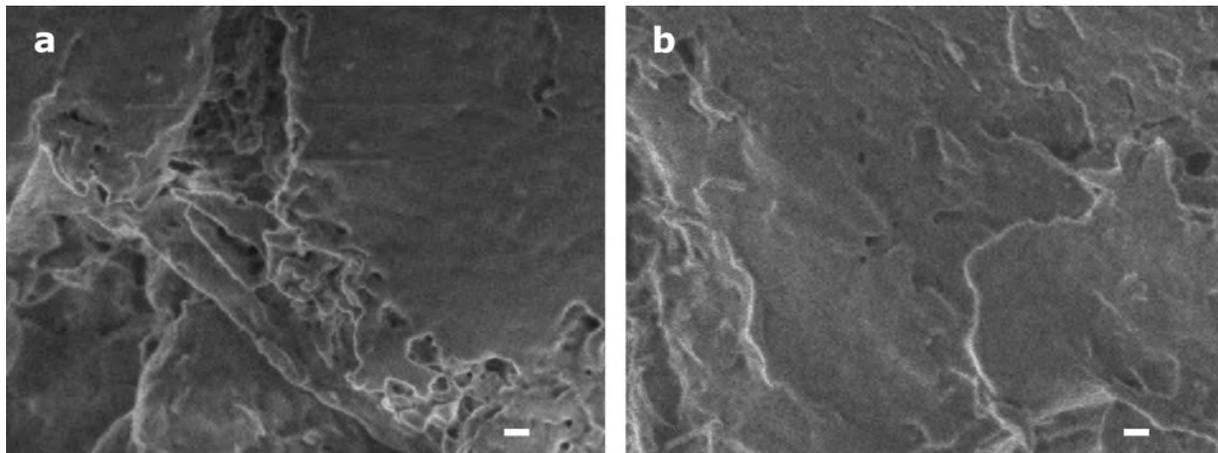
En cuanto a la mezcla mecánica, a continuación se comparan las micrografías de la MC, de la muestra con el tratamiento hidrotérmal (MC Ala-Phe) y la de la mezcla mecánica (MC Ala-Phe MM), Figura 5.15.

La muestra MC Ala-Phe tiene una superficie muy diferente de aquella de la mezcla mecánica. Mientras que en la primera se aprecian claramente fibrillas entrelazadas, en la segunda el cambio en la superficie es imperceptible o nulo.



**Figura 5.15 Micrografías (50,000x) de a) celulosa microcristalina; b) MC Ala-Phe y c) MC Ala-Phe MM. La barra equivale a 100 nm**

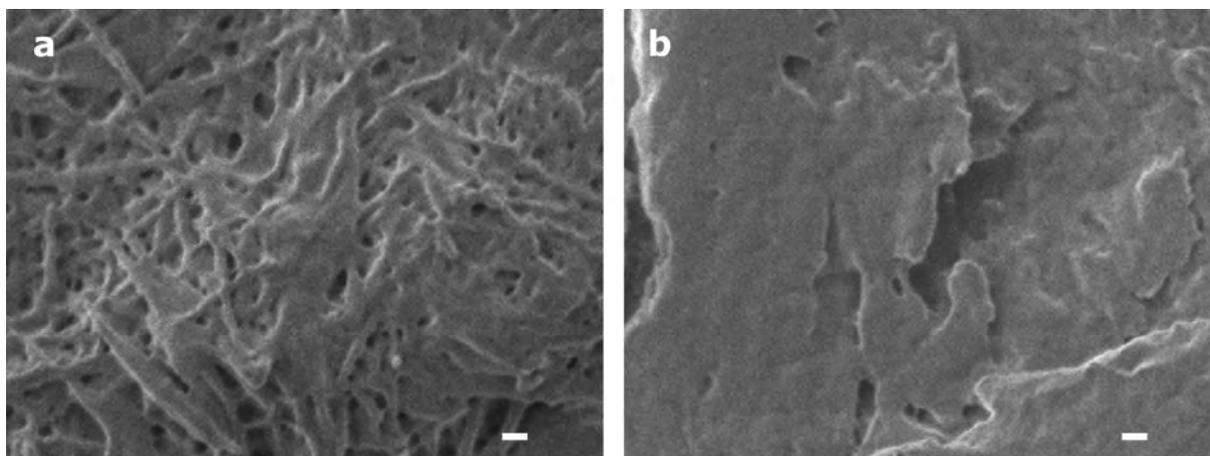
En la muestra modificada con alanina y prolina, las micrografías de la Figura 5.16.a revelan que está combinación de aminoácidos provoca daños menos severos que con la combinación alanina y fenilalanina, solamente se inducen algunos bordes y muy pocos poros, pero gran parte de la superficie tiende a ser lisa.



**Figura 5.16 Micrografías (50,000x) de a) MC modificada con alanina y prolina y b) MC Ala-Pro lavado. La barra equivale a 100 nm**

Después del lavado se obtiene una superficie irregular formada de partículas lisas que no se ordenan sino que aparecen como escamas u hojuelas desordenadas, en todo caso, nuevamente, no se regresa a un material como la MC antes de la modificación.

En la muestra modificada con prolina y fenilalanina, Figura 5.17a, se tiene un material compuesto de fibras interconectadas para resultar en un material poroso, mientras que, como en los casos anteriores, en el material lavado, Figura 5.17b, se pierde nuevamente la porosidad pero siguen existiendo esas partículas lisas desordenadas que adquieren una morfología como hojuelas irregulares.



**Figura 5.17** Micrografías de (50,000 x) a) MC modificada con prolina y fenilalanina y b) MC Pro-Phe lavado. La barra equivale a 100 nm

### **5.1.3. Textura**

Como parámetro textural se eligió la dimensión fractal (DF) que se calculó a partir de los perfiles Kratky de datos de dispersión de rayos X a bajos ángulos (SAXS) y en condiciones de la ley de Porod.

La DF debe entenderse como un parámetro físico que relaciona la superficie por unidad de volumen, es decir, la interconexión de las fibras de celulosa o bien como la rugosidad superficial.

En la Tabla 5.7 aparecen las dimensiones fractales de las muestras modificadas con aminoácidos y las respectivas muestras lavadas.

Muestra	Dimensión fractal
MC	2.1
MC Ala-Phe	2.6
MC Ala-Pro	2.3
MC Pro-Phe	2.6
MC Ala-Phe L	2.3
MC Ala-Pro L	2.2
MC Pro-Phe L	2.6

**Tabla 5.7 Dimensiones fractales de la celulosa microcristalina (MC), las muestras modificadas con aminoácidos y las muestras lavadas**

Para una superficie perfectamente lisa, la dimensión fractal es igual a 2 y aumenta conforme aumenta la rugosidad de la superficie.

En este sentido, la celulosa microcristalina es el material más liso, mientras que el tratamiento con los aminoácidos efectivamente provoca un cambio en la superficie de la celulosa microcristalina.

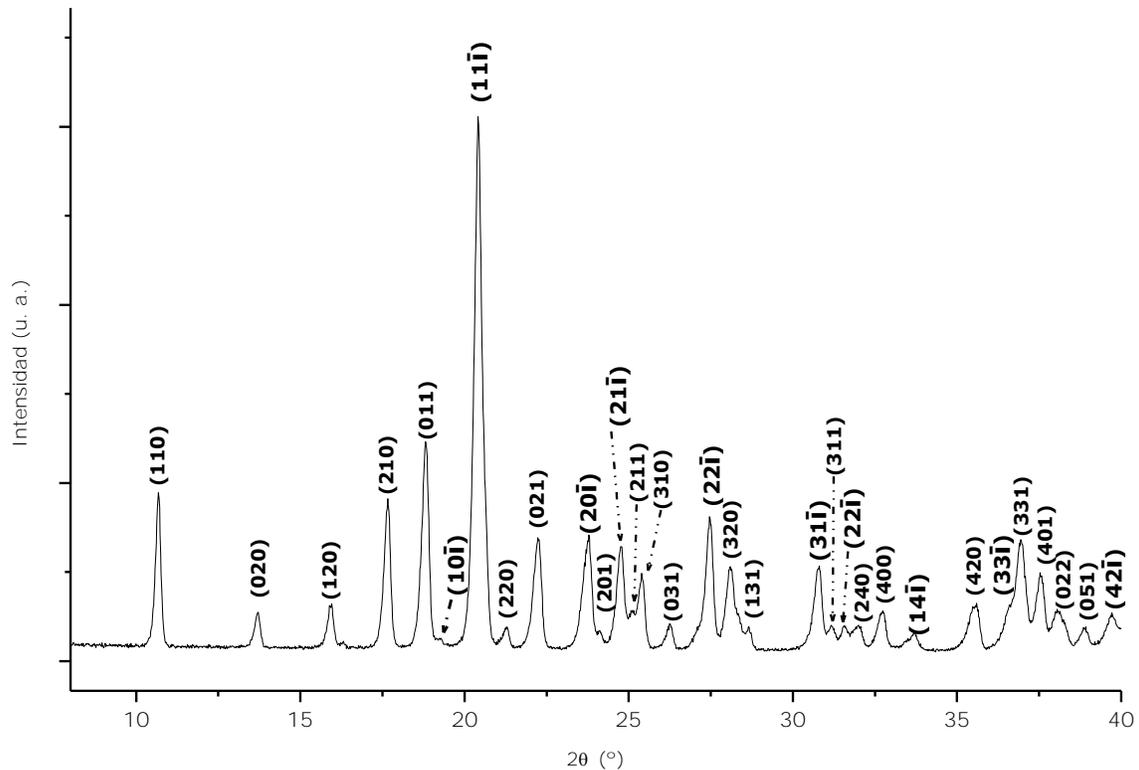
Los materiales con mayor grado de rugosidad son aquellos que se modificaron con fenilalanina. En éstos la fenilalanina podría estar interactuando por medio del anillo aromático con la superficie de la celulosa rompiendo los puentes de hidrógeno en la red de celulosa y, por lo tanto, dañando la superficie.

En resumen, es claro que la presencia de los aminoácidos provoca un cambio importante en la morfología de la celulosa microcristalina, en las muestras que contienen fenilalanina éste es más evidente, induciendo a la formación de superficies porosas. Además, aunque se pierde la porosidad en todos los materiales después del lavado ácido, no se recupera por completo la textura de la celulosa microcristalina y aún se observa daño en la superficie. Este resultado se suma a los de RMN y SEM evidenciando que no sólo la estructura y la morfología se modifican por el tratamiento con aminoácidos, sino también la textura.

## 5.2. Celobiosa microcristalina

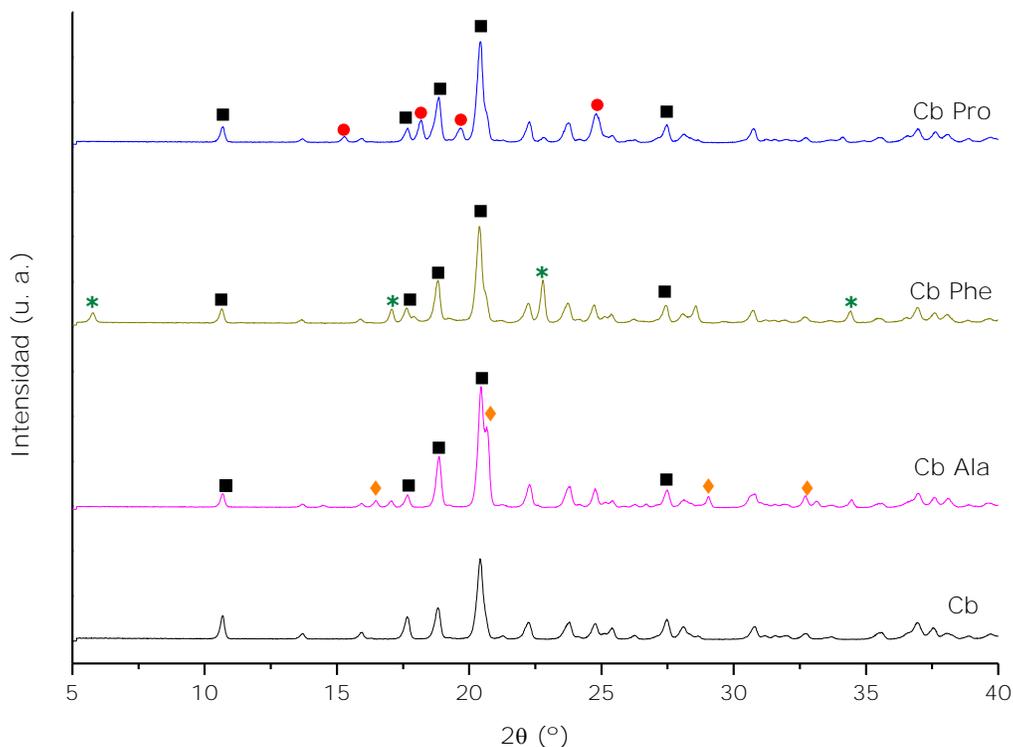
### 5.2.1. Estructura

En la Figura 5.18 se muestra el difractograma de la celobiosa, corresponde a un material cristalino, se indican los planos que corresponden a los picos de difracción principales. La asignación de los índices se llevó a cabo a través de la comparación del difractograma obtenido con el reportado en el número de PDF (Powder Diffraction File) 00-038-1803 (ver página 83).



**Figura 5.18 Difractograma de la celobiosa**

Los difractogramas de la celobiosa modificada con alanina, fenilalanina y prolina se muestran en la Figura 5.19. Se pueden distinguir e identificar algunos de los picos de la celobiosa y del aminoácido que se usó para su modificación.



**Figura 5.19 Difractogramas de celobiosa modificada con tres diferentes aminoácidos. Se indican los picos principales de (■) celobiosa, (♦) alanina, (\*) fenilalanina y (●) prolina.**

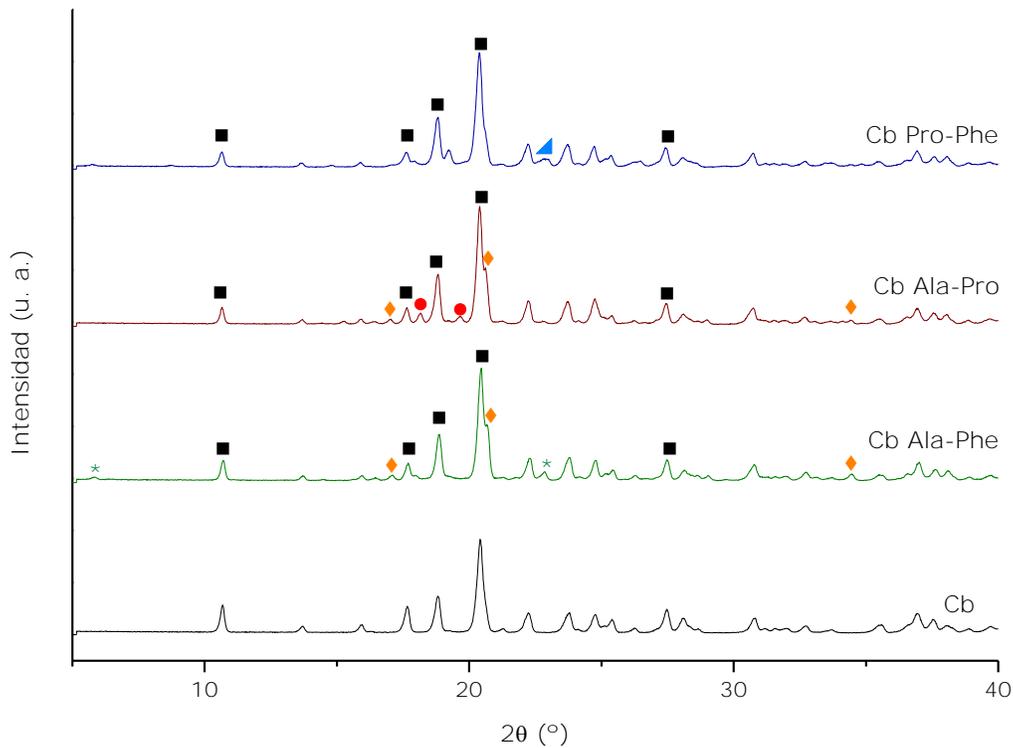
En estos difractogramas se aprecia que no hay corrimiento ni deformación en los picos de la celobiosa.

En la Tabla 5.8 se reportan las distancias interplanares de la reflexión (1 1 -1), que son de alrededor 4.3 Å y no cambian significativamente con la adición de los aminoácidos.

Muestra	(1 1 -1)	
	2θ (°)	d <sub>11-1</sub> (Å)
<b>Cb</b>	20.41	4.350
<b>Cb Ala</b>	20.44	4.343
<b>Cb Phe</b>	20.38	4.357
<b>Cb Pro</b>	20.43	4.346

**Tabla 5.8 Ángulos de difracción y distancias interplanares para la celobiosa y las muestras modificadas con un aminoácido**

Esto significa que la interacción de los aminoácidos con la celobiosa no es lo suficientemente fuerte como para modificar la estructura cristalina de la celobiosa. En este mismo sentido, en el caso de los materiales que contienen una combinación de aminoácidos (Cb Ala-Phe, Cb Ala-Pro, Cb Pro-Phe), se mantiene la estructura original de la celobiosa, Figura 5.20. También existen algunos picos de los aminoácidos presentes, sin embargo, estos son poco intensos.



**Figura 5.20** Difractogramas de la celobiosa (Cb) y la celobiosa modificada con las 3 combinaciones de aminoácidos. Se indican los picos principales de (■) celobiosa, (◆) alanina, (\*) fenilalanina y (●) prolina.

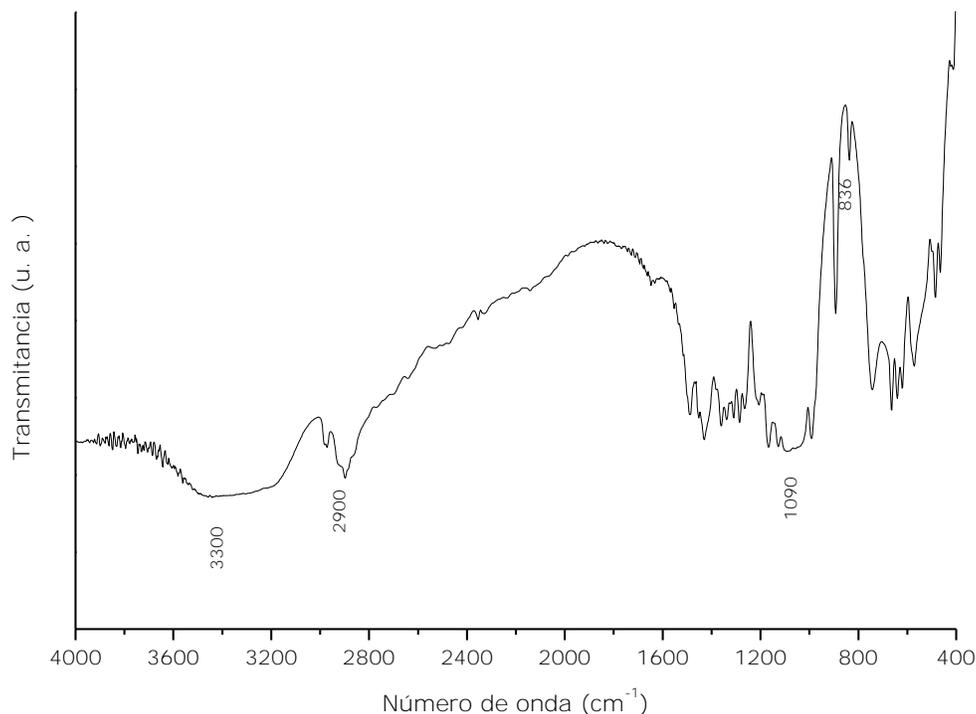
En el caso de la muestra modificada con prolina y fenilalanina aparece un pico (▲) que no es posible asignar a un solo aminoácido, sino que su presencia se debe a una contribución de ambos aminoácidos.

Al igual que en las muestras anteriores, las distancias interplanares no se ven alteradas debido a la presencia de la combinación de aminoácidos (Tabla 5.9).

	<b>(1 1 -1)</b>	
<b>Muestra</b>	$2\theta$ ( $^\circ$ )	$d_{11-1}$ ( $\text{\AA}$ )
<b>Cb Ala-Phe</b>	20.46	4.339
<b>Cb Ala-Pro</b>	20.39	4.353
<b>Cb Pro-Phe</b>	20.38	4.357

**Tabla 5.9** Ángulos de difracción y distancias interplanares para la celobiosa y las muestras modificadas con una combinación de aminoácidos

Siguiendo con la caracterización estructural, en la Figura 5.21 se muestra el espectro de infrarrojo de la celobiosa. En éste, se observan las bandas de absorción características de los oligosacáridos [52].



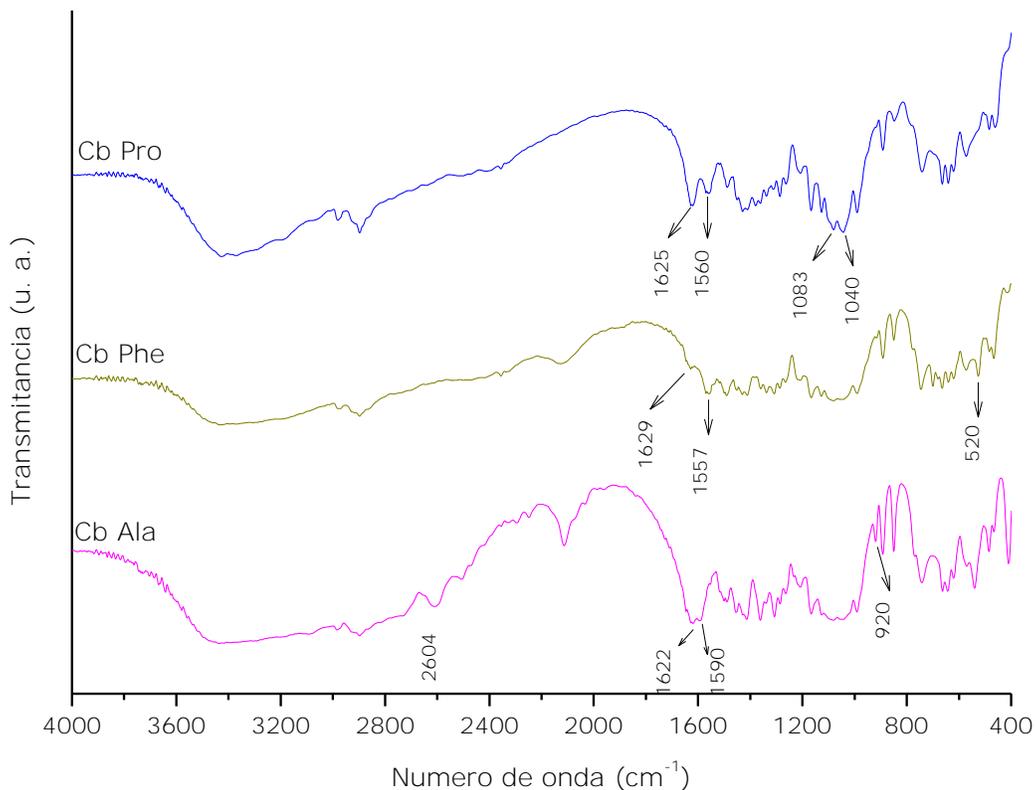
**Figura 5.21** Espectro de absorción en el infrarrojo de la celobiosa

Existe una banda ancha y profunda entre  $3600$  y  $3100\text{ cm}^{-1}$  que corresponde al estiramiento del enlace O—H. Las vibraciones de estiramiento de C—H generan una banda en  $2900\text{ cm}^{-1}$

En la región de 1200 a 950  $\text{cm}^{-1}$  se encuentran las bandas generadas por las vibraciones de estiramiento de los enlaces **C—C** y **C—O**. Entre 1105 y 1150  $\text{cm}^{-1}$  se encuentran bandas que se han asociado a la flexión de los enlaces C—O—C. Estas bandas son anchas, intensas y están muy juntas [52], [53].

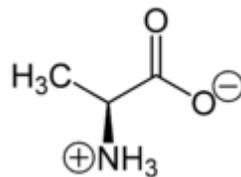
En la región de absorción de 960 a 730  $\text{cm}^{-1}$  aparecen bandas que indican que este disacárido es un  $\alpha$ -D-glucopiranosido. La característica más importante para diferenciar la presencia de la estructura de un anómero  $\alpha$  del  $\beta$ , es la banda de absorción que aparece cerca de  $844 \pm 8 \text{ cm}^{-1}$  y de intensidad moderada o fuerte y que en este caso, se presenta en  $836 \text{ cm}^{-1}$  [54].

En la Figura 5.22 se comparan los espectros de infrarrojo de la celobiosa modificada con un solo aminoácido. Se observa que aparecen las bandas características de la celobiosa así como algunas bandas correspondientes a cada aminoácido (Figura 5.3, página 38).



**Figura 5.22** Espectros de infrarrojo de la celobiosa modificada con un aminoácido

En la muestra modificada con alanina, se aprecian tres bandas que no corresponden a la celobiosa. La primera a  $2604\text{ cm}^{-1}$  que está relacionada con el **estiramiento de los enlaces N—H en  $-\text{NH}_3^+$** . La banda que aparece alrededor de  $1620\text{ cm}^{-1}$  se debe a los modos de flexión del grupo  $-\text{NH}_3^+$ . También aparece una banda en  $1590\text{ cm}^{-1}$  que se debe a los modos de estiramiento del anión carboxilato. La aparición de estas bandas confirma la forma zwitteriónica del aminoácido ya que la reacción se llevó a cabo en medio ácido ( $\text{pH}=5$ ), el cual se encuentra por debajo del punto isoeléctrico de la alanina ( $\text{pH}= 6.01$ ), por lo que la alanina se encuentra mayormente en la siguiente forma (Figura 5.23):

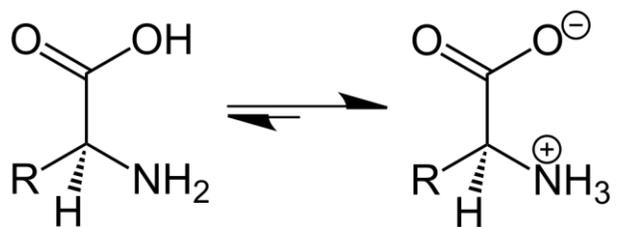


**Figura 5.23 Alanina zwitteriónica**

Además, existe un ensanchamiento entre  $2400$  y  $3400\text{ cm}^{-1}$  que se debe a la superposición de las bandas generadas por los modos de flexión de los enlaces **N—H y de C—H** [55].

Por último, la que se encuentra en  $920\text{ cm}^{-1}$  se genera debido a la flexión del grupo **—CNH** [44].

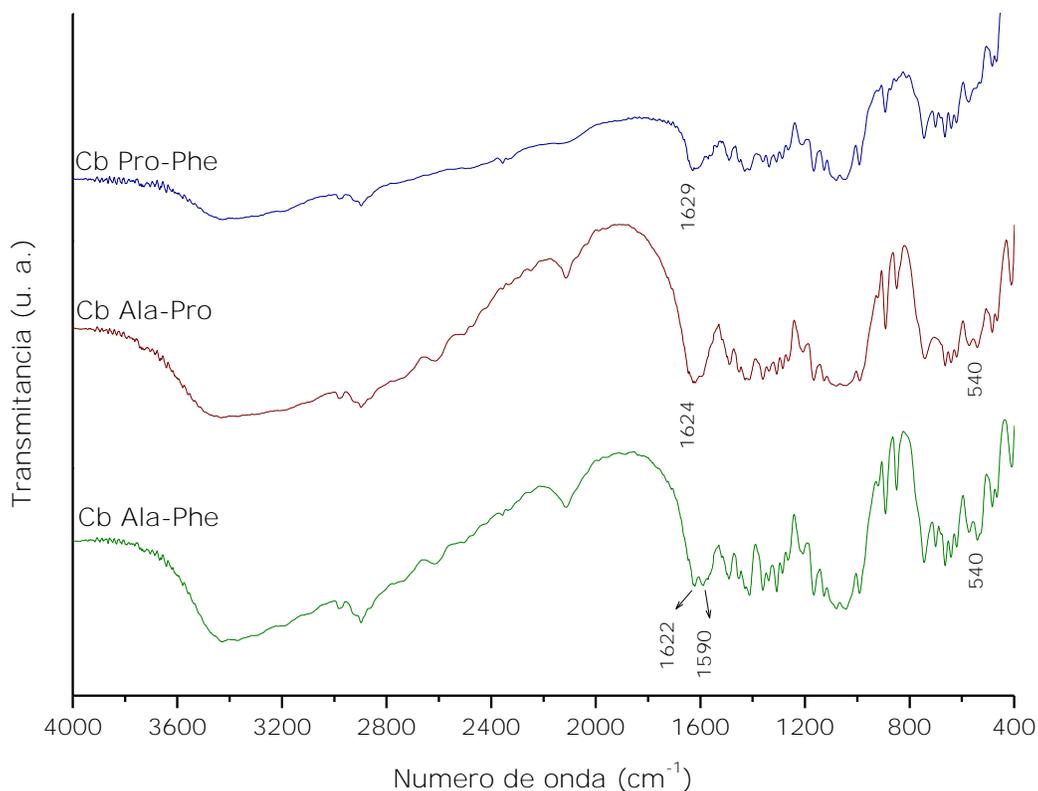
En la muestra modificada con fenilalanina se presentan tres bandas importantes ajenas a las de la celobiosa. La primera a  $1629\text{ cm}^{-1}$  relacionada con la deformación asimétrica del **grupo  $-\text{NH}_3^+$**  y la que está alrededor de  $1557\text{ cm}^{-1}$  que se debe a los **estiramientos asimétricos del grupo carboxilato  $-\text{COO}^-$** . También se encuentra una banda en  $520\text{ cm}^{-1}$  que se debe al modo de balanceo del grupo carboxilato. La presencia de estas bandas es característica de un aminoácido en su forma zwitteriónica [56], Figura 5.24.



**Figura 5.24 Esquema del equilibrio entre el aminoácido neutro y su forma zwitterionica**

La muestra que contiene prolina, también presenta dos bandas que no corresponden a la de la celobiosa. La primera alrededor de  $1625\text{ cm}^{-1}$  que se asigna a la deformación de  $\text{NH}_3^+$ , mientras que la otra se encuentra alrededor de  $1560\text{ cm}^{-1}$  y se asigna a los modos de tijeo en el plano del enlace  $-\text{NH}$  [47]. Además, aparecen dos bandas relacionadas con la presencia del anillo de la prolina, éstas se encuentran en  $1083\text{ cm}^{-1}$  (debida al estiramiento del anillo) y en  $1040\text{ cm}^{-1}$  (asignada a los modos de estiramiento de los enlaces C-C-N y C-C).

En cuanto a las muestras modificadas con dos aminoácidos, en la Figura 5.25 se muestran los espectros de infrarrojo correspondientes.

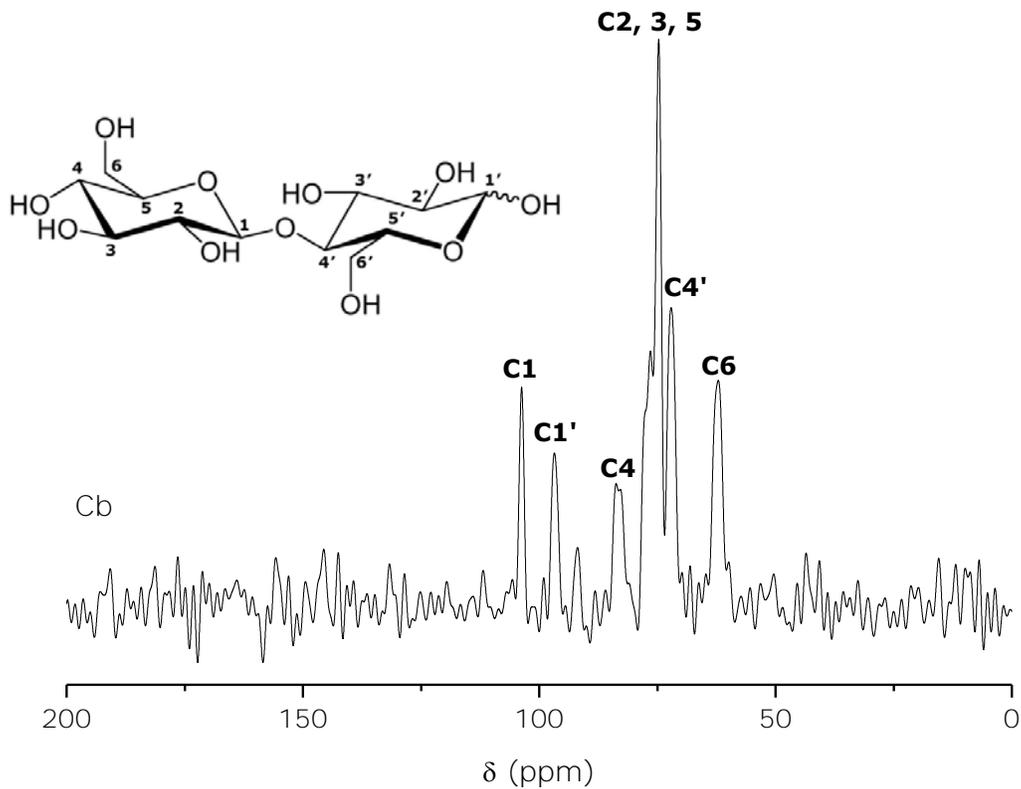


**Figura 5.25 Espectros de infrarrojo de la celobiosa modificada con dos aminoácidos**

Los espectros no difieren significativamente de los de la celobiosa, sin embargo en los tres casos aparece una banda ancha en la región de  $1620\text{ cm}^{-1}$  que se debe a la deformación de  $\text{NH}_3^+$ .

Además en las muestras Cb Ala-Phe y Cb Ala-Pro aparece una banda en  $540\text{ cm}^{-1}$  que corresponde al modo de balanceo del grupo carboxilato.

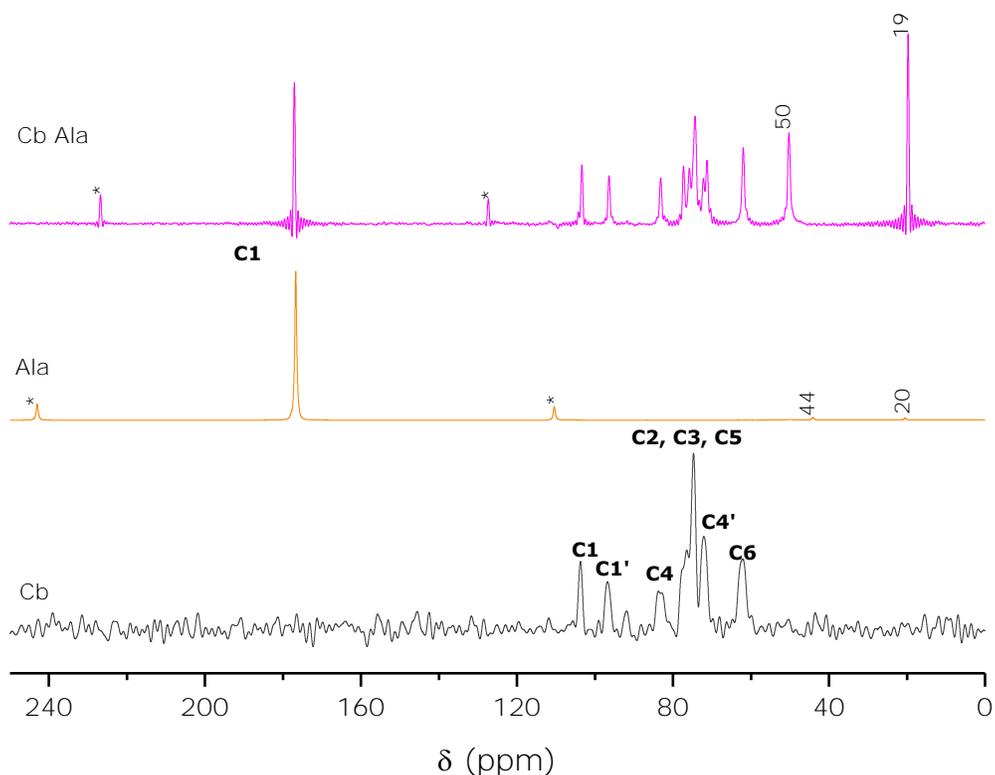
Con el propósito de buscar concluir sobre las interacciones celobiosa-aminoácidos, a continuación se analizan los resultados de RMN. En la Figura 5.26 aparece el espectro  $^{13}\text{C}$  CP-MAS RMN de la celobiosa y su estructura indicando los diferentes tipos de carbono.



**Figura 5.26 Espectro de  $^{13}\text{C}$  CP-MAS RMN y estructura de la celobiosa**

Los desplazamientos químicos se asignaron a los diferentes carbonos que conforman la celobiosa de acuerdo a la estructura que aparece en la Figura 5.26 y corresponden a los que se han reportado en la literatura [57], [58].

En la Figura 5.27 se muestran los espectros  $^{13}\text{C}$  CP-MAS RMN de la alanina y de la celobiosa modificada con este aminoácido.



**Figura 5.27** Espectro de  $^{13}\text{C}$  CP-MAS RMN de celobiosa (Cb) alanina (Ala) y celobiosa modificada con este aminoácido (Cb Ala). Los asteriscos (\*) indican bandas de rotación (5kHz)

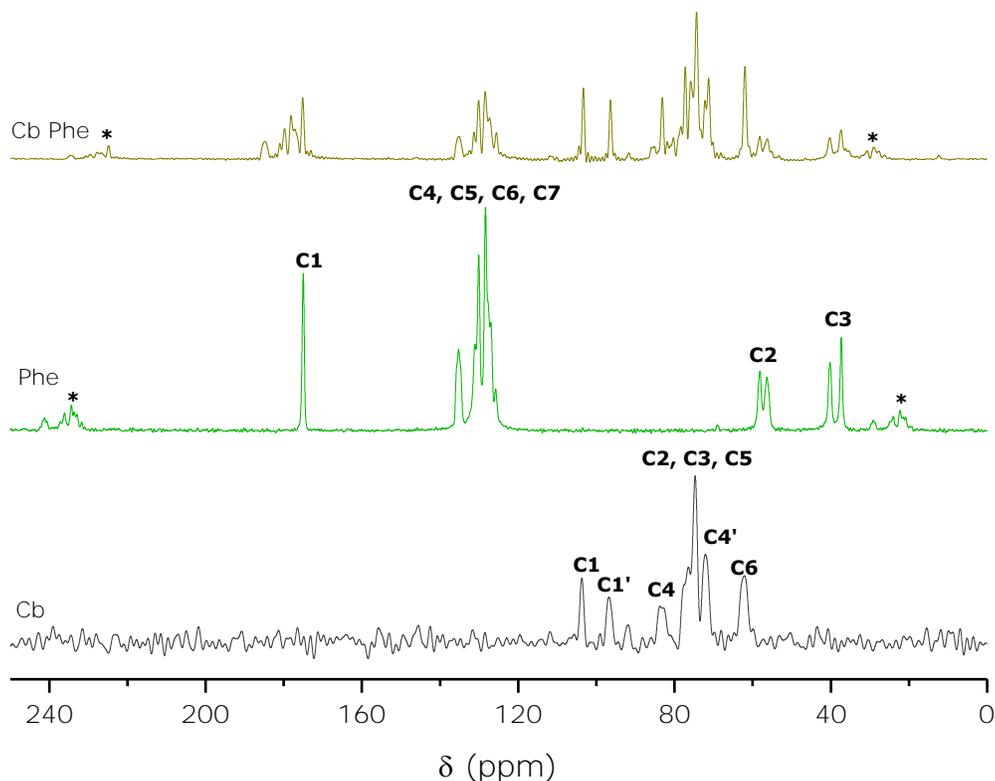
En el espectro de Cb Ala aparecen los picos tanto de la celobiosa como de la alanina. Los picos de la celobiosa correspondientes a C1, C1', C4 y C6 no se modifican en intensidad ni en posición. Los picos correspondientes a C2, C3 y C4' ahora aparecen más definidos.

También se aprecian los picos correspondientes a la alanina. En el espectro del material modificado, la señal del C3 de la alanina es mucho más intensa que la del C1, lo contrario a lo que se observa en el espectro del aminoácido puro. Esto confirma que los procesos de relajación cambian debido a la interacción que existe con la celobiosa; la señal fina e intensa del carbono C3 sugiere que el metilo tiene más movilidad cuando está interactuando con la celobiosa, en otras palabras el carbono C1 de la alanina es el que debe estar interaccionando con la superficie del material.

Además, existe una modificación en los desplazamientos químicos de la alanina en la muestra modificada. El C2 pasa de 44 a 50 ppm y el C3 se mueve de 20 a 19

ppm, es decir que las interacciones celobiosa-alanina hacen que el carbono que enlaza a la alanina se apantalle y el metilo se desapantalle, evidentemente esto es la consecuencia de una interacción dipolar  $(NH_2)_{aminoácido} - (OH)_{celobiosa}$ .

Los espectros de la fenilalanina (Phe) y la celobiosa modificada con este aminoácido aparecen en la Figura 5.28.



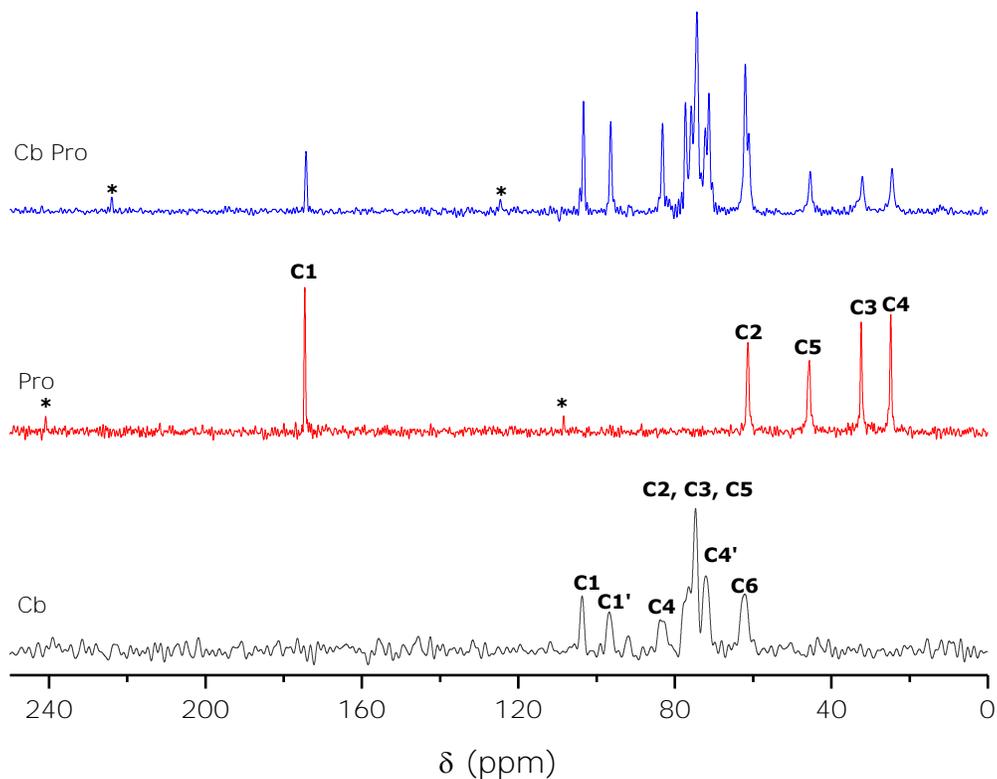
**Figura 5.28 Espectro de  $^{13}C$  CP-MAS RMN de celobiosa (Cb), fenilalanina (Phe) y celobiosa modificada con este aminoácido (Cb Phe). Los asteriscos (\*) indican bandas de rotación (5 kHz)**

Los picos de la celobiosa correspondientes a C1, C1' y C6 no se modifican en intensidad ni en posición, mientras que los correspondientes a C2, C3, C4 y C4' ahora aparecen más definidos.

En el espectro de Cb Phe el pico correspondiente al C1 de la fenilalanina se desdobra en cuatro picos que aparecen en campos más altos (184, 179, 178 y 175 ppm), indicando que existen diferentes tipos de interacciones para el carbono del grupo ácido de la fenilalanina con la superficie de la celobiosa.

En cuanto a los picos correspondientes al anillo aromático de la fenilalanina (C4, 5, 6 y 7), en la muestra modificada son tan intensos como los del C1 del aminoácido. Estos cambios pueden deberse a la interacción del anillo aromático con la superficie de la celobiosa ya que la estructura planar del anillo de fenilalanina favorece las interacciones entre la superficie del material y el aminoácido.

En la Figura 5.29 se muestran los espectros de la prolina y de la celobiosa modificada con este aminoácido.



**Figura 5.29** Espectro de  $^{13}\text{C}$  CP-MAS RMN de celobiosa (Cb) prolina (Pro) y celobiosa modificada con este aminoácido (Cb Pro). Los asteriscos (\*) indican bandas de rotación (5 kHz)

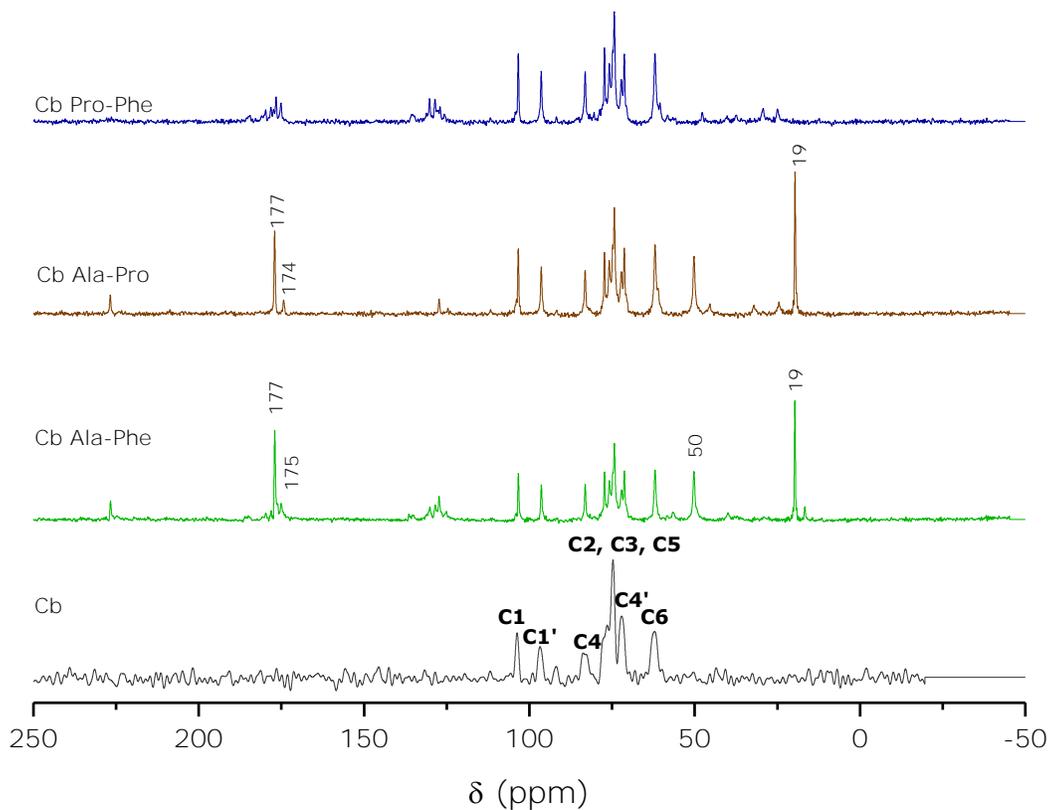
En el espectro del material modificado con prolina se conservan los picos de la celobiosa. No ocurren cambios en los desplazamientos químicos, sin embargo, los picos son más definidos.

El pico correspondiente al C2 de la prolina es más intenso que el del C1 en el espectro del material modificado, mientras que en el espectro del aminoácido puro

se observa lo contrario. Esto puede atribuirse a que el C1 de la prolina, relacionado al grupo carbonilo, interacciona con la superficie de la celobiosa, probablemente debido a interacciones tipo puentes de hidrógeno, lo que cambia el proceso de relajación de la señal RMN.

Ahora, se analizarán los datos de los materiales modificados con una combinación de dos aminoácidos.

En la Figura 5.30 se muestran los espectros de  $^{13}\text{C}$  CP-MAS RMN de la celobiosa sin modificar y de los materiales modificados con una combinación de dos aminoácidos.



**Figura 5.30 Espectro de  $^{13}\text{C}$  CP-MAS RMN de celobiosa (Cb), y celobiosa modificada con alanina-fenilalanina (Cb Ala-Phe), alanina-prolina (Cb Ala-Pro) y prolina-fenilalanina (Cb Pro-Phe)**

En los espectros de las muestras modificadas aparecen todos los picos relacionados con la celobiosa, sin embargo en éstas están más definidos que en el espectro del material sin modificar, esto se debe a que los puentes de hidrógeno que existen

entre los dímeros de celobiosa se rompen cuando los aminoácidos se adsorben sobre la superficie del material y por lo tanto éstos tienen mayor movilidad.

En el espectro de Cb Ala-Phe existen dos picos en la región comprendida entre 150 y 200 ppm, que pueden relacionarse con los grupos ácidos de cada aminoácido. Uno se encuentra a 177 y el otro a 175 ppm.

Las señales relacionadas con la fenilalanina son débiles, mientras que en la región entre 0 y 50 ppm aparecen dos picos relacionados con el C2 y el C3 de la alanina, el más intenso ubicado en 19 ppm. El pico del C2 aumenta su desplazamiento químico significativo de 44 a 50 ppm, mientras que el pico del C3 disminuye ligeramente de 20 a 19 ppm, al igual que en la muestra modificada solamente con alanina, las interacciones celobiosa-alanina hacen que el carbono que enlaza a la alanina se desapantalle y el metilo se blinde, consecuencia de una interacción dipolar  $(NH_2)_{aminoácido} - (OH)_{celobiosa}$ .

Para la muestra modificada con alanina y prolina, Cb Ala-Pro, entre 150 y 200 ppm aparecen dos picos relacionados con los grupos ácidos de cada aminoácido, el más intenso corresponde a la alanina. De la misma manera que en muestras anteriores, existe un cambio en el desplazamiento químico del pico del C3 de la alanina, y pasa de 20 a 19 ppm. Además, en el espectro del material modificado este pico es más intenso que el del C1, confirmando que el C1 de la alanina interacciona con la superficie de la celobiosa.

En el espectro de Cb Pro-Phe aparecen 4 picos poco intensos en la región entre 150 y 200 ppm (al igual que en el espectro del material tratado solamente con fenilalanina, Figura 5.28) y que corresponden a los grupos ácidos de los aminoácidos. La aparición de diferentes picos en la misma región indica que existen diferentes tipos de interacciones entre este carbono y la superficie del material.

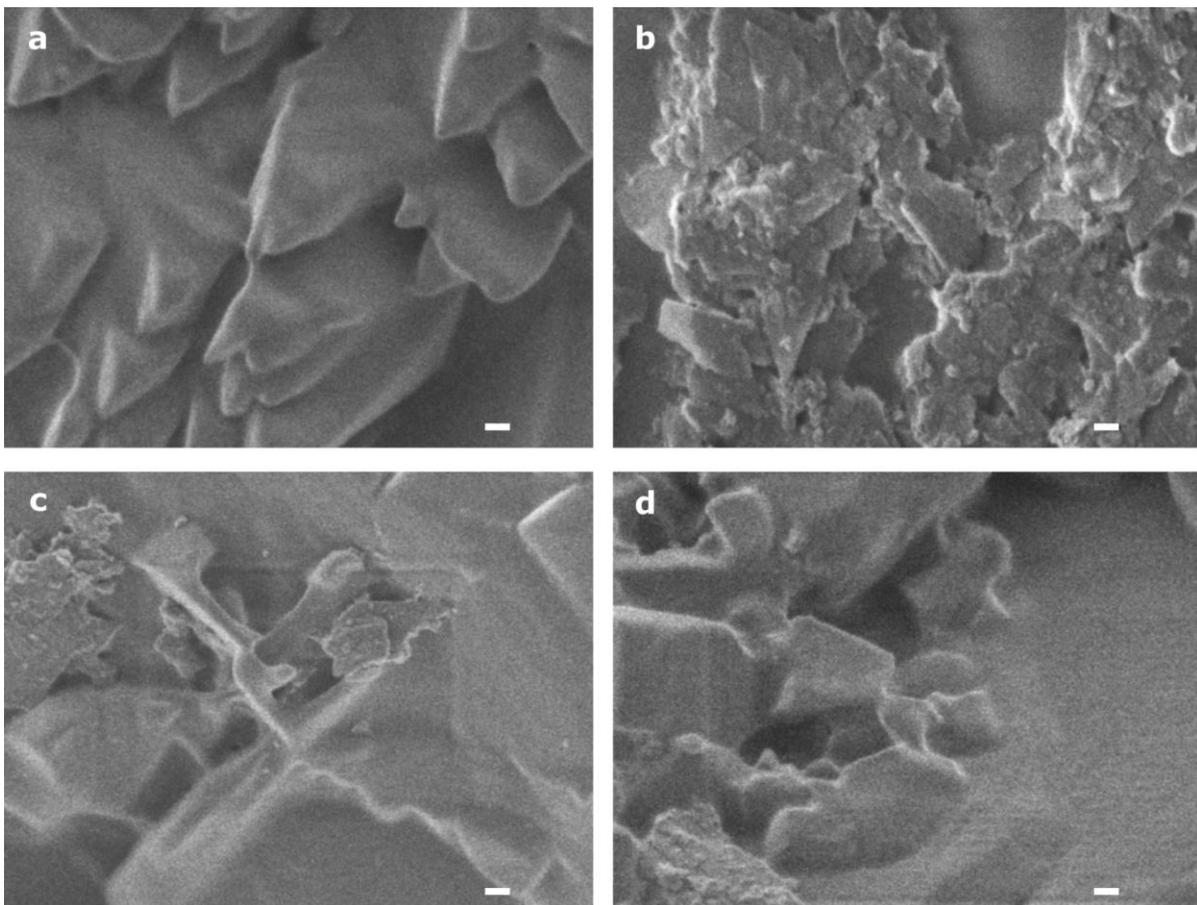
### **5.2.2. Morfología**

La celobiosa sin modificar consiste en partículas grandes, lisas, que terminan en punta no redondeada, como se muestra en la Figura 5.31a.

Al modificar el material con los aminoácidos se producen cambios sustanciales en la superficie, el más evidente es el del material con alanina, Figura 5.31b. En este

material las partículas grandes lisas se erosionan para dar un gran número de partículas al menos diez veces más chicas que antes de la modificación, no se apilan ordenadamente sino que se forman bordes y relieves generando una superficie rugosa.

La superficie de los materiales modificados con fenilalanina y prolina solamente presentan algunas partes ligeramente rugosas, Figura 5.31c y Figura 5.31d, respectivamente. En general estos materiales conservan la textura original de la celobiosa.

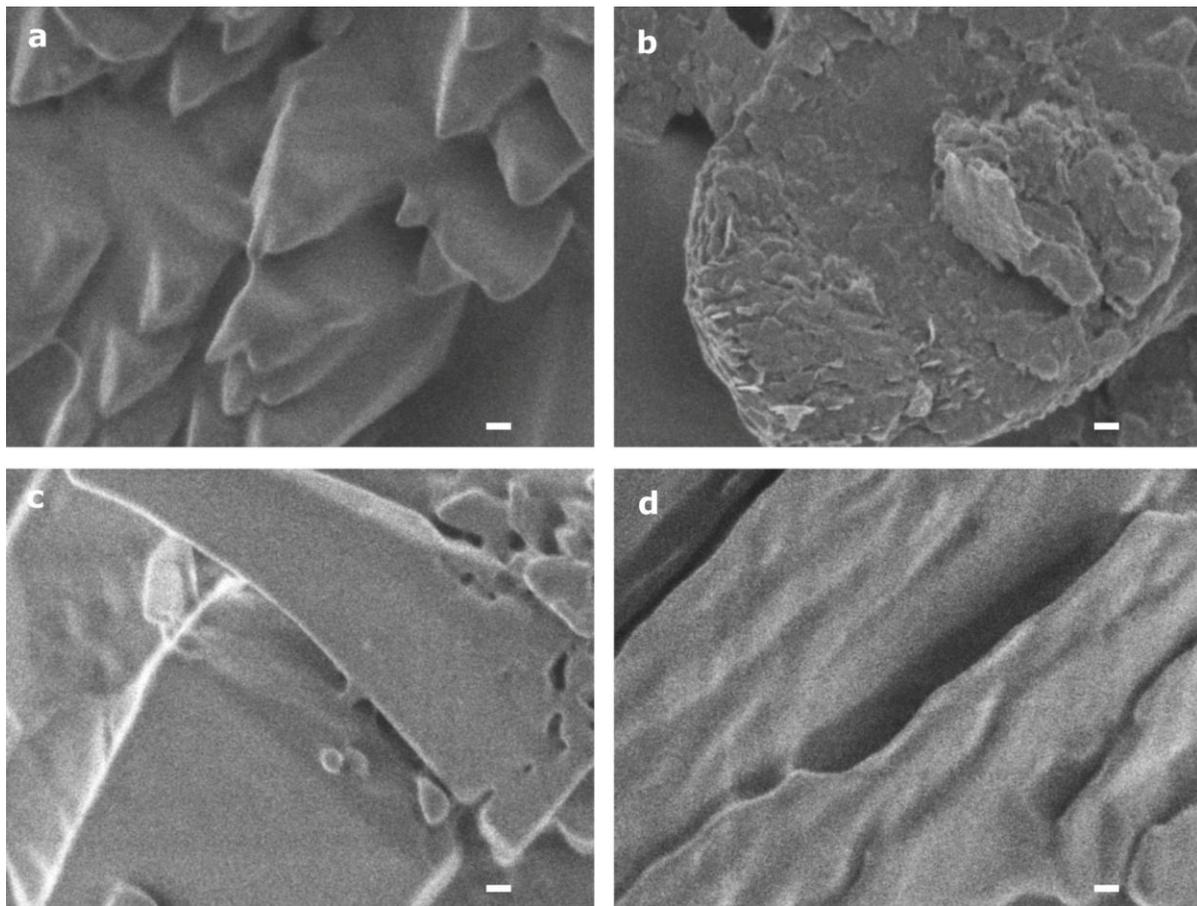


**Figura 5.31** Micrografías (50,000x) de a) Celobiosa y celobiosa modificada con b) alanina, c) fenilalanina y d) prolina. La barra equivale a 1000 nm y es válida para todas las imágenes

Entre los materiales modificados con dos aminoácidos, el que presenta los cambios más severos es el modificado con alanina y fenilalanina, Figura 5.32b, en donde se aprecia que las partículas dejaron de ser lisas para formar una superficie escamosa,

muy rugosa. El material modificado con alanina y prolina, Figura 5.32c, tiende a mantener las partículas grandes y lisas aunque muy pocas partículas de menor tamaño pueden observarse depositadas entre las partículas más grandes, es decir una disgregación menor ocurrió.

Ahora, la modificación con prolina y fenilalanina, Figura 5.32d. hace que la morfología sea diferente a las otras tres muestras, parecen formarse placas o fibras que se alinean como para formar canales o surcos.



**Figura 5.32** Micrografías (50,000x) de a) Celobiosa y celobiosa modificada con b) alanina-fenilalanina, c) alanina-prolina y d) prolina-fenilalanina. La barra equivale a 1000 nm y es válida para todas las imágenes

### **5.2.3. Textura**

Al igual que las muestras de celulosa modificadas, también se comparan las dimensiones fractales de los materiales en la Tabla 5.10.

Muestra	Dimensión fractal
Cb	2
Cb Ala	2.3
Cb Phe	2.5
Cb Pro	2.2
Cb Ala-Pro	2.3
Cb Ala-Phe	2.6
Cb Pro-Phe	2.5

**Tabla 5.10 Dimensiones fractales de celobiosa (Cb), muestras de celobiosa modificada con un solo aminoácido y muestras modificadas con una combinación de aminoácidos**

Los resultados de SAXS muestran, al igual que con la celulosa, que el aminoácido que más modifica la superficie del material es la fenilalanina. Sin embargo, los materiales con mayor rugosidad son aquéllos que utilizan una combinación de aminoácidos (Cb Ala-Phe y Cb Pro-Phe).

En resumen, de las muestras modificadas con un solo aminoácido, la que presenta mayor daño a nivel morfológico es la que contiene fenilalanina, como ya se ha reportado para la celulosa [42].

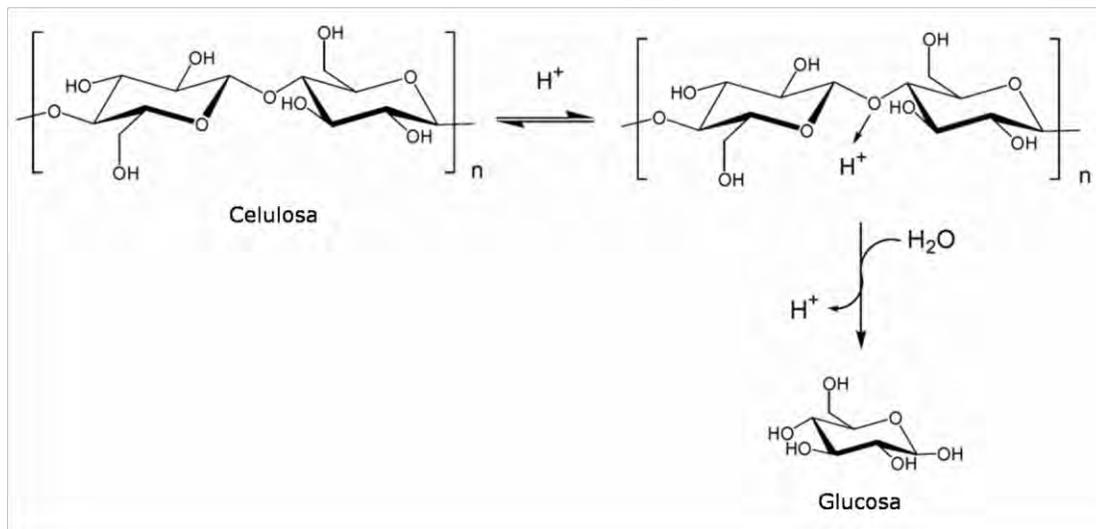
De la misma manera, de las muestras modificadas con dos aminoácidos, las que presentan mayor cambio en su superficie son las que contienen fenilalanina (Cb Ala-Phe y Cb Pro-Phe) Figura 5.32b y Figura 5.32d.

Una observación notable es que, en general, las DF de las muestras de celulosa modificadas son mayores que las de celobiosa modificada, es decir que las cadenas largas de celulosa microcristalina favorecen el entrecruzamiento o aumento de rugosidad cuando interactúan con los aminoácidos.

## 5.3. Degradación catalítica

### 5.3.1. Celulosa

La evaluación de la reactividad del material se realizó con la reacción de hidrólisis ácida.



**Figura 5.33 Hidrólisis ácida de la celulosa**

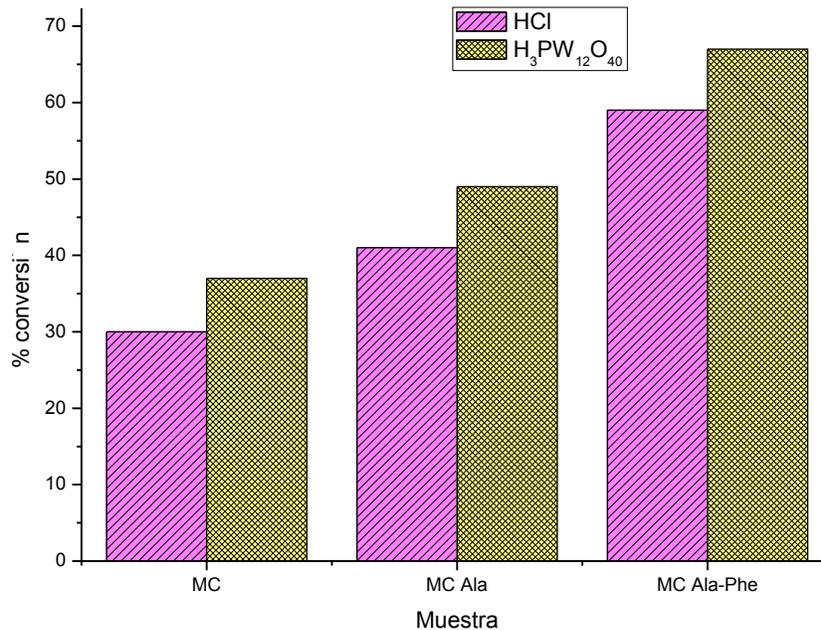
Los ácidos utilizados, como se mencionó en la sección 4.3, fueron ácido clorhídrico (HCl) y ácido tungstofosfórico ( $H_3PW_{12}O_{40}$ ).

Esta parte de la tesis trata de ejemplificar que el daño provocado por el tratamiento con aminoácidos modifica la reactividad de los materiales celulósicos. Así, los materiales que se sometieron a degradación catalítica se seleccionaron como aquellos que presentaron mayor daño superficial, de acuerdo a los resultados de microscopía electrónica de barrido.

En un trabajo anterior se realizó la caracterización del material MC Ala [38]. Este material no presentó cambios estructurales significativos en difracción de rayos X ni en espectroscopía de absorción en el infrarrojo. Sin embargo, la espectroscopía de resonancia magnética nuclear confirma la adsorción de alanina sobre la celulosa y la microscopía electrónica de barrido muestra daño superficial considerable.

Además, se ha reportado que, bajo las mismas condiciones de reacción, sin presencia de catalizador la celulosa no se hidroliza a glucosa [32].

En la Figura 5.34 se muestran las conversiones de las tres muestras de celulosa, MC, MC Ala y MC Ala-Phe, sometidas a reacción, ya sea con el catalizador en fase líquida (HCl) o bien en fase sólida ( $H_3PW_{12}O_{40}$ ).



**Figura 5.34 Conversión de celulosa microcristalina y MC modificada**

Independientemente del ácido utilizado para catalizar la reacción, siempre las muestras modificadas alcanzan un grado de conversión mayor, en el caso de la catálisis con HCl la conversión de MC alcanza el 30%, valor dentro del intervalo reportado para este tipo de materiales (25.6 % a 180 °C y 2 h de reacción, [32]), pero se convierte casi el doble (58%) cuando se modifica previamente con Ala-Phe. Cuando se modifica sólo con alanina se alcanza también una mayor conversión que MC sin modificar, en este caso el incremento es del 19%.

Los resultados de la modificación mostraron que la superficie de la celulosa puede alterarse y los resultados de catálisis muestran que esta modificación es suficiente para aumentar su degradación hacia glucosa. Los aminoácidos adsorbidos en la superficie del material modifican probablemente la red de puentes de hidrógeno, abriendo zonas reactivas en la celulosa.

De los resultados de microscopía, el cambio más significativo en la superficie del material se presentó en los materiales que contienen fenilalanina. Esto dio como resultado una superficie más reactiva, al menos en la reacción de hidrólisis. Aún cuando antes se había mostrado que la modificación de MC con algunos aminoácidos [42], aumenta la reactividad en la reacción oxidación de MC a ácido glucónico, debe enfatizarse que antes de la oxidación debe ocurrir la hidrólisis y los resultados reportados en esta sección son consistentes con los reportados por Hernández y colaboradores.

Ahora, el  $H_3PW_{12}O_{40}$  es mejor catalizador que el HCl, incluso la MC sin modificar aumenta su conversión en 7% cuando se usa este heteropoliácido. Además, se sigue la tendencia de que el tratamiento con aminoácidos aumenta la conversión, llegando nuevamente a su máximo, 68%, cuando se usan dos aminoácidos para su modificación.

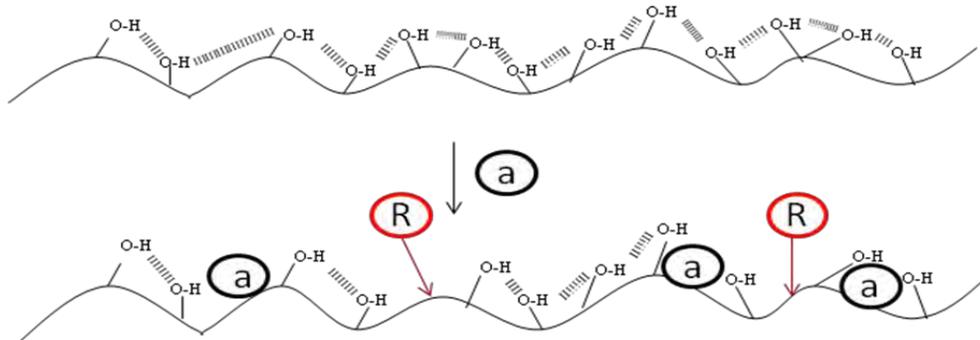
Ahora, la conversión no es sinónimo de tener un proceso catalítico eficiente totalmente. En la Tabla 5.11 se reporta el porcentaje de glucosa obtenida a partir de la celulosa microcristalina y las dos muestras de material modificado. La cantidad de glucosa producida es pobre, sobre todo en el material sin modificar. Aún así, el porcentaje de glucosa producida alcanza un valor más alto si compara con los mejores resultados de la literatura [32], obtenidos en condiciones similares, pero sumado a la muy buena conversión obtenida, hacen de este procedimiento un excelente inicio para incrementar la reactividad de la celulosa.

<b>Muestra</b>	<b>Porcentaje de glucosa (%)</b>	
	HCl	$H_3PW_{12}O_{40}$
<b>MC</b>	2	7
<b>MC Ala</b>	5	14
<b>MC Ala-Phe</b>	6	20

**Tabla 5.11 Porcentaje de glucosa obtenida durante la hidrólisis ácida de la celulosa**

Los resultados de caracterización y reactividad sugieren que la superficie de la celulosa puede modificarse para aumentar su conversión hacia glucosa. Los aminoácidos en la superficie modifican probablemente la red de puentes de

hidrógeno como se esquematiza en la Figura 5.35. Algunos puentes de hidrógeno pueden romperse por efecto de la adsorción de los aminoácidos con grupos polares, abriendo entonces zonas reactivas (R) en la celulosa.

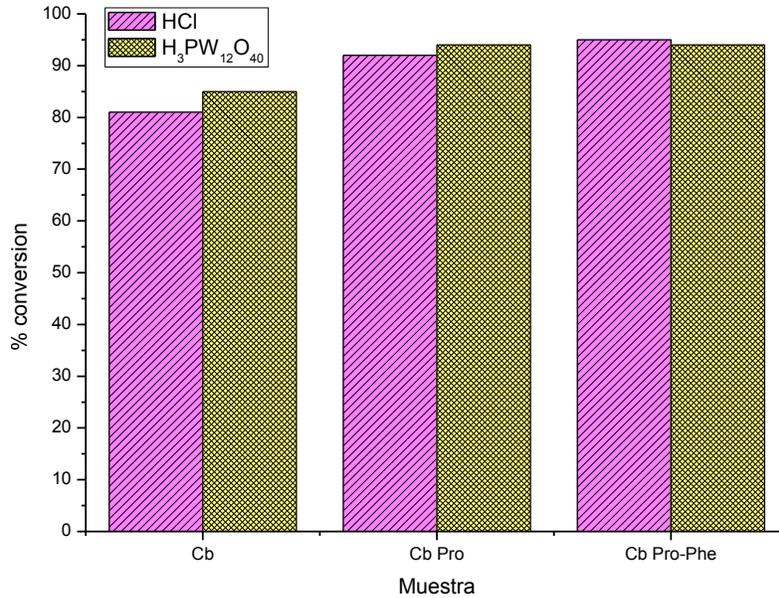


**Figura 5.35 Esquema de la superficie de la celulosa modificada con aminoácidos. "a" se refiere a los aminoácidos y "R" se refiere a las zonas reactivas de la celulosa**

La reacción de hidrólisis que presenta mejores resultados en cuanto a conversión de la celulosa y a la selectividad hacia la glucosa es la que se lleva a cabo con  $H_3PW_{12}O_{40}$  y los materiales modificados con alanina y fenilalanina.

### **5.3.2. Celobiosa**

La Figura 5.36 resume las actividades catalíticas observadas para una serie de muestras de celobiosa. Las conversiones que se alcanzaron son significativamente más altas que las que se obtuvieron para MC, independientemente del catalizador, se convierte más del 90% de celobiosa, lo que era de esperarse ya que es un dímero, no un polímero complejo como la celulosa.



**Figura 5.36 Conversión de celobiosa y Cb modificada**

Esta vez, la modificación con aminoácidos no tiene un efecto claro y significativo sobre la cantidad total de celulosa convertida, la diferencia máxima es de 12% entre Cb catalizada por HCl y Cb Pro-Phe catalizada por HCl.

Por otra parte, en donde sí es clara una influencia de la modificación es en la selectividad hacia glucosa, obteniéndose selectividades más bajas cuando no se modifica con aminoácidos. Además, las selectividades hacia glucosa más altas hacia se obtienen con el heteropoliácido como catalizador, Tabla 5.12. Otros productos observados, no cuantificados por separado, fueron fructosa, hidroximetilfurfural y ácido fórmico.

Muestra	Porcentaje de glucosa (%)	
	HCl	H <sub>3</sub> PW <sub>12</sub> O <sub>40</sub>
<b>Cb</b>	60	76
<b>Cb Pro</b>	65	84
<b>Cb Pro-Phe</b>	78	87

**Tabla 5.12 Porcentaje de glucosa obtenida durante la hidrólisis ácida de la celobiosa**

De los resultados presentados se concluye que para hidrolizar celobiosa y obtener alta producción de glucosa es mejor modificarla con prolina y fenilalanina y usar  $H_3PW_{12}O_{40}$  como catalizador. El hecho de que la producción de glucosa sea una función del catalizador y de la modificación de celobiosa, puede explicarse por dos razones:

- 1) La naturaleza del catalizador. HCl, un ácido fuerte, se disocia completamente y la reacción prácticamente se cataliza homogéneamente, con un medio enriquecido en  $H^+$  que son capaces de catalizar la reacción de hidrólisis pero también una segunda reacción, de deshidratación que conduce a la formación de hidroximetil-furfural que a su vez nuevamente se puede hidrolizar para formar ácidos carboxílicos.
- 2) La modificación con aminoácidos. Implica que en medio ácido, débil o fuerte, siempre y cuando existan  $H^+$ , se establece un equilibrio entre la forma neutra y cargada del aminoácido, disminuyendo la cantidad de  $H^+$  que pudieran catalizar las reacciones que siguen a la hidrólisis primaria, aunque no evitan el equilibrio entre glucosa y fructosa.

## 6. Conclusiones

En este trabajo se modificó celulosa microcristalina con tres combinaciones de aminoácidos: alanina-prolina, alanina-fenilalanina, prolina-fenilalanina.

Además, se modificó celobiosa con los tres aminoácidos por separado (alanina, fenilalanina y prolina) y con las tres combinaciones utilizadas en la celulosa.

La adsorción de los aminoácidos no es suficiente para dañar la estructura primaria de los materiales celulósicos pero sí induce modificaciones significativas a nivel superficial, tanto en celobiosa como en celulosa.

El grado en el que se modifica la superficie depende de la configuración que adopta el aminoácido cuando se adsorbe en el material celulósico. Las celulosas que presentaron mayores cambios texturales fueron los que se modificaron con una combinación de dos aminoácidos y específicamente cuando uno de ellos fue fenilalanina. En estos materiales, la adsorción de este aminoácido se favorece vía interacciones con la parte plana de la molécula.

Los aminoácidos interaccionan débilmente con la superficie de celulosa, de tal manera que un lavado con una solución ácida es suficiente para dejar a celulosa libre de aminoácidos. No obstante, después de la desorción de los aminoácidos no se recupera la superficie de la celulosa original sino que el daño superficial/textural es permanente.

En el caso de las celobiosas, sus superficies se deterioran en mayor grado cuando se modifican con moléculas pequeñas, como la alanina, en estos casos, la parte polar de la alanina se estabiliza interaccionando con los grupos hidróxido de la celobiosa.

La modificación superficial que la celobiosa y celulosa experimentaron como consecuencia de la adsorción de aminoácidos es suficiente para incrementar su reactividad. En el caso de la celulosa, el incremento en su reactividad se ve reflejado directamente en su mayor conversión cuando se hidroliza en la presencia de HCl o  $H_3PW_{12}O_{40}$ . La degradación catalítica de la celulosa es más fácil y selectiva a glucosa cuando la celulosa se modifica simultáneamente con alanina y fenilalanina y el catalizador es  $H_3PW_{12}O_{40}$ . En cambio, la hidrólisis catalítica de la celobiosa es prácticamente independiente de la modificación con aminoácidos y del catalizador

usado. No obstante, la modificación tiene un efecto significativo en la producción de glucosa. Si se quiere lograr una alta conversión de celobiosa y una alta producción de glucosa, es recomendable modificar a la celobiosa con prolina y fenilalanina y llevar a cabo la reacción en presencia de  $H_3PW_{12}O_{40}$ .

## 7. Apéndice

### 7.1. Tarjeta de identificación de la celobiosa

Pattern: 00-038-1803		Radiation = 1.540600		Quality: Calculated		
C <sub>12</sub> H <sub>22</sub> O <sub>11</sub>		2θ	i	h	k	l
Cellobiose		8.052	3	1	0	0
		10.527	20	1	1	0
		13.582	12	0	2	0
		15.293	7	1	0	0
		17.523	9	2	1	1
		18.897	49	0	1	1
		19.100	1	1	0	-1
		20.282	100	1	2	0
		21.141	1	2	2	0
		22.133	14	0	2	-1
		23.850	20	2	0	-1
		24.000	2	2	0	-1
		24.827	10	2	1	-1
		24.984	8	2	1	0
		25.274	6	3	1	0
		26.838	0	2	2	-1
		27.381	16	3	2	0
		27.947	10	3	3	-1
		28.236	6	1	3	-1
		30.045	11	3	1	-1
		31.060	4	2	2	-1
		31.430	2	2	3	-1
		31.890	2	2	4	0
		32.618	4	4	0	-1
		33.550	3	4	4	0
		35.481	4	4	2	2
		35.922	1	0	1	-1
		36.435	5	3	3	-1
		36.790	11	3	3	1
		37.442	5	4	0	1
		37.917	10	0	2	2
		38.749	3	0	3	-1
		39.546	4	4	4	1
		40.004	4	4	2	-1
		40.914	2	3	4	-1
		41.484	4	0	5	0
		41.806	1	1	6	0
		42.340	4	1	6	0
		43.059	2	4	4	0
		43.539	2	3	1	-2
		45.139	2	0	4	2
		45.268	3	3	2	-2
		45.863	4	3	2	2
		46.309	2	5	3	0
		46.989	1	4	4	-2
		47.986	1	3	3	0
		48.679	4	3	6	0
		49.555	1	7	0	0
		49.845	1	6	0	0
		50.494	1	4	2	-2
		51.223	2	4	2	2
		51.879	1	6	2	0
		52.230	1	0	7	1
		53.045	3	4	3	-2
		53.413	1	6	1	-1
		53.956	2	6	0	1
		54.477	1	0	7	3
		54.937	2	2	7	-1
		55.296	1	1	1	-3
		56.141	1	5	1	2
		56.479	1	4	4	-2
		56.745	1	1	2	-3
		57.480	1	2	1	-3
		58.276	1	3	7	-1
		59.054	1	2	8	0
Lattice: Monoclinic S.G.: P21 (4) a = 10.97200 b = 13.04800 c = 5.09100 a:b = 0.84090 c:b = 0.39017		Mol. weight = 342.30 Volume [CD] = 728.76 Dx = 0.780		beta = 90.83		
Data collection flag: Ambient.						
Canfield, D., Sundeen, D., University of Southern Mississippi, Hattiesburg, MS, USA., ICDD Grant-in-Aid (1987) CAS Number: 528-50-7						
Radiation: CuKα Lambda: 1.54180 SS/FOM: F30=259(0.0019,62)		Filter: Beta d-sp: Calculated spacings				

## 7.2. Técnicas de Caracterización

### **7.2.1. Difracción de rayos X**

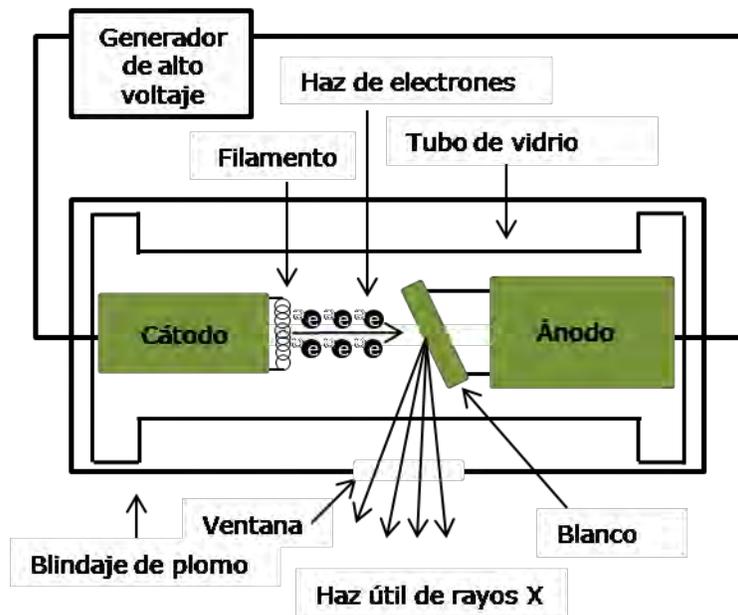
#### *7.2.1.1. Producción de rayos X*

Los rayos X son radiación electromagnética de longitud de onda corta producida por el frenado de electrones de elevada energía o por transiciones electrónicas de electrones que se encuentran en los orbitales internos de los átomos. El intervalo de longitudes de onda de los rayos X comprende desde aproximadamente 5 Å hasta 100 Å.

La energía de los rayos X, como toda la radiación electromagnética, es inversamente proporcional a su longitud de onda. Debido a que los rayos X tienen una longitud de onda menor que la luz visible, tienen mayor energía y pueden penetrar la materia con mayor facilidad que la luz visible.

Los rayos X se producen en un tubo de rayos X cuando electrones de alta velocidad colisionan con un blanco de metal. Cualquier tubo de rayos X debe contener: una fuente de electrones, un alto voltaje de aceleración y un blanco de metal además, este último debe estar enfriado por agua [59].

El tubo de rayos X, Figura 5.37, consiste en una cámara de vidrio al vacío con un filamento de tungsteno en un extremo del tubo (cátodo) y un blanco de metal en el otro (ánodo). La corriente eléctrica pasa a través del filamento de tungsteno, provocando que brille y emita electrones. Una gran diferencia de voltaje se sitúa entre el cátodo y el ánodo, provocando que los electrones se muevan a una alta velocidad desde el filamento hasta el ánodo.



**Figura 5.37 Esquema de un tubo de rayos X**

Al golpear los átomos en el blanco, los electrones desprenden electrones de la capa interna, dando como resultado que los electrones de capas externas salten a un nivel de energía menor para reemplazar a los electrones desplazados. Estas transiciones electrónicas generan rayos X. Los rayos X se mueven a través de una ventana en el tubo de rayos X y pueden usarse para proveer información sobre el arreglo interno de los átomos en los cristales [60].

### 7.2.1.2. Difracción de rayos X y la ley de Bragg

La difracción se debe esencialmente a la existencia de ciertas relaciones entre las fases de dos más ondas.

Los rayos X consisten en un conjunto de ondas separadas, las cuales pueden interactuar una con otra. Esta interacción se denomina interferencia.

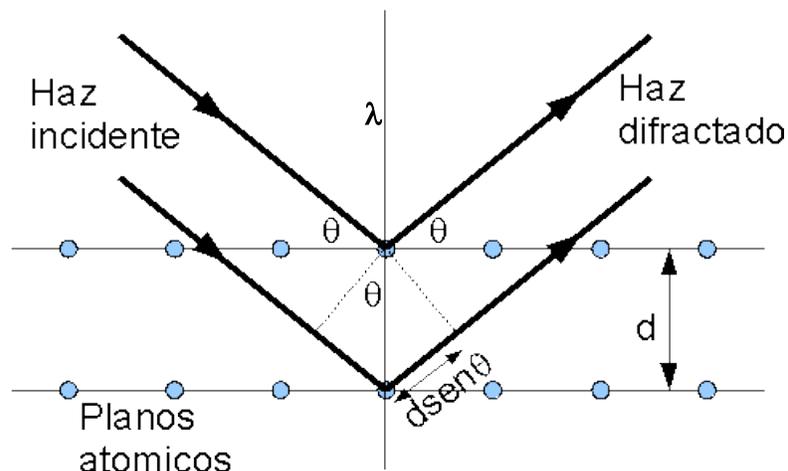
Si todo el conjunto de ondas está en fase, es decir, que sus crestas y valles ocurren en la misma posición, la interferencia es constructiva y sus amplitudes se suman para producir una onda resultante con una amplitud mayor.

Por otro lado, si las ondas están fuera de fase la interferencia es destructiva y la amplitud de la onda resultante es menor y en un caso extremo, la onda resultante no tiene amplitud.

Los átomos en los cristales interactúan con las ondas de rayos X de manera que se produce interferencia. Esta interacción puede pensarse como si los átomos reflejaran las ondas. No obstante, debido a que la estructura de un cristal consiste en una disposición ordenada de átomos, las reflexiones suceden en lo que parecen ser planos de átomos [60].

Cuando un haz de rayos X choca contra la superficie de un cristal formando un ángulo  $\theta$ , una porción del haz es dispersada por la capa de átomos de la superficie. La porción no dispersada del haz penetra en la segunda capa de átomos donde, de nuevo, una fracción es dispersada y la que queda pasa a la tercera capa. El efecto acumulativo de esta dispersión producida por los centros regularmente espaciados del cristal es la difracción del haz. Los requisitos para la difracción de rayos X son:

- a) Que el espaciado entre las capas de átomos sea aproximadamente el mismo que la longitud de onda de la radiación
- b) Que los centros de dispersión estén distribuidos en el espacio de una manera muy regular



**Figura 5.38 Difracción de los rayos X debido a los planos atómicos**

La ley de Bragg relaciona los parámetros de la Figura 5.38 siguiendo la ecuación (1).

$$n\lambda = 2d \sin \theta \quad (1)$$

Donde:

$n$	Orden de refracción
$\lambda$	Longitud de onda [Å]
$d$	Distancia interplanar [Å]
$\theta$	Ángulo de incidencia [rad]

Los difractogramas de rayos X se obtuvieron en un difractómetro Bruker D8 Advance. Las muestras se analizaron en forma de polvo en un intervalo de  $5-70^\circ 2\theta$  y con longitud de onda  $\text{CuK}_\alpha = 1.5418 \text{ \AA}$ . Se utilizó un voltaje-amperaje de 30 kV y 30 mA.

### **7.2.2. Espectroscopia de infrarrojo por Transformada de Fourier**

La espectroscopia de absorción en el infrarrojo es una técnica basada en las vibraciones de los átomos de una molécula. Un espectro de infrarrojo comúnmente se obtiene al hacer pasar radiación infrarroja a través de una muestra y determinar qué fracción de la radiación incidente se absorbió a una energía particular. La energía a la cual aparece cualquier pico en un espectro de absorción corresponde a la frecuencia de una vibración de una parte de una molécula de la muestra.

El objetivo principal del análisis espectroscópico por absorción en el infrarrojo es la determinación de grupos funcionales químicos ya que cada grupo funcional absorbe frecuencias características de radiación infrarroja.

La región infrarroja del espectro electromagnético se extiende desde el extremo rojo al final del espectro visible hasta las microondas; esta región incluye radiaciones de número de onda entre  $14,000 \text{ cm}^{-1}$  y  $20 \text{ cm}^{-1}$ . El intervalo espectral de mayor uso comprende la región del infrarrojo medio, que cubre las frecuencias de  $4000 \text{ cm}^{-1}$  a  $200 \text{ cm}^{-1}$ .

#### **7.2.2.1. Absorción de la radiación en el infrarrojo**

La absorción de radiación en el infrarrojo se limita a especies moleculares para las cuales existen pequeñas diferencias de energía entre los distintos estados vibracionales y rotacionales.

Para absorber en el infrarrojo, una molécula debe sufrir un cambio neto en el momento dipolar como consecuencia de su movimiento de vibración o de rotación.

Si la frecuencia de la radiación coincide exactamente con la frecuencia de vibración natural de la molécula, tiene lugar una transferencia neta de energía que origina un cambio en la amplitud de la vibración molecular; la consecuencia es la absorción de radiación. De manera análoga, la rotación de las moléculas asimétricas, alrededor de sus centros de masa, produce una variación periódica en el dipolo que puede interactuar con la radiación.

#### **7.2.2.2. Modos normales**

Los modos normales se usan para describir diferentes movimientos vibracionales en las moléculas. Cada modo puede caracterizarse por un tipo diferente de movimiento y tiene cierta simetría asociada a él.

Una molécula puede vibrar de muchas maneras y cada una de ellas se llama modo de vibración. Para moléculas con  $N$  átomos en ellas, las lineales tienen  $3N - 5$  grados de modos de vibración, mientras que las no lineales, tienen  $3N - 6$  grados de modos de vibración (también llamados grados de libertad).

Las vibraciones pueden involucrar un cambio en la longitud del enlace (estiramiento o stretching) o en el ángulo de enlace (flexión o bending).

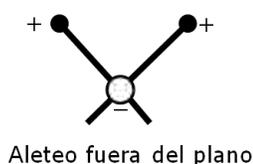
Asimismo, cada una de las vibraciones pueden clasificarse dependiendo de cómo se mueven los átomos uno respecto al otro, éstos se representan en la Figura 5.39.

- Estiramiento (simétrico y asimétrico)
- Flexión (scissoring, rocking, wagging y twisting)

### Vibraciones de estiramiento



### Vibraciones de flexión



**Figura 5.39** Esquemización de algunos modos de vibración

Algunos enlaces pueden estirarse en fase (estiramiento simétrico) o fuera de fase (estiramiento asimétrico). Si una molécula tiene átomos terminales diferentes, entonces los dos modos de estiramiento no son vibraciones simétricas o asimétricas de estiramiento, sino que tendrán proporciones variables del movimiento de estiramiento de cada grupo [61].

La interpretación de un espectro se simplifica porque las bandas que aparecen usualmente pueden asignarse a partes particulares de la molécula, produciendo lo que se conocen como frecuencias de grupo.

Las frecuencias de grupo que se observan en la región del infrarrojo intermedio se explican en la siguiente sección.

#### 7.2.2.3. Infrarrojo medio

La región del infrarrojo medio comprende de  $4000-400\text{ cm}^{-1}$  y puede dividirse en cuatro y la naturaleza de una frecuencia de grupo generalmente puede determinarse por la región en la que se encuentra y éstas se explican a continuación.

- **Región de estiramiento X—H (4000-2500 cm<sup>-1</sup>)**

En esta región, las bandas de absorción corresponden al estiramiento de enlaces con hidrógeno, usualmente de alcoholes, aminas y enlaces C—H. Las bandas que aparecen aquí no se ve muy afectada por otras interacciones en el resto de la molécula.

- **Región de triple enlace (2500-2000 cm<sup>-1</sup>)**

En esta región absorbe un número muy limitado de compuestos, de modo que su presencia se hace fácilmente evidente (-C≡N, C≡O, -C≡C-, -N<sup>+</sup>≡C<sup>-</sup>-). De las bandas generadas por estos grupos la que corresponde al enlace -C≡C- de estiramiento se presenta como una banda débil, mientras que las demás son de intensidad media.

- **Región de doble enlace (2000-1500 cm<sup>-1</sup>)**

Las principales bandas que aparecen en esta región se deben a las vibraciones de estiramiento de los enlaces C=O y C=C. La banda de estiramiento del grupo carbonilo es usualmente la más intensa en todo el espectro y, dependiendo del tipo enlace C=O, ocurre en 1830 y 1650 cm<sup>-1</sup>. Otras bandas en esta zona son la de estiramiento C=N y las de flexión de aminas y alcoholes.

- **Región de la huella digital de la molécula (1500-600 cm<sup>-1</sup>)**

Pequeños efectos estéricos o electrónicos en la molécula dan como resultado cambios importantes en la distribución de los picos de absorción en esta región del espectro. El espectro de una molécula puede presentar cientos de bandas de absorción, pero no es necesario asignar la mayoría. Es muy difícil interpretar de manera exacta esta región, pero es esta complejidad la que permite la utilidad de identificación como "huella digital" [62], [63].

En cuanto a la investigación sobre celulosa, actualmente se hace amplio uso de la espectroscopia de absorción en el infrarrojo y sus diferentes modos de funcionamiento. Puede aplicarse a la identificación cualitativa de grupos funcionales en la macromolécula a través de sus enlaces activos en el infrarrojo, e incluso se puede realizar su determinación cuantitativa si su concentración es superior al 1%.

Por otra parte, esta técnica espectroscópica se utiliza ampliamente para obtener información cualitativa y cuantitativa acerca de la red de puentes de hidrógeno de la celulosa antes y después de reacciones químicas a través de las diferentes bandas relacionadas con los diferentes grupos hidroxilo.

Los espectros de absorción en el infrarrojo se obtuvieron mediante un espectrofotómetro Nicolet Magna-IR 750, en la región de infrarrojo medio. La metodología utilizada para obtener los espectros fue triturar finamente una cantidad de la muestra con KBr. Esta mezcla en polvo se comprimió en una prensa mecánica para formar una pastilla translúcida a través de la cual puede pasar el haz de luz del espectrómetro.

### **7.2.3. Espectroscopia de Resonancia Magnética Nuclear en estado sólido**

La espectroscopia de resonancia magnética nuclear (RMN) se basa en la medida de la absorción de la radiación electromagnética en la región de las radiofrecuencias aproximadamente de 4 a 900 MHz. En contraste con la absorción ultravioleta, visible e infrarroja, en el proceso de absorción están implicados los núcleos de los átomos en vez de los electrones exteriores.

Esta técnica espectroscópica estudia el comportamiento de los núcleos atómicos con spin diferente de cero bajo la influencia de un campo magnético externo. Cada núcleo se ve afectado por dicho campo, así como por los campos creados en su entorno por los núcleos cercanos y por la distribución electrónica. Estas interacciones nucleares dependen de la orientación relativa de las moléculas [64].

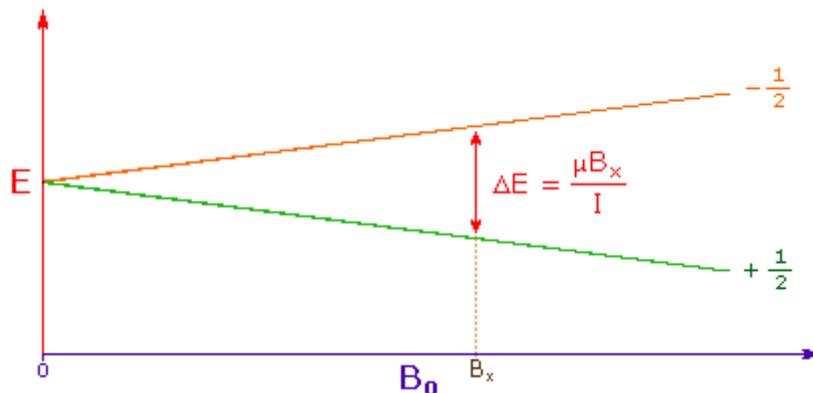
En situaciones en equilibrio, un núcleo con espín semientero dentro de un campo magnético tiene dos posibles estados del momento magnético, a menudo referidos como  $+ \frac{1}{2}$  y  $-\frac{1}{2}$  (o bien estados  $\alpha$  y  $\beta$ ).

Las energías de los dos estados en ausencia de campo magnético externo están degeneradas y por lo tanto, en ausencia de campo magnético el número de átomos (población) en el estado  $+ \frac{1}{2}$  es el mismo que el número de átomos en el estado  $-\frac{1}{2}$ . El resultado del momento magnético global,  $\mathbf{m}$ , que es proporcional al valor del espín es nulo.

Cuando un núcleo con espín nuclear no nulo es sometido a un campo magnético, el eje del momento angular coincide con la dirección del campo. Como resultado, el momento magnético,  $\mathbf{m}$ , será diferente de cero ya que uno de los estados va a

estar alineado con el campo magnético externo  $B_0$  (dirección  $+z$ ) y por tanto es de menor energía, mientras que el otro va a estar en una dirección opuesta (dirección  $-z$ ) y va a tener mayor energía.

La diferencia de energía entre los dos estados del espín  $I = 1/2$  es proporcional a la fortaleza del campo magnético externo. El siguiente diagrama, Figura 5.40, ilustra como los dos estados de espín tienen exactamente la misma energía cuando el campo magnético es cero, y que este diverge linealmente a medida que el campo aumenta.



**Figura 5.40** Diferencia de energía para los dos estados de espín de un núcleo con  $I = 1/2$ .  $\mu$  es el momento magnético del núcleo en el campo.

Los núcleos con espines  $I = 1/2$  de una molécula pueden considerarse como pequeños imanes con direcciones Norte-Sur (dos posibles estados de energía). En ausencia de campo magnético los espines se encuentran desordenados pudiendo apuntar en cualquier dirección. En presencia de un campo magnético intenso ( $B_0$ ) los "imanes" de los espines nucleares de la muestra tenderán a orientarse preferentemente aunque no exclusivamente en la dirección del campo magnético externo (dirección  $+z$ ) generándose un pequeño exceso de población en el nivel de menor energía. La diferencia de energía,  $\Delta E$ , entre los estados  $\alpha$  y  $\beta$  está dado por la ecuación (2):

$$\Delta E = \hbar\gamma B_0 \quad (2)$$

La situación de resonancia entre los dos estados se consigue aplicando una radiación electromagnética (generalmente en la región de las radiofrecuencias, MHz) que tenga exactamente el valor de energía  $\Delta E$ . La energía de un fotón es

$E = \hbar\nu$ , donde  $\nu$  es su frecuencia. Por tanto, la frecuencia de la radiación electromagnética requerida para producir resonancia de un determinado núcleo en un campo magnético  $B_0$  es:

$$\nu = \gamma B_0 \quad (3)$$

Esta frecuencia de resonancia  $\nu$ , ecuación (3), es la que da lugar al espectro de RMN.

En situaciones fuera de equilibrio, un pequeño pulso en la región de las radiofrecuencias (MHz) aplicado en un plano perpendicular al campo magnético del imán genera un segundo campo magnético que puede inducir transiciones (cambios de población) entre los estados del espín. Esto sucederá cuando el pulso tenga exactamente la energía exacta  $\Delta E$  que separa los dos estados  $+1/2$  y  $-1/2$ .

Cuando el pulso deja de aplicarse, los espines dejan de rotar y quedan alineados (un pequeño exceso de población) en una dirección en principio arbitraria que puede no ser la misma que la situación de equilibrio.

Cuando el pulso cesa, los espines nucleares que se encuentren en situación fuera del equilibrio, tienden a recuperar espontáneamente el estado inicial de población de equilibrio. Esto se consigue emitiendo el exceso de energía en forma de una onda de radio a la frecuencia de Larmor de los espines. Esta señal es amplificada y digitalizada convenientemente y es lo que se conoce como un espectro de RMN [65].

En estado sólido, donde la movilidad está muy restringida, se obtienen señales anchas, resultado de la suma de señales de todas las posibles orientaciones. Estos espectros, sin embargo, contienen información única acerca de la estructura y la dinámica de los materiales estudiados.

Las interacciones responsables del ensanchamiento de las señales son los acoplamientos dipolares (homo y heteronucleares), la anisotropía del desplazamiento químico, y el acoplamiento cuadrupolar. Existen técnicas que permiten obtener espectros de alta resolución conservando en lo posible la información que aportan estas interacciones como son: giro con ángulo mágico (MAS, *Magic Angle Spinning*), polarización cruzada (CP, *Cross Polarization*) o secuencias multipulso específicas para sólidos (CRAMPS, *Combined Rotation and Multiple Pulse Spectroscopy*) [64], [66].

### 7.2.3.1. Acoplamiento dipolar

Los acoplamientos dipolares heteronucleares están provocados por las interacciones directas entre los momentos magnéticos asociados a dos núcleos diferentes, I y S, en el sólido. Por convención los espines nucleares I hacen referencia a los más abundantes y los S a los de menor abundancia natural.

En presencia de un campo magnético externo  $B_0$  los espines estarán alineados paralela o antiparalelamente al campo externo. Los núcleos I y S poseen un momento magnético nuclear que produce un campo magnético local, pequeño comparado con  $B_0$ , sobre los otros espines que se encuentran en su entorno próximo. El campo magnético producido por los espines I se añadirán o se restarán al campo  $B_0$  sentido por el espín S, dependiendo de su orientación, modificando así su frecuencia de resonancia. El grado que el espín I modifica el campo experimentado por el espín S, va a estar determinado por la magnitud del acoplamiento dipolar heteronuclear, que viene representado por el Hamiltoniano de la ecuación (4):

$$H_{IS} = -\frac{\mu_0 h \gamma_I \gamma_S}{8\pi^2 r_{IS}^3} (3 \cos^2 \theta - 1) I_Z S_S \quad (4)$$

El ángulo  $\theta$  describe la orientación del vector internuclear  $r_{IS}$  respecto a la dirección del campo magnético externo.

La dependencia angular del acoplamiento dipolar confiere un carácter diferente a los sólidos y los líquidos. Las moléculas en disolución se reorientan rápidamente y promedian el término  $(3 \cos^2 \theta - 1)$  a cero. Una muestra sólida, aunque contiene muchos cristales orientados al azar, el vector internuclear no varía con el tiempo, y la frecuencia de resonancia de cada uno de los cristales depende de su orientación con respecto al campo magnético externo.

El efecto dipolar se puede anular si la muestra se coloca a un ángulo en el cual el término  $(3 \cos^2 \theta - 1)$  sea cero. Esto se logra cuando  $\theta = 54.74^\circ$  y se conoce como ángulo mágico. Así, en RMN de sólidos, la muestra se orienta a este ángulo con respecto la dirección del campo magnético y se gira a alta frecuencia (mayor a 3 kHz). Estas condiciones se conocen como giro a ángulo mágico (MAS).

### 7.2.3.2. *Anisotropía de desplazamiento químico*

La anisotropía de desplazamiento químico (CSA) proviene de la interacción del campo magnético externo  $B_0$  con los electrones que rodean el núcleo, que también poseen momento magnético.

Los campos magnéticos secundarios débiles que se generan se suman o restan a  $B_0$ , modificando el campo magnético que siente el núcleo, y por lo tanto su frecuencia de resonancia. Esto es lo que se denomina "apantallamiento", que da lugar al desplazamiento químico.

La CSA resulta del hecho de que los átomos en las moléculas raramente poseen una distribución de electrones con simetría esférica; en su lugar, la densidad electrónica tiene más bien forma elipsoide. El grado en el que la densidad de electrones afecta la frecuencia de resonancia de un núcleo depende de la orientación de la nube de electrones (y por lo tanto de la molécula) con respecto a  $B_0$ .

### 7.2.3.3. *CP-MAS (Cross Polarization-Magic Angle Spinning)*

El experimento CP-MAS utiliza la técnica de la polarización cruzada para transferir magnetización desde un núcleo abundante y de constante giromagnética alta (protón) a un heteronúcleo menos abundante y con constante giromagnética pequeña, lo que produce un incremento considerable de la sensibilidad del heteronúcleo. La rotación en el ángulo mágico y el desacoplamiento durante la adquisición se utilizan para reducir al máximo el ensanchamiento o desdoblamiento de señales debido a efectos de CSA y acoplamiento dipolar.

Cuando el heteronúcleo es por ejemplo  $^{13}\text{C}$ , el experimento CP-MAS proporciona una señal para cada carbono en la molécula (química y magnéticamente no equivalente) denominadas señales principales.

A ambos lados de cada señal principal del espectro pueden aparecer una o varias bandas de rotación. Estas últimas son pares de señales que aparecen a la derecha e

izquierda de una señal principal a una distancia en Hz que es un múltiplo entero de la frecuencia a la que se rota la muestra [67].

#### **7.2.4. Dispersión de rayos X a ángulos bajos (SAXS)**

La dispersión de rayos X a bajos ángulos es una técnica en donde se hace incidir sobre un material un haz de rayos X a ángulos pequeños (generalmente entre 0.1 y 10 grados) y se registra la dispersión del haz. Las muestras que se estudian por SAXS tienen inhomogeneidades por lo que la dispersión del haz depende de éstas. El intervalo angular donde opera esta técnica contiene información sobre el tamaño y forma de las inhomogeneidades.

La muestra se irradia con un haz de rayos X monocromático y a partir de la distribución de intensidades a muy bajo ángulo es posible obtener información sobre tamaño o distribución de tamaños o formas de las partículas y estructura interna. Esta técnica se emplea en partículas con un tamaño comprendido entre 0.5 y 50 nm.

La intensidad de SAXS para sistemas complejos, desordenados y porosos a menudo puede describirse por la siguiente ecuación:

$$I(q) = I_0 q^{-\alpha}$$

Donde  $I_0$  y  $\alpha$  son constantes y

$$q = \frac{4\pi \sin \theta}{\lambda}$$

Donde  $\theta$  es el ángulo de dispersión y  $\lambda$  es la longitud de onda del haz incidente.

La técnica de SAXS se usa frecuentemente para caracterizar los cambios en la densidad electrónica en el límite de una fase, por ejemplo para caracterizar una película orgánica en materiales porosos.

Al ser una técnica sensible a heterogeneidades puede utilizarse para calcular un parámetro de rugosidad o dimensión fractal de un objeto. En este sentido, en la geometría euclidiana, la dimensión de un objeto puede definirse como el número mínimo de coordenadas necesarias para especificar la posición de un punto conteniendo ese objeto.

Por lo tanto, para definir una posición de un punto sobre una línea es necesario uno de los ejes, pero se necesitan dos coordenadas para especificar una posición en un plano y son necesario tres para una posición en un volumen. Sin embargo, las superficies claramente existen en un mundo tridimensional, tienen longitud, anchura y profundidad.

Las dimensiones fractales (números no enteros) reflejan esta situación: si la superficie tiende a un plano, la dimensión fractal será muy cercana a dos, pero si está muy doblada tenderá a tres.

#### **7.2.4.1. Factor de forma**

La dispersión de una partícula que está constituida por muchos átomos, puede explicarse como el patrón de interferencia producido por todas las ondas que se envían al detector de todos los electrones (o átomos) dentro de la partícula. Agrupando todas las amplitudes de las ondas en la posición del detector y haciendo el cuadrado de esta suma, resulta el patrón de interferencia. Este patrón puede tener diferentes formas dependiendo de la forma de la partícula. Es por eso que se llama "factor de forma". Éste es un factor porque debe escalarse con una constante para que coincida con las unidades experimentales de intensidad. Para la determinación de la estructura no se requiere el factor de escalamiento.

En aplicaciones prácticas muchas partículas se iluminan al mismo tiempo y el patrón de dispersión observado corresponde al factor de forma de una sola partícula

1. Si todas las partículas son idénticas en tamaño y forma (muestra monodispersa)
2. Si las partículas están lejos una de otra (muestra diluida)

Si la muestra es diluida, entonces el factor de forma puede resumirse. En una muestra diluida el patrón de dispersión experimental es el factor de forma multiplicado por el número de partículas que están en contacto con el haz de rayos X.

Si las partículas tienen diferentes formas (muestras polidispersas) entonces los factores de forma se utilizan para obtener un patrón de forma promedio de la

muestra completa. La suma de todos los factores no contendrá mínimos bien definidos.

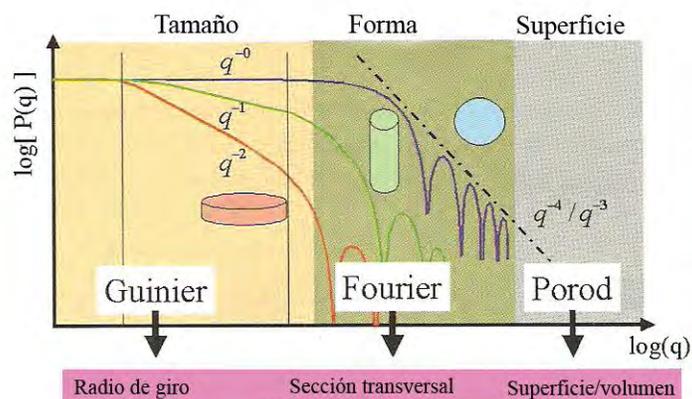
Rara vez todas las partículas de una muestra son idénticas. Usualmente, tienen diferentes tamaños, a lo cual se le llama "polidispersa" o bien, tienen diferentes formas y se llaman "polimorfos".

Las curvas de dispersión de muestras polidispersas o polimórficas puede verse como la suma de todos los  $N$  factores  $P_i(q)$ , ponderados con su respectivo contraste  $\Delta\rho_i$  y el volumen  $V_i$  de la  $i$ -ésima partícula. Si se asume una dispersión de partículas diluidas, entonces:

$$\Delta I(q) = I_0 \cdot \sum_{i=1}^N (\Delta\rho)_i^2 \cdot V_i^2 \cdot P_i(q)$$

El resultado de esta suma es un factor de forma promedio, el cual ya no exhibe mínimos definidos. Por otro lado, un perfil experimental de dispersión con mínimos bien definidos indica una muestra monodispersa.

Cada partícula produce un factor de forma que es característico de su estructura. La pendiente del factor de forma a bajos ángulos se determina principalmente por el tamaño total y la pendiente final a altos ángulos contiene la información de la superficie. La información concerniente a la forma y la distribución de densidad recae en la parte oscilatoria en la sección media del factor de forma.



**Figura 5.41**

Se puede realizar una clasificación rápida general en formas globular, cilíndrica y laminar (con relaciones axiales mayores a 5) investigando la ley exponencial del factor de forma a ángulos bajos. En un diagrama de doble logaritmo una pendiente inicial de 0, -1 o -2 indica una forma globular, cilíndrica o laminar respectivamente. Si la pendiente es más pronunciada que eso (p. ej. -3 o -4) entonces las partículas serán más grandes que el límite de resolución y la región Porod es la única parte del factor de forma que puede ser observado.

La parte oscilatoria del factor de forma puede ser abundantemente investigado transformándolo en "espacio real", esto es, el cálculo de  $p(r)$  a partir de un  $P(q)$ .

El método aplicado es básicamente una transformada de Fourier y la curva resultante,  $p(r)$ , es una supuesta "función de distribución par-distancia" (FDPD). Éste es un histograma de distancias que puede encontrarse dentro de la partícula.

La forma de una partícula puede ser rápidamente clasificada como simetría esférica (o globular), prolata (o cilíndrica) y oblata (o laminar) al identificar algunos rasgos clave en el FDPD.

Las partículas globulares pueden ser identificadas por el pico casi simétrico con forma de campana. Las partículas cilíndricas son identificadas por un pequeño excedente y una cola lineal en el FDPD. Los FDPD de las partículas laminares no tienen forma de campana en valores  $r$  pequeños. Guardan un parecido con el FDPD globular, pero la curvatura en los valores  $r$  pequeños es diferente.

Todos los FDPD declinan hacia cero en cierta distancia  $r$ , lo que indica la mayor distancia que puede encontrarse dentro de la partícula [68].

#### 7.2.4.2. Ley de Porod

Si el sistema está formado por partículas idénticas monodispersas, la intensidad de los rayos X dispersados a bajo ángulo sigue la ley de Guinier:

$$I(Q) = N\rho_E^2 v^2 \exp\left(-\frac{1}{3R_G^2 Q^2}\right)$$

$I(Q)$  es la intensidad SAXS en función del módulo del vector de dispersión  $q = \frac{4\pi \sin \theta}{\lambda}$ , donde  $2\theta$  es el ángulo de dispersión,  $\lambda$  la longitud de onda de los rayos X,

$N$  el número de partículas o de huecos del volumen  $v$  y  $R_G$  el radio electrónico de giro de las partículas. El valor de  $R_G$  se determina a partir de las medidas SAXS.

Para un sistema de partículas no diluido, es decir denso, la ley de Guinier se sigue aproximadamente en un dominio angular amplio, pero la curva de intensidad puede presentar un máximo.  $R_G$  se puede calcular a partir de la ecuación anterior, pero en realidad es un radio de giro aparente  $R_A$  que es menor que el de los sistemas diluidos,  $R_A$  es un parámetro geométrico que puede indicar, por comparación, variaciones o tendencias del tamaño medio de las partículas.

A partir de las medidas de SAXS también se pueden estimar otros parámetros: para un sistema de dos fases con fracciones de volumen  $\Phi$  y  $1 - \Phi$  se puede obtener el volumen de correlación  $V_c$  y la superficie de interfase de los dos componentes por unidad de volumen  $S/V$ , según las relaciones:

$$\frac{V_c}{2\pi^2} = I(Q)/Q_0$$

Y

$$\frac{I}{[\pi\Phi(1-\Phi)]\left(\frac{S}{V}\right)} = \lim_{Q \rightarrow \infty} \frac{I(Q)Q^4}{Q_0}$$

Donde  $Q_0$  es la intensidad integrada:

$$Q_0 = \int_0^{\infty} I(Q)Q^2 dQ$$

E  $I_0$  es la intensidad dispersada a ángulo cero.

Para sistemas diluidos  $V_c$  es el volumen medio de la partícula, y para sistemas densos es un parámetro geométrico que se puede asociar cualitativamente con el volumen medio. Este parámetro se aproxima al volumen medio cuando la fracción de volumen ocupado por la partícula tiende a cero.

Para un sistema de dos densidades  $I(Q)Q^4$  tiende a un valor constante  $P$  cuando  $Q$  alcanza valores altos, es decir:

$$\lim_{Q \rightarrow \infty} \frac{I(Q)Q^4}{Q_0} = P$$

Esta es la ley de Porod que se cumple cuando la interfase es suave. Si la superficie presenta características fractales, el significado clásico de superficie es ambiguo y la ley de Porod se transforma de este modo:

$$\lim_{Q \rightarrow \infty} I(Q)Q^{6-D} = \text{constante}$$

en la que  $D$  es la dimensionalidad de la superficie fractal. El valor de  $D$  igual a dos corresponde a la superficie clásica bidimensional [39].

### **7.2.5. Técnicas de Microscopía**

Normalmente, la superficie de un sólido en contacto con un líquido o un gas difiere sustancialmente del interior del sólido tanto en composición química como en propiedades físicas. Es por ello que la caracterización de las superficies es de vital importancia.

Se considerará como superficie la capa límite entre un sólido y un vacío, un gas o un líquido. Generalmente se piensa en la superficie como la parte del sólido que difiere en su composición de la composición promedio del conjunto del sólido. Sin embargo, desde un punto de vista práctico, una superficie es aquel volumen de un sólido que muestrea una técnica específica de medida. Esta definición admite el hecho de que si se emplean varias técnicas de superficie, se pueden tomar muestras distintas de superficies y obtener en consecuencia diferentes aunque útiles resultados [69].

Con las técnicas microscópicas se obtienen imágenes de las superficies, proporcionando información acerca de la naturaleza física de éstas. La resolución de la microscopía óptica está limitada por los efectos de difracción de la longitud de onda de orden similar a la de la luz. Mediante las técnicas de microscopía electrónica la información de las superficies se obtiene con una resolución considerablemente más elevada. Estas técnicas son: microscopía electrónica de barrido (SEM), microscopía de barrido de efecto túnel (STM), microscopía electrónica de transmisión (TEM) y microscopía de fuerza atómica (AFM).

Los microscopios electrónicos funcionan exactamente igual que sus contrapartes ópticas, pero utilizan un haz de electrones focalizado en lugar de luz visible para

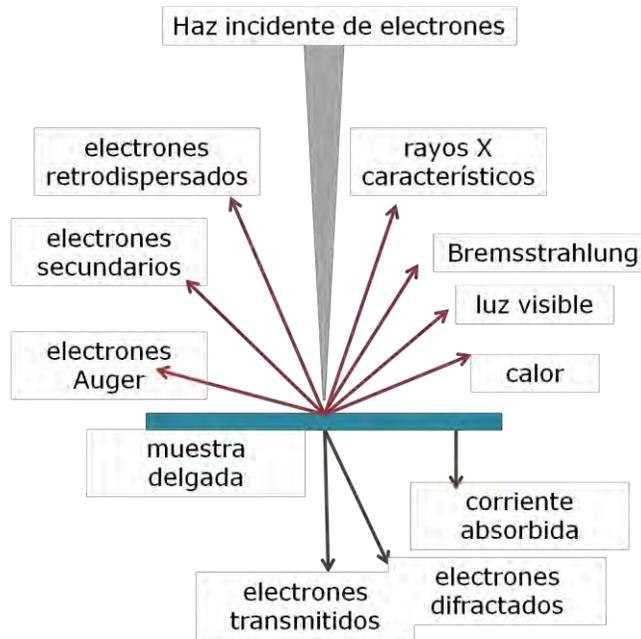
crear una imagen de la muestra y obtener información acerca de su estructura y su composición.

Los pasos básicos involucrados en todos los microscopios electrónicos es como se describe a continuación: (1) un flujo de electrones se forma en alto vacío (por un cañón de electrones), (2) este flujo se acelera hacia la muestra (con un potencial eléctrico positivo) mientras, se confina y se enfoca en un haz delgado y monocromático utilizando aperturas de metal y lentes magnéticas. (3) La muestra se irradia con el haz y suceden interacciones dentro de la muestra, perturbando el haz de electrones. (4) Estas interacciones y efectos se detectan y se transforman en una imagen [69].

#### ***7.2.5.1. Interacciones entre la muestra y los electrones***

Cuando un haz de electrones interactúa con los átomos de una muestra, los electrones del haz incidental experimentan dos tipos de dispersión: elástica o inelástica.

En la primera, la velocidad y la energía del electrón dispersado se mantienen constantes y sólo cambia la dirección. En la caso de la dispersión inelástica, algunos electrones incidentes colisionan con los electrones de los átomos de la muestra, desplazándolos de sus niveles energéticos basales. La muestra modifica su estructura electrónica, produciendo excitación, ionización o disociación.



**Figura 5.42. Esquema de las interacciones electrón-materia derivadas de los efectos de un haz de electrones sobre una muestra. Una señal por debajo de la muestra sólo es observable si la muestra es lo suficientemente delgada como para permitir que algunos electrones pasen a través de ella.**

En la Figura 5.42 se esquematizan los diferentes tipos de interacciones entre la muestra y los electrones del haz incidente. En la parte superior del diagrama se encuentran las interacciones inelásticas, que se utilizan en el análisis de las muestras gruesas (por medio de SEM). En la parte inferior se muestran las interacciones elásticas, útiles para analizar muestras delgadas a través de TEM.

#### 7.2.5.2. Microscopía Electrónica de Barrido (SEM)

Como se mencionó anteriormente, la microscopía electrónica de barrido se utilizan interacciones inelásticas para obtener información. A continuación se describe brevemente cada una de estas interacciones.

- **Electrones secundarios**

Los electrones secundarios se producen cuando un electrón incidente excita un electrón de la muestra y pierde la mayor parte de su energía en este proceso. El electrón excitado se mueve hacia la superficie de la muestra, sufriendo colisiones

elásticas e inelásticas hasta que alcanza la superficie, donde puede escapar si aún tiene suficiente energía.

La producción de electrones secundarios está fuertemente relacionada a la topografía de la muestra. Debido a su baja energía, solamente los electrones que se encuentran cerca de la superficie pueden salir de la muestra y examinarse. Cualquier cambio en la topografía de la muestra que sea mayor que la profundidad de muestreo cambiará la producción de electrones secundarios.

- **Electrones retrodispersados**

Los electrones retrodispersados son electrones de alta energía originados en el haz de electrones que se reflejan fuera del volumen de interacción de la muestra.

La producción de electrones retrodispersados varía directamente con el número atómico del espécimen, los elementos con número atómicos mayores se ven más brillantes que aquellos con números atómicos bajos. Esta interacción se utiliza para diferenciar las partes de la muestra que tienen diferente número atómico promedio.

- **Relajación de átomos excitados**

La dispersión inelástica provoca que los átomos de la muestra alcancen un estado excitado, por lo que el átomo debe regresar a un estado energético más estable. Cuando el átomo se relaja cede el exceso de energía produciendo rayos X característicos, catodoluminiscencia y electrones Auger. La energía de relajación es propia de cada elemento.

## 8. Referencias

- [1] A. D. McNaught and A. Wilkinson, "Biomasa," *IUPAC. Compendium of Chemical Terminology ("The Gold Book")*. Blackwell Scientific Publications, Oxford, 1997.
- [2] R. Rinaldi and F. Schüth, "Design of solid catalysts for the conversion of biomass," *Energy Environ. Sci.*, vol. 2, pp. 610–626, 2009.
- [3] B. Kamm, P. Gruber, and M. Kamm, Eds., *Biorefineries – Industrial Processes and Products. Status Quo and Future Directions*, vol. 1. Weinheim: WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, 2006.
- [4] P. Gallezot, "Catalytic Conversion of Biomass: Challenges and Issues," *ChemSusChem*, vol. 1, pp. 734–737, 2008.
- [5] P. Gallezot, "Alternative value chains for biomass conversion to chemicals," *Top. Catal.*, vol. 53, pp. 1209–1213, 2010.
- [6] P. Dhepe and A. Fukoka, "Cellulose Conversion under Heterogeneous Catalysis," *ChemSusChem*, vol. 1, pp. 969–975, 2008.
- [7] J. Geboers, S. Van de Vyver, R. Ooms, B. Op de Beeck, P. Jacobs, and B. Sels, "Chemocatalytic conversion of cellulose: opportunities, advances and pitfalls," *Catal. Sci. Technol.*, vol. 1, pp. 714–726, 2011.
- [8] P. C. Badger, "Ethanol from cellulose: a general review," in *Trends in new crops and new uses*, J. Janick and A. Whipkey, Eds. ASHS Press, 2002, pp. 17–21.
- [9] D. Klemm, B. Hueblein, H.-P. Fink, and A. Bohn, "Cellulose: Fascinating Biopolymer and Sustainable Raw Material," *Angew. Chem. Int. Ed.*, vol. 44, pp. 2–37, 2005.
- [10] D. Klemm, B. Philipp, T. Heinze, U. Heinze, and W. Wagenknecht, *Comprehensive Cellulose Chemistry*, vol. 1: Fundamentals and analytical methods, 2 vols. Wiley-VCH, 1998.
- [11] E. Kontturi, "Surface chemistry of cellulose from natural fibres to model surfaces," Doctoral Dissertation, Technische Universiteit Eindhoven, Eindhoven, 2005.
- [12] D. Klemm, H.-P. Schmauder, and T. Heinze, "Cellulose," in *Biopolymers*, First., vol. 6, E. Vandamme, S. De Baets, and A. Steinbüchel, Eds. Wiley-VCH, 2002, pp. 275–287.
- [13] *Food Chemical Codex*, 2nd Edition., vol. 2. Washington, D. C.: National Academy of Sciences, 1972.
- [14] D. Nelson and M. Cox, *Lehninger. Principles of Biochemistry*, Fifth. New York: W. H. Freeman and Company, 2008.
- [15] R. Fessenden and J. Fessenden, *Química Orgánica*, Segunda. México: Grupo Editorial Iberoamericana, 1983.
- [16] J. Geboers, S. Van de Vyver, K. Carpentier, P. Jacobs, and B. Sels, "Hydrolytic hydrogenation of cellulose with hydrotreated caesium salts of heteropoly acids and Ru/C," *Green Chem.*, vol. 13, pp. 2167–2174, 2011.
- [17] C. Luo, S. Wang, and H. Liu, "Cellulose Conversion into Polyols Catalyzed by Reversibly Formed Acids and Supported Ruthenium Clusters in Hot Water," *Angew. Chem. Int. Ed.*, vol. 46, pp. 7636–7639, 2007.
- [18] W. Deng, X. Tan, W. Fang, Q. Zhang, and Y. Wang, "Conversion of Cellulose into Sorbitol over Carbon Nanotube-Supported Ruthenium Catalyst," *Catal Lett*, vol. 133, pp. 167–174, 2009.
- [19] A. Fukoka, Y. Ito, T. Komanoya, Y. Hosaka, P. Dhepe, K. Kasai, K. Hara, and H. Kobayashi, "Synthesis of sugar alcohols by hydrolytic hydrogenation of cellulose over supported metal catalysts," *Green Chem.*, vol. 13, pp. 326–333, 2011.
- [20] S. Van de Vyver, J. Geboers, M. Dusselier, H. Schepers, T. Vosch, P. Jacobs, and B. Sels, "Selective Bifunctional Catalytic Conversion of Cellulose over Reshaped Ni Particles at the Tip of Carbon Nanofibers," *ChemSusChem*, vol. 3, pp. 698–701, 2010.
- [21] N. Ji, T. Zhang, M. Zheng, A. Wang, H. Wang, X. Wang, Y. Shu, A. Stottlemeyer, and J. Chen, "Catalytic conversion of cellulose into ethylene glycol over supported carbide catalysts," *Catalysis Today*, vol. 147, pp. 77–85, 2009.
- [22] W. Deng, Y. Wang, Q. Zhang, and Y. Wang, "Development of Bifunctional Catalysts for the Conversions of Cellulose or Cellobiose into Polyols and Organic Acids in Water," *Catal Surv Asia*, vol. 16, pp. 91–105, 2012.
- [23] G. Huber, J. Chheda, C. Barrett, and J. Dumesic, "Production of liquid alkanes by aqueous-phase processing of biomass-derived carbohydrates," *Science*, vol. 308, pp. 1446–1450, 2005.

- [24] M. Mascal and E. Nikitin, "Direct, high-yield conversion of cellulose into biofuel," *Angew. Chem. Int. Ed.*, vol. 47, pp. 7924–7926, 2008.
- [25] C. Perego and M. Ricci, "Diesel fuel from biomass," *Catal. Sci. Technol.*, vol. 2, pp. 1776–1786, 2012.
- [26] J.-P. Lange, R. Price, P. Ayoub, J. Louis, L. Petrus, L. Clarke, and H. Gosselink, "Valeric biofuels: A platform for cellulosic transportation biofuels," *Angew. Chem. Int. Ed.*, vol. 49, pp. 4479–4483, 2010.
- [27] S. Dora, T. Bhaskar, R. Singh, D. Viswanatha Naik, and D. Kumar Adhikari, "Effective catalytic conversion of cellulose into high yields of methyl glucosides over sulfonated carbon based catalyst," *Bioresource Technology*, vol. 120, pp. 318–321, 2012.
- [28] A. Onda, T. Ochi, and K. Yanagisawa, "Selective hydrolysis of cellulose into glucose over solid acid catalysts," *Green Chem.*, vol. 10, pp. 1033–1037, 2008.
- [29] Q. Xiang, Y. Y. Lee, P. Petterson, and R. W. Torget, "Heterogeneous aspects of acid hydrolysis of alpha-cellulose," *Appl. Biochem. Biotechnol.*, vol. 105–108, pp. 505–514, 2003.
- [30] Y. Y. Lee, P. Iyer, and R. W. Torget, "Dilute-acid hydrolysis of lignocellulosic biomass," *Advances in Biochemical Engineering/Biotechnology*, vol. 65, pp. 93–115, 1999.
- [31] R. Aguilar, J. A. Ramírez, G. Garrote, and M. Vázquez, "Kinetic study of the acid hydrolysis of sugar cane bagasse," *Journal of Food Engineering*, vol. 55, pp. 309–318, 2002.
- [32] J. Tian, J. Wang, S. Zhao, C. Jing, Z. Xia, and X. Wang, "Hydrolysis of cellulose by the heteropoly acid H<sub>3</sub>PW<sub>12</sub>O<sub>40</sub>," *Cellulose*, vol. 17, pp. 587–594, 2000.
- [33] T. Heinze and T. Liebert, "Unconventional methods in cellulose functionalization," *Prog. Polym. Sci.*, vol. 26, pp. 1689–1762, 2001.
- [34] S. P. S. Chundawat, G. Bellesia, N. Uppugundla, L. da Costa Sousa, D. Gao, A. Cheh, U. Agarwal, C. Bianchetti, G. Phillips, P. Langan, V. Balan, and S. Gnanakaran, "Restructuring the crystalline cellulose hydrogen bond network enhances its depolymerization rate," *J. Am. Chem. Soc.*, vol. 133, pp. 11163–11174, 2011.
- [35] X. Tan, W. Deng, M. Liu, Q. Zhang, and Y. Wang, "Carbon nanotube-supported gold nanoparticles as efficient catalysts for selective oxidation of cellobiose into gluconic acid in aqueous medium," *Chem. Commun.*, pp. 7179–7181, 2009.
- [36] A. D. McNaught and A. Wilkinson, "Adsorption," *IUPAC. Compendium of Chemical Terminology ("The Gold Book")*. Blackwell Scientific Publications, Oxford, 1997.
- [37] A. D. McNaught and A. Wilkinson, "Adsorbate," *IUPAC. Compendium of Chemical Terminology ("The Gold Book")*. Blackwell Scientific Publications, Oxford, 1997.
- [38] M. Hernández, "Adsorción de aminoácidos en matrices orgánicas e inorgánicas," Licenciatura, Universidad Nacional Autónoma de México, México, D.F., 2012.
- [39] M. A. Villegas, "Aerogeles," *Bol. Soc. Esp. Ceram. Vidr.*, vol. 29, pp. 315–329, 1990.
- [40] S. Park, J. O. Baker, M. Himmel, P. Parrilla, and D. K. Johnson, "Cellulose crystallinity index: measurement techniques and their impact on interpreting cellulase performance," *Biotechnology for biofuels*, vol. 3, pp. 1–10, 2010.
- [41] E. Johnson Ford, M. Sharathkumar K., T. Shelby F., and J. Rawlins, "X-ray diffraction of cotton treated with neutralized vegetable oil-based macromolecular crosslinkers," *Journal of Engineered Fibers and Fabrics*, vol. 5, 2010.
- [42] M. Hernández, E. Lima, A. Guzmán, M. Vera, O. Novelo, and V. Lara, "A small change in the surface polarity of cellulose causes a significant improvement in its conversion to glucose and subsequent catalytic oxidation," *Applied Catalysis B: Environmental*, vol. 144, pp. 528–537, 2014.
- [43] F. Akhtar and J. Podder, "A study on growth, structural, optical and electrical characterization of L-alanine single crystal optoelectronic devices," *Research Journal of Physics*, vol. 6, pp. 31–40, 2012.
- [44] S. Kumar, A. Kumar-Rai, S. B. Rai, D. K. Rai, A. N. Singh, and V. B. Singh, "Infrared, Raman and electronic spectra of alanine: A comparison with ab initio calculation," *Journal of Molecular Structure*, vol. 791, pp. 23–29, 2006.
- [45] A. Cyrac Peter, G. Anand, M. Vimalan, S. Gunasekaran, and J. Madhavan, "Growth, FT-IR and DFT study of L-Phenylalanine," *Archives of Applied Science Research*, vol. 2, pp. 223–232, 2010.
- [46] G. Mehta, S. Kondaveeti, and K. V. Siddhanta, "Facile synthesis of agarose-L-phenylalanine ester hydrogels," *Polym. Chem.*, vol. 2, pp. 2234–2340, 2011.
- [47] Y. Sheena-Mary, L. Ushakumari, B. Harikumar, H. Tresa-Varghese, and C. Yohannan-Panicker, "FT-IR, FT-Raman and SERS Spectra of L-Proline," *Journal of the Iranian Chemical Society*, vol. 6, pp. 138–144, 2009.

- [48] A. Herlinger and T. Long, "Laser-Raman and Infrared spectra of amino acids and their metal complexes. III. Proline and bisprolinato complexes," *J. Am. Chem. Soc.*, vol. 92, pp. 6481–6486, 1970.
- [49] K. Wickholm, P. T. Larsson, and T. Iversen, "Assignment of non-crystalline forms in cellulose I by CP/MAS 13C NMR spectroscopy," *Carbohydrate Research*, vol. 312, pp. 123–129, 1998.
- [50] P. Yunqiao, A. Ragauskas, and C. Ziemer, "CP/MAS 13C NMR analysis of cellulose treated bleached softwood kraft pulp," *Carbohydrate Research*, vol. 341, pp. 591–597, 2006.
- [51] R. Samuel, Y. Pu, M. Foston, and A. Ragauskas, "Solid-state NMR characterization of switchgrass cellulose after dilute acid pretreatment," *Biofuels*, vol. 1, pp. 85–90, 2010.
- [52] R. Srisuthep, R. Brockman, and J. A. Johnson, "Infrared and Raman spectra of maltooligosaccharides," *Cereal Chemistry*, vol. 53, pp. 110–117, 1975.
- [53] V. V. Sivchik and R. G. Zhabankov, "Theoretical investigation of the vibrational spectrum of cellobiose," *Zhurnal Prikladnoi Spektroskopii*, vol. 27, pp. 853–859, 1977.
- [54] S. A. Baker, E. J. Bourne, M. Stacey, and D. H. Whiffen, "Infra-red spectra of carbohydrates. Part I. Some derivatives of D-glucopyranose," *Journal of the Chemical Society*, pp. 171–176, 1954.
- [55] T. Vela, P. Selvarajan, T. H. Freeda, and K. Balasubramanian, "Growth and characterization of pure and semiorganic nonlinear optical lithium sulphate admixed L-alanine crystal," *Physica Scripta*, vol. 87, pp. 1–7, 2013.
- [56] S. Olsztyńska, M. Komorowska, L. Vryelynck, and N. Dupuy, "Vibrational Spectroscopic Study of L-Phenylalanine: Effect of pH," *Society for Applied Spectroscopy*, vol. 5, pp. 901–907, 2001.
- [57] R. L. Dudley, C. A. Fyfe, P. J. Stephenson, Y. Deslandes, G. K. Hamer, and R. H. Marchessault, "High-Resolution 13C CP/MAS NMR Spectra of Solid Cellulose Oligomers and the Structure of Cellulose II," *Journal of American Chemical Society*, vol. 105, pp. 2469–2472, 1983.
- [58] K. Bock, C. Pedersen, and H. Pedersen, "Carbon-13 Nuclear Magnetic Resonance data for oligosaccharides," *Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.*, vol. 42, pp. 193–225, 1984.
- [59] D. A. Skoog, F. J. Holler, and T. A. Nieman, "Espectrometría atómica de rayos X," in *Principios de Análisis Instrumental*, Quinta Edición., Madrid: McGraw Hill/Interamericana de España S. A. U., 2001, pp. 292–318.
- [60] S. A. Nelson, "X-Ray Crystallography." [Online]. Available: <http://www.tulane.edu/~sanelson/eens211/x-ray.htm>. [Accessed: 31-May-2013].
- [61] S. Sontum, "Normal modes." [Online]. Available: <http://cat.middlebury.edu/~chem/chemistry/ch2cl2/vib.html>. [Accessed: 31-May-2013].
- [62] B. Stuart, *Infrared Spectroscopy: Fundamentals and Applications*, 1st ed. Wiley-VCH, 2004.
- [63] D. A. Skoog, F. J. Holler, and T. A. Nieman, "Espectrometría de absorción en el infrarrojo," in *Principios de Análisis Instrumental*, Quinta Edición., Madrid: McGraw Hill/Interamericana de España S. A. U., 2001, pp. 409–434.
- [64] D. A. Skoog, F. J. Holler, and T. A. Nieman, "Espectrometría de resonancia magnética nuclear," in *Principios de Análisis Instrumental*, Quinta Edición., Madrid: McGraw Hill/Interamericana de España S. A. U., 2001, pp. 481–536.
- [65] Universidad de Santiago de Compostela, "Introducción ao RMN - Sección de Resonancia Magnética Nuclear (RMN) - USC." [Online]. Available: <http://www.usc.es/gl/investigacion/riaidt/rm/rmn/introduccion.html>. [Accessed: 31-May-2013].
- [66] M. J. de la Mata Segarra, "UAM:SiDI-Laboratorio de Resonancia Magnética Nuclear en Estado Sólido," *Laboratorio de Resonancia Magnética Nuclear en Estado Sólido*, 2013. [Online]. Available: <http://www.uam.es/investigacion/servicios/sidi/especifica/mas-rmn.html>. [Accessed: 31-May-2013].
- [67] Universidad de Santiago de Compostela, "RMN experimentos," *Unidad de Resonancia Magnética. Experimentos RMN.* [Online]. Available: <http://desoft03.usc.es/rmnweb/solidos/cpmas.htm>. [Accessed: 31-May-2013].
- [68] H. Schnablegger and Y. Singh, *The SAXS Guide. Getting acquainted with the principles*, Segunda Edición. Austria: Anton Paar, 2011.
- [69] D. A. Skoog, F. J. Holler, and T. A. Nieman, "Caracterización de superficies por espectroscopía y microscopía," in *Principios de Análisis Instrumental*, Quinta Edición., Madrid: McGraw Hill/Interamericana de España S. A. U., 2001, pp. 577–607.