

42
3



**UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTONOMA DE MEXICO**

FACULTAD DE QUIMICA

**ESTUDIO SOBRE LA DEGRADACION
FISICOQUIMICA Y BIOLOGICA DE
LA CELULOSA**

**TRABAJO MONOGRAFICO DE ACTUALIZACION
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:
QUIMICA FARMACEUTICA BIOLOGA
P R E S E N T A:
MARIA DE LOURDES FLORES ROMERO**



México, D. F.

1996

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**



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.

Jurado asignado:

Presidente	Prof. José María García Saiz
Vocal	Prof. Helio Flores Ramírez
Secretario	Prof. Joaquín Palacios Alquisira
1er. suplente	Prof. Benjamín Ruiz Loyola
2do. suplente	Prof. Víctor Manuel Ugalde Saldivar

Sitio donde se desarrolló el tema:

Bibliotecas de la Facultad de Química
Instituto de Química
CICH (Centro de Información Científica y Humanística)

Asesor del Tema

Dr. Helio Flores Ramírez



A handwritten signature in black ink, appearing to be 'H. Flores', written over a horizontal line.

Sustentante

María de Lourdes Flores Romero



A handwritten signature in black ink, appearing to be 'M. Flores', written over a horizontal line.

DEDICADO A

Mi esposo Roberto y mi hijo José Yabir

Mis padres Teófilo y Ma. del Carmen

Mis hermanos Javier, Tere, Miguel y Gloria

Luisita

Mis cuñados Magnolia, Pedro y Arnulfo

AGRADECIMIENTOS ESPECIALES

Gracias Dr. Helio Flores Ramirez por todo su apoyo y comprensión en la realización y terminación de este trabajo.

Gracias a DIOS por darme la Vida.

Gracias a DIOS por presentarse en cada una de las personas que me apoyaron y han cuidado de mis intereses personales.

CONTENIDO

Capítulo I	1
INTRODUCCIÓN.	
Capítulo II	2
ALGUNOS ASPECTOS FISICOQUÍMICOS IMPORTANTES DE LA CELULOSA.	
Capítulo III	5
ESTRUCTURA DE LA CELULOSA.	
Estructura química de la celulosa.	
Estructura macromolecular y cristalina.	
A. Difracción de Rayos X de monosacáridos y disacáridos a partir de un cristal único.....	5
B. Modelo seleccionado.....	7
C. Estructura cristalina de la celulosa.....	10
Capítulo IV.....	16
CARACTERÍSTICAS FISICOQUÍMICAS DE LA CELULOSA Y SUS DERIVADOS.	
Antecedentes.	
A. Celulosa.....	16
I. Reacciones específicas para estudiar la celulosa.	
II. Peso molecular y su distribución.	
III. Métodos de medición.	
1. Presión osmótica.	
2. Dispersión óptica.	
3. Ultracentrifugación.	
4. Viscosidad.	
5. Grupo terminal.	
6. Promedio del peso molecular y promedio del grado de polimerización.	
7. Distribución del peso molecular.	
8. Análisis de espectroscopía infrarroja.	
9. Resonancia magnética nuclear protónica (NMR-H ¹).	
10. Resonancia magnética nuclear carbono-13 (NMR-C ¹³).	
11. Cromatografía por permeación en gel.	

B. Derivados de la celulosa.....	32
1. Precipitación fraccionada.	
2. Dispersión óptica.	
3. Distribución del peso molecular.	
4. viscosidad.	
5. Sedimentación y difusión.	
6. Parámetros moleculares.	
Capítulo V	63
ESTUDIO SOBRE LA DEGRADACIÓN FISICOQUÍMICA	
DE LA CELULOSA Y SUS DERIVADOS.	
I. Reacciones locales de polisacáridos.....	63
1. Grupos hidroxilo.	
2. Reducción de grupos terminales.	
3. Enlaces glucosídicos.	
4. Unidades no glucosídicas.	
II. Reacciones catalizadas con ácido.....	64
I. Aspectos fundamentales.	
a. Hidrólisis ácida.	
b. Deshidratación y condensación.	
2. Hemicelulosas.	
a. Celulosa.	
III. Aplicaciones.....	70
1. Prehidrólisis.	
2. Sacarificación de la madera.	
IV. Reacciones de la madera en catálisis alcalina.....	73
A. Polisacáridos.	
1. Aspectos fundamentales.	
a. Degradación terminal.	
b. Reacciones químicas de terminación.	
c. Factores que afectan los procesos de degradación.	
d. Ruptura de los enlaces glucosídicos.	
2. Hemicelulosas.	
a. Celulosa.	
V. Reacciones de degradación oxidativa.....	88
A. Polisacáridos.	
VI. Degradación física de la celulosa.....	90
Capítulo VI	104
BIODEGRADACIÓN DE LA CELULOSA Y SUS DERIVADOS.	
I. Aspectos biológicos de hongos celulolíticos.....	104
A. Características generales del decaimiento de la madera.	

B. Celulosis por hongos.	
C. Importancia del sistema de reciclamiento del nitrógeno.	
II. Aspectos químicos de los sustratos de la celulosa.....	111
A. Generalidades.	
B. Sustratos para la celulosa.	
1. Hidrocelulosa.	
2. Carboximetilcelulosa.	
3. Celulosa hinchada en ácido fosfórico (Walseth).	
4. Pulpa y papel filtro.	
III. Enzimas involucradas.....	114
A. Generalidades.	
B. Endo-celulasa.	
1. Catálisis enzimática.	
2. Métodos de ensayo.	
3. Multiplicidad y purificación.	
4. Especificidad de sustratos.	
5. Transglucosidación.	
6. Condensación.	
7. Configuración del producto de hidrólisis.	
8. Glicoproteína.	
C. Exo-celulasa.	
1. Catálisis.	
2. Especificidad del sustrato.	
3. Configuración del producto.	
4. Glicoproteína.	
D. β -Glucosidasa.	
E. Sinergismo del sistema celulasa.	
1. C_1-C_x , hipótesis y sinergismo.	
2. Otra interpretación del sinergismo.	
F. Enzimas oxidativas y sistemas involucrados.	
1. Celobiosa deshidrogenasa.	
2. Celobiosa oxidasa.	
3. Glucosa oxidasa.	
4. Otros sistemas de oxidación.	
IV. Aplicaciones.....	127
A. Conversión enzimática de lignocelulósicos.	

Capítulo VII	130
--------------------	-----

DISCUSIONES Y CONCLUSIONES.

Bibliografía	138
--------------------	-----

CAPITULO I

INTRODUCCIÓN

La gran demanda de celulosa en el presente Siglo se ha debido principalmente al uso como materia directa a la industria textil y papelera y como materia prima para derivados tales como Rayón, acetato de Rayón para la industria textil.

Otros derivados químicos de importancia han sido el nitrato de celulosa para la industria militar, así como otros éteres y ésteres de celulosa para modificar viscosidad de soluciones acuosas y no acuosas aplicables a todas las ramas del consumo, desde la alimentaria hasta la textil.

Sin embargo, la etapa de modificaciones químicas de la celulosa no se ha detenido ya que desde la mitad del Siglo XX se han ido diversificado los derivados presentando muchas ventajas con respecto a otros compuestos de uso industrial. La razón es obvia ya que la materia prima (celulosa) se obtiene de varias fuentes naturales, todas ellas renovables.

La otra ventaja es que dada su naturaleza única los derivados son aceptados con facilidad en la industria alimentaria como aditivos sin mayores dificultades, así como en la industria textil y papelera en general.

Todo lo anterior indica que el empleo de la celulosa para el Siglo XXI continúe creciendo como materia prima, para derivados de la misma, por lo que es de suma importancia conocer ventajas y limitaciones de este polímero natural.

Esta tesis bibliográfica está diseñada para que se pueda tener un conocimiento a profundidad de lo anterior, conociendo los tipos de degradación que puede sufrir la celulosa, mediante el estudio de los procesos de degradación física, química y biológica para tener un conocimiento más profundo sobre la manera de activar o evitar la degradación de la misma, ya que al ser degradada la celulosa se está modificando su estructura ocasionando muchas veces cambios en la utilidad de la celulosa como tal y la de sus derivados.

CAPITULO II

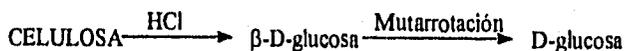
ALGUNOS ASPECTOS FISICOQUIMICOS IMPORTANTES DE LA CELULOSA

La celulosa es el material orgánico más abundante de la tierra (1, 2). Es útil como material estructural para las plantas árboles y hierbas, para permanecer rígidas. La celulosa también está presente en bacterias, hongos y algas que pueden ser consumidos por ciertos animales.

La celulosa se obtiene en grandes cantidades de la madera y en menor cantidad de la paja. Entre las plantas que también se utilizan para este fin están: algodón, lino, cáñamo, yute, esparto, ramio, etc.

Desde el punto de vista químico, la celulosa es un polímero natural formado por numerosas cadenas constituidas por elementos de β -D-glucosa ligados entre sí por enlaces glucosídicos que unen los átomos de carbono de la posición 1 de una molécula con el átomo de carbono de la posición 4 de la siguiente. La unidad estructural de la celulosa es un disacárido denominado celobiosa, que se origina por la unión de dos moléculas de β -D-glucosa del modo descrito anteriormente.

La celulosa es una sustancia blanca fibrosa de peso específico de 1.45. Es insoluble en agua y se hidroliza con ácido clorhídrico muy concentrado de 40%, en forma parecida a la degradación del almidón:



Una hidrólisis menos energética produce celobiosa, celotriosa y celotetrosa. Las celulosa no son, sin embargo, homogéneas y de ellas puede aislarse α y β celulosa. Su peso molecular parece encontrarse entre 300 000 y 500 000. En cuanto a su estructura y conformación, se admite la presentada en la Figura-1a y 1b respectivamente.

Las reacciones de la celulosa son las apropiadas de los glúcidos. Los grupos aldehídicos, con excepción de los que se encuentran en los extremos de las cadenas, forman parte de los enlaces glucosídicos y, en consecuencia, hacen que la celulosa no tengan propiedades reductoras apreciables.

Por cada molécula de β -D-glucosa la celulosa tiene tres grupos hidroxilo libres en las posiciones 2, 3 y 6; cuando se trata a temperatura ambiente con una solución de hidróxido de sodio al 18% , se hincha y da lugar a un compuesto llamado *alcalicelulosa*, que contiene una molécula de NaOH por cada unidad de celobiosa $[(C_6H_{12}O_5)_2 \cdot NaOH]_n$.

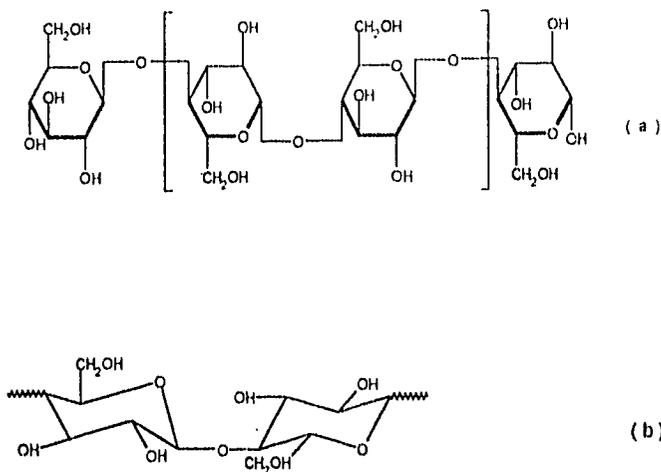


FIGURA - 1. (a) Estructura de la celulosa.
(b) Conformación de la celulosa.

Las cadenas se hallan constituyendo micelas, formando una red cristalina, en el que probablemente existen enlaces de hidrógeno (Figura-2). Esta estructura explica sus propiedades mecánicas y su resistencia a la ruptura. La celulosa es soluble en el reactivo de Schwitzer (solución de hidróxido de cobre amoniacal).

La celulosa muestra un cierto grado de cristalinidad debido a que las cadenas y micelas se disponen en una dirección paralela al eje de la fibra, dando lugar a una red cristalina con simetría monoclinica. Las reacciones de esterificación y eterificación de la celulosa, aunque provocan transformaciones desde el punto de vista químico permiten la conservación de su estructura fibrosa (probablemente debido a que los nuevos grupos encuentran el modo de introducirse longitudinalmente entre los intersticios de las cadenas) sin alterar del todo la disposición y característica de los enlaces de hidrógeno.

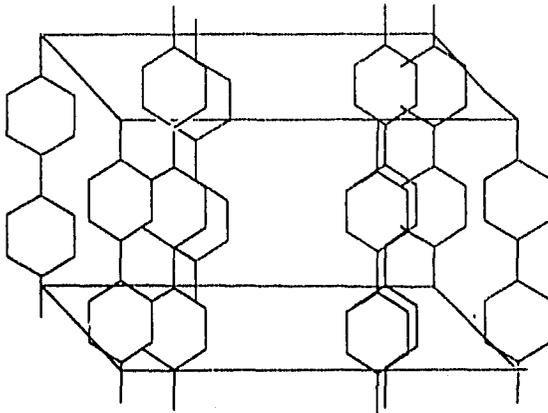


FIGURA-2. Red cristalina de la celulosa.

En las micelas se alternan las zonas cristalinas con las zonas amorfas, donde las cadenas, en lugar de ser paralelas al eje de la fibra, están dispuestas de manera mas o menos desordenada. Las zonas amorfas se diferencian de las cristalinas por que se hinchan más al entrar en contacto con el agua y se solubiliza mejor con los disolventes; son visibles en la celulosa regenerada hasta el punto de poder servir como ensayo para el reconocimiento de este producto. Entre las celulosas naturales, el grado de cristalinidad mas elevado se encuentra en las que proceden de algodón (aproximadamente el 50%) y las obtenidas del ramio y del esparto.

Por su gran potencial de aplicación, el desarrollo de la química y tecnología de la celulosa serán útiles para el siguiente milenio. El grado de desarrollo de tecnologías recientes para el estudio de la celulosa representan un paso importante para la revolución científica y tecnológica.

Debido a la gran utilidad de la celulosa y sus derivados, el estudio estructural de la celulosa ha sido importante en la ciencia de los polímeros. En efecto, la celulosa se ha estudiado durante la polimerización de macromoléculas.

CAPITULO III

ESTRUCTURA DE LA CELULOSA

ESTRUCTURA QUÍMICA

La estructura química de la celulosa está bien establecida por el método de metilación. Los productos de la hidrólisis de la celulosa son monosacáridos: glucosa, teniendo el rendimiento de 90 a 95% de 2,3,6-tri-O-metilglucosa obtenido además de la celulosa metilada. En el almidón no enlazado, no es detectable la tetra-O-metilglucosa la cual es obtenida de la metilación en ausencia de aire.

La estructura de la celulosa y la uniformidad del enlace glucosídico en la celulosa fue establecida por Zechmeister y Toth (3). Estos datos tienden a dar algunas propiedades físicas tales como solubilidad, rotación óptica en H_2SO_4 al 51% en alcohol etílico y punto de fusión de la celobiosa, celotriosa, celotetrosa y celopentosa como predicción para determinar los valores de la celulosa. Estos resultados confirman la uniformidad del enlace presente entre unidades glucosídicas repetitivas.

Es notable también la homogeneidad del enlace en la cadena de la celulosa la cual fue establecida por estudios cinéticos de la hidrólisis ácida de la celulosa. Observando una reacción de primer grado para la hidrólisis de celodextrina así como celulosa en H_2SO_4 al 51%.

ESTRUCTURA MACROMOLECULAR Y CRISTALINA

El análisis de la estructura cristalina de compuestos de bajo peso molecular así como grandes cristales es usualmente determinada por métodos cristalográficos celulares y posiciones atómicas de celdas por difracción de rayos-X. Sin embargo en el caso de macromoléculas complejas tales como la celulosa no es un cristal único, lo que dificulta la determinación de posiciones atómicas a partir de datos de rayos-X además de las aproximaciones hechas por un método espacial de las moléculas de celulosa.

A. DIFRACCIÓN DE RAYOS-X DE MONOSACÁRIDOS Y DISACÁRIDOS A PARTIR DE UN CRISTAL ÚNICO.

Arnott y Scott (4) aprovecharon la unión atómica de ángulos menores de 90 grados de los estudios cristalográficos de polisacáridos. Ellos establecieron los valores de longitud de enlace, ángulo de enlace y conformación angular de anillos para residuo de glucopiranososa a partir de un análisis por rayos-X de 27 mono- y disacáridos. Estos valores se establecen en la Figura-3 y Tabla-I.

TABLA-1. Longitud de enlace promedio, ángulo de enlace y ángulo de conformación. Ref. (4)

	PARÁMETRO	VALOR PROMEDIO	DESVIACIÓN ESTÁNDAR	INTERVALO
Longitud de enlace C-C	C(1)-C(2)	1.523 (A ^a)	0.008 (A ^a)	1.510-1.538 (A ^a)
	C(2)-C(3)	1.521	0.007	1.508-1.536
	C(3)-C(4)	1.523	0.009	1.509-1.537
	C(4)-C(5)	1.525	0.008	1.511-1.539
	C(5)-C(6)	1.514	0.009	1.495-1.534
Longitud de enlace C-O	C(1)-O(1)	1.398	0.011	1.376-1.397 ^a
		1.415	0.009	1.405-1.435 ^b
	C(2)-O(2)	1.423	0.008	1.405-1.435
	C(3)-O(3)	1.429	0.008	1.410-1.446
	C(4)-O(4)	1.426	0.010	1.409-1.446
	C(5)-O(5)	1.436	0.009	1.425-1.464
	C(6)-O(6)	1.427	0.008	1.415-1.442
	C(1)-O(5)	1.429	0.006	1.421-1.443 ^a
	1.414	0.009	1.392-1.428 ^b	
Ángulo del anillo	C(1)-C(2)-C(3)	110.3 ^a	1.3	108.3-113.9
	C(2)-C(3)-C(4)	110.5	1.4	106.0-113.6
	C(3)-C(4)-C(5)	110.3	1.4	107.9-112.9
	C(4)-C(5)-O(5)	110.0	1.3	107.6-111.8
	C(5)-O(5)-C(1)	112.0	1.0	110.6-112.7 ^c
		114.0	0.4	113.2-114.7 ^d
	O(5)-C(1)-C(2)	109.2	1.1	107.4-112.3
Ángulos de enlace	O(5)-C(1)-O(1)	107.3	0.7	105.9-108.3 ^e
		111.6	0.9	109.8-112.7 ^d
	C(2)-C(1)-O(1)	108.4	1.9	106.2-110.4
	C(1)-C(2)-O(2)	109.3	1.8	105.1-112.1
	C(3)-C(2)-O(2)	110.8	1.8	106.4-113.2
	C(2)-C(3)-O(3)	109.6	1.8	105.0-112.9
	C(4)-C(3)-O(3)	109.7	1.7	106.5-112.5
	C(3)-C(4)-O(4)	110.4	1.3	107.8-112.4
	C(5)-C(4)-O(4)	108.6	1.9	105.8-112.2
	C(4)-C(5)-O(5)	112.7	1.4	109.8-115.3
	O(5)-C(5)-O(6)	106.9	0.5	106.8-107.9
	C(5)-C(6)-O(6)	111.8	1.2	109.4-113.8
	Ángulo de conformación	O(5)-C(1)-C(2)-C(3)	56.0	4.0
C(1)-C(2)-C(3)-C(4)		-53.2	3.3	(-43.9)-(-58.5)
C(2)-C(3)-C(4)-C(5)		53.0	3.3	(48.0)-(60.3)
C(3)-C(4)-C(5)-O(5)		-55.4	4.0	(-48.3)-(-61.4)
C(4)-C(5)-O(5)-C(1)		61.1	3.8	(54.2)-(70.0)
C(5)-O(5)-C(1)-C(2)		-62.2	3.3	(-56.0)-(-69.0)

^a estructura de glucósidos axial C(1)-O(1) ^e ecuatorial C(1)-O(1)
^b glucósidos C(1)-O(1) ^d axial C(1)-O(1)

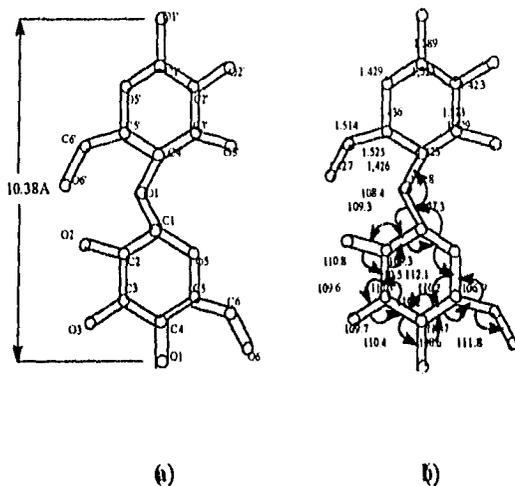


FIGURA-3. Modelo molecular de la cadena de celulosa. (a) Numeración atómica en la unidad repetitiva de celobiosa; (b) longitud de enlace, ángulo de enlace y ángulo conformacional.

B. MODELO SELECCIONADO.

1. Uniones atómicas de menos de 90 grados.

El aprovechar los enlaces atómicos que tienen menos de 90 grados fue la primera aplicación para la celulosa. Usando distancias estándares de enlace y ángulos e incorporando a la molécula un O3-H, O3-H...O5 hidrógeno intramolecular la longitud de enlace es de 0.275nm y consiste en una simetría $P2_1$, un modelo para la cadena de celulosa por la repetición de una doble hélice en 1.038nm. El enlace glucosídico tiene un ángulo de 114.8 grados y la torsión del enlace glucosídico es de $\phi = 23.0$ grados y $\psi = -2.37$. Este modelo molecular es completamente rígido excepto para la rotación de la cadena lateral cerca del enlace C5-C6 de la hidroximetil. La rotación C5-C6 fue descrita por el ángulo dihedral χ , en donde a χ se le determinó un valor de cero cuando el enlace C6-O6 tiene una posición *cis* con el enlace C4-C5. La rotación en contrasentido a las manecillas del reloj del grupo cuando el enlace C5-C6 se encuentra debajo representa una rotación positiva.

2. Energía conformacional.

Donde se encuentra el enlace atómico se aprovecha el ángulo glucosídico de ϕ y ψ ; la energía conformacional acoplada con el ángulo variable ϕ y ψ fueron investigadas como probable energía conformacional molecular.

El mapa de la energía conformacional de la cadena de celulosa como una función de la rotación ϕ y ψ se presenta en la Figura-4 en la cual el grupo hidroximetil es el que se encuentra en la posición tg y las tres mas probables posiciones rotacionales del grupo hidroximetil se encuentra en la Figura-5. Esta es la región permitida conteniendo la conformación libre a partir de los átomos enlazados y aquellos enlaces de hidrógeno -que es relativamente pequeño entre ϕ y ψ . La energía fue calculada en Kcal/mol de residuo.

El estudio de cadenas de oligosacáridos, (5) nos permite determinar la energía conformacional de porciones de disacáridos independientes de la longitud de la cadena. Tres pasos diferentes de un modelo de interacción en una porción de disacárido estable de cadenas infinitas establecen un modelo diferente en la naturaleza de los grupos que involucran enlaces de hidrógeno. Considerando al disacárido como una unidad repetitiva la combinación de estos tres modelos son el resultado de las seis diferentes conformaciones de la cadena única de celulosa. El hecho de decir que hay energías conformacionales similares, nos está indicando el porque de la abundancia de estas seis estructuras cuando se empaca la celulosa nativa y procesadas en microfibras fue largamente determinada por interacciones intermoleculares e intramoleculares entre elementos lejanos de la estructura covalente. Todas las conformaciones meta-estables presentan hélices extendidas. Los cálculos de un doblez agudo (alta energía conformacional) ocurre solamente si fue bastante alta la interacción atractiva compensada.

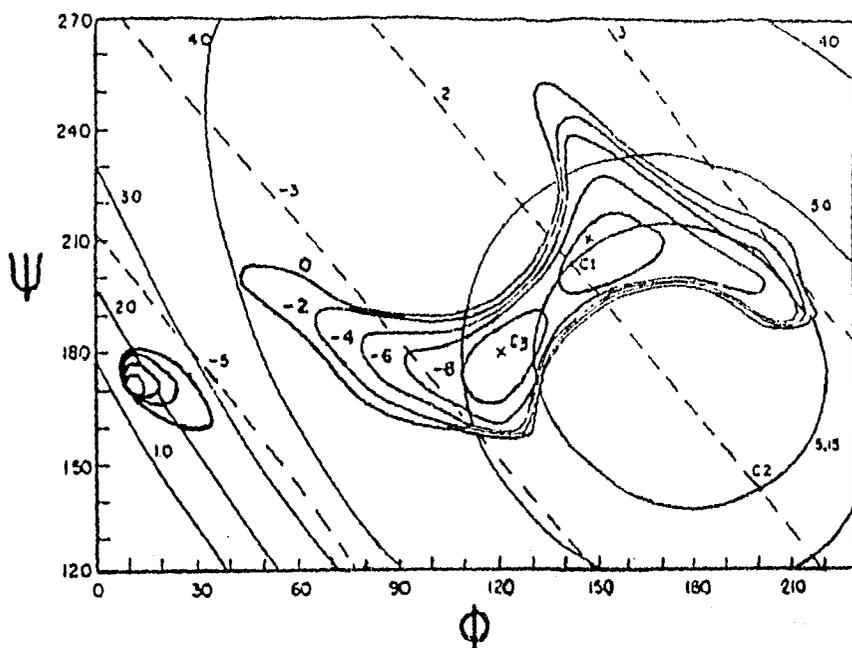


FIGURA-4. Mapa de la energía conformacional (kcal/mol) de la cadena de celulosa como una función de la rotación del enlace C(1)-O(1) (Φ) y el enlace O(1)-C(4') (ψ). El grupo hidroximetil está en la posición tg. Las líneas cortadas denotan la constante n (número de residuo por turno de hélice, con n positivo indica una rotación de la hélice hacia la derecha); la conformación marcada por C1 y C2 denotan las dos hélices conformacionales con $nh = 25,15$, CB denota la conformación experimentalmente observada de celobiosa cristalina y las cruces marcan la mínima energía.

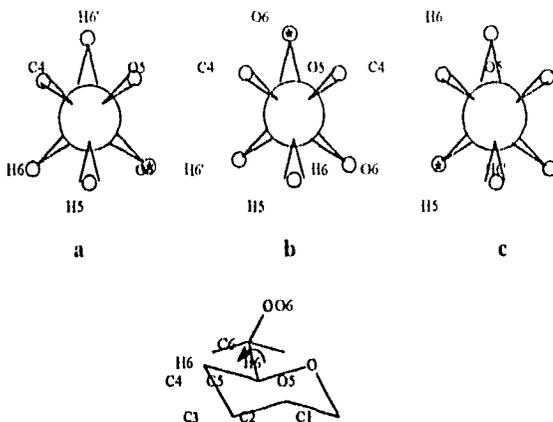


FIGURA-5. Las tres probables posiciones del grupo hidroximetil:
(a)g; (b)gg; (c)lg.

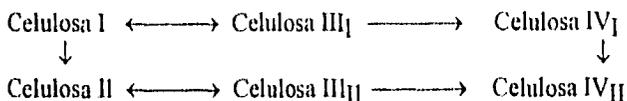
C. ESTRUCTURA CRISTALINA DE LA CELULOSA.

El polimorfismo de la estructura cristalina de la celulosa es bien conocida. La forma nativa de la celulosa es conocida como celulosa I. Cuando la celulosa es tratada con soluciones concentradas de álcali, por ejemplo NaOH al 18% a 20°C y después de macerarlo se lava con agua para así obtener la celulosa II. La celulosa II también es obtenida por regeneración de la celulosa I a partir de cuproamonio por método viscosímetro. Cuando la celulosa I es tratada en solución acuosa de etilendiamina seguido por un lavado con agua, se obtiene la celulosa II. La conversión de celulosa I a II es reversible donde la celulosa I se obtiene como producto natural de la biosíntesis.

La celulosa III es obtenida por tratamiento de la celulosa con amoníaco líquido a -80°C y con la consecuente evaporación del amoníaco. El espectro infrarrojo de la celulosa III preparada a partir de celulosa I y celulosa II es diferente, así como la difracción de rayos-X, la celulosa III obtenida a partir de celulosa I y II se denota como III_I y III_{II}, respectivamente.

La celulosa IV es obtenida a partir de la celulosa III por calentamiento en glicerina a 260°C. Las dos formas de celulosa IV son IV_I y IV_{II}, dependiendo de la celulosa de origen.

La reversibilidad de la conversión de los cuatro polimorfos es ilustrada en el esquema siguiente:



CELULOSA I

La estructura cristalina de la celulosa I fue estudiada de la alga *Valonia ventricosa*, a través del análisis de la energía conformacional y análisis intenso de rayos-X. A través de una celda unitaria la difracción electrónica puede ser dirigida también por reflexión con celda unitaria monoclinica con dimensiones de $a=1.576$ nm, $b=1.642$ nm, $c=1.034$ nm, $\gamma=96.8$ deg, contenidas en las cadenas, la reflexión ecuatorial puede ser dirigida con una pequeña celda unitaria ($a=0.785$ nm, $b=0.814$ nm, $c=1.034$ nm, $\gamma=96.9$ nm).

La coordinación atómica del residuo glucosídico fue usado en los cálculos obtenidos de la investigación de determinar la coordinación por rayos-X para la estructura cristalina de β -D-glucosa y celobiosa. El enlace glucosídico tiene un ángulo conformacional, este residuo fue tomado para investigar los valores correspondientes. El mapa de energía conformacional fue reportado en función de la energía potencial como una función de la rotación cercano al enlace C(1)-O(1) (ϕ) y al enlace ψ O(1)-C(4'), mostrado en la Figura-4.

Independientemente de estudiar la estructura cristalina de la celulosa de la alga *Valonia ventricosa*. Se usaron métodos de cuerpo rígidos para refinar los modelos de las cadenas contenidas son una muestra sensible (polaridad paralela) o sensibilidad alternada (polaridad antiparalela) a través de los datos obtenidos.

El refinamiento de este método se realizó llevándolos con dos modelos paralelos y dos antiparalelos con respecto a un parámetro molecular el grupo hidroximetil y paquete de tres parámetros: (1) no asegura la cadena central a lo largo de la hélice axial con respecto al origen, (2) la rotación acoplada de las cadenas cercanas a sus respectivos ejes axiales, (3) la rotación de la segunda cadena cerca de el eje axial con respecto a la posición de la primera cadena.

La proyección de la estructura de la celulosa I se muestra en la Figura-6, las cadenas encerradas fueron dispuestas en planos y estabilizados por enlaces de hidrógeno, por ejemplo, dos enlaces de hidrógeno intramolecular a lo largo de la cadena OH-3'...O-5 (0.275 nm) y OH-2...OH-6' y un paquete de hidrógeno intermolecular aproximadamente perpendicular a la cadena axial a lo largo del eje OH-6...OH-3.

CELULOSA II

La estructura cristalina de dos diferentes fibras de celulosa II consisten en una cadena antiparalela de moléculas esencialmente idénticas con excepción de la posición del oxígeno del grupo hidroximetil. No obstante, la diferencia de los parámetros se da a conocer en la Tabla-2, el grupo espacial es $P2_1$ y la celda contiene dos cadenas de celulosa que pasan a través de un centro de proyección ab. La Figura-7 da a conocer las proyecciones de las cadenas de celulosa en los ejes c (a) y perpendicular a la fase ac en la celda unitaria (b). Como en el caso de Fortisan, los enlaces de hidrógeno intermolecular ocurre a lo largo del plano 0,2,0 (enlaces OH-6...O-2 para las cadenas rotas y OH-6...O-3 para las cadenas centrales) y el plano 1,1,0 entre el OH-2 (roto)...O-2' (centrado). Las posiciones del oxígeno del hidroximetil son gt en la cadena rota y tg en la cadena central. Así los paquetes paralelos son más extensos, se esquematizan los puentes de hidrógeno en tercera dimensión, los cuales son resultantes de la celulosa II siendo la más estable, su energía estructural baja y la explicación parcial del porque celulosa II no puede tener una alta energía de reversión, como en la cadena paralela de la estructura de celulosa I.

CELULOSA III

Del tratamiento de la celulosa I y II con amoniaco líquido seguida por una completa evaporación del amoniaco se llega a obtener la celulosa III. Los polimorfos son obtenidos dependiendo del material de origen conociendo respectivamente a la celulosa III_I y III_{II}. Sus parámetros de rayos-X son ligeramente idéntico mientras que los de el espectro infrarrojo son totalmente diferentes, la estructura de cada una de ellas va a ser diferente en una cadena polar.

Sarko et al. (6) predijeron que la estructura de celulosa III_{II} es similar a la cadena II: la celulosa III_{II} es antiparalela y se reensambla a la celulosa II en el enlace de hidrógeno de la cadena conformacional.

CELULOSA IV

La celulosa IV tiene dos polimorfos que fueron obtenidos por el calentamiento de la celulosa III: a partir de la celulosa III_I se obtiene la celulosa IV_I así como también la celulosa IV_{II} se obtiene a partir de la celulosa III_{II}. Los parámetros de rayos-X de las celulosa IV_I y IV_{II} tienen apariencia similar; en acetilación heterogénea la celulosa IV_I produce una forma cristalina de triacetato de celulosa I (paralelo a la cadena estructural) donde también la celulosa IV_{II} produce un triacetato de celulosa II (cuya cadena es antiparalela).

También se estudio la energía de los arreglos cristalinos junto con la energía conformacional (7), lo cual nos indica que los arreglos paralelo meta estable y antiparalelo estable existen. Por analogía con un parámetro unitario y notas del enlace de hidrógeno tomados a partir de los datos de la difracción de rayos-X los

arreglos más estables paralelo y antiparalelo corresponden a la estructura de la celulosa I y II respectivamente. Algunas estructuras de baja energía obtenidas en computadora pueden corresponder a la celulosa III y IV aunque no se ha llegado a una explicación que defina la identificación de este hecho. La presencia de algunas estructuras no homogéneas a lo largo y en la superficie de microfibras fueron indicadas. Una cadena-2 y una cadena-8 de un modelo fueron comparados. Las diferencias en la conformación, arreglos cristalinos y energía son poco aceptadas debido a una explicación limitada. Un modelo sugerido para la transformación a partir de una cadena de celulosa I meta-estable paralela a la cadena más estable antiparalela de celulosa II se obtuvo durante la mercerización.

Un análisis comparativo de las estructuras físicas de regiones desordenadas de varios compuestos de algodón usando ESR (Resonancia de spin electrónico) y marcado del giro sobre sí mismo de muestras, se conoce que el spin designado es un método adecuado para la evaluación cuantitativa de diferencias finas estructurales en regiones desordenadas de celulosa de algodón, observando también que tienen similares propiedades químicas, los cuales fueron confirmados por estudios calorimétricos (8).

TABLA- 2. Parámetros unicelulares para varias celulosas II.

Fuente	Sistema cristalino	Parámetros unicelulares				Grupo Espacial
		a/nm	b/nm	c/nm	γ	
Fortisan*	monoclínico	0.909	0.796	1.031	117.3°	P2 ₁
Rayón	monoclínico	0.918	0.793	1.031	117.3°	P2 ₁
Algodón Mercerizado	monoclínico	0.899	0.802	1.036	116.6°	P2 ₁

*Marca registrada de fibra celulósica de una saponificación parcial de la fibra elongada de acetato de celulosa. Es un producto semisintético que se parece al algodón en muchos aspectos, el producto es de alta tenacidad (5 a 7 lb/denier en fibra seca).

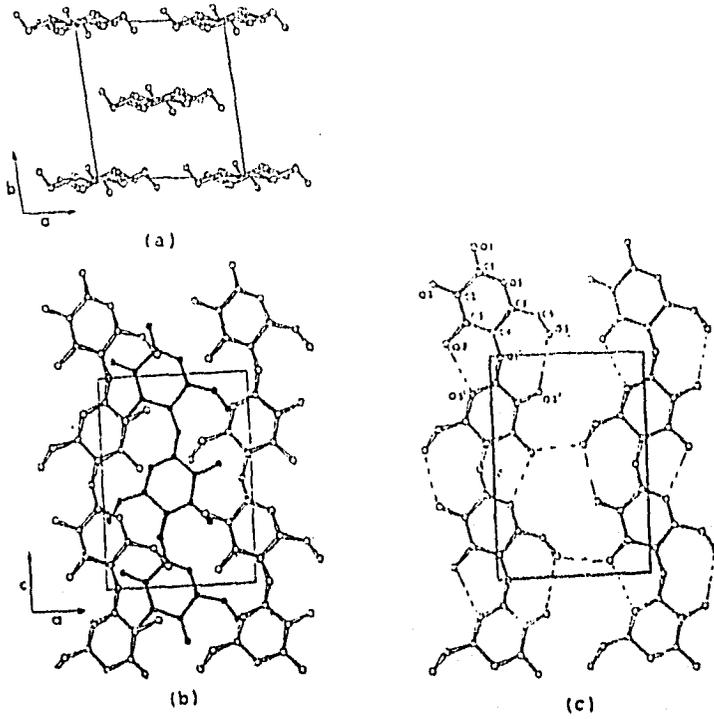


FIGURA-6. Proyección de un modelo de dos cadenas de celulosa I (Valonia ventricosa): (a) plano perpendicular hacia ab a lo largo de los ejes de las fibras; (b) plano perpendicular a ac; (c) plano (0,2,0) de los enlaces de hidrógeno.

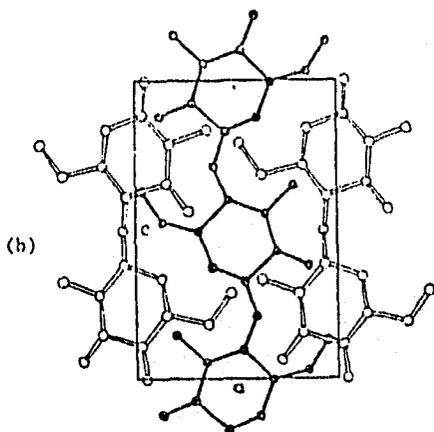
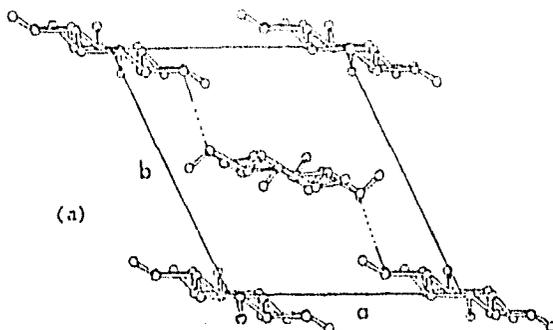


FIGURA-7. Proyecciones de celulosa II (fibra de rayón) en celda unitaria (a). Se muestra perpendicular al plano ab; enlace de hidrógeno a lo largo del plano 1,1,0. (b) se muestra perpendicular al plano ac.

CAPITULO IV

CARACTERIZACIÓN FÍSICOQUÍMICA DE LA CELULOSA Y SUS DERIVADOS

ANTECEDENTES (1)

La celulosa es una sustancia compleja constituida por celulosa, hemicelulosa, ligninanos y extractos. Las propiedades de éstos se aprovechan para el análisis de la madera, utilizando técnicas químicas como: Espectroscopia electrónica de Auger (AES), Espectroscopia foto electrónica de Rayos-X (XPS) y Fluorometría de Rayos-X (FSX) usado para el análisis atómico de la misma especie que están contenidos en la superficie de la sustancia; además de Espectroscopia Ultravioleta (UV), Espectroscopia infrarrojo (IR), Resonancia Magnética Nuclear (NMR), Resonancia Para magnética Electrónica (EPR), para caracterizar a los componentes de la madera de acuerdo a su estructura, reactividad y propiedades poliméricas.

A. CELULOSA

I. REACCIONES ESPECIFICAS PARA ESTUDIAR LA CELULOSA.

La celulosa es un carbohidrato que contiene 44.2% de carbono, 49.5% de oxígeno y 6.3% de hidrógeno. La fórmula molecular de la celulosa es expresada como $(C_6H_{10}O_5)_n$ (donde $n=2,3,\dots,i$). La celulosa es un polímero de la glucosa y que por hidrólisis se descompone en su monómero. La celulosa está constituida por unidades de β -D-glucopiranosas, cada uno de los cuales tiene un grupo hidróxido primario y dos grupos hidroxilo secundarios, tales pueden sufrir esterificación, eterificación, oxidación y otras reacciones como halogenación e introducción de una sal cérica. Un gran número de derivados de la celulosa se pueden preparar usando estas reacciones.

La celulosa tiene tres grupos hidroxilo libres por cada unidad de glucosa y son las posiciones donde ocurren las reacciones. Sometiendo una celulosa metilada a hidrólisis el producto final es 2,3,6-trimetilglucosa. Para determinar la posición del enlace glucosídico en celobiosa, esta es oxidada con agua de bromo y entonces es metilada e hidroxilada. Los productos finales son 2,3,4,6-tetrametilglucosa y ácido 2,3,5,6-metilglucónico. El enlace glucosídico determinante en la celobiosa es un enlace 1,4 (Figura-8).

Como conclusión de lo anterior se llega a que la molécula de celulosa es una cadena grande que consiste de enlaces β -1,4-glucosídicos.

Las propiedades físicas y químicas de los derivados de celulosa van a depender del tipo de sustituyentes, el grado de sustitución, la uniformidad de sustitución, el grado de polimerización y las distribución del peso molecular.

La naturaleza de los sustituyentes influye en las propiedades físicas y químicas. Por ejemplo, se pueden hacer comparaciones de las propiedades de aminoalquilcelulosa con las propiedades de la carboxialquilcelulosa.

El grado de sustitución (DS) es definido como el número promedio de grupos hidroxilo que sustituyen a una unidad de glucosa. El máximo es 3. Las propiedades físicas como solubilidad e hinchazón se verán fuertemente afectadas por el cambio de DS. Por esta razón, la solubilidad de la metilcelulosa cambia de acuerdo a los siguientes criterios:

Solución de NaOH diluida	soluble	(DS, 0.4-0.6)
Agua	soluble	(DS, 1.3-2.6)
Disolventes orgánicos	soluble	(DS, 2.4-2.7)

La introducción de sustituyentes hidrófobos hace que la celulosa sea soluble en soluciones alcalinas o agua por la destrucción de las regiones cristalinas, las cuales están formadas por puentes de hidrógeno intra- e inter-moleculares entre grupos hidroxilo.

La uniformidad de sustitución está gobernada por la reactividad de los grupos hidroxilo, los cuales van a depender de factores estéricos y estáticos. Los cuales a su vez estarán gobernados por la homogeneidad de la reacción.

II. PESO MOLECULAR Y SU DISTRIBUCIÓN(1).

Las propiedades físicas y químicas de la celulosa dependerán, como en todos los polímeros, de su peso molecular y la distribución de este. El peso molecular (M) es expresado como grado de polimerización ($DP = M/162$); en donde 162 es el peso molecular de una unidad de glucosa anhidra. También el peso molecular, va a depender de la técnica utilizada, así como de las propiedades del método de medición y de la longitud de la cadena de la celulosa. La Tabla-3 muestra algunos tipos de pesos moleculares, la definición y métodos de medición.

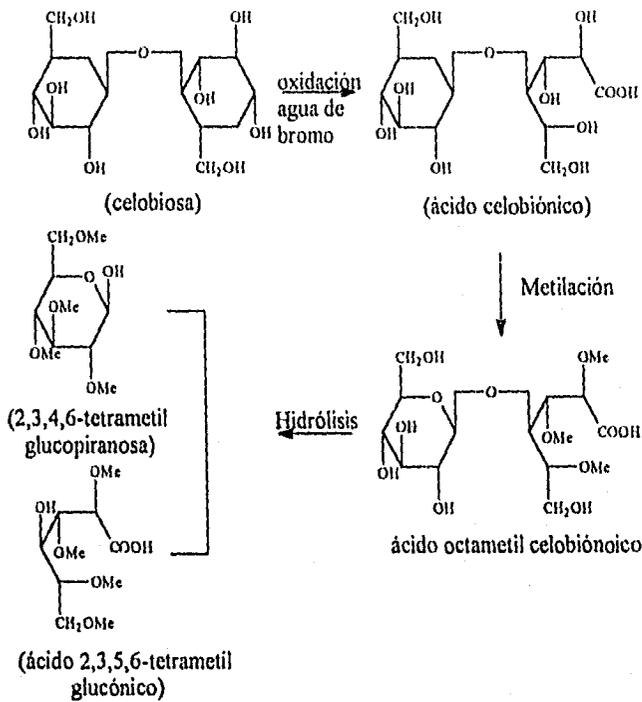


FIGURA-8. Oxidación, metilación e hidrólisis de celobiossa para determinar la posición de enlaces glucosídicos.

Cuando se determina el peso molecular y su distribución es necesario disolver la celulosa. La Tabla-4 muestra algunos disolventes utilizados para la medición del peso molecular de la celulosa .

TABLA-3. Diferentes tipos de medición de pesos moleculares de materiales polimoleculares.

PARÁMETRO	DEFINICIÓN	MÉTODO DE MEDICIÓN
Número promedio del peso molecular	$M_n = \frac{\sum n_i M_i}{\sum n_i}$	Presión osmótica Reducción de grupos terminales
Peso promedio del peso molecular	$M_w = \frac{\sum n_i (M_i)^2}{\sum n_i M_i}$	Dispersión de la luz
Z promedio de peso molecular	$M_z = \frac{\sum n_i (M_i)^3}{\sum n_i (M_i)^2}$	Ultra centrífuga
Viscosidad promedio del peso molecular	$M_v = \left(\frac{\sum n_i (M_i)^{1+\alpha}}{\sum n_i M_i} \right)^{1/\alpha}$	Viscosidad

n_i y M_i son el número de moléculas y el peso molecular respectivamente.

^b Celulosa ($\alpha = 1$).

TABLA-4. Disolventes de celulosa

DISOLVENTES	COMPOSICIÓN QUÍMICA	C a r a c t e r í s t i c a s			
		SOLUBILIDAD	ACCIÓN OXIDANTE	ESTABILIDAD	COLOR
Cuoxam	$\text{Cu}(\text{NH}_3)_x(\text{OH})_2$	Fuerte	Fuerte	Débil	Azul (claro)
Cuen (ED)	$\text{Cu}(\text{en})_2^a(\text{OH})_2$	Fuerte	Fuerte	Débil	Azul (claro)
	$\text{Co}(\text{en})_1(\text{OH})_2$	Fuerte	Fuerte	Débil	Rojo púrpura
Cooxen					
Nioxen	$\text{Ni}(\text{en})_1(\text{OH})_2$	Fuerte	Fuerte	---	Violeta
	$(\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_2)_3$ FeNa_6	Fuerte	Débil	---	Verde
EWNN					
Zincoxen	$\text{Zn}(\text{en})_x(\text{OH})_2$	Débil	Pequeña	Fuerte	Incoloro
Cadoxen	$\text{Cd}(\text{en})_x(\text{OH})_2$	Fuerte	Pequeña	Fuerte	Casi incoloro

$^a(\text{en})$: $-\text{NH}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{NH}-$

III. MÉTODOS DE MEDICIÓN.

I. Presión osmótica.

El método de presión osmótica es una manera general para determinar el peso molecular el cual es determinado de acuerdo a la ecuación de Vant' Hoff:

$$\pi/C = RT/M$$

donde π = presión osmótica

C = concentración de la muestra

R = Constante de los gases

M = Masa molecular

T = Temperatura absoluta

La ecuación puede ser utilizada en soluciones diluidas en la técnica experimental, donde los valores van en relación de π/C la cual debe ser una línea recta. El punto de intersección para calcular la masa molecular es $C=0$.

En este método es usualmente utilizado el nitrato de celulosa y acetato de celulosa, pero la medición de una celulosa original puede ser determinada sobre solución de cadoxen.

Usualmente el peso molecular aumenta en el orden de $M_z > M_w > M_v > M_n$. La relación entre el peso molecular y la distribución del peso molecular se muestra en la Figura-9.

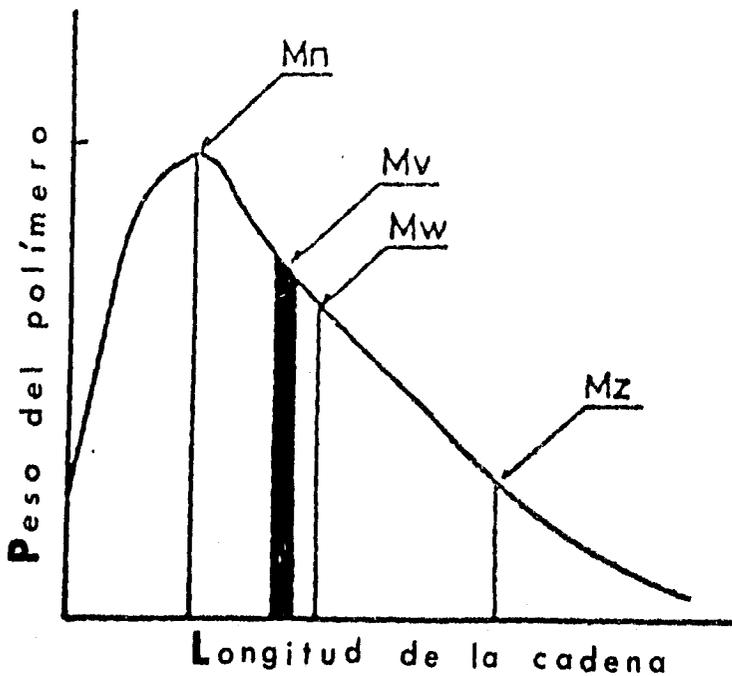


FIGURA-9. Peso molecular promedio y su distribución en un polímero típico.

2. Dispersión de la luz.

Este consiste en dispersar la luz cuando es pasada a través de un líquido o un gas. La intensidad de la luz puede ser determinada de acuerdo a la siguiente ecuación:

$$I = I_0 \exp(-\tau \cdot l)$$

donde I_0 = intensidad de la luz inducida

I = intensidad de la luz que logra atravesar

l = longitud del paso

τ = turbidez

La técnica de la dispersión de la luz permite determinar el peso molecular además de obtener información acerca de el tamaño, forma y poli dispersión de los derivados de la celulosa.

3. Ultracentrifugación.

Gracias a la fuerza gravitacional una partícula grande de algún polímero se puede precipitar, si la partícula es pequeña la sedimentación es obstruida por la fuerza de difusión termodinámica. La fuerza centrífuga provee de una fuerte gravedad la cual hace que el soluto se precipite. El método de ultracentrifugación nos permite determinar el peso molecular por el fenómeno de sedimentación.

Dependiendo de la magnitud de la fuerza centrífuga, este método nos puede dar la velocidad de sedimentación de las moléculas del soluto o su equilibrio de sedimentación. El peso molecular obtenido por el último método de medición cuando las velocidades de sedimentación y difusión están equilibradas se pueden expresar de la siguiente manera:

$$M = [2RT \ln(C_2/C_1)] / [w^2(1-V\rho)(x_2^2 - x_1^2)]$$

donde w = velocidad angular

ρ = densidad de la solución

V = volumen parcial específico del soluto

x_1 y x_2 = distancia entre el centro y el exterior

C_1 y C_2 = concentración del soluto en x_1 y x_2 respectivamente.

Este método nos da M_w y M_z además de proveer información acerca de la distribución de este peso molecular. La desventaja que tiene este método es que se requiere de mucho tiempo.

Sin embargo el peso molecular se puede obtener por el método de velocidad de sedimentación el cual es calculado por la siguiente ecuación:

$$M = [RTS] / [(1-V\rho)D]$$

donde S = constante de sedimentación

D = constante de difusión

Cuando el peso molecular de la muestra es bajo, existe una relación rectilínea entre el grado de polimerización que se presenta por este método y la viscosidad intrínseca (η) determinada por el método viscosimétrico.

4. Viscosidad.

Resultados experimentales dan a conocer que la viscosidad de una macromolécula en solución es proporcional al peso molecular del soluto cuando la concentración de ésta solución es baja. La siguiente relación lo expresa:

$$(\eta) = KM^a$$

donde (η) = viscosidad intrínseca
K y a = constantes

Para calcular M a partir de esta ecuación necesitamos conocer las constantes (K y a) obtenidas a partir de (η) de una muestra cuyo peso molecular sea conocido. Los valores de K y a se enlistan en la Tabla-5.

El peso molecular de la celulosa en ácido fosfórico disminuye exponencialmente con el tiempo, esto es expresado por la ecuación exponencial: $\log(M_0) + 1.29 \times 10^{-3}(t)$, donde M es el peso molecular degradado de la celulosa en un tiempo t, M_0 es el peso molecular original de la celulosa y 1.29×10^{-3} es el valor de la pendiente de la línea exponencial (9). La ecuación determina el peso molecular en cualquier tiempo de cualquier muestra disuelta en ácido fosfórico. El peso molecular fue determinado visco simétricamente y M_0 es determinada a partir de la ecuación.

TABLA-5. Valores de K y a para celulosa

Disolvente	K, dl/g ($\times 10^{-3}$)	a	Método
Cuoxam	6.8	0.9	Ultra centrifuga
C.D.E.	6.9	0.9	Ultra centrifuga
	17.0	0.8	Presión osmótica
EWNN	6.6	0.01	Ultra centrifuga
	25.6	0.75	Ultra centrifuga
Cadoxen	18.0	0.77	Dispersión óptica

Según los trabajos de Evans y Wallis (10), el promedio de la viscosidad de DP (grado de polimerización). P_v , de una muestra de celulosa es convenientemente estimada a partir de la viscosidad intrínseca de esta solución de hidróxido de cuproetilendiamina (cuene) 0.5M por aplicación de la ecuación Mark-Houwink-Sakurada (MHS) $[\eta] = KM_v^a = K'P_v^a$, donde $[\eta]$ es el peso promedio de la viscosidad intrínseca, M_v es el promedio de la viscosidad del peso molecular, y K, K' y a son constantes empíricas. En la práctica, la viscosidad intrínseca de la solución de celulosa es estimada a partir de una única medida de viscosidad.

Hay que notar que durante el trabajo sobre la caracterización de muestras de celulosa, los parámetros MHS sugeridos en los métodos estándar y en el sistema celulosa/cuene dan resultados incorrectos. Las etapas del método ASTM

que dan una aproximación para el grado de polimerización es dado por $P = 1.9 [\eta]$. Esta ecuación también estima grandemente P_v si se asume que $P = P_v$. Las constantes recomendadas para el sistema celulosa/cuene fueron originalmente derivadas a partir de esta correlación, sobre la suposición que el resultado es una viscosidad promedio, que puede ser menor al factor de $\sim P_w/P_n$ (distribución simple). Los índices de polidispersidad (P_w/P_n) no son reportados pero se encuentran en el intervalo de 1/5-3. Para obtener la ecuación válida, la viscosidad del peso molecular promedio para cada muestra puede estimarse (usando medidas de índice de poli dispersión y una aproximación para a) antes de correlacionar con la viscosidad intrínseca. La correlación entre P_n y $[\eta]$, generalmente no puede ser usada para la predicción de P_n a partir de la viscosidad intrínseca de muestras con poli dispersión arbitraria y MWD porque no hay una única relación entre P_n y $[\eta]$.

Como conclusión de su trabajo, indica que la relación entre el grado de polimerización y la viscosidad intrínseca de productos celulósicos en cuene dan resultados similares, particularmente cuando la polidispersidad es alta, como en muchas de las muestras comerciales. La relación referida en los estándares son similares y pueden ser reemplazados. Una mejor adecuación de la ecuación es sugerida en base a los datos de varias fuentes. Además el ajuste de esta ecuación requiere de una correlación directa de la viscosidad intrínseca de cuene con P_v en un amplio intervalo. La interpretación de los errores en los parámetros MHS se toman en cuenta en su correlación fuerte. Si la relación entre $\log[\eta]_{\text{etc}}$ y $\log P_v$ es confirmada por no ser lineal.

La determinación visco simétrica del grado de polimerización de celulosa (en forma de nitrato de celulosa), así como la determinación de la distribución del peso molecular por cromatografía de exclusión nunca va afectar la edad de la madera como se demostró en los trabajos de Wollny y Krause (11) al estudiar el álamo con 5 años de edad y pino con 40 años.

5. Grupo terminal.

Los dos residuos de glucosa terminales de la celulosa no solamente difieren de otras unidades de glucosa anhidras de la cadena, sino también difieren entre sí, Un número promedio del peso molecular puede ser establecido por medición de los grupos de glucosa terminales.

6. Promedio del peso molecular y promedio del grado de polimerización,

El peso molecular de la celulosa depende del método de aislamiento y del origen de la muestra de celulosa, así como del método de determinación. La Tabla-6 muestra los valores del grado de varias muestras de celulosa así como de sus derivados.

Tabla-6. DP promedio de la celulosa (1).

Muestras	DP Promedio	Métodos
<i>Celulosa nativa</i>		
Fibra de algodón	14120	Viscosidad (cuoxam)
Fibra de algodón	5000	Viscosidad (nitrato)
Fibra de algodón	10800	Ultracentrifugación (cuoxam)
Fibra de algodón	5200	Ultracentrifugación (nitrato)
Fibra de algodón (semilla)	9950	Dispersión óptica (nitrato)
Fibra de algodón	3250	Grupo terminal
Fibra ramio	6500	Viscosidad (nitrato)
Fibra ramio	4500	Grupo terminal
Fibra liber	9550	Viscosidad (nitrato)
Fibra liber	8000	Viscosidad (nitrato)
Fibra liber	9900	Dispersión óptica (nitrato)
Valonia	26500	
<i>Acetobacter xylinum</i>	5700	Viscosidad
<i>Acanthamoeba castellanii</i>	2000-6000	Viscosidad
<i>Celulosa de madera</i>		
Madera gimnosperma	8450	Viscosidad (nitrato)
	7800	Dispersión óptica (nitrato)
Madera angiosperma	8200	Viscosidad (nitrato)
	9350	Dispersión óptica (nitrato)
Pulpa gimnosperma	3300	Viscosidad (nitrato)
Pulpa angiosperma	3050	Viscosidad (nitrato)

7. Distribución del peso molecular.

Un método de medición general es trazar una "curva de distribución diferencial" la cual muestra la cantidades relativas de los pesos moleculares de las diferentes especies presentes en la celulosa original. La celulosa puede ser separada en sus fracciones por precipitación fraccionada o por disolución fraccionada. A partir del DP de las fracciones, se puede obtener la curva de distribución.

Para estas mediciones, generalmente se usan soluciones de cuproetilendiamina y tartrato de hierro sódico para nitrato de celulosa y acetato de celulosa.

Un método de titulación turbidimétrica caulitativa (12), para determinar las curvas turbidimétricas, son utilizadas para obtener la distribución del peso molecular y la distribución del grado de polimerización de la celulosa y nitrato de celulosa.

8. Análisis de espectroscopia infrarrojo.

En la química de la celulosa, la técnica de espectroscopia infrarrojo es usada para el análisis de la estructura cristalina de la celulosa. La asignación de las bandas de absorción de la celulosa son básicamente derivadas de la unidad de glucosa. La región 980 a 1500 cm^{-1} en el espectro del carbohidrato es generalmente complicado y la asignación de bandas es difícil.

9. Resonancia Magnética Nuclear Protónica (NMR- H^1).

Oligosacáridos y Polisacáridos.

Generalmente la complejidad del espectro NMR- H^1 de oligosacáridos y polisacáridos excluyen la información de estructura detallada. Van der. Veen (13) midió el espectro de una serie de glicósidos de D-glucosa y D-galactosa y sucesivos en correlación de la división observada para los átomos de hidrógeno anoméricos, con la configuración glicósido. Los cambios químicos observados para varios átomos de hidrógeno anoméricos también apareados son indicadores de la conformación.

Conviene resolver el espectro a 220-MHz obtenidos a partir de soluciones de *d*-cloroformo de un número de derivados de polisacáridos acetilados, metilados y benzoilados. En el espectro a 220-MHz de un 2,3,6-O-acetilcelulosa (peso molecular 60,000) tres metil acetilo fueron observados y también fueron separados los múltiplos de cada grupo de protones (H-1, H-2, H-3, H-4, H-5, H-6') atacados en la cadena de carbono del polisacárido. Los valores de sus espacios para las constantes acopladas $J_{1,2}$, $J_{2,3}$, $J_{3,4}$ y $J_{4,5}$ (de 8 a 9 Hz) que confirman la estructura generalmente aceptada, configuración y conformación de la celulosa.

Resultados similares se obtienen para la correspondencia del derivado de celulosa Tri-O-benzil. Sin embargo los derivados polisacáridos tienen DPs mayores de 1 000 (peso molecular > 500,000), las señales de los anillos protonados aunque separadamente, fueron ampliados sus constantes de acoplamiento y no fueron medidos.

10. Resonancia Magnética Nuclear Carbono-13 (NMR- C^{13}) (1).

En el estudio de polisacáridos, la espectroscopia NMR- C^{13} es también un método analítico importante. Los cambios químicos de NMR- C^{13} es diferente entre azúcares y los carbonos anoméricos α y β . Los carbonos de azúcar por los cuales se llevan a cabo los cambios químicos son móviles a través de la sustitución de grupos O-metil y O-acetil identificados. De este modo los espectros NMR- C^{13} dan importante información involucrando no solamente la posición de los átomos de carbono en el anillo piranosa sino el movimiento de las moléculas de celulosa en solución, donde su relajación momentánea puede ser medida.

La constante de espín acoplado especialmente en términos de los carbonos anoméricos, también proveen información acerca de las constantes de acoplamiento de los espines de carbonos anoméricos α y β , 269 a 171 Hz y 158 a 162 Hz respectivamente. La Figura-10 muestra el espectro de dos monosacáridos.

Gagnaire y Vincendon (14) disolvieron celulosa en Me_2SO-2H_2O conteniendo un 20% de 4-metilmorfolina N-óxido a 100°C y asignaron las señales de NMR- C^{13} de esta solución como C-1 (102.5 ppm), C-4 (79.3), C-2, C-3, C-5 (73.1, 74.7, 75.3) y C-6 (60.5). El grupo de señales en 73.1, 74.7 y 75.3 no fueron asignados individualmente, porque la especificidad de los experimentos heteronuclear-desacopladas no son confiables. Inoue y Chuzo (15) establecieron que los oligómeros de celulosa se asemeja a una serie homóloga de oligosacáridos

construidos por maltosa, isomaltosa, etc., en los cuales los cambios químicos del núcleo C de unidades internas son independientes de la longitud de la cadena. Sobre las bases de las asignaciones de celobiosa Usui y colaboradores (16) siguen la asignación a partir de los residuos centrales de oligómeros de celulosa: C-1 (103.4 ppm), C-2 (74.3), C-3 (76.1), C-4 (79.9), C-5 (75.4) y C-6 (61.5).

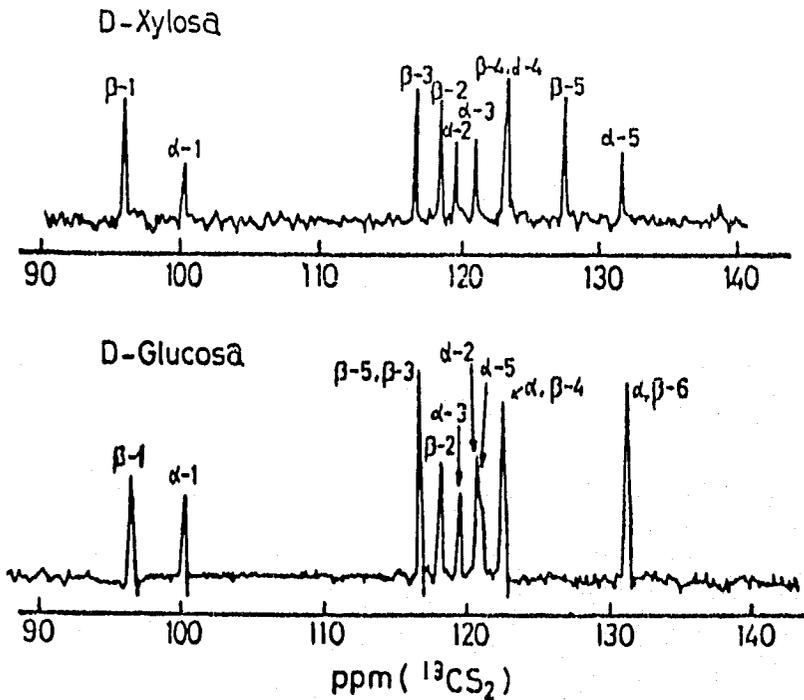


FIGURA-10. Espectro NMR- C^{13} de D-xilosa y D-glucosa.

11. Cromatografía por Permeación en Gel.

Los polímeros naturales, tales como la celulosa y hemicelulosa, son sustancias polidispersadas. El grado de polidispersidad influyen en las propiedades físicas, especialmente en el caso de la celulosa (17).

Para la determinación visco simétrica del grado de polimerización (DP_v) de muestras de celulosa no derivatizadas, un número de disolventes de celulosa pueden ser aplicados (e.g., EWNN, cuene, cuoxam, cadoxen), pero los resultados no incluyen la información acerca de la distribución de la cadena. Lo último puede ser obtenido por precipitación fraccionada, pero el método es muy tedioso y consume mucho tiempo. En contraste con esto, la cromatografía en gel permite una continua fraccionación de los polímeros. Una ventaja distinta de este método es que una curva de distribución (cromatograma) puede ser obtenida en un tiempo relativamente corto. Los derivados, tales como nitrato de celulosa tricarbamilato de celulosa, los cuales son solubles en disolventes orgánicos, fueron aplicados. Las propiedades ventajosas de estos derivados (solubilidad, estabilidad) facilitan la determinación de la distribución del peso molecular por GPC; la reacción de derivatización, sin embargo, puede causar una alteración en la celulosa inicial. Por esta razón se intenta hacer una celulosa no derivatizada por separado para la medición con GPC. Resultados muy prometedores fueron obtenidos por el uso de cadoxen como disolvente de celulosa y como eluyente; pero la fraccionación de la solución de celulosa fue complicada por la inestabilidad química y mecánica de los geles los cuales se utilizaron en la fase estacionaria.

En trabajos previos, un sistema de GPC fue presentado tal que permitió la separación de celulosas no modificadas así como de hemicelulosas.

En algún tiempo las soluciones de celulosa fueron preparadas en un orden ya sea para estudiar los procedimientos de disolución por formación del complejo celulosa-cadmio. El fin de estas investigaciones fue verificar las mediciones de resonancia magnética nuclear NMR así como ver si el complejo de celulosa con cadoxen se forma o no.

La evaluación del espectro de NMR de celulosa disuelta no indica la formación ente celulosa y cadoxen. En comparación con el espectro de cadoxen puro esto no afecta el cambio químico de Cd cuando la celulosa es presentada en solución. La coordinación de celulosa en Cd puede resultar en un cambio desde el núcleo Cd-N₆ a Cd-N₄O₂, lo cual asume que es asociado con el cambio químico del Cd. Los datos observados en NMR, prefieren la coordinación del Cd por nitrógeno y el hecho que presenta la etilendiamina es en exceso, indicando que el complejo con celulosa no toma lugar. Esta observación es soportada por el hecho de que las disoluciones de celulosa pueden ser diluidas solamente con agua para la extensión pequeña con precipitación. En contraste con otras publicaciones, esto muestra que la utilización de cadoxen no diluido como eluyente en cromatografía en gel es absolutamente necesario. Para evitar una interferencia en la línea de arrastre, el sistema GPC puede ser controlado termostáticamente.

Gracias a la combinación de columnas TSK HW 65 y 75 (1:1) se ha mejorado el sistema GPC y con esto pueden ser cromatografiadas celulosas de diferente origen.

Basados en estos descubrimientos, es necesario la investigación sobre la influencia del volumen hidrodinámico sobre el tiempo de retención en GPC. En este caso la viscosidad intrínseca $[\eta]$ multiplicada con el peso molecular (M) es trazado a través del tiempo de retención. La Figura-11 muestra que el dextrano y las tres muestras de celulosa siguen una recta y puede ser dada en una única curva.

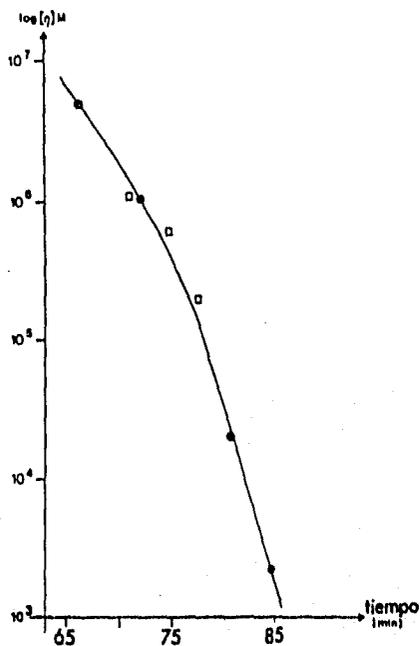


FIGURA-11. Curva de calibración universal para dextranos (●) y celulosa (□).

Antes de estabilizar la curva de calibración, las muestras de celulosa son analizadas usando el sistema GPC en combinación con el programa GPC. En la Figura-12 la curva de elución así como la distribución del peso molecular diferencial e integral. En adición, DP_w y el grado de dispersión son calculados automáticamente. La celulosa del ejemplo fue aislada a partir de un residuo celulósico de fibras de algodón pretratado.

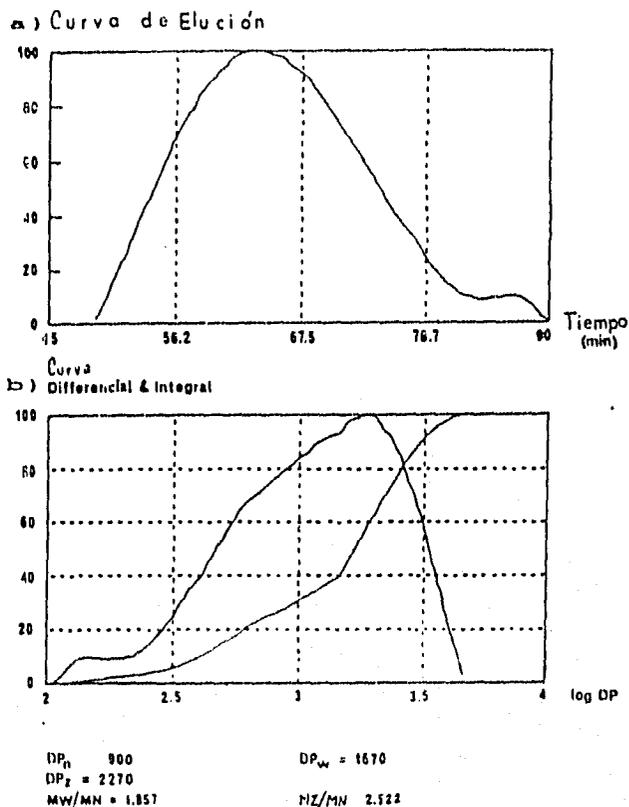


FIGURA-12. Curva de elución (a) y curvas diferencial e integral de celulosa aislada a partir de algodón pretratado; $DP_n \times 162.1 = MN$... Número del peso molecular promedio; $DP_z \times 162.1 = MZ$... Peso molecular promedio; $DP_w \times 162.1 = MW$... Peso promedio del peso molecular (Tabla-3) (162.1 = peso molecular de la unidad de glucosa anhidra).

El cromatograma muestra como fue monitoreado con un detector sensible al índice de refracción (Melz). Nivelando la concentración de la solución de celulosa a 5 mg/ml, la solución resultante es viscosa dificultando la inyección de la muestra en la columna. Por esta razón, es deseable la reducción de la concentración. Para archivar esto, la sensibilidad del detector tiende a incrementarse marcadamente. Para este propósito una interferencia refractométrica fue probada con buenos resultados. Esto hace ver que este tipo de detector permite monitorear las soluciones de celulosa con una concentración inicial de solamente 1-2 mg/ml. Este decremento en la concentración afecta la disolución de celulosa positivamente. Además la viscosidad de la solución facilita la inyección de la muestra en la columna de GPC.

B. DERIVADOS DE LA CELULOSA.

Un gran número de los derivados de celulosa con uso industrial que contiene grupos hidróxido de unidades de glucosa anhidra no están completamente sustituidos. La extensa sustitución de estos grupos hidróxido con diferentes grupos sustituyentes puede diferir en las posiciones del carbono (por ejemplo posiciones de C₂, C₃ y C₆) dos de ellos con diferentes reactividad. El grado de sustitución promedio para cada grupo hidróxido así como el grado de sustitución total con un residuo de glucosa <F> tiene profundos efectos sobre las propiedades de los derivados de celulosa (CD).

Recientemente, Kamide et al. (18) investigó el espectro NMR-C¹³ [H¹] para xantato de celulosa en una mezcla de hidróxido de sodio/D₂O y asignó bandas de NMR para CX por aplicación del método DEPT (aumento de distorsiones por polarización de transferencia) y por inspección del cambio en el espectro de NMR repetidamente. La sustitución en las posiciones C₂ y C₃ fue realizada por reacción gas-sólido, y la sustitución en la posición C₆ fue preferente en la reacción líquido-líquido. Durante la repetición los grupos xantato que se encuentran en la posición C₂ y C₃ se descomponen primero. Después de la completa descomposición de estos grupos, el grupo xantato en la posición C₆ se descompone gradualmente, como se da a conocer en la Figura-13.

Para xantato de celulosa (CA) los valores de los grupos funcionales son evaluados por métodos químicos, se basan usualmente en las diferencias de reactividad de los grupos hidroxilo no sustituidos para tosiliación con cloruro de p-toluensulfónico o una tritilación con tricloruro en presencia de piridina. En adición <f₂> y <f₃> no pueden ser evaluados porque no hay diferencia significativa entre la reactividad de los grupos hidroxilo de C₂ y C₃. Por esta razón, desde 1970, la espectroscopía de alta-resolución NMR-C¹³ [H¹] es extensamente aplicado para el análisis estructural de Ca y otros polímeros de CD.

Kamide y colaboradores (19 y 20) informaron que tres bandas fueron observadas a 170.2, 169.7 y 169.3 ppm en la región carbonilo del NMR-H¹ de CA con <F>= 2.92 disuelto en triclorometano deuterado (TCM)-d₁. Sus intensidades fueron 1.00, 1.02 y 0.89, reflejando la luz desviada de <F> para 3. Estas intensidades fueron comparadas con tres bandas de acetilmetil del espectro NMR-H¹ de una muestra y las investigaciones asignaron que las tres bandas del carbonilo en las posiciones -6, -3 y -2 manifiestan un rendimiento magnético bajo. Usando esta asignación, <fk> para varias muestras de CA se determinó <F>=0.49-2.92.

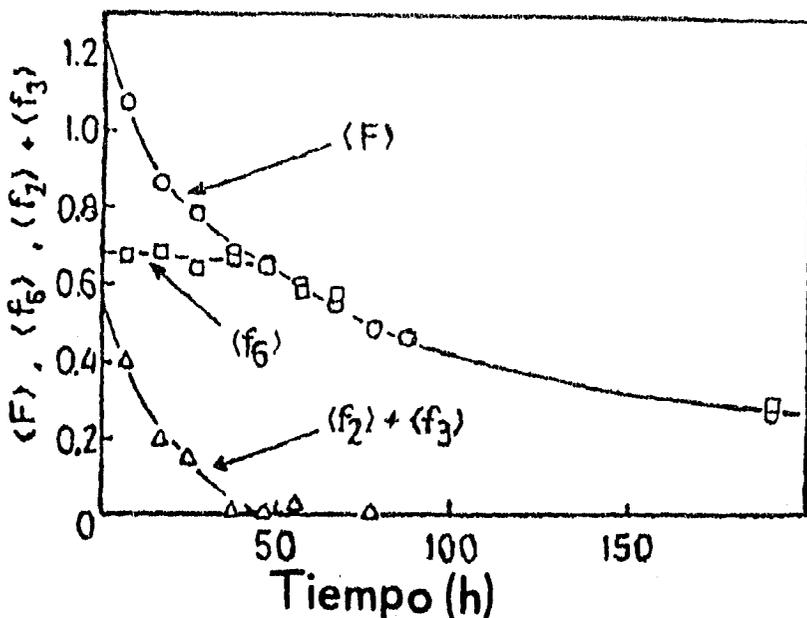


FIGURA-13. Cambio de $\langle F \rangle$ (○), $\langle f_2 \rangle + \langle f_3 \rangle$ (△) y $\langle f_6 \rangle$ (◻) de xantato de celulosa (CX) obtenida por una reacción gas sólida como una función del tiempo.

Posteriormente, Miyamoto et al. (21) aproximaron la región del carbonilo en el espectro NMR-C¹³ de CA con $\langle F \rangle = 1.91$ con tres bandas y bajo rendimiento magnético de los grupos acetilo en las posiciones -6, -3 y -2 por comparación de la intensidad de las bandas con el espectro NMR-H¹. Su asignación sobre las posiciones -2 y -3 es opuesta a la establecida por Kamide et al. (19 y 20) y Miyamoto et al. utilizaron la muestra de CA (1.91) no fraccionada para asignar bandas del carbonilo. Comúnmente se conoce CA con $\langle F \rangle$ en razón de 0.5-2.5 que consiste en residuos de glucosa mono-, di- y tri-sustituída. Así un total de 12 bandas (i.e., cuatro bandas para las posiciones C_k donde k=2, 3 y 6 respectivamente) fueron teóricamente los que aparecieron en la región del carbonilo del espectro NMR-C¹³. En efecto Kamide y colaboradores (19) observaron una curva ancha en la región. Tres bandas fueron observadas para ser profundamente traslapados, y otros designados para la región del espectro de NMR por Miyamoto et al. Estas diferencias no resolvieron el espectro y sin poder aislarlo dentro de las tres bandas que consisten en cuatro bandas cada uno y los resultados sobre la razón integrada se estimó desde la división aproximada en tres

bandas por falta de fundamentos. Esto es un efecto metodológico evitable en el procedimiento de Miyamoto et al. En contraste, CA con $\langle F \rangle = 3$, como lo mencionan Kamide y Okijama (19), tiene el residuo de glucosa tri-sustituida que es un compuesto predominante en la cadena polimérica y el espectro de NMR- C^{13} para el carbonilo es grandemente simplificado, reduciendo simplemente a tres bandas. Recientemente Kowsaka et al. (22) experimentó para establecer este problema sin resolver por aplicación de un método acoplamiento selectivo para el protón acetilado localizado en una posición específica de carbono.

La Figura-14a muestra la región carbonilo del espectro de NMR- $C^{13}[H^1]$ del sistema CA (2.92)/TCM-d a 40°C. Aquí se modula el ruido y el alto poder de las ondas de frecuencia de radio cuando se irradió sobre un núcleo protonado H y el ancho espectral fue de 1×10^4 Hz (200 ppm). Tres bandas agudas se obtuvieron y denotaron a partir de un bajo rendimiento magnético como a, c y d basado sobre la notación del espectro NMR- H^1 para el sistema CA (2.92)/DMSO- d^6 .

La Figura-14b muestran el desacoplamiento del espectro de NMR- C^{13} del sistema mostrado en la Figura-14a. Las tres bandas se hacen extensas y partidas cuando no se aplica el núcleo H. El resultado del experimento anterior puede ser explicado por lo siguiente: cada una de las bandas de la Figura-14a fue teóricamente fraccionada en cuatro bandas, lo cual no puede ser resuelto en la Figura, debido a la existencia de un largo rango de efecto de acoplamiento sobre los tres protones en el grupo metil-acetil vecino al carbonilo. Consiguientemente, cuando sólo el protón metil-acetil se encuentra localizado en una posición específica (así como C_2 , C_3 o C_6) es preferentemente acoplado, la banda del carbonilo enlazada directamente al grupo metilo acoplado puede ser agudado para ser observado agudamente. Esto es más adelante definido como un método de acoplamiento de bajo poder selectivo.

La Figura-14d muestra el espectro NMR- H^1 en la región protonada acetil-metil. Las tres bandas observadas son denotadas a partir de un rendimiento magnético bajo como A, C y D. Kowsaka et al. (22) definió la frecuencia de resonancia como una frecuencia del método de acoplamiento de baja selectividad.

La Figura-14c muestra los resultados experimentales. Las bandas A, C y D del protón acetil-metil son acoplados selectivamente en el espectro c-i, c-ii y c-iii. Una comparación de las Figuras-14a y 14c muestra que cada banda a, c y d fueron formados por aplicación de un método de acoplamiento de baja selectividad para cada banda A, C y D. Kowsaka et al. concluyeron que la correspondencia uno a uno existe entre la banda del protón metil-acetil de la banda del carbonilo como sigue: A - a, C - d, y D - c.

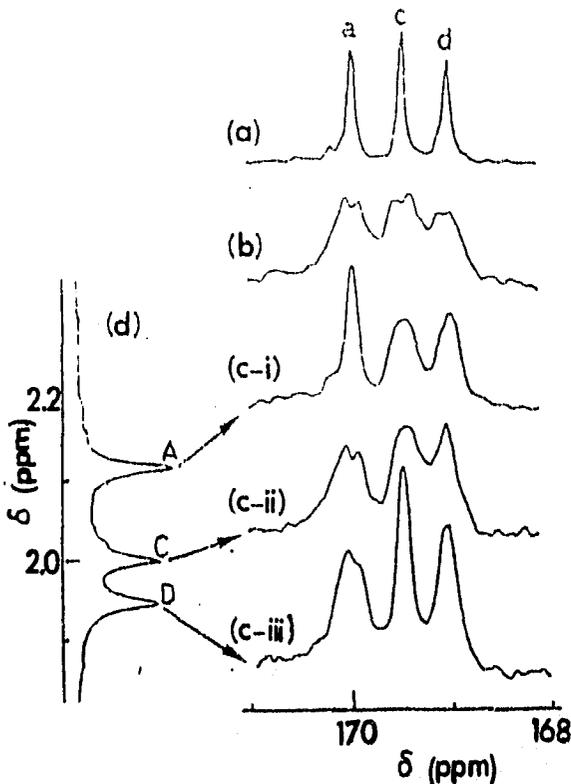


FIGURA-14. Espectro NMR- C^{13} (a, b, c-i, c-ii, c-iii) y NMR- H^1 (d) de acetato de celulosa ($\langle F \rangle = 2.92$)/sistema/tetraclorometano- d_1 : (a) ruido acoplado; (b) sin acoplar; c-i ~ iii) acoplado selectivamente.

Wu (23) indicó que la fracción de unidades de gluco-piranosas mono-, di- y trisustituidas en nitrato de celulosa puede ser evaluada a través del análisis intenso de la banda de C-1 cercano a los 100 ppm en el espectro del NMR- C^{13} . Clark et al. (24 y 25) determinaron $\langle f_k \rangle$ para nitrato de celulosa con varios $\langle F \rangle$ anillados desde 2.37 a 2.83 a través de la comparación del espectro de NMR- C^{13} del desnitrado CN en diferentes ácidos (Tabla-7). Recientemente Kamide et al. (26) llevaron a cabo mediciones de NMR- C^{13} [H^1] de CN comercial con $\langle F \rangle = 2.2$ y determinaron que la fracción del anillo piranosas mono-, di- y tri-sustituido en la muestra posee la asignación indicada por Clark y Stephenson (25). Los resultados

son mostrados del la Figura-15. La fracción de anillos de piranosa sustituidos solamente en las posiciones C₂, C₂ y C₃, y C₂, C₃, C₆ es denotado como <f_{2**}>, <f_{23*}> y <f_{236*}> (<f_{ijk}> donde i, j, k = 2, 3, 6 o *) valores determinados a partir de las intensidades de resonancia de las bandas de C2 listados en la Figura-15.

Wirsen (27) reportó que los nitrados de celulosa con contenido de Nitrógeno 11.2 y 13.3 %mol son caracterizados con GPC usando varios detectores, membrana osmométrica, dispersión óptica con pequeño ángulo del láser (LALLS) y medición de la viscosidad de soluciones. El dato del peso molecular a partir de GPC-LALLS en general están de acuerdo con los resultados obtenidos por LALLS estático y membrana osmométrica. GPC-IR es utilizado para determinar el contenido de nitrógeno.

El <fk> de sulfato sódico de celulosa (NaCS) fue sintetizado usando un complejo de DMF/SO₃ y fue determinado por el método NMR-H¹ con la adición de un análisis químico. Los resultados son listados en la Tabla-7. Esto fue establecido porque la suma de <f₂> + <f₃> es un factor predominante en la actividad anticoagulante de NaCS y en peso molecular (en este caso M_n) es sólo un factor minoritario.

TABLA-7. Evaluación de fk de varios derivados de celulosa por mediciones de NMR-C¹³ y -H¹.

Derivado de celulosa	F	Solvente	Posición de la sustitución	fk	
				NMR-H ¹	NMR-C ¹³
Xantato de celulosa	0.67	NaOH-d ₁ 10%W	C ₆	---	0.53
			C ₃ +C ₂	---	0.14
Acetato de celulosa	2.92	Tricloro metano-d ₁	C ₆	0.99	1.00
			C ₃	1.01	1.02
			C ₂	0.92	0.89
		Acetona-d ₆	C ₆	---	0.82
			C ₃	---	0.75
1.75	Dimetil sulfóxido-d ₆	C ₂	---	0.89	
		C ₆	---	0.59	
		C ₃	---	0.53	
0.49	Dimetil sulfóxido-d ₆	C ₂	---	0.63	
		C ₆	---	0.19	
		C ₃	---	0.10	
			C ₂	---	0.20

TABLA-7. Cont.

Nitrato de celulosa	2.83	Dimetil sulfóxido-d ₆	C ₆	---	1.00
			C ₃	---	0.89
			C ₂	---	1.00
Sulfato de celulosa	2.62	Dimetil sulfóxido-d ₆	C ₆	---	1.00
			C ₃	---	0.75
			C ₂	---	0.87
Sulfato de celulosa sódica	2.37	Dimetil sulfóxido-d ₆	C ₆	---	0.94
			C ₃	---	0.66
			C ₂	---	0.77
Carboximetil-celulosa sódica	1.96	Dimetil sulfóxido-d ₆	C ₆	0.34	---
			C ₃	0.61	---
			C ₂	1.00	---
	0.65	NaOH-d ₁ 8%w	C ₆	---	0.09
			C ₃ +C ₂	---	0.54
			C ₆	---	0.37
	0.63	NaOH-d ₁ 8%w	C ₆	---	0.34
			C ₃ +C ₂	---	0.39
			C ₆	---	0.54
	0.60	NaOH-d ₁ 8%w	C ₆	---	0.20
			C ₃ +C ₂	---	0.21
			C ₆	---	0.26
Carbamo-etil celulosa sódica	0.27	NaOH-d ₁ 8%w	C ₆	---	0.01
			C ₃ +C ₂	---	0.11
			C ₆	---	0.02
	0.14	NaOH-d ₁ 8%w	C ₆	---	0.03
			C ₃ +C ₂	---	0.00
			C ₆	---	0.47
	1.51	D ₂ O	C ₆	---	1.20
			C ₃ +C ₂	---	0.28
			C ₆	---	0.54
	0.82	D ₂ O	C ₆	---	0.13
			C ₃ +C ₂	---	0.41
			C ₆	---	0.41

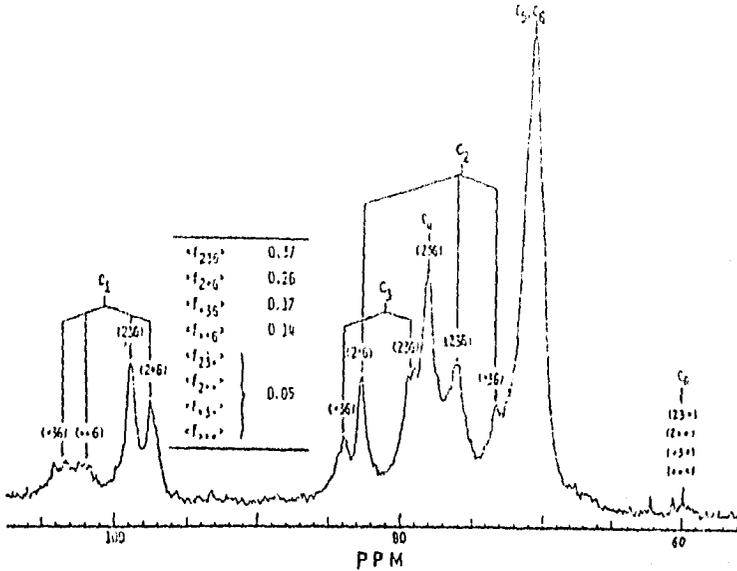


FIGURA-15. Espectro NMR-C¹³ del nitrato de celulosa comercial en N-N-dimetilsulfóxido-d₆.

Kamide et al.(28) reportaron un alto poder de absorción de carboximetilcelulosa sódica (NaCMC), frente a varios líquidos en términos de $\langle f_k \rangle$, lo cual fue determinado por el método NMR-C¹³. La Figura-16 muestra un plano de la absorbancia A' frente a $\langle f_6 \rangle$ para CMC a partir de celulosa II y celulosa I. La absorbancia de NaCMC es determinada sin equivocación por $\langle f_6 \rangle$. La Figura-17 muestra un intervalo en la relación $\langle f_6 \rangle / \langle F \rangle$ Vs $\langle F \rangle$ para CMC a partir de celulosa II es 0.9 ± 0.1 , cuando $\langle F \rangle < 0.7$ indicando que la carboximetilación ocurre casi preferentemente en el grupo hidróxido del carbono seis si es utilizada la celulosa II. De otra manera el cociente para CMC a partir de celulosa I es de 0.43 ± 0.1 con $\langle F \rangle < 0.7$. Estos hechos indican que la reactividad de los grupos hidróxido dependen en gran parte del tipo de celulosa, especialmente su forma cristalina.

Investigación detallada del espectro NMR de la región de la banda del C₆ realinada por Kamide et al. (28) revelan que: grupos hidróxido en la posición C₆ para celulosa II participan en dos tipos de enlace de hidrógeno intramolecular [O₂-H...O'₆ y O₆-H...O'₂] siendo esto más ácido (Figura-18); mientras que para celulosa I no hay forma de tener un enlace intramolecular de tipo O₆-H...O'₂; y la densidad electrónica sobre el C₆ de la celulosa II en las regiones cristalinas y amorfas es alta comparada con la celulosa I. El reverso es verdadero para la densidad electrónica sobre C₂. Este hecho sugiere que la reactividad del grupo hidróxido en la posición C₆ de la celulosa II es relativamente alta con respecto a la celulosa I, mientras que la posición de C₂ es reversible. La sustitución exclusiva y preferencial del grupo hidróxido de la posición C₆ no puede ocurrir en la muestra de celulosa I bajo las condiciones de carboxilación (Figura-19). En la cual $\bar{\delta}_{II}$, $\bar{\delta}_{II-1}$ y $\bar{\delta}_{II-2}$ iniden la EN de los grupos hidróxido en las posiciones C₆ y C₂ de celulosa II. La nuevas ENs son en el siguiente orden: $\bar{\delta}_{II-1} > \bar{\delta}_{II} > \bar{\delta}_{I-1} > \bar{\delta}_{I-2} > \bar{\delta}_{II-2}$. Aquí el enlace de hidrógeno intramolecular de tipo O₆-H...O'₂ en celulosa II no es conocido. Sin embargo, EN del grupo hidróxido de la posición C₆ es más fuerte que $\bar{\delta}_{I-1}$. La introducción de un sustituyente grande en la posición C₆ destruye los enlaces de hidrógeno intramoleculares y agranda la distancia entre las cadenas moleculares, ampliando el espacio en el cual el líquido absorbido puede ser realmente acomodado. Esto es porque los grupos hidróxido de la posición C₆ de la celulosa primaria original gobierna los enlace de hidrógeno intramoleculares.

Muestras de sales ácidas y cálcicas de carboxietilcarbamoetilcelulosa (CECEC) con varios grados de sustitución por los grupos carboxietil y carbamoetil <F> y varios grados de sustitución total del grupo carboxietil <F>_{co} o grupo carbamoetil <F>_{NH} fueron sintetizados por reacción alcalina de celulosa con acrilonitrilo. <F>_{co}, <F>_{NH} y <F> fueron determinados por análisis elemental.

La distribución de <F> [g(F)], juntamente con <F>, fueron estimados por numerosas muestras de CA y CN por el método de cromatografía de capa fina (TLC). La Tabla-8 lista el tipo de TLC, disolvente y mecanismo de separación usado.

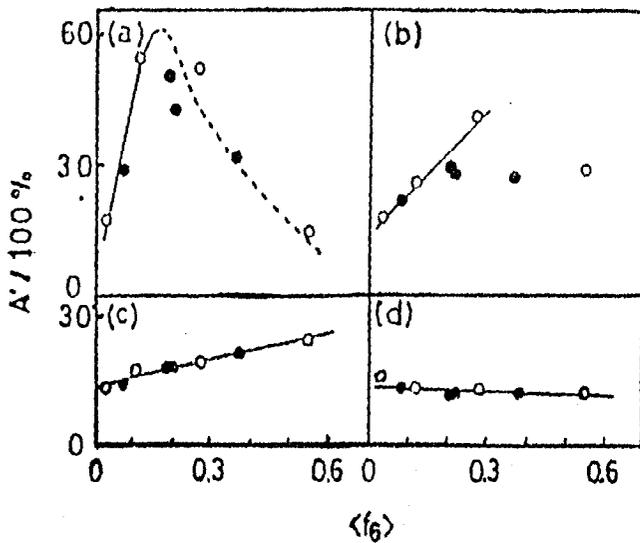


FIGURA-16. Absorbancia A' de carboximetil celulosa sódica (NaCMC) de varios líquidos como función de $\langle f_6 \rangle$: (a) agua; (b) 0.9% (w) NaCl aq.; (c) 0.9% (w) AlCl₃ aq.; °, NaCMC desde celulosa II; •, NaCMC desde celulosa I.

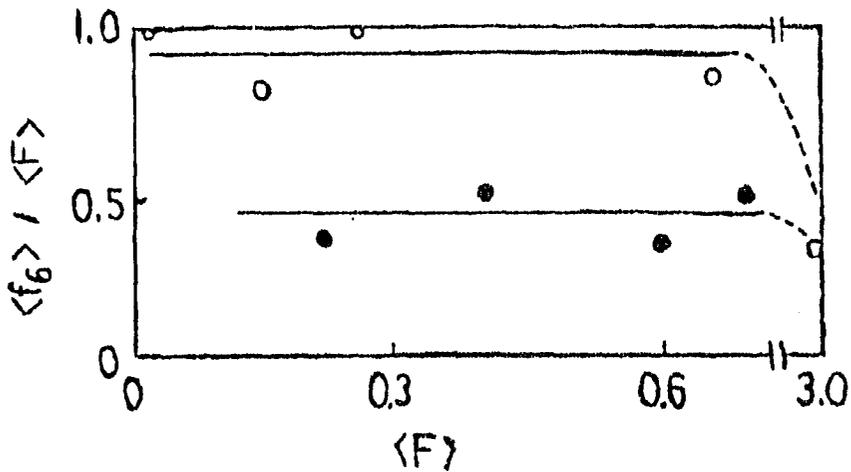


FIGURA-17. Diagrama de $\langle f_6 \rangle / \langle F \rangle$ Vs $\langle F \rangle$. La muestra tiene la misma medición como en la Figura-16.

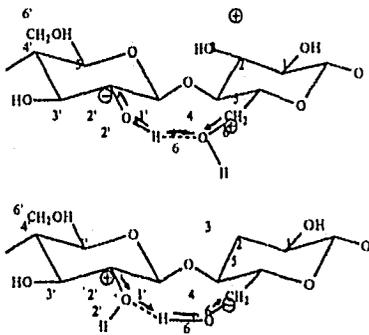
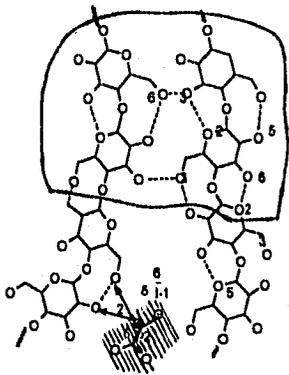


FIGURA-18. Representación esquemática de enlaces de hidrógeno intramoleculares en moléculas de celulosa.
 →, indica la dirección del movimiento del electrón.
 ⊖, bandas NMR con bajo rendimiento magnético.
 ⊕, bandas NMR con alto rendimiento magnético.

(a)



(b)

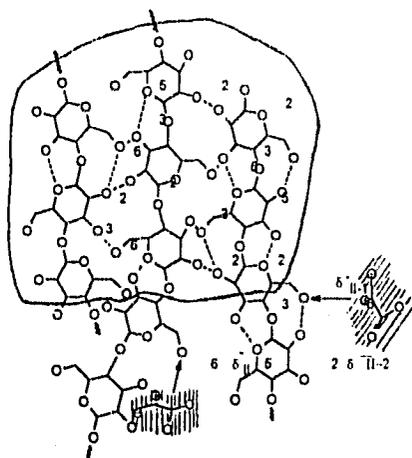


FIGURA-19. Carboximetilación de tipo O2-H...O'6 con enlaces de hidrógeno intramoleculares en celulosa I (a) y celulosa II (b). La parte sombreada denota la parte cristalina y la parte rayada denota el ácido monocloroacético cationizado.

1. Precipitación fraccionada.

La primera aplicación de la precipitación fraccionada para derivados de celulosa fue realizada en 1920, dividiendo el nitrato de celulosa en tres fracciones usando acetona como disolvente y agua como precipitante. Estableciendo que la viscosidad de las fracciones es diferente pero no el contenido de nitrógeno (actualmente se usa agua en lugar de n-heptano ya que este último tiene un bajo poder precipitante). Se muestran algunos ejemplos de las fracciones de varios derivados de celulosa por el método de precipitación:

DERIVADO

Diacetato de celulosa (CDA)
Etilcelulosa (EC)
Bencilcelulosa
Metilcelulosa
Xantato de celulosa

SISTEMA

DISOLVENTE/NO DISOLVENTE

Acetona/agua
Ácido acético glacial/agua
etanol/etanol-benceno
agua/sulfato de sodio
piridina (ec)/metanol

TABLA-8. Evaluación de la distribución de la composición química g <F> y MWD de derivados de celulosa por cromatografía en capa fina.

Derivado de celulosa	de TLC	Tipo	Solvente	Sustrato	Mecanismo de separación
Nitrato de celulosa	g <F>	Abierto	Nitro metano/ Metanol	Sílica gel, alúmina	Adsorción- desorción
		VP	Acetona/ Metanol/ cloroformo	Sílica gel, Kieselgurh	Separación de fases
	MWD	VP	1,4-dioxano/ metanol/ isopropanol	Kieselgurh	Separación de fases
Acetato de celulosa	g <F>	Abierto	Cloruro de metilo/ metanol	Sílica gel G	Adsorción- desorción (para contenido de metanol < 5- 10%) Separación de fases (para contenido >10- 50%)
			Cloruro de metilo/ n-butanol/ metanol	Sílica gel G	Separación de fases
	MWD	Abierto	Cloruro de metilo/ tetrahidro- furano/ metanol	Sílica gel G	Separación de fases

Para celulosa y CDs, el método de fraccionación en solución sucesiva (SSF), el cual es superior al método de fraccionación por precipitación sucesiva, (SPF) no es extensamente utilizado desde los 1970s. Kamide y sus colaboradores (29 y 30) concluyeron a partir de experimentos computarizados así como actuales experimentos sobre el sistema poliestireno-ciclohexano (o metilciclohexano) que SPF no es permitido a polímeros con una distribución muy estrecha del peso molecular bajo las condiciones de operación convencionales. En contraste, SSF tiene un rendimiento grande en polímeros con estrecha distribución del peso molecular bajo las condiciones de operación accesibles. La principal diferencia entre SPF y SSF es demostrado esquemáticamente en la Figura-20. En la primera, es separada como fracción la fase rica-polimérica. En la última es aislada la fase

pobre-polimérica. La Tabla-9 lista los datos de SSF de las fracciones CA (2.46). La lista en la sexta columna de esta Tabla es de M_w/M_n , ambos determinados por Cromatografía de Permeación en Gel (GPC) y las fracciones de CA (2.46) excepto para la fracción cuatro es disminuida a 1.4 y es independiente de M_w .

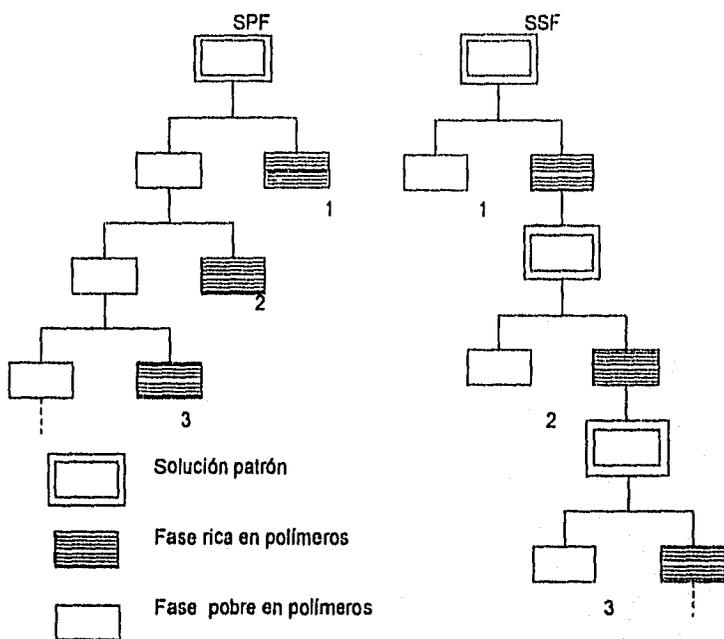


FIGURA-20. Representación esquemática de la precipitación fraccionada sucesiva (SPF) y solución de fraccionamiento sucesiva (SSF).

Para la fracción del peso molecular de CTA, ácido acético e hidrocarburos clorados, los cuales tienen una constante dieléctrica baja ϵ , fueron extensamente empleados como disolventes. Desafortunadamente la eficiencia de fraccionamiento de estos disolventes es pobre y numerosos intentos hicieron que se encontraran muchas limitantes, Kamide et al. (31) cumplieron con experimentos preliminares en la fase de separación de la solución CTA para muchas combinaciones de disolvente/no disolvente. Tomando en cuenta la facilidad de separación de dos fases líquidas y recuperar el disolvente, la investigación eligió 1-cloro-2,3-epoxipropano (epiclorohidrina) como disolvente y heptano como precipitante. Por aplicación del método SSP para CA (2.92), ellos fraccionaron sucesivamente muestras con M_w/M_n en un intervalo desde 1.3 a 1.5.

TABLA-9. Datos de la solución de fraccionación sucesiva sobre Acetato de celulosa con un grado total de sustitución de 2.46.

Etapa de precipitación	Fracción de volumen de etanol	Tamaño de fracción	M_n $\times 10^{-4}$	M_w $\times 10^{-4}$	M_w/M_n
1	0.777	0.050	0.65	1.16	1.78
2	0.770	0.035	1.24	1.86	1.45
3	0.761	0.016	1.54	2.04	1.33
4	0.750	0.032	2.17	2.88	1.32
5	0.714	0.021	2.34	3.01	1.29
6	0.701	0.017	2.70	3.35	1.24
7	0.677	0.042	3.28	4.04	1.23
8	0.661	0.067	4.03	5.04	1.25
9	0.649	0.056	4.34	5.53	1.27
10	0.636	0.087	5.62	7.11	1.27
11	0.618	0.073	6.14	8.05	1.31
12	0.616	0.044	7.25	9.23	1.27
13	0.614	0.081	7.56	9.79	1.28
14	0.610	0.038	8.43	11.00	1.31
15	0.610	0.060	8.96	11.40	1.27
16	0.603	0.083	11.50	14.80	1.29
17	0.598	0.075	13.14	18.00	1.34
18	0.580	0.029	15.20	22.70	1.49
19	0.580	0.029	15.40	21.80	1.39
20	0.580	0.025	18.90	25.80	1.37
21	---	0.119	17.60	26.80	1.52

En contraste para la solución CD la fraccionación directa de celulosa nunca se lleva a cabo sucesivamente. Muchos complejos metálicos alcalinos no son disolventes adecuados de celulosa para la fraccionación de la solución porque algunos de ellos rompen la cadena de celulosa especialmente bajo atmósfera de oxígeno y/o ellos mismos se precipitan por no ser buenos disolventes de la celulosa. En procedimientos alternados, un derivado (usualmente es el nitrato y acetato) es preparado y fraccionado, siendo regenerada la celulosa. Sin embargo, se adiciona la probabilidad de la descomposición de la cadena de celulosa durante la esterificación, este procedimiento es muy laboriosa y consume tiempo. Por esta razón, la fraccionación del peso molecular de celulosa tiene que ser realizada por método de hidrólisis, usando ácidos como el ácido clorhídrico y consecuentemente es difícil para obtener las fracciones con $M_w/M_n \leq 2$.

Noor, Ahmad y colaboradores (31) fraccionaron el acetato de celulosa en 9 fracciones por precipitación fraccionada usando acetona como disolvente y agua como precipitante. Usando métodos de dispersión de la luz y visco simetría desarrollando la relación entre el peso molecular y el incremento del índice de refracción, segundo coeficiente virial, radio del giro y viscosidad.

2. Dispersión de la luz.

En la química de polímeros, la dispersión de la luz es una de las mediciones más eficientes para determinar su peso molecular (M_w), $\langle S^2 \rangle^{1/2}$, A_2 de moléculas disueltas y tienen una amplia aplicación para muchos polímeros sintéticos tales como el poliestireno.

Los estudios sobre dispersión de la luz de soluciones son pocos debido a no conocer un disolvente "simple" estable, en el cual la celulosa puede ser disuelta molecularmente. La descomposición molecular no se puede evitar si son usados ácidos o álcalis fuertes. La mejor solución de un complejo metálico descompone a la celulosa por oxidación y es inestable y colorido. Además, la celulosa se disuelve formando un complejo. La hidrazina y N-morfina-N-óxido también disuelven a la celulosa, pero son explosivos y altamente tóxicos, por ello es que no son utilizados para la caracterización molecular de la celulosa. Recientemente Terbojevich et al. (32) midieron la dispersión óptica en soluciones concentradas y diluidas de celulosa en una mezcla de N,N-dimetilacetildiamina DMAc/LiCl, pero no llevaron a cabo una inspección detallada debido a la contaminación gelatinosa que se forma en la solución. Usando una técnica especial para disolver la celulosa, McCormick et al. (33), intentaron perfeccionar las mediciones de la dispersión óptica sobre los sistemas de solución como lo de Terbojevich et al., pero no dializaron primeramente la solución de la celulosa a través del disolvente(DMAc/LiCl) para medir el incremento del índice de refracción y esto no es una medida segura para obtener M_w y A_2 debido a que no hay una adsorción selectiva. Kamide et al. (34),

regeneraron la celulosa siempre y cuando tenga un peso molecular promedio relativamente alto, disuelto sin la formación de un alcoholato en soluciones acuosas de NaOH a 4°C y la solubilidad en el disolvente sea estrechamente correlacionada con la cantidad relativa de la región donde el enlace de hidrógeno intramolecular sea menos fracturado. Kamide y Saito (35) dieron a conocer que la celulosa se puede disolver molecularmente en una solución acuosa de LiOH al 6%w para la medición de la dispersión óptica y viscosidad determinando el valor verdadero de M_w en una solución dializada de cadoxen.

3. Distribución del peso molecular.

La distribución del peso molecular (MWD) se puede determinar a partir de la precipitación fraccionada, principalmente para los derivados de celulosa.

La técnica de cromatografía por permeación en gel (GPC) tiene las ventajas de ser rápida y fácil para determinar pesos moleculares y sus distribución, por lo que es usado en la evaluación de muchos polímeros.

La distribución del peso molecular (MWD) se puede determinar a partir de la precipitación fraccionada, principalmente para los derivados de nitrato y acetato de celulosa.

La técnica de GPC tiene las ventajas de ser rápido y fácil para determinar pesos moleculares y su distribución para ser usado en muchos polímeros.

Evans y Wearne (36) determinaron la distribución del peso molecular de celulosa y sus tricarbnilatos por cromatografía de Exclusión de Alta Capacidad de Resolución (HPSEC). Las ventajas del tricarbnilato de celulosa (CTC) para esta propuesta, es que este derivado es estable, es un producto trisustituido. Las muestras de celulosa de interés técnico varían ampliamente en el peso molecular M_w ; por ejemplo algodón con alto M_w y algunas celulosas regeneradas de bajo M_w . Para una utilidad máxima en el sistema HPSEC puede ser capaz de manera que entre en el intervalo de M_w .

En los mejores estudios de HPSEC sobre CTC las columnas tienen que se calibradas por aplicación del procedimiento de calibración universal para estándares de poliestireno. Sin embargo, en estas dificultades se aprovechan los métodos de calibración directa con buenos resultados. Lauriol et al. (37) y Cael et al. (38) en detección LALSS obtuvieron una estimación directa de M_w del tricarbnilato en la elución HPSEC. Esto es particularmente útil para M_w altos al final de la curva de calibración. Otro método para obtener el promedio del grado de polimerización de las series CTCs y para el uso de sus calibraciones estándar. La ventaja de éste último es que no se requiere el detector LALLS.

Para obtener un dato adecuado de MWD para muestras de celulosa, es de vital importancia que el MWD de los derivados reflejen el parentesco con la celulosa. Así la derivatización puede proceder sin la degradación de cadenas de

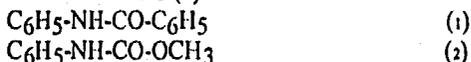
celulosa y después de reaccionar la mezcla se puede añadir a un medio en el cual precipite todo el CTC.

Wood et al. establecieron que el 80% de los CTC que provienen del Avicel pueden ser recogidos por precipitación en metanol y ellos recomiendan extraer todo el disolvente antes del análisis de HPSEC. Sin embargo los compuestos con bajo M_w son formados en las reacciones de derivatización y esto interfiere con otros métodos, e.g. análisis elemental, para su caracterización. Por consiguiente se buscaron las condiciones bajo las cuales la precipitación de CTC sea cuantitativa y el tiempo de disolución de las impurezas de los que presentan M_w bajo sea máximo.

El método de precipitación fue optimizado determinando la razón metanol/agua requerida para maximizar la recuperación de CTC a partir de la mezcla de reacción y minimizado la coprecipitación de los subproductos de bajo M_w . El Avicel, el cual exhibe un estrecho MWD cubriendo el intervalo de interés, es escogido para la optimización del procedimiento. La reacción de carbanilación se lleva a cabo con dimetilsulfóxido (DMSO) y piridina como solventes. En cada caso una única preparación tiene suficiente mezcla de reacción para probar la precipitación eficiente de 12 soluciones de metanol acuosa cubriendo el intervalo de 0-55% en agua (con incrementos del 5%) antes de mezclar. El volumen del medio de reacción para una precipitación media es de 1:10 para todas las pruebas. En algunos casos parte del precipitado forma un coloide estable. Una gota de solución saturada de sulfato de sodio des estabiliza tal dispersión sin afectar significativamente la composición del medio.

La distribución de la masa se muestra en las Figuras-21 y 22 para dos series de productos. El número de distribuciones, los cuales son indicadores sensibles de los cambios bajos de M_w , se muestran en las Figuras-23 y 24. Todas las distribuciones son normalizadas con respecto al pico alto. Estos resultados indican que se pueden obtener incrementos de CTC con aumento de la razón agua:metanol y aprovechando el límite cercano a 30:70. En relaciones bajas la diferencia en el poder del disolvente entre DMSO y piridina es reflejado en MWDs.

Subproductos de bajo M_w los cuales son formados en la reacción en que se incluye N,N-difenilurea (1) y metilfenilcarbamato (2):



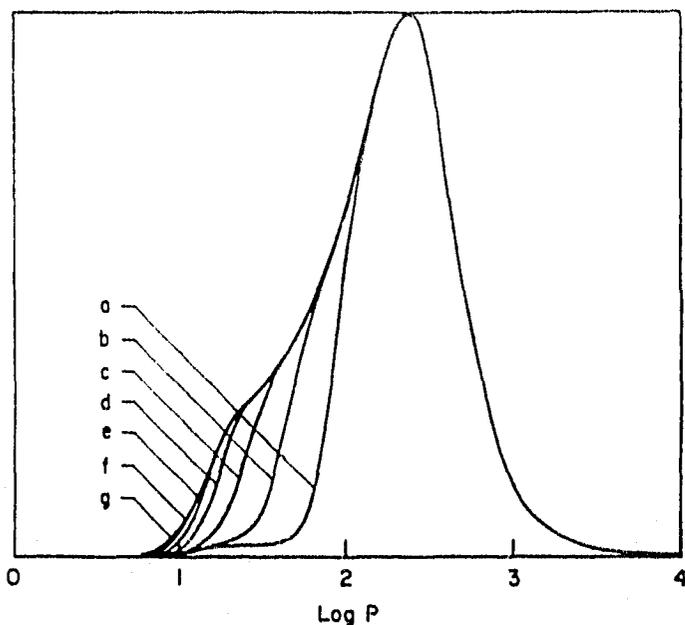


FIGURA-21. Distribución diferencial de masa para Avicel CTC precipitado en DMSO (10 ml) usando una serie de soluciones de metanol acuoso (100 ml) preparado por una mezcla agua y metanol en razones de volmen (a) 0:100; (b) 5:95; (c) 10:90; (d) 15:85; (e) 20:80; (f) 25:75; (g) 30:70-55:45.

En la prueba final de la solución adecuada de 30:70 agua:metanol para precipitar los CTCs un M_w muy bajo de CTC ($P_w \sim 20$), previamente precipitado en solución de sulfato de sodio 0.02M, es redissuelto en DMSO (150mg/10ml) y precipitada en 100ml de la solución agua:metanol (30:70). Un mínimo del 92% del bajo P_w de CTC fue recobrado con pequeñas cantidades de impurezas. Además la examinación de los datos conocidos de los CTC extraídos a partir del sobrenadante que tienen un similar MWD por lo cual es precipitado, excepto lo de bajo M_w ($P < 10$). Muchos de los CTC extraídos pueden ser partículas coloidales y potencialmente recogidos con el precipitado. Un ajuste en la curva de elución del extracto sobrenadante, se permite, dando el resultado conocido en la Figura-25. Concluyéndose que esta técnica es esencialmente cuantitativa para la obtención de CTC a partir de un medio de reacción para $P > 10$.

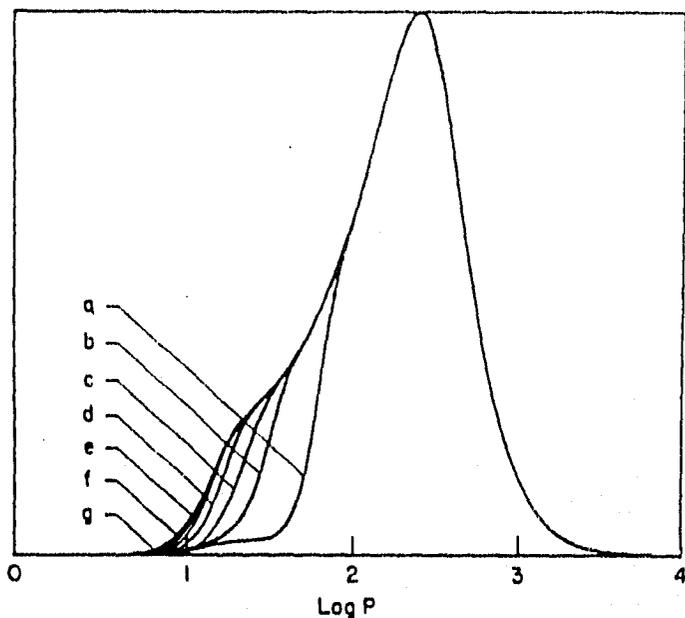


FIGURA-22. Distribución diferencial de masa para Avicel CTC precipitado en piridina (10 ml) usando una serie de soluciones acuosas de metanol (100 ml) preparado por una mezcla de agua y metanol en razones de volumen: (a) 0:100; (b) 5:95; (c) 10:90; (d) 15:85; (e) 20:80; (f) 25:75; (g) 30:70-55:45.

Algunas muestras de celulosa como las celulosas regeneradas, son inertes para fenilisocianato en piridina y deberán ser activadas antes de los procesos de derivatización. Proceso de activación en el cual se incluye un tratamiento con metilamida o agua y regenerando primero a partir de la solución DMSO a 70°C en toda la muestra de celulosa incluyendo celulosas regeneradas reactivas sin la necesidad de una activación previa.

En este estudio se hizo una evaluación comparativa de los métodos para preparar CTCs para estudios de MWD y se propuso un procedimiento estándar para su preparación incluyendo un proceso previo de activación de celulosa simple para reaccionar con fenilisocianato en piridina. También se presentó un método alternativo para la calibración de la columna HPSEC usando una serie estándar de CTC.

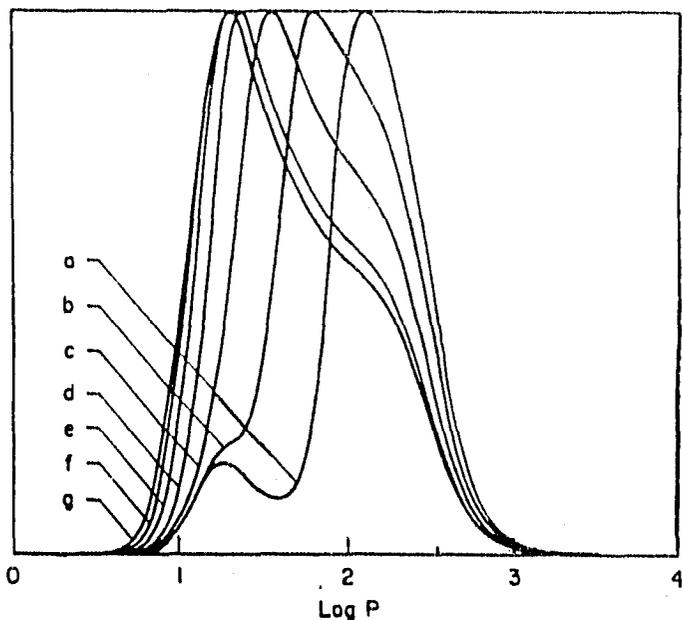


FIGURA-23. Distribución diferencial en número de Avicel precipitado en DMSO (10 ml) usando una serie de soluciones acuosas de metanol (100 ml) preparado por una mezcla de agua y metanol en razones de volumen (a) 0:100; (b) 5:95; (c) 10:90; (d) 15:85; (e) 20:80; (f) 25:75; (g) 30:70-55:45.

Los CTCs patrón tienen un contenido de nitrógeno constante con un producto trisustituido. El intervalo del peso promedio del grado de polimerización cubrió aproximadamente 350-5000 determinado por la dispersión óptica fotométrica. Los 12 estándares (derivados del blanqueado de fibra de algodón) tienen un espectro UV similar en THF, con una absorción máxima de 236 nm y un coeficiente de extinción molar $(4.5 \pm 0.1) \times 10^4$, lo cual confirma lo adecuado de una detección UV para este sistema.

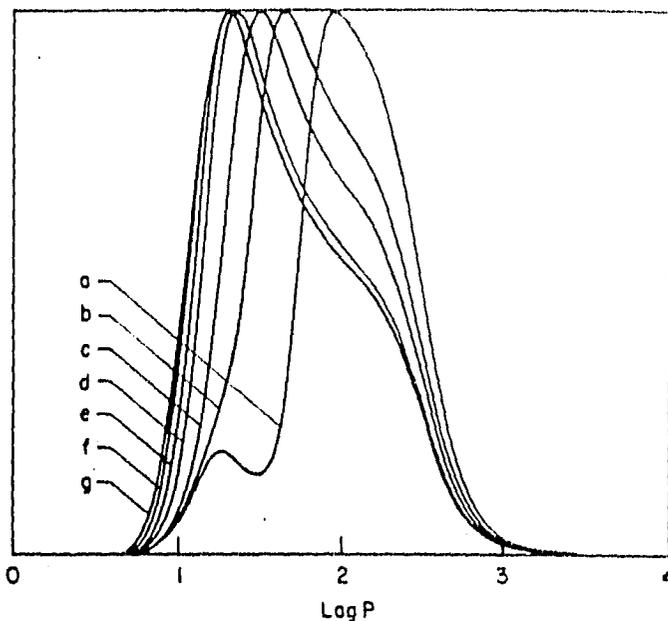


FIGURA-24. Distribución diferencial de número de Avicel CTC precipitado en piridina (10 ml) usando una serie de soluciones acuosas de metanol (100 ml) preparado por la mezcla de agua y metanol en razones de volumen: (a) 0:100; (b) 5:95; (c) 10:90; (d) 15:85; (e) 20:80; (f) 25:75; (g) 30:70-55:45.

La Tabla-10 muestra los resultados del análisis de HPSEC de 20 estándares, juntamente con los resultados fotométricos de LALLS. De estos 20 estándares, 8 son obtenidos por un método diferente. La correlación entre los pesos promedio del grado de polimerización (P_w) de LALLS fotométrico de HPSEC se muestran en la Figura-26, donde la línea diagonal representa la correspondencia correcta (pendiente = 1, intercepto = 0).

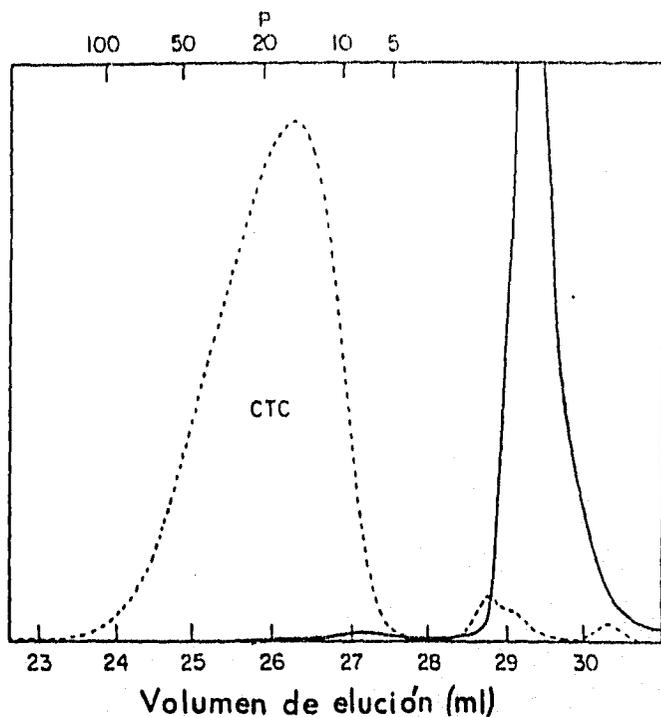


FIGURA-25. Muestra una incompleta coagulación coloidal de CTC.

4. Viscosidad

El primer paso para la caracterización de polímeros y de vital importancia es determinar la relación entre $[\eta]$ y el peso molecular. No sólo es conveniente utilizar el método para calcular el peso molecular (viscosidad promedio del peso molecular M_v), sino también es útil para obtener información sobre la interacción termodinámica e hidrodinámica, entre la molécula del polímero y del disolvente.

Modificando la ley de Viscosidad de Staudinger; tres investigadores propusieron una ecuación empírica (Ecuación MHS) independiente relacionando $[\eta]$ y el peso molecular M de la siguiente manera:

$$[\eta] = K_m M^a$$

donde K_m y a son parámetros constantes determinados por la combinación de polímero, disolvente y temperatura.

TABLA-10. Características de los estándares CTC.

Estándar No.	%N	LALLS		HPSEC	P_w/P_n
		P_w	P_w	P_n	
1	8.1	4830	4900	1700	2.9
2	7.9	4150	4010	1740	2.3
3	8.1	3590	3280	1420	2.3
4	8.0	2709	2710	1250	2.2
5	8.3	2360	2380	1110	2.1
6	8.0	2020	1980	947	2.1
7	8.3	1915	1580	726	2.2
8	8.1	1530	1500	724	2.1
9	8.2	1180	1170	591	2.0
10	8.2	1070	1090	565	1.9
11	8.1	780	909	488	1.9
12	8.0	364	376	211	1.8
13		4700	4550	1710	2.7
14		3950	3950	1540	2.6
15		2370	2190	842	2.6
16		1630	1770	725	2.4
17		1410	1510	599	2.5
18		645	613	291	2.1
19		511	514	246	2.1
20		434	422	213	2.0

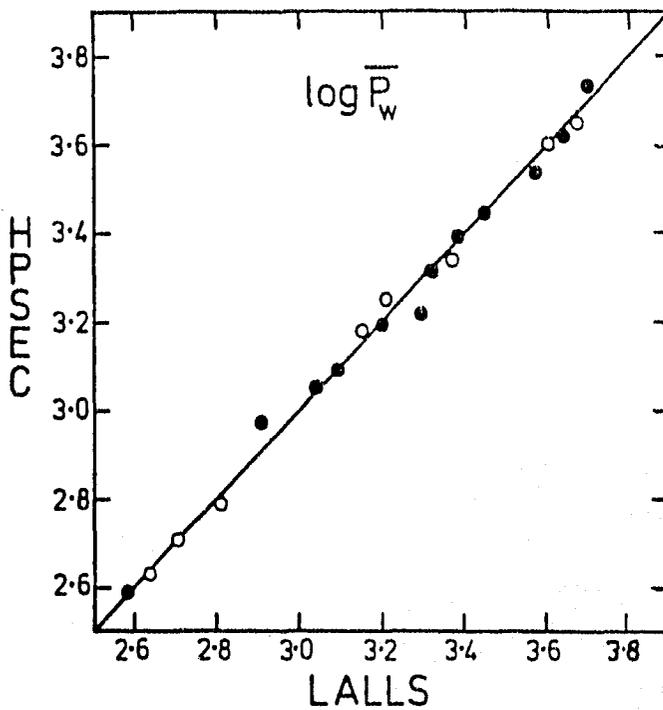


FIGURA-26. Comparación de HPSEC LALLS para estándares CTC (●) y una serie de muestras caracterizadas por LALLS independientemente (○). HPSEC obtenidas desde la columna.

La Figura-27 muestra una gráfica de $[\eta]$ Vs M_w determinado por el método de dispersión óptica, para celulosa en LiOH ac. La Figura también contiene los datos de celulosa en cadoxen y tartrato de hierro y sodio (FeTNa). El valor de $[\eta]$ en FeTNa es el más grande de los tres disolventes. El valor de a para LiOH ac cadoxen y FeTNa no se encuentra entre 0.76 y 0.79. Contrariamente con esta a en la ecuación MHS se mantiene constante usando el promedio de sedimentación-difusión del peso molecular M_{sp} para hidróxido de cuproamonio (Cuoxam), hidróxido de cuproetilendiamina (Cuene) y EWNN (Complejo Eisen-Weinsäure-Natrium) es tan grande como 0.9 como se muestra en la Tabla-11. La Ecuación MHS obtenida por M_{sp} es teóricamente sensible para la polimolecularidad de las muestras de polímeros. Esto es un avance necesario para concluir acerca de la flexibilidad de la celulosa en disolventes y confirmar la dependencia de la polimolecularidad de una muestra pequeña.

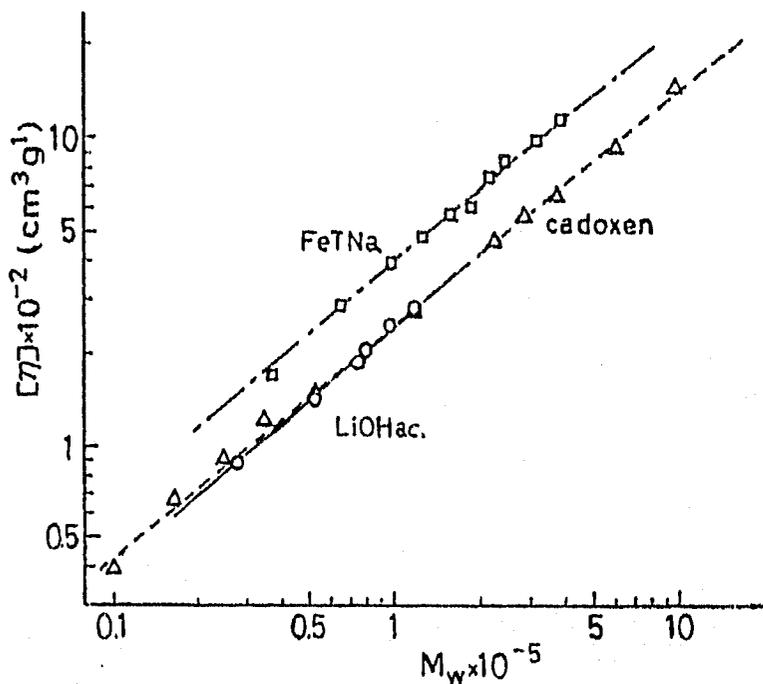


FIGURA-27. Esquema log-log del número de viscosidad limiante $[\eta]$ Vs peso molecular promedio M_w de celulosa en LiOH 6% aq. (o), cadoxen(Δ) y FeTNa (□) a 25°C

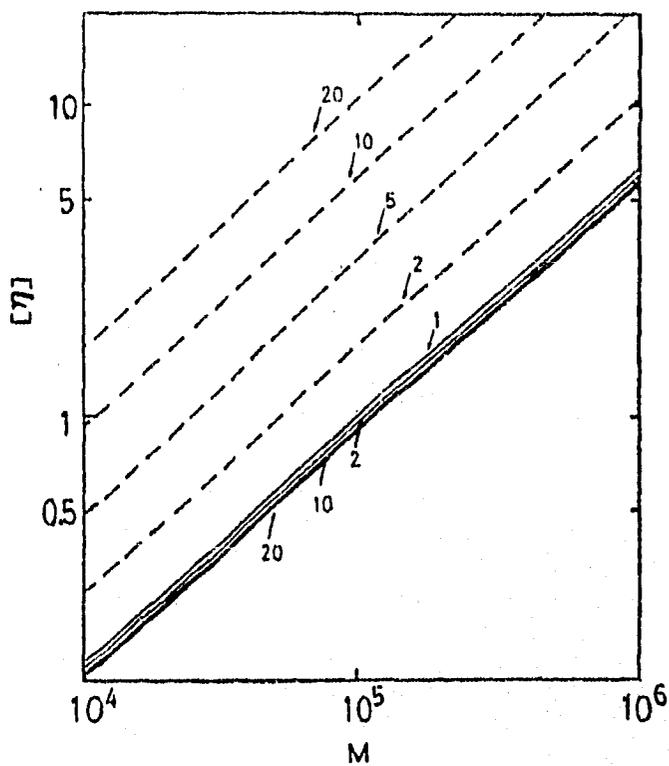


FIGURA-28. Dependencia del valor de la ecuación MHS sobre la distribución del peso molecular; línea discontinua, ecuación MHS para el número del peso molecular promedio M_n .

TABLA-12. Valores de K_m y exponente a en la ecuación MHS, exponente a_1 y a_2 de soluciones de celulosa y derivados de celulosa.

Polímero (<F>)	Solvente	$K_m \times 10^2$ (cm^3/g)	a	a_1	a_2
Celulosa	Aq. 6%w	2.78	0.79	0.25	-0.22
	Cadoxen	3.58	0.76	0.30	-0.30
	FeTNa	5.31	0.78	0.43	0
Acetato de celulosa (2.92)	THF	3.96	0.71	---	---
	DMAc	2.64	0.75	0.11	0
	Acetona	2.89	0.76	---	---
	TMC	4.54	0.65	---	---
	DCM	2.47	0.70	---	---
Acetato de celulosa (2.46)	DMAc	1.34	0.82	0.23	0
	Acetona	0.13	0.62	0.70	-0.47
	THF	0.51	0.67	0.11	0
Acetato de celulosa (1.75)	DMAc	9.58	0.65	0.12	0
Acetato de celulosa (0.49)	Formamida	20.9	0.60	---	---
	Agua	20.9	0.60	---	---
	DMSO	17.1	0.61	---	---
	DMAc	19.1	0.61	0.10	0
Nitrato de celulosa (2.91)	Acetona	0.76	0.90	0.34	0
	Acetona	0.48	0.92	0.27	-0.02
Tricaproato de celulosa	DMF	0.25	0.50	0.38	-0.25
	1-cloro-naftaleno	0.17	0.51	0.38	-0.25
Tricarbani-fato de celulosa	Acetona	1.43×10^{-1}	0.91	0.21	0
	Dioxano	8.13×10^{-1}	0.97	0.46	0
Metil celulosa (2.3)	Agua	0.32	0.55	0.46	-0.28
Hidroxietil-celulosa (0.88)	Agua	8.62×10^{-1}	0.87	0.61	-0.28
Etilhidroxi-etilcelulosa (OC_2H_4 , 0.84) (OC_2H_4 , 0.56)	Agua	3.7	0.80	0.69	-0.26
Xantato de celulosa (0.78)	NaOH 0.4%w	2.47	0.68	0.57	-0.24
Carboxime-tilcelulosa (1)	NaCl	0.19	0.60	0.19	-0.07

5. Sedimentación y difusión.

El método de ultracentrifugación es muy usado para determinar el peso molecular (M_w), por el método de sedimentación equilibrada y el promedio de sedimentación-difusión del peso molecular M_{SD} , usando la siguiente ecuación:

$$M_{SD} = \frac{RTs_0}{D_0(1-V\rho_0)}$$

donde R es la constante de los gases, T es la temperatura absoluta, s_0 y D_0 son los coeficientes de sedimentación y difusión en una solución diluida, respectivamente, V es el volumen específico del polímero en disolución, y ρ_0 es la densidad del disolvente.

Pavlov (40) determinó el parámetro de sedimentación de celulosa y sus derivados además de otros polisacáridos. La explicación de los datos de una sedimentación rápida de celulosa, sus derivados y otros polisacáridos fueron evaluados y obtenidos como valores de sedimentación (β_s). La relación de los valores de β_s de polisacáridos lineares es conocida. El promedio del valor de β para celulosa y sus derivados fue de $(1.00 \pm 0.23) \times 10^7 \text{ mol}^{-1/3}$, un valor el cual coincide con los valores β de cadenas flexibles de polímeros en condiciones θ y para polímeros de cadena rígida. Los valores de β se usan para calcular el peso molecular de moléculas lineares sin cambio en la cadena.

6. Parámetros moleculares.

La longitud de las cadenas de las moléculas en solución son grandemente influenciadas por dos tipos de interacciones entre cadenas elementales: interacción de corto alcance entre átomos y grupos separados por números pequeños de enlaces de valencia, e interacción de largo alcance entre grupos no enlazados que son separados por una cadena de estructura primaria por enlaces de valencia. La medición del radio del giro de un polímero lineal disuelto en una disolución diluida generalmente se escribe como:

$$\langle S^2 \rangle^{1/2} = \alpha_s \langle S^2 \rangle_0^{1/2}$$

donde α_s es el factor de expansión lineal para los radios del giro y $\langle S^2 \rangle_0^{1/2}$ es el radio del giro en un estado no exitado. Para la cadena Gaussiana, la distancia de principio a fin en el estado no exitado, $\langle R^2 \rangle_0^{1/2}$, es relacionada con $\langle S^2 \rangle_0^{1/2}$ a través e la siguiente ecuación:

$$\langle R^2 \rangle_0^{1/2} = (6 \langle S^2 \rangle_0)^{1/2}$$

La dimensión A de la cadena no exitada se define como:

$$A = \left(\frac{\langle R^2 \rangle_0}{M} \right)^{1/2}$$

Usando las dos ecuaciones anteriores se puede obtener A a partir de $\langle S^2 \rangle_0^{1/2}$, lo cual es determinado por dimensiones de dispersión óptica de la solución bajo condiciones θ .

La Tabla-13 lista las temperaturas y disolventes de varios derivados de celulosa reportados hasta ahora. Las moléculas de CDA tienden a rendir en disolventes pobres, así como tetracloroetano (TCE) cerca de los 70°C.

TABLA-13. Disolventes θ de derivados de celulosa.

Polímero <F>	Peso Molecular $\times 10^{-4}$	Disolvente	Temperatura (°C)	Método
CDA ^a	---	Tetracloro etano	56.5	Membrana osmométrica
CA(2.46)	6.9(M_w)	2-Butanona	50	Dispersión de la luz
CTCp ^b	13.2(M_n)	Dimetil formamida	41	Membrana osmométrica
	20.6(M_n)	Dioxano/agua (100/7, v/v)	43	Membrana osmométrica
CTC ^c	43-217(M_w)	Anisol	94	Dispersión de la luz
	43-217(M_w)	Ciclohexanol	73	Dispersión de la luz

Con respecto a las partes del efecto del volumen y el efecto del lavado, se tienen dos conflictos teóricos concernientes a la flexibilidad de las cadenas de CD. El primer punto de vista es que cadenas poliméricas son típicamente flexibles y el valor de $[\eta]$ puede ser interpretado en términos del efecto del volumen excluido. Los estados secundarios de las cadenas poliméricas son semiflexibles o inflexibles en la dimensión de las cadenas no excitadas siendo responsable para valores grandes de $[\eta]$. Todo esto sin resolver el problema.

CAPITULO V

ESTUDIO SOBRE LA DEGRADACIÓN FISICOQUÍMICA DE LA CELULOSA Y SUS DERIVADOS

Los materiales celulósicos como la madera son sensibles a agentes químicos y pueden sufrir reacciones de transformación. Dependiendo de la severidad de las reacciones se tendrá el desarrollo químico, el intervalo de decoloración de la madera y la ruptura de la pared celular para la liberación de sus componentes. Estas reacciones son de gran importancia técnica para los usos químicos de la madera, especialmente en la manufactura de la pulpa para el papel y sus productos relacionados. En pulpas alcalinas, así como un refinamiento de pulpa caliente, las reacciones de degradación alcalina de polisacáridos en madera, puede causar daños indeseables en el rendimiento de la pulpa y necesita un exceso de álcali para la neutralización de la degradación ácida de los productos. Además la degradación controlada y selectiva de los materiales celulósicos es esencial para la utilización efectiva de estas sustancias como fuentes de productos químicos y energéticos.

En este capítulo se hablara de la degradación química de la celulosa como un polisacárido componente de la pared celular de la madera bajo condiciones ácidas, alcalinas y oxidativas, dando énfasis a los aspectos fundamentales de la reacción.

I. REACCIONES LOCALES DE POLISACÁRIDOS

1. Grupos hidroxilo.

Es el mejor grupo funcional que se encuentra en celulosa y hemicelulosas. En donde hay un grupo alcohólico primario por cada unidad de anhidrohexosa y dos hidróxidos secundarios por cada unidad de anhidrohexosa y -pentosa. Estos grupos son objeto de oxidación resultando un grupo aldehído o ceto y puede iniciarse una reacción de degradación, tal como deshidratación y desdoblamiento de enlaces glucosídicos.

2. Reducción de grupos terminales.

Es bien aceptado que todos los polisacáridos de origen natural contiene un grupo terminal con tendencia a reducirse, lo mismo que la función aldehídica puede sufrir de oxidación y reducción. La cantidad de grupos terminales reductores presentes en la madera se puede determinar por el método de reducción con hidruro de boro. Los datos reportados en la Tabla-14 (41) son generalmente consistentes con los pesos moleculares establecidos para celulosa, glucomanosa y xilano.

TABLA-14. Grupos terminales alditol después de la reducción de madera molida con borohidruro de sodio.

	Grupos terminales (mmol/100g)		
	Abeto	Abedul	Álamo
Glucitol	0.083	0.026	0.083
Manitol	0.400	0.270	0.200
Xiloto1	0.280	1.280	0.680

3. Enlaces glucosídicos.

Los enlaces glucosídicos que conectan las unidades de azúcar en las cadenas de celulosa y hemicelulosa son básicamente enlaces acetal y son inestables bajo condiciones alcalina, ácidas y oxidativas. La hidrólisis del enlace glucosídico es una de las reacciones más importantes de polisacáridos con respecto al impacto sobre las propiedades de madera y fibras.

4. Unidades no glucosídicas.

Además de la glucosa, la madera contiene otras unidades de azúcar que esta asociada con la hemicelulosa, glucomanosa, xilano y arabinogalactosa.

En general, la maderas blandas tienen altas cantidades de unidades de manosa, galactosa y arabinosa. En contraste, las maderas duras tienen altas proporciones de xilosa y grupos acetilo. Estas unidades no glucosídicas muestran diferencias en cuanto a reactividad química por la naturaleza de sus configuraciones y sus enlaces.

II. REACCIONES CATALIZADAS CON ÁCIDO.

La hidrólisis ácida catalizada de los enlaces glucosídicos en polisacáridos y el desdoblamiento de los enlaces α - y β -aril éter en lignina son las reacciones principales que ocurren cuando materiales lignocelulósicos son sujetos a un ambiente ácido. Estas reacciones hidrolíticas son muchas veces acompañados por siguientes transformaciones químicas, incluyendo reacciones de deshidratación, degradación y condensación.

El proceso hidrolítico de polisacáridos es afectado por su estructura física, la conformación de los azúcares constituyentes y la naturaleza del medio ácido.

1. Aspectos fundamentales.

a. Hidrólisis ácida.

La Figura-29 muestra un mecanismo generalmente aceptado para hidrólisis ácida de enlaces glucosídicos(1). Esto esencialmente incluye una protonación del oxígeno glucosídico y la descomposición del correspondiente ácido conjugado. (2). El paso determinante es la formación de un

ión carbanio-oxonio (3) lo cual existe en la conformación del ciclo tipo "media silla" (4).

La velocidad relativa, y la energía de activación de la hidrólisis para varios metil piranósidos presentes en los polisacáridos de la madera son resumidos en la Tabla-15. Los datos fueron obtenidos con ácidos diluidos (HCl 0.5 o H₂SO₄) en un intervalo de temperatura de 60 a 90°C. El análisis conformacional es usado para la explicación de la variaciones observadas en la velocidad de hidrólisis.

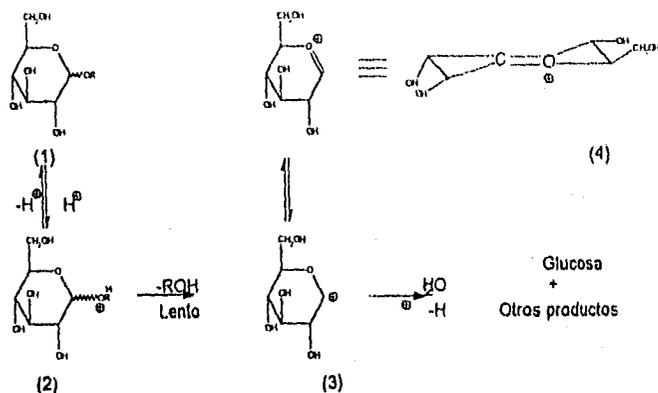


FIGURA-29. Hidrólisis ácida catalizada de glucopiranosas.

TABLA-15. Proporciones relativas y energía de activación para hidrólisis ácida de metil piranosas en ácido 0.5N de 60 a 90°C.

Metil piranosido de	Velocidad relativa:		ΔE_a (Kcal/mol)	
	α -anómero	β -anómero	α -anómero	β -anómero
D-glucosa	1	1.9	35.1	32.5
D-manosa	2.4	5.7	34.7	----
D-galactosa	5.2	9.2	24.0	32.0
D-xilosa	4.5	9.1	33.4	33.9
L-ramnosa	8.3	19.0	----	----
L-arabinosa	13.1	9.0	----	----
Ácido D-glucorónico	0.47	0.62	30.2	29.3

a usando HCl 0.5 N.

b usando H₂SO₄ 0.5 N.

Es evidente que los enlaces glucosídicos son substancialmente más estables que los enlaces no glucosídicos. Para las series ↑ (Figura-29(1)) donde el OR está en posición β la velocidad de hidrólisis de estos glucosídicos aumenta para glucósidos en el orden de carbohidratos de manósidos (3), galactosa o xilosa (4.8) y rannosa (10). Esto es, se hidroliza más rápidamente cuando hay más contenido de rannosa. En general, los β-anómeros reaccionan más rápido que los correspondientes a las formas α, con excepción de la L-arabinosa.

En metil piranosa, la presencia de grupos de ácidos carboxílicos en el C5 (glucoronósidos) reduce la velocidad de hidrólisis por un factor de 2 a 3 (Tabla-15). Un efecto muy grande, (por un factor de 35) fue observado en el caso de los polisacáridos de celobiosa ácido celobiurónico. Por otro lado, la presencia de sustituyentes polares en el aglicon tiene una pequeña influencia en la reacción.

Esta razón por la cual los glucoronósidos son más resistentes a la hidrólisis que los regulares glucosidos no está debidamente aclarado pero puede ser atribuido a los efectos inductivos y conformacionales.

El efecto conformacional también es usado para la explicación de las diferencias de velocidad de hidrólisis de los dos tipos diferentes de unión glucosídica en la celotriosa. De esta manera, la hidrólisis del enlace no reduce los grupos terminales, lo cual se aproxima a la muestra como celobiosa, es 50% más alta que el grupo terminal reductor.

La reactividad de los enlaces glucosídicos es profundamente influenciada por el tamaño del anillo de la unidad de azúcar. Los aldofuranósidos, por ser su estructura más fuerte, son hidrolizadas mucho más rápido que los correspondientes a los anillos piranósidos.

La energía de activación para la hidrólisis ácida es muy similar entre varios metil piranósidos, teniendo los valores entre 32 y 35 Kcal/mol (Tabla-15). La energía de activación de glucoronósidos es significativamente baja con respecto a los glucósidos regulares.

b. Deshidratación y condensación.

La hidrólisis inmediata a mono-, di- y tri-sacáridos a partir de polisacáridos es lenta bajo condiciones ácidas suaves, pero pueden sufrir reacciones de deshidratación, fragmentación y condensación cuando las condiciones se tornan vigorosas. En adición a la formación de productos no glucosídicos (como es el furano) (Figura-30).

Las hexosas son más estables que las pentosas bajo condiciones ácidas. La mayor deshidratación de productos a partir de hexosas son 5-(hidroximetil)-2-furaldehído HMF (8), ácido levulínico (9) y materiales poliméricos. Además otros productos menores son establecidos, tales como 2-(2-hidroxiacetil)-furano, 5-metil-2-furaldehído, y formaldehído. El rendimiento de HMF a partir de glucosa es generalmente bajo (10-20%) y puede ser incrementado por el aumento de pH en la mezcla de reacción. Un alto

rendimiento de HMF (45%) es obtenido por calentamiento de glucosa en un sistema piridina-ácido fosfórico de 200 a 238°C por 20 min. HMF se polimeriza bajo condiciones ácidas y puede ser degradado hasta ácido levulínico (9) y ácido fórmico.

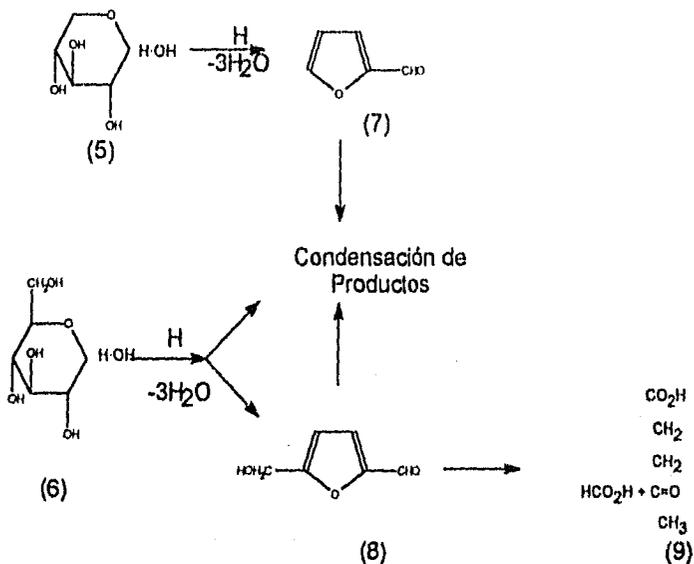


FIGURA-30. Formación ácida catalizada de 2-furaldehído, 5-hidroxi-metil-2-furaldehído y ácido levulínico a partir de monosacáridos.

2. Hemicelulosas.

Por su naturaleza amorfa y composición química característica, las hemicelulosas son más reactivas que la celulosa bajo condiciones ácidas. La velocidad de hidrólisis en los polímeros con uniones β -(1-4) en soluciones homogéneas aumentan de acuerdo al siguiente orden: glucosa (1) < manosa (2 a 2.5) < xilosa (3.5 a 4) < galactosa (4 a 5). Este orden es consistente con lo reportado de glucósidos simples (Tabla-15). La hidrólisis heterogénea de estos polisacáridos tiene más variación en su velocidad comparado con la celulosa, van de factor de 60 para manosa, 60 a 80 para xilanos y 300 para galactosano.

Muchas de las hemicelulosas, especialmente xilanos pueden ser separados selectivamente a partir de substratos celulósicos por prehidrólisis con vapor sobre calentado (alrededor de 170°C) o ácido diluido (0.1N) en un amplio intervalo de temperatura (120-170°C).

Los grupos acetilo presentes en xilanos de maderas duras y galactoglucomanos en maderas suaves, los cuales son mucho más fácilmente

hidrolizadas en medio alcalino que en ácidos, especialmente a temperaturas elevadas. El ácido acético liberado contribuye significativamente a la acidez durante la hidrólisis de los substratos de madera, por tanto cataliza las reacciones hidrolíticas. Otra característica estructural de las hemicelulosas, tales como la cadena de galactosa en galactoglucomanano, y ácido urónico y arabinosa en el xilano, también tiene efectos significativos en la reacción de estos polímeros.

a. Celulosa.

En comparación con otros polisacáridos, la celulosa es muy resistente a la hidrólisis ácida, principalmente por su estructura macromolecular y naturaleza cristalina característica. La hidrólisis completa de muestras de celulosa por análisis químico requiere un tratamiento inicial con un ácido fuerte (H_2SO_4 72% a 20°C) para efectuar la disolución, seguido por una hidrólisis secundaria en ácido diluido (3-4% a 100°).

Las hidrólisis ácidas en fases heterogéneas de celulosa, también consisten en dos fases diferentes: una reacción inicial rápida seguida por una fase lenta. La descomposición de la celulosa tanto en forma natural como en forma artificial se detiene en una etapa llamada "fase de nivelación" (leveling off). La reducción de peso molecular posterior requiere de condiciones severas o de tiempos más prolongados. En el caso de celulosa de algodón la hidrólisis en la fase inicial remueve alrededor del 10% del material y reduce rápidamente el grado de polimerización (DP) a un valor cercano de 200 a 250 llamada fase de nivelación. La cantidad de pérdida de peso y el nivel de grado de nivelación varía con el tipo de celulosa que se está tratando. La hidrólisis inicial es confinada a una fracción accesible la cual se ha usado para calcular el porciento de esa fase que es la lenta y que está asociada a la hidrólisis de la fase cristalina, procede a una velocidad mucho mas lenta que la etapa inicial, un ejemplo es en la celulosa de algodón a un factor de 13 en HCl 6N a 100°C.

Recientemente se realizó un estudio de difracción electrónica sobre la hidrólisis catalizada de celulosa de algodón con ácido diluido. Mungolo y Macchi (42) realizó una investigación morfológica comparativa por análisis de difracción electrónica que nos llevo a las muestras de celulosa de algodón a partir de diferentes etapas en la reacción de degradación por hidrólisis con ácido diluido. Para un DP de 500 a 13000 (de material original) se observó una pequeña pérdida de material cristalino. Para DP menor de 500 la cristalinidad decrece mucho más rápido junto con un aumento marcado de la distorsión cristalina, la evidencia de esta nueva fase distorsionada se hace más clara conforme procede la degradación. Un paralelo claramente definido puede ser establecido entre las diferentes etapas de degradación y las características morfológicas (cristalinidad). La evidencia en este artículo indica los efectos de la hidrólisis ácida de celulosa y el cambio de la morfología en la estructura fina.

El comportamiento hidrolítico de la celulosa durante su hidrólisis está fuertemente influenciada por la estructura física y el orden cristalino de los

materiales celulósicos. Empleando HCl en ebullición (180.5°), la celulosa de madera y celulosa regenerada (rayón) son hidrolizados más rápido que el algodón por un factor de 2 y 3 respectivamente. El pretratamiento de celulosa por mercerización (NaOH 18% a 20°C), amoníaco líquido y secado aumenta significativamente la velocidad de hidrólisis. Solventes no polares tales como etanol, propanol y metil etil cetona también aceleran la degradación, en cambio el dimetilsulfóxido tiene un efecto negativo. El efecto del solvente es explicado en términos de cambios en la reactividad del ion hidronio y la tensión estructural de la moléculas de anhidroglucosa. Datos recientes sobre la hidrólisis de la celulosa en madera con ácido clorhídrico concentrado (12 a 16 N) indica que la reacción es fuertemente acelerada por agitación y por la adición de $ZnCl_2$, $LiCl$ y $CaCl_2$.

Sin embargo, la hinchazón de la celulosa se ve afectada por los haluros de zinc y litio en solución acuosa. La adsorción de agua y sales a partir de soluciones acuosas concentradas de $ZnCl_2$ y $ZnBr_2$ por fibras de pulpa en 293 + 1.5 K son anormalmente altas comparadas con la adsorción de $LiCl$ y $LiBr$. Los resultados fueron interpretados en términos de interacciones entre donador y aceptor de electrones de los grupos hidróxido de celulosa con agrupaciones de haluros de Zn que rodean al grupo hidróxido y las interacciones entre la celulosa hidratada y la ruptura de las uniones causadas por los iones Br^- y Cl^- (43).

Cuando se trata la celulosa con ácido nítrico (HNO_3 65-72%) en una relación de 12-20 ml/g durante 1-4 h se obtiene una celulosa en polvo con un grado de cristalinidad bajo, la cual hace que esta se pueda emplear para obtener grados mejorados (44).

Datos cinéticos reportados para la hidrólisis de la celulosa muestran variaciones grandes, dependiendo de si la reacción está en fase homogénea o heterogénea, y la velocidad de hidrólisis puede ser medida empleando varios parámetros: pérdida de peso o cambios en su DP y concentración y temperatura del ácido empleado. La energía de activación derivada de datos de DP es usualmente baja como los obtenidos por las mediciones de los pesos perdidos y probablemente representa solo la reacción de desdoblamiento de la cadena.

El intervalo de valores, en Kcal/mol para hidrólisis en fase heterogénea son de 35 a 43 (si se mide en pérdida de peso) o 25 a 35 (si se mide por DP) y para reacciones en fase homogénea de 28 a 34. La hidrólisis de la celulosa de madera con HCl superconcentrado (15 a 16 N) da valores de 13.3 y 25.1 para sistemas con o sin agitación respectivamente.

III. APLICACIONES

Los procesos de degradación de la madera para investigación y utilidad práctica, son basados en dos reacciones: (1) la hidrólisis controlada de enlaces éter en lignina para la obtención de compuestos de lignina con bajo peso molecular y (2) hidrólisis controlada de enlace glucosídico en hemicelulosa y celulosa usando procesos de prehidrólisis y sacarificación.

1. Prehidrólisis.

El objeto de la prehidrólisis es eliminar selectivamente hemicelulosa a partir de material orgánico por calentamiento en agua (170°C), en ácido diluido (HCl 0.1 N a 120°C) o en ácido concentrado (HCl 20 a 30 % a 40°C). Los residuos de la prehidrólisis son utilizados en dos áreas: para la disolución de pulpas por el método kraft y para sacarificación de la madera. El principio de esta prehidrólisis se basa en la alta reactividad que tienen las hemicelulosas (ya comentadas anteriormente) las cuales pueden hidrolizar bajo condiciones ligeramente ácidas sin afectar seriamente a la celulosa.

El proceso de prehidrólisis para la producción de pulpa disuelta es normalmente realizado en agua a 170°C por dos horas. La acción del vapor libera ácidos orgánicos (principalmente ácidos acéticos) de la madera los cuales van a catalizar la hidrólisis de las hemicelulosas.

Por otro lado, la prehidrólisis para sacarificación de madera mejora la calidad de los hidrolizados sin menoscabo en la conservación de la fibras. Aparentemente en términos de producción de xilosa y velocidad de reacción, la prehidrólisis con ácido diluido (H₂SO₄ 0.4%) da mejores resultados que con el tratamiento con agua sola. A 170°C, el máximo rendimiento de xilosa a partir de álamo empleando hidrólisis con agua es del 60% a partir de la madera original, comparado con 83% por hidrólisis ácida. Estos dos sistemas tienen dos diferencias notables con respecto al desarrollo cinético para especies de madera dura. La cinética para eliminar xilano es expresada en términos de dos reacciones paralelas de primer orden: una es más rápida y otra lenta. En el caso de la prehidrólisis a 170°C con agua, la constante de velocidad para las reacciones rápida y lenta son altamente correlacionadas con cuatro diferentes especies de madera dura. Sin embargo no existe correlación para la prehidrólisis con ácido diluido (HCl 0.1 M a 120 °C). El rendimiento de carbohidratos solubles y furfural de la prehidrólisis de madera roble del sur en ácido diluido tiene una relación con las variables del proceso, tales como temperatura y tiempo de reacción, concentración del ácido y cantidad de solución hidrolizada.

2. Sacarificación de la madera.

Ya se discutió, que la celulosa es resistente a la hidrólisis debido a su estructura física y naturaleza cristalina. Esta inaccesibilidad física representa un problema para la producción comercial de glucosa a partir de substratos de celulosa. La sacarificación de la madera es usualmente realizada en residuos prehidrolizados con bajo contenido de hemicelulosa.

La hidrólisis de la celulosa es generalmente realizado con ácidos minerales diluidos o concentrados. Es preferible el uso de ácido clorhídrico en vez de ácido sulfúrico sobre todo en el caso de hidrólisis ácida concentrada, porque el ácido clorhídrico es volátil y puede ser recuperado.

En procesos con ácido diluido (H_2SO_4 0.1 a 1.6 %), la formación de la glucosa compete con su misma degradación (Figura-30), por el uso de altas temperaturas (alrededor de 200°C). Por ejemplo el rendimiento neto de la glucosa de 54% se obtiene tratando a la celulosa con ácido sulfúrico H_2SO_4 al a 0.4% a 260°C por 27 seg.

Los carbohidratos "levo-glucosado" y 1,6-anhidro- β -D-glucofuranos fueron producidos en una relación 7:3 y estos constituyen mas del 50% del rendimiento total de los productos de hidrólisis utilizando celulosa micro cristalina (Avicel) e hidrolizando con H_2SO_4 diluido (0.26 a 0.27%p) a una temperatura de 160 a 250° en tubos pequeños de 3mm de diámetro interno, con una relación de 3:1 (ácido acuoso:Avicel). La isomaltosa y gentobiosa fueron los disacáridos preponderantes entre los productos de hidrólisis reversible. Los enlaces α -disacáridos (1 \rightarrow 2) y (1 \rightarrow 3) predominan sobre sus contrapartes β . El rendimiento total de los productos de hidrólisis reversibles se aproximó al 10% en base al calculo teórico de D-glucosa (45).

La celulosa modificada en polvo (46) se puede realizar en medio ácido prótico o en ácido de Lewis en medio aprótico. Los procesos siguen rutas muy distintas debido a la naturaleza compleja estructural del polvo de celulosa empleando $TiCl_4$, $SbCl_5$, $SnCl_4$, $AlCl_3$, en disolventes orgánicos, para estas investigaciones difieren de la celulosa microcristalina (MC) obtenida por hidrólisis en un máximo grado de polimerización en presencia de ácidos próticos. La diferencia consiste en las características estructurales de CP.

También se conoce que la celulosa tiene un coeficiente de expansión térmica longitudinal negativo.

Se ha encontrado que la hidrólisis de la celulosa es fuertemente dependiente del tipo de ácido de Lewis, tipo de disolvente y de la temperatura empleada, como se observa en la Tabla-16.

TABLA-16. Cambios en DP_{av} causados por las temperaturas de secado.

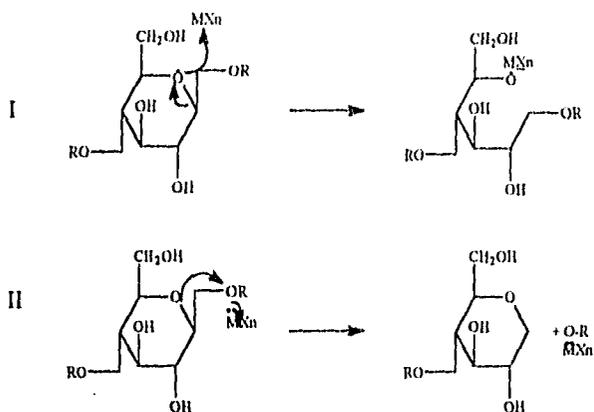
T °C	Promedio del grado de Polimerización (DP_{av}).		
	$SnCl_4-C_6H_{14}$	$AlCl_3-CCl_4$	$TiCl_4-CCl_4$
20	1800	1390	1040
105	200	320	240

De la misma forma las propiedades de la celulosa obtenida varía de acuerdo con el tipo de ácido de Lewis, empleado como se observa en la Tabla-17.

TABLA-17. Algunas propiedades de celulosa obtenidas por destrucción termo catalítica en presencia de diferentes ácidos de Lewis.

Ácido de Lewis	DP_{av}	Fracción con $DP_{av} \leq 200$ (%)	Contenido de humedad (%)	Cenizas (%)	Grupo -COOH (%)	Grupo -CO (%)
		100				
$TiCl_4$	110	100	4.1	0.34	0.69	0.48
$SbCl_5$	120	97	5.2	0.32	0.65	0.45
$SnCl_4$	130		4.1	0.34	0.54	0.42
BF_3		100				
$O(Et)_2$	130	95	4.4	0.04	0.18	0.38
$AlCl_3$	150		5.1	0.31	0.12	0.24

El mecanismo de la reacción destructiva de macromoléculas de celulosa en presencia de ácidos de Lewis puede ser descrita como la coordinación del átomo metálico central del ácido con el átomo de oxígeno hemiacetal (cíclico o glucosídico). Esto resulta en la formación de enlaces donador-aceptor debido al orbital vacante del átomo de oxígeno central y electrones no apareados de los átomos de oxígeno. Como un resultado de la unión del enlace carbono-oxígeno se debilita hasta romperse:



La formación de complejo MXn -celulosa es directamente confirmado por pequeño que sea el aumento en la masa original de la celulosa. Este incremento se observa en todos los casos seguida de la eliminación del exceso de catalizador por lavado de la muestra. Si la celulosa es sujeta a un tratamiento de calentamiento a $80\text{-}100^\circ\text{C}$, la magnitud del promedio del grado de polimerización (DP_v) en esta muestra disminuye considerablemente comparado con la muestra que se seca a 20°C en otros trabajos, las muestras sufrieron destrucción (Tabla-16).

Esta destrucción puede ser atribuida a la formación preliminar de un complejo de celulosa-ácidos de Lewis. Un análisis del espectro infrarrojo muestra la aparición de bandas de absorción los cuales pueden ser atribuidos a la formación de enlaces metal-oxígeno. De esta manera, el espectro infrarrojo de las muestras de celulosa destruyen la presencia de TiCl_4 establecida al contar la absorción de bandas a $1100\text{-}1000\text{ cm}^{-1}$ debido al enlace C-O-Ti .

IV. REACCIONES DE LA MADERA EN CATÁLISIS ALCALINA.

En condiciones favorables (170°C) la hidrólisis alcalina de la lignina se lleva a cabo rompiendo las uniones α - β -arileter y junto con lo anterior los polisacáridos también se hidrolizan en condiciones alcalinas. Pero en contraste con la degradación ácida, los productos finales tienen grupos carboxílicos. Hasta la fecha se han buscado métodos para favorecer la deslignificación sin que exista demasiada hidrólisis de la celulosa.

A. POLISACÁRIDOS.

1. Aspectos fundamentales.

a. Degradación terminal.

La Figura-31 ilustra, cómo la reacción de degradación del enlace β -1,4-polisacárido de celulosa es iniciada por la enolización del grupo terminal (10), seguido por β -eliminación vía el ion enolato (11) como intermediario.

Este grupo terminal se elimina en forma de anión glicoxidico. La unidad degradada final (12) puede llegar a una forma bencílica (ruta A) para formar ácido isosacárico (ISA) (13), o una fragmentación (ruta B) vía el intermediario (14) para dar gliceraldehído y dihidroxiacetona (15). Los últimos dos compuestos son transformados ulteriormente a ácido láctico (16). Además puede haber otras fragmentaciones de los intermediarios de dicarbonilos tales como los ácidos fórmico y glicólico. No importando la temperatura de reacción y concentración del álcali, la cantidad de ácido producido es constante, aproximada a 1.5 mol por unidad de glucosa degradada.

Además de las ácidos alifáticos, también son formados pequeñas cantidades de enoles cíclicos y compuestos fenólicos tratando xilosa y glucosa con álcali diluido (NaOH 0.63 M) a 96°C por cuatro horas bajo atmósfera de nitrógeno. Algunos de estos compuestos fenólicos se ilustran en la Figura-32 mostrando la diferencias significativas obtenidos bajo condiciones ligeramente ácidas. Sin embargo, compuestos (17) (R=H) y (18) son formados bajo condiciones ácidas y alcalinas.

b. Reacciones químicas de terminación.

En competencia con las reacciones de degradación, los grupos terminales reductores también pueden ser transformados en grupos carboxílicos estables. La Figura-33 ilustra dos grupos carboxílicos más importantes formados por calentamiento de celulosa en NaOH a 170°C al 5%.

La ruta A (con 71%) involucra la β -eliminación de el grupo hidróxido en C3, seguido por un rearrreglo bencílico de el intermediario (22) para dar el grupo terminal ácido metasacárido (23). La ruta B (con 23%) a través de la fragmentación de un intermediario 3-ceto (24) para formar el grupo terminal 2-C-metilglicérido (26). La menor cantidad formada es de ácido aldónico (6%), probablemente por reacción oxidativa.

A. POLISACÁRIDOS.

1. Aspectos fundamentales.

a. Degradación terminal.

La Figura-31 ilustra, cómo la reacción de degradación del enlace β -1,4-polisacárido de celulosa es iniciada por la enolización del grupo terminal (10), seguido por β -eliminación via el ion enolato (11) como intermediario.

Este grupo terminal se elimina en forma de anión glicoxidico. La unidad degradada final (12) puede llegar a una forma bencílica (ruta A) para formar ácido isosacárico (ISA) (13), o una fragmentación (ruta B) via el intermediario (14) para dar gliceraldehído y dihidroxiacetona (15). Los últimos dos compuestos son transformados ulteriormente a ácido láctico (16). Además puede haber otras fragmentaciones de los intermediarios de dicarbonilos tales como los ácidos fórmico y glicólico. No importando la temperatura de reacción y concentración del álcali, la cantidad de ácido producido es constante, aproximada a 1.5 mol por unidad de glucosa degradada.

Además de los ácidos alifáticos, también son formados pequeñas cantidades de enoles cíclicos y compuestos fenólicos tratando xilosa y glucosa con álcali diluido (NaOH 0.63 M) a 96°C por cuatro horas bajo atmósfera de nitrógeno. Algunos de estos compuestos fenólicos se ilustran en la Figura-32 mostrando la diferencias significativas obtenidos bajo condiciones ligeramente ácidas. Sin embargo, compuestos (17) (R=H) y (18) son formados bajo condiciones ácidas y alcalinas.

b. Reacciones químicas de terminación.

En competencia con las reacciones de degradación, los grupos terminales reductores también pueden ser transformados en grupos carboxílicos estables. La Figura-33 ilustra dos grupos carboxílicos más importantes formados por calentamiento de celulosa en NaOH a 170°C al 5%.

La ruta A (con 71%) involucra la β -eliminación de el grupo hidróxido en C3, seguido por un rearrreglo bencílico de el intermediario (22) para dar el grupo terminal ácido metasacárido (23). La ruta B (con 23%) a través de la fragmentación de un intermediario 3-ceto (24) para formar el grupo terminal 2-C-metilglicérido (26). La menor cantidad formada es de ácido aldónico (6%), probablemente por reacción oxidativa.

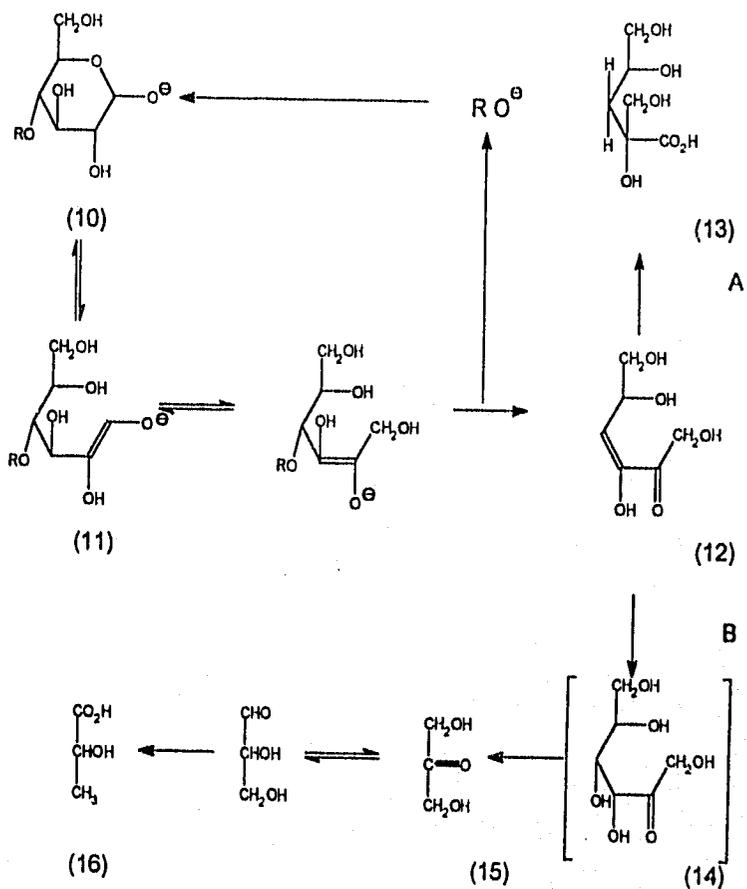


FIGURA-31. Despolimerización de los enlaces 1,4-polisacáridos.

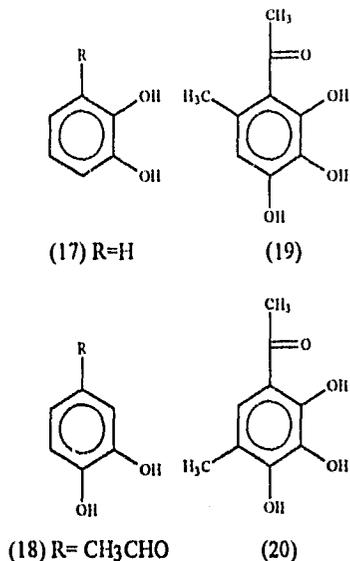


FIGURA-32. Compuestos fenólicos típicos formados a partir de la deshidratación básica catalizada y condensación de monosacáridos

c. Factores que afectan los procesos de degradación.

Todos los procesos son controlados por dos reacciones competitivas (terminación y degradación) y es afectada significativamente por la estructura física de sustrato, el tipo y concentración del álcali y la temperatura de reacción.

Accesibilidad. En un sistema heterogéneo, la estructura submicroscópica de celulosa ejerce una influencia dominante en el proceso de degradación. Esto es observado cuando la hidrocélulosa es tratada con solución alcalina (NaOH al 7% de 100 a 120°C), no toda la cadena de celulosa es terminada con grupos carboxílicos estables y los residuos estables contienen una cantidad significativa de grupos terminales reductores. Este fenómeno es explicado en términos de terminación física cuando la investigación de una degradación final en la región cristalina es inaccesible para el álcali. También la celulosa mercerizada y amorfa exhibe altas proporciones de terminación química comparada a la reacción de degradación que se hace en la celulosa nativa.

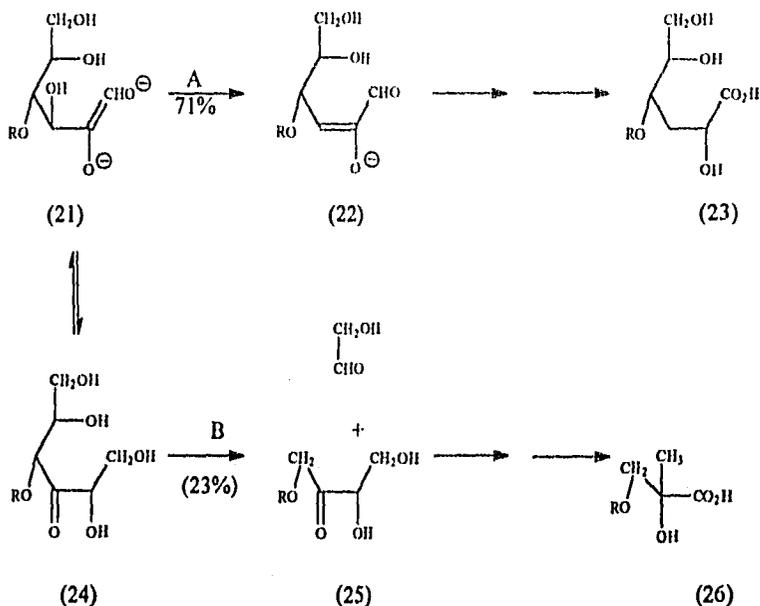


FIGURA-33. Reacción química de terminación de polisacáridos con enlace-1,4.

Composición de azúcar. La reacción de degradación de polisacáridos, también es afectada por su composición como reflejo del comportamiento de disacáridos. Así el incremento en la velocidad de reacción se manifiesta en el orden de manobiosa < celobiosa < xilobiosa. La estabilidad de la manobiosa es atribuida a la velocidad baja de isomerización a fructosa. La formación de grupos ácidos terminales estables disminuyen con el incremento de la temperatura.

Concentración de álcali. La reacción de degradación de polisacáridos, tales como amilosa y celulosa, depende de la concentración del ion hidróxido y el tiempo se reduce significativamente en álcalis concentrados. El porcentaje de degradación de hidrocélulosa a 120°C crece con la concentración de la base hasta un límite de 6 N y disminuye rápidamente después de esta concentración como un resultado del incremento en accesibilidad y reacción química de terminación.

Tipos de bases. Cationes bivalentes tales como Ca^{++} y Sr^{++} son utilizados para mejorar la velocidad de terminación de la reacción de degradación. Cuando la hidrocelulosa es tratada con solución de hidróxido de estroncio concentrado, la mayoría de las cadenas degradadas terminan con grupos carboxílicos estables. El efecto observado es razonado en términos de estabilización de los intermediarios dianiónicos (21) por estos cationes.

También la velocidad de degradación de hidrocelulosa en soluciones ligeramente alcalinas (pH 9 a 11) es reducido significativamente por la adición de amoníaco y en menor grado por borato.

Temperatura. La energía de activación de la reacción de degradación (21.2 Kcal/mol) es ligeramente mayor que la reacción de terminación (19.3 Kcal/mol) obtenido con amilosa en un base homogénea. De esta manera la magnitud del proceso de degradación en disacáridos aumenta significativamente a temperaturas altas. En cambio, con hidrocelulosa en los sistemas heterogéneos la reacción de degradación, tiene una energía de activación más baja que la energía de terminación (24.6 vs 32.2 Kcal/mol). Sin embargo la aparente magnitud de degradación de celulosa o hidrocelulosa es prácticamente independiente de la temperatura. El efecto positivo del incremento de temperatura en la estabilización de la celulosa es aparentemente impedida por un incremento en la accesibilidad de la celulosa.

Aditivos. La reacción de degradación puede ser reducida o impedida por modificación química de grupos terminales con aditivos. Por ejemplo, los grupos terminales son efectivamente reducidos por borohidruro de sodio o sulfuro de hidrogeno en alditol alcalino estable y grupos terminales tioalditol respectivamente.

Agentes oxidantes, como el sistema oxígeno-álcali, poli sulfuro y derivados de antraquinona (AQ) convierten los grupos terminales reductores a ácidos aldónicos. Además otros compuestos, tales como hidroxilamina, los cuales actúan en las reacciones de tipo adición carbonilo, también tienen efectos estabilizantes. De los agentes estabilizantes, sólo el poli sulfuro, sulfuro de hidrogeno y AQ tienen significado práctico.

d. Ruptura de los enlaces glucosídicos.

La ruptura catalizada básicamente de enlaces glucosídicos, es una reacción de interés fundamental e importancia tecnológica. En pulpas alcalinas, esta reacción hidrolítica unido con el proceso de degradación descrito anteriormente, es la causa principal causa del bajo rendimiento de pulpa y resistencia en la fibra. Los mecanismos de reacción son obtenidos principalmente por estudios de glucósidos simples.

La Figura-34 ilustra el mecanismo predominante generalmente aceptado para la ruptura alcalina de β -D-glucopiranosidos. La reacción de fenil β -D-glucopiranosidos (27) (R = fenil) es estabilizada a través de la formación del intermediario de un 1,2-anhidro (29), dando un método fácil para la preparación de 1,6-anhidro- β -D-glucopirano [levoglucosano (30)].

Estudios con 1,5-anhidrocelobitol indica que ocurre algún desdoblamiento del enlace oxígeno-aglicona (alrededor del 10%) (B-B' en la Figura-34), además de un predominante rompimiento de los enlaces glicosil-oxígeno (A-A'). También la hidrólisis alcalina de este compuesto puede proceder parcialmente via (S_N1) de primer orden especialmente para este tipo de ruptura.

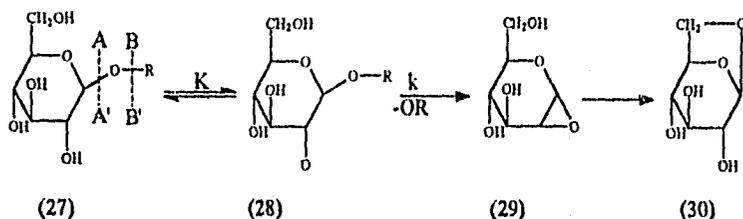


FIGURA-34. Mecanismo predominante para la ruptura alcalina de β -D-glucopiranosidos.

e. Factores que afectan la ruptura de enlaces glucosídicos.

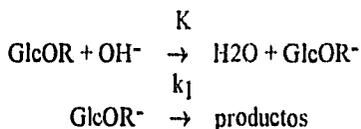
La hidrólisis alcalina de polisacáridos de madera es afectada por su composición química y estructura física así como la concentración del álcali y la temperatura de reacción.

Composición química. La diferencia en reactividad entre α -anómeros y β -anómeros para dar glucósidos es generalmente consistente con el mecanismo mostrado en la Figura-34. Los glucósidos con el grupo aglicónico y el grupo hidróxido en el C2 en la posición *trans* reacciona más rápido que su correspondiente isómero-*cis*. La glucosa, manosa y xilosa en polisacáridos de la madera ocurre en la forma- β , mientras que los grupos de galactosa, arabinosa y ácido glucurónico están presentes en la forma- α .

ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA

También las unidades de arabinosa, en contraste con otras unidades de azúcar, están presentes las estructuras furanosídicas. Así, en un sistema homogéneo la reactividad de varios enlaces glucosídicos presentes en madera pueden incrementarse en el orden de galactosa (1) < manosa (1.1) < glucosa (2.5) < xilosa (5.8) < arabinosa (32) < ácido glucorónico (280). Este orden es distinto al de la hidrólisis ácida, notando la alta estabilidad de los grupos de galactosa y alta reactividad de los glucoronósidos bajo condiciones alcalinas.

Concentración del álcali. La concentración del ion hidróxido juega una parte importante en la ruptura de varios enlaces glucosídicos, incluyendo glucósidos de fenil y metil, metil β-celobiosa, y 1,5-anhidrocelobitol. En general la reacción de ruptura alcalina puede ser expresada en términos de la formación de especies aniónicas como intermediarios reactivos de acuerdo a las siguientes reacciones:



donde GlcOR es el glucósido, GlcOR⁻ es el intermediario aniónico tal como (28) (Figura-34), K es la constante de equilibrio para glucósidos ionizados y neutralizados y k_j es la constante proporcional específica en la conversión del intermediario aniónico hacia productos.

Temperatura. La energía de activación de la hidrólisis alcalina es muy similar a las reacciones de varios glucósidos no arílicos en NaOH al 10%. El valor obtenido en unidades de Kcal/mol (36 a 38) es substancialmente más alto que para la reacción de degradación (21.2 a 24.6) y también es un poco más alto a la hidrólisis ácida.

Estructura física. La ruptura alcalina de las moléculas de celulosa es un proceso de degradación y es influenciada por la estructura morfológica de la molécula. Esto muestra que la celulosa mercerizada es mas susceptible a la hidrólisis alcalina que la celulosa nativa por un factor de 1.7. Recientemente esta hidrólisis alcalina también fue afectada en hidrocélulosa amorfa siempre que se encuentra bajo condiciones ligeramente alcalinas (NaOH 1.0 M de 60 a 80°C), lo cual puede ser atribuido a los efectos de ciertas conformaciones moleculares.

2. Hemicelulosas.

Las hemicelulosas son muy susceptibles a cambios físicos y químicos en condiciones alcalinas. Estos cambios incluyen hinchazón, disolución, reprecipitación, degradación, y reacciones de hidrólisis alcalinas. En la pulpa alcalina, se llega a perder una gran cantidad de hemicelulosas durante la etapa inicial donde la temperatura es menor de 130°C, como una consecuencia de la disolución y degradación de polisacáridos no disueltos. El mecanismo de disolución, calcula cerca de un 20% de pérdida inicial de carbohidratos para abeto y un 80% para álamo.

La saponificación alcalina de grupos y ésteres urónicos en hemicelulosas proceden bajo condiciones suaves y contribuye significativamente a su cristalización parcial y re deposición sobre fibras durante la generación de pulpa en medio alcalino. La desacetilación es más rápida que la ruptura de los ésteres de ácido urónico, como es observado bajo condiciones suaves de amoniacó (NH_4OH al 5% de 0 a 40°C).

a. Celulosa.

La degradación alcalina de celulosa nativa es generalmente iniciada por un desdoblamiento de enlaces glucosídicos porque la degradación primaria es poca debida a el alto DP (alrededor de 10,000). Los nuevos grupos terminales reductores generados dan origen a un proceso secundario de degradación resultando una pérdida de aproximadamente 65 unidades de glucosa. Esto es generalmente asumido ya que el mecanismo de desdoblamiento observada para glucósidos simples (Figura-34) puede ser aplicado para celulosa. Datos cinéticos parecen apoyar la hipótesis de que el desdoblamiento alcalino de celulosa es también facilitado por la asistencia anquimérica de el grupo hidróxido en el C2. La reacción puede ser satisfactoriamente descrita en términos de formación de especies aniónicas como intermediarios reactivos de acuerdo a las reacciones generales anteriormente descritas.

La energía de activación de la hidrólisis alcalina de celulosa de algodón en NaOH al 5% (36 Kcal/mol) es esencialmente idéntico para la hidrólisis de metil- β -D-glucopiranosido. Sin embargo la velocidad de la hidrólisis de la celulosa es más baja, por un factor de 30. Un valor substancialmente alto de la energía de activación (43 Kcal/mol) tiende a ser reportado para el desdoblamiento de la celulosa, como medida de la reducción de la viscosidad de la pulpa durante el proceso kraft en la de madera de abeto.

Datos cinéticos indican que la hidrólisis alcalina de celulosa es relativamente lenta aún cuando la temperatura de reacción este entre 150 a 190°C. En cambio el impacto de la hidrólisis alcalina de la pulpa es importante durante el proceso aunque la cantidad perdida de celulosa asociada es relativamente pequeña.

Varias investigaciones, como la de S. Sreenivasan et al. (47), estudian el hinchamiento de fibras de algodón con hidróxidos alcalinos metálicos y su influencia del tipo de metal en la estructura fina resistencia a la tensión en la fibra de celulosa.

Tales investigaciones detallan el hinchamiento con otros hidróxidos metálicos alcalinos, tales como LiOH y KOH. Este trabajo estudia la dependencia de la concentración de los parámetros estructurales y su influencia en las propiedades tensiles de fibras tratadas con LiOH y KOH y para evaluar el efecto del tamaño del catión con respecto a la relación estructura-propiedades físicas.

Los datos físicos, mecánicos y estructurales obtenidos para las muestras tratadas con LiOH y KOH son resumidos en la Tabla-18. En esta tabla observamos que el peso de la fibra por unidad de longitud (expresado en intex) puede ser indicativo de el hinchamiento sube al incrementarse la concentración. Esto confirma los datos de hinchamiento obtenidos por la técnica de isopropanol. Esto es obvio de la tabla que muestra los valores de re humectación y parecidos a los valores de A_m (A_m = porciento de la parte amorfa evaluada por difractogramas radiales usando el método de Chidambareswaran et al.) casi llegan a la saturación en 4N, para muestras tratadas con KOH. Esto se esperaría si la humedad es adsorbida por las regiones amorfas de las fibras. Sin embargo con LiOH, el hinchamiento no se satura en 4N, ya que continúa incrementándose al aumentar la concentración, como en el caso de los parámetros estructurales incluyendo la recuperación de la muestra. También la relación de uniformidad de resistencia denominada SUR, para muestras hinchadas a valores de 4N en LiOH son más altas que las correspondientes a las muestras producidas a partir de hinchamiento en KOH.

Un incremento en SUR es normalmente asociado con el aumento en T_3 (tenacidad de longitud 3.2 mm) y la disminución en T_0 (tenacidad a una longitud de cero). El incremento en T_3 , es atribuido al traslado de zonas débiles obtenidas en LiOH y KOH la cuales fueron casi iguales más allá de 4N. Sin embargo, T_0 disminuye solo marginalmente antes de hincharlas con KOH, iniciando una reducción de los valores de SUR. De aquí que el hinchamiento de fibras en diferentes reactivos aumenten la retención de tenacidad longitudinal a un mejor índice incrementándose en SUR.

TABLA-18. Datos mecánicos, físicos y estructurales de algodón PHS tratado con soluciones de LiOH y KOH a temperatura ambiente.

Tratamiento	Datos de Tensión					Datos de Rayos-X			Humedad Recuperada (%)
	T ₀ (g/tex)	T ₃ (g/tex)	SUR	E(%)	C II (%)	Am (%)	1/φ _{1/2} (deg ⁻¹)	Peso de la fibra (mtex)	
Ninguno Tratamiento (N LiOH)	48.8	26.2	0.54	5.0	0	28	0.038	130	6.95
(a) 3.0	46.7	26.9	0.58	5.0	0	25	0.041	130	7.58
(b) 3.5	49.2	28.3	0.58	5.8	15	27	0.044	133	8.50
(c) 4.0	46.3	29.1	0.63	7.2	34	32	0.044	136	9.16
(d) 4.5	46.5	30.8	0.66	9.4	42	37	0.041	147	9.86
(e) 5.0	42.9	32.0	0.75	10.9	45	36	0.043	154	10.43
Tratamiento (N KOH)									
(a) 2.0	49.3	26.3	0.53	5.0	0	29	0.038	130	7.22
(b) 3.0	46.5	29.2	0.63	6.1	26	32	0.042	133	8.33
(c) 4.0	48.4	32.1	0.66	7.8	39	40	0.042	138	9.62
(d) 4.5	50.7	31.6	0.62	8.4	38	41	0.042	143	9.95
(e) 5.0	48.2	30.5	0.63	9.4	38	38	—	148	10.05
(f) 6.5	46.9	31.7	0.68	10.5	43	40	0.043	157	10.52
(g) 8.0	47.1	31.2	0.66	11.1	45	40	0.042	—	10.57

Es evidente la des cristalización de C I como resultado del hinchamiento de celulosa nativa en álcalis metálicos de concentración apropiada, comenzando por desordenar parte del material re cristalizado en C II durante el subsecuente lavado y secado. Se tiene que C II y Am (%) cambia con la concentración así como también el comportamiento tensil de las fibras hinchadas. Lo que explica la relación de las propiedades de tensión en la proporción de cristalización adquirida y la fracción desordenada.

A partir de los resultados obtenidos, se puede establecer que las fibras hinchadas en KOH tienen un alto desorden y que la conversión a C II es a una concentración baja. También se observa que la retención de la tenacidad en el indicador de longitud es mejor después del hinchaniento en KOH. Estas diferencias en el comportamiento tensil de las fibras hinchadas en los dos reactivos (LiOH y KOH) pueden ser atribuidas a las variaciones en los mismos parámetros estructurales. A pesar de que el mecanismo de hinchamiento de las fibras de algodón en soluciones acuosas alcalinas dan lugar a la formación alcali-celulosa y transformación de la misma en C II durante el lavado sean similares,

el estudio muestra que las relaciones propiedad-estructura no son idénticos teniéndose especificidad para el agente hinchante, dependiendo de los tamaños del catión.

En los estudios realizados por Iyer et al. (48) se investiga la influencia de la morfología y estructura sobre el comportamiento a la tensión. En donde indica que los algodones varían poco en la fineza gravimétrica, orientación y fuerza cristalina; teniendo casi el mismo porcentaje de fibras maduras (P_m) (Tabla-19).

Variando la fineza de los algodones se observa los efectos de la morfología de la pared celular secundaria sobre el hinchamiento y el cambio en las propiedades.

TABLA-19. Propiedades de varios algodones que se estudiaron.
Datos de tensión

Variedad de algodón	Longitud (mm)	T_0 (g/tex)	T_3 (g/tex)	E(%)	Fineza gravimétrica (mtex)	Porcentaje de madurez de la fibra (P_m)	$1/\phi_{1/2}$ (deg ⁻¹)
	37.3	55.3	33.2	4.5	110	72	0.045
Suvin	37.6	48.8	26.2	5.0	130	67	0.038
PSH	25.5	46.6	18.7	4.9	169	75	0.038
Khandawa AK.235	23.5	43.1	17.7	5.0	230	75	0.043

En un cuarto caliente a una temperatura de 30°C los valores de T_0 muestran una disminución en todas las variedades de algodón para los agentes hinchantes LiOH y NaOH en el orden de $NaOH \geq LiOH$, mientras que el agente hinchante KOH tiene el mismo valor de T_0 , excepto para el algodón Suvin (Tabla-20). Sin embargo, T_3 muestra un incremento en su valor para Suvin tratado con NaOH, el cual muestra una pequeña disminución en el valor de T_3 . Por tanto, los tratamientos con LiOH y KOH muestran una gran mejoría en T_3 comparada con el hinchante NaOH, especialmente para los algodones finos. Se puede observar en la misma Tabla-20 que el hinchamiento es medido por fineza gravimétrica en el orden de $LiOH \geq NaOH \geq KOH$, la degradación exacta fue obtenida en la fineza inicial de la especie. No obstante se está consiente de que el valor de tex no puede ser un indicador claro del hinchamiento y es considerado como una técnica que actúa midiendo el hinchamiento residual después del secado. Los valores del contenido amorfo (A_m) se establecieron altos para las fibras hinchadas en KOH, sin importar la extensión del hinchamiento mientras la conversión a celulosa II (C II) es menor para el tratamiento con KOH comparado con NaOH.

TABLA-20. Tenacidad (g/tes), Elongación (E%) y orientación cristalina ($1/\Phi_{1/2}$)(deg⁻¹) de diferentes algodones tratados con LiOH, NaOH y KOH 4.5N.

Tratamiento	Suvín				PSH				Khadwana				AK.235			
	T ₀	T ₃	E(%)	1/Φ _{1/2}	T ₀	T ₃	E(%)	1/Φ _{1/2}	T ₀	T ₃	E(%)	1/Φ _{1/2}	T ₀	T ₃	E(%)	
Nil	55.3	33.2	4.5	0.045	48.8	26.2	5.0	0.038	46.6	18.7	4.9	0.038	43.1	17.7	5.0	
LiOH ^a	47.9	36.4	10.7	0.048	46.5	30.8	9.4	0.041	43.3	21.4	7.6	0.042	39.3	21.8	8.2	
NaOH ^a	43.7	31.0	11.6	0.051	45.5	28.1	9.8	0.043	42.8	21.4	7.4	0.044	39.5	20.4	8.4	
KOH ^a	49.4	37.0	10.1	0.051	50.7	31.6	8.4	0.042	44.7	21.2	6.0	0.046	42.9	20.5	7.1	
LiOH ^b	37.0	24.4	9.3	0.047	35.3	18.4	12.1	0.040	37.6	19.3	9.4	0.041	33.9	18.4	9.6	
NaOH ^b	40.3	28.6	10.3	0.051	41.5	27.4	12.7	0.043	38.2	20.5	9.0	0.042	34.6	20.4	9.6	
KOH ^b	43.3	32.2	12.0	0.049	45.9	32.3	14.6	0.040	43.3	23.4	10.2	0.038	40.2	22.0	10.4	

^a a 30°C

^b a 0°C

Al reducir la temperatura de trabajo hasta 0°C, se provoca un incremento en el grado de hidratación de los reactivos alcalinos aumentando su capacidad de hinchamiento. En el caso de LiOH se provoca un hinchamiento tan que se reduce la tenacidad en T₀ y T₃, para algodones pertenecientes a la especie *G. barbadense* (PSH y Suvín). El hinchamiento en NaOH y KOH también reducen T₃ en el caso de Suvín, el decremento durante el hinchamiento en NaOH es muy alto con respecto a KOH.

Para los otros algodones, T₃, después del hinchamiento en NaOH, muestra casi los mismos resultados que los respectivos controles o un ligero mejoramiento. Sin embargo, después del hinchamiento KOH, T₃, siempre se incrementa. La extensión (E%) también se incrementa considerablemente especialmente después del hinchamiento con KOH a 0°C. Se registra un incremento C II durante el tratamiento con LiOH y KOH seguido de una recuperación de la humedad. El índice de hinchamiento es medido por tex, teniendo casi el mismo orden que el obtenido en un cuarto caliente (30°C). Los valores de Am, generalmente controlados durante el hinchamiento con KOH, muestra cambios leves sobre la reducción de la temperatura de hinchamiento. La orientación cristalina (1/Φ_{1/2}) muestra una pequeña variación durante el lento hinchamiento.

A partir de estos resultados, las fibras tratadas con KOH a 0°C muestran un incremento fuerte de T₃ en el desarrollo del hinchamiento. No hay cambio en la orientación cristalina que este contenida en Am y que pueda incluirse en este incremento de la retención de la fuerza de tenacidad a 0°C. Una interesante observación hecha con el hinchamiento en KOH es que en un cuarto caliente, los valores de Am fueron considerablemente bajos o iguales a este. Esta probabilidad implica que el hinchante KOH promueve la creación de una red

cristalina imperfecta y numerosos sitios de ataque a lo largo de las fibras. Estos combinados con gran distorsión de los elementos fibrosos a 0°C puede iniciar la reducción de la longitud del cristal.

A partir del estudio de las relaciones propiedad-estructura para tratamientos alcalinos de muestras en cuartos calientes se establece que T_3 depende grandemente Am y C II contenido en el material, aunque cambien otros parámetros estructurales, tales son la orientación amorfa o DP, que no se debe descuidar. Sin embargo, cuando se tienen muestras, con los mismos valores de C II + Am, las diferencias en el comportamiento tensil tiene que ser contado por factores de cambio en la longitud del cristal o en otras posibles variaciones en la estructura de la fibra tomando lugar encuentra el nivel molecular o fibrilar.

El orden para ver los cambios estructurales es a nivel molecular sin mostrar diferencias entre los agentes hinchantes, observado a nivel cristalino, cambios relativamente intensos en unas cuantas bandas infrarrojas asociadas a la des cristalización, conversión a C II y cambios en los enlaces intramoleculares; índice I y la cristalinidad total (C I + C II) índice II fueron medidos, la relación de índice I con los resultados de rayos-X se muestran en la Figura-35. El índice I fue medido como el efecto total de hinchamiento, mostrando una relación lineal con (C II + Am) medidos por técnicas de rayos-X. Sin embargo los valores del índice I, pertenecientes al tratamiento del cuarto caliente de todos los agentes hinchantes así como de KOH a 0°C tienden a una línea recta mientras que con los tratamientos con LiOH y NaOH no son lineales. Esto indica que el mismo cambio medido por el método de rayos-X, en el nivel cristalino cambia la estructura a nivel molecular combinado con otros factores, tales como disminución del hinchamiento, desdoblamiento uniforme de los elementos estructurales y dimensiones cristalinas bajas y puede ser responsable del incremento de retención de T_3 durante el hinchamiento con KOH a 0°C.

Otra interesante observación (Tabla-20) es la gran disminución en T_3 para algodones pertenecientes a la especie *G. barbadense* (clasificado como PSH), hinchados en LiOH y activados en un cuarto con una temperatura de 0°C, mientras que las especies cultivadas de *G. arboreum*, clasificado como AK.235, la disminución del valor de T_3 es leve y cercana al observado por el control. Los parámetros estructurales, especialmente Am, varía sólo marginalmente entre 0 y 30°C y también entre las variedades de algodón. La finesa gravimétrica se incrementa en la misma intensidad para PSH y AK.235. El índice-I infrarrojo muestra idéntica variación para ambas variedades. Ninguna de las propiedades medidas difieren entre PSH y AK.235 lo suficiente para explicar la diferencia del comportamiento tensil entre ellas.

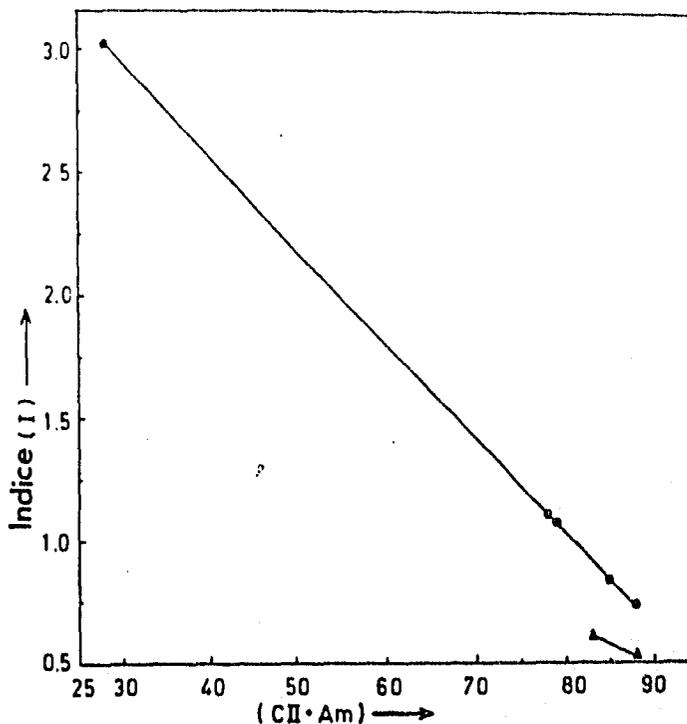


FIGURA-35. Relación del índice infrarrojo (I) con (CII+Am) a partir de las mediciones de rayos-X.

A partir de estudios morfológicos, los fragmentos de la pared celular, lo cual se observa con un microscopio de transmisión electrónica, reconociendo que la pared celular secundaria de las fibras de celulosa consisten en macrofibras que varían de la envoltura de microfibras arregladas helipticamente y conectadas radialmente por fibras activadas que alcanzan las siguientes fibras. Durante el hinchamiento con agentes intra-cristalinos, los enlaces inter- a intrafibrilares son rotos, empezando por una distorsión de fibras a partir de las posiciones originales, dependiendo de la penetración y poder del hinchamiento del reactivo, las fibras no pueden ser restauradas completamente a su estado original así como los nuevos enlaces formados se generan en posiciones diferentes a las anteriores. Sin embargo, cuando el mismo reactivo bajo condiciones idénticas de tratamiento afectan diferentemente dos variedades de algodón, no solamente el desarrollo mecánico sino también su morfología superficial provoca un mejor arreglo de los elementos estructurales internos en el radio.

Cuando el hinchamiento es excesivo como sucede a 0°C en LiOH, se desarrolla una presión por el hinchamiento de las celdas cristalinas muy cerradas que empujan a los elementos radialmente en otras direcciones. Esto puede ser una ventaja y desigualdad de la superficie externa. Los cambios notables en la apariencia superficial pueden hacer cambios en la fibra, siendo fácil de deducir un exceso de hinchamiento en estas condiciones, teniendo la introducción no uniforme y débil de los enlaces internos provocando una disminución en T₃.

Sin embargo si el empaquetamiento de los elementos a lo largo de los radios son pobres en una variedad particular, durante el hinchamiento a 0°C en LiOH, los elementos no son empujados radialmente, este efecto drástico no ocurre sobre la superficie pero sí internamente, siendo suficiente para la realineación de la pared celular. Es difícil en estas variedades, los enlaces débiles muestren un incremento en el caso de hinchamiento excesivo. Consecuentemente la fuerza de T₃ puede permanecer inalterada.

Es aceptable que el comportamiento tensil de las fibras de algodón hinchadas con álcali sea fácilmente explicable debido a los cambios estructurales finos que acompañan el hinchamiento, las características de diferentes variedades de algodón con un tratamiento específico dado depende de la morfología de la pared celular secundaria y cómo varía ésta durante el tratamiento.

V. REACCIONES DE DEGRADACIÓN OXIDATIVA.

La reacción oxidativa de polisacárido es usualmente encontrada durante los procesos de blanqueado.

A. Polisacáridos.

La despolimerización oxidativa de celulosa y hemicelulosa es una reacción indeseable, especialmente en los procesos de blanqueado con oxígeno y peróxidos alcalinos. Por la reducción de la pulpa viscosa puede resultar una pérdida en la fuerza. La reacción de desdoblamiento se incrementa con una oxidación inicial en el grupo hidróxido los carbonos C-2, C-3, y C-6 correspondiendo al grupo ceto o aldehído, seguido por un proceso de β-eliminación. La Figura-36 ilustra la despolimerización más común tomando lugar después la oxidación de el hidróxido C-2.

La regeneración de un grupo terminal reductor, el cual puede sufrir una degradación secundaria, es usualmente transformado bajo condiciones oxidativas a varios grupos ácido aldónico (principalmente grupos arabónico y eritrónico). Así la reacción de degradación es minimizada y la pérdida de peso es relativamente pequeña.

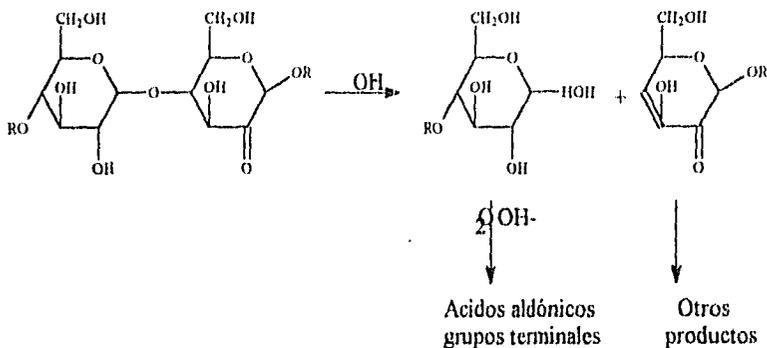


FIGURA-36. Desdoblamiento oxidativo de enlace glucosídicos

La reacción de desdoblamiento oxidativo usualmente involucra la reactividad de los radicales hidróxido, los cuales son formados a partir de la descomposición de peróxido por iones metálicos, tales como hierro, manganeso, y cobre. Esta despolimerización oxidativa puede ser reducida significativamente por la presencia de ciertos aditivos, especialmente sales de magnesio cuya función se cree que es debido a la desactivación de los iones metálicos o la formación de complejos con carbohidratos.

El desdoblamiento oxidativo molecular de celulosa también ocurre con otros oxidantes comunes como cloruros, hipocloritos y ozono.

Una alternativa para obtener pulpa por blanqueado con peróxido, un proceso termoquímico y un proceso pulpa sulfito (49). Este método emplea una máquina Vivis que se inicia con el tratamiento de trozos de madera convencional, los cuales son refinados empleando dos prensas helicoidales dispuestos en serie. En la última de las prensas se obtiene un 60% de sólidos. Se impregna con ácido dietilén tetraminopentacético (para secuestrar metales pesados) se refina empleando NaBH_4 , NaHSO_4 , y NaOH , se transfiere al silo donde la pulpa es secada otra vez a 50 - 60% de sólidos totales. Posteriormente es impregnada con H_2O_2 seco y nuevo NaOH , NaHSO_4 y ácido dietilén tetraminopentacético para posteriormente almacenarlo en un silo. El consumo de energía de este proceso es bajo para la pulpa de madera de álamo y abeto. Los valores requeridos para la alicación del papel fueron buenos.

La cinética de oxidación del acetato de celulosa fue extensamente estudiado para la evaluación de parámetros termodinámicos, la formación constante de un complejo intermediario y establecer las condiciones óptimas para la determinación de celulosa contenida a través de la estequiometría estabilizada (50). Las constantes proporcionales de segundo orden obtenidas en el estudio fueron utilizadas para la correlación de los efectos de variación en la oxidación de celulosa con hexanitratocerato (IV) amónico ($[Ce(IV), [H^+], aNO_3^-]$) y adicionalmente de $[Ce(III)]$. El mecanismo de oxidación del acetato de celulosa involucra la formación de un complejo cíclico transitorio seguido por el paso determinante que es la desprotonación del mismo.

Un método para blanquear a la celulosa libre de cloruros, realizada por Reiche y Brauer (51), y que contiene 90% o más de α -celulosa es por medio de la adición de oxígeno el cual da un grado de blancura $\geq 75\%$. El método comprende el blanqueado con oxígeno desprotonando compuestos peróxidos en pH de 6-13 con una duración del blanqueado de 15-150 min dependiendo de la temperatura de blanqueado que oscila entre 35-15°C.

VI. DEGRADACIÓN FÍSICA DE LA CELULOSA.

Una nueva técnica para estudiar la transformación química inducida térmicamente en celulosa consiste en la aplicación de CO_2 por calentamiento láser, empleando un termómetro IR y espectrómetro de reflexión óptica para seguir la decoloración progresiva de la muestra fue estudiada por Jackson y Eugene et al. (52). Para ilustrar la técnica, se mide a partir de una sola pieza de la muestra de lino con cinco isoterms en el intervalo 200 a 290°. Se obtiene la expresión algebraica para la reflectividad de la muestra como función del área de concentraciones de los estados cromofóricos producidos a esa temperatura. Los resultados son explicados en términos de la proporcionalidad teórica química del primer orden y el modelo de un paso 4. A partir de las mediciones, las energías de activación, constante de Arrhenius y reflectividades de los estados cromofóricos.

La cinética de la descomposición térmica de la celulosa, hemicelulosa y bagazo de la caña de azúcar, en donde las consideraciones fundamentales se aplican para la evaluación de la cinética de los datos termogravimétricos, fue determinado Gabor y Antal et al, (53). A partir de un punto de vista teórico, una variedad infinita y compleja de reacciones formadas pueden ser consideradas para la pirólisis en biomasa. En la práctica, sin embargo, las curvas de descomposición termogravimétrica (DTG) observadas fueron simples y se pueden describir por modelos relativamente pequeños. En este caso fue aplicado el modelo de la reacción de cinética simple.

Descomposición térmica de Avicel (hidrocelulosa) puro. El modelo de reacción simple dio una reacción de orden 1.2 a temperaturas entre 10 y 80°C. Las desviaciones entre las curvas DTG (termogravimetría diferencial) fueron 0.9% y 1.5% respectivamente. El orden de reacción esta fuertemente relacionada con el grado de asimetría de las curvas de DTG, un valor de $n = 1.2$ (orden de reacción) indica que la parte descendiente de la curva DTG es menos pronunciada que una reacción de primer orden puro. A 10°C/min los parámetros cinéticos son $A = 3.9 \times 10^{17} \text{ s}^{-1}$ y $E = 234 \text{ kJ/mol}$. El valor de la energía de activación es adecuado para este tipo de reacción. El factor pre-exponencial es más alto de una reacción unimolecular. No obstante la suposición de una secuencia de reacciones que tenga un paso determinante indicaría que la velocidad de reacción total es aproximadamente el producto de estos factores por el paso determinante de la reacción. A temperatura alta (80°C/min) E y A bajan un poco (Tabla-21). El decremento es debido a problemas de calor. Las energías de activación son cercanos a los valores informados por otros estudios anteriores. No obstante, describen el paso determinante de la reacción. Así por ejemplo Antal informó el valor 242 kJ/mol para el paso de la reacción de la celulosa \rightarrow celulosa "activa". Broido (54) informa el valor de $229 \pm 8 \text{ kJ/mol}$ a la energía de activación de el proceso de despolimerización.

TABLA-21. Evaluación térmica de los experimentos de Avicel

Experimento	modelo	primer pico			segundo pico			dev. %
		E, kJ/mol	log A	c, %	E, kJ/mol	log A	c, %	
Estandar	simple	---	---	---	234	17.6	93	1.9
80°C/min	simple	---	---	---	205	15.1	94	2.1
precalentado	simple	---	---	---	222	16.8	91	2.1
+NaCl	competitivo	75	3.5	75	240	17.7	76	0.9
+NaCl	independiente	87	5.1	25	224	16.5	51	0.8
+NaCl	sucesivas	101	6.5	43	198	14.4	52	1.1
+FeSO ₄	sucesivas	209	17.3	44	na	na	39	2.4
+ZnCl ₂	independiente	125	9.6	23	164	10.4	41	1.1
+ZnCl ₂	sucesivas	127	9.7	39	145	10.4	37	1.1

Avicel precalentado. Un precalentamiento de 1 h a 260°C antes del calentamiento a 10°C/min, no cambió significativamente la cinética de descomposición obteniéndose un valor de $n = 1.21$ mientras que el modelo de primer orden a $A = 6 \times 10^{16} \text{ s}^{-1}$ y $E = 222 \text{ kJ/mol}$ con un ajuste a la curva aceptable.

Avicel + NaCl. El cloruro de sodio catalizó la descomposición y se ajusta muy bien a los modelos de reacciones paralelas, independientes y de competencia que se lleva a cabo. Las desviaciones entre las curvas calculadas y observadas fueron entre 0.8 y 1.1%. Las curvas DTG muestra que la mayor parte de la celulosa se descompone a las temperaturas dadas de una muestra sin tratamiento mientras que una parte pequeña de la celulosa se descompone a temperaturas bajas (10°C). Esta observación se refleja en los parámetros de la cinética empleando los modelos de reacciones paralelas e independientes. En estos casos los parámetros cinéticos en la segunda banda de la curva corresponde a la muestra sin tratar (Tabla-21); la explicación más simple es después que parte de la muestra se descompone vía un camino de energía de activación baja por efecto del catalizador obteniéndose el resto sin cambio. El modelo de reacciones competitivas corresponde a la muestra tiene alguna probabilidad de descomponerse a través de una ruta catalizada. El modelo de las reacciones paralelas independientes describe la situación donde solamente algunas partes de la muestra tienen contacto con el catalizador que lo descompone a través de un camino de baja energía de activación. La relación de la pérdida de peso debida a las rutas catalizadas y no catalizadas es de 1:2. Debido a que los modelos de las reacciones competitivas y paralelas independientes requieren experimentos con extremas diferencias de calentamiento. La Figura-37 muestra el ajuste y las reacciones parciales en el caso del modelo de reacciones competitivas.

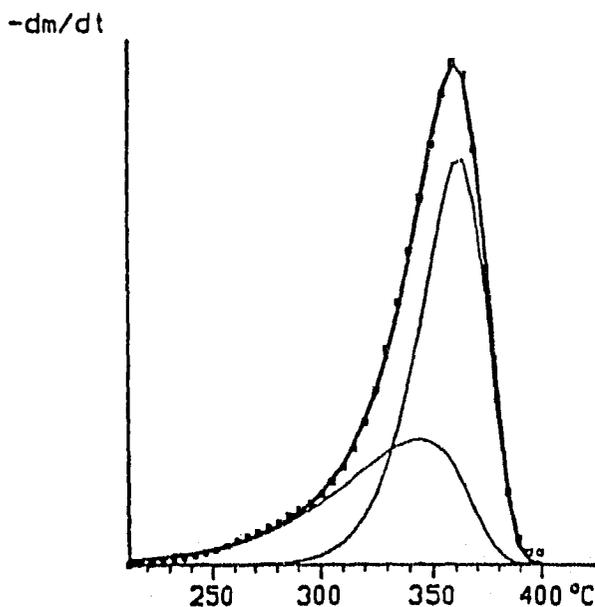


FIGURA-37. Evaluación de Avicel + NaCl por el modelo de reacciones competitivas.

Avicel + FeSO₄. La adición aproximada de FeSO₄ al 1% molar a la celulosa cambia considerablemente la curva DTG a temperaturas bajas. La banda principal es seguida por una banda pequeña, la parte plana de la curva puede ser debida a un paso de descomposición lenta (carbonización) de el residuo. Esta interpretación corresponde al modelo de reacciones consecutivas (Figura-38). Los parámetros cinéticos de la banda principal se enlistan en la Tabla-21. Los valores obtenidos de los parámetros la segunda banda fueron extremadamente bajos (0.6 s^{-1} y 23 kJ/mol respectivamente) indicando que la parte final plana de la curva DTG sólo puede ser descrita por una sola reacción. Los parámetros cinéticos de la banda principal fueron cercanos a los valores dados para el modelo de reacciones sucesivas.

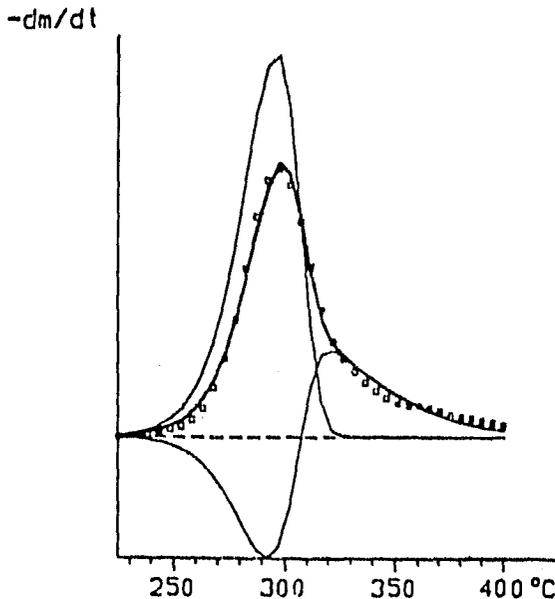


FIGURA-38. Evaluación de Avicel + FeSO_4 por el método de reacciones sucesivas.

Avicel + ZnCl_2 . Este experimento es igualmente satisfactorio descrito por los modelos de reacciones sucesivas y paralelas independientes (Figura-39). Ambos modelos tienen los mismos parámetros cinéticos (Tabla-21). Los parámetros cinéticos fueron más bajos que en el caso de Avicel puro, pero están dentro del intervalo de los valores de A y E químicamente significativos.

Los modelos de reacciones competitivas no dan un ajuste aceptable. Desde el punto de químico, sólo el modelo de reacciones parece cumplir con esto. Al notar que la presencia de ZnCl_2 cambió la segunda banda DTG (así como para la primera) a temperaturas ligeramente bajas (de 330 a 360°C). Por lo que se puede excluir la existencia de una fase no catalizada de la muestra. Es decir, se puede asumir, que el ZnCl_2 catalizó la reacción de deshidratación a la temperatura de la primera banda de DTG y el residuo sólido de esta reacción se descompone a la temperatura de la segunda banda DTG.

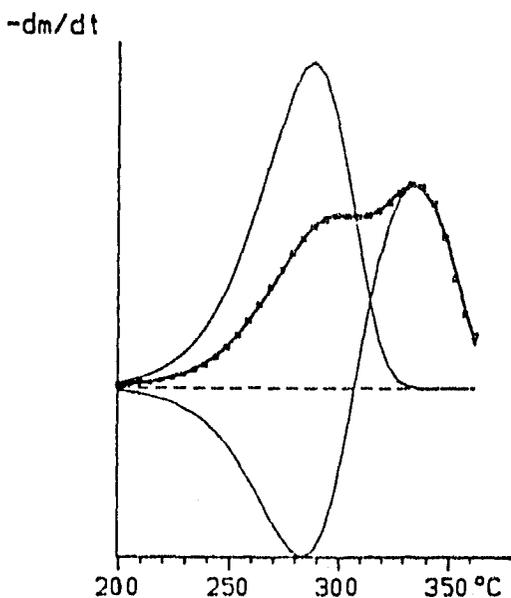


FIGURA-39. Evaluación de Avicel + $ZnCl_2$ por el modelo de reacciones sucesivas.

Descomposición térmica de 4-metil-D-glucorono-D-xilano. La muestra de xilano, exhibió una característica de doble banda (Figura-40). Los experimentos fueron llevados a cabo a una velocidad de calentamiento de 10 a 80°C/min. El modelo de reacciones sucesivas se ajusta bien con los datos experimentales teniendo un acuerdo entre los valores de A, E y c (cantidad relativa del componente) obtenidos en los experimentos de 10 a 80°C/min. En el caso del modelo de reacciones paralelas independientes el ajuste fue pésimo (aproximadamente 3%) y la diferencia entre los parámetros asociados con los experimentos de 10 y 80°C/min fueron mayores.

Cuando se aproximaron formalmente a la doble banda de la descomposición del xilano por una reacción de primer orden sencilla se obtuvo un mal ajuste (10% de desviación). En este caso la energía de activación (104 kJ/mol)

fue cercana a los valores reportados por aquellos investigadores que describieron la degradación de la hemicelulosa por una reacción de primer orden. Esto puede ser interesante para notar que la aproximación de la curva TG (termogravimétrica) del mismo experimento por una reacción de primer orden tuvo un ajuste de alrededor del 1.2%. Esta ligera desviación refleja el hecho que las descomposiciones tienen una doble banda característica y clara sobre el tipo diferencial de curvas termo analíticas diferenciales exhibiendo un pequeño "hombro" sobre la curva TG.

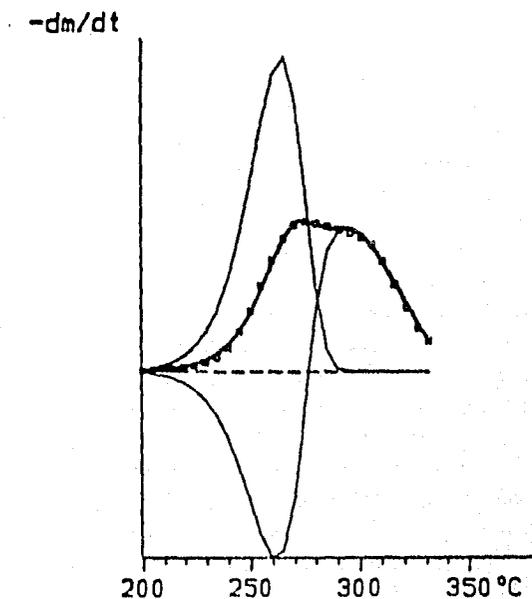


FIGURA-40. Descomposición térmica de 4-metil-D-glucorono-D-xilano.

Descomposición térmica del bagazo de caña de azúcar. El experimento con bagazo hace patente tres picos de la curva DTG entre 200 y 400°C de temperatura (Figura-41) de los cuales, los primeros dos picos fueron debidos a hemicelulosa y el tercer pico se debió a la celulosa. Teniendo en cuenta los resultados de los experimentos de xilano, no se puede excluir la posibilidad que una cadena de reacciones consecutivas presenten doble pico. Por lo que las evaluaciones cinéticas se llevaron a cabo con dos modelos diferentes: el modelo de reacciones paralelas independientes y un modelo combinado incluyendo en modelo de reacciones sucesivas para el primer pico. Los dos modelos tienen el mismo propósito y parámetros establecidos en ambas velocidades de calentamiento (10 y 80°C/min), por lo que no hay distinción entre ambos modelos. Se señala que los parámetros del pico de celulosa está de acuerdo con los parámetros de Avicel. Esto puede ser debido al factor que la parte mineral del bagazo, soluble en agua, fue removido en el proceso de fabricación del azúcar. Los parámetros del pico de hemicelulosa fueron cercanos a los parámetros del 4-metil-D-glucorono-D-xilano especialmente a velocidades de calentamiento bajos (10°C/min).

Con un pretratamiento de 1 h a 260°C se eliminó la mayoría de los componentes de la hemicelulosa quedando solamente una pequeña porción la cual da una señal indefinida en la curva DTG a la temperatura de trabajo. Los parámetros cinéticos obtenidos son parecidos a los de Avicel puro.

Efecto de la catálisis sobre la descomposición térmica del bagazo. La catálisis usada en este trabajo abrió una ruta de baja energía de activación para una fracción de la muestra. Como un resultado los picos de la curva DTG se hacen anchos y cubren desde la temperatura de descomposición no catalizada hasta la descomposición catalizada. Puesto que los picos DTG se traslapan con otros; aquí no es posible determinar las reacciones parciales. Por lo que el análisis cinético podría solamente describir la amplitud de los picos donde los valores de E y A son bajos (Figura-42 y 43). Esto es importante para hacer notar que el experimento catalizado con $ZnCl_2$ podría ser descrito solamente por la suposición de cuatro picos DTG (Figura-43). Un pico pequeño y aplanado a 190°C no fue identificado (con valores de los parámetros cinéticos $A=10\text{gs}^{-1}$, $E=97\text{kJ/mol}$ y $c=1.5\%$). La relación de estas áreas de los tres picos restantes a temperatura de 260°, 290° y 355°C indicaron que una cantidad considerable de hemicelulosa se descompone alrededor de 260°C; mientras que la descomposición de la celulosa sólo fue en pequeñas cantidades.

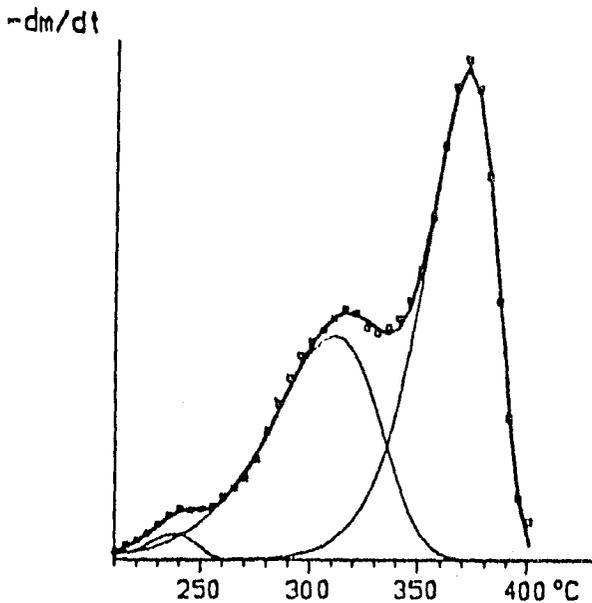


FIGURA-41. Descomposición térmica de bagaso no tratado.

Por otro lado, la irradiación preliminar de componentes de celulosa como celulosa hidratada (celofán), monocarboxicelulosa, carboximetil(CM)-celulosa, acetato-ftalato de celulosa y el copolímero poliacrílico-etileno tuvo una influencia significativa sobre la velocidad de hinchamiento de los polímeros en agua y disolventes polares (55). La cantidad de irradiación efectuada dependió del tipo de polímero, contenido de grupos iónicos en el polímero, naturaleza del medio de hinchante, tiempo de irradiación, presencia o ausencia de un electrolito y la naturaleza del anión del electrolito. El fuerte hinchamiento en el polímero causado por la irradiación en el estado inicial del proceso de hinchamiento está asociado a las interacciones intermoleculares débiles y los cambios en el orden de la molécula.

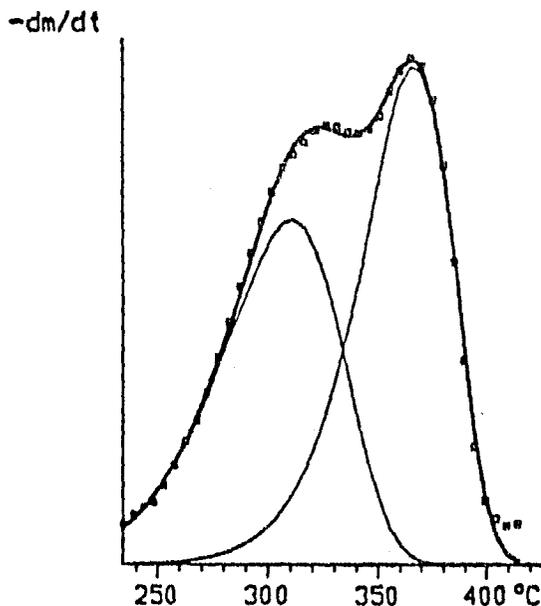


FIGURA-42. Descomposición térmica de bagaso tratado con FeSO_4 .

Las diferencias observadas en los cambios de rigidez sobre la cristalinidad entre las maderas duras y blandas y la predicción de cambios en el grado de cristalinidad en un periodo largo de tiempo es aprovechado para predecir las propiedades elásticas de la madera en instrumentos musicales, estructuras, etc. En apariencia hay diferencias en las constantes de proporcionalidad de cristalinidad para maderas duras y suaves y las regiones cristalinas son más estables en las maderas duras que en las maderas suaves. Se pueden predecir cambios en el grado de cristalinidad de celulosa en la madera con tratamientos calientes por la ecuación de Arrhenius, la cual es aplicable para este caso porque no presenta fase de transición observada en cristales de celulosa en el intervalo temperatura de 20 a 150°C (56).

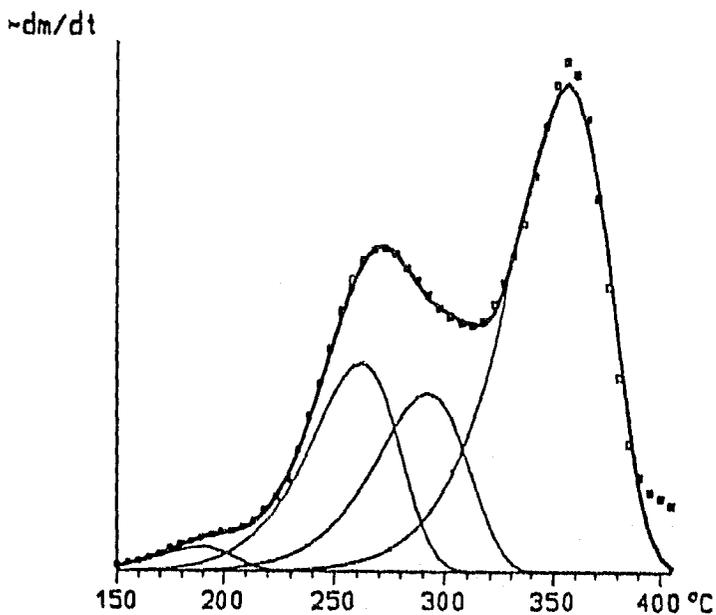


FIGURA-43. Descomposición térmica de bagaso tratado con $ZnCl_2$.

Se sabe que la estructura fina, por ejemplo, cristalinidad, tamaño de cristal y orientación, grado de polimerización y densidad afectan la cinética de la pirólisis de la celulosa (57).

El estudio realizado por Calahorra et al. (57) tiene la intención de examinar la cristalinidad térmica de fracciones de diferentes pesos moleculares obtenidos de la pulpa de celulosa, estudiando sus termogramas obtenidos por medio de un analizador termogravimétrico y calculando varios parámetros térmicos, tomando en cuenta la influencia de la cristalinidad de las muestras.

Las curvas termogravimétricas dinámicas para las fracciones (1.2%w/v en cadoxen) F1 a F5 (Tabla-22) de la pulpa de celulosa fueron similares a los reportados en la literatura como la muestra la Figura-44 para la muestra de la fracción F-1. Una pequeña pérdida de peso, la cual ocurre a temperaturas menores de 100°C, constituyendo aproximadamente 5-8% del total de peso perdido fue atribuido a la evaporación de la humedad retenida en la celulosa. Esta pérdida de peso inicial es seguida por una meseta antes de una pérdida de peso mayor, mostrando un periodo aleatorio después del cual la velocidad de la pérdida de peso es casi constante. Por último, la pérdida de peso es muy lento al aproximarse al peso constante. Para las fracciones F-6 y F-7, se tuvo lugar un tercer evento en donde la velocidad de pérdida de peso no es constante (Figura-44).

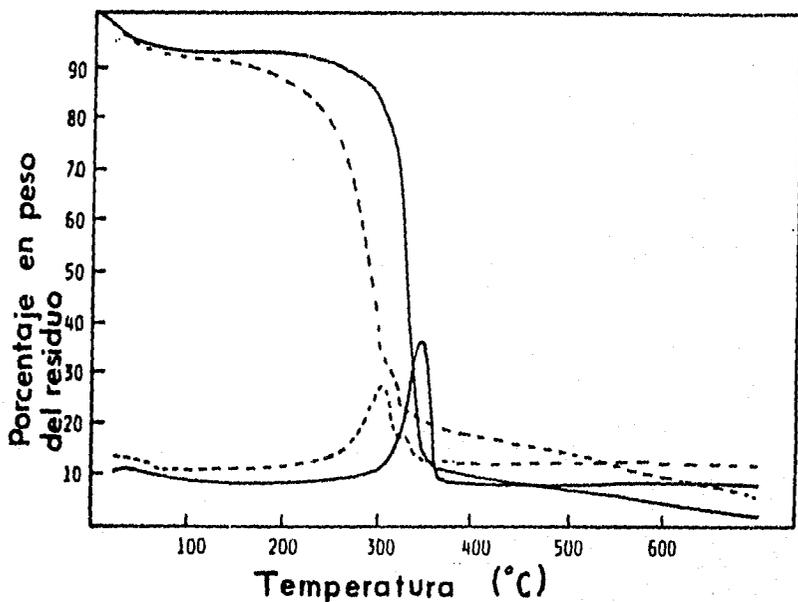


FIGURA-44. Curva termogravimétrica de fracciones de celulosa con Mn=201,000 (—) y Mn=66,000 (---), en nitrógeno.

En la Tabla-22 se puede observar que T_1 (temperatura inicial de descomposición) disminuye mientras en peso molecular decrece. Para la fracción F-7, no se determinó T_1 por la falta de una verdadera meseta horizontal para esta fracción.

El peso residual de cada fracción a 700°C y el índice de cristalinidad también se muestra en la Tabla-22. para la fracción F-7 no se determinó el índice cristalino porque la cantidad de la muestra fue pequeña para lograr esta medición.

De acuerdo a los valores T_1 y T_{max} (temperatura máxima de descomposición) al bajar el peso molecular la degradación de las especies son más rápidas. Es decir, mientras el peso molecular decrece, el índice cristalino también disminuye, excepto para la fracción F-3, el cual mostró un valor anormalmente bajo.

El hecho de que los valores de la energía de activación, para la primera etapa, no cambia mucho con el peso molecular indica que el número de terminales libres de las cadenas no tienen un efecto apreciable sobre la descomposición térmica. Este hecho está de acuerdo con la proposición generalmente aceptada en la primera etapa que involucra deshidratación parcial debido al cruce de eslabones térmicos y simultáneamente abre la cadena al azar en las regiones menos ordenadas (LOR). Esto se puede entender tomando en cuenta que un peso molecular implica un gran porcentaje de LOR como es confirmado por los datos de Rayos-X.

TABLA-22. Peso molecular, temperatura de iniciación, DTG máxima, índice cristalino y rendimiento de cenizas de las fracciones purificadas de pulpa de celulosa.

Fracción	$M_n \times 10^3$	T_1 (°C)	T_{max} (°C)	Índice cristalino Rayos-X	Cenizas a 973K (% w)
F-1	201	210	340	39	2.5
F-2	173	190	335	37	3.0
F-3	157	185	335	21	5.0
F-4	146	175	335	26	2.8
F-5	123	165	330	23	2.0
F-6	103	150	300	15	6.2
F-7	66	---	297/317	--	5.3

La energía de activación para la segunda etapa tomaron valores diferentes, para las diferentes fracciones. Este comportamiento no puede ser relacionado directamente con el peso molecular, como una cadena al azar tomado lugar previamente. Variós autores sugieren que en esta segunda etapa relacionan el tamaño y estructura de los cristales pudiendo afectar los valores obtenidos.

CAPITULO VI

BIODEGRADACIÓN DE LA CELULOSA Y SUS DERIVADOS

La biodegradación de la celulosa principalmente involucra una despolimerización hidrolítica de materiales celulósicos hasta compuestos de bajo peso molecular, produciendo finalmente unidades de glucosa monomérica por catálisis de los sistemas enzima celulasa de los organismos vivos. El mayor deterioro de la celulosa en la madera y materiales compuestos de lignocelulosa son causados por microorganismos. El hongo procesa al substrato lignocelulósico complejo con su propio mecanismo biocatalítico o bioquímico. Por lo que, es importante proteger este importante recurso natural de materiales lignocelulósicos contra el ataque de hongos o llevar la bioconversión a sustancias útiles, aprendiendo las interacciones bioquímicas en un nivel molecular entre substratos lignocelulósicos y su biocatálisis.

I. ASPECTOS BIOLÓGICOS DE HONGOS CELULOLÍTICOS

A. Características generales del decaimiento de la madera.

La madera es la fuente natural más abundante de la celulosa, la cual es actualmente un importante substrato para hongos de la clase *Basidiomicete*. En esta estructura las microfibras de celulosa son orientadas de manera diferente, dependiendo de las envolturas primaria y secundaria de la pared celular (Figura-45).

En general, el decaimiento de la madera es convenientemente clasificada en tres tipos: putrefacción-café, putrefacción-blanca, y putrefacción-blanda. Estos tipos son distinguidos por el color y apariencia morfológica de la madera decaída.

Las tres diferencias morfológicas de los ejemplos de maderas destruidas por esos hongos son resumidos como sigue. En el paso inicial la destrucción de la madera, el hongo introduce principalmente un nutriente rico en el tejido vegetativo, de aquí desarrolla sus micelios hacia otros tejidos, incluyendo el xilema de la pared celular.

Entonces el hongo de putrefacción-blanca excreta enzimas en las áreas del lumen y descompone la pared celular, empezando con la capa S₃, procesando las capas S₂ y S₁. La pared celular atacada por el hongo de putrefacción-blanca se adelgaza gradualmente. Los hongos de putrefacción-café son propensos a degradar exclusivamente la capa S₂ de la pared celular, y produce una degradación difusible con agentes que penetran hacia las partes internas. Por lo que, en la etapa final de la destrucción de la madera, la capa S₁ es completamente destruida, pero la capa S₃ permanece sin serios daños. El hongo de putrefacción-blanda desarrolla sus micelios a lo largo de las microfibras de celulosa en la capa S₂, dejando una serie

de cavidades únicas, como resultado de la solubilización de las microfibras de celulosa.

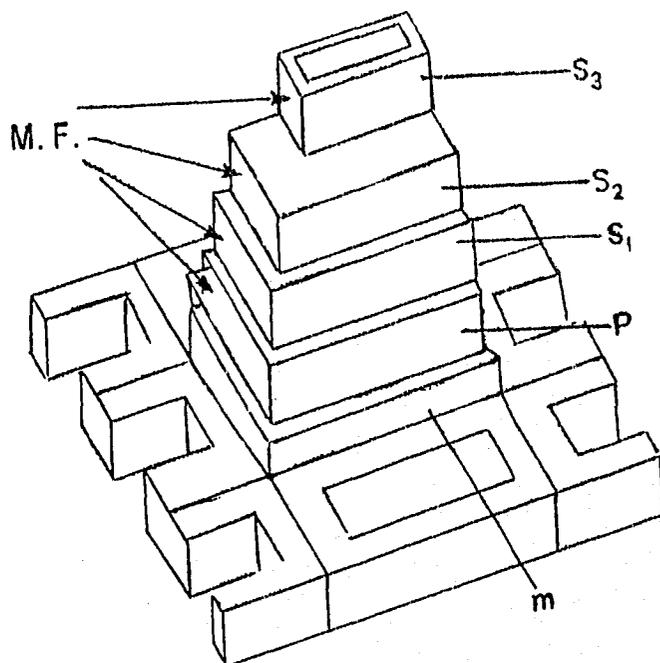


FIGURA-45. Modelo estructural de la pared celular de la madera: m, P, pared primaria; S1, capa exterior de la pared secundaria; S2, capa media de la pared secundaria; S3, capa interna de la pared secundaria; MF, microfibras.

En la práctica, estos ejemplos de maderas están relacionados íntimamente con factores ecológicos, taxonómicos y fisiológicos de los hongos y también con las propiedades fisicoquímicas de los materiales lignocelulósicos utilizados como alimentos suyo. Como muestra de la decadencia progresiva de la madera, los hongos de putrefacción-blanca atacan a lignina y polisacáridos (hemicelulosa y celulosa), mientras que los hongos de putrefacción-café degradan principalmente polisacáridos, descomponiendo moderadamente ligninas, mientras que las especies *Trichoderma*, conocidos como excelentes hongos celulolíticos, no pueden atacar eficientemente sustratos en base a madera por la coexistencia de lignina.

Los hongos que son realmente celulolíticos de putrefacción-blanda, incluyendo las especies de *Trichoderma*, pueden utilizar celulosa cristalina como única fuente de carbono. En contraste, hongos pseudo-celulolíticos (principalmente Ascomicetos y hongos imperfectos), tales como las especies *Aspergillus* de preferencia atacan sustratos de CMC (celulosa micro cristalina) soluble en agua y celulosa amorfa que a sustratos cristalinos.

La biodegradación de la madera también es influenciada por muchos parámetros fisiológicos, tales como condiciones nutritivas, ambiente aerobio y anaerobio, pH, humedad y temperatura.

B. Celulolisis por hongos.

Los hongos de putrefacción-café despolimerizan la celulosa mucho más rápido en los estados iniciales de la destrucción de la madera, mientras que los hongos de putrefacción-blanca despolimeriza con más lentitud en todo el proceso de la destrucción de la madera. La diferencias pueden explicarse en términos de la ausencia o diferencia en las funciones catalíticas de la celulasa o sistemas enzimáticos entre los dos tipos de hongos.

La mayoría de las putrefacciones-café no están capacitadas para desarrollarse sobre el papel filtro y polvo de celulosa cristalina, como única fuente de carbono, mientras que otros grupos de los mismos hongos pueden desarrollarse en estos como único sustrato de carbono. Sin embargo, la mayoría de estos hongos descomponen los sustratos de celulosa presentes en la madera. Este hallazgo sugiere que para tener actividad celulolítica los hongos de putrefacción-café necesitan lignina o hemicelulosa como cosustrato, esto último no ha sido aclarado.

C. Importancia del sistema de reciclamiento de nitrógeno.

Las primeras investigaciones biológicas fueron enfocadas hacia las diferencias entre una gran variedad de hongos celulolíticos, pero puso poca atención a los factores bioquímicos comunes en relación a los procesos metabólicos de los componentes de la madera, incluyendo sustratos de celulosa pura. Nutricionalmente, el único carácter distintivo del sustrato de la madera con contenido de nitrógeno extremadamente bajo (menos del 0.1%) comparada con otras biomásas naturales, motivó la investigación en factores comunes biológicos a lo descrito anteriormente en cuanto a los diferentes tipos de destrucción de la madera causada por hongos de putrefacción-café y putrefacción-blanca, pues el contenido de nitrógeno es un factor limitante para la población de células vivas en la madera en putrefacción.

La importancia del metabolismo de nitrógeno en la madera destruida muestra que la adición de nitrógeno nutriente acelera la destrucción. Investigando variaciones del peso micelar, contenido de nitrógeno en el micelio de los hongos de putrefacción-blanca *Polystictus versicolor* y sus actividades celulolíticas y la

diferencia en la relación C:N en el medio de cultivo durante el tiempo de incubación. El contenido de nitrógeno en el micelio y la actividad celulolítica decrece conforme disminuye el N contenido inicialmente en el medio de cultivo, esto es, con un incremento en la relación C:N. Sin embargo, es notable que la actividad celulolítica relativa basada en la unidad de N (porcentual) en altas relaciones C:N (160:1 - 2000:1) son cuatro o cinco veces mayor comparado con lo observado en las relaciones C:N (16:1 - 20:1). Esto indica que una proporción C:N alta en el micelio produce una cantidad relativamente grande de proteína celulasa por célula comparado con el micelio desarrollado en el medio de cultivo con baja proporción C:N, pues el contenido de N en el cultivo es un factor limitante que controla el número de células vivas en el hongo, particularmente bajo niveles de N bajo. De aquí se concluyen el hecho de que la producción de celulasa no se afecta indicando que el nitrógeno nutriente fue localizado adecuadamente en sustratos metabólicamente activos durante el uso de sustratos de madera con bajo contenido de nitrógeno.

Otros autores sugieren que la fuente de nitrógeno es re utilizada por autólisis de micelio fungico bajo condiciones limitadas de nitrógeno. No obstante, la correlación de la actividad celulolítica con la proporción C:N del medio de cultivo todavía no es reportada para los hongos de putrefacción-café y putrefacción-blanda con relaciones fisiológicas similares para este tipo de hongos.

Alternativamente, se puede comparar una nueva hipótesis en el que todas las maderas podridas pueden tener otro mecanismo intracelular para reciclar N de proteínas y aminoácidos durante la destrucción de la madera. La Figura-46 muestra un posible mecanismo importante de reciclado de N, por el cual el nitrógeno es reciclado por desaminación sucesiva de L-fenilalanina y transaminación de amoníaco produciendo otra vez ácido fenilpirúvico de fenilalanina. Puesto que la madera degradada por basidiomicetos, contiene L-fenilalanina amoniolasa (PAL) para introducir metabolitos secundarios y la transaminación catalizada por transaminasa es esencial para toda materia viva incluyendo madera podrida, se propone el mecanismo de reciclamiento de N. Posibles intervenciones del PAL y sistema de reciclado de N de estas maderas degradadas pueden ser reducidos a partir del factor que PAL juega una parte importante en los mecanismos secundarios de plantas altas, particularmente en biosíntesis de ligninas.

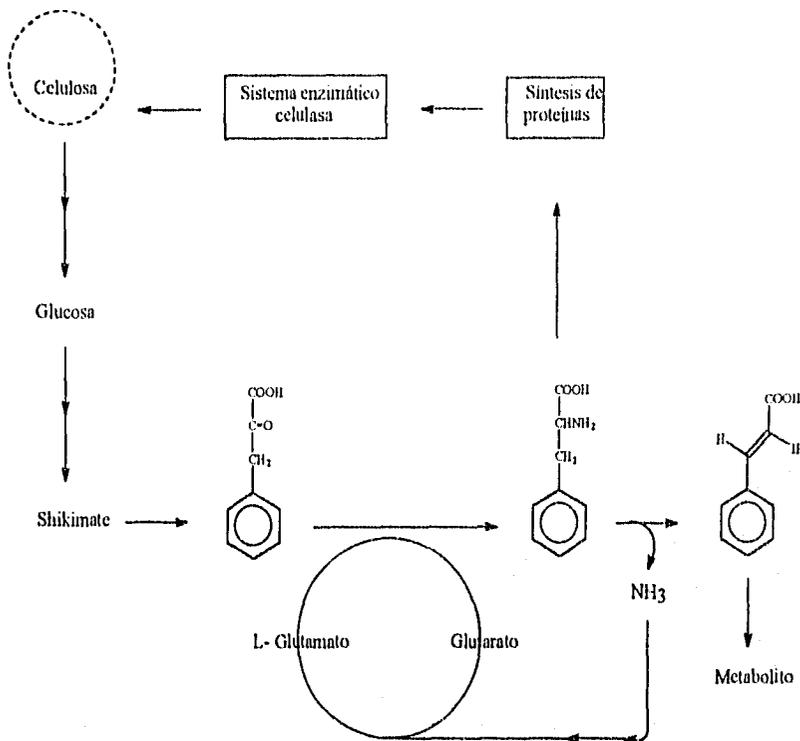


FIGURA-46. Una posible parte del sistema de reciclado de nitrógeno con L-fenilalanina y L-Glutamato secundario en la biodegradación de la celulosa en raíces de basidiomicetes.

El nitrógeno nutriente no disponible es un problema común para que los árboles crezcan y se de la destrucción de la madera por basidiomicetos. En la realidad ciertas plantas no se preocupan de obtener glucosa como fuente de carbono, pues ellos la sintetizan a partir de CO₂ y H₂O por medio de la fotosíntesis. Sin embargo, el nitrógeno nutriente disponible del suelo es un problema de competencia con otras plantas para su desarrollo, excepto para las leguminosas teniendo un rizoma simbiótico que puede transformar nitrógeno molecular inerte a una fuente de nitrógeno metabólicamente activo para sus huéspedes.

Es posible que el sistema de reciclado de N en el metabolismo secundario de L-fenilalanina participe durante la destrucción de la madera por hongos de

putrefacción-blanca, donde la lignina peroxidasa se involucra en la biosíntesis de alcohol veratrílico jugando una parte importante en cooperación con las hidrolasas de polisacáridos (celulosa y hemicelulosa) bajo condiciones pobres de N.

Consecuentemente, la degradación continua de celulosa permite que los filamentos de los hongos colecten el nitrógeno nutriente que esta en cantidades pequeñas en toda la madera. De este modo, dicho sistema de reciclado de N intracelular puede ser un importante dispositivo bioquímico "inventado" por el hongo para destruir la madera y para su supervivencia. Investigaciones bioquímicas sobre dicho metabolismo fundamenta que los aminoácidos durante la biodegradación de celulosa y lignina son importantes para explicar las semejanzas y diferencias de estos tipos de destrucción de la madera causada por una gran variedad de hongos celulolíticos y ligninocelulolíticos. Es decir, el sistema propuesto de reciclado de N produce metabolitos secundarios, es considerado para ser relacionada con la evolución bioquímica de destrucción de la madera por basidiomicetos.

II. ASPECTOS QUÍMICOS DE LOS SUBSTRATOS DE CELULOSA.

A. Generalidades

El orden para aclarar el mecanismo de descomposición fúngica de la celulosa en madera, es usar un modelo de sistema simple con celulosa pura (sustrato) y celulasas puras (enzimas). La precisión ambigua de las estructuras supramoleculares del sustrato de celulosa natural y enzimas puras hace difícil el comprender las interacciones entre la enzima y el sustrato a nivel molecular. De este modo, para comprender la degradación enzimática de la celulosa, puede ser entendiendo adecuadamente las características químicas y físicas de los sustratos de celulosa.

La celulosa es rápidamente comparada con el almidón en muchos aspectos. Esto ocurre comúnmente con hemicelulosa y lignina en madera como componentes estructurales; esta última está en forma natural y papas. Así las funciones biológicas de estos carbohidratos son diferentes aunque ambos producen solamente en común glucosa por una hidrólisis completa, las cuales normalmente ocurren en una mezcla de isómeros anoméricos α - y β -D-glucosa equilibrados por mutación en solución (Figura-47).

Es de gran importancia notar que la naturaleza utiliza solamente la forma isómera β -D-glucosa para sintetizar celulosa (β -1,4-glucono) y la forma isómera α -D-glucosa para sintetizar almidón (α -1,4-glucano). Por consiguiente, en la Figura-47, puede verse que la celulosa es una cadena polimérica bastante fuerte con un enlace β -1,4-D-glucosídico, en contraste a la estructura helicoidal de la celulosa no puede observarse a simple vista, se puede imaginar a partir de las unidades de celobiosa monotonamente repetidas.

En efecto, la celulosa no solo se presenta en una cadena libre en forma de hilo, sino como un paquete de fibras con una estructura supramolecular consistente en regiones cristalinas (altamente ordenadas) y amorfas (menos ordenadas) aún en la fibra de algodón puro. Además las regiones cristalinas consisten en varias láminas de cadenas de celulosa acomodadas por puentes de hidrógeno intra- e inter-moleculares. Fibras moleculares nativas (celulosa I) con un diámetro promedio de 3.5 nm, consisten en general en cadenas paralelas de celulosa con grupos terminales reductores en un extremo y grupos terminales no reductores en el lado opuesto, mientras que la celulosa del ramio se propone que consisten en cadenas antiparalelas. Sin embargo, para la celulosa II producida a partir de celulosa nativa se propone que consista en cadenas antiparalelas de polímeros.

Además, las especies de celulosa son conocidas por exhibir diferente polimorfismo, dependiendo de las formas de celulosa I, II, III, y IV. Las celulosas I y II son divididas en I_a y I_b; y III₁ y III₁₁ (ver característica de celulosa), respectivamente por las diferencias conformaciones observadas.

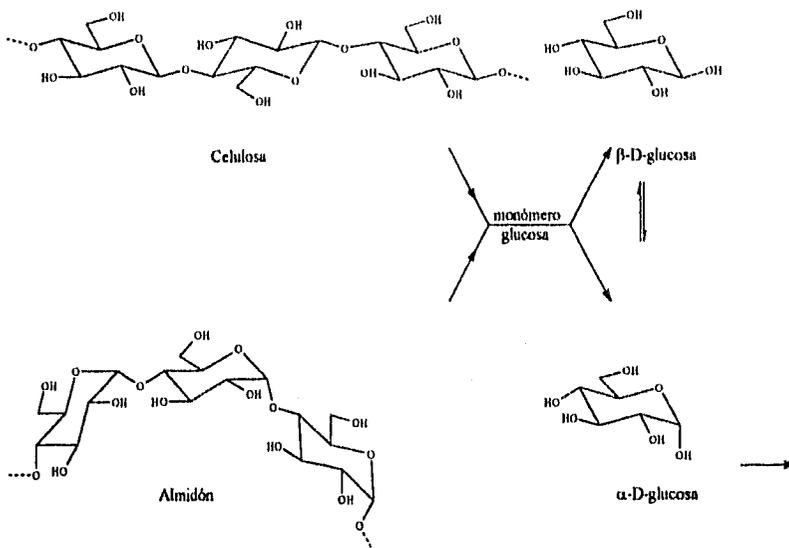


FIGURA-47. Celulosa y almidón con diferentes enlaces glucosídicos son hidrolizados finalmente rindiendo α -o β -D-glucosa, los cuales son mutarrotados para formar una mezcla de dos isómeros anoméricos.

Con propósito de establecer una adecuada estructura supramolecular de diferentes especies de celulosa nativa o modificada, las investigaciones en este campo, todavía se están desarrollando. Esto es importante para conocer que las actividades de la celulasa son afectadas igualmente por diferencias en la estereoquímica de la superficie de diferentes substratos de celulosa. El sinergismo (cooperativo) exhibe efectos por la sacarificación enzimática de la celulosa que son relacionadas con tales estereoquímicas en la cadena de celulosa.

Las acciones enzimáticas también son afectadas por diferentes pesos moleculares de los substratos de celulosa y otros factores fisicoquímicos. La Tabla-23 muestra el grado de polimerización (DP) de muestras de celulosa preparadas a partir de algodón, algas verdes, *Acetobacter xylinum*, pulpa de madera y rayón.

B. Substratos para la celulasa.

1. Hidrocelulosa.

La hidrocelulosa es una de las celulosas regenerada preparada por hidrólisis parcial de algodón u otra pulpa de alta calidad con ácido diluido. Esta celulosa regenerada tiene un DP bajo pero mayor cristalinidad que el material original. Comercialmente es llamado Avicel y es usado como substrato para microorganismos celulíticos o celulasa (exo-celulasa) para examinar la hidrólisis enzimática de celulosa cristalina.

TABLA-23. Grado de polimerización (DP) de especies de celulosas.

Fuente	DP
Algodón californiano	153,300
Valiona (alga verde)	18,000
<i>Acetobacter xilinum</i>	2,000-6,000
Sulfito de pulpa (abeto)	1,255
Sulfato de pulpa (abeto)	965
Pulpa química (haya)	715
Fibra de rayón viscosa	305

2. Carboximetilcelulosa

La carboximetilcelulosa (celulosa-O-CH₂COOH, CMC) es sintetizada por sustitución en hilo de algodón con ácido monocloroacético en presencia de hidróxido de sodio. Los grupos hidróxidos en C2, C3, y C6 de la glucosa residual son derivatizados a grupos -O-CH₂COOH. Normalmente las preparaciones de CMC tienen un grado de sustitución (DS) de 0.3 a 1.3. Teóricamente un DS de 1.0 indica que los tres grupos hidróxidos de la glucosa residual son sustituidos con el grupo carboximetil. Los productos comerciales con un DS de 0.45 a 0.65 (DP 250 a 500) que son solubles en agua, son utilizados como sustratos para celulasa (endo-celulasa o CMC-asa).

3. Celulosa hinchada en ácido fosfórico (Walseth)

Esta celulosa hinchada es preparada tratando la celulosa nativa con ácido fosfórico al 85% por 15 min a 20°C para reducir la cristalinidad por ruptura del puente de hidrógeno intermolecular. De esta manera el sustrato de la celulosa regenerada es más fácilmente hidrolizado por celulasa que la celulosa cristalina natural.

4. Pulpa y papel filtro

La pulpa (DP aproximado 1000) muchas veces no es usado como sustrato para celulasa, pero si es utilizado para producir microorganismos celolíticos en gran escala.

El papel filtro, sustrato para celulasa en experimentos es producido al purificar la pulpa de algodón o pulpa blanqueada químicamente por "cocimiento" con carbonato de sodio puro a 140°C a presiones altas.

TABLA-23. Grado de polimerización (DP) de especies de celulosas.

Fuente	DP
Algodón california	153,300
Valiona (alga verde)	18,000
<i>Acetobacter xilimum</i>	2,000-6,000
Sulfito de pulpa (abeto)	1,255
Sulfato de pulpa (abeto)	965
Pulpa química (haya)	715
Fibra de rayón viscosa	305

2. Carboximetilcelulosa

La carboximetilcelulosa (celulosa-O-CH₂COOH, CMC) es sintetizada por sustitución en hilo de algodón con ácido monocloroacético en presencia de hidróxido de sodio. Los grupos hidróxidos en C2, C3, y C6 de la glucosa residual son derivatizados a grupos -O-CH₂COOH. Normalmente las preparaciones de CMC tienen un grado de sustitución (DS) de 0.3 a 1.3. Teóricamente un DS de 1.0 indica que los tres grupos hidróxidos de la glucosa residual son sustituidos con el grupo carboximetil. Los productos comerciales con un DS de 0.45 a 0.65 (DP 250 a 500) que son solubles en agua, son utilizados como sustratos para celulasa (endo-celulasa o CMC-asa).

3. Celulosa hinchada en ácido fosfórico (Walseth)

Esta celulosa hinchada es preparada tratando la celulosa nativa con ácido fosfórico al 85% por 15 min a 20°C para reducir la cristalinidad por ruptura del puente de hidrógeno intermolecular. De esta manera el sustrato de la celulosa regenerada es más fácilmente hidrolizado por celulasa que la celulosa cristalina natural.

4. Pulpa y papel filtro

La pulpa (DP aproximado 1000) muchas veces no es usado como sustrato para celulasa, pero si es utilizado para producir microorganismos celulolíticos en gran escala.

El papel filtro, sustrato para celulasa en experimentos es producido al purificar la pelusa de algodón o pulpa blanqueada químicamente por "cocimiento" con carbonato de sodio puro a 140°C a presiones altas.

Después de formar la hoja de papel, el papel húmedo es liofilizado, secado con aire y además lavado con HV , HCl y agua, sucesivamente para remover las cenizas. Purificado así el papel filtro tiene un DP relativamente bajo (menor de 1000) y menos regiones cristalinas.

III. ENZIMAS INVOLUCRADAS.

A. Generalidades

Desde el descubrimiento de la actividad de la celulasa en extracto de caracol, las celulasas tienden a encontrarse en una gran variedad de organismos vivos, incluyendo plantas, microorganismos y animales como termitas (protozoarios), barrenos marinos, crustáceos plateados, caracoles, moluscos marinos y erizos de mar. El hongo celulolítico normalmente produce la enzima celulasa cuando están en contacto con materiales celulósicos o en presencia de soforosa (β -1,2-disacárido) en un medio de cultivo. El complejo enzimático es normalmente producido en un exceso de glucosa debido al catabolito reprimido.

Hoy los mecanismos de la hidrólisis enzimática de celulosa son explicados en términos de acciones secuenciales de tres diferentes tipos de enzimas, i.e., endo-celulasa, exo-celulasa y β -glucosidasa. Aparentemente la acción cooperativa "sinergismo" observado por re combinación de esas tres enzimas de la mezcla de reacción son explicados por el mecanismo endo-exo (C_x-C_1). Sin embargo el mecanismo isotéricos para las acciones sinergistas de la celulasa aún no son explicados. Así se aclara que el mecanismo enzimático para la degradación de complejos lignocelulósicos es un desafío para investigar. Mecanismos alternativos para la conversión enzimática de materiales de madera son cuestionados. Dependiendo de las especies de sustrato y la fuente de enzima usada. En esta sección se describe brevemente el modo catalítico de la celulasa purificada y la relación oxidativa de las enzimas involucradas en la biodegradación.

B. Endo-celulasa

1. Catálisis enzimática.

La endo-celulasa, con el nombre sistemático 1,4- β -D-glucano-4-glucanohidrolasa (EC 3.2.1.4), convenientemente llamado enzima " C_x ", cataliza la hidrólisis de enlaces β -1,4-glucosídico en las regiones amorfas internas de una cadena de celulosa, de una manera informal. Por la gran especificidad del sustrato o el único modo de actuar catalíticamente la celulasa tipo endo tiende a ser llamada "CMC-asa", endo-celulasa, endo-gluconasa, endo-1,4- β -gluconasa, o 1,4- β -glucano-endo-glucanohidrolasa.

2. Métodos de ensayo.

En la mayoría de los casos, las actividades de las endo-celulasas son estudiadas con CMC soluble en agua o con celulosa hinchada en ácido fosfórico. En este método general los sustratos de celulosa son estudiados por: (1) medición de las cantidades de azúcares reductores obtenidos de CMC y otras celulosas, (2) medición de la disminución en la viscosidad del sustrato de CMC, (3) la

velocidad de descomposición completa de dos piezas de papel filtro de 1cm² de tamaño, (4) la disminución en la turbidez de la mezcla de reacción de celulosa micro cristalina en polvo durante la hidrólisis enzimática, (5) determinación espectrofotométrica del producto obtenido del sustrato p-nitrofenilcelobiosido.

3. Multiplicidad y purificación.

Es de gran importancia establecer la homogeneidad de cada una de las proteínas de celulasa en orden para caracterizar la función catalítica y propiedades del sistema de celulasa.

La multiplicidad de las celulasas por la celulasa del hongo de putrefacción-blanca *Polyporus versicolor*. Junto con desarrollo de la enzima, técnicas de purificación, número de complejos de celulasa multiplicada son afortunadamente resueltos en diferentes proteínas simples de enzimas. Ejemplos de enzimas aisladas y purificadas de origen de diferentes microorganismos son mostrados en la Tabla-24. El peso molecular varía desde 11,000 a 94,000 pero el peso molecular promedio es alrededor de 25,000. Es razonable ver que la endo-celulasa es de un tamaño relativamente pequeño, porque estas enzimas pueden acceder a las partes internas de la molécula de celulosa. Sin embargo, se debe tener conciencia de que el pequeño peso molecular de las enzimas pueden producirse por una proteólisis de la original proteína enzimática de alto peso molecular. El último criterio para homogeneizar la proteína simple de la celulasa es determinar la secuencia proteica de la enzima.

4. Especificidad de sustratos.

La CMC soluble en agua, celulosa amorfa y celo-oligosacáridos son más utilizados como sustrato, mientras que la celulosa cristalina, Avicel, fibras de algodón, y celobiosa no son sustratos efectivos. Las preparaciones de endo-celulasa y Avicel-asas utilizan p-nitrofenilglucósido. Estas endo-celulasas muestran diferentes solubilidades de Avicel. La endo-celulasa muestra una mayor disminución en la viscosidad comparado con el incremento en la producción de azúcares reductores.

Similarmente, la celulasa de tipo endo purificada con la actividad de la Avicelasa fue descrita por Ogawa et al. (58), como celulasa-Onozuka como fuente enzimática. La hidrólisis enzimática se incrementa en relación con la longitud de la cadena del sustrato. Sin embargo, éstas no actúan sobre la celobiosa, la cual es un sustrato de la β -glucosidasa.

Así la homogeneidad y pureza de cada componente del complejo de la celulasa es un criterio importante para determinar la especificidad del sustrato de celulasa individuales y explicar los mecanismos moleculares de la catálisis enzimática durante la celulosis.

5. Transglucosidación.

La transglucosidación fue observada durante la hidrólisis enzimática de celo-oligómeros en una concentración alta de sustrato (2%); produciendo celotriosa y celotetraosa a partir de celobiosa y celotriosa, respectivamente.

TABLA-24. Hongos celulóticos y pesos moleculares de endo-gluconasas.

Fuente enzimática	Peso molecular
<i>Polyporus versicolor</i>	11,400
<i>Phaeolus schweinitzii</i>	45,000
(<i>Polyporus schweinitzii</i>)	
<i>Sporotrichum pulverulentum</i>	28,300; 37,500
(<i>Phanerochaete chrysosporium</i>)	
<i>Sporocytophaga mixococcoides</i>	46,000; 52,000
<i>Trichoderma viride</i>	12,500; 50,000
<i>Irpex lacteus</i>	57,000
<i>Chaetomium thermophile</i>	41,000; 67,000
<i>Trichoderma viride</i>	37,000; 49,500; 52,000
<i>Trichoderma koningii</i>	13,000; 31,000; 48,000; 48,000
<i>Tyromyces palustris</i>	16,000; 39,500

6. Condensación.

Cada componente de la celulasa de *Trichoderma viride* cataliza la condensación (síntesis) de celotriosa a partir de una concentración alta p-nitrofenilcelobiósido o de una celobiosa a partir de celotetraosa.

7. Configuración del producto de hidrólisis.

Una característica importante de la catálisis de la endo-celulasa es el azúcar reductor como producto anoméricos con retención o inversión de la β -configuración original. Los componentes de celulasa del hongo *T. viride* obtienen un producto a partir de oligo- β -sacáridos con retención de β -configuración. Esto propone que el producto de la hidrólisis inicial es un β -sacárido con retención de la β -configuración original. El producto primario es rápidamente muta-rotado a α -sacárido por adición de NH_4OH . Sin embargo el producto inicial formado a partir de la celatetraosa con celulasa bacteriana se establece como α -celobiosa con inversión de β -configuración de carbono anomérico.

8. Glicoproteína.

La mayoría de las endo-gluconasas son glicoproteínas con carbohidratos consistiendo en glucosa, manosa y galactosa dependiendo de las fuentes enzimáticas.

C. Exo-celulasa.

1. Catálisis

La exo-celulasa, con un nombre científico 1,4- β -D-glucosa-celobioludrolasa (EC 3.2.1.91), cataliza la hidrólisis final de los enlaces β -1,4-glucosídico, dividiendo el producto desde el extremo no reductor de la cadena de celulosa cristalina hasta celobiosa. Así la celulasa tipo exo alternativamente es llamada

"enzima-C₁", exo-1,4- β -glucanasa, exo-celulasa, Avicelasa, 1,4- β -celobiohidrolasa, o 1,4- β -celobiosilglucanasa. La celobiosa como producto inhibe fuertemente a la exo-celulasa. La inhibición es para prevenir la sobreproducción de estos disacáridos.

2. Especificidad del sustrato.

Las exo-celulasas difieren grandemente de las endo-celulasas en la especificidad del sustrato. Las anteriores son normalmente capaces de solubilizar la celulosa cristalina (Avicel); CMC y celobiosa no son utilizados como sustrato. Sin embargo, los celo-oligosacáridos son hidrolizados por ambas enzimas, endo y exo, en proporciones que aumentarían con el grado de polimerización. Como el Avicel es usado como sustrato, la exo-celulasa es sinónimo de Avicelasa. Una característica importante de la exo-celulasa es la acción sinérgica en cooperación con otras dos enzimas hidrolíticas.

3. Configuración del producto.

Otra característica que exhibe la exo-celulasa es la retención o inversión de la configuración original de los sustratos de la hidrólisis enzimática. Interesantemente dos tipos de exo-celulasas fueron aisladas de *Trichoderma viride*, una exo-enzima mostró retención de la β -configuración en el producto celobiosa, mientras que la otra mostró inversión obteniéndose un producto α -anomérico.

4. Glicoproteínas.

Las exo-celulasas también son glicoproteínas conteniendo del 5 al 50% de carbohidratos, dependiendo de la fuente enzimática.

D. β -glucosidasa.

La β -glucosidasa [β -D-glucosilglucohidrolasa (EC.3.2.1.21.)] se encuentra en muchas plantas y microorganismos. La purificación y caracterización de las β -glucosidasas son investigadas en relación con el sinergismo de endo- y exo-celulasas.

La enzima es alternativamente llamada celobiasa, gentiobiasa y amigdalasa, dependiendo de la especificidad del sustrato. Estas glucohidrolasa catalizan la hidrólisis de los enlaces β -glucosídicos de celobiosa, gentiobiosa y amigdalina respectivamente, produciendo D-glucosa y aglucona. La actividad enzimática es ensayada por medición de la glucosa o p-nitrofenil con sustratos de p-nitrofenil- β -glucosido y del celobiosido. La glucosa producida a partir de estos sustratos también es estudiada por oxidación con glucosa oxidasa. El producto de la oxidación, gluconolactona, es un potente inhibidor de la β -glucosidasa.

La enzima tiene alta especificidad para gluconas pero baja para agluconas. La enzima de la *Trichoderma viride* cataliza la hidrólisis de β -1,2-, 1,3-, 1,4-, y 1,6-disacáridos de glucosa. Este sustrato polimérico es utilizado por endo- y exo-celulasa pero no por β -glucosidasa. Los celo-oligosacáridos son usados como sustratos de la β -glucosidasa.

Además, para la hidrólisis de celo-oligosacáridos, la β -glucosidasa toma un papel importante en el sistema celulasa, para alejar la celobiosa, que inhibe a las exo- y endo-celulasas.

E. Sinergismo del sistema celulasa.

1. C₁-C_x, hipótesis y sinergismo.

Los sustratos nativos de celulosa cristalina no son hidrolizados tan rápidamente por la celulasa como la celulosa amorfa o los derivados de celulosa. En realidad, los hongos celulolíticos tienden a tener un factor específico afectando la estructura supramolecular de la celulosa cristalina. A partir de la interpretación mecánica del sinergismo, se auxilia para descifrar la acción cooperativa isotérica de la celulasa.

En principio la hipótesis de que la celulosa cristalina puede ser primero activada para liberar la estructura cristalina altamente ordenada por el factor enzimático o no enzimático (C_1 o factor de hinchamiento) y este a su vez libera o activa las regiones cristalinas de la celulosa pudiendo ser hidrolizadas casualmente por celulasas- C_x produciendo oligosacáridos y glucosa. La hipótesis C_1 - C_x aparentemente lógica, fue tan atrayente para explicar el mecanismo complejo de la celulosis sinergista que varios autores realizaron muchos esfuerzos para identificar el factor C_1 .

En efecto, cada componente de la celulosa purificada no es capaz de solubilizar celulosa cristalina, mientras que las combinaciones de exo-celulasa con endo-celulasa o con β -glucosidasa fueron examinados para mejorar la hidrólisis de los substratos de celulosa cristalina. Eliminando la celobiasa β -glucosidasa a partir del sistema de reacción se libera la exo-celulasa por la inhibición del producto celobiosa.

El sinergismo comúnmente observado en la hidrólisis enzimática de la celulosa cristalina ahora se explica por las secuencia de las acciones cooperativas de las tres diferentes hidrolasas, como se muestran en la Figura-49. Wood (59) propuso la teoría " C_x - C_1 " para explicar el mecanismo de la hidrólisis enzimática de la celulosa, por lo cual la enzima C_x o endo-celulasa, primero ataca casualmente las regiones amorfas de la celulosa cristalina y su enzima C_1 (exo-celulasa) finalmente divide a las unidades de celobiosa desde la orilla nuevamente formada en las cadenas de celulosa cristalina (Figura-49).

El sinergismo cruzado entre celulasas aisladas a partir de diferentes fuentes, también es interesante para aclarar el mecanismo de la formación del complejo enzima-sustrato. La exo-celulasa y endo-celulasa de hongos celulolíticos como *Trichoderma koningii*, *Furarium solani* y *Penicillium funiculosum* pueden ser intercambiada y aún así ordenada. De esta manera, la combinación de exo-celulasa de este hongo y la endo-celulasa de *Myrothecium verrucaria* muestra un ligero incremento en la actividad de la celulasa. La cooperación aparente fue observada, sin embargo, cuando la endo-celulasa de *Aspergillus fumigatus* y de la bacteria anaeróbica *Ruminococcus albus* mezclada con exo-gluconasa de *T. koningii*.

Diferentes tipos de sinergismo son: 1) endo-celulasa + exo-celulasa; 2) endo-celulasa + exo-celulasa + β -glucosidasa; 3) exo-celulasa + exo-celulasa; 4) celulasa "azar" + celulasa "escogida"; 5) sinergismo cruzado entre aquellas enzimas de diferentes fuentes.

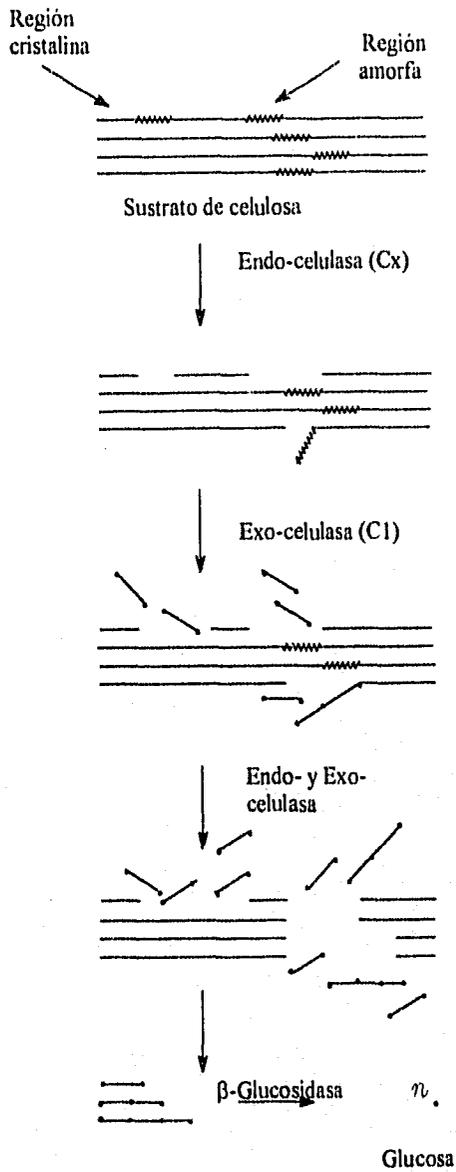


FIGURA-49. Mecanismo de la hidrólisis de celulosa por el sistema sistemático celulasa.

2. Otra interpretación del sinergismo.

Para entender el mecanismo sinergista del complejo de celulasa, Wood (59) explica la presencia o ausencia del sinergismo en términos de factores isotéricos del sustrato de celulosa, la cual es primero dividida por la endo-glucanasa y después por la exo-celulasa, como lo muestra la Figura-50.

Diagrama esquemático de la cadena β -1,4-glucano

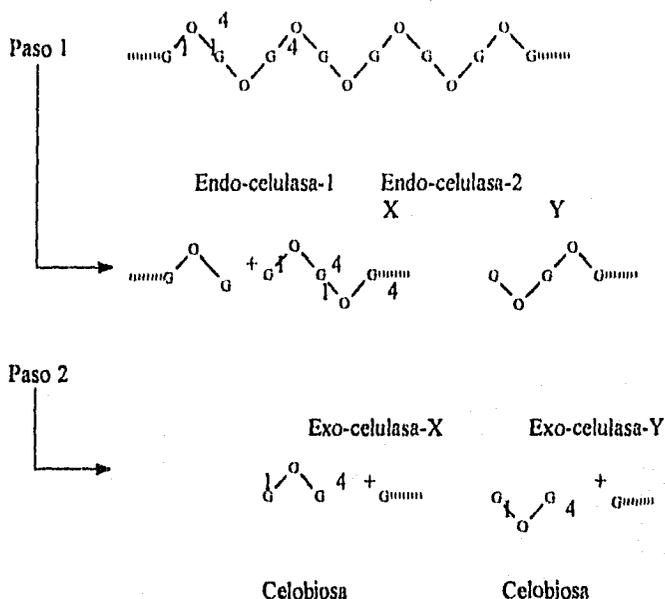


FIGURA-50. Diagrama que muestra los diferentes sitios en donde hay ataque glucosídico por las celulasas con diferente estereo-especificidad. X y Y son terminales no reductores formados por dos diferentes endo-celulasas 1 y 2 respectivamente.

Otra posible explicación del sinergismo es la interacción enzima-enzima. Donde la exo-celulasa está ausente, hay una posibilidad grande para que el enlace glucosídico entre dos glucosas residuales sea el límite a través del puente de hidrógeno, el cual además resiste la hidrólisis enzimática. Sin embargo, la acción

secuencial rápida por el complejo enzimático endo- y exo-celulasa puede prevenir la reformación de una estructura cristalina.

La acción sinérgica de la actividad celulolítica es compleja, en la cual la estereoespecificidad de las endo- y exo-celulasas parece ser un factor importante en la explicación. Sin embargo, es importante notar que la estructura cristalina rígida de la celulosa es determinante en el sistema celulasa cuya especificidad es controlada por diferentes fuentes de carbono de la celulosa cristalina I, II, IV y otros materiales celulósicos. No obstante el mecanismo endo-exo (C_x-C_1) es una teoría para explicar el sinérgismo de la teoría celulasa de importancia para reexaminar si el mecanismo endo-exo explica universalmente la mayoría de las catálisis cooperativas de la celulasa que ocurren en la naturaleza.

F. Enzimas oxidativas y sistemas involucrados

Aunque la mayor parte de la biodegradación de la celulosa es por procesos hidrolíticos, también son importantes en conexión con la biodegradación de las ligninas por hongos de putrefacción-blanca o la destrucción de la madera causada por hongo de putrefacción-café carente de exo-gluconasa. Actualmente las tres siguientes oxidasas son estudiadas: 1) celobiosa quinona oxi-reductasa, aislada de una fracción extra celular en cultivos de hongos de putrefacción -blanca, *Sporotrichum pulverulentum* (*Phanerochaete chrysosporium*), *Colorius versicolor* y *Fomes annosus*, y el hongo no-ligninolítico *Monilia*; 2) celobiosa oxidasa, aislada de *S. pulverulentum* y el hongo no ligninolítico *Sporotrichum thermophile*; 3) glucosa oxidasa de varios hongos.

1. Celobiosa deshidrogenasa

La celobiosa deshidrogenasa cataliza la reacción de oxidación de celobiosa a ácido celobiónico, vía celobionolactona en presencia de quinonas formadas por la oxidación catalítica de fenoles, como se muestra en la Figura-51, en la cual la celobiosa actúa como un agente reductor para quinonas regresando a sus correspondiente productos fenólicos.

Este sistema de acoplamiento parece jugar dos papeles en la destrucción de la madera por hongos de putrefacción-blanca; uno de ellos es el oxidativo que aleja la celobiosa, la cual inhibe a la exo-celulasa y otro papel es la prevención de re-polimerización de los productos lignina degradada. Esta enzima fue aislada de hongos no ligninolíticos pero sí celulolíticos como *Sporotrichum thermophile*. Sin embargo, esto no es aceptado si las orto-quinonas son obligadas a aceptar electrones para la celobiosa deshidrogenasa de *Sporotrichum pulverulentum*.

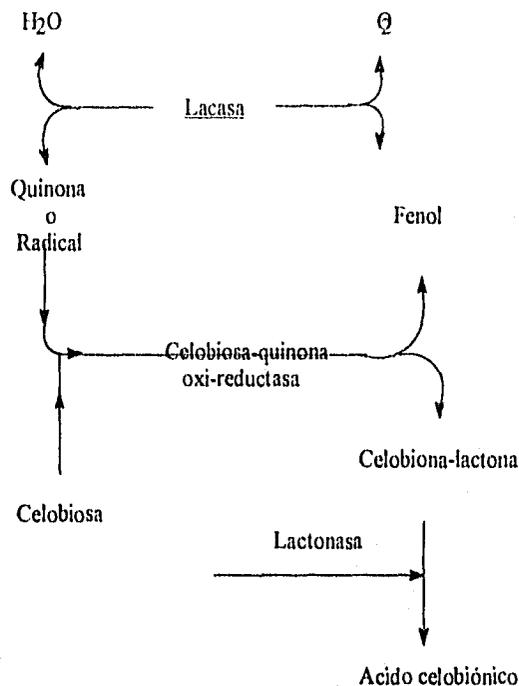


FIGURA-51. Posible mecanismo para la acción de celobiosa-quinona-oxi-reductasa acoplándose con la fenol-oxidasa (lacasa).

2. Celobiosa oxidasa.

Esta enzima cataliza la oxidación de celobiosa y celodextrinas para formar sus correspondientes ácidos aldónicos en presencia de O₂. Interesantemente, esta enzima es una proteína con grupos prostéticos de hemo y flavina en el sitio activo. Esta enzima puede jugar una parte importante en cooperación con el sistema celulasa para alejar a la celobiosa inhibitoria en presencia de oxígeno molecular estimulando la hidrólisis enzimática de la celobiosa.

3. Glucosa oxidasa.

La hidrólisis completa de celulosa produce glucosa, la cual es oxidada por glucosa oxidasa, produciendo ácido glucónico y peróxido de hidrógeno. Recientemente se estableció que el peróxido de hidrógeno es utilizado para degradar la lignina durante el proceso de destrucción de la madera por hongos de putrefacción-blanca. Por esto, la glucosa oxidasa es relacionada con la celobiosa deshidrogenasa para la biodegradación de la lignina.

4. Otros sistemas de oxidación.

Vaheri (60,61) reportó la enzima oxidativa completamente diferente en *T. reesei* que actúa en la celulosa cristalina, a partir de una degradación ácida para obtener productos como ácidos glucónicos y celobiónicos (aproximadamente un 10% de azúcares reductores), el O₂ fue requerido para evitar la reformación de fibra durante la hidrólisis enzimática de la celulosa. Vaheri sugiere que el grupo glucosil reductor terminal de la cadena de celulosa puede ser oxidado a ácido carboxílico final. La formación de grupos ácidos en la cadena de celulosa rompe el puente de hidrógeno en la cadena y la hace más accesible a la endo-celulasa. Consecuentemente la oxidación del grupo terminal de la celulosa iniciada la ruptura de la celulosa cristalina.

Así, existen muchos modos de oxidación para biodegradar a la celulosa. Sin embargo, un proceso oxidativo alternativo es la despolimerización de la celulosa cristalina por radicales OH producidos a partir de la reacción Fenton (peróxido de hidrógeno y ion ferroso) como se muestra en la Figura-52. Este poderoso oxidante es formado en presencia de Fe⁺² y peróxido de hidrógeno posiblemente generado por el sistema glucosa/glucosa oxidasa. Una hipótesis postula la degradación oxidativa no enzimática de la celulosa, es atractivo para la explicación de la despolimerización casual y drástica de la celulosa causada por hongos de putrefacción-café carente de exo-celulasa. Interesantemente la disminución drástica en el DP de la celulosa por el sistema Fenton (Figura-52) es semejante al observado durante la destrucción de la madera por el hongo de putrefacción-café y por endo-celulasa (Figura-53). Muy recientemente una ruptura oxidativa similar en la pared celular de la planta y materiales celulósicos con peróxido de hidrógeno fue reportado por Miller (62) usando la pared celular de la planta. El sugiere que la peroxidasa y el peróxido de hidrógeno participan en la despolimerización oxidativa de la celulosa en plantas altas. Sin embargo, esto es ambiguo si no especifica la oxidación por una reacción de tipo Fenton, importante es sistemas vivos o en madera destruida por hongos de putrefacción-café.

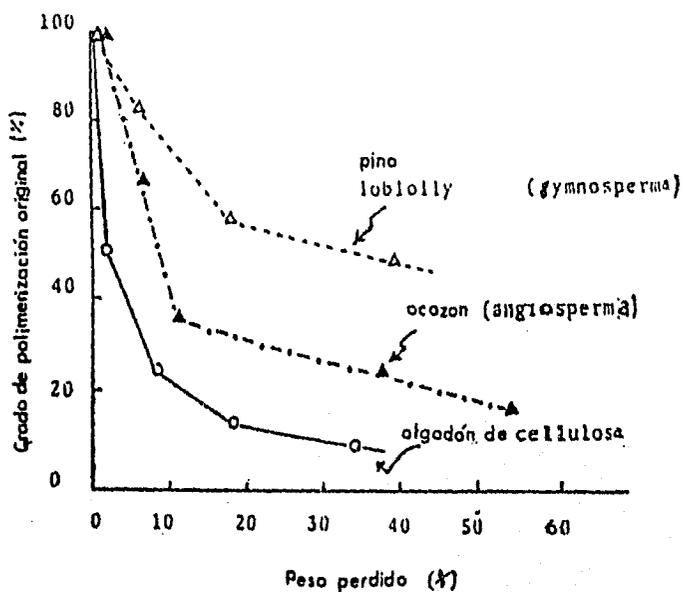


FIGURA-52. Relación entre el decremento en el grado de polimerización de celulosa en muestras de algodón y madera y la pérdida de peso de éstas muestras sobre la oxidación con sistema Fenton's.

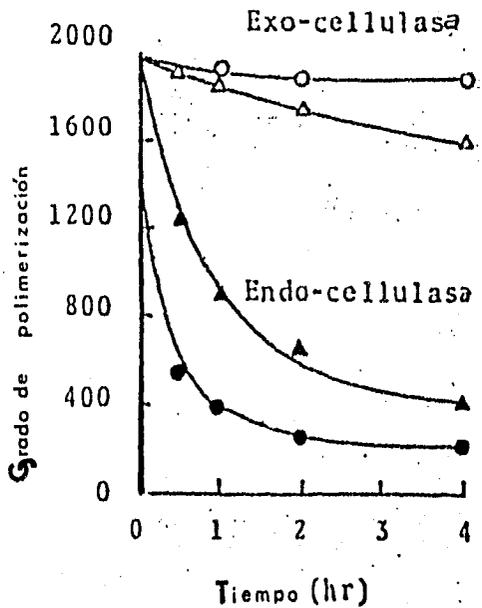


FIGURA-53. Razón del cambio en el grado de polimerización de ácido fosfórico hinchando celulosa por endo- y exo-celulosa de *Trichoderma koningii* y *Furarium solani* celulasa, y indican la *Furarium solani*.

V. APLICACIONES.

A. Conversión enzimática de ligninocelulósicos.

Se ha elaborado un diseño biológico y bioquímico aproximado que contribuye a las aplicaciones de bio-reactores de hongos para una conversión eficiente de sus materiales ligninocelulósicos útiles, como las descritas en la Figura-54.

En años recientes, el interés generalizado se enfocó sobre la conversión micro biológica y enzimática de materiales ligninocelulósicos tales como leños producidos por silvicultores que no utilizan la astilla de la madera dura, cáscara de arroz bagazo de la caña de azúcar para forraje y alimento de ganado, químicos de madera, nuevas fuentes de energía, etc. La sacarificación y fermentación simultánea de los sustratos de celulosa usadas por bacterias celulolíticas anaerobias fueron reportadas por varios autores.

La hidrólisis de ligninocelulosa a glucosa, la cual es convertida a una proteína celular simple (SCP) o a etanol por la levadura *Saccharomices cerevisiae*, recientemente tiene gran atención.

El adelanto de la genética se desarrolla para obtener el mejor hongo celulolítico. *Trichoderma reesei*, *Trichoderma viride*, *Aspergillus aculeatus*, *Myrothecium verrucaria*, *Sporotrichum pulverulentum* (*Phanerochaete chrysosporium*) e *Irpex lacteus* son algunos de los mejores microorganismos productores de celulasa.

Como se muestra en la Figura-55, se está llevando a cabo un progreso, la actividad de la celulasa es aproximadamente 40 veces mayor comparada con la primera preparación enzimática obtenida en 1920 de *T. viride*. El tiempo utilizado para solubilizar completamente al sustrato papel filtro fue de 150 min. en una preparación de 1% de celulasa cruda, pero en 1980 el mismo tamaño de papel filtro fue solubilizado en tan solo 4 min con la misma concentración de celulasa cruda a partir de preparaciones de especies *Trichoderma*.

Esto es de interés, además las mejoras son posibles por el uso de biotecnología con manipulación genética. Sin embargo, la actividad constante de tan sofisticada celulasa es completamente impedida por la envoltura de lignina en la madera. Por lo que se requiere de un pretratamiento por delignificación de materiales para lograr una eficiente conversión se sustratos de madera hasta glucosa.

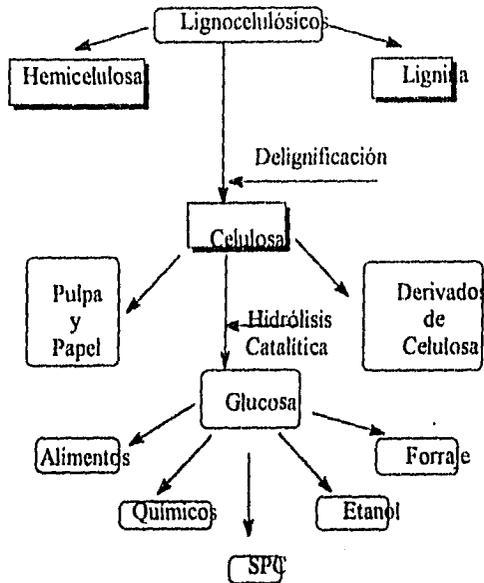


FIGURA-54. Productos obtenidos a partir de lignocelulósicos por procesos de conversión biocatalítica.

En realidad, un pretratamiento por delignificación química o biológica mejora la destrucción micro biológica de la madera y la sacarificación enzimática de los substratos de maderas dura y suave mostrando que las maderas duras se hidrolizan más rápido que las maderas suaves con un grado de delignificación semejante. Por consiguiente, un proceso de delignificación rápida y económica es un cuello de botella para la hidrólisis enzimática de materiales lignocelulósicos. No obstante, un mayor esfuerzo hace posible desarrollar pretratamientos como: 1) pulverización fina de materiales de madera, 2) procesos de vapor expulsados, 3) tratamiento por microondas y 4) proceso de auto-hidrólisis de lignocelulósicos, no económicos en el presente.

La ingeniería genética es prometedora para crear una super-celulosa por catálisis. La clonación del hongo celulolítico termófilo codificado con el DNA

y celulasa en *Escherichia coli* fue llevada a cabo por Cornet et al. (63) mostrando en realidad que la *E. coli* clonado produce extracelularmente celulasa en los medios de cultivo. Además Cornet et al logró la clonación de la celulasa, codificando el DNA de especies *Thermomonosporas* en *E. coli*, la cual produce extracelularmente el 30% aproximado de el total de celulasas con un límite de 70% de células residuales. Sin embargo, se ha desarrollado la delignificación eficiente y económica con el desarrollo del hongo celulolítico.

B. Aproximación biomimética de la hidrólisis de celulosa.

En vista de la acción sinérgica del sistema celulasa es sorprendente el sinérgismo que puede ser realizado por la combinación de ligninasa, celulasa y hemicelulasa para solubilizar sustratos sólidos de la madera. Sin embargo, esto puede ser un temor para la actividad de las proteínas enzimáticas en el último periodo del proceso enzimático, a partir el producto de degradación de la lignina en quinonas oxidadas inactivando la proteína enzimática con agentes taninos.

Una aproximación biomimética con catálisis sintética semejante a las celulasas puede ser prometedor para modificar los materiales lignocelulósicos duros en cooperación con otras catálisis biomiméticas de ligninasas.

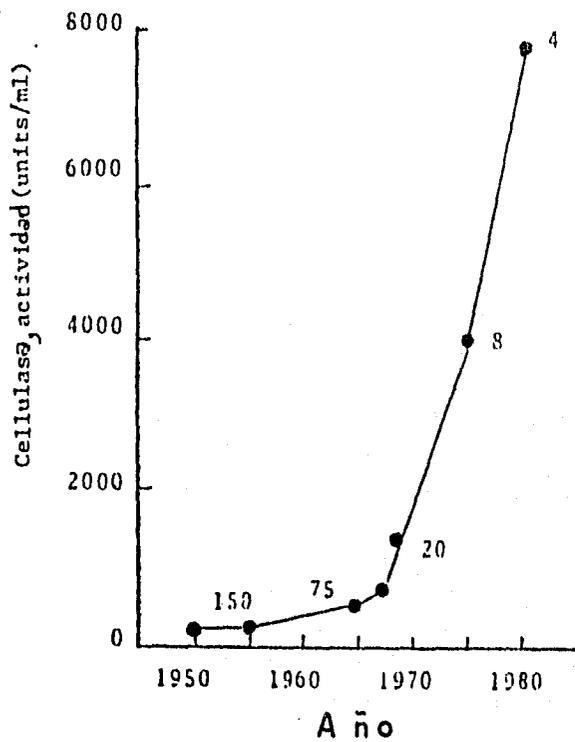


FIGURA-55. Desarrollo comercial de los productos de celulosa desde 1950. Los números indican el tiempo (min) requerido para una completa ruptura de papel filtro.

CAPITULO VII

DISCUSIONES Y CONCLUSIONES

DISCUSIÓN:

La celulosa es útil como material estructural para el reino vegetal. Está presente en bacterias, hongos y algas los cuales pueden ser consumidos por ciertos animales.

La caracterización de la madera por varios métodos es útil para clasificar a sus componentes como celulosa, hemicelulosa y lignina y así caracterizarlas de acuerdo a su estructura, reactividad y propiedades poliméricas.

La estructura de la celulosa está constituida por enlaces glucosídicos que se forman al unir el átomo de carbono de la posición 1 de la molécula con el átomo de carbono de la posición 4 de la siguiente molécula constituyendo así enlaces acetal o β -1,4-glucosídico. Todas estas cadenas se hallan en forma de micelas formando así una red cristalina a través de enlace de hidrógeno. Presentándose como un paquete de fibras con una estructura supramolecular que consiste en regiones cristalinas y amorfas debido a los puentes de hidrógeno intra- e inter-moleculares en varias láminas de las cadenas de celulosa.

En el caso de las macromoléculas complejas tales como la celulosa no es un cristal único, lo que dificulta la determinación de posiciones atómicas a partir de datos de rayos-X además de las aproximaciones hechas por un método espacial de las moléculas de celulosa. Conociendo la longitud y el ángulo de enlace (114.8°) la torsión de este enlace es de $\Phi=23^\circ$ y $\Psi=-2.37^\circ$; así como el ángulo conformacional de la celulosa partir de anillos de glucopiranososa.

La energía conformacional se obtuvo a partir del ángulo que forma el enlace glucosídico de disacáridos sin importar la longitud de la cadena de celulosa.

La celulosa nativa se puede convertir a otras celulosas II, III, IIII, IV₁ y IV_{II}, conocidos como polimorfos de la celulosa.

Se pueden calcular diferentes pesos moleculares (M_n , M_w , M_z y M_v) por métodos diferentes tanto de la celulosa como de sus derivados. Sin embargo el peso molecular de la celulosa se modifica con el método de aislamiento, origen de la muestra, grado de polimerización y método de determinación del peso molecular.

Algunos de los métodos que se pueden mencionar para determinar los diferentes pesos moleculares de la celulosa son: presión osmótica, centrifugación, viscosidad, mientras que para los derivados de la celulosa se pueden aplicar la precipitación fraccionada, dispersión de la luz, viscosidad, por mencionar algunos.

La celulosa es modificada en sus grupos hidróxido siendo sustituidos por diferentes métodos para que se pueda determinar la reactividad de cada grupo funcional que se encuentra en la glucosa, así como en la estructura de la celulosa.

En la celulosa se encuentra un grupo hidróxido primario y dos grupos hidróxido secundarios por cada unidad de anhidrohexosa. Sin embargo la reactividad de los grupos hidróxido de la celulosa va a depender del tipo de celulosa y el grado de cristalinidad. Estos grupos OH se encuentran en los carbonos C2, C3 y C6 los cuales pueden sufrir una oxidación llevándolos hasta aldehído o cetona, el aldehído a su vez puede sufrir oxidación o reducción. Después de la oxidación de los grupos hidróxido se llevan a cabo reacciones de degradación como deshidratación y desdoblamiento gracias a que los grupos terminales son capaces de reducirse.

Por otro lado las reacciones que puede sufrir la cadena de celulosa no es solamente en los grupos hidróxido, también se llevan a cabo en los enlaces glucosídicos. Estos enlaces son inestables en condición ácida, alcalina y oxidativa.

Los enlaces glucosídico en medio ácido sufren deshidratación, degradación y condensación.

Con respecto a la degradación, la celulosa puede degradarse en medio ácido, alcalino y oxidante. Las dos primeras se inician con el desdoblamiento del enlace glucosídico provocando que los grupos reductores puedan sufrir una segunda degradación y así disminuir su grado de polimerización (DP). En la degradación oxidativa se lleva a cabo en los grupos hidróxido de los carbonos C2, C3 y C6 seguidos de una β -eliminación provocando la velocidad de desdoblamiento de la cadena de celulosa.

La degradación alcalina es más activa que la ácida cuando se aumenta la temperatura, la concentración de la base, el pH del medio se encuentre entre 9 y 11 y exista presencia de cationes bivalentes. Pero puede evitarse o reducirse modificando químicamente los grupos terminales con aditivos como agentes oxidantes (antraquinona) para convertir los grupos terminales reductores a ácidos aldónicos.

Durante la reacción oxidativa se regenera un grupo terminal reductor el cual puede sufrir una degradación secundaria, pero es transformado a grupo aldónico en condiciones oxidativas para que la degradación sea mínima y la pérdida de peso sea pequeña.

Las reacciones de degradación oxidativa se producen durante el blanqueado.

La celulosa también puede sufrir una biodegradación la cual empieza con una despolimerización hidrolítica de material celulósico hasta obtener compuestos de bajo peso molecular y la glucosa. Es influenciada por parámetros fisiológicos como nutrición, ambiente aerobio o anaerobio, pH, humedad y temperatura.

Esta degradación puede ser llevada a cabo en el ambiente natural de las plantas y árboles por hongos celulolíticos que se clasifican en hongos de putrefacción-café, putrefacción-blanca y putrefacción-blanda, los cuales pueden contener una o varias de las enzimas que constituyen el complejo enzimático celulasa: endo-celulasa, exo-celulasa y β -glucosidasa, todas estas hidrolíticas.

La celulosis por hongos de putrefacción-café es más activa que por hongos de putrefacción-blanca.

La endo-celulasa provoca la inversión de la configuración del producto de la hidrólisis mientras que la exo-celulasa presenta una retención de la configuración.

Llevando a cabo una transglucosidación por una concentración alta de sustrato (p-nitrofenilcelobiósido) se puede hacer que la endo-celulasa sintetice celotriosa y celotetrosa a partir de celobiosa y celotriosa respectivamente, es decir ya no se realice la hidrólisis sino una síntesis o condensación.

Al degradar con exo-celulasa se produce celobiosa el cual inhibe a la exo-celulasa y evita la sobreproducción del disacárido (celobiosa).

El O_2 se requiere para evitar la reformación e fibras de celulosa durante su hidrólisis enzimática con una enzima oxidativa diferente que se encuentra en *T. reesei*.

Algunas de las enzimas oxidativas son la celobiosa quinona oxi-reductasa, celobiosa oxidasa y glucosa oxidasa.

En la actividad de la celobiosa oxidasa la misma celobiosa actúa como inhibidor, pero en presencia de O_2 se estimula su hidrólisis enzimática.

A pesar de conocer todo esto se desconocen métodos que nos indiquen la composición de la madera relacionada con sus factores bioquímicos.

Así como la degradación química se puede reducir o inhibir también la biodegradación puede controlarse.

La celulosis se inhibe en la madera por la presencia de lignina en la envoltura de la pared celular por lo que se debe realizar una delignificación previa de ésta. También se puede acelerar la celulosis por la acción sinérgica al combinar estas tres enzimas en una reacción a través de la cual se puede explicar la hidrólisis enzimática por un mecanismo endo-exo (C_X-C_1).

Se está investigando sobre los factores estereoquímicos que afectan la actividad de la celulasa.

Aún no son explicados los mecanismos isotéricos para el sinérgismo de la celulasa aunque se puede plantear un mecanismo a partir de la interpretación mecanística del sinérgismo.

Un modo de sustituir la acción enzimática de la celulosa es con el sistema Fenton, por el cual se tiene una acción muy similar a la de los hongos con endo-celulasa al disminuir rápidamente el DP de la celulosa.

En cuanto a la toxicidad de los reactivos se menciona la siguiente Tabla-I en donde se encuentra el método de desecho, las sustancias o reactivos que se van a tratar, la dosis letal DL_{50} , sus productos de desecho al someterlos a una descomposición térmica y en la columna de observaciones se dan datos sobre contaminación, flamabilidad o toxicidad, (64).

TABLA-I

Método de desecho	Reactivo	DL ₅₀ (mg/kg)	Producto de desecho	Observación
I				
A) Disolver en solvente flamable.	Ácido fórmico	1100	CO y CO ₂	Corrosivo
	Benceno	3.8 ml/kg	CO y CO ₂	Flamable
	Cloroformo	908	HCl (g)	Veneno
B) Incinerar o destilar para reutilizar.			Fosgeno	
			Cl ₂ (vap)	
	Etanol	7060	CO y CO ₂	Flamable
	Formaldehido	800	CO y CO ₂	
	Hidrazina	57	Óxidos de nitrógeno	Flamable
			Amoniaco	Corrosivo
	N-Metilamina	2500	CO y CO ₂	Veneno
			Óxidos de Amoniaco	
	Tetrahidro-furano		CO y CO ₂	Flamable
II				
A) Agregar agua	Ácido acético	5000	CO y CO ₂	
B) Ajustar a pH 7	ácido glacial			
C) Verter por el drenaje	Ácido clorhídrico	1000	HCl(g)	Corrosivo
	Ácido fosfórico	1330		Corrosivo
	Bromuro de sodio	3500		
	Carbonato de sodio	117	CO ₂	
	Cloruro de aluminio	3730	HCl(g)	Veneno
			óxido de aluminio	contaminante marino
	Cloruro de calcio	4000	Ca(OH) ₂	
	Hidróxido de potasio	365	HCl(g)	Corrosivo
	Hidróxido de sodio			Corrosivo

Cont. Tabla-I

Método de desecho	Reactivo	DL50 (mg/kg)	Producto de desecho	Observación
II	Peróxido de hidrógeno Sulfato ácido de sodio	4470	H ₂ O y O ₂ Óxidos de azufre Hidróxido de sodio	Oxidante corrosivo
IV A) Agregar solución reductora o Bisulfito de sodio o sales ferrosas con H ₂ SO ₄ 3M B) Neutralizar C) Desechar	Bromo		HBr	Corrosivo veneno
VI A) Incinerar con precaución	Dioxano	6000	CO y CO ₂	Flamable
	Etilmetilcetona	2737	CO y CO ₂	Flamable
	Isopropanol	5800	CO y CO ₂	Flamable
	Piridina		Óxidos de nitrógeno CO y CO ₂ Cianuro (vap)	Flamable veneno
VII A) Purificar por destilación B) Reutilizar	Acetona	900	CO y CO ₂	Flamable
	Heptano		CO y CO ₂	Flamable
	Metanol	5628	CO y CO ₂	Flamable

Cont. Tabla-I

Método de desecho	Reactivo	DL ₅₀ (mg/kg)	Producto de desecho	Observación
XIII				
A) Disolver en agua y/o solución ácida B) Precipitar con sulfato C) Ajustar a pH 7 D) Filtrar E) Eliminar exceso de sulfato F) Neutralizar	Cloruro de zinc	60 - 90	Cl ₂ (g) Óxido de zinc	Corrosivo contaminante marino
XVII				
A) Mezclar con carbonato de sodio B) Mezclar con cal neutra C) Envolver en papel D) Incinerar	Tetracloruro de carbono	2800	Fosgeno CO y CO ₂	Veneno Contaminante marino
A) Diluir en exceso de agua B) Llevar a pH 1 con ácido acético C) Dejar reposar toda la noche D) Filtrar y neutralizar	Borohidruro de sodio		Óxidos de boro Diborano Hidrógeno	Flamable

CONCLUSIONES.

La celulosa es un polímero de peso específico 1.45, formado por β -D-glucosa por enlaces 1,4-glucosídicos cuyo peso molecular oscila entre 300 000 y 500 000.

Por la disposición de las cadenas de la celulosa se pueden formar micelas con zonas cristalinas y con zonas amorfas que se hinchan más en contacto con el agua comparadas con las zonas cristalinas.

Debido a que la celulosa no es un cristal único sus valores de longitud de enlace, ángulo de enlace y conformación angular se establecieron a partir de estudios de Rayos-X de anillos de glucopiranosas, obteniéndose que el enlace glucosídico tiene un ángulo de 114.8° y la torsión del enlace glucosídico $\Phi=23^\circ$ y $\Psi=-2.37^\circ$.

Existen cuatro formas cristalinas de celulosa obtenidas tanto por reacciones químicas como por la combinación de las tres posiciones del grupo hidroximetil en un modelo de interacción obteniéndose seis diferentes conformaciones C I, C II, C III_I, C III_{II}, C IV_I y C IV_{II}.

Las propiedades físicas y químicas de la celulosa van a depender de su peso molecular y la distribución de éste.

Se pueden calcular cuatro tipos de peso molecular: M_n , M_w , M_z y M_v , dependiendo del método de determinación como presión osmótica, centrifugación, viscosidad, entre otros.

Las reacciones de degradación de la celulosa van a depender de la estabilidad y el comportamiento de los carbonos C 1, C 2, C 3 y C 4.

Estas reacciones de degradación pueden ser catalizadas con ácidos o álcalis, iniciándose con el desdoblamiento del enlace glucosídico para producir nuevos grupos reductores que están propensos a una segunda reacción de degradación perdiendo 65 unidades de glucosa y disminuyendo su DP.

También puede sufrir una degradación oxidativa en los grupos hidróxido de los carbonos C 2, C 3 y C 6 seguido por un proceso de β -eliminación e incrementándose la velocidad de desdoblamiento.

La biodegradación de la celulosa involucra una despolimerización hidrolítica del material celulolítico hasta obtener compuestos de bajo peso molecular como la glucosa monomérica.

La biodegradación de la celulosa se lleva a cabo por un complejo enzimático de celulasa constituido por alguna o todas las enzimas celulolíticas que a su vez se clasifican en: hidrolíticas (Endo-celulasa, Exo-celulasa y β -Glucosidasa) y oxidativas (Celobiosa deshidrogenasa, Celobiosa oxidasa y Glucosa oxidasa).

A partir de la madera se puede realizar un delignificación para obtener la celulosa la cual puede ser utilizada para la producción del papel y sus derivados. Esta misma puede ser degradada ya sea fisicoquímica o biológicamente hasta productos de bajo peso molecular y glucosa ésta última es usada para la producción de alimentos, químicos, forrajes, etanol y SPC.

BIBLIOGRAFIA

1. David, N., S. Hon, Nobuo Shiraishi, *Wood and Cellulosic Chemistry*, 1020p. (1991).
2. ENCICLOPEDIA DE LA CIENCIA Y DE LA TECNICA Editorial Oceano Tomo 2 (1988).
3. L.Zechmeister y G. Toth, Zur Kenntnis der Hydrolyse von Cellulose und der dabei auftretenden Zwischen Produkte, *Ber. Dtsch. Chem. Ges.*, B64:854 (1931).
4. S. Arnott y W. E. Scott, Accurate x-ray diffraction analysis of fibrous approach, *J. Chem. Soc. (Perkin Trans. II)*:324 (1972).
5. Simon, Istvan y Scheraga, Harold A., Structure of cellulose. 1. Low-energy conformations of single chains. *Macromolecules*, 21(4):983 (1988).
6. A. Sarko, J. Southwick, y J. Hayashi, Packing analysis of carbohydrates and polysaccharides. 7. Crystal structure of cellulose III₁ and its relationship to other cellulose polymorphs, *Macromolecules*, 9:857 (1976).
7. Simon Istvan, Glasser Leslie, y Sheraga, Harold A, Structure of cellulose. 2. Low-energy crystalline arrangements, *Macromolecules*, 21:990 (1988).
8. Gumerov, F. M., Silayev, V A., y Sopin, V. F., Structure of disordered regions of spin-labeled cotton celluloses, *Zh. Prikl. Spektrosk.*, 51:76 (1989).
9. Ali, M. Ahad, Rahman S. Matiur, Viscosimetric behavior of cellulose in phosphoric acid., *Bangladeh J. Sci. Ind. Res.*, 23:53 (1988).
10. Evans, Robert., Wallis, Adiran F. A., Cellulosa molecular weights determined by viscometry., *J. Appl. Polym. Sci.*, 37:2331 (1989).
11. Wollny, V.; Krause, T., Investigations on the suitability of young poplar wood for the production of pulp for chemical processing. Part 1. Determination of the polymerization degree and molecular weight distribution of the native wood cellulose., *Papier (Darmstadt)*, 42:117 (1988).
12. Poller, Siegfried., Evaluating the molecular weight distribution of wood cellulose by turbidity titration., *Holztechnologie*, 30:290 (1989).
13. J. M. Van der Veen, *J. Org. Chem.*, 28:564 (1963).
14. D. Gagnaire y M. Vincender, *Bull. Soc. Chim. Fr.*:479 (1977).
15. Y. Inoue y Chugo, *Carbohydr. Res.*, 60:367 (1978).
16. T. Usui, N. Yamaoka, K. Matsuda, K. Tuzimura, H. Sigumaya, y S. Seto, *J. Chem. Soc. Perkin Trans.*, 1:2425 (1973).
17. Schwals, Wolfgang; bobleter, Ortwin; Characterization of nonderivatized cellulose by gel permeation chromatography., *J. Appl. Polym. Sci.* 35:1937 (1988).

18. K. Kamide, K. Kowsaka, y K. Okajima, *Polym. J.*, 19:231 (1987).
19. K. Kamide y K. Okajima, *Polym. J.*, 13:127 (1981).
20. M. Saito, *Polym. J.*, 15:249 (1983).
21. T. Miyamoto, Y. Sato, T. Shibate, H. Inagaki, y T. Tanahashi, *J. Polym. Sci., Chem. Ed.*, 22:2363 (1984).
22. K. Kowsaka, K. Okajima, y K. Kamide, *Polym. J.* 18:483 (1986).
23. T. K. Wu, *Macromolecules*, 13:74 (1980).
24. D. T. Clark, P. J. Stepheson, y F. Heatley, *Polymer*, 22:1112 (1981).
25. D. T. Clark y P. J. Stepheson, *Polymer*, 23:1295 (1982).
26. K. Kamide, K. Kowsaka, y K. Okajima, *Polym. J.*, (1987).
27. Wirsén, Anders, *Makromol Chem*, 189:833 (1988).
28. K. Kamide, K. Okajima, K. Kowsaka, T. Matsui, S. Nomura, y K. Hikichi, *Polym. J.*, 17:909 (1985).
29. K. Kamide, y S. Matsuda, *Polym. J.*, 16:515 (1984).
30. K. Kamide, y S. Matsuda, *Polym. J.*, 16:591 (1984).
31. Ahmad, Noor; Balochm Nusa Kaleem, *J. Chem. Soc. Pak.*, 10:1 (1988).
32. M. Terbojevich, A. Cosani, G. Conio, A. Ciferi, y E. Bianchi, *Macromolecules*, 18:640 (1985).
33. C. L. McCormick, P. A. Callais, y B. H. Hutchison, *Macromolecules*, 18:2398 (1985).
34. K. Kamide, K. Okajima, T. Matsui y K. Kowsaka, *Polym. J.*, 16:857 (1984).
35. K. Kamide y M. Saito, *Polym. J.*, 18:568 (1986).
36. E. Robert, W. Ross H., W. Adrian F. A., *J. Appl. Polym. Sci.*, 37:3291 (1989).
37. J. M. Lauriol, P. Froment, F. Pla y A. Robert, *Holzforschung*, 41:109 (1987).
38. J. J. Cael, D. J. Ceitek y F. J. Kolpak, *J. Appl. Polym. Sci., Appl. Polym. Symp.*, 37:509 (1983).
39. B. F. Wood, A. H. Conner, y C. G. Hill, *J. Appl. Polym. Sci.*, 31:3703 (1986).
40. Pavlov, G. M. *Khim. Drev.*, 4:3 (1989).
41. O. Samuelson, in *The Ekman Days 1981, Internat Symp. Wood Pulp. Chem.*, Vol 2, SPCI, Stockholm, p. 78 (1981).
42. Mugnolo, A. M. J.; Macchi, E. M.; Marx-Figini, M. *Polym. Bull (Berlin)* 19:187 1988.
43. Starobinets, G. L.; Burd, G. A.; Vinarskii, V. A.; Afanas'eva, N. E., *Vestsi Akad. Navuk BSSR, Ser. Khim. Navuk*, 5:22 (1989).

44. Gert, E. V.; Shishonok, M. V.; Kaputskii, F. N.; Zubets, O. V. *Otkrytiya, Izobret.*, 39:78 (1988).

45. Helm, Richard; Young, Raymond A.; Conner, Anthony H. *Carbohydr. Res.*, 185:249 (1989).

46. Afanas'ev, V. A.; Sarybaeva, P. I.; Sultankulova, A. S.; Vasil'kova, T. V. *Pure Appl. Chem.* 61:1993 (1989).

47. S. Sreenivasan, P. Bhama Iyer, G. S. Patel y P. K. Chidambareswaran, *J. Appl. Polym. Sci.*, 37:2197 (1989).

48. P. Bhama Iyer, S. Sreenivasan, G. S. Patel y P. K. Chidambareswaran, *J. Appl. Polym. Sci.*, 37:1739 (1989).

49. Gavelin, Gunnar *Sven. Papperstidn.*, 92:28 (1989).

50. Chaudari, U. R.; Rao B. Madhava; *Indian J. Text. Res.*, 12:184 (1987).

51. Reiche, Angelika; Brauer, Hans Deiter; Belnke, Joachim; Ger. Offen. DE 4,035,813 (1992).

52. Jackson, Jhon P.; Arthurs, Eugene; Schwalbe, Larry A.; Segal, R. Donald M.; Windisch, David E.; Long, William H.' Stappaerts, Eddy A. *Appl. Opt.*, 27:3937 (1988).

53. Gabor Varhegyi y Michael J. Antal, Jr. *Energy and Fuels*, 3:329 (1989).

54. Broido A. *Thermal Uses and Properties of Carbohydrates and Lignins*, (1976).

55. Ermolenko, I. N.; Lazareva, T. G.; Shpilevskaya, L. E.; Borisenko, E. M. *Vesti Akad. Navuk BSSR, Ser. Chim. Navuk* 6:14 (1988).

56. Nakao, Tetsuya; Tanaka, Chiaki; Takahashi, Akira; Okano, Takeshi; Nishimura, Hisao *Holzfoschung*, 43:419 (1989).

57. M. E. Calahorra, M. Cortazar, J. I. Eguiazabal, y G. M. Guzman *J. Appl. Polym. Sci.*, 37:3305 (1989).

58. K. Ogawa, H. Toyama, y N. Toyama, *Bull. Fac. Agric. Miyazaki Univ.* 29:191 (1982).

59. K. E. Eriksson y T. M. Wood, *Biosyn. and Biodegr. of Wood Components.*, p.469 (1985).

60. M. P. Valeri, *J. Appl. Biochem.*, 4:153 (1982).

61. M. P. Valeri, *J. Appl. Biochem.*, 4:356 (1982).

62. R. A. Miller, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 141:238 (1986).

63. P. Cornet, D. Tronik, J. Millet, y J. Aubert, *FEBS Lett.*, 16:137 (1983).

64. Irma Gavilán G. y Guillermina Salazar V. *Manual de manejo de sustancias tóxicas y peligrosas de uso en el laboratorio de Química Orgánica. y Tarjetas de identificación de sustancias y el fabricante.* (1993).