



TECNOLÓGICO NACIONAL DE MÉXICO

INSTITUTO TECNOLÓGICO DE CIUDAD MADERO
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN
MAESTRÍA EN CIENCIAS EN INGENIERÍA QUÍMICA.



"POR MI PATRIA Y POR MI BIEN"

TESIS

“OBTENCIÓN DE UN GLICOPOLÍMERO A PARTIR DE GLUCOSA DE TULE (*TYPHA DOMINGENSIS*)”

Que para obtener el Grado de
Maestra en Ciencias en Ingeniería Química

Presenta
Ing. Mónica Elizabeth Martínez Leal
G11070488

Director de Tesis
Dr. Hugo Eduardo de Alva Salazar

Co-directora de Tesis
Dra. Minerva Ana María Zamudio Aguilar.



Cd. Madero, Tams., a 22 de Noviembre de 2018

OFICIO No.: U1.255/18

ÁREA: DIVISIÓN DE ESTUDIOS
DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN

ASUNTO: AUTORIZACIÓN DE IMPRESIÓN
DE TESIS

ING. MÓNICA ELIZABETH MARTÍNEZ LEAL
No. DE CONTROL G11070488
PRESENTE

Me es grato comunicarle que después de la revisión realizada por el Jurado designado para su Examen de Grado de Maestro en Ciencias en Ingeniería Química, se acordó autorizar la impresión de su tesis titulada:

"OBTENCIÓN DE UN GLICOPOLÍMERO A PARTIR DE GLUCOSA DE TULE (TYPHA DOMINGENSIS)"

El Jurado está integrado por los siguientes catedráticos:

PRESIDENTE :	DR.	HUGO EDUARDO DE ALVA SALAZAR
SECRETARIO:	DRA.	MINERVA ANA MARÍA ZAMUDIO AGUILAR
VOCAL:	DR.	JOSÉ LUIS RIVERA ARMENTA
SUPLENTE:	M.P.	MARÍA YOLANDA CHÁVEZ CINCO
DIRECTOR DE TESIS :	DR.	HUGO EDUARDO DE ALVA SALAZAR
CO-DIRECTORA:	DRA.	MINERVA ANA MARÍA ZAMUDIO AGUILAR

Es muy satisfactorio para la División de Estudios de Posgrado e Investigación compartir con Usted el logro de esta meta. Espero que continúe con éxito su desarrollo profesional y dedique su experiencia e inteligencia en beneficio de México.

ATENTAMENTE
EXCELENCIA EN EDUCACIÓN TECNOLÓGICA®
"POR MI PATRIA Y POR MI BIEN"[®]

DR. JOSE AARON MELO BANDA
JEFE DE LA DIVISIÓN DE ESTUDIOS
DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN



SECRETARÍA DE EDUCACIÓN PÚBLICA
TECNOLÓGICO NACIONAL
DE MÉXICO

INSTITUTO TECNOLÓGICO DE CIUDAD MADERO
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO
E INVESTIGACIÓN

c.c.p.- Archivo
Minuta

JAMB"MIÁQ 'mdcoa"



Contenido

Índice de figuras.....	iv
Índice de tablas.....	vi
Índice de ecuaciones	vi
Dedicatoria	vii
Agradecimientos	viii
Resumen.....	x
Abstract.....	xii
Introducción.....	1
Capítulo 1. Antecedentes.....	3
1.1 Biomasa.....	3
1.2 Composición de la biomasa lignocelulósica.....	5
1.2.1 Celulosa.....	6
1.2.2 Hemicelulosa.....	7
1.2.3 Lignina.....	8
1.2.4 Monosacáridos constituyentes de polisacáridos estructurales.....	9
1.3 Materia prima para la investigación (<i>Typha domingensis</i>).....	11
1.3.1 Descripción e identificación.....	12
1.3.2 Distribución de <i>Typha domingensis</i>	14
1.3.3 Composición general de la especie.....	14
1.4 Efecto de los tratamientos químicos sobre la fracción celulósica.....	16
1.4.1 Inhibidores generados en tratamientos químicos.....	17
1.4.2 Hidrólisis alcalina.....	18
1.4.3 Hidrólisis acida.....	20
1.4.4 Hidrólisis enzimática.....	22
1.5 Polimerización.....	23
1.6 Glicopolímero.....	28
1.7 Técnicas de caracterización de polímeros.....	30
1.7.1 Espectrofotómetro infrarrojo con transformada de Fourier (FTIR).....	30
1.7.2 Resonancia Magnética Nuclear (RMN).....	31
1.7.3 Análisis Térmico Simultaneo (DSC-TGA).....	33
1.7.4 Dispersión de Luz dinámica (DLS).....	35
Capítulo 2. Parte experimental.....	37

2.1 Recolección y preparación de la materia prima.	37
2.1.1 Determinación del porcentaje de humedad.	38
2.2 Proceso de deslignificación del Tule.....	39
2.2.1 Cuantificación de la celulosa.....	41
2.3 Conversión de celulosa a glucosa.....	41
2.3.1 Cuantificación de azúcares e inhibidores empleando un Cromatógrafo de líquidos de alta resolución (HPLC).	43
2.3.1.1 Cuantificación de azúcares.....	43
2.3.1.2 Cuantificación de inhibidores.....	45
2.4 Detoxificación de hidrolizado azucarado.	45
2.5 Eterificación de glucosa y 2,2-Bis(aliloximetil)-1-butanol.	46
2.6 Polimerización.....	51
2.7 Solubilidad del poliéter de glucosa de tule.....	53
2.8 Caracterizaciones.	54
2.8.1 Espectroscopia de infrarrojo (FTIR).	54
2.8.2 Resonancia Magnética Nuclear H ¹ Y C ¹³ (RMN).	55
2.8.3 Análisis Térmico Simultaneo (DSC-TGA).	55
2.8.4 Dispersión de luz dinámica (DLS).	55
Capítulo 3. Resultados y discusiones.	57
3.1 Porcentaje de rendimiento de extracción de celulosa y caracterización de fibras por medio de FTIR.	57
3.2 Cuantificación de azúcares contenidos en los hidrolizados con ácido sulfúrico diluido por medio de HPLC.....	59
3.3 Cuantificación de inhibidores en los hidrolizados con ácido diluido por medio de HPLC.....	60
3.4 Eficiencia de extracción de glucosa.	62
3.5 Reacción química de eterificación.	63
3.5.1 Caracterización del líquido de eterificación por medio de FTIR.	64
3.6 Reacción de síntesis del glicopolímero.	66
3.7 Caracterización del glicopolímero por medio de FTIR.....	68
3.8 Análisis H ¹ y C ¹³ del glicopolimero por medio de RMN.	70
3.9 Solubilidad del poliéter de glucosa de tule.....	75
3.10 Análisis térmico del glicopolímero empleando DSC-TGA.....	75
3.11 Determinación de peso molecular del glicopolímero por medio de DLS.	77
Conclusiones.	80

Índice de figuras.

Figura	Descripción	Página
1.1	Aplicaciones generales de la biomasa.....	4
1.2	Procesos generales de generación y aprovechamiento de la biomasa.....	5
2.3	Estructura química de la celulosa.....	6
1.4	Microfibrillas de celulosa.....	7
1.5	Estructura química de hemicelulosa.....	8
1.6	Estructura química de lignina.....	9
1.7	Clasificación de monosacáridos de acuerdo al número de carbono.....	9
1.8	Proyecciones Fisher de glucosa D y L.....	10
1.9	Estructuras típicas de glucosa.....	11
1.10	Ecosistema de <i>Typha domingensis</i>	11
1.11	Componentes de tule (<i>Typha domingensis</i>): a) Tallo, b) Hoja, c) Inflorescencia, d) Hábitat característico.....	13
1.12	Distribución de <i>Typha domingensis</i> en México. Tomado del Sistema de Información de Especies invasoras (SNIB-CONABIO).....	14
1.13	Secuencia de análisis en la caracterización química de la planta tule.....	15
1.14	Efecto de los pretratamientos en el material lignocelulosico.....	16
1.15	Compuestos potencialmente inhibidores generados del pretratamiento de materiales lignocelulósicos.....	17
1.16	Reacciones presentes en la etapa de iniciación: a) descomposición del radical y b) adición del radical al monómero.....	24
1.17	Reacción de propagación de un monómero vinílico.....	25
1.18	Reacción de terminación por combinación.....	25
1.19	Reacción de terminación por desproporción.....	26
1.20	Dirección que pueden presentar una polimerización vinílica a partir del monómero.....	26
1.21	Camino de adición de monómero vinílico.....	27
1.22	Estructura de polímero con configuración cabeza a cola.....	27
1.23	Estructura de polímero con configuración cabeza a cabeza o cola a cola.....	28
1.24	Diagrama de un espectrofotómetro por transformada de Fourier.....	30
1.25	Espectrofotómetro infrarrojo por transformada de Fourier.....	31
1.26	Diagrama de equipo de resonancia magnética nuclear.....	32
1.27	Diagrama de un espectrofotómetro por transformada de Fourier.....	33
1.28	Estructura de equipo Termogravimétrico.....	33
1.29	Esquema de una celda de DSC de flujo de calor.....	34
2.1	Laguna El conejo, Altamira, Tamaulipas.....	37
2.2	Esquema de preparación del tule.....	37
2.3	Proceso de deslignificación utilizando un reactor PARR Mod. 5100.....	39

2.4	Pasos después de la hidrólisis básica: a) Separación de las fibras y lignina, b) lavado de las fibras, c) Celulosa	40
2.5	Productos solidos obtenidos a partir del diseño de experimentos.....	42
2.6	Hidrolizados obtenidos a partir del diseño de experimentos.....	43
2.7	Equipo HPLC Waters 1515.....	43
2.8	Porta muestras del HPLC waters 1515.....	45
2.9	Procedimiento de detoxificación.....	46
2.10	Destilación simple de los licores azucarados.....	46
2.11	Estructura química del adipato de divinilo.....	47
2.12	Estructura química de 2,2-Bis (aliloximetil)-1-butanol.....	47
2.13	Proceso de eterificación de la prueba 1.....	48
2.14	Proceso de eterificación de la prueba 2.....	48
2.15	Prueba 1 precipitada con acetona.....	49
2.16	Prueba 2 precipitada con acetona.....	49
2.17	Procedimiento de eterificación con hidrolizado de tule.....	50
2.18	Pruebas de polimerización en proceso de secado.....	52
2.19	Síntesis del glicopolímero.....	53
2.20	Precipitación del glicopolímero.....	53
2.21	Glicopolímero precipitado.....	53
2.22	Glicopolímero seco.....	53
2.23	Espectrofotómetro Infrarrojo con Transformada de Fourier.....	54
2.24	RMN Ascend™ 400 mHz y consola Avance 111 HD Marca Bruker.....	55
2.25	TA Instruments modelo Q600.....	55
2.26	Diluciones de la solución patrón del glicopolímero.....	56
2.27	Refractómetro Abbemat 300 marca Anton Paar.....	56
2.28	DLS Litesizer 500 Marca Anton Paar.....	56
3.1	Espectro FTIR, celulosa de tule.....	58
3.2	Reacción de eterificación entre glucosa y 2,2-Bis(aliloximetil)-1-butanol.	63
3.3	Comparación de espectros de FTIR de: a) éter de dextrosa y b) éter de glucosa.	64
3.4	Estructura simplificada del monómero de éter de glucosa.....	66
3.5	Etapa de iniciación de la polimerización.....	67
3.6	Etapa de propagación.....	67
3.7	Etapa de terminación.....	67
3.8	Comparación de espectros FTIR de glicopolímero de Dextrosa y Tule.....	68
3.9	Estructura química de poli{6-[2,2-(butilmetoxi-metoxi-1-propenil)-1-butanol]-oxano-2,3,4,5-tetrol}.....	71
3.10	Espectro RMN de H ¹ del polímero.....	71
3.11	Ampliación del área de 8.5-7 ppm del Espectro RMN de H ¹ del polímero.....	72
3.12	Ampliación del área de 4.5 -3 ppm del Espectro RMN de H ¹ del polímero.....	72
3.13	Ampliación del área de 3-2 ppm del Espectro RMN de H ¹ del polímero.....	73
3.14	Ampliación del área de 2-1 ppm del Espectro RMN de H ¹ del polímero.....	73
3.15	Espectro RMN de C ¹³ del polímero.....	74
3.16	Termograma TGA de Temperatura (°C) vs Peso (%) del poli{6-[2,2-(butilmetoxi-metoxi-1-propenil)-1-butanol]-oxano-2,3,4,5-tetrol}.....	76

3.18	Termograma DSC de poliéter de glucosa.....	77
3.19	Concentración vs Índice de refracción.....	78

Índice de tablas

Tabla	Descripción	Página
1.1	Clasificación taxonómica del tule.....	12
1.2	Resultados de caracterización de tule.....	15
2.1	Diseño de experimentos para la deslignificación.....	40
2.2	Diseño de experimentos para la extracción de glucosa.....	42
2.3	Relación de reactivos para las pruebas de eterificación.....	48
2.4	Relación de reactivos para la eterificación con glucosa de tule.....	49
2.5	Condiciones de pruebas para la síntesis del glicopolímero.....	51
2.6	Proporción de reactivos en base a la prueba 2 para realizar la polimerización del éter de glucosa.....	52
3.1	Resultados del porcentaje de rendimiento en el proceso de deslignificación del tule.....	57
3.2	Grupos funcionales identificados en el espectro FTIR de la celulosa de tule.....	58
3.3	Principales señales características de celulosa en base a bibliografía.....	59
3.4	Matriz del diseño experimental 2 ³ factorial correspondiente a los azúcares contenidos en el tule.....	60
3.5	Matriz del diseño experimental 2 ³ factorial correspondiente a los inhibidores contenidos en el tule.....	61
3.6	Concentración de glucosa e inhibidores en el hidrolizado de la muestra.....	62
3.7	Eficiencia de extracción de glucosa a partir de celulosa de tule.....	62
3.8	Grupos funcionales identificados en los espectros FTIR a) y b) del proceso de eterificación...	65
3.9	Grupos funcionales identificados en los espectros FTIR de los polímeros: dextrosa y tule.....	69
3.10	Solubilidad de poliéter de glucosa de tule con diversos solventes.....	75
3.11	Índice de refracción correspondiente a las diluciones.....	78

Índice de ecuaciones

Ecuación	Descripción	Página
2.1	Determinación del porcentaje de humedad.....	38
2.2	Determinación del porcentaje de sequedad.....	38
2.3	Fórmula para determinar el peso de las fibras en base seca.....	41
2.4	Fórmula para determinar el porcentaje de rendimiento de extracción.....	41

Dedicatoria

Este trabajo es dedicado a mis padres Yolanda Leal Padilla, Juan Manuel Martínez Arredondo y a mi hermana Claudia, ustedes son las personas que más amo en este mundo, son quienes forjaron la persona que ahora soy, me vieron crecer tanto física, emocional y profesionalmente, gracias por su apoyo que siempre ha sido incondicional.

Además, le agradezco a dios, a toda mi familia, a mi novio y a mis amigos (as) por todo su amor, cariño y comprensión a lo largo de todo el proceso.

Agradecimientos

A mis padres Yolanda Leal Padilla y Juan Manuel Martínez Arredondo, por todo el apoyo incondicional que me han brindado a lo largo de mi vida, por siempre darme consejos y palabras de aliento para no desistir a cada meta que me he propuesto a lo largo de mi vida, los amo con todo mi corazón.

A mi hermana Claudia por todo el apoyo, por creer en mí y agradezco tenerte como hermana... te quiero mucho.

A mi abuelito Luis Leal Padilla es una gran fortuna contar con su compañía y su cariño hoy en día.

A mis tías: Ana María, Lidia y Leticia; mis tíos: Pepe, Gustavo, Fidel y mis primos: Luis, Tamara, Erick, Angélica, porque de una u otra manera fueron un gran apoyo durante esta etapa y a lo largo de toda mi vida, gracias infinitas.

Gracias a toda mi familia en general, por todos los momentos que hemos vivido juntos.

A mi novio Efraín Briones, por brindarme toda su confianza, apoyo, palabras de aliento, por escucharme siempre y darme los mejores consejos, eres el mejor novio del mundo, siempre creíste en mí y en lo que puedo llegar a ser, te amo mi amor.

A mis mejores amigas Gabriela y Susana, que digo amigas son mis hermanas postizas, gracias nenas por su amistad, por también creer en mí, y por escucharme siempre, son las mejores del mundo las quiero mucho, podremos estar en estados diferentes, pero siempre estaremos unidas.

A CONACYT por la beca brindada durante estos dos años de la maestría.

A mi director de tesis, Dr. Hugo Eduardo de Alva Salazar, por todo el apoyo y orientación que me brindo a lo largo de este proyecto.

A mi co-directora, Dra. Minerva Ana María Zamudio Aguilar, de igual manera le agradezco todo el apoyo que me ha brindado a largo de todo este camino en el cual me ha visto crecer como profesionalista y quien me ha fomentado el gusto por la investigaci, gracias por su cariño y confianza.

A mi comité tutorial conformado por excelentes profesores: Dr. José Luis Rivera Armenta y Maestra Yolanda Chávez Cinco, muchas gracias por todo el apoyo que me brindaron en el uso de equipos de caracterización, interpretación y desarrollo de la estructura química de mi material, gracias infinitas fueron pieza clave en mi trabajo.

A la Dra. Nancy Patricia Díaz Zavala y a la Dra. Jessica, por su apoyo en el uso del equipo de resonancia y en la interpretación de resultados.

A la Dra. Esther Pérez Carrillo y el Dr. Erick Heredia Olea, por su recibimiento y apoyo en el uso del equipo HPLC en el Instituto Tecnológico de Estudios Superiores de Monterrey campus Monterrey.

A todos mis compañeros de campus 3: Karla, Juan Diego, Fabiola, Oscar, Liz, Miguel, Lucero, Rodolfo Jonathan, Hugo, Maclesh, Lalo, Daniel y Erick, por hacer muy amenos los días en el centro de investigación y por apoyo ya sea en tareas, durante la investigación o en el manejo de equipos, muchas gracias chicos.

También le agradezco a la que fue como mi segunda familia durante la etapa experimental de mi trabajo en el laboratorio y-13 en campus 1: Laura, Carlos, Heidi, Asael, Gracy, Anita, Andrea, Ana, ustedes vivieron parte de mi situación de estrés durante la parte experimental y a los que recién se integraron: Jessi, Lucio, Esperanza, Daniel, Emanuel y Leslie, gracias a todos su cariño y por los gratos momentos que viví con ustedes, futuros ingenieros nunca desistan a sus sueños.

¡MUCHAS GRACIAS POR TODO!

Resumen.

El objetivo principal de este trabajo de investigación fue la síntesis de un glicopolímero utilizando glucosa extraída de tule (*Typha domingensis*), por medio de tratamientos ácido, alcalino y enzimático. Así como la caracterización del polímero por medio de espectrofotometría infrarroja con transformada de Fourier (FTIR), resonancia magnética nuclear (RMN), análisis termogravimétrico (TGA), calorimetría diferencial de barrido (DSC) y dispersión de luz dinámica (DLS).

El tratamiento alcalino para la liberación de las fibras de celulosa se realizó a 160°C por 60 minutos y 35% de sosa, teniendo un porcentaje de rendimiento de extracción de 33.66%. En espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier (FTIR) se identificaron los estiramientos característicos a los grupos funcionales de celulosa: OH (3519-3079 cm^{-1}), C=O (1683 cm^{-1}), C-O-C (1315 cm^{-1}) y C-O (1057 cm^{-1}).

En el diseño de experimentos planteado para la hidrólisis de la celulosa con ácido diluido, la condición que presentó mayor concentración de glucosa fue a 180°C por 10 minutos con 10% de ácido sulfúrico con una concentración de 7.201 mg/ml con un porcentaje de extracción de glucosa del 17.281 %.

El tratamiento de eterificación con la glucosa extraída de tule y 2,2-Bis(aliloximetil)-1-butanol, dio lugar al 6-[2,2-(butilmetoxi-metoxi-1-propenil)-1-butanol]-oxano-2,3,4,5-tetrol, el cual se caracterizó por medio de FTIR, el espectro obtenido muestra que en la región de 3435 cm^{-1} se observan estiramientos de grupos hidroxilo (OH), en 3084 cm^{-1} estiramientos vinilo (=CH₂), 1672 cm^{-1} estiramiento correspondientes a vinilo terminal y en 1264 cm^{-1} estiramientos C-O-C, de tal manera que se comprobó la presencia de los grupos funcionales de los reactivos con los que se llevó a cabo la reacción.

La polimerización del poliéter de glucosa se llevó a cabo con 6-[2,2-(butilmetoxi-metoxi-1-propenil)-1-butanol]-oxano-2,3,4,5-tetrol, obtenido por medio de radicales libres utilizando azobisisobutironitrilo (AIBN). El material resultante se caracterizó por medio de FTIR y RMN. En FTIR se encontraron las señales de interés en 2928 cm^{-1} , 1575 cm^{-1} y 1263 cm^{-1} , correspondientes a estiramientos vinilo terminar, C-O-C y CH₃ respectivamente. En RMN en la corrida de protón (¹H) se identificaron los grupos mencionados en el rango de 8.27 a

7.30 ppm señales correspondientes a vinilo terminal, en 1.17 ppm a un grupo CH₃ y la señal de C-O-C no se aprecia en el espectro de C¹³ debido al ruido que presenta éste, por lo cual solo se tomaron como referencia las señales de vinilo terminal y metilo, por lo antes mencionado se concluyó que el material sintetizado era el poli {6-[2,2-(butilmetoxi-metoxi-1-propenil)-1-butanol]-oxano-2,3,4,5-tetrol}.

En la caracterización térmica DSC-TGA, el polímero presentó resistencia a temperaturas superiores de 500°C por encima de esta temperatura comenzó a perder peso.

En el equipo DLS se determinó la masa molecular del polímero, siendo de 3.33 x10⁶ Da, el resultado obtenido confirma que el material sintetizado corresponde a un polímero ya que presenta más de 3 millones de unidades de Dalton.

Abstract.

The main objective of this research work was the synthesis of a glycopolymer using glucose extracted from tule (*Typha domingensis*), by means of acid, alkaline and enzymatic treatments. As well as the characterization of the polymer by infrared spectrophotometry with Fourier transform (FTIR), nuclear magnetic resonance (NMR), thermogravimetric analysis (TGA), differential scanning calorimetry (DSC) and dynamic light scattering (DLS).

The alkaline treatment for the release of the cellulose fibers was carried out at 160 ° C for 60 minutes and 35% of soda, having a percentage of extraction yield of 33.66%. In Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR) the characteristic stretches to the cellulose functional groups were identified: OH (3519-3079cm⁻¹), C = O (1683 cm⁻¹), COC (1315 cm⁻¹) and CO (1057 cm⁻¹).

In the design of experiments proposed for the hydrolysis of cellulose with dilute acid, the condition with the highest concentration of glucose was at 180°C for 10 minutes with 10% sulfuric acid at a concentration of 7,201 mg / ml with a percentage of extraction of 17.281% glucose.

The etherification treatment with glucose extracted from tule and 2,2-Bis (allyloxymethyl) -1-butanol gave rise to 6- [2,2- (butylmethoxy-methoxy-1-propenyl) -1-butanol] -oxane -2,3,4,5-tetrol, which was characterized by means of FTIR, the spectrum obtained shows that in the region of 3435 cm⁻¹ stretches of hydroxyl groups (OH), in 3084 cm⁻¹ stretches vinyl (= CH₂), 1672 cm⁻¹ stretch corresponding to terminal vinyl and in 1264 cm⁻¹ COC stretches, in such a way that the presence of the functional groups of the reagents with which the reaction was carried out was checked.

The polyetherization of the glucose polyether was carried out with 6 - [2,2- (butylmethoxy-methoxy-1-propenyl) -1-butanol] -oxan-2,3,4,5-tetrol, obtained by means of radicals free using azobisisobutyronitrile (AIBN). The resulting material was characterized by means of FTIR and NMR. In FTIR the signals of interest were found at 2928 cm⁻¹, 1575 cm⁻¹ and 1263 cm⁻¹, corresponding to vinyl termination stretches, C-O-C and CH₃ respectively. In NMR in the proton run (H1) the aforementioned groups were identified in the range of 8.27 to 7.30 ppm signals corresponding to terminal vinyl, in 1.17 ppm to a CH₃ group and the

COC signal is not appreciated in the C13 spectrum. to the noise presented by this, for which only the signals of terminal vinyl and methyl were taken as reference, for the aforementioned it was concluded that the material synthesized was poly $\{6-$ [2,2- (butylmethoxy-methoxy-1-propenyl) -1-butanol] -oxane-2,3,4,5-tetrol $\}$.

In the DSC-TGA thermal characterization, the polymer showed resistance to temperatures higher than 500 ° C above this temperature it began to lose weight.

In the DLS equipment, the molecular mass of the polymer was determined, being 3.33 x106 Da, the result obtained confirms that the synthesized material corresponds to a polymer since it has more than 3 million Dalton units.

Introducción.

Hoy en día se están buscando nuevas alternativas para la preparación de polímeros que no se han obtenidos a partir de fuentes no renovables como el petróleo. La implementación de recursos renovables, como es la biomasa, es una gran alternativa para disminuir el uso del petróleo como materia prima para la síntesis de materiales.

Para el aprovechamiento de la biomasa lignocelulósica es necesario someter la materia a tratamientos ácidos y alcalinos, para fraccionar cada componente, dándoles una aplicación particular. El recurso natural del cual se tiene mayor interés es el que proviene de residuos agrícolas o especies vegetales que no tiene una aplicación alimentaria o en peligro de extinción.

Las especies vegetales acuáticas son las más abundantes en el planeta, dado que su velocidad de crecimiento es elevada, el lirio acuático y el tule son las más predominantes en ríos, lagos y lagunas en nuestro país.

Actualmente se tienen problemas con estas especies debido a que su crecimiento es muy acelerado y se propaga en gran cantidad en los cuerpos de agua. El tule (*Typha domingensis*) es la especie que presenta mayor problema en la zona conurbada, obstruyendo ríos y lagunas de la región. Está considerada dentro de las 10 malezas acuáticas con mayor impacto económico a nivel mundial; las cuales generan en USA un gasto anual de 100 millones de dólares para su control ^[1]. Esta maleza acuática se propaga por semilla (sexual) y por rizomas (asexual), es nativa de América y está ampliamente distribuida en Eurasia, Medio Oriente y África. La planta adulta posee un total de siete hojas, una altura promedio de 2.44 m y una densidad aproximada de 60 plantas/m² ^[2].

Cuando esta maleza acuática incrementa su población, provoca una diversidad de efectos negativos, como son: disminución de la disponibilidad de agua para riego, al obstruir su paso por los canales que la conducen; causa inundaciones al impedir el paso del agua por drenes de vasos reguladores y la acumulación de sedimentos en presas; en asociación con el lirio acuático (*Eichhornia crassipes*) disminuye los niveles de oxígeno afectando a la fauna

acuática presente; sustituye a la flora local; alberga insectos vectores de enfermedades humanas (malaria y dengue) e interfiere en la pesca y actividades acuáticas recreativas que en algunas zonas representan el principal ingreso de muchas familias ^[3].

Una alternativa para disminuir los efectos del tule es su aprovechamiento como una fuente de material lignocelulósico, debido a la composición que presenta, dentro de sus componentes estructurales se tiene un estimado de celulosa 40.11%, hemicelulosa 37.57% y lignina 22.32%; por lo cual esta especie se eligió para el desarrollo del presente proyecto de investigación, además la recolección de esta especie no causa una afectación a la población ni alteración al ecosistema.

La necesidad de investigar nuevas fuentes para la obtención de polímeros ha llevado a la búsqueda de metodologías para la síntesis de materiales poliméricos a partir de recursos renovables, y dejar atrás el uso de compuestos derivados del petróleo.

Es por ello que surgió esta investigación, con la intención de encontrar una metodología para la síntesis de un nuevo polímero, obtenido a partir de glucosa de tule, la cual fue extraída por medio de tratamientos químicos ácidos y alcalinos, además en la metodología empleada para la síntesis se utilizó el 2,2-Bis(aliloximetil)-1-butanol, con la finalidad de sintetizar un éter de glucosa. El éter obtenido, dentro de su estructura deberá poseer grupos vinil, con los que se llevará a cabo la polimerización.

En este capítulo se dio una breve explicación sobre el motivo de la realización del proyecto, en el capítulo 2 se presentará toda la información que forma parte de los antecedentes en la investigación se hablara sobre el concepto de biomasa y su composición, descripción de la materia prima, los efectos que presentan los tratamientos químicos sobre la biomasa, conceptos de polimerización, glicopolímero y las técnicas de caracterización aplicadas en polímeros; en el capítulo 3 se mostrará la manera en cómo se desarrolló el proceso experimental, y en el capítulo 4 se mostrarán los resultados obtenidos, los cuales se presentan resumidos en tablas y figuras.

Capítulo 1. Antecedentes.

1.1 Biomasa.

La biomasa es un gran depósito de energía y representa solo una pequeña parte en la masa total de la tierra, posee una composición típica desde el punto de vista cualitativo, pero no cuantitativo debido a que la proporción de sus componentes varían dependiendo de su origen, ya sea el tipo de especie y los procesos por el cual ha sido generada.

La biomasa vegetal está compuesta principalmente de hidratos de carbono, en forma de compuestos lignocelulósicos o amiláceos, y en menor proporción proteínas, lípidos y compuestos orgánicos nitrogenados. Su composición varía debido a que las estructuras que forman la biomasa no son homogéneas en todos los órganos y por lo tanto dependen de la proporción de ellos en cada especie definiendo composiciones diferentes en cada caso.

Los diferentes tipos de biomasa pueden clasificarse:

-Natural: producida en ecosistemas naturales.

-Residual:

- Residuos forestales: comprende los residuos de tratamientos silvícolas y de cortes de pies maderables.
- Residuos agrícolas: incluye los restos de podas y rastrojos de cultivos.
- Residuos de industrias forestales: representa los aserraderos, fábricas de pastas y papel.
- Residuos de industrias agrícolas: comprende los bagazos, orujos, cáscaras, vinazas y huesos
- Residuos biodegradables: se refiere a los purines, estiércoles, fangos de depuradoras, domiciliarios, mataderos, harinas cárnicas y sebos.

-Cultivos energéticos:

- Especies leñosas en turnos de 3-4 años y con 280 m³/ha.
- Especies herbáceas.
- Cultivos para producir etanol (trigo, maíz, patata, sorgo azucarero).

- Cultivos para producir biodiesel (colza, girasol, lino oleaginoso).

-Excedentes agrícolas:

- Sirven para completar los cultivos no alimentarios y sustituir parcialmente los biocarburantes y los combustibles fósiles (aceite de algodón, aceite de soja, aceite de cártamo) en su caso.

En la figura 1.1 se muestra una serie de aplicaciones sobre la biomasa desde el punto de vista energético y de su utilización como materias primas para el sector industrial, especialmente en las industrias Químicas.

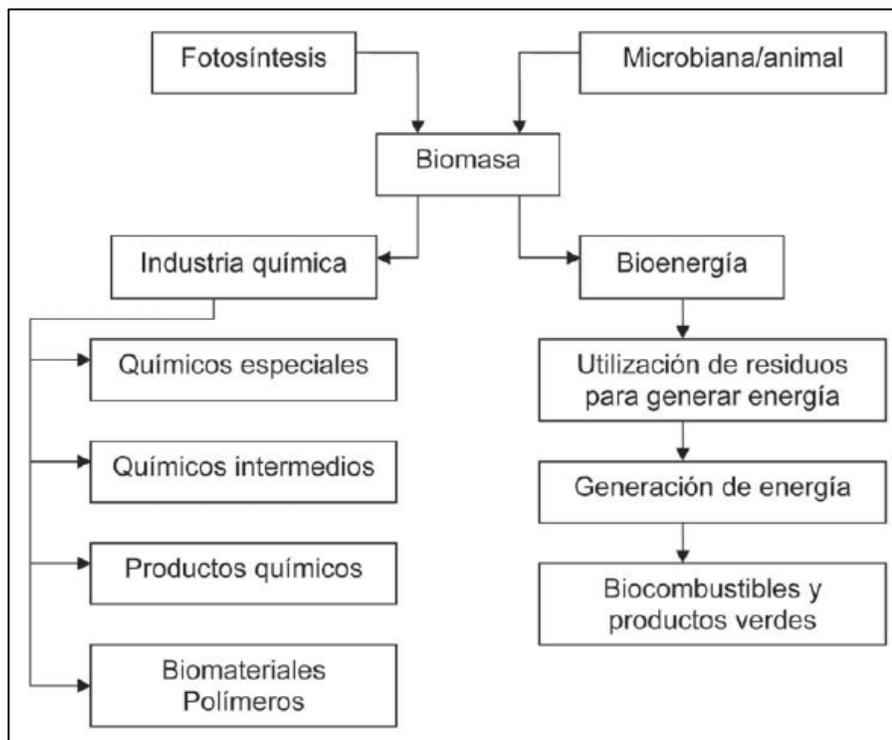


Figura 1.1 Aplicaciones generales de la biomasa^[4].

La fracción de biomasa susceptible de ser utilizada energéticamente, que puede provenir tanto de residuos de procesos industriales, de la recogida selectiva de residuos municipales, de restos de actividades agrícolas, forestales o ganaderas como también de cultivos especialmente pensados con fines energéticos. En la figura 1.2 se muestra un esquema sobre

las fuentes de biomasa y los procesos generales enfocados a un aprovechamiento como fuente de energía [4].

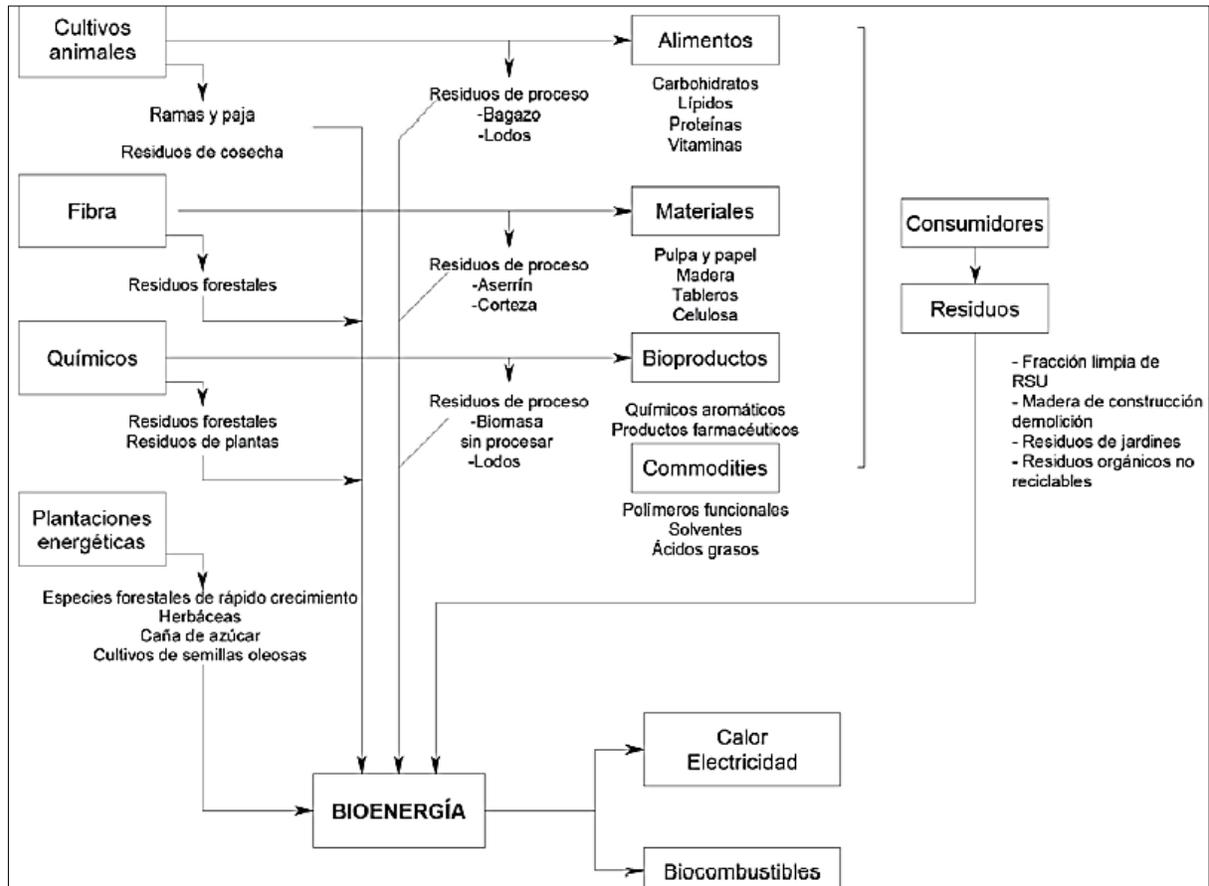


Figura 1.2 Procesos generales de generación y aprovechamiento de la biomasa [4].

1.2 Composición de la biomasa lignocelulósica.

Los residuos de biomasa contienen mezclas complejas de carbohidratos, los carbohidratos son aldehídos o cetonas con múltiples grupos hidroxilo. Estos constituyen la mayor parte de la materia orgánica de la tierra debido a sus funciones importantes en todas las formas de vida. Sirven como almacén de energía, combustible y metabolitos intermediarios. Los polisacáridos son elementos estructurales de las paredes celulares de bacterias y plantas.

Estos se pueden clasificar en estructurales y no estructurales. Se les denominan *carbohidratos estructurales* a los que forman parte de la pared celular de plantas, entre los cuales la celulosa,

hemicelulosa y pectinas pertenecen a la clase general de estos carbohidratos ^[5] los cuales son causantes de la fibrosidad de las plantas y no están disponibles para el metabolismo energético de la planta, son insolubles en agua y poseen una fermentabilidad potencial lenta y limitada.

Los *no estructurales* se almacenan en órganos vegetativos como raíces, rizomas, estolones, coronas y parte inferior del tallo ^[6].

La composición específica de la biomasa, permite establecer los valores a los cuales se transaccionan productos derivados de la biomasa, existe una correlación que establece que los productos de mayor producción como lo es la celulosa, son denominados commodities, a lo que se refiere que su producción es de menor precio.

A continuación, se muestra una breve descripción de los carbohidratos estructurales y no estructurales más importantes contenidos en la materia lignocelulósica:

1.2.1 Celulosa.

Es el biopolímero más abundante y renovable de la tierra, además de ser el componente fundamental de la pared de las células vegetales y representa alrededor de un tercio de la biomasa de las plantas, se encuentra combinada con sustancias como la lignina, hemicelulosas, pectinas y ácidos grasos ^[7].

Consiste en muchas unidades de glucosa que se encuentran conectadas a través de enlaces β -1,4-glicosídicos, la ruptura de estos enlaces se lleva a cabo por medio de ácidos, lo cual conduce a la hidrólisis de la celulosa, dando como resultado glucosa u oligosacáridos ^[8]. En la figura 1.3 se muestra la estructura química de la celulosa, en la cual se observa que presenta una estructura lineal y puede llegar a estar constituido por hasta 15,000 restos de D-glucosa.

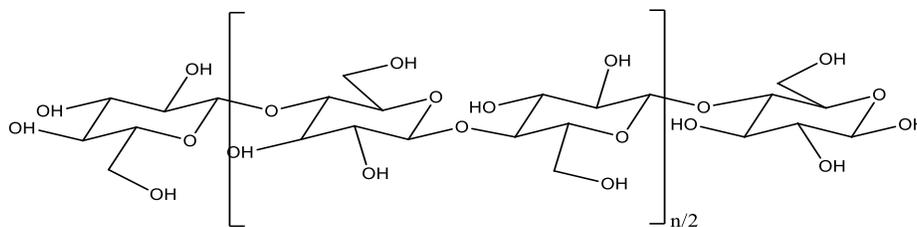


Figura 1.3 Estructura química de la celulosa.

Debido a que éste polímero presenta una estructura muy cohesionada, unida por enlaces de hidrógeno, confiere a las fibras de celulosa una fuerza excepcional y las hace insolubles en agua a pesar de su hidrofiliidad ^[9]. En la figura 1.4 se aprecian los enlaces de hidrógeno intermoleculares entre moléculas de celulosa las cuales son, en gran medida, responsables de la gran fortaleza de la celulosa ^[9]. La utilización de la celulosa se ha limitado a la madera, papel, combustible, entre otros, debido a su estructura sólida compuesta de enlaces β -1,4-glicosídicos de D-glucosa ^[10].

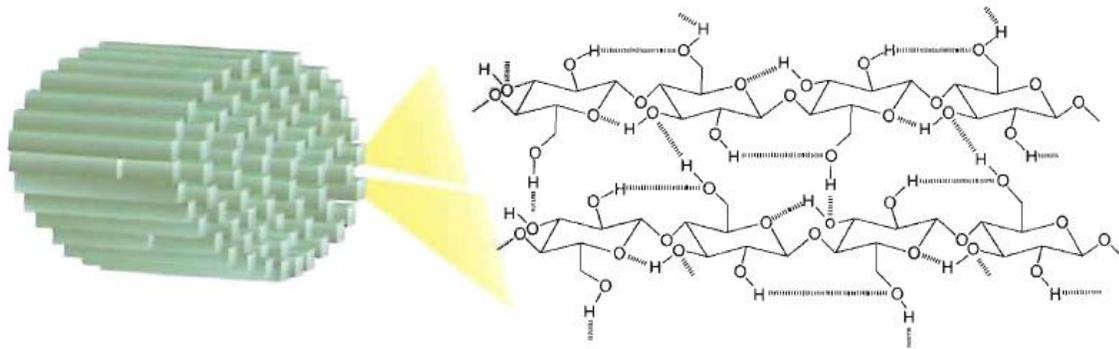


Figura 1.4 Microfibrillas de celulosa^[9].

1.2.2 Hemicelulosa.

Es un heteropolímero compuesto principalmente por los azúcares xilosa y arabinosa, aunque también presenta en su composición glucosa, manosa, galactosa y algunos ácidos glucurónicos ^[11]. Las hemicelulosas son polisacáridos que, excluyendo la celulosa, constituyen las paredes celulares de las plantas y se pueden extraer con soluciones alcalinas diluidas. Las hemicelulosas forman aproximadamente una tercera parte de los carbohidratos en las partes maderosas de las plantas. La estructura química se muestra en la figura 1.5, consiste en cadenas largas con una gran variedad de pentosas, hexosas, y sus correspondientes ácidos úronicos. Se encuentran en frutas, tallos de plantas y en las cáscaras de granos. Aunque las hemicelulosas no son digeribles, pueden ser fermentadas por levaduras y bacterias. El contenido de hemicelulosas, tanto por cantidad como por variedad difiere mucho en función de las distintas especies, tanto si se trata de madera como de otros lignocelulósicos.

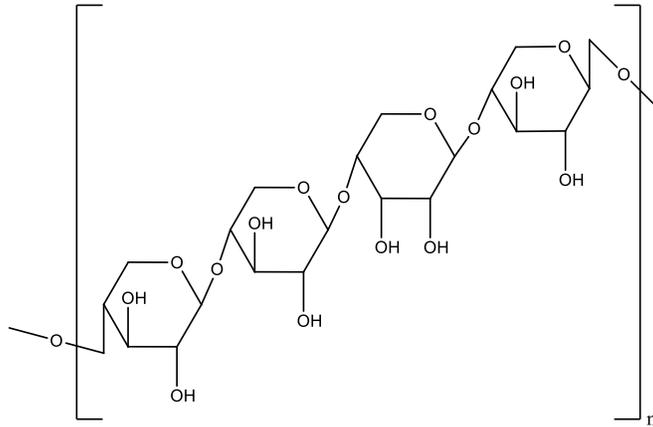


Figura 1.5 Estructura química de hemicelulosa.

1.2.3 Lignina.

Es una macromolécula polifenólica compuesta por diferentes unidades de compuestos fenólicos y aromáticos, tiene como función primordial proporcionar rigidez a la pared celular del material ^[12]. No se conoce la estructura precisa de la lignina, un ejemplo de esta se muestra en la figura 1.6, la forma de la estructura química de la lignina varía debido a la dificultad de extraerla de las plantas, ya que se encuentra covalentemente unida a la celulosa y a otros polisacáridos de la pared celular. Está formada generalmente por tres derivados diferentes de fenilpropanoides ^[13]. Químicamente la lignina es un polímero tridimensional amorfo, constituido a partir de unidades fenilpropano que se unen entre sí por enlaces tipo alquil-aril-éter o carbono-carbono ^[14, 15]. El peso molecular de la lignina es más difícil de determinar a comparación de la celulosa, debido principalmente a las fuertes modificaciones que experimenta su estructura en los tratamientos de separación, a su baja solubilidad y a la tendencia a formar agregados en la mayoría de los disolventes ^[16, 17, 18].

Desde el punto de vista de la morfología de la pared celular, la lignina es una sustancia amorfa de estructura muy variable localizada en la lámina mediana y en la pared secundaria. La asociación entre la lignina y los polisacáridos es la que determina la rigidez y la resistencia estructural del material.

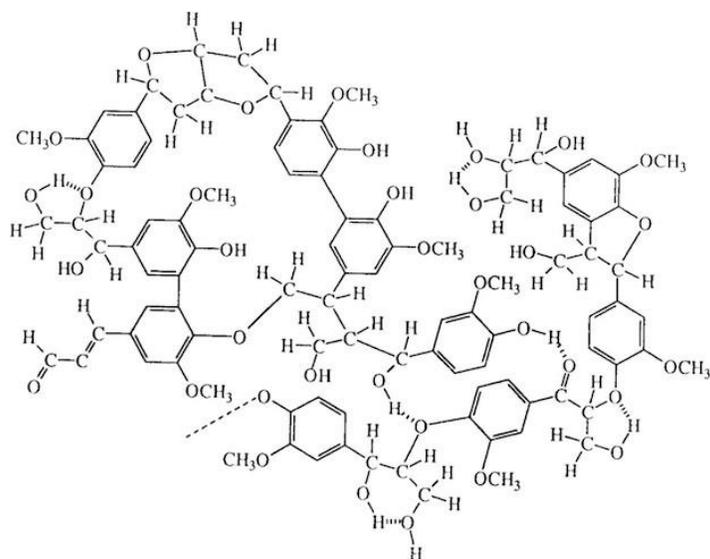


Figura 1.6 Estructura química de lignina^[13].

1.2.4 Monosacáridos constituyentes de polisacáridos estructurales.

Los monosacáridos o azúcares sencillos son derivados de aldehídos o cetonas de cadena lineal y alcoholes polihidroxílicos que contienen tres átomos de carbono, por lo menos. Por ejemplo, la D-glucosa no puede ser hidrolizada para formar sacáridos más simples. Los monosacáridos se clasifican de acuerdo con la naturaleza química de su grupo carbonilo y del número de sus átomos de carbonos como se muestra en la figura 1.7.

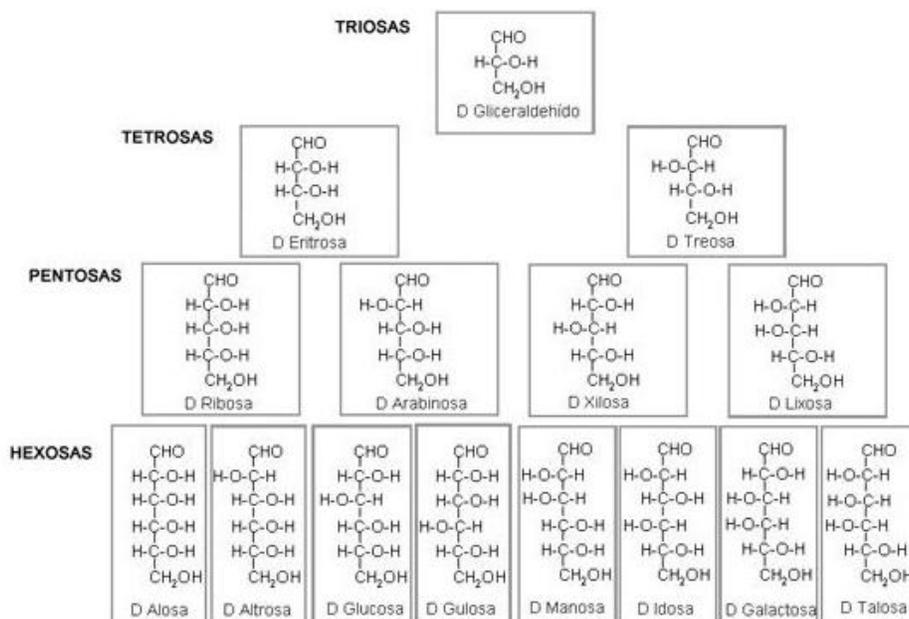


Figura 1.7 Clasificación de monosacáridos de acuerdo al número de carbono^[19].

Si el grupo carbonilo es un aldehído, como ocurre con la glucosa, el azúcar es una aldosa. Si el grupo carbonilo es una cetona, como en la ribulosa, el azúcar es una cetosa. Los monosacáridos más pequeños, los que tienen tres átomos de carbono, son triosas. Los que contienen cuatro, cinco, seis, siete, átomos de carbono son, respectivamente, tetrasas, pentosas, hexosas, heptosas. Los azúcares generalmente presentan estructura cíclica.

La fórmula molecular de D-glucosa indica que sus seis átomos de carbono, excepto carbono (1) y carbono (6), son centros quirales, de modo que D-glucosa es uno de los 16 estereoisómeros que comprenden a todas las aldohexosas posibles. De acuerdo con la convención de Fischer, los D-azúcares poseen la misma configuración absoluta en el centro asimétrico más alejado separado de su grupo carbonilo, que el D-gliceraldehído.

Los L-azúcares, de acuerdo con esta convención, son imágenes especulares de sus contrapartidas D, tal y como se muestra en la figura 1.8 en la proyección de Fischer de la glucosa.

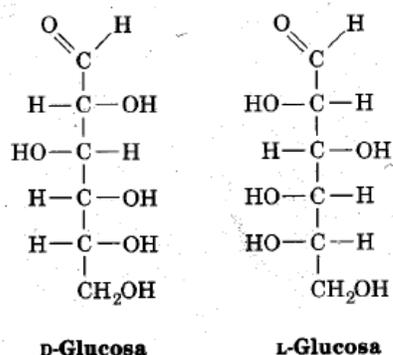


Figura 1.8 Proyecciones Fisher de glucosa D y L ^[7]

La D-Glucosa, es la única aldosa que aparece corrientemente en la naturaleza en forma de monosacárido. Sin embargo, ella y otros varios monosacáridos, entre los que se encuentran D-gluceraldehído, D-ribosa, D-manosa y D-galactosa, son componentes importantes de moléculas biológicas mayores. Los L-azúcares son mucho menos abundantes biológicamente que los D-azúcares.

Los azúcares generalmente presentan estructura cíclica. El grupo carbonilo es un grupo muy reactivo y forma hemiacetales al reaccionar con un grupo hidroxilo (–OH) propio o de otra molécula. En el caso de que la cadena del azúcar sea lo suficientemente larga (4-6 átomos de carbono), uno de los grupos hidroxilo de la misma molécula puede reaccionar con el grupo

carbonilo para formar un hemiacetal cíclico, que se halla en equilibrio con la forma de aldehído o de cetona libre. Los éteres de hidroxilo hemiacetalico reciben el nombre de glucósidos ^[20].

De esta forma, la glucosa, el monosacárido más común puede ser representado de tres maneras como se muestra en la figura 1.9

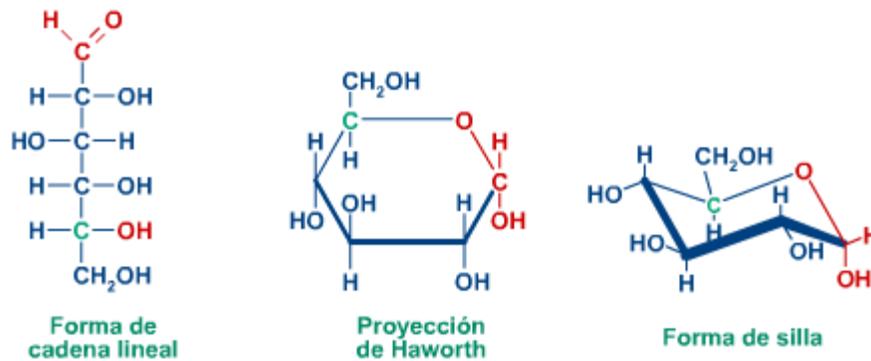


Figura 1.9 Estructuras típicas de glucosa^[20].

1.3 Materia prima para la investigación (*Typha domingensis*).

Para llevar a cabo esta investigación, se decidió utilizar la especie acuática *Typha domingensis*, debido a las características que esta posee, las cuales serán descritas a continuación. El tule (*Typha domingensis*) es considerada como una planta hidrófita enraizada emergente, como se puede observar en la figura 1.10, esta planta se encuentra enraizada al sustrato con sus tallos y parte de sus estructuras vegetativas sumergidas, mientras que parte de las hojas y sus órganos reproductivos están por encima de la superficie del agua ^[21].



Figura 1.10 Imagen de *Typha Domingensis* en su ecosistema.

De acuerdo a información de la comisión nacional para el conocimiento y uso de la biodiversidad (CONABIO) [22], a esta especie se le han dado diversos nombres comunes como: chuspata, espadaña, pelusa, tule, tule ancho. Es una planta propia de ambientes lénticos de agua dulce como lagos, presas, pantanos, zonas inundadas, y de ambientes lóticos como manantiales, zanjas y canales. Florece y fructifica durante todo el año, en la Tabla 1.1 se resume la clasificación taxonómica actualizada de esta planta acuática.

Tabla 1.1 Clasificación taxonómica del tule^[22].

Reino:	Plantae.
Subreino:	<i>Viriplantae</i>
División:	<i>Tracheophy</i>
Clase:	<i>Magnoliopsida.</i>
Orden:	<i>Poales.</i>
Familia:	<i>Typhaceae</i>
Género:	<i>Typha</i>
Especie:	<i>T. Domingensis</i>

1.3.1 Descripción e identificación.

Hábito y forma de vida: Hierba acuática, enraizada, emergente.

Tamaño: Hasta de 2.5 m de altura.

Los componentes de la especie tule (*Typha domingensis*) se muestran en las figuras 1.11.a Tallo, 1.11.b Hoja, 1.11.c Inflorescencia, 1.11.d Hábitat característico. A continuación, se muestra una breve descripción de cada sección de esta especie.

Hojas: Generalmente igualan o exceden la altura de las espigas, la parte superior de las vainas esta atenuada hacia la lámina, generalmente son asimétricas, las láminas llegan a medir hasta 1.5 m de largo y de 0.8 a 1.3 cm de ancho.

Inflorescencia: De color moreno claro, con una o más brácteas foliáceas caducas.

Espiga/Flores: Las espigas masculinas miden hasta 42 cm de largo y 1.5 cm de ancho, se encuentran separadas de las femeninas por 0.7 a 5 cm, algunas veces con incisiones que forman segmentos largos, frecuentemente coloreadas con puntos morenos en el ápice.

Frutos y semillas: Fruto fusiforme, de 1 a 1.5 mm de largo.



Figura 1.11 Componentes de tule (*Typha domingensis*): a) Tallo, b) Hoja, c) Inflorescencia, d) Hábitat característico.

Dentro del área de estudio ésta especie tiene valor económico porque es usada para la elaboración de artesanías, sombreros, petates, canastos, respaldos y asientos de sillas, artículos para el hogar. En otras partes se usa para la construcción de techos de chozas, para depurar aguas residuales, como forraje, como ornamental, la inflorescencia mezclada con lodo sirve para construir los pretilos y clacuales, y su tallo es comestible.

La contaminación del agua le permite propagarse vegetativamente de una manera muy rápida, por lo que en algunos ecosistemas acuáticos cubre grandes extensiones impidiendo su uso. Su crecimiento afecta desfavorablemente la presencia de otras plantas hidrófilas enraizadas ^[23].

Cabe señalar que los usos y aplicaciones indicadas en párrafos anteriores, no es el que se le da en nuestra zona conurbada, si bien ésta especie tiene propiedades para la remoción de metales pesados en aguas contaminadas, la existencia de ésta es favorable para la depuración de estos contaminantes, pero su crecimiento acelerado indicado anteriormente aunado a que no existe un control de la sobrepoblación del tule en los ríos y lagunas de nuestra zona conurbada trae consigo problemas considerándola como una especie acuática invasora,

aunque en base a información de CONABIO [22], el tule en nuestra región todavía no es considerada como especie invasora, pero por las características que presenta puede llegar a serlo.

1.3.2 Distribución de *Typha domingensis*.

Esta especie es originaria de América e igualmente se encuentra ampliamente distribuida en Eurasia y África. Se tiene conocimiento que en México ésta especie es perteneciente a varios estados como se puede apreciar en la figura 1.12 en la cual se muestra que esta especie se encuentra en Aguascalientes, Baja California Norte, Baja California Sur, Campeche, Chiapas, Coahuila, Colima, Distrito Federal, Durango, Guanajuato, Hidalgo, Jalisco, Estado de México, Michoacán, Morelos, Nayarit, Nuevo León, Oaxaca, Puebla, Querétaro, Quintana Roo, Sinaloa, Tlaxcala, Tamaulipas, Veracruz y Yucatán. [22]

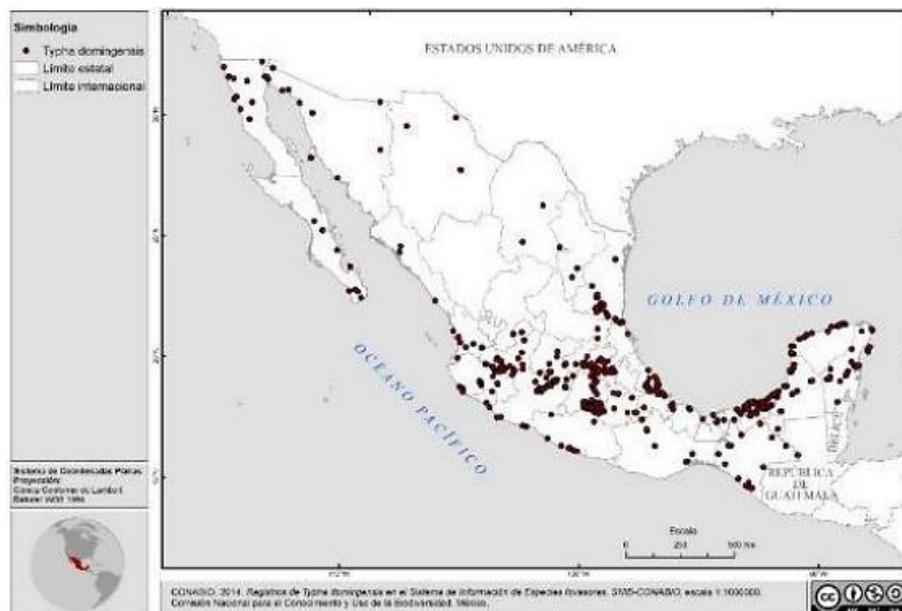


Figura 1.12 Distribución de *Typha domingensis* en México. Tomado del Sistema de Información de Especies invasoras (SNIB-CONABIO) [22].

1.3.3 Composición general de la especie.

La especie vegetal acuática, tule, está compuesta por tres componentes estructurales de los cuales, por medio de tratamientos químicos, es posible determinar la composición de cada uno y otros derivados. Esta especie fue caracterizada en base a las normas Tappi, las cuales se

presentan en la figura 1.13, en la que se presenta la norma y el tipo de determinación de cada una.

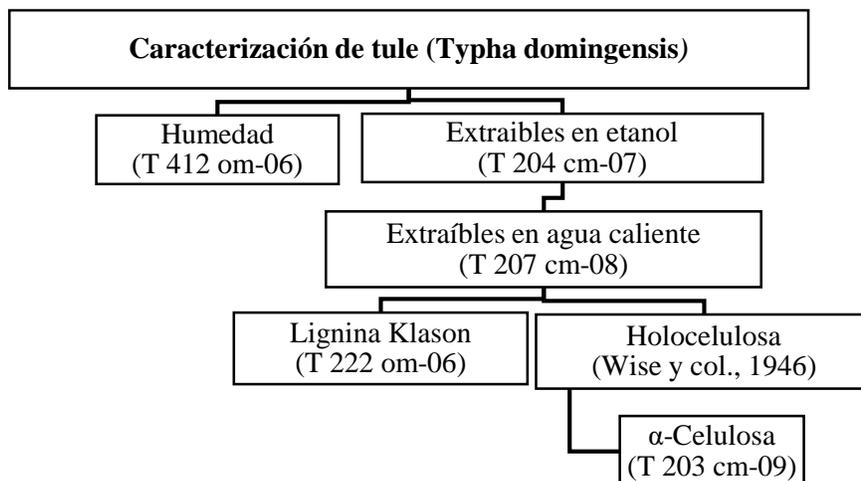


Figura 1.13 Secuencia de análisis en la caracterización química de la planta tulle^[24].

Las determinaciones mostradas en la figura 1.13 se llevaron a cabo en base a 100 g de materia en base seca. En la tabla 1.2 se muestran los resultados que fueron obtenidos experimentalmente en un trabajo previo^[24].

Tabla 1.2 Resultados de caracterización de la planta tulle^[24].

DETERMINACIONES	Tule (<i>Typha domingensis</i>)	g / 100 g. materia base seca
		Humedad
	Sequedad	89.21
	Extraíbles con etanol	11.33
	Extraíbles en agua caliente	9.82
	Lignina Klason	17.60
	Holocelulosa	61.25
	• α-Celulosa	24.57

1.4 Efecto de los tratamientos químicos sobre la fracción celulósica.

Para la separación selectiva de la fracción celulósica de los materiales lignocelulósicos, entre todos los tratamientos propuestos de acuerdo a bibliografía se incluyen: molienda, pirólisis, vapor en alta presión, hidrólisis ácida o alcalina, tratamiento con gases (dióxido de nitrógeno, dióxido de azufre, ozono), tratamiento con peróxido de hidrógeno, explosión con vapor, oxidación húmeda y tratamiento biológico [25].

La hidrólisis es un proceso químico que divide la molécula de celulosa por la acción de la molécula de agua. Los materiales lignocelulósicos generalmente requieren un primer paso de pretratamiento debido a la asociación entre los tres principales componentes de la pared celular de la planta (fracciones de celulosa, hemicelulosa y lignina) como se aprecia en la figura 1.14, esto con el fin de poner a disposición los azúcares monoméricos encontrados en estas fracciones. La compleja estructura de la celulosa (celulosa, hemicelulosa y lignina) son divididas en diferentes procesos para conseguir una solución azucarada, y eliminar productos de descomposición de los azúcares que pueden inhibir. Los ácidos o bases promueven la hidrólisis y mejoran el rendimiento de recuperación de glucosa a partir de celulosa por medio de la remoción de la hemicelulosa y lignina durante el pretratamiento. Los más comunes son H_2SO_4 y $NaOH$, respectivamente [26].

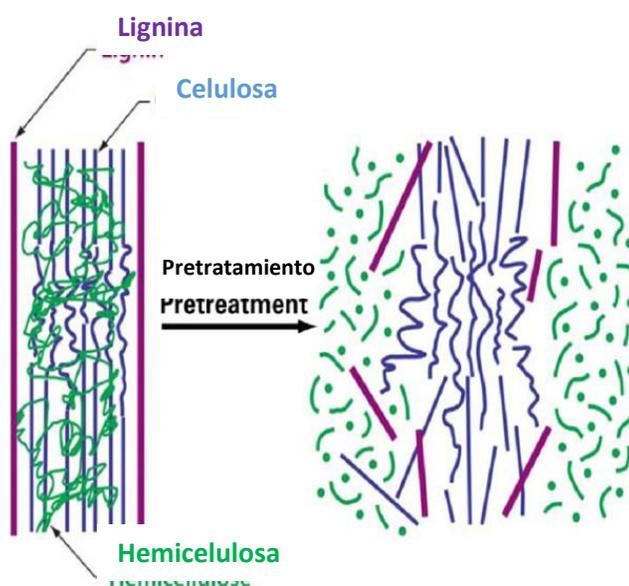


Figura 1.14 Efecto de los pretratamientos en el material lignocelulósico [25].

1.4.1 Inhibidores generados en tratamientos químicos.

Dependiendo de las condiciones del pretratamiento (temperatura, presión, tiempo de residencia), de la materia prima (maderas duras, maderas blandas o residuos agrícolas) y de la presencia de catalizadores ácidos, la naturaleza y la concentración de compuestos potencialmente tóxicos generados pueden variar en gran medida [27]. Estos compuestos potencialmente inhibidores para los microorganismos encargados de la etapa de fermentación pueden clasificarse de acuerdo a su estructura química en ácidos carboxílicos (alifáticos), furaldehídos y compuestos aromáticos (véase figura 1.15). Los furaldehídos generados son principalmente furfural, producto de degradación de las pentosas e 5-hidroximetilfurfural (HMF), producto de degradación de la celulosa [28].

Los compuestos aromáticos son compuestos fenólicos procedentes de la degradación de la lignina siendo el 4-hidroxibenzaldehído, vainillina, sinringaldehído, acetosiringona, ácido vainíllico y ácido sirínico los que se suelen encontrar en mayor medida [29].

Los ácidos alifáticos que pueden generarse son principalmente el ácido acético, producido a partir de los restos acetilo de las hemicelulosas, y el ácido fórmico y levulínico, procedente de la degradación del furfural y hidroximetilfurfural (HMF)[30]. El ácido oxálico, ácido bicarboxílico, se genera de la reacción del ozono con compuestos de degradación de la lignina como la vainillina o el siringaldehído.

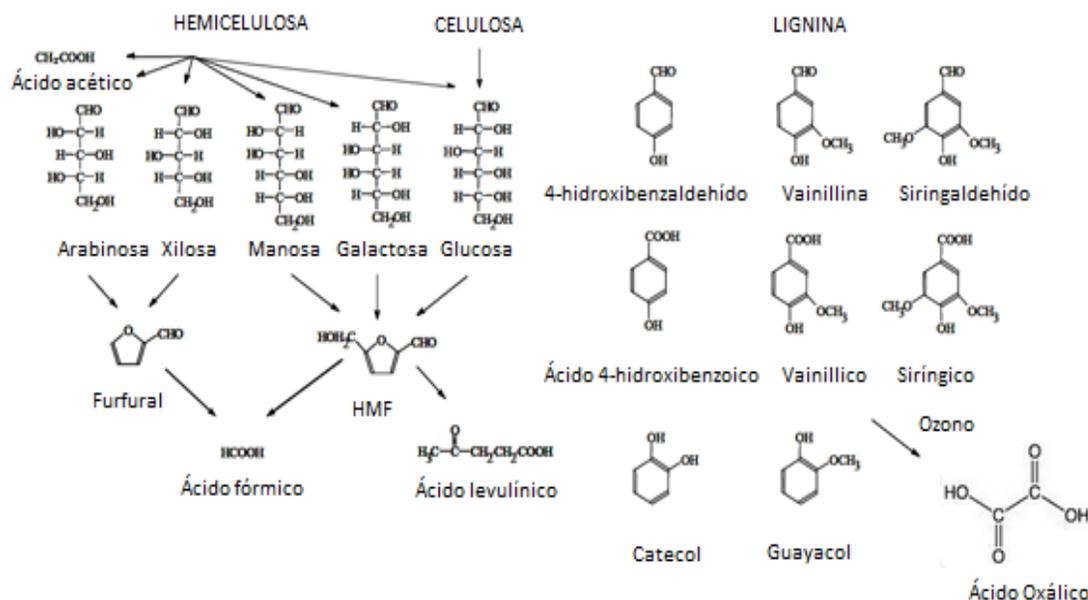


Figura 1.15 Compuestos potencialmente inhibidores generados del pretratamiento de materiales lignocelulósicos [31].

Estos compuestos pueden eliminarse por medio de lavado o de mecanismos de detoxificación como el uso de carbonato cálcico o carbón activo en una gran variedad de materiales lignocelulósicos [32, 33, 34, 35].

1.4.2 Hidrólisis alcalina.

Existen tres grandes líneas de aprovechamiento químico a nivel industrial de la celulosa, basadas en su estructura fibrosa, su naturaleza química y su degradación hidrolítica [36]. Cualquiera que sea el tipo de aplicación, ésta lleva consigo la separación de la celulosa y de la lignina, constituyentes principales de la madera, mediante la solubilización de una u otra. La fabricación de pastas celulósicas destinadas a la industria papelera exige solubilizar la lignina en mayor o menor grado. En la actualidad, la separación de ambos componentes se realiza bajo diferentes procesos, dando como resultado los diversos métodos de obtención de pastas. La deslignificación se lleva a cabo por solubilización de la lignina y separación de las fibras. Y debido a que la lignina es soluble en agua, estos procesos de deslignificación, emplean en su mayoría ácidos o álcalis que incrementan las propiedades hidrofílicas de estos componentes (celulosa y lignina).

Los procesos alcalinos son los más enérgicos, logrando una buena separación de la celulosa. El primer método químico desarrollado para la obtención de pasta celulósica, fue el proceso a la sosa, consiste en la cocción de astillas de madera a altas temperaturas, 170°C, con una disolución de hidróxido sódico al 5-10% en peso, denominada lejía o licor de cocción. Finalizada la cocción se obtienen la pulpa y las llamadas lejías negras compuestas fundamentalmente por lignofenolatos sódicos en disolución, productos de degradación de la lignina, celulosa hidrolizada y sales sódicas de ácidos orgánicos [37]. En el pulpeo o cocción química del material lignocelulósico, la deslignificación se lleva a cabo con la ayuda de agentes químicos ácidos o básicos, en digestores o reactores a altas presiones y temperaturas, provocando que las ligninas y las hemicelulosas se mezclan en las lejías residuales en forma de sales o fenolatos solubles, producidos en el proceso de pasteado [38,39].

Las tecnologías de pretratamiento alcalinas, son similares a las que se utilizan para la fabricación de papel Kraft. Además, los pretratamientos alcalinos eliminan el acetilo y las diversas sustituciones de ácido urónico sobre la hemicelulosa [40].

El proceso sosa-antraquinona es un proceso reciente propuesto por Holton, que deriva del proceso a la sosa en el cual se añade un catalizador, la antraquinona (AQ). Este aditivo presenta dos efectos fundamentales como son: la aceleración del proceso de deslignificación alcalino y la estabilización de los carbohidratos, mejorando además los rendimientos respecto al proceso Kraft o sosa convencional en las mismas condiciones de operación. Las condiciones del proceso en cuanto a temperatura y tiempos de reacción, se encuentran típicamente en el mismo rango que el proceso Kraft. La antraquinona también se adiciona en ocasiones para mejorar el proceso Kraft ^[41] o en otras variantes como en el caso del proceso sosa-AQ-peróxido ^[42]. En cualquier caso, el uso de este catalizador se limita tan sólo a un 0.1% en base al lignocelulósico seco, que es el máximo nivel aceptado que la US Food and Drug Administration ha fijado para la producción de papel de uso alimenticio.

Además, el hidróxido de sodio (NaOH), el hidróxido de potasio (KOH), el hidróxido de calcio (Ca(OH)₂) se usan generalmente para el pretratamiento alcalino. La hidrólisis alcalina implica la esterificación de enlaces éster intermoleculares que reticulan hemicelulosas de xilano y otros componentes, y la porosidad de la biomasa lignocelulósica aumenta con la eliminación de los enlaces cruzados ^[43]. La eficiencia de la hidrólisis alcalina depende del sustrato y de las condiciones de tratamiento, ya que es más efectiva para la biomasa con bajo contenido de lignina, como los residuos agrícolas. El hidróxido de sodio aumenta la superficie interna de la celulosa, disminuye el grado de polimerización y cristalinidad e interrumpe la estructura de la lignina ^[44]. El autor ^[45] informó que la cal oxidativa el pretratamiento de álamo a 150 °C durante 6 h eliminó eficientemente el 77.5% de la lignina de las astillas de madera y también mejora el rendimiento de glucosa. El pretratamiento con cal oxidativa disminuye los contenidos de acetilo y lignina para obtener una alta digestibilidad, independientemente de la cristalinidad ^[46].

Un estudio ha informado que, para el pretratamiento de paja de arroz con productos químicos alcalinos, es decir, NaOH, Ca(OH)₂ y KOH en 24 horas a 25°C, entre todos los productos químicos alcalinos, NaOH (6% de carga química, g / g paja de arroz seco) fue la mejor sustancia química que puede lograr un aumento del 85% del rendimiento de glucosa por hidrólisis enzimática ^[47].

1.4.3 Hidrólisis acida.

La hidrólisis ácida libera oligómeros y monosacáridos y ha sido modelada como una reacción homogénea en la que el ácido cataliza la descomposición de celulosa a glucosa seguida de la descomposición de la glucosa para dar lugar hidroximetilfurfural (HMF) y otros productos de degradación ^[48]. La celulosa y hemicelulosa son hidrolizados por enzimas o por ácidos diluidos para obtener polisacáridos. Cuando el proceso de conversión de celulosa a glucosa ocurre con rendimientos económicamente viables, se debe al uso de un catalizador. Las tres principales clasificaciones de catalizadores son: enzimático, ácido concentrado y ácidos diluidos ^[26]. Los ácidos minerales, tales como HCl y H₂SO₄, son los más usados en la hidrólisis de la celulosa. Para obtener los azúcares de la biomasa, está se trata con ácidos o enzimas que facilitan su obtención. La hidrólisis con ácido diluido incrementa la accesibilidad al área superficial del material, remueve hemicelulosa y altera la estructura de la lignina. Las ventajas de la hidrólisis ácida son que el ácido puede penetrar la lignina sin un tratamiento previo, la velocidad de la hidrólisis ácida es más rápida que la hidrólisis enzimática, pero además la glucosa se degrada rápidamente bajo condiciones acidas ^[49]. Los procesos de hidrólisis ácida emplean usualmente ácido sulfúrico y ácido clorhídrico en concentraciones de 1-10% usando una temperatura moderada (dentro del rango de 100-150°C)^[50].

Pero en estas condiciones relativamente moderadas de operación resulta menos eficaz en la formación de hexosas ^[51]. Esto es debido principalmente a la descomposición de los monosacáridos a compuestos no deseables durante la hidrólisis. Estos compuestos incluyen furfural el cual es un producto de la deshidratación de pentosas, además del hidroximetilfurfural el cual es producto de la deshidratación de hexosas. Estos compuestos junto con el ácido acético que se forman durante la descomposición inicial de las hemicelulosas, como resultado de la hidrólisis de los grupos acetilo relacionado con el azúcar, inhibir la posterior fermentación, que conduce a la reducción de rendimiento de etanol ^[52]. Un proceso secuencial de hidrólisis ácida e hidrólisis alcalina es capaz de promover una eficiente liberación de las fibras de celulosa [53]. A continuación, se presentan algunas reseñas sobre las investigaciones que sirvieron como base para establecer las condiciones adecuadas en la hidrólisis ácida:

Dussan Kelly et al. en 2014, trabajaron con la celulosa del bagazo de caña empleando ácidos para el rompimiento de los enlaces β -1,4 glucosídicos característicos por medio de la hidrólisis del polímero de celulosa, dando como resultado moléculas de glucosa y oligosacáridos. Los ácidos minerales, tales como HCl y H₂SO₄, los cuales son usados para la hidrólisis de la celulosa. Los materiales lignocelulósicos, usualmente requieren un primer paso de pretratamiento debido a la asociación que presenta entre los tres mayores componentes de la pared celular de la planta (celulosa, fracciones de hemicelulosa y lignina). El pretratamiento usando ácido sulfúrico diluido (hidrólisis ácida) es el más utilizado por tener una alta eficiencia en el proceso de separación de los componentes de la pared celular resultando hemicelulosa hidrolizados y celulignina. Un segundo paso para obtención de la celulosa presente en la celulignina, estudios han demostrado la necesidad de un paso de deslignificación usando hidróxido de sodio como catalizador. La celulosa es sometida a hidrólisis con ácidos o enzimas para solubilizar la glucosa. En este estudio utilizaron el bagazo de caña como un sustrato para producción de etanol, investigaron las condiciones de optimización para la hidrólisis ácida de la fracción celulósica. Evaluaron el efecto de la temperatura, concentración de ácido y la eficiencia de extracción en el tiempo de reacción, para lo cual aplicaron un diseño factorial completo 2³, en el que incluía tres réplicas en el punto central. En este estudio, variaron las condiciones de la hidrólisis de celulosa en términos de la concentración de ácido sulfúrico con concentraciones de 2-6 % w/v, el tiempo de reacción de 10 a 30 minutos y la temperatura de incubación de 155-175 °C. Los experimentos fueron llevados a cabo en un recipiente de acero inoxidable. La eficiencia máxima de extracción fue de 71%, bajo las condiciones de 2% H₂SO₄ a 155°C por 10 minutos, los componentes centrales en el hidrolizado fueron glucosa (22.74 g/L), 5-hidroximetilfurfural (0.206 g/L), furfural (0.145 g/L) y no se detectó la formación de xilosa, arabinosa, celobiosa y ácido acético [54].

Orozco et al. en 2007, realizaron la hidrólisis ácida de césped y celulosa empleando ácido fosfórico por medio de un sistema de reactor de microondas. Los datos experimentales y el análisis cinético indican que este es un proceso potencial para la hidrólisis de la hemicelulosa y celulosa, debido a la rápida reacción de hidrólisis a temperatura moderada. Estipularon que las condiciones óptimas para la hidrólisis de césped se encontraron a concentración de ácido fosfórico al 2.5% a una temperatura de 175°C [55].

Lenia et al. en 2009 establecieron las condiciones óptimas para la hidrólisis ácida de biomasa hemicelulósica de cáscara de patata. La reacción de hidrólisis se llevó a cabo en un reactor batch de alta presión de 1 L, usando ácido fosfórico diluido. El análisis de la velocidad de descomposición de la biomasa hemicelulósica (es decir, celulosa, hemicelulosa y lignina) se realizó utilizando cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) de los productos de reacción, concretamente, azúcares de 5 y 6 carbonos. Incluyeron los parámetros del proceso investigados, la temperatura del reactor (135 °C a 200 °C) y la concentración de ácido (2.5% hasta el 10%). El análisis de los productos del reactor indicó que era evidente la alta conversión de celulosa a glucosa, aunque la conversión de arabinosa era bastante baja debido a la falta de estabilidad térmica. Sin embargo, alcanzaron un rendimiento total de azúcar de 82.5% en condiciones óptimas. Este rendimiento óptimo se obtuvo a 135 °C y al 10% de concentración de ácido. Obteniendo 55.2 g de azúcar por cada 100 g de cáscara de patata seca después de un tiempo de 8 min. El trabajo indica que el uso de la cáscara de patata puede ser una opción viable como material para la producción de azúcares para la síntesis de biocombustibles, debido a su bajo costo y altos rendimientos de azúcar ^[56].

1.4.4 Hidrólisis enzimática.

Los enzimas son proteínas especializadas en la catálisis de las reacciones biológicas. Se encuentran entre las más notables de las biomoléculas conocidas debido a la extraordinaria especificidad y a su poder catalítico, que es mucho mayor que la de los catalizadores hechos por el hombre ^[57].

Las actividades enzimáticas que intervienen en el proceso de hidrólisis del material lignocelulósico, son de diversa índole. Las enzimas delignificantes, son secretadas por hongos, son las enzimas oxidativas extracelulares (oxidoreductasas) tales como lignina peroxidasa (LiP), manganeso peroxidasa (MnP), lacasa o monofenil oxidasa (Lac) y oxidasas productoras de H₂O₂. La actividad de MnP y LiP se incrementa por el uso de alcohol veratrílico mientras que la lacasa, mejora su actividad en presencia de alcohol benzílico y ácido verátrico ^[58]. La degradación enzimática de la celulosa a glucosa, está acompañada por la acción sinérgica de tres enzimas: endo- glucanasas, exoglucanasas y β- glucosidasas ^[59]. En la degradación de los componentes principales de la hemicelulosa (mannanos, xilanos, arabinanos, galactanos), intervienen enzimas como mananasa y xilanasa, de las cuales la β-

xilosidasa degrada los xilo- oligosacáridos. La α - arabinosidasa y la α - galactosidasa liberan moléculas de arabinosa y galactosa, mientras la acetil xilan esterasa (AXE) rompe grupos acetil, desde unidades de azúcar de xilanos. La α - glucoronidasa, separa principalmente ácido urónico a partir de (arabino) glucuronoxilanos y la α -arabinofuronosidasa el cual extrae arabinosa de arabino(glucorano) xilanos ^[60,61]. Compañías como Genecor International® y Novozymes Biotech®, han reportado desarrollos de tecnologías que han reducido los costos de celulasas desde 4.5 dólares por galón de etanol a 20 centavos por galón de etanol^[62].

1.5 Polimerización.

Un polímero es una macro molécula formada por la unión covalente de unidades estructurales básicas. Las unidades que se repiten se llaman monómeros y pueden ser de uno o varios tipos. Todo monómero debe tener dos o más sitios de enlace, los cuales representan su funcionalidad; dependiendo de ésta, los monómeros que constituyen al polímero serán lineales o ramificados. Cuando la molécula polimérica tiene la estructura de una red y abarca un tamaño macroscópico considerable del material, se dice que constituye un gel. Los polímeros pueden estar formando mezclas, en solución o concentrados al 100%. Aunque la mayoría de los polímeros son orgánicos con un esqueleto basado fundamentalmente en átomos de carbono, los hay también inorgánicos basados en átomos de silicio. El peso molecular de una cadena polimérica puede ser muy variable.

El peso molecular de un polímero puede variar desde 10,000 a 20,000 Dalton considerándose de bajo peso molecular, hasta los de alto peso molecular, en los que el peso molecular puede alcanzar varios millones. Si el polímero presenta un peso molecular menor a 10,000 Dalton se denomina oligómero, que estaría formado por unos pocos monómeros. El número de monómeros que conforman el polímero está determinado por el grado de polimerización al sintetizar el polímero ^[63].

Los métodos para la obtención de polímeros conocidos son: polimerización por reacción en etapas (condensación), polimerización radical en cadena (adición), polimerización en cadena iónica y de coordinación (adición). El método empleado para la polimerización de monómeros vinílicos es la polimerización vinílica, la cual se empleó durante la síntesis ^[64].

La mayor parte de los compuestos orgánicos implican enlaces covalentes o de electrones compartidos. Los enlaces simples covalentes tienen electrones de enlace que se distribuyen en el interior de un volumen considerable de espacio entre los dos núcleos y simétricamente alrededor de la línea que los une. En un doble enlace, la presencia de un segundo par de electrones elimina la simetría axial, por modificación del volumen interior en el que se encuentran los electrones, dando lugar a una banda, como una cinta, que se extiende entre los dos núcleos. Como consecuencia de este hecho, se forma una barrera de energía que impide la rotación libre, y como resultado es posible la existencia de isómeros cis-trans. El hecho de que el segundo par de electrones se mantenga solo con cerca de un 70% de fuerza con que se mantiene el primer par de electrones, justifica la alta polarizabilidad y reactividad química en los compuestos insaturados.

Algunas reacciones orgánicas tienen lugar a través de intermediarios, que poseen un número impar de electrones y consecuentemente un electrón desapareado. Tales intermediarios se conocen como radicales libres. Estos pueden obtenerse por distintos caminos, que van desde la descomposición térmica de peróxidos orgánicos, hidroperóxidos y compuestos azo o diazo.

La polimerización por radicales libres, consiste de 3 etapas: iniciación, propagación y terminación. A continuación, se presenta una descripción correspondiente a cada etapa.

Iniciación: En esta etapa se generan los radicales libres en presencia de un monómero vinílico, el radical se adiciona al doble enlace con la producción de otro radical. En la figura 1.16 se muestran las reacciones que ocurren durante esta etapa, el inciso a nos muestra la generación del radical (R) que se produce por la descomposición del iniciador (I); mientras que en el inciso b se presenta la reacción entre el radical y el monómero.

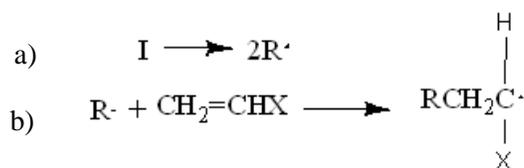


Figura 1.16 Reacciones presentes en la etapa de iniciación: a) descomposición del radical y b) adición del radical al monómero^[64].

La eficiencia con la que los radicales inician las cadenas pueden estimarse por comparación de la cantidad de iniciador descompuesto con el número de cadenas poliméricas formadas.

En otras polimerizaciones es más útil determinar el número de moléculas de polímero formadas a partir del peso molecular medio en número del polímero. La mayor parte de los iniciadores en las polimerizaciones vinílicas típicas tienen eficiencias entre un 60 y 10%, en los cuales todos los radicales forman cadenas poliméricas.

Propagación: La cadena radical formada en la etapa de iniciación es capaz de adicionar monómeros sucesivos para propagar dicha cadena como se muestra en la figura 1.17.

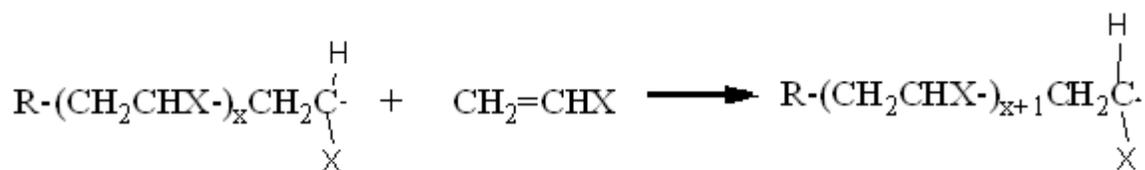


Figura 1.17 Reacción de propagación de un monómero vinílico^[64].

Terminación: La propagación podría continuar hasta que el suministro de monómero se agotase, si no fuera por la fuerte tendencia de los radicales para reaccionar en pares formando un enlace covalente de electrones apareados con pérdida de la actividad del radical. Esta tendencia es compensada en una polimerización radical por la pequeña concentración de especies radicales comparada con la de los monómeros.

Combinación o acoplamiento.

Esta da como resultado la formación de un polímero (muerto) con un tamaño igual a la suma de las unidades monoméricas de que constaba cada radical, la reacción correspondiente a este tipo de terminación se muestra en la figura 1.18.

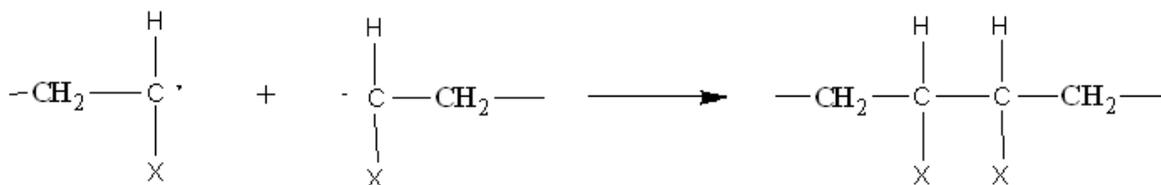


Figura 1.18 Reacción de terminación por combinación^[64].

Desproporción.

En esta etapa el hidrógeno se transfiere, dando como resultado la formación de dos moléculas, en las que se producen, en una, un grupo insaturado terminal, y en la otra, uno saturado como se observa en la figura 1.19.

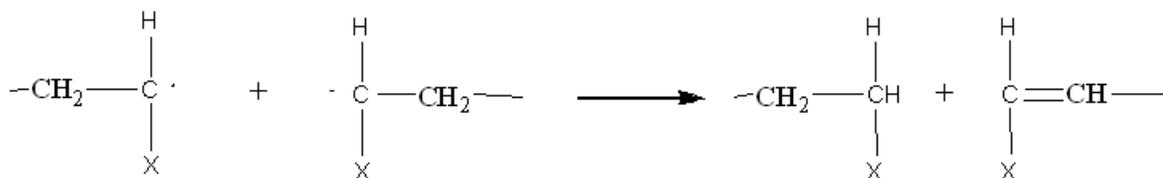


Figura 1.19 Reacción de terminación por desproporción^[64].

Aunque las tres etapas de iniciación, propagación y terminación son necesarias y suficientes para la polimerización en cadena, pueden tener lugar otros procesos durante la polimerización. Implican una reacción entre un radical y una molécula, deberían clasificarse adecuadamente.

Flory en 1937 descubrió que la reactividad de un radical puede transferirse a otras especies, con lo que normalmente podrían estas especies ser capaces de continuar la reacción en cadena. La reacción implica la transferencia de un átomo entre el radical y la molécula. Si la molécula es saturada, tal como un disolvente u otro aditivo, el átomo debe transferirse al radical.

Si la molécula es insaturada, tal como un monómero, el átomo transferido (normalmente hidrógeno) puede tomar una u otra dirección como se presenta en la figura 1.20:

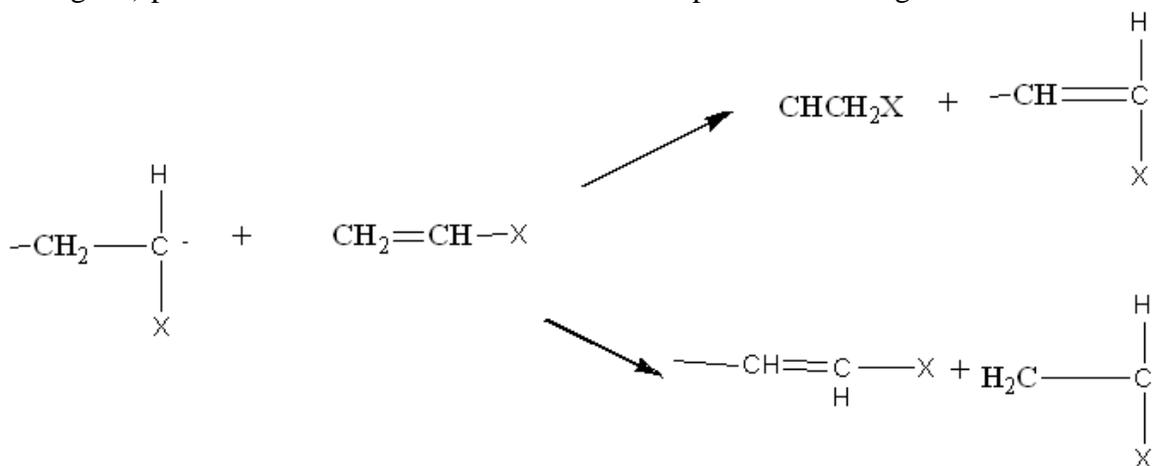


Figura 1.20 Dirección que pueden presentar una polimerización vinílica a partir del monómero^[64].

El efecto principal de la transferencia de cadena para una molécula pequeña saturada es la formación de moléculas de polímero adicionales por cada cadena radical iniciada. La transferencia al polímero y la transferencia al monómero, con la subsiguiente polimerización del doble enlace, lo cual conduce a la formación de moléculas ramificadas ^[63]. La adición de un monómero vinílico a un radical libre se puede llevar a cabo por medio de dos caminos diferentes, camino I y II los cuales se representan en la figura 1.21, ya que dentro de este proceso el electrón desapareado puede participar en resonancia con el sustituyente X en la estructura I pero no en la II, la reacción I es la que resulta favorecida.

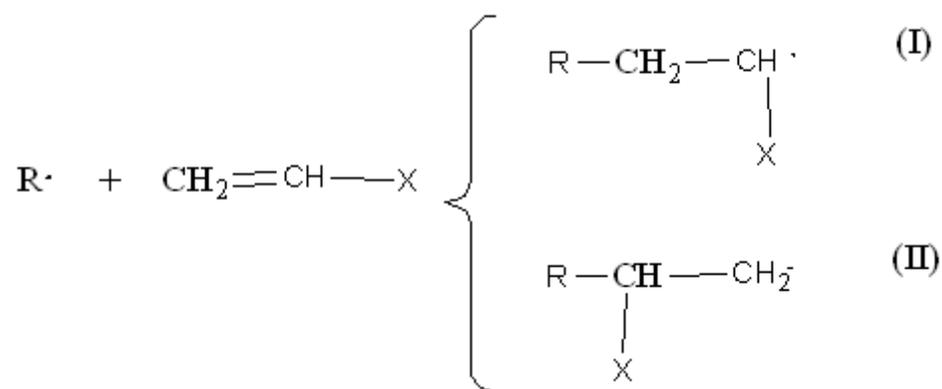


Figura 1.21 Caminos de adición de monómero vinílico^[64].

El desarrollo de la reacción I suministra una configuración de cabeza a cola en la que los sustituyentes se presentan sobre átomos de carbono alternos, esta configuración se presenta en la figura 1.22.

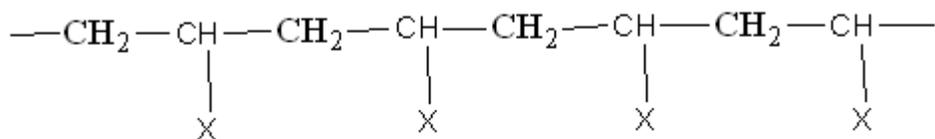


Figura 1.22 Estructura de polímero con configuración cabeza a cola^[64].

Otra forma es mediante la configuración de cabeza a cabeza o de cola a cola misma que se presenta en la figura 1.23 aunque también puede surgir una estructura con configuración al azar, es decir, que posee ambas configuraciones.

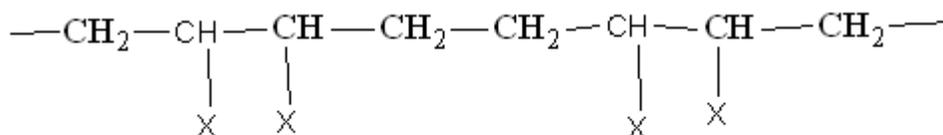


Figura 1.23 Estructura de polímero con configuración cabeza a cabeza o cola a cola^[64].

1.6 Glicopolímero.

El diseño de materiales glicopoliméricos con propiedades adaptadas se ha convertido en un tema muy importante de interés en la química actual, la biología y la medicina. Los glicopolímeros representan una alternativa sintética a los polisacáridos naturales ^[65]. Sus propiedades materiales y su actividad biológica pueden ser consideradas para ajustarse a propósitos biomédicos especiales. La razón principal de esta significación se encuentra dentro de su estructura específica.

El término glicopolímero todavía no está claramente definido, pero es más que nada un polímero sintético que en su estructura contiene restos de azúcar como grupos colgantes ^[66]. La polimerización de monómeros que contienen azúcar representa un enfoque alternativo a la modificación de postpolimerización para la síntesis de glicopolímeros ^[67].

Kitagawa y Tokiwa en 1998, reportaron una metodología para la síntesis de un éster de azúcar polimerizable catalizado por una lipasa procedente de *Alcaligenes sp.* y su polimerización química. Los reactivos que utilizaron fue D-glucosa comercial, piridina la cual usaron como medio de reacción, divinilsebacato para llevar a cabo la transesterificación y *Alcaligenes sp.* como catalizador. El procedimiento de transesterificación consistió en adicionar 2.25 g de D-glucosa a 50 ml de piridina y 19 g de divinilsebacato, la reacción inició al adicionar 250 mg de la lipasa, esta suspensión se mantuvo en agitación a 130 rpm por 7 días a 30°C. Después de este lapso la suspensión se recristalizó con la adición de acetona (propanona) para precipitar el éster de glucosa. El producto obtenido de la transesterificación recibió el nombre de 6-O-vinilsebacil-D-glucosa, con el cual procedieron para la polimerización, empleando N,N-dimetilformamida y 2,2-azobis(isobutironitrilo). La síntesis del polímero la llevaron a cabo en un tubo de polimerización sellado que contenía una mezcla de 1.5 g de 6-O-vinilsebacil-D-glucosa, 15 mg de 2,2-azobis(isobutironitrilo) y 1.5 g de dimetilformamida, la mezcla se mantuvo a 60°C por 24 horas, el producto resultante fue precipitado con acetona

(propanona) y el material fue secado a 40°C. Llegaron a la conclusión de que la transesterificación del divinilsebacato con glucosa en piridina siendo esta catalizada por una lipasa de *Alcaligenes sp.* obtuvieron un 99% de conversión y el éster de azúcar pudo ser polimerizado en dimetilformamida con como iniciador 2,2-azobis(isobutironitrilo) dando lugar a un polímero ramificado poli(6-O-vinilsebacil-D-glucosa), teniendo un peso molecular de 11 000 [68].

Kitagawa y Tokiwa en 2006, emplearon una polimerización radical de los ésteres de azúcares vinílicos solubles en agua examinando el uso de ácido ascórbico y peróxido de hidrógeno para la producción del radical hidroxilo como un iniciador radical en el agua. El éster de vinil-azúcar que contiene azúcar no reductor, 6-O-viniladipoil- α -metil D-glucósido, se polimerizó en un ambiente de presión inferior a la atmósfera de aire a condiciones de vacío. El ácido ascórbico también reacciono con las moléculas de oxígeno bajo la atmósfera del aire para producir superóxido, que es bien conocido como un eliminador eficaz del radical hidroxilo, por lo que el radical hidroxilo generado con peróxido de hidrógeno se desperdicia por reacción con el superóxido. Por otro lado, el éster de azúcar de vinilo que tiene un resto de azúcar reductor, 6-O-vinil-D-glucopoxi D-glucosa, se polimerizó mediante el iniciador redox, no solo en condiciones de vacío sino también inferior a la atmósfera de aire [69].

Rodrigues et al. en 2009, reportaron la síntesis de un polímero ramificado de azúcar reductor, utilizando D-glucosa como carbohidrato y adipato de divinilo (DVA) como derivado de aceite vegetal, y utilizarlo como un material ecológico. Examinaron varias condiciones de reacción para alcanzar altas tasas de conversión durante la formación del producto. Los principales parámetros evaluados fueron: tipo de proteasa (neutra y alcalina) utilizada como catalizador, temperatura de reacción (30 ° C, 50 ° C y 70 ° C), relación molar azúcar / adioato de divinilo (1/1, 1/2, 1/4) y contenido de agua/dimetilformamida (0%, 1%, 3%, 5%, 10%, 20% v/v). Después de que eligieron las mejores condiciones, iniciaron la transesterificación de D-glucosa con adipato de divinilo agregando la proteasa alcalina de *Bacillus subtilis* (40 mg/ml) como catalizador en un medio orgánico micro-acuoso (dimetilformamida/agua: 95/5, v/v) en una incubadora con agitación durante 5 días para producir un monómero de D-glucosa 6-O-vinyladipoil. Las propiedades de superficie de este monómero se compararon con un producto comercial utilizado como demulsificador industrial. El éster de azúcar de vinilo se

El rayo del láser de Helio-Neón sigue a la radiación infrarroja a través del interferómetro con objeto de determinar el desplazamiento del espejo móvil y conocer la longitud de onda a la que se produce la absorción de radiación.

A la izquierda del compartimento de la muestra se encuentra un espejo ajustable D que conduce el rayo procedente del interferómetro a la muestra. Desde el compartimento de la muestra el rayo llega, a través de una rendija, a un detector ^[71].

El equipo que se muestra en la figura 1.25, permite la identificación de grupos funcionales de materiales orgánicos, pinturas y determinadas estructuras de muestras sólidas y líquidas por transmisión espectroscópica de infrarrojo por transformada de Fourier (FTIR), en el rango espectral comprendido entre 400 y 4 000 cm^{-1} . Esta técnica es sensible a la estructura ya que reflejan las vibraciones características de los grupos de átomos por lo que se emplean para identificar especialmente los grupos orgánicos ^[71, 72].



Figura 1.25 Espectrofotómetro infrarrojo por transformada de Fourier.

1.7.2 Resonancia Magnética Nuclear (RMN).

La Resonancia Magnética Nuclear (RMN) es la herramienta analítica que proporciona mayor información estructural y estereoquímica en un tiempo asequible. La técnica no es destructiva y tiene aplicaciones en todas las áreas de la Química y en algunas de la Biología ^[73].

A continuación, en la figura 1.26, se muestra de forma esquemática los principales componentes de un equipo para medidas de resonancia magnética nuclear.

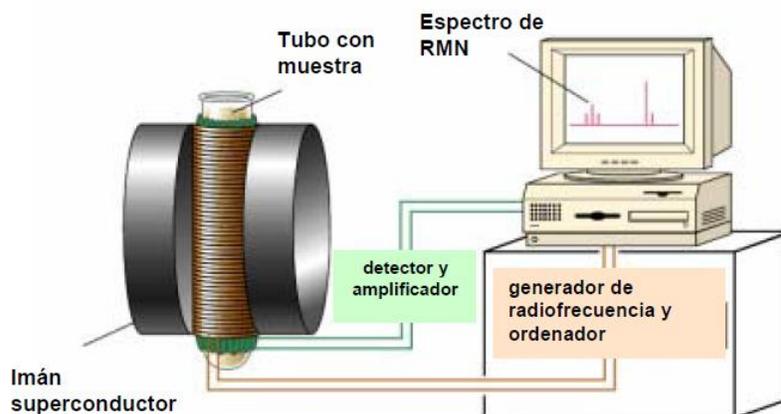


Figura 1.26 Diagrama de equipo de resonancia magnética nuclear.

Como se observa, el espectrómetro de RMN consta de cuatro partes ^[74]:

1. Un imán estable, con un controlador que produce un campo magnético preciso.
2. Un transmisor de radiofrecuencias, capaz de emitir frecuencias precisas.
3. Un detector para medir la absorción de energía de radiofrecuencia de la muestra.
4. Un ordenador y un registrador para realizar las gráficas que constituyen el espectro de RMN.

El equipo que se aprecia en la figura 1.27, se basa en las propiedades magnéticas de la materia y aplicada a cualquier sustancia química en estado líquido o sólido que contenga núcleos con espines nucleares. La técnica de Resonancia Magnética Nuclear comprende aplicaciones como son: elucidación estructural, determinación conformacional, establecimiento de equilibrios químicos, cinéticas químicas, cuantificación de mezclas, control de calidad, análisis conformacionales y estereoquímicas, entre otros.

Los ensayos se realizan en solución con muestras solubles en disolventes deuterados, o bien se puede realizar RMN de sólidos para muestras insolubles ^[75, 76].



Figura 1.27 Equipo de resonancia magnética nuclear.

1.7.3 Análisis Térmico Simultaneo (DSC-TGA).

Los análisis térmicos tienen gran importancia en investigación de cerámicos, metales y polímeros. Dado que las propiedades finales de un material dependen de las condiciones de fabricación del producto y tratamientos térmicos.

El análisis termogravimétrico(TGA), realiza un registro de la masa de una muestra en función de la temperatura. Los resultados de este análisis se ven reflejados en un termograma en el cual se representa la masa del material cómo se comporta en función de la temperatura.

La instrumentación del equipo TGA se muestra en la figura 1.28, en la cual se indica que el equipo está conformado por balanza, horno, sistema de gas de purga y un procesador.

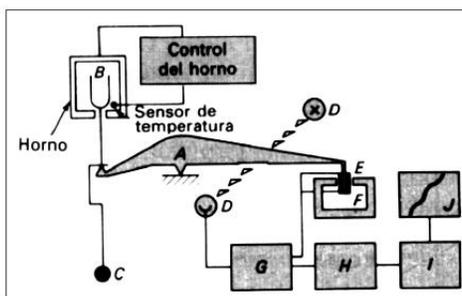


Figura 1.28 Estructura de equipo Termogravimétrico.

Calorimetría diferencial de Barrido (DSC): Mide el flujo de calor que tiene lugar en la muestra y en la referencia, de forma independiente, este se basa en el principio de "Balance nulo de temperatura", es una técnica cuantitativa. El área debajo de la curva del termograma puede relacionarse con la entalpia de transición.

La diferencia básica entre la calorimetría de barrido diferencial y el análisis térmico diferencial estriba en que el primero es un método calorimétrico en el que se miden diferencias de temperatura ^[77].

En un DSC de flujo de calor, el calor fluye hacia la muestra como hacia la materia de referencia a través de un disco termoeléctrico de calentado eléctricamente ^[75,78,79], en la figura 1.29 se muestra una celda de DSC. Los crisoles pequeños de alúmina para la muestra y la referencia se colocan sobre plataformas elevadas en la cámara del equipo. El calor se transfiere a través de los discos hacia la muestra y la referencia por medio de los crisoles.

La diferencia entre el flujo de calor hacia la muestra y patrón se controla mediante unos termopares de superficie de *chromel/constantan* formados por la unión entre la plataforma de *constantan* y los discos de *chromel* sujetos a la parte inferior de la plataforma. Se puede demostrar que la diferencia entre la cantidad de calor que fluye hacia los dos crisoles es directamente proporcional a la diferencia en la salida en las uniones de termopar ^[76]. La temperatura de la muestra se estima por la unión de *Chromel /alumel* colocada debajo del disco de la muestra.

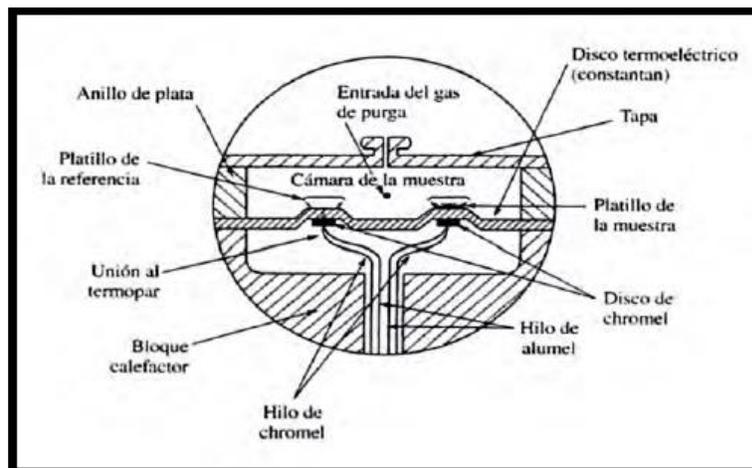


Figura 1.29 Esquema de una celda de DSC de flujo de calor ^[77].

El instrumento DSC trabaja con un controlados y un software asociado para constituir un sistema de análisis térmico. El intervalo de temperatura al que opera es de 25°C a 1550°C. Su software realiza las siguientes funciones:

- Proporciona una interfaz entre el operador y el instrumento de análisis.
- Permite realizar los experimentos y almacenar los datos experimentales.
- Ejecutar los programas de análisis de datos.
- Facilita el análisis de resultados.

La celda del DSC es una cámara que contiene una plataforma de *constantan* con dos superficies elevadas para ubicar las capsulas de la muestra y la referencia. A través de esta cámara se hace fluir un gas, que según los propósitos del experimento puede ser inerte u oxidante ^[79].

1.7.4 Dispersión de Luz dinámica (DLS).

La dispersión de la luz es el fenómeno mediante el cual la radiación electromagnética, al chocar con pequeñas partículas de tipo coloidal o incluso molecular, es desviada en su dirección de propagación, de forma aparentemente caótica, en cada uno de los núcleos de dispersión, por tener un índice de refracción diferente al del medio. La medida de la luz dispersada (o difusa) da lugar a técnicas muy útiles en la determinación de la concentración de sustancias en suspensión, así como en la caracterización de la forma y del tamaño de las partículas coloidales y macromoleculares ^[80].

El equipo de dispersión de luz dinámica (DLS), permite determinar el tamaño de moléculas y nano partículas, mide las fluctuaciones en la intensidad de dispersión con el tiempo para determinar el coeficiente de difusión translacional (D), el radio hidrodinámico y la velocidad de fluctuaciones depende del tamaño de la partícula-molécula ^[81].

- **Medida de masas moleculares**

La intensidad de luz dispersada que produce una macromolécula es proporcional al producto de la masa molecular promedio y la concentración de la macromolécula. Si no hay dependencia entre la intensidad de dispersión y el ángulo de medida, se puede determinar la masa molecular con medidas en un solo ángulo ^[82].

Un gráfico de Debye permite la determinación de:

- *Masa molecular absoluta*. La masa molecular medida en experimentos de dispersión son masa molecular promediada por el peso (fracción en g).
- *2^{do} coeficiente virial*: Propiedad termodinámica que describe la fuerza de interacción entre la molécula y el solvente:

Si $A_2 > 0$, las moléculas tienden a permanecer en solución (la proteína prefiere el buffer).

Si $A_2 = 0$ la fuerza de la interacción proteína-solvente es equivalente a la fuerza de la interacción proteína-proteína (el solvente se llama solvente theta).

Si $A_2 < 0$, la proteína tiende a precipitar o agregar.

Capítulo 2. Parte experimental.

2.1 Recolección y preparación de la materia prima.

En la figura 2.1 se muestra la laguna El conejo, lugar del cual fue recolectado el tule ubicada a espaldas del Centro de Investigación en Petroquímica Secundaria del ITCM en Altamira, Tamaulipas.



Figura 2.1 Laguna El conejo, Altamira, Tamaulipas.

Para trabajar la materia prima se procedió a su preparación como se muestra en la figura 2.2, el primer paso fue trocear el tule a un tamaño aproximado de 2.5 cm como lo indica la Norma TAPPI 257 sp-14, además fue secado a temperatura ambiente para retirar el exceso de humedad para proceder con la molienda de está, utilizando una licuadora Oster® modelo BRLY07-Z00 seguido de un triturador MagicBullete con aspas sencillas y dobles. Después del proceso de triturado lo obtenido se pasó por un tamiz malla #14 y lo que paso la malla fue almacenado en bolsas ziploc. Posteriormente se procedió a la determinación de humedad para trabajar en base seca.

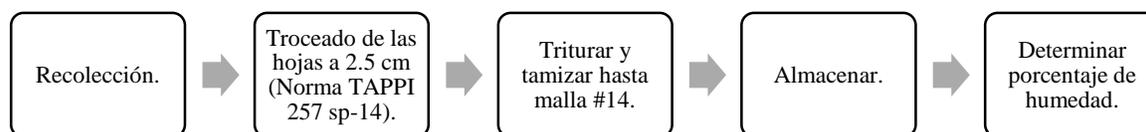


Figura 2.2 Esquema de preparación del tule.

2.1.1 Determinación del porcentaje de humedad.

Esta metodología se realiza bajo las especificaciones de la norma Tappi T-412-OM-11- Determinación de porcentaje de humedad del material vegetal (Lignocelulósico).

Para llevar a cabo esta determinación es necesario tener en una estufa vasos de precipitado a peso constante (105°C por 24 horas), llevandolo a cabo por duplicado. Los vasos de precipitado se ambientan, se pesan y se agrega aproximadamente de 1 a 3 g de materia. Se colocan en la estufa a 105° C por 24 horas, despues de este lapso, se pesan los vasos con la materia seca y se realizan los calculos correspondientes con la ecuación 2.1.

$$\%H = \frac{PRMH - PRMS}{PRMH - PRS} * 100 \quad \text{..... Ecuación 2.1}$$

Dónde:

%H= Porcentaje de humedad de la muestra.

PRMH= Peso en gramos del vaso seco con la muestra húmeda inicial.

PRS= Peso en gramos del vaso seco a peso constante.

PRMS= Peso en gramos del recipiente con la muestra seca.

Para calcular el porcentaje de sequedad del material lignocelulósico, se utiliza la ecuación 2.2.

$$\%S = 100 - H \quad \text{..... Ecuación 2.2}$$

Dónde:

%S=Porcentaje de sequedad de la muestra.

H=Porcentaje de humedad de la muestra.

2.2 Proceso de deslignificación del Tule.

En esta etapa el tule triturado se somete a una deslignificación, es decir a una hidrólisis básica, la finalidad de este tratamiento es la obtención de la celulosa por medio de la remoción de la mayor parte de lignina que se encuentra dentro de esta materia lignocelulósica. La deslignificación se llevó a cabo en un reactor batch PAAR, Mod. 5100, el cual cuenta con una vasija de acero inoxidable con capacidad de 2 L, una chaqueta de calentamiento, un controlador, un sistema de enfriamiento, un agitador mecánico y como medio de calentamiento una chaqueta con resistencias en su interior., como se muestra en la figura 2.3.



Figura 2.3 Proceso de deslignificación utilizando un reactor PAAR Mod. 5100

Se manejó un hidromódulo de 1:14 y utilizando una solución de hidróxido de sodio al 28% de concentración y antraquinona al 10% con relación al peso seco cargado al reactor la cual fue usada como catalizador de la reacción. Cabe mencionar que la cantidad de solución de hidróxido de sodio se utilizó en relación al peso seco de la materia. El proceso de deslignificación de la materia se llevó a cabo agregando el tule malla #14 dentro de la vasija del reactor, añadiendo el volumen de sosa, antraquinona y agua, los cuales fueron calculados con ayuda de un programa de Excel, todos los reactivos se adicionaron en relación al peso seco de la carga del reactor.

El tiempo de cocción, la temperatura y el porcentaje de NaOH, varió de acuerdo a un diseño de experimentos, con la finalidad de encontrar la condición donde se obtenga mayor rendimiento de extracción de fibras, por lo cual las variables que plantean son las antes mencionadas.

El diseño de experimento que se planteó se muestra a continuación en la tabla 2.1, se muestran las variables que se manejaron para encontrar la condición más adecuada para la extracción de la celulosa del tule.

Tabla 2.1 Diseño de experimentos para la deslignificación.

Diseño de experimentos			
Variabales	-1	0	1
Temperatura (°C)	150	160	160
Tiempo (min)	60	60	60
Conc. % NaOH	32.5	35	35.5

Al finalizar el tiempo de reacción, se procede a enfriar el reactor para poder retirar la vasija, vaciar el producto obtenido como se muestra en la figura 2.4 (a) la cual, con ayuda de una tela, se procedió a separar la pasta del licor negro obtenido de la deslignificación. En la Figura 2.4 (b) se muestra la pasta que se obtuvo después de retirarle los licores negros, esta se exprimió y lavo con abundante agua hasta llevarlo a ph neutro y en la figura 2.4 (c) se presentan las fibras las cuales fueron desmoronadas en una charola para ser secada a temperatura ambiente. La pasta que se obtuvo contiene fibras celulósicas a partir de las cuales se realizara un fraccionamiento de la materia por medio de un hidrólisis ácida para la extracción de glucosa de tule, dicho proceso se muestra en el siguiente subtema.

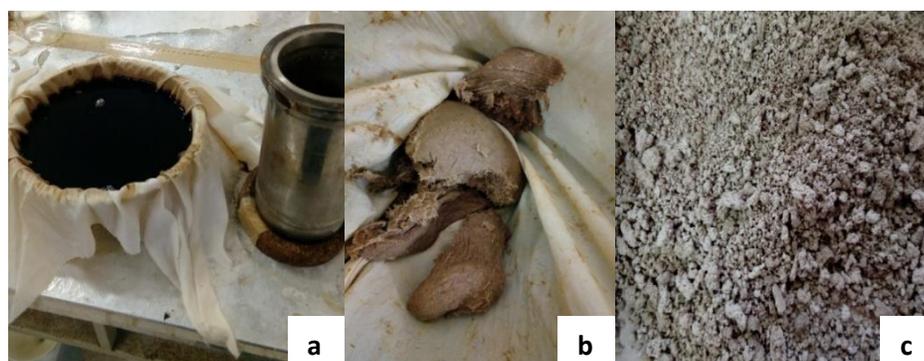


Figura 2.4 Pasos después de la hidrólisis básica: a) Separación de las fibras y lignina, b) lavado de las fibras, c) Celulosa.

2.2.1 Cuantificación de la celulosa.

La celulosa obtenida del proceso de deslignificación fue secada a temperatura ambiente, embolsada, pesada y se le determino el porcentaje de humedad de la misma manera como se indica en el tema 2.1.1

Para determinar el porcentaje de rendimiento de extracción de fibras se emplearon dos ecuaciones esto con la finalidad de determinar en base seca el peso de la celulosa (ecuación 2.3) y el porcentaje de rendimiento de extracción de fibras (ecuación 2.4).

$$\text{Peso celulosa seca} = \frac{(\text{PCH})(\% \text{ SC})}{100} \dots\dots\dots \text{Ecuación 2.3}$$

Dónde:

PCH= Peso de la celulosa húmeda.

% SC= Porcentaje de sequedad de la celulosa.

.

$$\% \text{ Rendimiento} = \frac{(\text{PCS})(100)}{\text{PSRxn}} \dots\dots\dots \text{Ecuación 2.4}$$

Dónde:

PCS= Peso celulosa seca.

PSRxn= Peso seco de la reacción.

2.3 Conversión de celulosa a glucosa.

Conforme a los antecedentes consultados, se elaboró un diseño de experimentos como se muestra en la tabla 2.2 para la extracción de glucosa por medio de hidrólisis con ácido sulfúrico diluido teniendo como variables el tiempo, temperatura y concentración de H₂SO₄, esto con el fin de encontrar la condición ideal en la cual se obtenga mayor concentración de glucosa. El proceso se llevó a cabo en un reactor batch, utilizando el ácido diluido.

Tabla 2.2 Diseño de experimentos para la extracción de glucosa.

Diseño de experimentos			
Variables	-1	0	1
Temperatura (°C)	150	165	180
Tiempo (min)	10	20	30
Conc. % H ₂ SO ₄	2	6	10

El proceso consistió en adicionar al reactor 47.502 gramos secos de celulosa, utilizando un hidromódulo de 1:14 de agua destilada y la concentración de H₂SO₄, todo en relación a la materia seca y a las condiciones en las cuales se esté trabajando en el diseño de experimentos. Dado que el diseño se planteó de 2³ factorial, llevando a cabo 8 experimentos tomando los valores máximos y mínimos, y 3 con los datos centrales, dando un total de 11 muestras. De cada reacción se separó la parte líquida de la sólida, en la figura 2.5. se muestran los sólidos obtenidos a partir del diseño de experimentos y en la figura 2.6 se muestran los líquidos obtenidos a los cuales se le cuantificaron azúcares e inhibidores por medio de Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC).



Figura 2.5 Productos sólidos obtenidos a partir del diseño de experimentos.



Figura 2.6 Hidrolizados obtenidos a partir del diseño de experimentos.

2.3.1 Cuantificación de azúcares e inhibidores empleando un Cromatógrafo de líquidos de alta resolución (HPLC).

Para la lectura de los azúcares contenidos en los hidrolizados ácidos, se separaron las muestras para tener una parte sin neutralizar para identificar los inhibidores presentes y otra parte se neutralizó con CaCO_3 para la cuantificación de los azúcares, todas las muestras fueron filtradas con filtros jeringa de PTFE de $0.2 \mu\text{m}$ AGILENT en viales de vidrio. Se utilizó el equipo de cromatografía líquida de alta resolución HPLC waters 1515 con detector IR 2414 el cual se muestra en la figura 2.7.



Figura 2.7 Equipo HPLC Waters 1515

2.3.1.1 Cuantificación de azúcares.

Las muestras que se neutralizaron con CaCO_3 se centrifugaron a 10000 rpm separando la parte líquida, se filtró con filtros jeringa de PTFE en viales de vidrio. Se utilizó una columna Shodex SP08100 con fase móvil de agua desionizada, flujo de 0.5 ml/min y manejando una temperatura de columna de 80°C .

Se prepararon estándares de azúcares para determinar la concentración de los azúcares y saber que picos corresponden a cada azúcar, los estándares que se prepararon fueron para D-

glucosa (5mg/ml), D-xilosa(3mg/ml), D-celobiosa (1 mg/ml) y L-arabinosa (0.5 mg/ml), a partir de una solución madre de 25 mL se hicieron todas las diluciones. De esta manera se determinó la concentración de cada azúcar teniendo principal interés sobre la D-glucosa.

Antes de comenzar a trabajar se preparó la fase móvil, se hizo pasar por una membrana de 0.45 μm y se sónico por 15 minutos. Se procedió con el encendido del equipo, la bomba del cromatógrafo, el horno de la columna y el detector de índice de refracción, se accedió al software en la computadora, se seleccionó un proyecto con el cual ya habían trabajado denominado etanol y azúcares cereales, se continuó con el método de muestra es decir se establecieron los tiempos de cada función que haría el equipo, para la purga del detector, inyector y equilibrio se estableció un tiempo de 10 minutos. Seguido de esto se declararon las muestras a analizar con la función de inyectar muestras, para cada muestra se establecieron 30 minutos de lectura, el equipo tiene la función de que después de cada 10 muestras que se analicen en automático se lleva a cabo la purga del detector, inyector y el equilibrio.

Se ajustó el flujo a 1 ml/min, para llevar acabo la purga de la línea principal y la celda del detector, después de esto se redujo el flujo a 0.2 ml/min y se procedió a conectar la columna en el horno y el desalinizador con precolumna que generalmente utiliza.

Las muestras son colocadas en la charola porta muestras como se muestra en la figura 2.8 y se colocaron en la posición conforme fueron nombradas en el programa; la corrida inicia al seleccionar el botón verde y se seleccionó un método de noche, el cual a la hora de que termine de correr las muestras exista un flujo mínimo de la fase móvil para que el equipo no se seque.

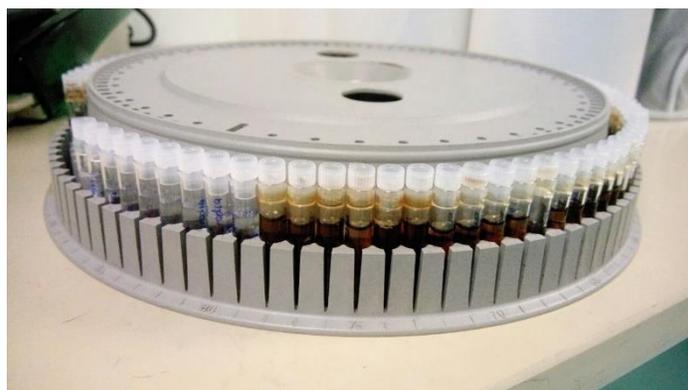


Figura 2.8 Porta muestras del HPLC waters 1515

2.3.1.2 Cuantificación de inhibidores.

La preparación de la muestra para identificar a los inhibidores fue de la misma manera que para los azúcares, variando la columna y la fase móvil. La columna que se utilizó fue Marca Shodex modelo SH1011, fase móvil de 5 Mm H₂SO₄ HPLC, empleando un flujo de 0.6 mL/min y manejando una temperatura de 60°C para la columna.

Se llevó a cabo la preparación de una solución madre de 25 mL para los estándares de inhibidores, los cuales se encuentran conformados por ácido acético, 5-hidroximetilfurfural y furfural, a una concentración de 2 mg/mL para cada uno.

La lectura de la concentración de los inhibidores se llevó a cabo de la misma manera que en los azúcares, colocando las muestras y los estándares en el plato porta muestras, declarando cada vial en el software del equipo y seleccionando los métodos preestablecidos para la corrida.

2.4 Detoxificación de hidrolizado azucarado.

El proceso de detoxificación se empleó en el líquido hidrolizado con mayor concentración de glucosa para la reducción de la concentración de inhibidores, este método consiste en adicionar la cantidad necesaria de óxido de calcio(cal) al líquido hasta llevarlo a pH 11, una vez ocurrido esto, se coloca en una parrilla de calentamiento manejando una temperatura de 60°C con agitación por 1 hora como se muestra en la figura 2.9. Después de este lapso se dejó sedimentar para que precipitaran las sales formadas por los inhibidores y filtrando con ayuda de una bomba de vacío, para continuar trabajando el líquido detoxificado.



Figura 2.9 Procedimiento de detoxificación

Después del proceso de detoxificación se concentraron los licores azucarados por medio de una destilación simple como se muestra en la figura 2.10 manteniendo una temperatura de 100°C, para dejar los licores con mayor concentración de glucosa.



Figura 2.10 Destilación simple de los licores azucarados.

2.5 Eterificación de glucosa y 2,2-Bis(aliloximetil)-1-butanol.

A partir del líquido detoxificado se procedió a la eterificación utilizando 100 mL de los líquidos concentrados de glucosa, la relación que se utilizó de los reactivos fue en base a una prueba que se realizó con dextrosa a menor escala, para posteriormente realizarla a mayor escala con el concentrado de tule. Cabe señalar que la metodología que se empleó fue basada en artículos de Kitagawa Masaru^[68] y Rodrigues Borges et al.^[70], donde se habla sobre la esterificación de glucosa empleando adipato de divinilo, pero en el caso de esta investigación fue difícil adquirirlo, para lo cual se recurrió a la búsqueda de un nuevo reactivo que tuviera similitud con este, se buscó un compuesto que tuviera dos grupos vinilos como el adipato de divinilo. Dentro de la búsqueda realizada se encontró uno similar, pero en este caso no se trató de un éster como lo es el adipato de divinilo el cual se muestra en la Figura 2.11, sino de un éter, el éter 2,2-Bis(aliloximetil)-1-butanol mostrado en la Figura 2.12, se puede apreciar que ambos compuestos poseen en su estructura grupos vinilo en los extremos, los cuales sirven para continuar con la polimerización. Otra diferencia importante entre estos dos

es que el 2,2-Bis(aliloximetil)-1-butanol posee mayor peso molecular a comparación del adipato de divinilo, lo cual le da mayor importancia al reactivo escogido.

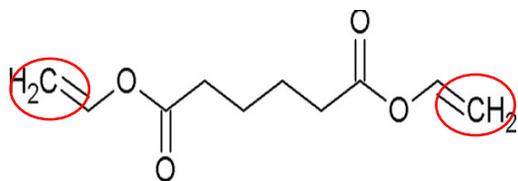


Figura 2.11 Estructura química del adipato de divinilo

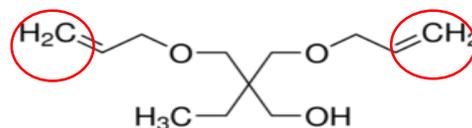


Figura 2.12 Estructura química del 2,2-Bis(aliloximetil)-1-butanol

Se realizó trabajo experimental para encontrar las condiciones tomando de base la bibliografía consultada, con el fin de obtener las condiciones adecuadas para determinar si era posible llevar a cabo una eterificación empleando el 2,2-Bis(aliloximetil)-1-butanol, con el objeto de sustituir a el adipato de divinilo, el cual era utilizado en las metodologías consultadas.

En primera estancia, el proceso experimental de la transesterificación se llevó a cabo a menor escala y empleando dextrosa anhidra de la Marca Fermont como fuente de glucosa, en este se variaron las proporciones de dimetilformamida/agua, éter y enzima. Se usó la enzima PAL 660, la cual es una proteasa alcalina procedente de *Bacillus licheniformis* en forma líquida y con una actividad de 2 600 U/g, donde la empresa ENMEX proporcionó la muestra para llevar a cabo la experimentación. En la tabla 2.3 se muestran las proporciones de los reactivos empleados para la eterificación.

Tabla 2.3 Relación de reactivos para las pruebas de eterificación.

Reactivos	Prueba 1 ^[61]	Prueba 2 ^[63]
D-glucosa	2.25 g	3.38 g
DMF	50 mL	95 mL
Agua	20%	5 mL
Éter	14.87 mL	50 mL
Enzima	6 g	9.9 g

Las pruebas de eterificación se llevaron a cabo en una parrilla de calentamiento con agitación magnética por un periodo de 7 días a 60°C a 150 rpm.

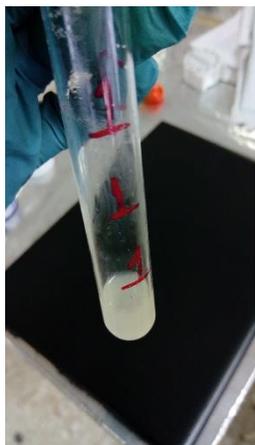


Figura 2.13 Proceso de eterificación de la prueba 1.



Figura 2.14 Proceso de eterificación de la prueba 2.

Después de los 7 días de reacción, las muestras que se presentan en la figura 2.13 y 2.14 fueron filtradas, para detener la actividad de la enzima. Como el éter de glucosa se tenía disuelto en el medio, se adiciono acetona (propanona) para precipitar, el resultado de lo indicado anteriormente se presenta en las figuras 2.15 y 2.16, en las cuales se pueden observar las partículas suspendidas.



Figura 2.15 Prueba 1 precipitada con acetona (propanona).



Figura 2.16 Prueba 2 precipitada con acetona (propanona).

Se tomaron muestras de la prueba 1 y la prueba 2 para identificar los grupos funcionales presentes en la solución, tomando la parte blancuzca para caracterizarla por medio de Espectrofotometría Infrarroja con transformada de Fourier (FTIR).

En base a que fue posible la obtención de un compuesto por medio de estas pruebas, se procedió a hacer una relación de las cantidades de ambas pruebas para hacerla a mayor escala como se indica en la tabla 2.4, utilizando el hidrolizado con glucosa de tule el cual fue detoxificado para aumentar la eficiencia de la enzima.

Tabla 2.4 Relación de reactivos para la eterificación con glucosa de tule.

Reactivos	Cantidad
D-glucosa	10 g
DMF	250 mL
Agua	100 mL
Éter	50 mL
Enzima	20 g

Se tomaron 100 ml del hidrolizado con glucosa, tomando en consideración que la concentración del hidrolizado fue de 0.1 g/ml, y las demás proporciones se determinaron, por medio de regla de tres, en general la eterificación del hidrolizado de tule se llevó por cuadruplicado, con el fin de obtener mayor proporción de éter de glucosa. El procedimiento que se empleó para la eterificación de la glucosa de tule se muestra en la figura 2.17. Una vez obtenido el éter de glucosa se continuo con la polimerización.

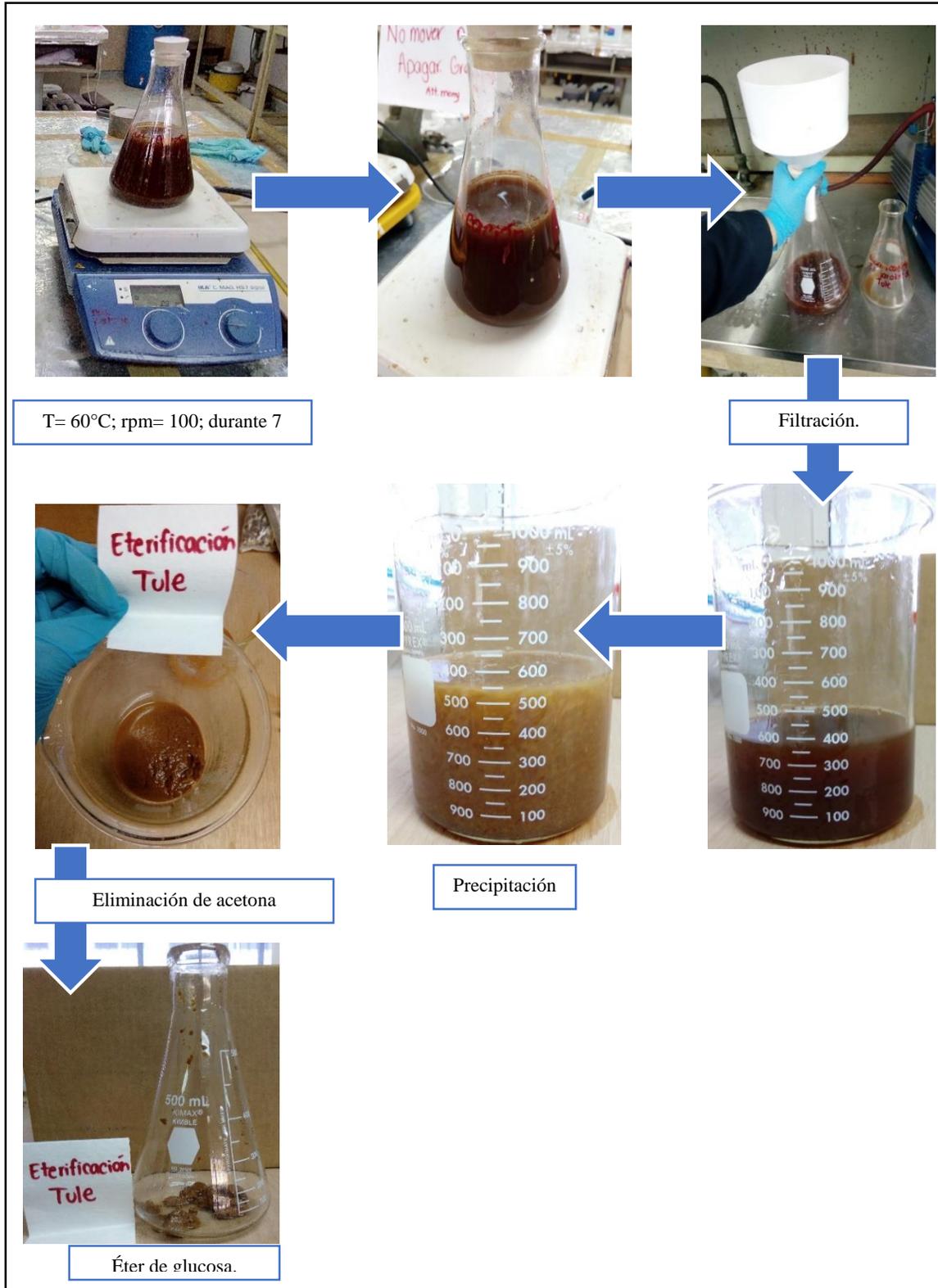


Figura 2.17 Procedimiento de eterificación con hidrolizado de tulle.

2.6 Polimerización.

La polimerización se llevó a cabo a partir del éter de glucosa obtenido anteriormente, al inicio de la investigación se planteó el uso de ácido ascórbico y peróxido de hidrógeno para la formación de un radical hidroxilo y comenzar con la polimerización. Así como en la eterificación se decidió comenzar con el éter de glucosa obtenido a partir de dextrosa para observar el comportamiento de éste durante la polimerización.

Se realizó una prueba empleando ácido ascórbico y peróxido de hidrógeno, pero no resulto adecuado, ya que no se lograba una homogeneidad completa en la mezcla con el éter de glucosa, por tal motivo se buscó otro método para la síntesis del polímero.

La metodología encontrada para la síntesis del polímero consistió en emplear como iniciador azobisisobutironitrilo (AIBN). Se realizaron 3 pruebas para determinar las proporciones de líquido eterificado, azobisisobutironitrilo (AIBN) y dimetilformamida. Para llevar a cabo estas pruebas se realizó por triplicado la transesterificación de la glucosa, utilizando dextrosa anhidra y con las cantidades de reactivos señalados en el tema 2.5.

Las cantidades de dimetilformamida, azobisisobutironitrilo (AIBN) y éter de glucosa se muestran en la tabla 2.5. La síntesis se llevó a cabo en tubos de ensayo, adicionando las proporciones de cada reactivo tapándolos e introduciéndolos a la estufa a 60°C por 27 horas.

Tabla 2.5 Condiciones de prueba para la síntesis del glicopolímero.

Reactivos	Prueba 1	Prueba 2	Prueba 3
Líquido de eterificación.	1.7 g	0.88 g	0.15 g
AIBN	15 mg	1.48 g	0.15 mg
DMF	-	1.48 g	0.15 g

Después del lapso de síntesis del polímero, al contenido de los matraces se adicionó acetona (propanona) para precipitar y posteriormente se retiró por decantación la acetona (propanona) agregada y el precipitado obtenido de cada una de las muestras se depositó en charolas de aluminio como se muestra en la figura 2.18 estas fueron colocadas en la estufa para ser secadas a 40°C.



Figura 2.18 Pruebas de polimerización en proceso de secado.

Una vez secado el material se procedió a guardar muestras y etiquetarlas para su posterior caracterización por medio de FTIR, para determinar si el grupo vinil se logró polimerizar.

De acuerdo a información que se presenta en la sección de resultados, la prueba que dio mejores resultados fue la prueba 2, es por ello que se realizó la polimerización del éter de glucosa de tule bajo las condiciones de dicha prueba, haciendo una relación entre el total del éter de glucosa obtenido después de la eterificación y la cantidad del líquido de eterificación de la prueba 2, mostrado en la tabla 2.6.

Tabla 2.6 Proporción de reactivos en base a la prueba 2 para realizar la polimerización del éter de glucosa.

Reactivos	Prueba 2	Éter de glucosa de Tule
Éter de glucosa	0.88 g	23.73 g
DMF	1.48 g	39.90 g
AIBN	11 mg	296.62 mg

La metodología empleada fue la misma que se siguió para la prueba 2, en la figura 2.19 se muestra el matraz Erlenmeyer, el cual contenía la mezcla del éter de glucosa, dimetilformamida y el iniciador, el proceso de polimerización se llevó a cabo por 27 horas, después de esos días, se adicionó acetona (propanona) para precipitar el polímero. Una vez que el polímero precipito, con ayuda de jeringas se retiró la acetona (propanona) que se encontraba en la superficie, la manera en la que reacciono con el polímero se observa en la figura 2.20, al momento de tener el sólido este fue retirado y colocado en una caja Petri como

se aprecia en la figura 2.21 para ser secado a 40°C, el resultado de este proceso se tiene en la figura 2.22



Figura 2.19 Síntesis del glicopolímero.



Figura 2.20 Precipitación del glicopolímero.



Figura 2.21 Glicopolímero precipitado.



Figura 2.22 Glicopolímero seco.

2.7 Solubilidad del poliéter de glucosa de tule.

Para llevar a cabo las caracterizaciones de RMN y DLS, se necesitó identificar el solvente con el cual el polímero era capaz de disolverse, para realizar las lecturas. Se tomó una pequeña porción del polímero y los solventes empleados para las pruebas se enlistan a continuación:

- Acetona (propanona).
- Agua.
- Etanol.
- Ciclohexano.
- Cloroformo.
- Dimetilformamida.
- Metanol.
- Tetrahidrofurano.

2.8 Caracterizaciones.

A continuación, se presenta una breve descripción acerca de la manera en la que se llevaron a cabo las caracterizaciones:

2.8.1 Espectroscopia de infrarrojo (FTIR).

Se caracterizaron las fibras obtenidas después de la hidrólisis básica, muestras de líquido éterificado de tule y dextrosa, además del glicopolímero a partir de glucosa de tule por medio de un espectrofotómetro infrarrojo con transformada de Fourier (FTIR) marca Perkin Elmer modelo Spectrum One (figura 2.23), se corrió la muestra en un ATR con punta de ZnSe con una resolución de 4 cm^{-1} y el número de escaneos fue de 12.



Figura 2.23 Espectrofotómetro Infrarrojo con Transformada de Fourier

2.8.2 Resonancia Magnética Nuclear H^1 Y C^{13} (RMN).

Se realizaron corridas de H^1 y C^{13} , en las que se emplearon 0.88 mg de polímero disuelto en agua deuterada (D_2O), la disolución fue colocada en el porta muestras del equipo Ascend Tm 400 mHz con consola Avance III HD Marca Bruker (figura 2.24) empleado para la identificación de la estructura del polímero.



Figura 2.24 RMN Ascend TM 400 mHz y consola Avance 111 HD Marca Bruker.

2.8.3 Análisis Térmico Simultaneo (DSC-TGA).

Para el análisis térmico se realizó un análisis térmico simultaneo en el equipo TA Instruments modelo Q600 (figura 2.25), empleando una rampa de calentamiento de $10^{\circ}C$ por minuto en 1 atm de N_2 con un flujo de 100 ml/min y tamaño de muestra de 10 ± 2 mg.



Figura 2.25 TA Instruments modelo Q600.

2.8.4 Dispersión de luz dinámica (DLS).

Se preparó una solución patrón de 25 mg/ml del polímero, el cual fue previamente molido con ayuda de un mortero, se pesó 1 gramo del material molido y se aforo a 40 ml con agua desionizada, se prepararon diluciones de 25, 20, 15, 10, 5 mg/ml las cuales se muestran en la figura 2.26, con ayuda del refractómetro Abbemat 300 marca Anton Paar mostrado en la figura 2.27, con el índice de refracción obtenido de cada muestra se elaboró un gráfico de concentración contra índice de refracción y por medio de la pendiente se obtuvo el factor dn/dc .

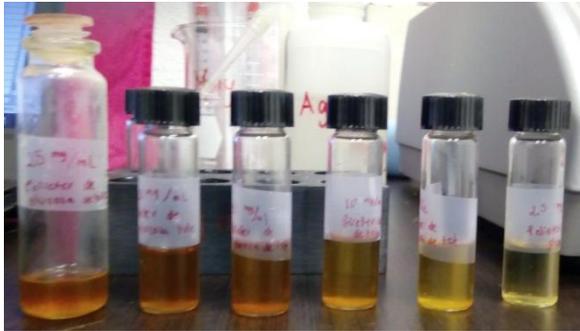


Figura 2.26 Diluciones de la solución patrón del glicopolímero



Figura 2.27 Refractómetro AbbeMAT 300 marca Anton Paar

Se utilizó el equipo de dispersión de luz dinámica para determinar peso molecular y tamaño de partícula, dicho equipo se puede observar en la figura 2.28, se utilizaron las plantillas que manejan para estas mediciones en específico, para la lectura de las muestras en este equipo se empleó una celda de cuarzo. En las plantillas se indicó el factor Dn/Dc obtenido del gráfico de concentración vs índice de refracción, el solvente que se empleó (agua) y como solvente de referencia (tolueno).



Figura 2.28 DLS Litesizer 500 Marca Anton

Capítulo 3. Resultados y discusiones.

3.1 Porcentaje de rendimiento de extracción de celulosa y caracterización de fibras por medio de FTIR.

Como se mencionó en la parte experimental, se llevó a cabo un diseño de experimentos sencillo, es decir, se realizaron 3 experimentos con las condiciones de 150°C/ 60°C/ 32.5 % de concentración de NaOH, 160°C/ 60°C/ 35 % de concentración de NaOH y 160°C/ 60°C/ 35.5 % de concentración de NaOH.

A las fibras obtenidas de estas reacciones se les determino el peso en base húmeda (PFBH), porcentaje de humedad (%H), porcentaje de sequedad (%S), peso en base seca (PFBS) y el porcentaje de rendimiento (%R), los resultados de estas determinaciones se muestran en la tabla 3.1, manejando para las 3 reacciones de deslignificación el peso seco cargado al reactor (PSCR) de 134.01 g de tule malla #14.

Tabla 3.1 Resultados del porcentaje de rendimiento en el proceso de deslignificación del tule.

CONDICIONES	PSCR (gr)	PFBH (gr)	% H	%S	PFBS (gr)	%R
150°C, 60 min., 32.5% NaOH	134.01	42.14	16.23	83.77	35.30	26.34
160°C, 60 min., 35% NaOH	134.01	45.09	14.89	85.11	38.38	28.64
160°C, 60 min., 35.5% NaOH	134.01	43.57	15.54	84.46	36.80	27.46

Como se muestra en la tabla 3.1 la condición que mostró mayor rendimiento fue a 160°C por 60 minutos con 35% de sosa en la que se obtuvo un rendimiento de extracción del 28.64 %, es decir, al introducir 134.01 gramos secos de Tule al reactor se obtuvieron 38.38 gramos secos de celulosa. La pasta celulósica obtenida presentó 14.89% de humedad y 85.11% de sequedad.

Para corroborar que la pasta obtenida después del tratamiento alcalino en el reactor fuera celulosa, esta se caracterizó por medio de FTIR, dando como resultado el espectro que se muestra en la figura 3.1.

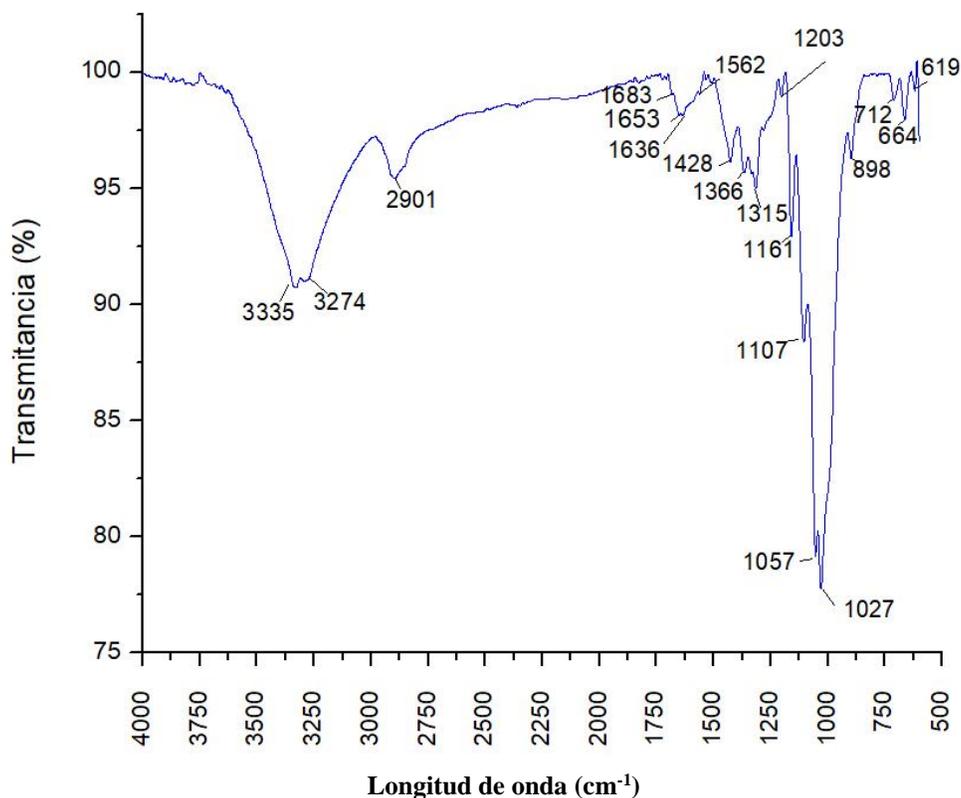


Figura 3.1 Espectro FTIR, celulosa de tulle.

A partir de la figura 3.2, se identificaron las señales en el espectro en la tabla 3.1 se muestra un enlistado donde se indican las longitudes de onda de las señales y a que grupo funcional corresponde cada una.

Tabla 3.2 Grupos funcionales identificados en el espectro FTIR de la celulosa de tulle.

Longitud de onda (cm ⁻¹)	Grupos funcionales	Longitud de onda (cm ⁻¹)	Grupos funcionales
3519-3079	Estiramiento OH	1203	Flexión OH
2901	Estiramiento CH ₂	1161	Estiramiento C-O-C
1683	Estiramiento C=O	1107	Flexión CH
1653	Estiramiento C=C	1057	Estiramiento C-O
1636	Agua absorbida	1027	C-CHO ESQUELETO
1562	Estiramiento C-C	898	Estiramiento de anillo
1428	Flexión CH ₂	712	-CH ₂ -
1366	Flexión CH ₂	664	Flexión C-C fuera del plano
1315	C-CO-C ESQUELETO	619	Flexión C-C fuera del plano

Los datos presentados en la tabla 3.2, coinciden con las señales encontradas en bibliografía de la celulosa ^[83,84], pudiéndose ubicar con facilidad las bandas de vibración de enlaces que se muestran en la tabla 3.3

Tabla 3.3 Principales señales características de celulosa en base a bibliografía ^[83,84].

Longitud de onda (cm ⁻¹)	Grupos funcionales
3600-3200	Estiramiento OH
2918, 2851, 1427 y 1315	Estiramiento CH ₂
1360 y 1280	Estiramiento CH
1054 y 1030	Estiramiento C-O
1160	Estiramiento C-O-C
1562	Estiramiento C-C
1335 y 1205	Flexión OH
1635	Agua absorbida
898	C1-H, carbono anomérico de carbohidrato.

A partir de la comparación entre las señales de la celulosa de tule y las señales que sirvieron de base obtenidas de bibliografía, se puede decir, que, al someter el tule a un tratamiento alcalino, empleando el método sosa-antraquinona, se lleva a cabo la ruptura de la estructura lignocelulósica, de tal manera que los tres componentes estructurales de la biomasa pueden ser separados. El material sólido obtenido por medio de la separación del licor negro coincide con las características de la celulosa en base a la caracterización FTIR realizada, por lo cual se cumplió con el objetivo de la extracción de la celulosa de nuestro material lignocelulósico.

3.2 Cuantificación de azúcares contenidos en los hidrolizados con ácido sulfúrico diluido por medio de HPLC.

El efecto que tiene el ácido sulfúrico como catalizador es fraccionar la estructura de la celulosa a glucosa. En la tabla 3.4 se presentan las concentraciones de los azúcares: D-glucosa, D-xilosa, L-arabinosa y D-celobiosa, cuantificados en cada uno de los hidrolizados que fueron analizados por medio de HPLC.

Tabla 3.4 Matriz del diseño experimental 2³ factorial correspondiente a los azúcares contenidos en el tule.

Muestra	Temperatura	Tiempo	Concentración de ácido (%)	D-Glucosa (mg/mL)	D-Xilosa (mg/mL)	L-Arabinosa (mg/mL)	D-Celobiosa (mg/mL)
1	150	30	2	0.555	0.291	0.033	0
2	180	10	2	0.001	0	0	0
3	150	10	2	0.104	1.066	0.095	0
4	180	30	2	0.071	0.16	0	0.039
5	180	30	10	1.991	0	0.116	0.054
6	150	10	10	0.851	2.735	0.121	0.153
7	180	10	10	7.201	0	0.508	0.071
8	150	30	10	2.395	2.793	0.285	0.081

Como se observa en la tabla 3.4, la muestra 7, la cual se realizó a las condiciones de operación de 180°C por 10 min con 10% de concentración de ácido sulfúrico, fue la que presentó mayor concentración de glucosa con 7.201 mg/ml.

Como el objetivo de realizar la hidrólisis ácida fue identificar en qué condición era posible obtener la mayor concentración de glucosa, en base a los resultados mostrados en la tabla 3.4 se puede observar que al aplicar mayor porcentaje de ácido sulfúrico y mayor temperatura tiende a causar un mayor efecto sobre la concentración de D-glucosa a esas condiciones. Se notó que las variables que influyeron para la extracción de glucosa fueron el tiempo y la concentración de ácido sulfúrico.

Una vez identificada la condición con mayor concentración de glucosa, esta fue tomada como punto de partida para llevar a cabo el siguiente paso de esterificación y continuar con la síntesis.

3.3 Cuantificación de inhibidores en los hidrolizados con ácido diluido por medio de HPLC.

En el proceso de hidrólisis ácida se generan compuestos de degradación a los cuales se les denominan inhibidores, ya que tienen la capacidad de reducir el efecto de compuestos biológicos como lo son las enzimas. En la tabla 3.5 se muestran los inhibidores contenidos en los hidrolizados del diseño de experimento, de los cuales fueron detectados: ácido acético,

furfural y 5-hidroximetilfurfural, las concentraciones de estos se midieron en cromatografía de alta resolución HPLC.

Tabla 3.5 Matriz del diseño experimental 2^3 factorial correspondiente a los inhibidores contenidos en el tule.

Muestra	Temperatura	Tiempo	Concentración de ácido(%).	Ácido Acético (mg/ml)	Furfural (mg/ml)	5-HMF(mg/ml)
1	150	30	2	0.014	0.06	0
2	180	10	2	0.021	0.024	0
3	150	10	2	0.012	0.073	0.036
4	180	30	2	0.023	0.062	0.241
5	180	30	10	0.013	0.037	1.997
6	150	10	10	0.016	0.073	0.031
7	180	10	10	0.01	0.016	2.123
8	150	30	10	0.023	0.241	0.84

Con base a los resultados obtenidos de las concentraciones de los inhibidores, se puede observar que la muestra 7, es decir, la que se manejó en condición de 180°C x 10 minutos con 10% de concentración de ácido sulfúrico, es la condición que genera menos concentración de inhibidores, teniendo 0.01 mg/ml de ácido acético, 0.016 mg/ml de furfural, teniendo como única excepción mayor concentración de 5-hidroximetilfurfural, dado que este compuesto se genera a partir del proceso de degradación de la glucosa, es decir que parte de la glucosa que se extrajo por medio de la hidrólisis ácida se degradó a 5-hidroximetilfurfural por efecto de aplicar mayor temperatura.

Debido a la presencia de los inhibidores en los hidrolizados del tule, se recurrió a realizar una detoxificación a los hidrolizados de la condición 180°C x 10 minutos con 10% de H₂SO₄, con el fin de reducir la concentración de los inhibidores y evitar que reduzcan la efectividad de la proteasa alcalina (PAL 660) empleada en el proceso de esterificación. Una vez terminado el proceso de detoxificación, se procedió a retirar el exceso de agua por medio de destilación simple, en la tabla 3.6 se muestran las concentraciones obtenidas del hidrolizado detoxificado por medio de cromatografía líquida de alta resolución (HPLC).

Tabla 3.6 Concentración de glucosa e inhibidores en el hidrolizado de la muestra 7.

Muestra	Temperatura	Tiempo	Conc. de ácido (%).	D-glucosa (mg/ml)	D-manosa (mg/ml)	Ácido acético (mg/ml)	Furfural (mg/ml)	5-HMF (mg/ml)
7	180	10	10	5.76	13.953	3.293	0.369	-

Los resultados obtenidos después del proceso al cual se le sometió al detoxificado del hidrolizado de tule, se tuvo una disminución en la concentración de los inhibidores, de hidroximetilfurfural se redujo por completo, del ácido acético y furfural se tuvo un aumento en la concentración. En cuestión a la concentración de azúcares se cuantificó otro tipo de azúcar que no fue detectado durante la cuantificación de los hidrolizados del diseño de experimentos, el cual fue D-manosa con una concentración de 13.953 mg/mL. La formación de este azúcar se generó en el proceso de destilación, ya que el detoxificado se sometió a temperaturas altas y con ello la estructura de la glucosa cambió la orientación de sus grupos hidroxilo dando como resultado D-manosa.

3.4 Eficiencia de extracción de glucosa.

La eficiencia de extracción se calculó con la finalidad de determinar el porcentaje de conversión de glucosa a celulosa, es por ello que en la tabla 3.7 se muestra los resultados de eficiencia con respecto al diseño de experimentos que se llevó en la hidrólisis ácida.

Tabla 3.7 Eficiencia de extracción de glucosa a partir de celulosa de tule.

Muestra	Temperatura	Tiempo	Concentración de ácido.	Eficiencia (%)
1	150	30	2	1.355
2	180	10	2	0.001
3	150	10	2	0.264
4	180	30	2	0.171
5	180	30	10	5.113
6	150	10	10	2.723
7	180	10	10	17.281
8	150	30	10	6.171

Con base a los resultados, la eficiencia de extracción de glucosa fue de 17.281%, es decir, si se introdujeron 50 g de celulosa al reactor, solo 8.64 g sufren la conversión de celulosa a glucosa. Estos resultados son relevantes dado que el tule es una planta que no tiene una aplicación económica ni alimentaria, por lo que su uso no causa afectaciones a terceros, pero su efecto en el entorno en donde se encuentra es muy invasivo, de esta manera es posible darle una aplicación a esta especie.

3.5 Reacción química de eterificación.

En el tema 3.5 se habló sobre la eterificación de glucosa de tule con 2,2-Bis(aliloximetil)-1-butanol, en la figura 3.2 se muestra la reacción química como producto de la eterificación. El efecto que presento la enzima durante esta síntesis fue el desactivar uno de los centros activos de un grupo vinil presentes en el éter, esto con la finalidad de llevar a cabo una sustitución nucleófila, dentro del cual el éter funge como sustrato con la glucosa.

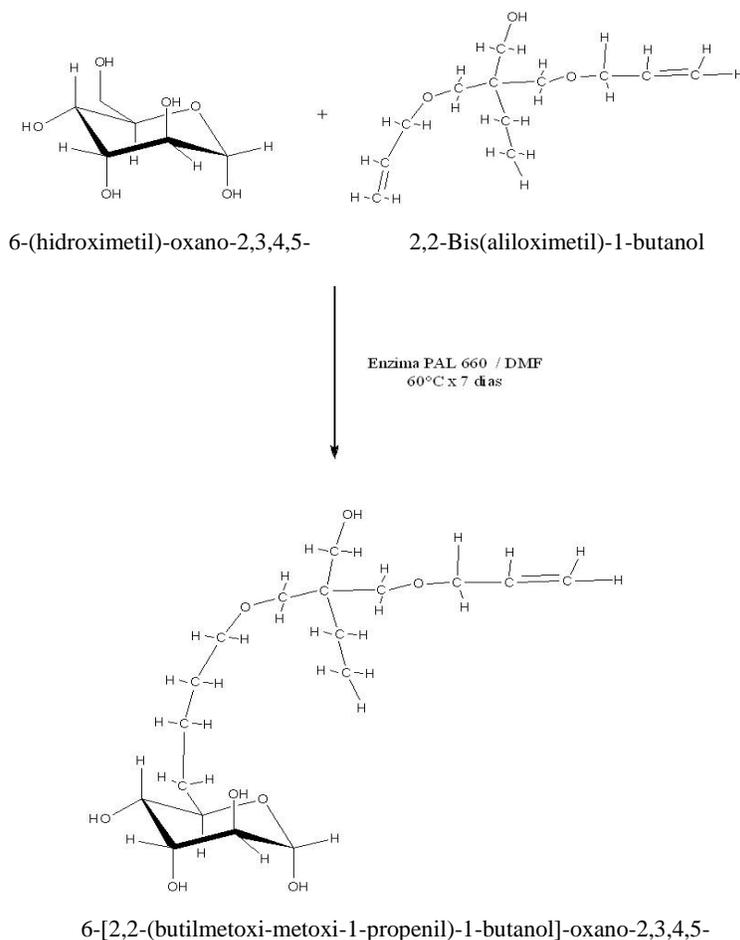


Figura 3.2 Reacción de eterificación entre glucosa y 2,2-Bis(aliloximetil)-1-butanol.

En la fase obtención de éter de glucosa de tule, después de la eterificación y al ser precipitado se obtuvo un sólido de color café claro, del cual se tuvieron 23.73 g. esta cantidad fue la empleada para llevar a cabo la polimerización.

3.5.1 Caracterización del líquido de eterificación por medio de FTIR.

El líquido obtenido de la eterificación fue caracterizado por medio de un espectrofotómetro de infrarrojo con transformada de Fourier, caracterizando tanto el líquido eterificado de dextrosa, así como el hidrolizado de tule. En la figura 3.3 se muestra una comparación de los espectros de: a) éter de dextrosa y b) éter de glucosa de tule.

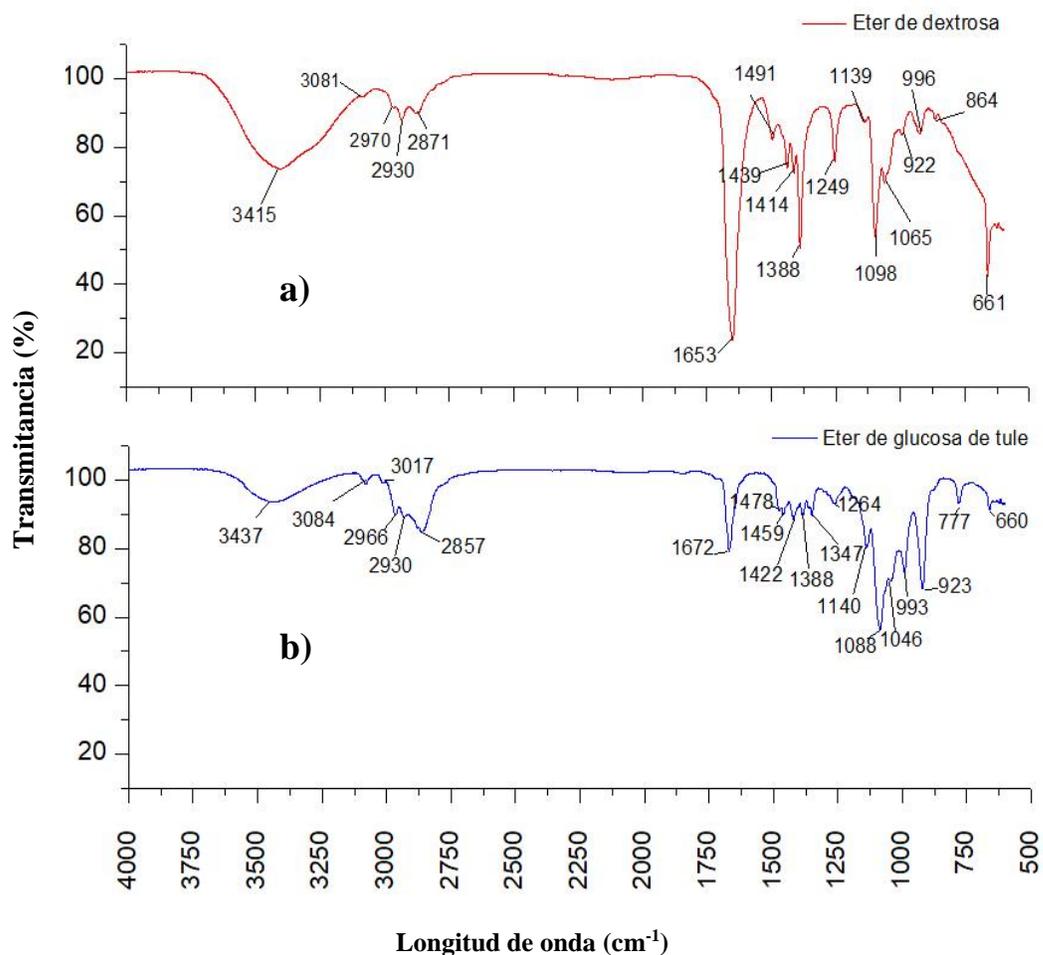


Figura 3.3 Comparación de espectros de FTIR de: a) éter de dextrosa y b) éter de glucosa.

Los espectros tanto para dextrosa como para hidrolizado de tule, coinciden en la mayoría de las señales, variando la intensidad de algunas bandas. En la tabla 3.8 se muestran las bandas detectadas en ambos espectros juntos con sus grupos funcionales, los cuales se interpretaron con ayuda de tablas de espectroscopia infrarroja. El enlistado se hace con la finalidad de tener una manera de comparar las señales de ambos compuestos, ya que la metodología que se empleó no está reportada en artículos y se pretendía tener un medio por el cual se tuviera la certeza sobre la obtención de un éter de glucosa, que en este caso el éter de dextrosa vendría siendo el éter de glucosa, debido a que la palabra dextrosa significa d-glucosa anhidra, es decir glucosa grado reactivo, y el éter de tule contiene glucosa la cual fue extraída de una especie vegetal, por lo cual tiene menor pureza a comparación del éter de dextrosa.

Tabla 3.8 Principales Grupos funcionales identificados en los espectros FTIR a) y b) del proceso de eterificación.

Longitud de onda (cm ⁻¹)		Grupos funcionales
Dextrosa	Glucosa de tule	
3415	3437	Estiramiento OH
3081	3084	Estiramiento CH (=CH ₂)
	3017	Estiramiento CH
2970	2966	Estiramiento CH ₃
2930	2930	Estiramiento CH ₂
2871	2857	Estiramiento CH ₂
1653	1672	Estiramiento vinilo terminal
1491	1478	Flexión CH ₃
1439	1459	Flexión CH ₂
1414	1422	Flexión CH ₂
1388	1388	Flexión CH, -CH ₂ -CO-
	1347	Flexión CH
1249	1264	Estiramiento COC
1139	1140	Flexión CH
1098	1088	Flexión CH en el plano
1065	1046	Flexión CH en el plano
996	993	Flexión CH fuera del plano
922	923	Flexión CH fuera del plano
864	777	Flexión CH fuera del plano
661	660	flexión OH fuera del plano

En la tabla 3.8 se muestran las señales identificadas tanto para dextrosa como para glucosa de tule, los datos resaltados de color amarillo en la tabla son señales que se encuentran en el material, pero en base a las señales de dextrosa presenta recorrimientos de aproximadamente 87cm^{-1} entre las señales de dextrosa y glucosa de tule, además de variar en las intensidades de las señales. Las demás señales que no se encuentran resaltadas coinciden con las señales del éter de dextrosa y a partir de estas se determinó una relación para determinar qué porcentaje de similitud existe entre el éter de dextrosa y el éter de glucosa de tule, de las 18 señales del éter de dextrosa solo 14 señales de éter de glucosa de tule presentan similitud resultando un 80% de similitud en ambos.

Con base a las señales identificadas en el éter de glucosa se puede decir que el compuesto analizado corresponde al 6-[2,2-(butilmetoxi-metoxi-1-propenil)-1-butanol]-oxano-2,3,4,5-tetrol, el cual fue producto de la sustitución nucleofílica entre el 2,2-Bis(aliloximetil)-1-butanol y la glucosa de tule.

3.6 Reacción de síntesis del glicopolímero.

Debido a que, durante los pasos de polimerización, el monómero del éter de glucosa presenta una cadena larga y el punto de interés es la sección en donde se ubica el doble enlace, lugar en donde se desarrollan las etapas de polimerización, se propone una estructura simplificada del monómero del éter de glucosa, siendo R' la sección que se encuentra encerrada como se aprecia en la figura 3.4.

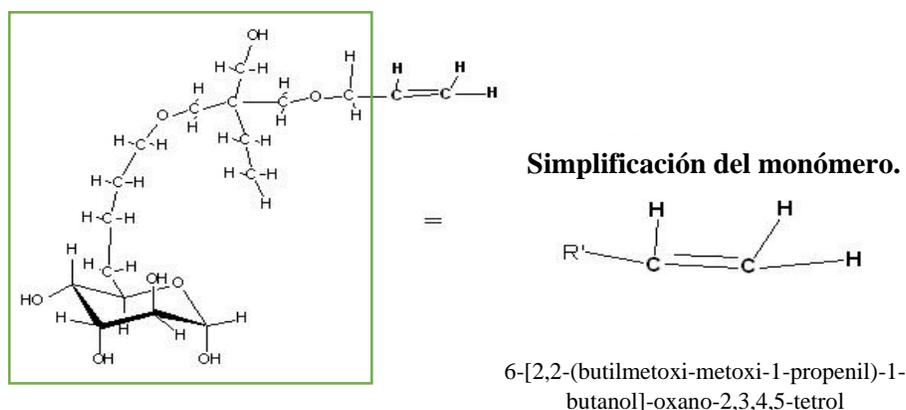


Figura 3.4 Estructura simplificada del monómero de éter de glucosa.

El polímero obtenido durante la síntesis poseía una consistencia similar a un gel, durante el proceso de secado en estufa, este sufrió un cambio de coloración de café claro a oscuro. El producto total de polímero fue de 4.87 g, es decir, existió una conversión del 20% en relación al monómero de éter de glucosa.

3.7 Caracterización del glicopolímero por medio de FTIR.

Ya que se estableció la estructura que le corresponde al polímero sintetizado, se procedió a la caracterización del mismo por medio de FTIR para identificar los grupos funcionales presentes en la estructura del polímero. En la figura 3.8 se presenta una comparación entre los espectros obtenidos de dextrosa y tulle. Siendo el espectro de dextrosa utilizado como punto de comparación, ya que la dextrosa es 100% d-glucosa y el hidrolizado de tulle que se empleó durante la investigación, contaba con una mezcla de azúcares, siendo en mayor concentración d-glucosa.

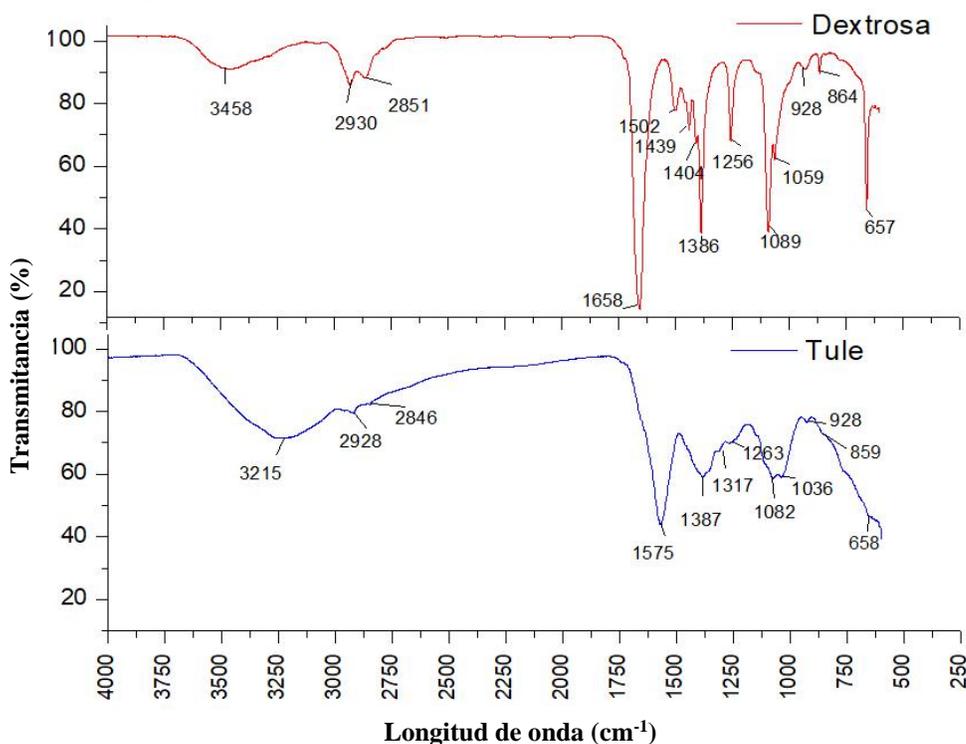


Figura 3.8 Comparación de espectros FTIR de glicopolímero de Dextrosa y Tulle.

En la tabla 3.9 se presentan las señales de las bandas y los grupos funcionales correspondientes a la estructura los polímeros, haciendo la comparación entre dextrosa y tulle.

Tabla 3.9 Principales grupos funcionales identificados en los espectros FTIR de los polímeros: dextrosa y tule.

Longitud de onda (cm ⁻¹)		Grupos funcionales.
Dextrosa	Glucosa de Tule	
3458	3215	Estiramiento OH
2930	2928	Estiramiento CH ₃
2851	2846	Estiramiento CH ₂
1658	1575	Estiramiento vinilo terminal
1502	1400-1250	Flexión CH ₃
1439	1400-1250	Flexión CH ₂
1404	1400-1250	Flexión CH ₂
1386	1387	Estiramiento CH, -CH ₂ -CO-
1256	1263	Estiramiento COC
1089	1082	Flexión CH en el plano
1059	1036	Flexión CH en el plano
928	928	Flexión CH fuera del plano
864	859	Flexión CH fuera del plano
657	658	Flexión OH fuera del plano

Como se observa en la tabla 3.9, se identificaron grupos funcionales en el polímero de dextrosa que no se lograron identificar en el polímero de tule, como es el caso de las flexiones de CH₃ y CH₂, lo cual puede ser debido a que en la zona de 1400 a 1250 cm⁻¹ se tiene una señal estrecha que impide identificar los grupos funcionales que se encuentran en esta región, más sin embargo las señales que se muestran resaltadas en la tabla correspondientes a estiramiento OH, estiramiento vinilo terminal y flexión CH en el plano, coinciden en ambos compuestos, pero presentan recorrimientos y variaciones en la intensidad de la señal, debido a que el poliéter de glucosa de tule ya que el hidrolizado por el cual se inició no solo se detectó glucosa sino que también podría deberse otras señales de azúcares como lo son xilosa, celobiosa o arabinosa que pudieran interferir en las señales. Además, en base a las señales que poseen similitudes en ambos compuestos se puede decir que se tiene un 80% de similitud entre estos.

En un artículo ^[69] en el cual realizaron la polimerizaron de un compuesto de glucosa que poseía grupos vinilo, identificaron en esté la señal de 1647 cm⁻¹ correspondiente a los grupos vinilo y cuando realizaron la polimerización, la señal antes mencionada ya no aparecía,

confirmando que la polimerización por radicales libres se efectuó sobre los grupos vinilo del monómero. En base a esta información se compararon los espectros de eterificación y de polimerización, teniendo en la figura 3.3 una señal en 1653 cm^{-1} para el éter de dextrosa y en 1672 cm^{-1} en el éter de tulo, ahora bien, en la figura 3.8 se tienen los estiramientos en 1658 cm^{-1} para el poliéter de dextrosa y en 1575 cm^{-1} para el poliéter de glucosa, se puede apreciar que las señales siguen a pareciendo en el polímero pero presentando un recorrimiento, esto puede ser ocasionado a que uno de los grupos vinil del compuesto no termino de reaccionar, formando el polímero pero con un grupo vinil terminal, en base a esto se tuvo como producto de la polimerización a el poli {6-[2,2-(butilmetoxi-metoxi-1-propenil)-1-butanol]-oxano-2,3,4,5-tetrol}.

3.8 Análisis H^1 y C^{13} del glicopolimero por medio de RMN.

El polímero obtenido se disolvió en agua deuterada y se analizó en el equipo de resonancia, en la figura 3.9 se muestra la estructura propuesta que corresponde al material y la cual se tendrá como base para interpretar las señales tanto para H^1 como para C^{13} .

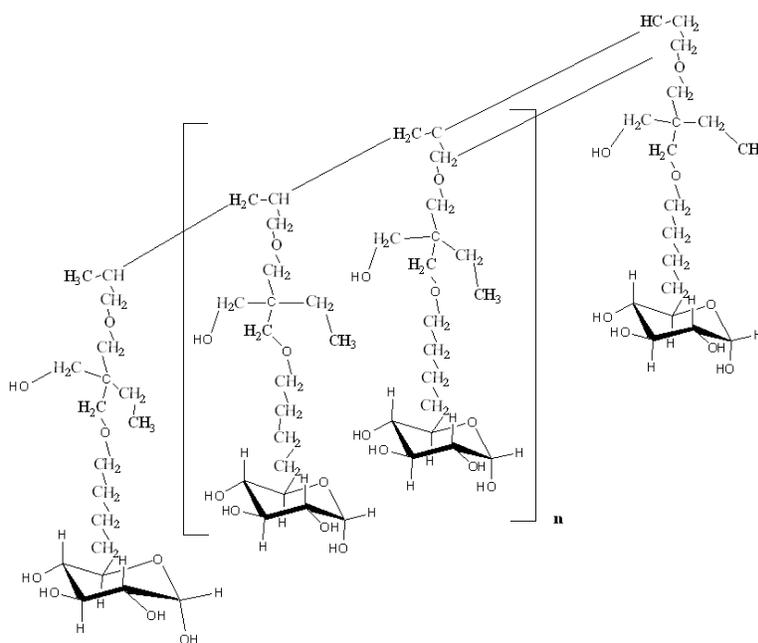


Figura 3.9 Estructura química de poli{6-[2,2-(butilmetoxi-metoxi-1-propenil)-1-butanol]-oxano-2,3,4,5-tetrol}

En la figura 3.10 se muestra el espectro de H^1 obtenido por resonancia magnética nuclear, y con el cual se comenzó la interpretación de la posición en la que se encuentran los hidrógenos del polímero. Se determinaron a que grupo funcional corresponden los hidrógenos del material con ayuda de tablas de interpretación de señales de resonancia magnética nuclear de protón. Como el polímero está conformado por monómeros de la misma especie en su parte central, durante la interpretación, nos dimos a la tarea de contemplar solo cabeza y cola del polímero, ya que estas partes son las que ayudarían a interpretar mejor el espectro.

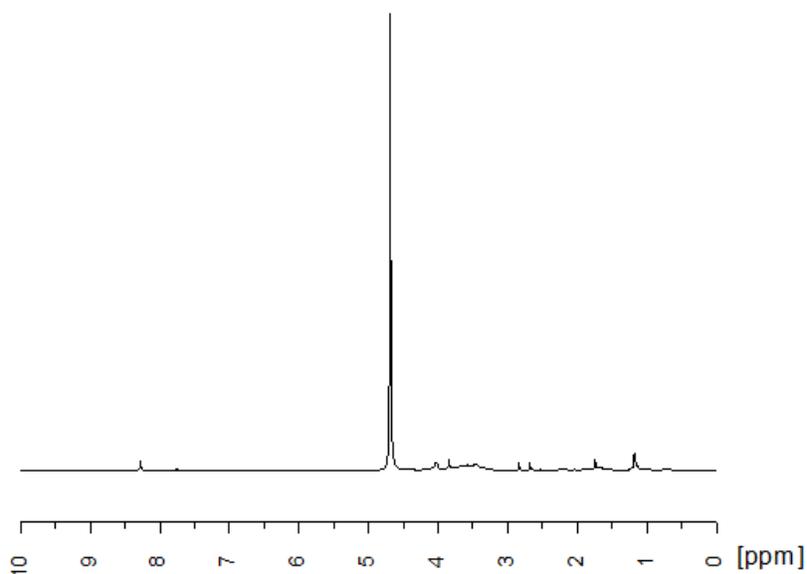


Figura 3.10 Espectro RMN de H^1 del polímero.

En la figura 3.11 se muestra una ampliación del área de 9-7 ppm, correspondiente al espectro completo, donde también se observa una parte de la estructura del poliéter de glucosa correspondiente a las señales identificadas en esta área. Se observa que están presentes 2 picos en 8.27 ppm y 7.75 ppm, estas señales de protón corresponden a un grupo vinil terminal, siendo estas las señales correspondientes a los protones que componen a este grupo.

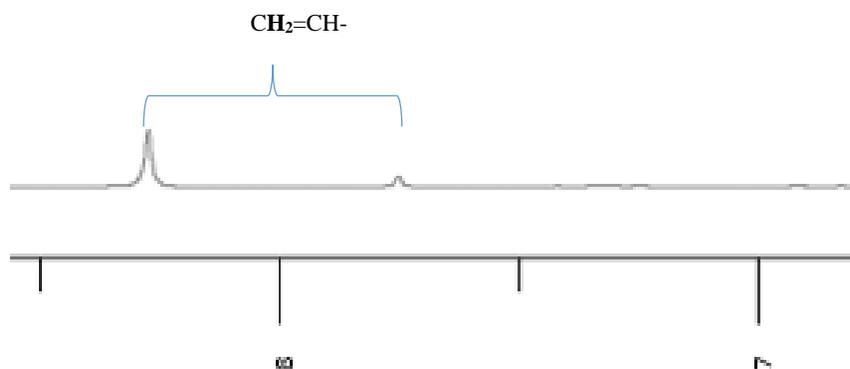


Figura 3.11 Ampliación del área de 8.5-7 ppm del Espectro RMN de H^1 del polímero.

En la figura 3.12 dentro de la región de 5 a 4.5ppm se encuentra una señal muy fuerte, correspondiente al agua deuterada (D_2O) empleada en el análisis.

En la figura 3.12 se muestra el área de 4.5 a 3 ppm, en esta zona se encontraron las señales correspondientes a los grupos hidroxilo (-OH) de la glucosa, exactamente en el área de 3.64, 3.59, 3.56 y 5.44 ppm; los hidrógenos (-H) que componen la estructura de la glucosa se encuentran en el área de 3.69, 3.59, 3.44, 3.34, 3.24 ppm; en el área de 3.29 ppm, la señal corresponde a un grupo metileno (- CH_2 -) que tiene como vecino un oxígeno (-O-); además existe un grupo simétrico dentro de la estructura del polímero en la cual se tienen dos grupos metilenos que se encuentran unidos por un carbono cuaternario(- CH_2 -C- CH_2 -), teniendo en sus extremos el mismo tipo de vecino, siendo este oxígeno (O) en el área de 4.02 y 3.84 ppm; también se tiene una señal en el área de 3.37 ppm, correspondiente a un grupo metileno que tiene como vecino a un grupo hidroxilo (- CH_2 -OH)

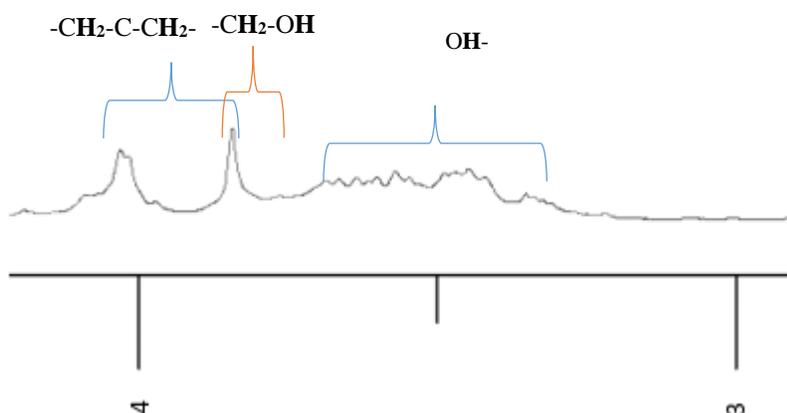


Figura 3.12 Ampliación del área de 4.5 -3 ppm del Espectro RMN de H^1 del polímero.

En la figura 3.13 se muestra el área de 3 a 2 ppm, dentro de esta sección específicamente en el área de 2.74 ppm se observan dos picos, los cuales corresponden a un grupo metileno ($-\text{CH}_2-$), el cual tiene como vecino a un grupo metino ($-\text{CH}-$).

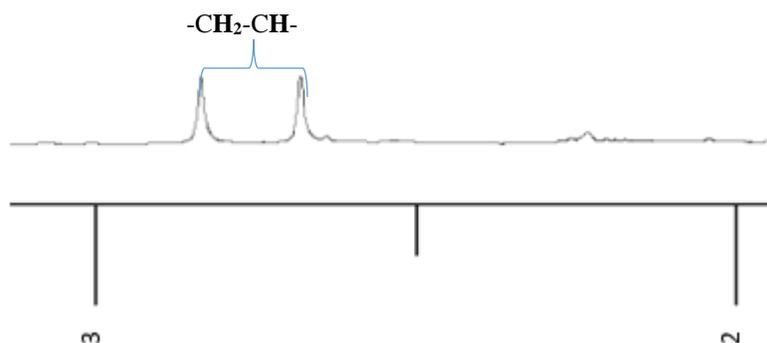


Figura 3.13 Ampliación del área de 3-2 ppm del Espectro RMN de H^1 del polímero.

En la figura 3.14 se muestra una ampliación del área de 2 a 1 ppm, dentro de esta zona se tienen varias señales a, 1.74, 1.66, 1.55 ppm, las cuales corresponden a grupos metilenos que conforman una cadena como la siguiente ($-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$); en 1.55 ppm se tiene un grupo metileno que tiene como vecinos un carbono cuaternario y un grupo metilo; en 1.17 se observa un cuarteto el cual indica que se tienen 3 protones equivalentes vecinos equivalentes al grupo metilo ($-\text{CH}_3$).

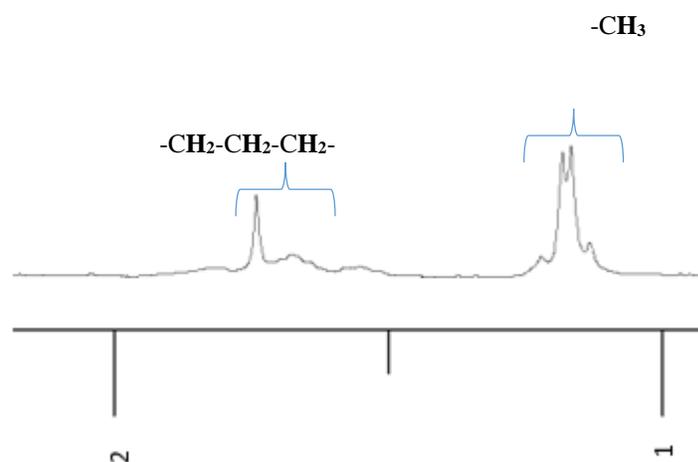


Figura 3.14 Ampliación del área de 2-1 ppm del Espectro RMN de H^1 del polímero.

En la figura 3.15 se presenta el espectro de la corrida de C^{13} , en donde se observa la presencia de mucho ruido en el espectro, esto debido a que la concentración del polímero disuelto no fue muy alta y también debido a que el tiempo asignado para la corrida en el software fue de 30 minutos lo cual fue muy poco para lograr la definición de las señales de carbono.

En el área de 175 a 150 ppm se muestran dos señales correspondientes a alquenos ($-C=C-$), los cuales se encuentran presentes en la estructura química del poliéter de glucosa; en la región de 78 a 66 ppm corresponde a carbonos que están unidos con un grupo hidroxilo ($-C-OH$), señales características de la estructura de la glucosa; en el área de 39 a 19 ppm, las señales pertenecen a compuestos que dentro de su estructura tienen enlace carbón-carbón ($-C-C-$). Se tuvo como referencia para la identificación de las señales de C^{13} una estimación del espectro de carbono a partir de la estructura química del poliéter de glucosa, dicha predicción se realizó en el software Chemdraw[®] ya que no se tenía ninguna base mediante bibliografía debido a que es un compuesto nuevo.

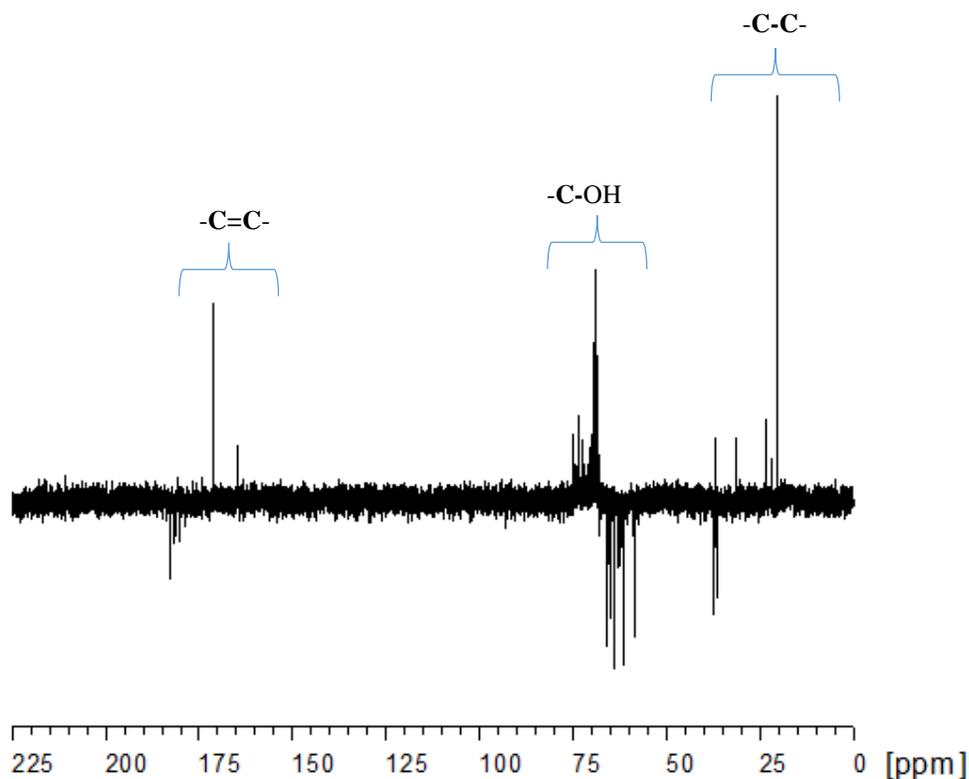


Figura 3.15 Espectro RMN de C^{13} del polímero.

Como se mencionó anteriormente el espectro de C^{13} , no se muestra muy definido, por lo cual el espectro que sirvió más para la identificación del compuesto fue el espectro de protón, ya que, para la definición de las señales en el análisis de protón no fue necesario aumentar la concentración de la muestra para obtener señales definidas.

3.9 Solubilidad del poliéter de glucosa de tule.

Después de realizar las pruebas de solubilidad con los solventes propuestos, se presenta la tabla 3.10 en la cual se enlistan y se muestra la solubilidad que tuvieron con el polímero.

Tabla 3.10 Solubilidad de poliéter de glucosa de tule con diversos solventes.

Solventes	Solubilidad
Acetona (propanona)	Insoluble
Agua	Totalmente soluble
Etanol	Insoluble
Ciclohexano	Insoluble
Cloroformo	Insoluble
Dimetilformamida	Insoluble
Metanol	Insoluble
Tetrahidrofurano	Parcialmente soluble

Si se tiene en consideración la regla de lo semejante disuelve a lo semejante, se podría justificar el hecho de que el agua fuera el único solvente que logrará disolver totalmente el polímero. La estructura química del poliéter de glucosa muestra que es un compuesto polar debido a los grupos hidróxilo que posee la molécula, de la misma manera que el agua, por lo que la interacción soluto-disolvente que existe entre estos da lugar a una solubilidad alta.

3.10 Análisis térmico del glicopolímero empleando DSC-TGA.

Se utilizó la técnica termogravimétrica para evaluar la estabilidad térmica y la temperatura de descomposición del polímero obtenido a partir de tule, el poli{6-[2,2-(butilmetoxi-metoxi-1-propenil)-1-butanol]-oxano-2,3,4,5-tetrol}.

En la figura 3.16 se muestra un termograma TGA en el que se presenta el comportamiento del polímero cuando a éste se le somete a una rampa de calentamiento de 30°C-600°C. El polímero presenta una pérdida de peso de 6.497% correspondiente al contenido de agua dentro de la región de calentamiento de 30°C-112.55°C. Cuando se le somete a otra región de calentamiento de 112.55°C-181.54°C presenta otra pérdida de un 11.69% debido a la descomposición de glucosa. Dentro del rango de 181.54°C-350.28°C se tiene una pérdida del 25.22%, dicha pérdida se le atribuye a la descomposición del poliéter de glucosa y a temperaturas superiores a 600°C se tuvo una pérdida del 19.18% que es atribuido a compuestos inorgánicos como es el óxido de calcio presente en el hidrolizado detoxificado de glucosa de tule que se utilizó para la eterificación y la posterior polimerización.

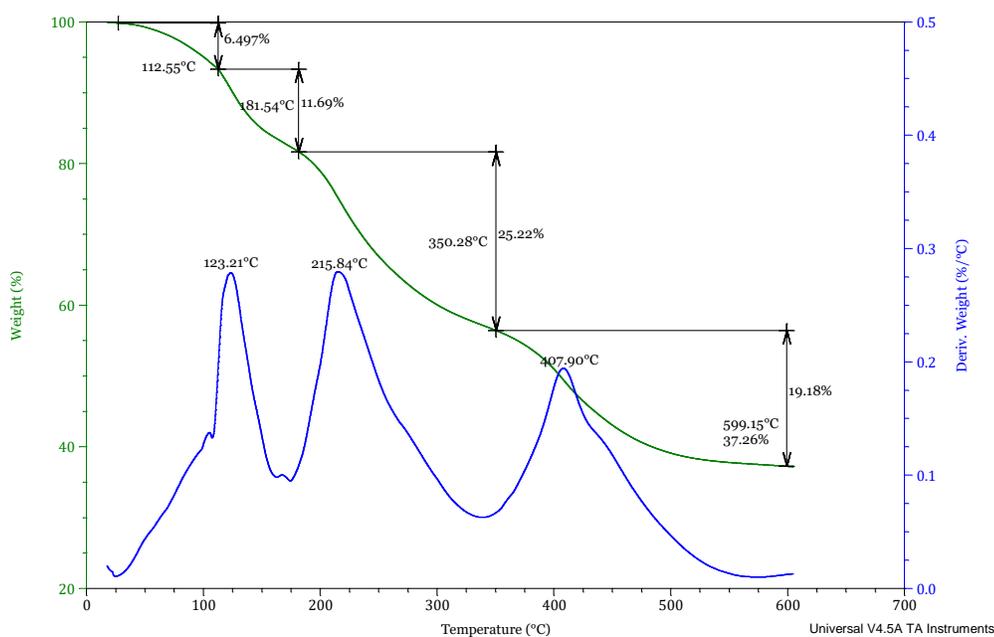


Figura 3.16 Termograma TGA de Temperatura (°C) vs Peso (%) del poli{6-[2,2-(butilmetoxi-metoxi-1-propenil)-1-butanol]-oxano-2,3,4,5-tetrol}.

En el análisis de calorimetría diferencial de barrido que se muestra en la figura 3.18 se observan endotermas asociadas a transiciones de fase en las temperaturas de 130°C, 220°C y 400°C, siendo estas asociadas a temperaturas de degradación.

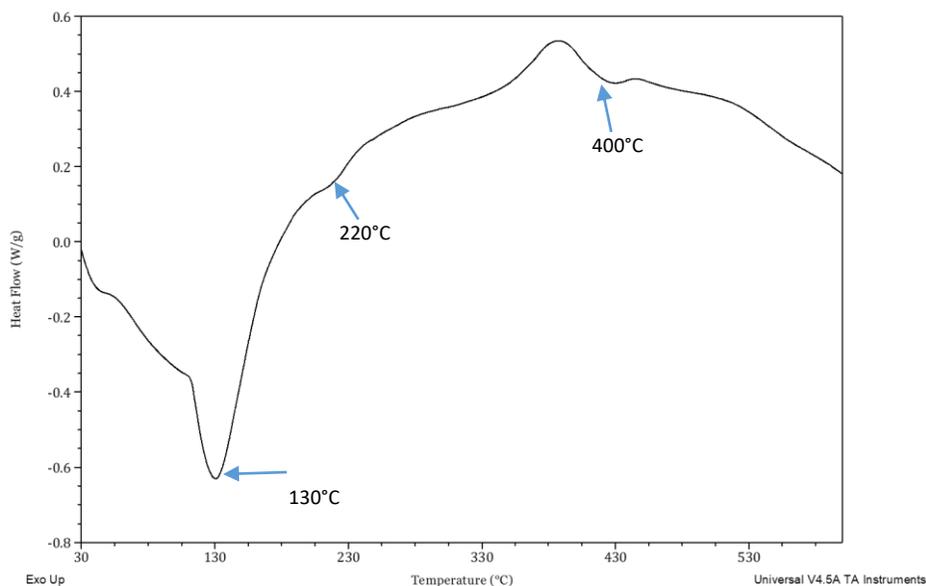


Figura 3.18 Termograma DSC de poliéter de glucosa

El análisis simultáneo DSC-TGA sirvió para identificar las temperaturas en las cuales el polímero comienza a degradarse y se estableció que compuesto era el que se descomponía de acuerdo a las temperaturas identificadas en el Termograma de TGA.

3.11 Determinación de peso molecular del glicopolímero por medio de DLS.

Dado que era necesario el dato del factor dn/dc , éste fue determinado con los índices de refracción de las muestras a diferentes concentraciones. A continuación, en la tabla 3.11 se muestran las concentraciones de las diluciones utilizadas con el índice de refracción, el cual fue obtenido con el refractómetro.

Tabla 3.11 Índice de refracción correspondiente a las diluciones.

Concentración		Agua desionizada (T=20 °C)
mg /ml	g/ml	n (índice de refracción)
25	0.025	1.33649
20	0.02	1.33587
15	0.015	1.33537
10	0.01	1.33445
5	0.005	1.33390

En la figura 3.19 se muestra una gráfica con los datos mostrados en la tabla 3.9 y con ayuda de Excel se aplicó regresión lineal con los datos, obteniendo como valor de la pendiente $m=0.132$, el cual es el factor dn/dc (incremento del índice de refracción) que se utilizó en el equipo.

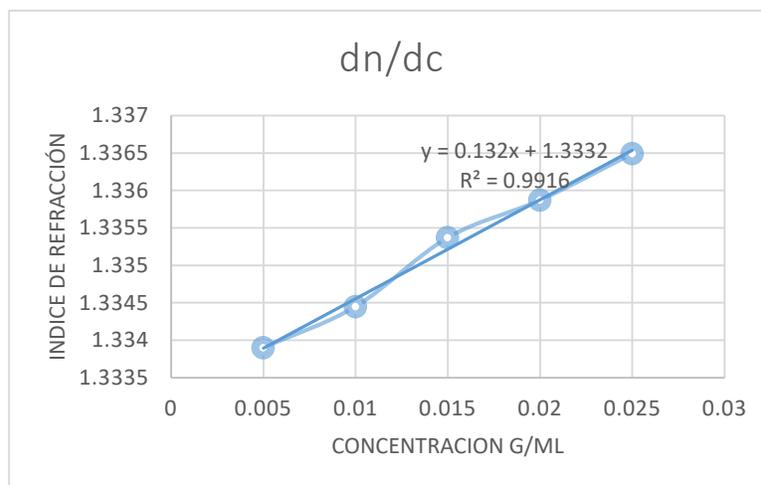


Figura 3.19 Concentración vs Índice de refracción.

El software del equipo DLS, utiliza diferentes plantillas para el tipo de medición que se desee realizar. Durante esta investigación se utilizó la plantilla para determinar la masa atómica promedio en peso (M_w). Durante la medición de la masa atómica promedio se utilizó el factor dn/dc calculado previamente.

La masa atómica que reportó el equipo fue un promedio conforme al peso y fue de 3.33×10^6 Da, el cual es un valor alto, por lo cual se puede rectificar que el material que se sintetizó

durante la investigación coincide con la masa atómica correspondiente a un polímero, ya que es una molécula que está conformada por más de 3 millones de unidades de Dalton.

El segundo coeficiente virial siendo este de $5.02 \times 10^{-5} \text{ mol}\cdot\text{ml}/\text{g}^2$ nos describe la fuerza de interacción entre la molécula y el solvente, se tiene que el 2do coeficiente virial es mayor a 0, lo cual nos indica que las moléculas tienden a permanecer en solución, es decir, que el glicopolímero disuelto en agua desionizada se mantiene en solución y que existe una afinidad entre ambos, por lo cual el polímero no se precipita durante la interacción de la luz dispersa que produce el equipo.

Conclusiones.

El implementar un tratamiento alcalino con el tule malla #20, ayudo a fracturar la estructura química de esta especie vegetal, dando lugar a la separación de sus componentes estructurales: lignina y celulosa.

En el diseño de experimentos, las fibras obtenidas con la condición de 160°C por 60 minutos y 35% de sosa tuvo el mayor porcentaje de rendimiento con 33.66%, lo cual indica que este tratamiento químico arroja buenos resultados para la extracción de fibras.

La caracterización realizada en FTIR mostro en un espectro de infrarrojo los estiramientos característicos a los grupos funcionales de la celulosa: OH (3519 - 3079 cm^{-1}), C=O (1683 cm^{-1}), C-O-C (1315 cm^{-1}) y C-O (1057 cm^{-1}). Por lo cual se concluye que el proceso de hidrólisis básica es un método de extracción de fibras eficiente.

Dado que la celulosa es un polímero conformado por monómeros de glucosa, se optó por realizar un tratamiento con ácido sulfúrico diluido para fraccionar la estructura de las fibras obtenidas de tule, se llevó a cabo un diseño de experimentos teniendo como variables la temperatura, el tiempo y la concentración de ácido, para determinar la concentración de los hidrolizados de este proceso se caracterizaron por medio de cromatografía líquida de alta resolución, en dicho análisis se identificaron otros azúcares aparte de glucosa, los cuales corresponden a xilosa, celobiosa y arabinosa. La condición más enriquecida en concentración de glucosa fue a 180°C por 10 minutos con 10% de ácido sulfúrico con 7.201 mg/ml con un porcentaje de extracción del 17.281 %. En base a este tratamiento químico por el cual se sometieron las fibras de celulosa se deduce que utilizando ácido sulfúrico diluido es un proceso efectivo para la extracción de azúcares contenidos en las fibras de celulosa, teniendo especial interés en la glucosa.

Durante el proceso de hidrólisis ácida a parte de la extracción de glucosa, se generan compuestos de degradación, los cuales se identificaron en los hidrolizados del diseño de experimentos como furfural, 5-hidroximetilfurfural y ácido acético. Con la finalidad de que estos compuestos de degradación no interfieran en la reacción enzimática para la síntesis del éter de glucosa, se realizó una detoxificación del hidrolizado de la condición que tenía mayor concentración de glucosa, gracias a este proceso la concentración de los inhibidores disminuyo notablemente en un 100% en 5-hidroximetilfurfural, mientras que el ácido acético

presento un aumento de 3.283 mg/ml, así como el furfural con 0.352 mg/ml, con respecto a la concentración cuantificada en el diseño de experimentos. Con esto se llega a la conclusión que al aplicar un tratamiento de detoxificación sobre el hidrolizado, fue efectivo para reducir la concentración del 5-HMF a excepción del ácido acético y el furfural, ya que en estos últimos su concentración aumento por efecto de la temperatura sobre ellos.

La metodología que se creó para llevar a cabo la eterificación se desarrolló de manera exitosa, cabe destacar que como se indicó en la introducción, esta metodología fue planteada en base a antecedentes que se tenían, pero con diferentes reactivos, lo cual la hizo diferente y única. El producto obtenido durante la eterificación con la glucosa y 2,2-Bis(aliloximetil)-1-butanol, se caracterizó por medio de FTIR, el espectro obtenido muestra que en la región de 3435 cm^{-1} se observan estiramientos de grupos hidroxilo (OH), en 3084 cm^{-1} estiramientos vinilo ($=\text{CH}_2$), 1672 cm^{-1} estiramiento correspondientes a vinilo terminal y en 1264 cm^{-1} estiramientos C-O-C, de tal manera que se comprobó la presencia de los grupos funcionales de los reactivos con los que se partió la reacción. La síntesis del éter se llevó a cabo por medio de sustitución nucleofílica dando lugar a nuestro éter de glucosa, al que se denomina de acuerdo a su estructura como 6-[2,2-(butilmetoxi-metoxi-1-propenil)-1-butanol]-oxano-2,3,4,5-tetrol.

La polimerización que se llevó a cabo con el monómero de 6-[2,2-(butilmetoxi-metoxi-1-propenil)-1-butanol]-oxano-2,3,4,5-tetrol ocurrió por medio de radicales libres debido a que esta es la vía por la cual el AIBN reacciona en la propagación del monómero. El material resultante se caracterizó inicialmente por medio de FTIR y RMN, ya que por medio de estas dos caracterizaciones se logró identificar los grupos funcionales que conforman el polímero. En FTIR se encontraron las señales de interés en 2928 cm^{-1} , 1575 cm^{-1} y 1263 cm^{-1} , correspondientes a estiramientos vinilo terminal, C-O-C y CH_3 respectivamente. En RMN en la corrida de H^1 se identificaron los grupos mencionados en el rango de 8.27 a 7.30 ppm señales correspondientes a vinilo terminal, en 1.17 ppm a un grupo CH_3 y la señal de C-O-C no se aprecia bien en el espectro de C^{13} debido al ruido que presenta este, por lo cual solo se tomaron como referencia las señales de vinilo terminal y metilo, así que se concluyó que el material sintetizado el poli (6-[2,2-(butilmetoxi-metoxi-1-propenil)-1-butanol]-oxano-2,3,4,5-tetrol) concuerda con el producto que se planteó en las reacciones químicas que se

estructuraron en la metodología, de igual forma por medio de estas caracterizaciones se pudo determinar la manera en que se desarrolló la etapa de terminación, ya que como se había mencionado existen dos formas de terminación, por combinación o desproporciónación y de acuerdo a esto el tipo de terminación que presentó el polímero fue por desproporciónación.

Durante la caracterización térmica DSC-TGA, el polímero al ser sometido a temperaturas superiores de 500°C comienza a degradarse por efecto del calor, de tal manera que podría tener una buena aplicación, ya que es un material resistente.

Mediante el análisis en el equipo DLS se determinó la masa molecular del polímero, siendo de 3.33×10^6 Da, el resultado obtenido confirma que el material sintetizado corresponde a un polímero ya que presenta más de 3 millones de unidades Dalton.

Por lo que se llegó a la conclusión que la especie acuática, tule, tiene mucho que aportar para la investigación, ya que aparte de obtener fibras de esta especie, se puede aprovechar cada uno de sus componentes, como es el caso de esta investigación. La metodología creada para la eterificación de la glucosa de esta especie resultó un éxito, cabe destacar que dicha metodología es nueva y no aparece en artículos de investigación, por lo cual es innovador. Esta investigación abre paso a nuevos proyectos para estudiar más afondo las aplicaciones que podría tener el polímero y el sector en el que podría ser comercializado o para seguir en investigación y realizarle mejoras.

Bibliografía.

- [1]Charudattan,R.,2001a. Are we on top of aquatic weeds? Weed problems, control options, and Challenges In: Riches, C.R.(eds), BCPC Symp. Proc. No. 77: The world's worst weeds. The British Crop Protection Council,Farnham, Surrey, U.K., p. 48-68.
- [2]Camarena, M. O., Aguilar, J.A.Z. (2012), EL IMTA y el control biológico de maleza acuática en distritos de riesgo del país (experiencias desde 1990). Instituto Mexicano de Tecnología del Agua, México, p. 63.
- [3]Charudattan, R., (2001b). Biological control of weeds by means of plant pathogens: significance for integrated weed management in modern agro-ecology. *Biocontrol* 46.2, p. 29-260.
- [4]Castells, X. E. (2012). Biomasa y bioenergía. Diaz de Santos. p. 1-150.
- [5]Bernal E., J. 1991. Pastos y Forrajes Tropicales; Producción y Manejo. Banco Ganadero, Bogotá, p. 544.
- [6]Botrel, M.A., Gomide, J.A. (1981). Importancia do teor dos carboidratos dos meristemas apicais para a rebrota do capim Jaragua (*Hyparrhenia rufa* (Nees)Stapf). *Revista da Sociedade Brasileira de Zootecnia* 10(3), p. 426-441.
- [7]Voet Donald, Voet Judith G., Pratt W. Charlotte, Fundamentos de bioquímica, “Polisacáridos estructurales”, Editorial Artmed, Cuarta edición, p. 275.
- [8]Dussán, K. J., Silva, D. D. V, Moraes, E. J. C., Priscila, V., & Felipe, M. G. A. (2014). Dilute-acid Hydrolysis of Cellulose to Glucose from Sugarcane Bagasse, 38, p. 433–438.
- [9]Mckee, T., & Mckee, J. R. (2003). *Bioquímica: La Base Molecular De La Vida*. p. 219-225
- [10]Fan, L., Gharpuray, M. M., & Lee, Y.-H. (1987). *Cellulose Hydrolysis* (1st ed.). Springer-Verlag Berlin Heidelberg.
- [11]Saha, B.C. (2003). Hemicellulose bioconversion, *J. Ind. Microbiol. Biot.*, 30, p. 219-291

- [12]Sun, R. C., Tomkinson, J., Sun, X. F., Wang, N. J. (2000). Fractional isolation and physico-chemical characterization of alkali-soluble lignins from fast-growing poplar wood. *Polymer*, 41, p. 8409–8417
- [13]Gonzalez, M. (2011). La guía química. Recuperado el 24 de Septiembre de 2018, de <https://quimica.laguia2000.com/elementos-quimicos/lignina-la-quimica-de-la-madera>
- [14]Fiechter A. (1983). Pentosan and lignin. *Advanced Biochemistry, Engineering and Biotechnology*. 27, p. 1-186.
- [15]García F., Martín F y Rodríguez J.J. (1984) Posibilidades de aprovechamiento de la lignina en la industria química. *Ingeniería Química*. 10, p. 249-254.
- [16]Fengel, D y Wegener, G. (1984) *Wood. Chemistry, ultrastructure and reactions*. Walter de Gruyter. Berlin/NewYork, p. 613.
- [17]Hon, D.N.S. (2000) Pragmatic Approaches to Utilization of Natural Polymers: Challenges and Opportunities. In *Natural Polymers and Agrofibers Composites*. E. Frollini, A.L. Leao y L.H.C. Mattoso. p. 1-14.
- [18]Tarchevsky, I.A y Marchenko, G.N. (1991) *Cellulose: Biosynthesis and structure*. Springer-Verlag, Berlin. p. 322.
- [19]Asturnatura.com. (2018). Los monosacáridos. Recuperado el 24 de Septiembre de 2018, de <https://www.asturnatura.com/articulos/glucidos/monosacaridos.php>
- [20]Carbohidratos. (2018). Recuperado el 24 de Septiembre de 2018, de <http://www.biorom.uma.es/contenido/UIB/Jmoldesarrollo/carbohidratosjmol/carbohidratosjmol.html9>
- [21]Mendoza-Alfaro RE y P Koleff-Osorio (2014). Especies acuáticas invasoras en México. *Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad, México*. p. 555
- [22]Conabio, Ficha informativa de *Typha Domingensis* (2018). Recuperado el 24 de septiembre de 2018, de <http://www.conabio.gob.mx/malezasdemexico/typhaceae/typha-domingensis/fichas/ficha.htm>

- [23]Bonilla Barbosa Jaime R., Santamaría Araúz Betzy (2012). Flora del bajío y de regiones adyacentes, Fascículo 176, p. 978-981.
- [24]Hernández Delgado, F. L. (2018). Extracción y cuantificación por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) de los componentes estructurales celulosa y hemicelulosa en tule (*Typha dominguensis*).
- [25]Bjerre, A. B., Olesen, A. B., Fernqvist, T., Plöger, A., Schimidt, A. S. (1996). Pretreatment of wheat straw using combined wet oxidation and alkaline hydrolysis resulting in convertible cellulose and hemicellulose. *Biotechnol. Bioeng.*, 49, p. 568-577.
- [26]N. Mosier, C. Wyman, B. Dale, R. Elander, Y.Y. Lee, M. Holtzapple, M. Ladisch, (2005). Features of promising technologies for pretreatment of lignocellulosic biomass, *Bioresour. Technol.*, 96, p. 673-686
- [27]García-Aparicio, P., Ballesteros, I., González., A., Oliva, J.M., Ballesteros, M., Negro, M.J., (2006). “Effect of inhibitors released during steam-explosion pretreatment of barley straw on enzymatic hydrolysis.” *Applied Biochemistry and Biotechnology* 129, p. 278-288.
- [28]Martín, C., Jönsson, L.J., (2003). “Comparison of the resistance of industrial and laboratory strains of *Saccharomyces* and *Zygosaccharomyces* to lignocellulose-derived fermentation inhibitors.” *Enzyme and Microbial Technology* 32, p. 386-395.
- [29]Klinke, H.B., Ahring, B.K., Schmidt, A.S., Thomsen, A.B., (2002). “Characterization of degradation products from alkaline wet oxidation of wheat straw.” *Bioresource Technology* 82, p. 15-26.
- [30]Almeida, J.R.M., Modig, T., Petersson, A., Hahn-Hägerdal, B., Liden, G., Gorwa-Grauslund, M.F., (2007). “Increased tolerance and conversion of inhibitors in lignocellulosic hydrolysates by *Saccharomyces cerevisiae*.” *Journal of Chemical Technology and Biotechnology* 82, p. 340-349.
- [31]R.C. Saxena, D.K. Adhikari, H. B. G. (2009). Bioetanol De Paja De Trigo: Estrategias De Integración De Las Etapas Del Proceso. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*. p. 167-178

- [32]Kuhad, R.C., Gupta, R., Khasa, Y.P., Singh, A., (2010). "Bioethanol production from *Lantana camara* (red sage): Pretreatment, saccharification and fermentation." *Bioresource Technology* 101, p. 8348-8354.
- [33]Arslan, Y., Eken-Saraçoglu, N., (2010). "Effects of pretreatment methods for hazelnut shell hydrolysate fermentation with *Pichia stipitis* to ethanol." *Bioresource Technology* 101, p. 8664-8670.
- [34]Cantarella, M., Cantarella, L., Gallifuoco, A., Spera A., Alfani., (2004). "Effect of inhibitors released during steam-explosion treatment of poplar wood on subsequent enzymatic hydrolysis and SSF." *Biotechnology Progress* 20, p. 200-206.
- [35]Yang, X., Zhang, S., Zuo, Z., Men, X., Tian, S., (2011). "Ethanol production from enzymatic hydrolysis of nodetoxified steam-exploded corn stalk." *Bioresource Technology* 102, p. 7840-7844.
- [36]Vian A., "Introducción a la Química industrial", EJ.: Alhambra Universidad. Madrid, 1987.
- [37]La, A. A., & Papelera, I. (1994). Estudio sobre la reducción de antraquinona con sulfito sódico. Aplicación a la industria papelera. Universidad Complutense de Madrid. p. 1-247.
- [38]N. Mosier, C. Wyman, B. Dale, R. Elander, Y.Y. Lee, M. Holtzapple, M. Ladisch, (2005) Features of promising technologies for pretreatment of lignocellulosic biomass, *Bioresour. Technol.*, 96, p. 673-686.
- [39]Minerva A.M. Zamudio, Ascensión Alfaro, Hugo E. de Alva, Juan Carlos García, Moisés García-Morales and Francisco López. (2014). Biorefinery of paulownia by autohydrolysis and soda-anthraquinone delignification process. Characterization and application of lignin. *J Chem Technol Biotechnol*, 90, p. 534-542
- [40]Chang, V.S., Nagwani, M., Kim, C.H., Holtzapple, M.T., (2001). Oxidative lime pretreatment of high-lignin biomass. *Applied Biochemistry and Biotechnology* 94, p. 1–28.
- [41]G. Sturgeoff, Lynda y Pitl, Yvette, (1994). Low-kappa pulping without capital investments. Using anthraquinone for low-kappa pulping. 77. 95-100.

- [42]Lanchenal, D., de Choudens, C y Monzie, P. (1980). Chemical pulping without sulfur Tappi Journal, 63 (11), p. 59-62.
- [43]Tarkov H, Feist WC. (1969) A mechanism for improving the digestibility of lignocellulosic materials with dilute alkali and liquid ammonia. Adv Chem Ser;65, p. 197-218
- [44]Taherzadeh MJ, Karimi K. (2008). Pretreatment of lignocellulosic wastes to improve ethanol and biogas production; a review. Int J Mol Sci;9, p.1621-51.
- [45]Kim S,Holtzapple MT. (2006). Effect of structural features on enzyme digestibility of corn stover.Bioresour Technol;97, p. 583–91.
- [46]Zheng MX,Li XJ,Li LQ. (2009). Enhancing anaerobic biogasification of corn stover through wet state NaOH pretreatment. Bioresour Technol; 100:21. p. 5140-5145
- [47]Badger, P.C., (2002). A Ethanol from cellulose: general review. Trends in Crops and new uses. ASHS Press, Alexandria,VA, p. 17-21.
- [48]S. Cheung, B. Anderson, (1996). Ethanol production from wastewater solids, Water Environment and Technology 8 (5) p. 55–60.
- [49]A. Wingren, M. Galbe, G. Zacchi, (2003) Techno-economic evaluation of producing ethanol from softwood: comparison of SSF and SHF and identification of bottlenecks, Biotechnology Progress 19 (4) p. 1109–1117.
- [50]Saeman, J.F., (1945). Kinetics of wood saccharification: Hydrolysis of cellulose and decomposition of sugars in dilute acid at high temperature. Industrial Engineering Chemistry 37, p. 42–52.
- [51]S. Gámez, J.J. González-Cabriales, J.A. Ramírez, G. Garrote, M. Vázquez, (2006) Study of the hydrolysis of sugar cane bagasse using phosphoric acid, Journal of Food Engineering 74 (1), p. 78–88.
- [52]I. Romero, M. Moya, S. Sánchez, E. Ruiz, E. Castro, V. Bravo, (2007) Ethanolic fermentation of phosphoric acid hydrolysates from olive tree pruning, Industrial Crops and Products 25 (2) p. 160–168

- [53]Mussatto, S. I., Dragone, G., Fernandes, M., Rocha, G. J. M., & Roberto, I. C. (2006). Efecto de los tratamientos de hidrólisis ácida e hidrólisis alcalina en la estructura del bagazo de malta para liberación de fibras de celulosa. XXII IACChE (CIIQ), 5(OCTOBER), 10.
- [54]Dussán, K. J., Silva, D. D. V, Moraes, E. J. C., Priscila, V., & Felipe, M. G. A. (2014). Dilute-acid Hydrolysis of Cellulose to Glucose from Sugarcane Bagasse, 38, p. 433–438.
- [55]A. Orozco,M.Ahmad,D.Rooney,G.M.Walker, (2007). Dilute acid hydrolysis of cellulose and cellulosic bio-waste using a microwave reactor system, Process Safety and Environmental Protection Trans IChemE, Part B 85 (B5) p. 446–449.
- [56]Lenihan, P., Orozco, A., O’Neill, E., Ahmad, M. N. M., Rooney, D. W., & Walker, G. M. (2010). Dilute acid hydrolysis of lignocellulosic biomass. Chemical Engineering Journal, 156(2), p. 395–403.
- [57]Nelson, David L., M. Cox Michael, (2005). Principios de bioquímica Lehninger,OM EGA,Barcelona, p. 189-222
- [58]Lee, H.Y. and Fan, L.T., (1982) Kinetic studies of enzymatic hydrolysis of insoluble cellulose: analysis of the initial rates. Biotechnology and Bioengineering ,24, p. 2383 -2406.
- [59]Charles Wyman (1996).Handbook on Bioethanol: Production and Utilization,Applied Energy Technology Series, Washinton, Dc, p. 1-442
- [60]Margolles-Clark, E., Ilmén, M. and Penttilä, M., (1977). Expression patterns of ten hemicellulase genes of the filamentous fungus *Trichoderma reesei* on various carbon sources. Journal of Biotechnology, 57, (1-3), p. 167-179,
- [61]Kubicek, C.P. and Penttilä, M.E., (1998). Regulation of production of plant polysaccharide degrading enzymes by *Trichoderma* and *Gliocladium*, Biological Control and Commercial Applications, 2, p. 49 – 60.
- [62]Moreira N., (2005). Growing expectations: new technology could turn fuel into a bump crop Sci News Online,168 (14), p. 209-224.
- [63]González, Raúl (2007). Interacciones entre cloruro de trifeniltetrazolio y polímeros solubles en agua.

- [64]Billmeyer, F. (1978). *Ciencia de los polímeros*, 2º Edición, Reverte. p. 285–310.
- [65]Krzysztof Babiuch, M. H. S. (2014). *Synthesis and Application of Glycopolymers*. *Encyclopedia of Polymer Science and Technology*, (1), p. 1–58.
- [66]Ladmiral, V., Melia, E., & Haddleton, D. M. (2004). Synthetic glycopolymers: An overview. *European Polymer Journal*, Vol. 40, p. 431–449.
- [67]Krzysztof Babiuch, M. H. S. (2014). *Synthesis and Application of Glycopolymers*. *Encyclopedia of Polymer Science and Technology*, (1), p. 1–58.
- [68]Kitagawa, M., & Tokiwa, Y. (1998). Synthesis of polymerizable sugar ester possessing long spacer catalyzed by lipase from *Alcaligenes* sp. and its chemical polymerization. *Biotechnology Letters*, 20(7), p. 627–630.
- [69]Kitagawa, M., & Tokiwa, Y. (2006). Polymerization of vinyl sugar ester using ascorbic acid and hydrogen peroxide as a redox reagent. *Carbohydrate Polymers*, 64(2), p. 218–223.
- [70]Borges, M. R., Santos, J. A. dos, Vieira, M., & Balaban, R. (2009). Polymerization of a water soluble glucose vinyl ester monomer with tensoactive properties synthesized by enzymatic catalyst. *Materials Science and Engineering C*, 29(2), p. 519–523.
- [71]Laboratorio de técnicas espectroscópicas, FTIR. Recuperado el 25 de septiembre del 2018 de <http://www.labte.es/index.php/es/2013-11-03-19-54-23/tecnicas-espectroscopicas/ensayos-mediante-ft-ir>
- [72]Servicios Científico-Técnicos, Espectrofotómetro de infrarrojo (FTIR). Recuperado el 25 de septiembre del 2018 de <https://www.upc.edu/sct/es/equip/49/espectrofotometro-infrarrojo-ftir.html>
- [73]Vicerrectorado de Investigación, Resonancia magnética nuclear. Recuperado e 25 de septiembre del 2018 de <https://investigacion.us.es/scisi/sgi/servicios/rmn>
- [74]Tema 10 Espectroscopia de resonancia magnética nuclear, Fundamentos de química orgánica. Recuperado el 25 de septiembre del 2018 de <http://www.sinorg.uji.es/Docencia/FUNDQO/TEMA10FQO.pdf>
- [75]Universidad Nacional de México, Espectroscopia de resonancia magnética nuclear. Recuperado el 25 de septiembre del 2018 de <https://www.iquimica.unam.mx/labserv?id=177>

- [76]Skoog, D. A., Holler, F. J., Nieman, T.A., & Gómez, M. del C. (2001). Principios de análisis instrumental, McGraw-Hill, p. 435-537.
- [77]Haines P.J., Wilburn F.W. (1995) Differential thermal analysis and differential scanning calorimetry. In: Thermal Methods of Analysis. Springer, Dordrecht
- [78]TA Instruments. (2010) Specifications, SDT Q600. Inc., Recuperado el 25 de Septiembre del 2018 de [http:// www.tainstruments.com/](http://www.tainstruments.com/)
- [79]Ospina, J., & Rondón, A. (2006). Guía metodológica para realizar análisis mediante el calorímetro de barrido diferencial (DSC Q10), como servicio de extensión a la industria nacional por parte de la escuela de ingeniería química, UIS. UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER
- [80]Dispersión de luz. Recuperado el 25 de septiembre del 2018 de https://gredos.usal.es/jspui/bitstream/10366/120540/3/MID_11_084_2.pdf
- [81]Anton Paar, Litesizer™ 500. Recuperado el 25 de septiembre del 2018 de <https://www.anton-paar.com/mx-es/productos/detalles/litesizertm-500/>
- [82]Protein sizing by light scattering, molecular weight and polydispersity, Malvern Instruments presentation. Recuperado el 25 de septiembre del 2018 de <http://nanoparticles.org/pdf/nobbmann.pdf>
- [83] Yang, H. (2007). Characteristics of hemicellulose, cellulose and lignin pyrolysis. Fuel, 88(12–13), p. 1781–1788.
- [84]Contreras, H., Trujillo, H., Arias, G., Pérez, J. (2010). Espectroscopia ATR-FTIR de celulosa: aspecto instrumental y tratamiento matemático de espectros. E-Gnosis, 8, p. 1–13.