

**UNIVERSIDAD DE CÓRDOBA**

**Facultad de Ciencias**

**Departamento de Química Inorgánica e Ingeniería Química**



---

**Lignonanofibras de celulosa (LNFC) a partir de residuos agro-industriales no madereros. Obtención, caracterización y aplicaciones**

---

**Tesis doctoral**  
Eduardo Espinosa Víctor  
Córdoba 2019

TITULO: *LIGNONANOFIBRAS DE CELULOSA (LNFC) A PARTIR DE RESIDUOS AGRO-INDUSTRIALES NO MADEREROS. OBTENCIÓN, CARACTERIZACIÓN Y APLICACIONES*

AUTOR: *Eduardo Espinosa Víctor*

---

© Edita: UCOPress. 2019  
Campus de Rabanales  
Ctra. Nacional IV, Km. 396 A  
14071 Córdoba

<https://www.uco.es/ucopress/index.php/es/ucopress@uco.es>

---

**UNIVERSIDAD DE CÓRDOBA**

**Facultad de Ciencias**

**Departamento de Química Inorgánica e Ingeniería Química**

PD: Biociencias y Ciencias Agroalimentarias



Memoria presentada para optar al grado de Doctor

Fdo.: Eduardo Espinosa Víctor

**Lignonanofibras de celulosa (LNFC) a partir de  
residuos agro-industriales no madereros. Obtención,  
caracterización y aplicaciones**

---

**Lignocellulose nanofibers (LCNF) from agro-industrial  
non-wood residues. Production, characterization and  
applications**

**El director de la Tesis**

**Dr. Alejandro Rodríguez Pascual**

Profesor Titular

Dpto. Química Inorgánica e Ingeniería Química

Universidad de Córdoba

Córdoba 24 de junio de 2019





**TÍTULO DE LA TESIS:**

**Lignonanofibras de celulosa (LNFC) a partir de residuos agro-industriales no madereros. Obtención, caracterización y aplicaciones**

**DOCTORANDO: Eduardo Espinosa Víctor**

**INFORME RAZONADO DEL DIRECTOR DE LA TESIS**

(se hará mención a la evolución y desarrollo de la tesis, así como a trabajos y publicaciones derivados de la misma).

La tesis que se presenta tiene unos altos índices de calidad, tanto a nivel de los artículos que de ella han salido, como de las ponencias que el doctorando ha presentado en congresos internacionales de gran prestigio. Esta tesis viene auspiciada por un proyecto nacional CTQ2013, que supuso una ruptura en la línea de investigación tradicional que se venía desarrollando. El doctorando ha sido el encargado por tanto de poner en marcha, a nivel de laboratorio, las diversas nuevas vías de investigación, relacionadas con las nanofibras de celulosa obtenidas a partir de residuos agro-industriales. En efecto, estos residuos se generan en gran cantidad en nuestro país, y más concretamente en Andalucía, por lo que su valoración debe ser algo de vital importancia desde muchos puntos de vista: creación de empleo en núcleos rurales, generación de retorno por parte de un residuo, etc.

El trabajo del doctorando en esta tesis ha derivado en la publicación de 7 artículos en revistas Q1, además de tener actualmente dos en "minor revisio" también en revistas Q1. Además, por su participación en otras líneas de investigación puede atesorar 6 artículos más en revistas igualmente Q1 (y una en Q2).

Ha participado en diversos congresos internacionales, presentando ponencias orales en la mayoría de ellos.

En cuanto a la adquisición de conocimientos, el doctorando ha aprendido a manejar diferentes técnicas analíticas, como FTIR; DRX, SEM, TEM, Pot Z, INSTROM, AFT4, TGA, etc., y lo que es más importante, a interpretar los resultados obtenidos.

Por todo ello, se autoriza la presentación de la tesis doctoral.

Córdoba, 17 de Junio de 2019

Firma del director

RODRIGUEZ  
PASCUAL  
ALEJANDRO -  
30829580N

Digitally signed by RODRIGUEZ  
PASCUAL ALEJANDRO - 30829580N  
DN: c=ES, serialNumber=30829580N,  
sn=RODRIGUEZ PASCUAL,  
givenName=ALEJANDRO,  
cn=RODRIGUEZ PASCUAL  
ALEJANDRO - 30829580N  
Date: 2019.06.18 13:32:31 +02'00'

Fdo.: Alejandro Rodríguez Pascual

## **FINANCIACIÓN Y AYUDAS PARA LA REALIZACIÓN DE ESTA TESIS DOCTORAL**

La realización de esta Tesis Doctoral, llevada a cabo en el Departamento de Química Inorgánica e Ingeniería Química de la Universidad de Córdoba, ha sido posible gracias al programa “Ayudas para contratos predoctorales para la Formación de Profesorado Universitario (FPU)” de los subprogramas de Formación y Movilidad dentro del Programa Estatal de Promoción del Talento y su Empleabilidad, del Ministerio de Educación, Cultura y Deporte, obtenida en la convocatoria de 2014 (FPU014/02278).

También ha sido posible gracias a la financiación recibida a través de los proyectos “Estudio de secuencias de tratamientos termoquímicos para la optimización de biorrefinería para cultivos de rápido crecimiento y residuos agrícolas”, CTQ2013-46804-C2-2-R, y “Lignonanofibras celulósicas de residuos agro-alimentarios para su aplicación en envases alimentarios funcionales y sostenibles”, CTQ2016-78729-R, ambos del Ministerio de Economía y Competitividad (Convocatoria de 2013 y 2016, respectivamente), cuyo Investigador Principal es el Dr. Alejandro Rodríguez Pascual.

Además, se ha recibido financiación para la realización de dos estancias en centros extranjeros de reconocido prestigio. La primera se realizó en el centro de investigación LGP2 – Laboratoire Génie des Procédés Papetiers de la escuela INP-Pagora de Grenoble (Francia), bajo la supervisión del Dr. Julien Bras, gracias a la convocatoria “Ayudas a la movilidad para estancias breves y traslados temporales de beneficiarios FPU 2016”. La segunda tuvo lugar en el grupo de Biocomposites del centro de investigación RISE PFI AS de Trondheim (Noruega), bajo la supervisión del Dr. Gary Chinga-Carrasco, gracias a la convocatoria “Short Term Scientific Mission (STSM)” de la acción COST FP1405 “Active and intelligent fibre-based packaging – innovation and market introduction (ActInPak)”.





## AGRADECIMIENTOS

La presente Tesis Doctoral refleja el resultado de cuatro años de trabajo durante los que he recibido la ayuda y apoyo de muchas personas a las que quiero dedicarles mi más sincero agradecimiento.

En primer lugar, agradecer a mi director, el Dr. Alejandro Rodríguez Pascual por la dirección y supervisión de este trabajo, así como por sus valiosos consejos y sugerencias. Muchas gracias por tu apoyo, confianza y por poner siempre a mi alcance los recursos necesarios para el desarrollo de esta Tesis. Echando la vista atrás es un orgullo ver todo lo que se ha conseguido durante estos años.

Quiero mostrar también mi agradecimiento especial a dos miembros del grupo de investigación, porque para mí, es como si nunca os hubieseis ido, el Dr. Rafael Sánchez y el Dr. Juan Domínguez. Ha sido un placer comenzar el camino de la investigación a vuestro lado, no podría haber tenido mejores compañeros de viaje. Gracias por todos los momentos que me habéis ofrecido, tanto dentro como fuera del laboratorio. Me gustaría también agradecer a mis actuales compañeras; Isa, Mónica y Esther, ha sido una suerte y un placer compartir esta última etapa del doctorado con vosotras. Gracias por tantos buenos momentos.

Agradecer también al resto de miembros del Departamento de Química Inorgánica e Ingeniería Química de la Universidad de Córdoba, que de una forma u otra han ayudado a que este trabajo haya sido posible. Gracias en especial al resto de doctorandos; Aída, Javi Hungría, Javi Reyes, Manu y Pedro, con los que he tenido el placer de compartir grandes momentos.

Me gustaría realizar una mención especial a D. Sixto Ruiz. Gracias por todos estos años, por tu buen humor, y por alegrarnos día a día. Siempre has estado ahí cuando he necesitado tu ayuda y has hecho que la culminación de este trabajo haya sido más fácil.

Gracias a los Drs. Pere Mutjé, Quim Tarrés y Marc Delgado del grupo LEPAMAP de la Universidad de Gerona por su ayuda, asesoramiento y por hacer posible una colaboración continua a lo largo de estos años.

Al Dr. Julien Bras por hacer posible mi estancia en su grupo Biomat del centro de investigación LGP2 – Laboratoire Génie des Procédés Papetiers de la escuela INP-Pagora de Grenoble (Francia). Allí tuve la oportunidad de aprender junto al que hoy día

es uno de los mayores expertos en nanocelulosa del mundo. Gracias por tu tiempo, ayuda y disponibilidad durante esos meses. También agradecer a la Dra. Fleur Rol por su supervisión, guía y apoyo durante mi estancia. El trabajo allí fue más fácil gracias a ti. Agradecer también al resto de compañeros con los que tuve el placer de coincidir e hicieron este periodo más fácil y agradable. (Adriane, Valentin, Lucas, Hippolyte, Manon, Cecile, etc.).

Al Dr. Gary Chinga por darme la oportunidad de trabajar junto a él en el RISE PFI AS de Trondheim (Noruega). Ha sido un placer aprender a tu lado en el área de Biomateriales. Gracias por hacerme sentir como en casa, por acogerme y por compartir tu tiempo libre conmigo, y hacerme disfrutar de la ciudad como lo hice. Gracias también al Dr. Daniel Filgueira por hacer más fácil mi etapa allí. Tu ayuda y colaboración permitió que esa etapa haya sido un éxito, tanto a nivel profesional como personal. Agradecer también la ayuda del resto de compañeros con los que tuve el placer de coincidir (Johny, Mihaela, Olaf, etc.).

Por último, y con especial cariño, agradecer enormemente a mi familia por su apoyo incondicional a lo largo de estos años. A todos ellos, mi madre, mi padre y mi hermano, a mis titos y titas y a todos mis primos y primas. Gracias por todo vuestro apoyo, palabras de cariño y ánimo a lo largo de estos años, este éxito también es vuestro. A Arantxa, gracias por estar a mi lado. Siempre me has ayudado cuando lo he necesitado, siempre has tenido unas palabras de cariño, comprensión y ayuda haciendo este camino mucho más fácil. Gracias también a tu familia por todo el cariño que me han mostrado a lo largo de estos años.

Especial dedicación a mis abuelos Trini y Juan. Gracias por todo. Espero que allá donde estéis os sintáis igual de orgullosos de mi como yo me siento de vosotros.

Os doy las gracias de todo corazón.

***“A mis padres, mi hermano y en memoria de mis abuelos”***



# **Índice**



<b>RESUMEN / ABSTRACT .....</b>	<b>1</b>
<b>INTRODUCCIÓN .....</b>	<b>11</b>
<b>1. La economía circular y la bioeconomía: Camino hacia la sostenibilidad .</b>	<b>11</b>
1.1. Desarrollo sostenible.....	11
1.2. Bioeconomía.....	12
1.3. Economía circular .....	14
<b>2. Biorrefinería de materiales lignocelulósicos .....</b>	<b>14</b>
<b>3. Materiales lignocelulósicos .....</b>	<b>16</b>
3.1. Producción agrícola en España .....	18
<b>4. Estructura y composición química de los materiales lignocelulósicos ...</b>	<b>21</b>
4.1. Celulosa .....	22
4.2. Hemicelulosas .....	23
4.3. Lignina.....	25
4.4. Componentes no estructurales .....	26
<b>5. Nanocelulosa y su producción.....</b>	<b>27</b>
5.1. Tipos de nanocelulosas .....	28
5.2. Pretratamientos para la producción de nanofibras de celulosa .....	30
5.3. Tratamientos para la producción de nanofibras de celulosa .....	34
<b>6. Aplicaciones de la nanocelulosa .....</b>	<b>38</b>
6.1. Aplicación en suspensiones papeleras .....	39
6.2. Aplicación en films para productos alimentarios .....	41
<b>7. Bibliografía .....</b>	<b>43</b>
<b>OBJETIVOS .....</b>	<b>53</b>
<b>MATERIALES Y MÉTODOS .....</b>	<b>57</b>
<b>1. Materiales lignocelulósicos .....</b>	<b>57</b>
<b>2. Caracterización química de las materias primas .....</b>	<b>57</b>
2.1. Determinación del contenido en cenizas (T 211 om-16) .....	58
2.2. Determinación del contenido en extraíbles en sosa (T 4 wd-75) .....	58
2.3. Determinación del contenido en extraíbles en agua caliente (T 1 wd-75 ) .....	58
2.4. Determinación del contenido en extraíbles en etanol (T 6 wd-73) .....	59
2.5. Determinación del contenido en lignina (T 222 om-15) .....	59
2.6. Determinación del contenido en holocelulosa (T 9wd-75) .....	60
2.7. Determinación del contenido en $\alpha$ -celulosa (T 203 cm-09) .....	60

<b>3.</b>	<b>Caracterización química de las pastas celulósicas</b>	<b>61</b>
<b>4.</b>	<b>Caracterización físicas de las fibras celulósicas</b>	<b>61</b>
4.1.	Análisis morfológico	61
4.2.	Grado de polimerización (T 230)	62
<b>5.</b>	<b>Obtención de pastas celulósicas</b>	<b>62</b>
5.1.	Procesos de pasteado	61
5.2.	Proceso de blanqueo	66
<b>6.</b>	<b>Producción de nanofibras de celulosa (NFC)</b>	<b>67</b>
6.1.	Pretratamientos para la producción de nanofibras de celulosa	67
6.2.	Tratamientos para la producción de nanofibras de celulosa	68
6.3.	Determinación del consumo energético en la producción de NFC	70
<b>7.</b>	<b>Caracterización de las nanofibras de celulosa</b>	<b>71</b>
7.1.	Rendimiento de nanofibrilación	71
7.2.	Transmitancia óptica	71
7.3.	Contenido en carboxilos	72
7.4.	Demanda catiónica	73
7.5.	Estimación superficie específica y diámetro	74
7.6.	Microscopía electrónica de transmisión (TEM)	76
7.7.	Microscopía electrónica de barrido (SEM)	76
7.8.	Dispersión de luz dinámica (DLS) y Potencial Z	77
7.9.	Fraccionamiento en flujo mediante campo de flujo asimétrico (AF4)	77
<b>8.</b>	<b>Aplicación en suspensiones papeleras</b>	<b>79</b>
8.1.	Dispersión de nanofibras de celulosa en suspensiones papeleras	79
8.2.	Incorporación de nanofibras de celulosa en aguas de proceso industrial	80
8.3.	Refinado mecánico PFI	81
8.4.	Grado Schopper – Riegler (°SR)	81
8.5.	Formación de las hojas de papel	82
8.6.	Caracterización física de las hojas de papel	82
8.7.	Caracterización mecánica de las hojas de papel	83
8.8.	Determinación del consumo energético en el proceso de reciclaje	86
<b>9.</b>	<b>Aplicación en films alimentarios</b>	<b>87</b>
9.1.	Alcohol polivinílico (PVA)	88
9.2.	Proceso de formación de los films	88
9.3.	Caracterización de los films	89
<b>10.</b>	<b>Técnicas analíticas comunes</b>	<b>93</b>
10.1.	Espectroscopía de infrarrojos en la transformada de Fourier (FTIR)	93
10.2.	Difracción de Rayos X (XRD)	94
10.3.	Análisis termogravimétrico (TGA)	95
<b>11.</b>	<b>Bibliografía</b>	<b>95</b>



<b>RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....</b>	<b>101</b>
<b>Publicación I.</b> Suitability of wheat straw semichemical pulp for the fabrication of lignocellulosic nanofibres and their application to papermaking slurries .....	108
<b>Publicación II.</b> Isolation and characterization of lignocellulose nanofibers from different cereal straws pulps .....	126
<b>Publicación III.</b> A comparative study of the suitability of different cereal straws for lignocellulose nanofibers isolation .....	136
<b>Publicación IV.</b> The effect of pre-treatment on the production of lignocellulosic nanofibres and their application as a reinforcing agent in paper .....	150
<b>Publicación V.</b> Recycled fibers for fluting production: The role of lignocellulosic micro/nanofibers of banana leaves .....	166
<b>Publicación VI.</b> Production of lignocellulose nanofibers from wheat straw by using different fibrillation methods. Comparison of energy consumption and its viability in cardboard recycling process .....	174
<b>Publicación VII.</b> PVA/(ligno)nanocellulose biocomposite films. Effect of residual lignin content on structural, mechanical, barrier and antioxidant properties .....	178
<b>CONCLUSIONES / CONCLUSIONS .....</b>	<b>182</b>



## **Resumen / Abstract**



La Agenda 2030 para el Desarrollo Sostenible, adoptada por todos los Estados Miembros de las Naciones Unidas en 2015, proporciona un modelo compartido para la paz y prosperidad para las personas y el planeta, ahora y en el futuro. Para ello, se han desarrollado 17 Objetivos de Desarrollo Sostenible, como llamada urgente a la acción de todos los países desarrollados y en desarrollo, para aunar fuerzas en una estrategia global. Estos Objetivos están enfocados en temas como el agua, la energía, el clima, los océanos, la urbanización, el transporte, la ciencia y la tecnología. Para que la consecución de estos Objetivos sea una realidad, es necesaria la adopción de un fuerte compromiso por parte de todas las partes interesadas para implementar los objetivos globales.

Para alcanzar este desarrollo sostenible, la Unión Europea ha desarrollado políticas que abogan por una transición hacia la “bioeconomía”, esto es, una economía destinada a reducir la dependencia de los recursos fósiles, limitar las emisiones de gases invernadero y el impacto medioambiental, salvaguardar la seguridad alimentaria, garantizar un crecimiento económico sostenible, y cerrar el círculo de uso de recursos. La aplicación de los principios de la economía circular a la bioeconomía podría representar una valiosa contribución a la optimización del rendimiento de la misma, con el fin de conseguir la circularidad de los residuos biológicos y subproductos generados por los diferentes sectores productivos.

Uno de los sectores que más residuos biológicos genera es la actividad agrícola. Según la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación, en el año 2017, la producción de alimentos a nivel mundial fue de alrededor de 6.100 millones de toneladas. Si tenemos en cuenta que la producción de una tonelada de alimentos puede llegar a producir entre 0,45 – 1,2 toneladas de residuos biológicos, se estima que se producen anualmente entre 2.745 y 7.320 millones de toneladas de residuos biológicos susceptibles de ser valorizados. Generalmente, estos residuos son utilizados como alimentación para la actividad ganadera, enterrados en la tierra de cultivo como enmienda agrícola o quemados para la producción de energía. Sin embargo, ninguno de estos usos aporta un gran valor añadido al sector agroalimentario, ni son suficientes para gestionar el volumen generado.

La valorización de estos residuos biológicos, también conocidos por su composición como materiales lignocelulósicos, puede producirse mediante procesos de biorrefinería. La biorrefinería consiste en la separación de los diferentes componentes que conforman los materiales lignocelulósicos, y su aprovechamiento por separado con el fin de obtener productos de alto valor añadido.

Uno de los productos que pueden obtenerse derivados de los materiales lignocelulósicos es la nanocelulosa. La nanocelulosa es el producto de la desintegración de las fibras celulósicas hasta un tamaño de entre 3 – 100 nm de diámetro y 1 – 4 micrómetros de longitud. Uno de los tipos de nanocelulosa más estudiados son las nanofibras de celulosa. Para producirlas es necesario someter a las fibras celulósicas a un tratamiento de desintegración mecánica para provocar la delaminación de la fibra, aislando así las fibras nanométricas. Este proceso requiere de un elevado consumo energético para asegurar la eficacia del proceso de nanofibrilación. Con el fin de disminuirlo y aumentar la eficiencia del proceso, se han desarrollado diferentes pretratamientos a los que someter la fibra de celulosa antes de su nanofibrilación.

La producción de nanofibras de celulosa, o lignonnanofibras de celulosa en el caso de contener lignina en su composición, depende de múltiples factores como la composición química de la materia prima de partida, el proceso de obtención de pastas celulósicas, y la combinación de pretratamiento – tratamiento. Dos de los sectores que más demandan este producto son el sector papelerero (papel y cartón) y el del envasado alimentario. En el primero debido al efecto refuerzo que produce la interacción nanofibra-fibra sobre los productos finales de papel y cartón, así como su uso como alternativa al refinado mecánico convencional en los procesos de reciclado, con el objetivo de alargar la vida útil de estos productos. En el segundo porque las nanofibras de celulosa se postulan como gran candidato para la sustitución estructural de polímeros plásticos, además de mejorar sus propiedades mecánicas y barrera. Ambos sectores concentran más del 83% de la demanda de este producto en el sector industrial.

En la presente Tesis Doctoral se aborda el estudio de la idoneidad de diferentes residuos agro-industriales, como la paja de cereal (trigo, cebada, avena y maíz) y las hojas de platanera, como materia prima para la producción de lignonnanofibras de celulosa y su aplicación en suspensiones papeleras y envases alimentarios.

Para ello se realizó un estudio preliminar de la producción, mediante tratamientos mecánicos, de lignonnanofibras de celulosa a partir de pasta celulósica obtenida mediante un proceso “a la sosa” empleando paja de trigo como materia prima. Los resultados obtenidos presentaron valores similares a los obtenidos con el uso de pastas celulósicas de producción industrial a partir de materias primas madereras. También se analizó el efecto refuerzo de las mencionadas lignonnanofibras sobre suspensiones papeleras, así como la influencia del contenido en finos sobre la eficacia del refuerzo producido.

Posteriormente se compararon los efectos que diferentes procesos de pasteado, “a la sosa”, Kraft y organosolv, ejercían sobre las características físicas y químicas de las lignonanofibras. Se evaluó, a su vez, el efecto de dos pretratamientos diferentes (oxidación catalítica utilizando 2,2,6,6-tetrametilpiperidina-1-oxilo “TEMPO” y refinado mecánico) sobre las características de las lignonanofibras producidas.

Tras la optimización del proceso de pasteado, se realizó un estudio comparativo de la idoneidad de diferentes pajas de cereales (trigo, avena, maíz y cebada) como materia prima para la producción de lignonanofibras. Se analizó la influencia de las características de la materia prima sobre el efecto de tres pretratamientos diferentes (oxidación catalítica TEMPO, hidrólisis enzimática y refinado mecánico). Además, se desarrolló un método analítico basado en la técnica de fraccionamiento en flujo mediante campo de flujo asimétrico (AF4), para la determinación del tamaño nanométrico de las lignonanofibras, comparándola con otras técnicas convencionales utilizadas.

A continuación, se estudió la aplicación de lignonanofibras de celulosa, de paja de trigo y platanera como materia prima, en suspensiones papeleras, analizando múltiples factores que pueden influir en la efectividad de la aplicación de estas lignonanofibras como agente de refuerzo. Por un lado, se estudió el efecto de los tres pretratamientos en la efectividad de las lignonanofibras como agente reforzante, así como el coste asociado. Y por el otro, se estudió la idoneidad de la hoja de platanera como materia prima para la producción de lignonanofibras, así como su empleo en el proceso de reciclado del cartón. En este último caso se estudió también el efecto de la basura aniónica presente en las aguas de proceso sobre la efectividad del uso de lignonanofibras en el proceso de reciclaje. Debido a la influencia negativa de esta carga, se desarrolló un proceso de neutralización del agua de proceso obteniendo valores similares a los obtenidos con el uso de agua corriente. Además, se realizó un estudio económico de la aplicación de lignonanofibras como tecnología en el reciclado del cartón en comparación con el proceso de refinado mecánico convencional.

Posteriormente se compararon tres tratamientos de nanofibrilación diferentes; homogeneizador a alta presión, molino de fricción y extrusora de doble tornillo, con el fin de reducir el consumo energético en la producción de lignonanofibras y hacer esta tecnología competitiva frente al refinado mecánico utilizado actualmente en la industria papelera.

Por último, se exploró la aplicación de estas lignonanofibras en envases alimentarios. Para ello se analizó el efecto que el contenido residual de lignina contenido en las lignonanofibras ejerce sobre las propiedades finales de films producidos a partir

de alcohol polivinílico. Se estudió a su vez el efecto que la oxidación catalítica TEMPO puede ejercer sobre las ventajas que presenta la aplicación de lignonanofibras, en comparación al uso de nanofibras, sobre las propiedades mecánicas, barrera y antioxidantes de los films producidos.



Members of the United Nations in 2015, provide a shared model for peace and prosperity for people and the planet, now and in the future. For this purpose, 17 Sustainable Development Goals have been developed as an urgent wakeup call by all developed and developing countries to join forces in a global strategy. These Goals are focused on issues such as water, energy, climate, oceans, housing development, transport, science, and technology. For the fulfillment of these goals come true, it is necessary a strong commitment by all stakeholders to implement the global goals.

The European Union has developed policies that advocate a transition to the "bio-economy" to achieve this sustainable development. The main objective of the "bio-economy include, reducing dependence on fossil resources, limiting greenhouse gas emissions and environmental impact, safeguarding food security, ensuring sustainable economic growth, and closing the circle of resource use. The application of the principles of the circular economy to the bioeconomy could represent a valuable contribution to the optimization of its performance in order to achieve the circularity of biological waste and by-products generated by different productive sectors.

The agricultural activity is one of the sectors that generates more biological waste. According to the Food and Agriculture Organization, in 2017, global food production was around 6.1 billion tons. If we consider that the production of one ton of food can produce between 0.45 - 1.2 tons of biological waste, it is estimated that between 2,745 and 7,320 million tons of biological waste that are produced every year can be recovered. Generally, these residues are used as food for livestock activity, buried in farmland as an agricultural amendment or burned for energy production. However, none of these uses brings great added value to the agrifood sector, nor they are enough to manage the volume generated.

The recovery of this biological waste, also known for its composition as lignocellulosic materials, can be produced by means of biorefinery processes. Biorefining consists of separating the different components that compose the lignocellulosic materials and using them in a separate way to obtain high added value products

One of the products obtained from lignocellulosic materials is nanocellulose. It is the product of the disintegration of cellulosic fibers up to a size of between 3 - 100 nm in diameter and 1 - 4 micrometers in length. One of the most studied types of nanocellulose are the cellulose nanofibers. These nanometric fibers can be isolated by means of a mechanical disintegration treatment applied to the cellulosic fibers, production their delamination. This process requires a high energy consumption to ensure the

effectiveness of the nanofibrillation process. In order to reduce it and increase the efficiency of the process, different pre-treatments have been developed.

The production of cellulose nanofibers, or lignocellulose nanofibers, when containing lignin in its composition, depends on multiple factors such as the chemical composition of the starting raw material, the process of obtaining cellulose pulp, and the combination of pretreatment - treatment. Two of the sectors that most demand this product are those related to paper along with cardboard and food packaging. The first one is due to the reinforcing effect produced by the nanofiber-fiber interaction on the final paper and cardboard products, as well as its use as an alternative to conventional mechanical refining in recycling processes, with the aim of extending the useful life of these products. In the second case, cellulose nanofibers are a great candidate for the structural replacement of plastic polymers also improving their mechanical properties and barrier properties. Both sectors concentrate more than 83% of the demand for this product in the industrial sector.

This Doctoral Thesis deals with the study of the suitability of different agro-industrial residues, such as cereal straw (wheat, barley, oats and corn) and banana leaves, as raw material to produce lignocellulose nanofibers and their application in paper suspensions and food containers.

For this purpose, a preliminary study was carried out on the production, by means of mechanical treatments, of lignocellulose nanofibers from cellulose pulp obtained from a "soda" process using wheat straw as raw material. The results obtained presented values similar to those obtained with the use of cellulose pulp of industrial production from wood raw materials. The reinforcement effect of the mentioned lignonnanofibers on paper suspensions was also analyzed, as well as the influence of the fine content on the efficiency of the produced reinforcement.

Subsequently, the effects that distinguish pasteurizing processes, "soda", Kraft and organosolv, exerted on the physical and chemical characteristics of the lignonnanofibers were compared. The effect of two different pretreatments (TEMPO catalytic oxidation and mechanical refining) on the characteristics of the lignonnanofibers produced was also evaluated.

After the optimization of the pasteurization process, a comparative study of the suitability of different cereal straws (wheat, oats, corn and barley) as raw material to produce lignonnanofibers was carried out. The influence of raw material characteristics on the effect of three different pretreatments (catalytic oxidation TEMPO, enzymatic hydrolysis and mechanical refining) was analyzed. In addition, an analytical method

based on the asymmetric flow field fractionation technique (AF4) was developed to determine the nanometric size of the lignonnanofibers, by comparing it with other conventional techniques employed previously

Next, the application of lignocellulose nanofibers, wheat straw and banana as raw material in paper suspensions was studied, by analyzing multiple factors that may influence the effectiveness of the application of these lignonnanofibers as a reinforcing agent. On one hand, the effect of the three pretreatments on the effectiveness of lignonnanofibers as a reinforcing agent was studied, as well as the associated cost. On the other hand, the suitability of banana leaf as raw material to produce lignonnanofibers was studied and its use in the cardboard recycling process. In the latter case, the effect of the anionic waste present in the process waters on the effectiveness of the use of lignonnanofibers in the recycling process was also studied. Because of the negative influence of this charge, a process of neutralization of the processed water was developed, obtaining values similar to those obtained with the use of tap water. In addition, an economic study was made concerning the application of lignonnanofibers as a technology treatment in the recycling of cardboard in comparison with the conventional mechanical refining process.

Subsequently, three different nanofibrillation treatments were compared: high pressure homogenizer, friction mill and double screw extruder, in order to reduce energy consumption in the production of lignonnanofibers and make this technology competitive with the mechanical refining currently employed in the paper industry.

Finally, the application of these lignonofibers in food packaging was explored. For this purpose, the effect that the waste of lignin contained in lignonnanofibers exerts on the final properties of films produced from polyvinyl alcohol was analyzed. It was also studied the effect of the catalytic oxidation TEMPO on the advantages that the application of lignonnanofibers presents, in relation to the use of nanofibers, on the mechanical properties, barrier and antioxidants of the films produced.



# **Introducción**



### 1. La economía circular y la bioeconomía: Camino hacia la sostenibilidad

#### 1.1. Desarrollo sostenible

El concepto de desarrollo sostenible se utilizó de forma oficial a partir de 1987, cuando la Comisión Mundial de Medio Ambiente y Desarrollo de Naciones Unidas, creada en 1983 por la Organización de las Naciones Unidas (ONU), publicó el *Informe Brundtland*. En él, se definió el desarrollo sostenible como “el desarrollo que satisface las necesidades de la generación presente sin comprometer la capacidad de las futuras generaciones para satisfacer las suyas”. Esta definición se asumió en el Principio 3° de la Declaración de Río (1992), aprobada en la Conferencia de las Naciones Unidas sobre el Medio Ambiente y el Desarrollo, como alternativa al concepto de desarrollo habitual. En ella se hace énfasis en la reconciliación entre el bienestar económico, los recursos naturales y la sociedad, evitando comprometer la posibilidad de vida en el planeta, ni la calidad de vida de la especie humana.

Con el tiempo, la definición de desarrollo sostenible ha ido evolucionando hacia un enfoque más práctico, menos centrado en las necesidades intergeneracionales y más holístico, enlazando el desarrollo económico, la inclusión social y la sostenibilidad ambiental.

Con el fin de seguir avanzando en la estrategia del desarrollo sostenible, en el año 2000 los países miembros de la ONU establecieron ocho propósitos para el desarrollo humano, conocidos como los Objetivos del Milenio (ODM). Así, el 7° objetivo recogido en la Declaración del Milenio establece la necesidad de garantizar la sostenibilidad del medio ambiente, incorporando los principios del desarrollo sostenible en las políticas y los programas nacionales para reducir la pérdida del mismo. En 2015, con el fin de dar continuidad a la agenda de desarrollo tras los ODM, se impulsan los 17 Objetivos de Desarrollo Sostenible (ODS) donde se incluyen nuevas esferas como el cambio climático, la desigualdad económica, la innovación, el consumo sostenible y la paz y justicia, entre otras prioridades (Figura 1).



Figura 1. Esquema de los Objetivos del Desarrollo Sostenible. Adaptación de Azote Imágenes del Centro de Resiliencia de Estocolmo

De los 17 Objetivos fijados en la Agenda 2030 para el desarrollo sostenible, 5 aluden directamente a la gestión sostenible de los modelos productivos y de los recursos naturales:

- *Objetivo 6: Garantizar la disponibilidad de agua y su gestión sostenible y el saneamiento para todos*
- *Objetivo 12: Garantizar modalidades de consumo y producción sostenibles*
- *Objetivo 13: Adoptar medidas urgentes para combatir el cambio climático y sus efectos*
- *Objetivo 14: Conservar y utilizar en forma sostenible los océanos, los mares y los recursos marinos para el desarrollo sostenible*
- *Objetivo 15: Proteger, restablecer y promover el uso sostenible de los ecosistemas terrestres, gestionar los bosques de forma sostenible, luchar contra la desertificación, detener e invertir la degradación de las tierras y poner freno a la pérdida de la diversidad biológica.*

Para conseguir avanzar en la Agenda 2030 y dar cumplimiento a los ODS, así como al acuerdo de París sobre el Cambio Climático, se vienen desarrollando estrategias desde dos ejes primordiales: Bioeconomía y economía circular.

## 1.2. Bioeconomía

La bioeconomía, o la economía de base biológica, es un nuevo modelo para la industria y la economía. Implica el uso sostenible de los recursos biológicos renovables para producir alimentos, energía y bienes industriales, así como explotar el potencial



almacenado en millones de toneladas de residuos biológicos y materiales residuales. La Comisión Europea (CE) define la bioeconomía como “la producción de recursos biológicos renovables y la conversión de estos recursos y flujos de desechos en productos de valor añadido, como alimentos, piensos, productos biológicos y bioenergía”. Esto implica separar, de la manera más completa posible, los componentes de la planta y convertirlos en materiales valiosos, todo ello a través de procesos de biorrefinería.

Para conseguir desarrollar este modelo es imprescindible rediseñar los sistemas productivos actuales y su cadena de valor, orientándolos, desde sus inicios, hacia la reducción al máximo de los consumos utilizados y la conversión de los residuos en subproductos, abriendo así la vía a una utilización integral, renovable y sostenible (Figura 2). Los sectores económicos más influyentes en la bioeconomía son el agrario, pesquero, agroalimentario, forestal, maderero, de corcho y papel, biotecnológico, y el de la producción y transformación de biomasa. Los subproductos y residuos generados en estos sectores pueden ser, o bien transformados para ser empleados nuevamente como productos o para la obtención de energía, o bien procesados para recuperar materias primas mediante una serie de procesos escalonados, denominados como cascada, que permiten valorar cada fracción, llegando por tanto al residuo cero.

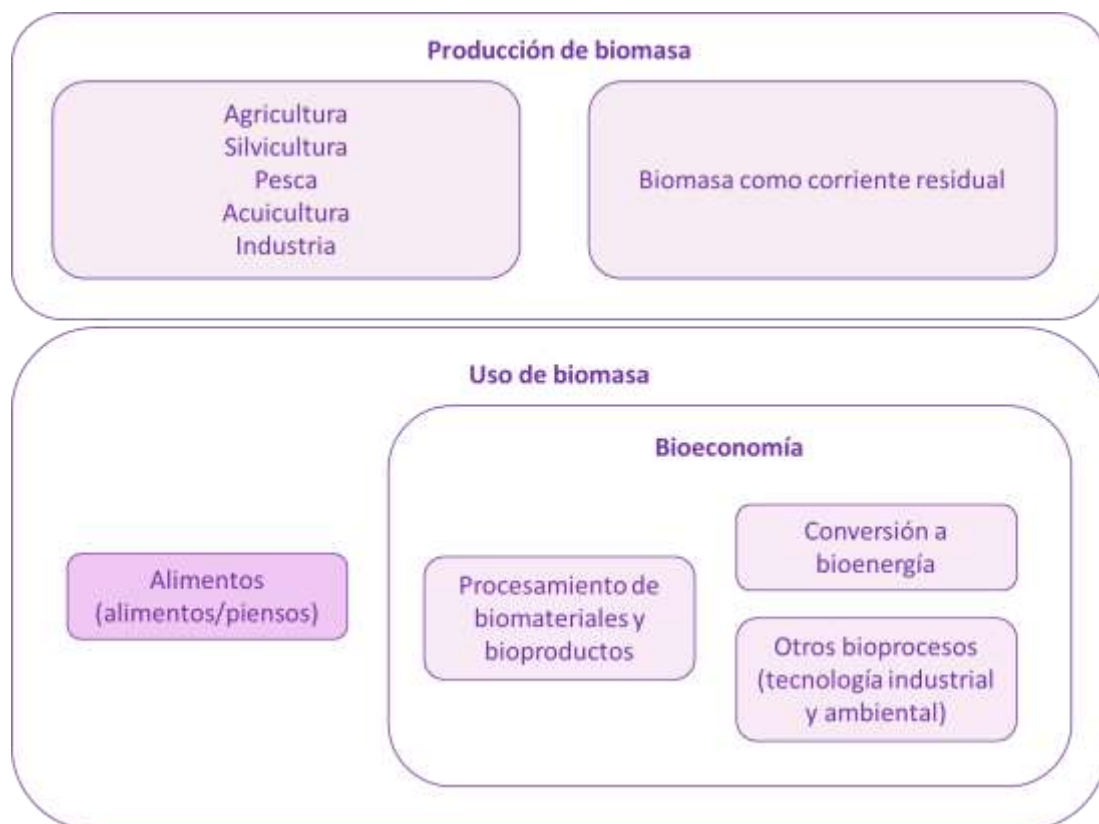


Figura 2. Grupo de trabajo Interinstitucional para la Bioeconomía 2015

### **1.3. Economía circular**

La bioeconomía abarca todos los sectores y sistemas basados en los recursos biológicos (animales, plantas, microorganismos y biomasa derivada, incluyendo residuos orgánicos), sus funciones y principios. Esto incluye a todos los sectores que utilizan los ecosistemas marinos y terrestres, como la agricultura, la silvicultura, la pesca, etc., y todos los sectores que utilizan recursos y procesos biológicos para obtener productos (alimentos, piensos, productos biológicos, energía y servicios). Para que esta bioeconomía sea posible y funcione, debe cumplir con los principios de sostenibilidad y circularidad como elementos clave en su funcionamiento.

La Economía Circular (EC) es un sistema económico en el que “el valor de los productos, materiales y recursos se mantiene en la economía el mayor tiempo posible, minimizando la producción de residuos”, pasando de un sistema de producción lineal, que consiste en la producción de bienes, su uso, y deshecho de residuos, a una economía circular que pretende cerrar el ciclo de vida de materias primas, productos, residuos y energía [1]. La economía circular y la bioeconomía se cruzan en su objetivo común de añadir valor a los desechos y residuos biológicos. La economía circular tiene por objeto conservar, en el ciclo económico el máximo tiempo posible, el valor de los diferentes tipos de recursos, no sólo biológicos, incluyendo sin exclusión, a las energías renovables y los recursos biológicos, centrándose en la forma en que los productos y materiales son diseñados, producidos, utilizados y eliminados.

## **2. Biorrefinería de materiales lignocelulósicos**

Como se ha mencionado anteriormente, la biorrefinería es una herramienta clave para la consecución del desarrollo sostenible y de la bioeconomía. Así, el objetivo de la biorrefinería es análogo al de la refinería convencional de petróleo, es decir, transformar la materia prima (biomasa) mediante diversos procesos de transformación, para producir (bio)energía (calor, electricidad y combustibles), y un amplio espectro de (bio)productos (materiales, productos químicos, alimentos y piensos). Para conseguir esta transformación es necesario integrar diferentes y complejos procesos en una misma instalación, alcanzando una utilización eficiente de los recursos y asegurando una sostenibilidad del proceso global.

De forma general, el proceso productivo de una biorrefinería puede ser dividido en dos etapas principales:

- Etapa primaria: se produce el acondicionamiento y pretratamiento de la materia prima, y se procede a la separación de los componentes de la biomasa en productos intermedios (celulosa, almidón, azúcar, lignina, aceite vegetal, proteínas, biogás, etc.). A estos productos intermedios producidos en la etapa primaria se le conocen como plataformas de biorrefinería, y sirven a su vez de materia prima para la etapa secundaria.
- Etapa secundaria: se llevan a cabo los distintos procesos de conversión y procesado adicionales que producen un elevado número de productos a partir de los intermedios obtenidos en la etapa primaria. En una etapa inicial, los productos intermedios (plataformas) son procesados parcial o totalmente en precursores, así como en otros productos intermedios. En sucesivos tratamientos, estos intermedios son refinados parcial o totalmente a productos, obteniendo así productos elaborados o semielaborados.

Todas las biorrefinerías comparten un esquema genérico de funcionamiento, esto es el fraccionamiento de los componentes y su uso o transformación por separado. Sin embargo, la elevada variedad de biomazas hace necesaria una tecnología y procesos específicos dependiendo de la materia prima utilizada y el producto deseado.

La biorrefinería de biomasa lignocelulósica produce bioproductos y bioenergía mediante una serie de procesos físicos, químicos, biotecnológicos y termoquímicos [2] (Figura 3):

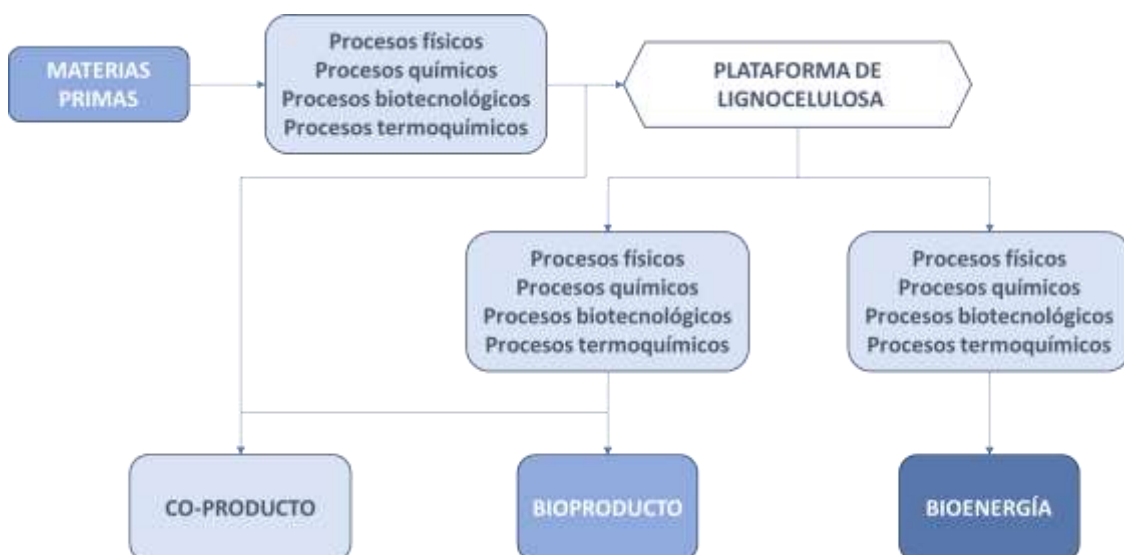


Figura 3. Esquema de biorrefinería de materiales lignocelulósicos

Para este tipo de biorrefinería se pueden distinguir 4 tipos de entradas y salidas que son; materias primas, productos intermedios (plataformas), bioproductos y bioenergía:

- Materias primas: constituidas por cultivos lignocelulósicos, residuos agrícolas, residuos forestales, residuos industriales y residuos urbanos.
- Productos intermedios (plataformas): como el ácido levulínico, azúcares C5 y C6, furfural, lignina, celulosa, hemicelulosas y hidroximetilfurfural, entre otros.
- Bioproductos: como el ácido levulínico, ácido succínico, antioxidantes, fibras para composites, hidrocarburos, pectinas, piensos, polifenoles y vainillina, entre otros.
- Bioenergía: biocombustibles líquidos, calor y electricidad.

Para la transformación de estas materias primas, la conversión de los productos intermedios y la producción de bioproductos y bioenergía, es necesario llevar a cabo una serie de operaciones agrupadas en diferentes tipos de procesos:

- Procesos físicos: Fraccionamiento, secado/deshidratación, tratamiento con ultrasonidos y cristalización, entre otros.
- Procesos químicos: Deslignificación, hidrólisis ácida, hidrólisis alcalina, pretratamiento químico, polimerización, procesos hidrotérmicos y reacciones con disolventes, entre otros.
- Procesos biotecnológicos: Deslignificación biológica, hidrólisis enzimática y fermentación.
- Procesos termoquímicos: Combustión, gasificación, hidrólisis por vías termoquímicas y pirólisis.

### **3. Materiales lignocelulósicos**

En su definición más generalista, la biomasa puede describirse como todo material que fue o es parte de un organismo vivo. Sin embargo, la definición de biomasa se limita normalmente a los materiales derivados de las plantas, lo que se conoce como biomasa vegetal. Podemos diferenciar distintas fuentes de biomasa dependiendo de su origen; cultivos forestales (eucalipto, pino, etc.), residuos agrícolas (paja de cereales, restos de podas, etc.), subproductos de la actividad industrial (serrín, residuos de grano, cáscaras, etc.), residuos de origen urbano (lodos de depuradora, papel y cartón, etc.) y cultivos con fines energéticos (biomasa forestal, vegetales de crecimiento rápido, vegetales destinados a bioetanol, etc.). Esta biomasa vegetal está disponible a nivel global de forma abundante y a bajo coste, por lo que podría ser una fuente económica

de biocombustibles y bioproductos alternativa a los combustibles fósiles [3]. De las distintas fuentes de biomasa mencionadas, la biomasa forestal y los residuos agrícolas son las mayores fuentes de producción y que más interés despierta para su valorización.

Biomasa forestal: La Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación (FAO) define el bosque como una tierra de más de 0,5 hectáreas con árboles de más de cinco metros, y una cubierta forestal de más del 10%. Esta definición no incluye las tierras que predominantemente son utilizadas con fines agrícolas o urbanos, como es el caso de las plantaciones de árboles frutales, sistemas agroforestales y parques y jardines urbanos. Las plantaciones forestales comprenden bosques de especies nativas o introducidas que se han establecido mediante plantación o siembra, principalmente para la producción de madera o productos no madereros, o la prestación de servicios medioambientales.

El principal uso de la biomasa forestal es la producción de combustible sólido para su utilización directa en calderas caseras o industriales, y la madera en rollo, utilizada para la producción de diferentes gamas de maderas y productos basados en fibra de madera. En los últimos años, los bosques están empezando a desempeñar un papel más importante como fuente de bioproductos y bioenergía. La mayoría de la biomasa forestal se concentra en Asia, América y Europa del este, constituyendo el 75% de la producción mundial, y se clasifica generalmente en dos grupos: frondosas (acacia y eucalipto) y coníferas (pino).

Residuos agrícolas: Los sectores productivos siempre generan diferentes tipos de contaminación como residuos sólidos, aguas residuales o gases contaminantes. Uno de los sectores productivos que más residuos lignocelulósicos genera es el agrícola. Durante años, los residuos de los cultivos se han utilizado como alimento para el ganado, o se han incorporado al suelo como fertilizante, sin embargo, la mecanización del sector agrícola y su producción intensiva ha hecho que se dependa cada vez más de fertilizantes sintéticos, convirtiendo los residuos agrícolas que antes se incorporaban al suelo en residuos.

Los cultivos agrícolas constituyen una excelente materia prima alternativa a la biomasa forestal para la obtención de bioproductos y bioenergía, dada su abundancia y bajo coste, especialmente en países con escasa masa forestal. Dado que los residuos agrícolas son ricos en celulosa, representa uno de los recursos más ricos en energía del planeta. Estos residuos incluyen diferentes materiales lignocelulósicos, como tallos, hojas, cáscaras, etc.

### **3.1. Producción agrícola en España**

La población mundial pasó de 6.000 millones de personas en el año 2000 a 7.444 millones de personas en 2018. Además, se prevé que en 2050 se alcancen los 10.000 millones de personas. Este hecho supone un gran desafío para la agricultura del siglo XXI, que tendrá que producir alimentos para a una población creciente, así como materias primas para un mercado de bioenergía potencialmente enorme. Las proyecciones estiman que para alimentar a la población mundial será necesario aumentar la producción de alimentos en más de un 50% entre 2015 – 2050 [4], lo que implica que la producción debe casi duplicarse en los países de desarrollo. Por ejemplo, la producción de los alimentos básicos como los cereales, deberá incrementarse en casi 1000 millones de toneladas. En el año 2017, último con registros oficiales, la producción de alimentos a nivel mundial fue de alrededor de 6.100 millones de toneladas [5]. Casi la mitad de la producción mundial de alimentos corresponde a cereales (2.980 millones de toneladas), seguido de hortalizas (1.094 millones de toneladas) y frutas (866 millones de toneladas) (Figura 4). Hoy en día los cereales son la fuente más importante de calorías para la mayoría de la población mundial, principalmente en los países en vías de desarrollo, donde cerca del 60% de las calorías consumidas derivan directamente de los cereales, creciendo esta proporción hasta el 80% en los países más pobres. Por comparación, en los países desarrollados las calorías consumidas que provienen directamente de los cereales son aproximadamente el 30% [6]. Debido a que los países en vías de desarrollo son los países que más crecimiento demográfico tienen en la actualidad, será necesario aumentar considerablemente la producción de cereales para abastecer esta demanda. Así, se estima que la producción mundial de cereales aumente en la próxima década entre un 15-20% respecto de su valor actual [4].

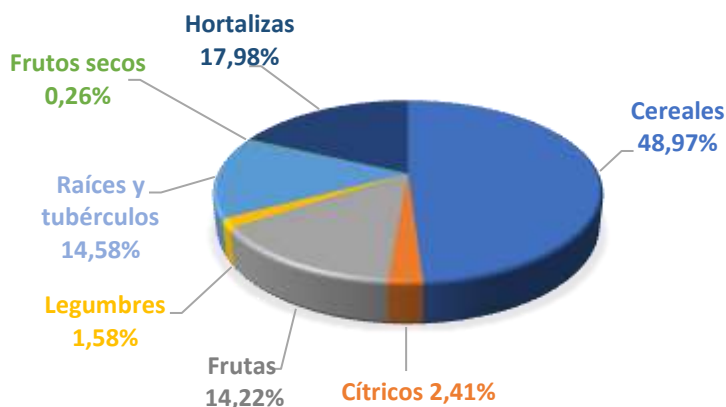


Figura 4. Distribución de la producción mundial de alimentos

Si se analiza la producción mundial de los alimentos dependiendo del continente en el que son producidos, se concluye que Asia es el continente que más alimentos produce, representando más del 50% del total (Figura 5). Por otro lado, Europa es el tercer productor mundial de alimentos con una producción de 840 millones de toneladas, representando el 13,80% del total [5]. Más del 50% del territorio europeo se dedica a actividades agrarias y cerca de un 5% de la población activa trabaja en este sector. Además, la producción agraria aporta un 2% del Producto Interior Bruto comunitario.

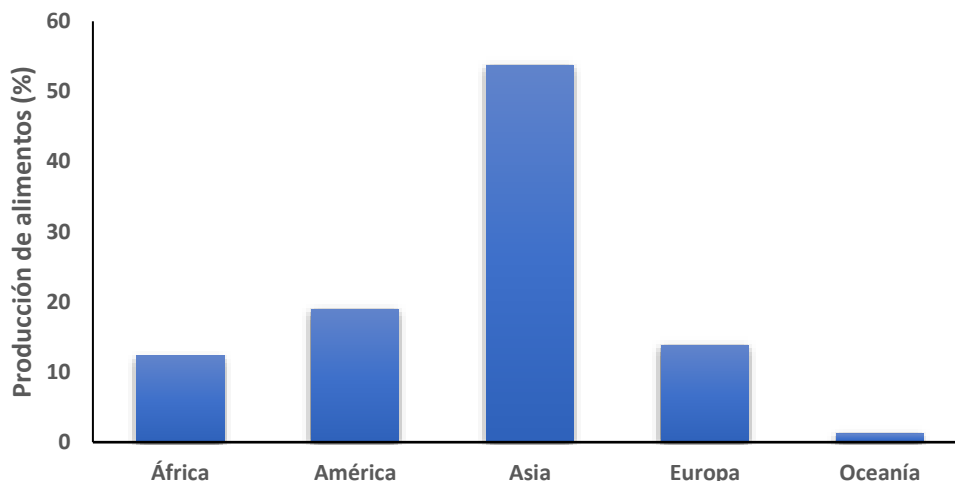


Figura 5. Producción mundial de alimentos diferenciada por continentes

Dentro de la producción del continente europeo, los países miembros de la Unión Europea (UE) representan el 61% de la producción total. El 59,73% de esta producción corresponde a los cereales, el 12,55% a las hortalizas, el 12,42% la fruta, el 11,95% a las raíces y tubérculos y en menor medida los cítricos, legumbres y frutos secos (2,08%, 1,09% y 0,18%, respectivamente) [5]. De los 28 países que forman la UE, la producción se concentra principalmente en 7 países (Francia, Alemania, España, Polonia, Italia, Rumanía y Reino Unido) que representan casi el 75% de la producción de alimentos (Tabla 1). España es el tercer productor alimentario de la UE, sólo por detrás de Francia y Alemania, con una producción de más de 55 millones de toneladas (11,27% del total de la UE).

Tabla 1. Clasificación de productores de alimentos de la Unión Europea

	Producción (millones de toneladas)	Producción (%)
Francia	86,54	16,85
Alemania	63,83	12,43
<b>España</b>	<b>57,87</b>	<b>11,27</b>
Polonia	50,99	9,93
Italia	49,50	9,64
Rumanía	36,40	7,09
Reino Unido	33,36	6,49
Resto países UE	135,08	26,60

Siguiendo la tendencia que muestra la producción mundial y europea, España concentra más del 83% de su producción en tres grandes grupos: frutas, cereales y hortalizas (Figura 6). Los cereales se dividen en siete grandes cultivos, donde el trigo, la cebada, el maíz y la avena representan el 92% de la producción total de cereales. Por otro lado, las frutas concentran más del 31% de la producción agrícola española. En particular, el cultivo del plátano (9ª fruta por orden de importancia respecto a su producción anual) representa el 2,3% del total de la producción de frutas, representando 400 mil toneladas/año [5].

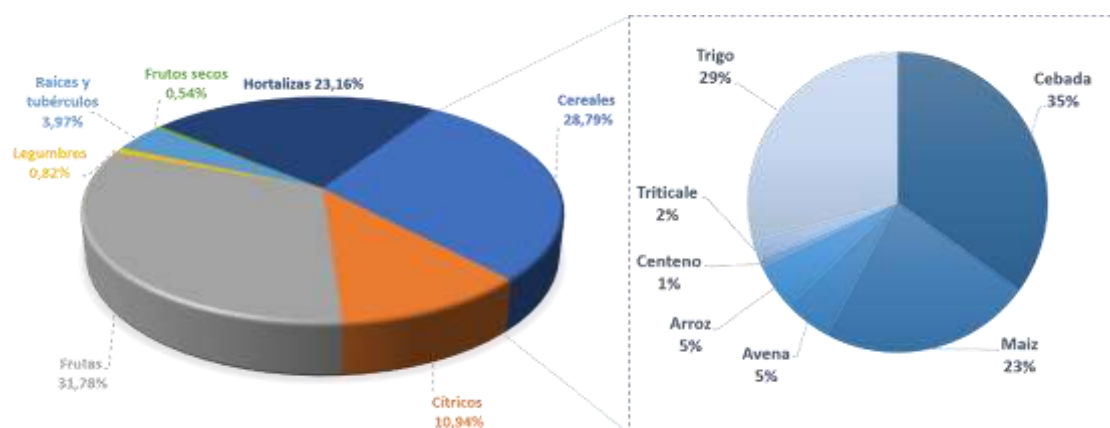


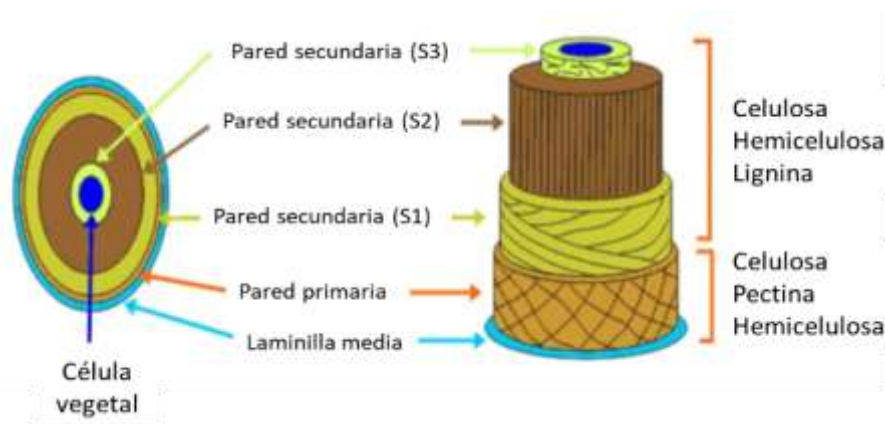
Figura 6. Distribución de la producción agrícola en España

Esta actividad agrícola genera anualmente millones de toneladas de residuos lignocelulósicos, que son susceptibles de ser valorados por su composición. Teniendo en cuenta el cambio de modelo económico (lineal a circular), esta valorización se vuelve cada vez más necesaria e importante. Considerando que la ratio producto/residuo para fruta y cereales es 0,8 – 1 [7], los residuos generados por la producción de cereal y plátano en España ascienden a casi 17 millones de toneladas.



#### **4. Estructura y composición química de los materiales lignocelulósicos**

La pared celular, componente típico de las células vegetales, presenta varias capas que se desarrollan a lo largo de su maduración celular: la laminilla media, la pared primaria y la pared secundaria (Figura 7). Estas capas están compuestas por diferentes componentes y varían considerablemente entre ellas. La laminilla media es la primera capa que se forma después de la separación celular (citocinesis). Está formada por pectinas de calcio y magnesio que producen la adhesión conjunta de las paredes celulares de dos células vegetales adyacentes. Es una capa muy fina y difícil de distinguir de la pared primaria, que es también una pared muy fina compuesta principalmente por una alta cantidad de hemicelulosas y pectinas, celulosa en menor proporción, y un gran contenido en agua (60-70%). Conforme va creciendo, la pared se va lignificando, apareciendo la pared secundaria, constituida por tres subcapas: S1 (subcapa externa), S2 (subcapa media) y S3 (subcapa interna). Esta pared secundaria constituye la mayor parte de la pared celular y es más gruesa que el resto de las capas. También está formada de polisacáridos, pero esta vez contiene una mayor proporción de celulosa y hemicelulosas (sobre el 70%) y lignina, siendo su contenido en agua reducido (5%) [8].



*Figura 7. Célula vegetal rodeada de paredes ricas en polisacáridos*

La pared celular de las plantas está compuesta mayoritariamente por tres compuestos orgánicos: celulosa, hemicelulosa y lignina. Estos compuestos son a su vez los compuestos principales en los materiales lignocelulósicos. Las fibras de celulosa se organizan regularmente, se agrupan, y determinan el tamaño y forma de las células de las plantas. Estas fibras, junto a las hemicelulosas y lignina, forman un entramado de compuestos que se denomina matriz lignocelulósica, que aporta sostén y compactación a la pared celular (Figura 8). La celulosa, hemicelulosas y lignina se unen entre ellas mediante diferentes tipos de enlaces. La unión celulosa – hemicelulosas y celulosa – lignina está formada principalmente por puentes de hidrógeno. Además, la unión

hemicelulosas – lignina se produce por un enlace químico (éter y éster bencílico, éter glicosídico y acetal) entre ambos compuestos que da como resultado complejos lignina-carbohidrato, que limita la extracción aislada de estos componentes [9].

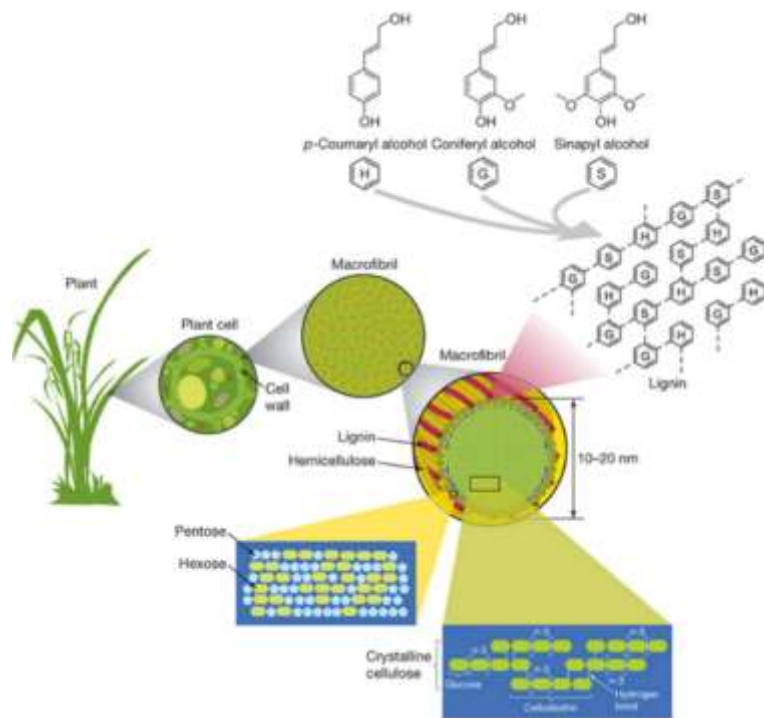


Figura 8. Estructura de la lignocelulosa [9]

#### 4.1. Celulosa

La celulosa está considerada como el polímero renovable más abundante en la Tierra, estimándose una producción de entre 100 y 300 billones de toneladas métricas ( $10^{11}$  toneladas) anuales por síntesis natural [10]. Es el constituyente principal de las plantas y base estructural de la pared de las células vegetales. Su proporción varía dependiendo de la especie vegetal, así, la materia prima que más contenido en celulosa presenta es el algodón, cuya composición química está constituida en un 85-90% por celulosa. Por otro lado, la biomasa forestal presenta un contenido del 40 – 50%, y los residuos agrícolas un 27 – 35 % [11-13]. La celulosa es un homopolímero lineal constituido por unidades de  $\beta$ -glucosa unidas entre sí por enlaces  $\beta$ -1,4 glucosídico, formada por carbono (44,44 %), hidrógeno (6,17 %) y oxígeno (49,39 %). La fórmula química de la celulosa es  $(C_6H_{10}O_5)_n$ , donde n se conoce como el grado de polimerización, y representa al número de grupos de glucosa, que varían entre cientos y miles o incluso decenas de miles (Figura 9).

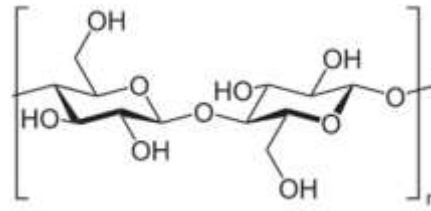


Figura 9. Estructura de la cadena de celulosa

La matriz estructural para la pared celular propuesta por Fengel en 1985, es el modelo representativo para definir el alto grado de estructuración de las cadenas de celulosa [14]. Las moléculas de celulosa se unen entre sí mediante puentes de hidrógeno intra e intermoleculares con otras moléculas adyacentes formando fibrillas elementales con diámetros de 3 nm, que se considera la unidad estructural más básica. 16 (4x4) fibrillas elementales forman una fibrilla con un diámetro de 12 nm, 4 fibrillas forman las denominadas microfibras con diámetros aproximados de 25 nm, y más de una microfibra forma microfilamentos, y estos, fibras de celulosa (Figura 10).

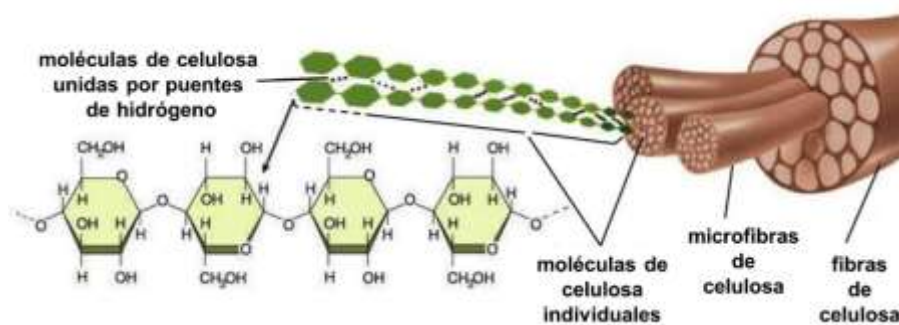


Figura 10. Diferentes grados de estructuración que presenta la celulosa

Las microfibras presentan regiones cristalinas, como consecuencia de los numerosos puentes de hidrógeno intermoleculares, que dan a las fibras una buena resistencia mecánica e insolubilidad en la mayoría de los disolventes. Estas regiones confieren a la celulosa una característica recalcitrante que evita su degradación. Las microfibras también presentan regiones no cristalinas (amorfos), en la que las que la estructura cristalina no se ha formado durante la síntesis o ha sido interrumpida. En estas regiones, las cadenas están más separadas y disponibles para formar enlaces de hidrógeno con otras moléculas, pero son más fácil de degradar [15].

## 4.2. Hemicelulosas

Las hemicelulosas son otro de los componentes principales de los materiales lignocelulósicos. Se define como un heteropolímero ramificado complejo de menor peso molecular que la celulosa, que actúa como agente de unión entre la lignina y la celulosa a través de interacciones covalentes y no covalentes. Entre los monosacáridos que

forman las hemicelulosas podemos encontrar azúcares C6 denominados hexosas (D-glucosa, D-manosa y D-galactosa), azúcares C5 denominados pentosas (principalmente D-xilosa y L-arabinosa), ácidos urónicos (D-glucurónico, D-galacturónico o D-4-O-metilgalacturónico) y desoxi-hexosas (L-ramnosa y L-fucosa) que presentan una acetilación parcial de sus grupos hidroxilos (Figura 11) [16].

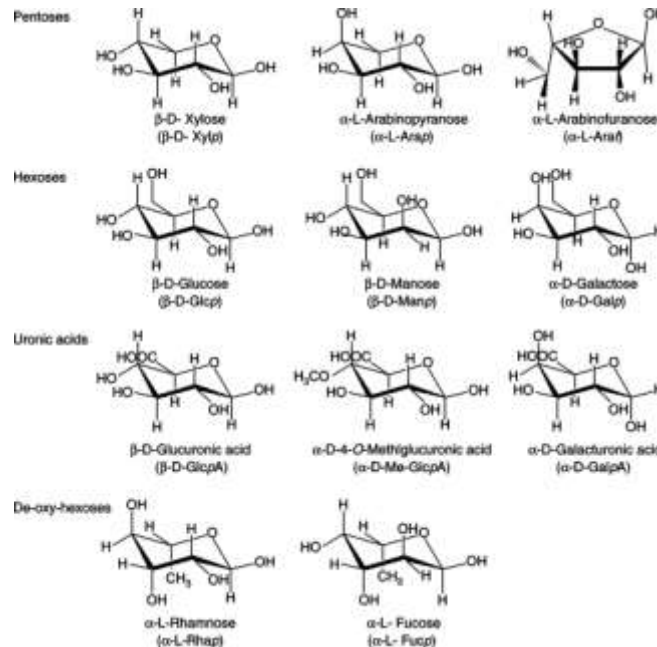


Figura 11. Monosacáridos que pueden estar presentes como unidades monoméricas en las hemicelulosas [16]

El contenido y la estructura de las hemicelulosas difiere en las distintas especies vegetales. La investigación en la estructura química de las hemicelulosas se ha basado principalmente en la determinación de la cadena principal y las cadenas ramificadas de glucanos. La cadena principal puede estar constituida por uno o más tipos de monosacáridos, pudiendo ser también diferentes las conexiones entre estos monosacáridos. Para estudiar su composición química, es necesario clasificar los diferentes polisacáridos que pueden presentar, y que incluyen xilanos, glucuronoxilanos, arabinoxilanos, mananos, glucomananos y galactoglucomananos [17].

Esta mezcla compleja de polisacáridos puede constituir entre el 25 y el 30% el peso total de la biomasa vegetal. Desde un punto de vista del contenido de las hemicelulosas, herbáceas y maderas frondosas están compuestas principalmente por glucuronoxilanos, y coníferas por glucomananos y galactoglucomananos [18]. De manera general, las diferentes unidades de la cadena principal de estos polisacáridos están unidas por enlaces  $\beta$ -1,4. Sin embargo, también pueden darse enlaces  $\beta$ -1,3 formando  $\beta$ -1,3-1,4-glucanos que se encuentran principalmente en la pared celular de la familia *Poaceae*, y están restringidos a los miembros de las gramíneas, siendo

particularmente abundantes en la pared celular del endospermo de los cereales como el trigo, arroz, cebada, avena y centeno [19].

### 4.3. Lignina

La lignina constituye el 15 – 40% de la pared celular de las plantas, y es el polímero aromático natural más abundante en la Tierra. También está considerado como el tercer polímero orgánico más abundante, tras celulosa y quitina, con una producción anual de 600 millones de toneladas [20]. Es un polímero amorfo con una conformación tridimensional presente en la pared celular de las plantas formada a partir de fenilpropanoides; unidades Guayacilo (G), Siringilo (S) y *p*-hidroxifenilo (H), derivadas de la polimerización aleatoria de los monolignoles; alcohol *p*-cumarilo (4-hidroxicinámico), alcohol coniferílico (4-hidroxi-3-metoxicinámico) y alcohol sinapílico (4-hidroxi-3,5-dimetoxicinámico), los cuales difieren en su grado de metoxilación (Figura 12) [21]. Este polímero se encuentra principalmente en la pared celular secundaria y actúa de unión entre las fibras celulósicas. Además, confiere rigidez a la planta e impermeabilidad a los materiales lignocelulósicos, así como resistencia a la degradación, protegiendo a la pared celular del ataque microbiano [22].

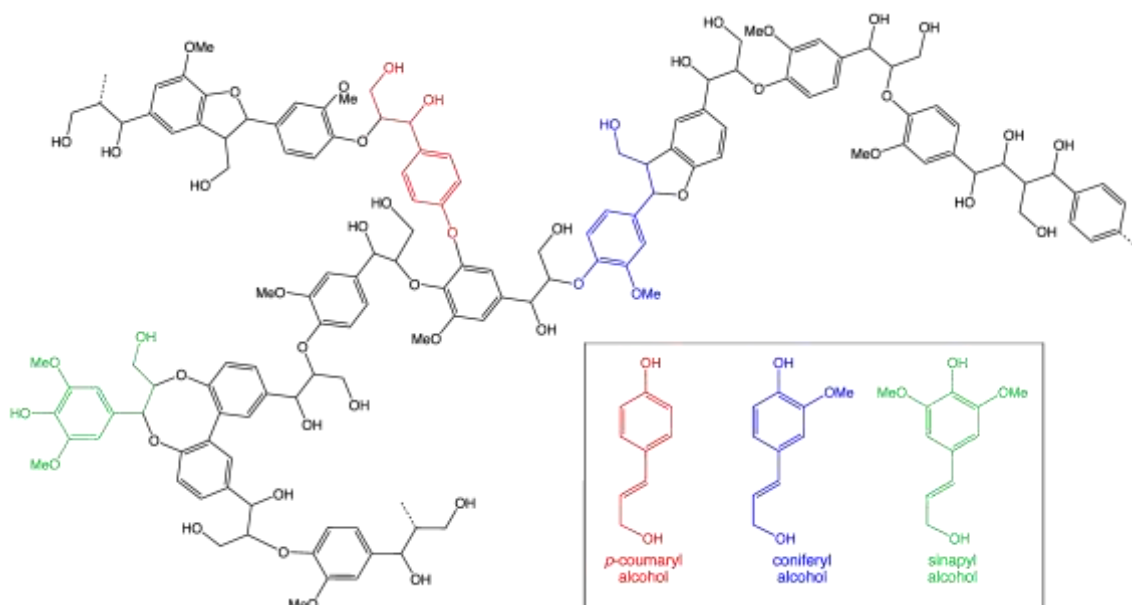


Figura 12. Estructura general de la lignina. Inserción de los monómeros de lignina [21]

Aunque la lignina solo tiene tres estructuras básicas, la proporción de cada una de estas estructuras difiere significativamente entre diferentes familias de plantas. Así, la lignina de las frondosas y mayoría de las herbáceas (trigo, cebada, maíz, etc.) está constituida en gran parte por unidades G y S, mientras que la lignina de las coníferas presenta en su mayoría unidades G [23]. Los principales grupos funcionales químicos formados por estas estructuras en lignina no modificadas son el hidroxilo (aromático y

alifático), metoxilo, carbonilo y carboxilo. El acoplamiento de estas estructuras básicas en la formación de la lignina puede ser de tipo éter ( $\beta$ -O-4',  $\alpha$ -O-4' y 4-O-5') y de tipo carbono-carbono (los denominados enlaces condensados  $\beta$ - $\beta$ ',  $\beta$ -1',  $\beta$ -5' y 5-5'). En general, los enlaces  $\beta$ -O-4' y  $\alpha$ -O-4' son los enlaces éter más abundantes en la lignina, lo que representa el 70% de los enlaces encontrados en la lignina no modificada, por lo que la división de estos enlaces mayoritarios es la estrategia más prometedora para la despolimerización de la lignina en subestructuras más simples para su valorización [24].

#### 4.4. Componentes no estructurales

Junto a los tres componentes principales de los materiales lignocelulósicos, también constituyen la pared celular de las plantas otros compuestos minoritarios que representan entre el 1-12% del total. Pese a que no influyen en la estructura morfológica de la pared celular, los compuestos extraíbles, las pectinas, las proteínas y las cenizas desempeñan funciones fisiológicas de vital importancia para la célula vegetal.

- Compuestos extraíbles: incluyen los componentes extracelulares o que no forman parte de la estructura tridimensional de la pared celular. Se definen así porque pueden ser fácilmente extraídos utilizando agua o solventes orgánicos como el etanol o el hexano. Destacan los pigmentos, resinas, ceras, aceites esenciales, etc.
- Pectinas: son un componente de la pared celular de las plantas, y se localiza entre los microfilamentos de celulosa de la pared celular, principalmente condensadas en un éster metilado del ácido galacturónico y compuesto de ramnosa y arabinosa. La lamela media de las células vegetales está compuesta principalmente por pectina que combina con células adyacentes y favorece la unión celular.
- Proteínas: la pared celular de las plantas está enriquecida con proteínas. Acorde a su función fisiológica podemos distinguir dos categorías: proteína estructural (ricas en extensina, prolina o glicina), la cual representa la mayor proporción de proteínas en la planta, y proteínas activas (enzimas y lectinas), que son aquellas que desempeñan una función activa en la planta.
- Cenizas: en las plantas, a parte del carbono, hidrógeno, oxígeno y otros elementos básicos, también existen otros compuestos indispensables para la vida de las células vegetales como son el nitrógeno, azufre, fósforo, calcio, magnesio, hierro, potasio, sodio, cobre, zinc, manganeso, cloro, etc. Cuando se produce la

combustión de las materias primas ( $T^a > 525^{\circ}\text{C}$ ), elementos como el carbono, hidrógeno, oxígeno, nitrógeno, azufre, etc. desaparecen por gasificación, sin embargo, los elementos metálicos permanecen y son incorporados al suelo en forma de óxidos.

### 5. Nanocelulosa y su producción

La nanotecnología se basa en la comprensión y control de la materia en dimensiones de, aproximadamente, 1 – 100 nm, donde fenómenos únicos, como mayor reactividad, superficie específica alta, relación L/D alta, densidad baja, capacidad de autoensamblaje, etc., permiten aplicaciones novedosas [25]. La agregación de las fibrillas elementales y microfibras que forman las fibras de celulosa puede ser deconstruida para aislarlas con el fin de obtener fibras entre 3 – 100 nm de diámetro y 1 – 4 micrómetros de longitud, conocidas como nanocelulosa. La nanocelulosa es un polímero natural extraído de las fibras de celulosa que presenta una gran ligereza, baja densidad ( $1,6 \text{ g/cm}^3$  aproximadamente) y unas magníficas propiedades mecánicas. Especialmente destaca i) su gran rigidez, con un módulo elástico superior a 220 GPa, mayor incluso que el que presenta la fibra de Kevlar, ii) su alta resistencia a la tracción de hasta 10 GPa, mayor que la que exhibe el hierro fundido, y iii) su relación resistencia/peso, que es 8 veces mayor que la mostrada por el acero inoxidable. Además, la nanocelulosa es transparente y presenta una superficie reactiva, que gracias a los grupos hidroxilo puede ser funcionalizada para cambiar sus propiedades [26,27].

#### 5.1. Tipos de nanocelulosas

Puede clasificarse en tres tipos: nanocristales de celulosa, nanofibras de celulosa y nanocelulosa bacteriana. Aunque todos los tipos de nanocelulosa presentan una composición química similar, son diferentes en cuanto a su morfología, tamaño de partícula, cristalinidad y otras propiedades, dependiendo de la fuente y métodos de extracción utilizados.

- Nanocristales de celulosa (NCC): también se conoce como nanocelulosa cristalina, es uno de los tipos de nanocelulosa más estudiados. Su preparación requiere de un proceso de hidrólisis ácida destinado a disolver las regiones amorfas de las cadenas de celulosa y liberar los dominios cristalinos [28]. Para preparar NCC es necesario someter a las fibras de celulosa a un proceso de purificación. Para ello, se produce primero una extracción con disolventes orgánicos con el objetivo de eliminar los extraíbles de la biomasa, seguido de un tratamiento alcalino con hidróxido sódico (NaOH) o hidróxido potásico (KOH) para

purificar la celulosa, y finalmente un proceso de blanqueado con clorito sódico ( $\text{NaClO}_2$ ). Este proceso es clave que se realice para garantizar la efectividad de la hidrólisis ácida y facilitar el ataque a las regiones amorfas. El tratamiento alcalino tiene como objeto solubilizar la mayoría de las pectinas y hemicelulosas, y el proceso de blanqueado, descomponer los compuestos fenólicos o moléculas con grupos cromóforos en la lignina, y eliminar los subproductos de dicha descomposición [26]. Una vez purificada la celulosa, se procede a realizar la hidrólisis ácida. La hidrólisis ácida se puede llevar a cabo utilizando diferentes ácidos, sin embargo, el ácido más utilizado es el sulfúrico ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ), debido al proceso de esterificación de los grupos éster de sulfato aniónico ( $-\text{OSO}_3^-$ ) con los grupos hidroxilos de la superficie de la celulosa, que induce la formación de una capa electrostática negativa en la superficie de los nanocristales, y facilita su dispersión en agua. Generalmente, el proceso de hidrólisis ácida se produce utilizando  $\text{H}_2\text{SO}_4$  al 60 – 70% durante 15 – 45 minutos y a una concentración ácido/fibra de 10 – 20  $\text{mL}\cdot\text{g}^{-1}$ . Durante la hidrólisis ácida, los iones hidronio ( $\text{H}_3\text{O}^+$ ) penetran en la cadena de celulosa hidrolizando los enlaces glucosídicos de las regiones amorfas liberando las regiones cristalinas individuales [29]. Al producto resultante se le realizan varios procesos de diálisis contra agua destilada, y posteriormente se dispersan con una etapa de sonicación. Estos nanocristales presentan forma de varilla corta de entre 2 – 20 nm de diámetro y 100 – 500 nm de longitud, estando compuestos al 100% de celulosa con una elevada cristalinidad (54 – 88%) [30,31].

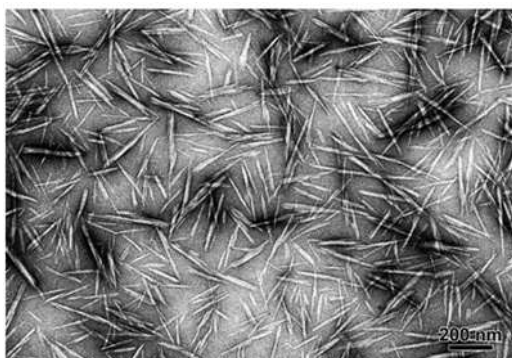


Figura 13. Nanocristales de celulosa observados en un microscopio electrónico de transmisión (TEM) [28]

- **Nanofibras de celulosa (NFC):** también conocida como celulosa nanofibrilada, es un tipo de nanocelulosa flexible, alargada y entrecruzada que puede ser extraída de las fibras de celulosa mediante tratamientos mecánicos [32]. Para la obtención de nanofibras de celulosa, es necesario someter a la materia prima a un proceso de purificación similar al realizado para la obtención de nanocristales. En este



caso, si no se realiza el proceso de blanqueado, se mantienen restos de lignina residual en fibra, obteniendo lo que se conoce como lignonanofibras de celulosa (LNFC). Estas LNFC presentan las mismas características que las NFC, pero con una composición química diferente. Las NFC se producen generalmente por delaminación mecánica de las fibras de celulosa tras un tratamiento previo (pretratamiento) que facilita la desintegración. Estos pretratamientos evitan la oclusión de los equipos donde se produce el proceso de desintegración, y reducen el número de pases o tiempo de tratamiento, con la reducción de consumo energético que eso conlleva. Las NFC fueron aisladas por primera vez por Turbak et al. en 1983 utilizando fibra conífera blanqueada y sometiendo a un proceso de homogeneización a alta presión [33]. Sin embargo, el alto consumo energético necesario para su producción limitó el interés científico e industrial. Para reducir el consumo energético y hacer más eficiente la desintegración, se desarrollaron diferentes pretratamientos a los que someter la fibra, como la hidrólisis enzimática [34], la carboximetilación parcial [35], oxidación catalítica utilizando 2,2,6,6-tetrametilpiperidina-1-oxilo (TEMPO) [36], y refinado mecánico [37]. Tras el pretratamiento se procede a someter a la fibra a un proceso mecánico de desintegración, entre los que destacan: homogenización a alta presión, microfluidización, molienda por fricción, extrusión, criopresión y ultrasonicación de alta intensidad.

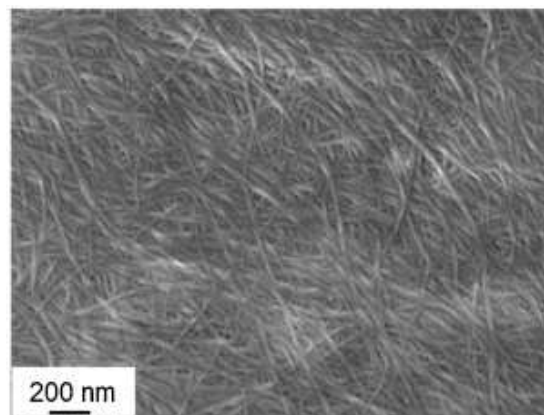


Figura 14. Nanofibras de celulosa observadas en el microscopio electrónico de barrido (SEM) [32]

- **Nanocelulosa bacteriana (NCB):** es otro tipo de nanocelulosa que presenta una particularidad respecto a los otros tipos. Mientras que los nanocristales y nanofibras de celulosa son aislados de la biomasa lignocelulósica utilizando métodos de deconstrucción del empaque de las fibras de celulosa (procesos *top-down*), la nanocelulosa bacteriana es producida por proceso inverso (*down-top*), que consiste en el ensamble de azúcares de bajo peso molecular por parte de bacterias [38,39]. El principal microorganismo productor de nanocelulosa

bacteriana, y que se ha convertido en modelo para el estudio de su producción, es *Gluconacetobacter xylinus*, sin embargo, diversas especies también son capaces de sintetizar este biopolímero, como pueden ser especies de los géneros *Gluconacetobacter*, *Agrobacterium*, *Rhizobium*, y la gram+ *Sarcina ventriculli* [38,40,41]. La producción de nanocelulosa por medio de bacterias consta de tres etapas principales: i) polimerización de residuos de glucosa en  $\beta$ -1-4 glucano, ii) secreción extracelular de las cadenas lineales, y iii) organización y cristalización de las cadenas de glucanos a través de enlaces de hidrógeno y fuerzas de van der Waals, ordenadas en una jerarquía en fibras, produciendo así nanocelulosa bacteriana [42]. El medio normalmente utilizado para su producción está compuesto de un 2% de glucosa, 0,5% de peptonas, 0,5% de extracto de levadura, 0,27% de fosfato disódico anhidro y un 0,15% de ácido cítrico monohidratado [43]. A diferencia de los otros tipos de nanocelulosa comentados, la NCB es producida de forma pura, sin contenido en lignina, hemicelulosas, pectinas o algún otro componente de la matriz lignocelulósica de las plantas. Se presenta en forma de fibras entrecruzadas con un diámetro promedio de 20 – 100 nm y longitudes de micrómetros. Su elevada pureza, resistencia mecánica, insolubilidad, biodegradabilidad y propiedades no-tóxicas, hace de ella una materia prima de partida ideal para la producción de productos de alto valor añadido en el ámbito biomédico, como piel artificial y apósitos [44,45].

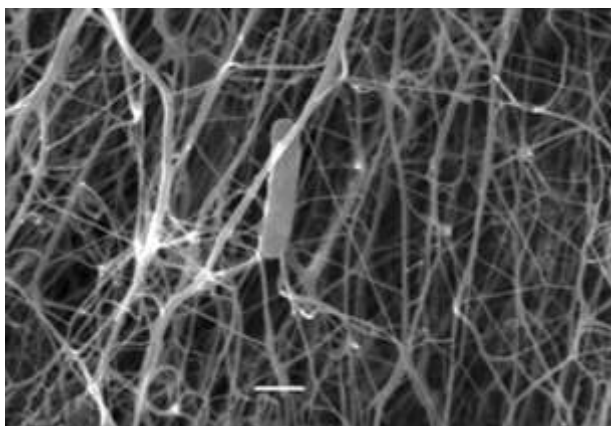


Figura 15. Imagen SEM de nanocelulosa adherida a una bacteria durante su producción [39]

### 5.2. Pretratamientos para la producción de nanofibras de celulosa

La naturaleza floculante de las fibras, puede causar problemas durante el tratamiento mecánico de desintegración de estas, especialmente al aplicar el tratamiento de homogeneización a alta presión debido a su estrecha ranura. Además, los tratamientos de desintegración requieren un elevado consumo energético asociado a la delaminación de la fibra de celulosa. Este consumo viene producido por los

numerosos ciclos de tratamiento necesarios para producir una idónea separación de las nanofibras individuales. Con el fin de facilitar el tratamiento y reducir el consumo energético, se han desarrollado numerosos pretratamientos, entre los que se destacan la hidrólisis enzimática, carboximetilación, oxidación catalítica TEMPO y refinado mecánico:

- Hidrólisis enzimática: puede considerarse una alternativa ambientalmente favorable en comparación con los pretratamientos químicos. Las enzimas celulolíticas, también denominadas celulasas, son las encargadas de hidrolizar las fibras de celulosa [46]. Estas enzimas pueden dividirse en tres grupos dependiendo de su actividad; i) endoglucanasas o  $\beta$ -1,4-endoglucanasas (también llamadas celulasas tipo A y B), las cuales hidrolizan aleatoriamente los enlaces  $\beta$ -1,4-glucosídicos accesibles en las regiones no cristalinas de la celulosa, generando fibras acortadas con nuevos extremos de cadena; ii) exoglucanasas o celobiohidrolasa, también conocidas como celulasas tipo C y D, actúan sobre los extremos de la cadena de celulosa para liberar celobiosa soluble como producto principal; y iii)  $\beta$ -glucosidasas, que hidrolizan la celobiosa en glucosa (Figura 16). La producción de nanofibras de celulosa a partir de pasta celulósica blanqueada es posible mediante la combinación de una hidrólisis enzimática suave, utilizando endoglucanasas, seguida de un tratamiento de homogeneización a alta presión [46,47]. Se observa como la hidrólisis enzimática aumentó la hinchazón de la fibra en agua y facilita su desintegración, favoreciendo el tratamiento posterior. Las NFC producidas (10 – 20 nm) presentan mayor homogeneidad en comparación con las obtenidas solo con el tratamiento mecánico.

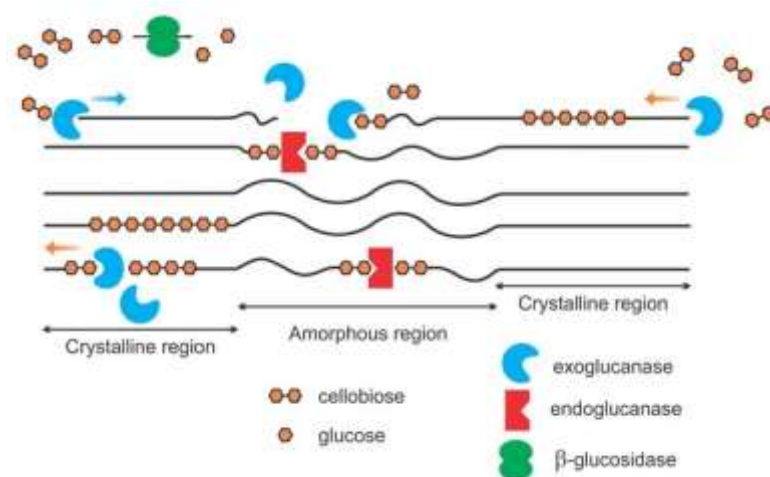


Figura 16. Representación esquemática simplificada de la acción enzimática sobre la celulosa de las celulasas, incluyendo exoglucanasa, endoglucanasa y  $\beta$ -glucosidas [46]

- **Carboximetilación:** consiste en la sustitución de los grupos hidroxilos de la cadena de celulosa por grupos carboximetilos ( $\text{CH}_2\text{COOH}$ ). Esto es el resultado de una reacción química entre la celulosa y el ácido monocloroacético en presencia de hidróxido sódico (Figura 17). Bajo condiciones alcalinas, se favorece la hinchazón de la fibra y se aumenta la reactividad de los grupos hidroxilos de la celulosa. En este proceso se llevan a cabo dos etapas de reacción consecutivas, basificación y eterificación, utilizando isopropanol como solvente [48]:

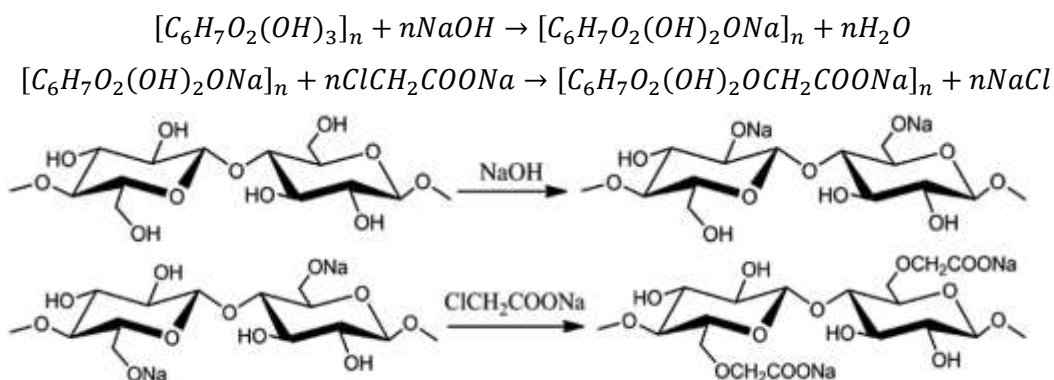


Figura 17. Reacción de carboximetilación de la celulosa [49]

Dependiendo del grado de sustitución, los grupos carboxilo polares pueden hacer que la celulosa se vuelva soluble y químicamente reactiva. En este proceso es crucial controlar la concentración de sal y el pH de la reacción ya que se ha demostrado que, a altas concentraciones de sal o pH muy bajos, puede producirse una aglomeración de las fibras. El pretratamiento de carboximetilación hace que las fibrillas estén muy cargadas superficialmente ( $0,5 \text{ meq}\cdot\text{g}^{-1}$ ) y facilita su liberación durante el tratamiento de desintegración. Tras el pretratamiento se procede al tratamiento de desintegración, obteniendo nanofibras entre 5 – 15 nm de diámetro y más de 1  $\mu\text{m}$  de longitud.

- **Oxidación catalítica TEMPO:** constituye el pretratamiento más utilizado y efectivo para la producción de NFC. El catalizador utilizado es el 2,2,6,6-tetrametilpiperidina-1-oxilo, también conocido como TEMPO. Este catalizador es un sólido sublimable, de color rojo-naranja que se derrite a 36 – 38°C. Es un radical nitroxilo altamente estable, que se utiliza ampliamente en la oxidación selectiva de alcoholes primarios a sus aldehídos correspondientes y ácidos carboxílicos. La reacción se produce en medio acuoso, donde catalizador TEMPO cataliza la conversión de los grupos hidroxilos primarios de la cadena de celulosa a aldehídos y posteriormente a ácidos carboxílicos en presencia de un agente oxidante

primario (por ejemplo, hipoclorito sódico) y sales halógenas (por ejemplo, bromuro de sodio) (Figura 18) [36].

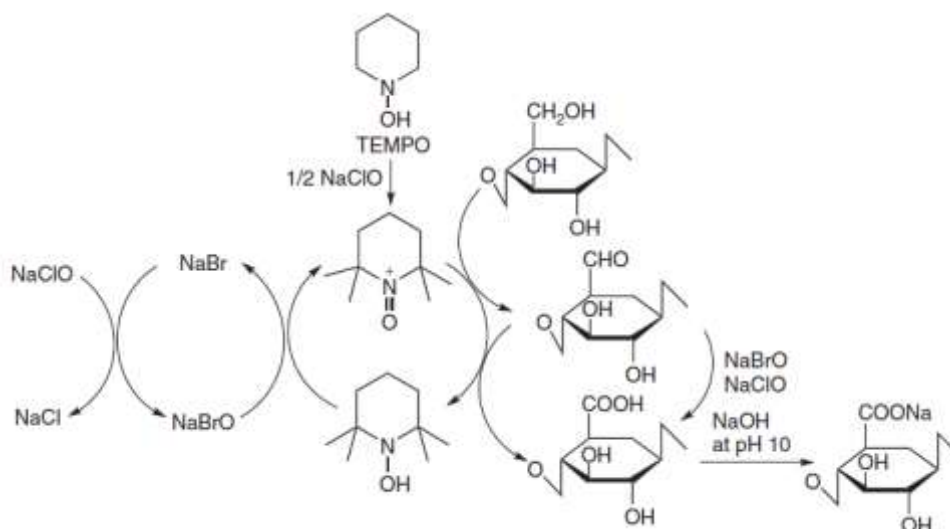


Figura 18. Representación esquemática de la reacción de oxidación catalítica TEMPO

Con esta reacción oxidativa se consigue cargar negativamente la superficie de las fibras, produciendo que la repulsión electrostática causada por los grupos aniónicos carboxilos entre las fibras oxidadas, superen la fuerza de unión producida por los numerosos enlaces de hidrógeno interfibrilar. Se ha constatado que es necesario un contenido de grupos carboxilos de aproximadamente  $300 \mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$  en la celulosa para obtener una efectividad óptima en el tratamiento. Sin embargo, se ha demostrado que incrementos de este valor por encima de los  $500 \mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$  no producen cambios significativos en el rendimiento de nanofibrilación de las fibras [49]. Este pretratamiento reduce el consumo energético hasta 100 veces durante el proceso de desintegración mecánica, y da como resultado una suspensión extremadamente homogénea de NFC entre 3 – 4 nm y varios micrómetros de longitud.

- Refinado mecánico: puede ser utilizado como pretratamiento a la desintegración mecánica. Este proceso, también conocido como refinado mecánico, consiste en someter a las fibras de celulosa a fuerzas cizalla (refinado PFI, molino, etc.) para producir una separación mecánica de las fibras celulósicas. Puede causar alteraciones irreversibles en las fibras celulósicas e incrementar sus potenciales de unión, y se favorece la capacidad de hinchazón de la fibra debido a la exposición de las fibrillas que forman las fibras de celulosa, facilitando su posterior desintegración [50]. Uno de los pretratamientos mecánicos utilizados es el refinado PFI (Figura 19), que consiste en un molón cilíndrico y un sistema de carcasa que giran en el mismo sentido, pero con velocidades tangenciales

diferentes. Esta diferencia de velocidades hace que las fibras de la zona de refinado sean expuestas a un tratamiento mecánico: fricción, rozamiento y compresión de las fibras. Tras un refinado mecánico severo (20.000 – 30.000 revoluciones) las fibras alcanzan un nivel de refinado suficiente (80 – 90 °Schopper) para ser sometidas a su desintegración [51,52].



Figura 19. Refinador mecánico PFI (IDMTest)

### 5.3. Tratamientos para la producción de nanofibras de celulosa

Si las fibras de celulosa son sometidas a una fuerte desintegración mecánica, el material original de la estructura de la fibra de celulosa se degrada, y las fibras se convierten en nanofibras de celulosa (NFC) con diámetros en el rango de 10 – 100 nm. Se pueden utilizar varios tratamientos mecánicos para extraer NFC, tales como la homogeneización a alta presión, microfluidización, molienda por fricción, extrusión, criopresión, y ultrasonidos de alta intensidad.

- Homogeneización a alta presión: fue el tratamiento pionero utilizado para la producción de nanofibras de celulosa [33]. Consiste en forzar a una suspensión de fibras de celulosa, a pasar a través de una fina ranura a una elevada presión (100 – 2000 bares), utilizando un pistón y un conjunto de válvulas. A medida que estas válvulas se abren y se cierran en una rápida sucesión, las fibras son sometidas a una gran caída de presión con elevadas fuerzas de cizallamiento e impacto, producidas por la restricción repentina de flujo bajo alta presión a través de una válvula restrictiva (Figura 20). Esta combinación de fuerzas promueve un alto grado de desintegración de las fibras de celulosa, produciendo NFC [53]. Después de 5 a 10 pases a través del homogeneizador, la suspensión de nanofibras gelifica formando un gel viscoso, estable y translúcido. Para realizar el tratamiento, una suspensión de fibras de celulosa de una consistencia entre 1 – 2% se pasan durante 5 – 10 pases a través del homogeneizador a una presión entre 600 – 1000 bares. A mayor número de pases y mayor presión de proceso, mayor es la eficacia del tratamiento de desintegración de la fibra.

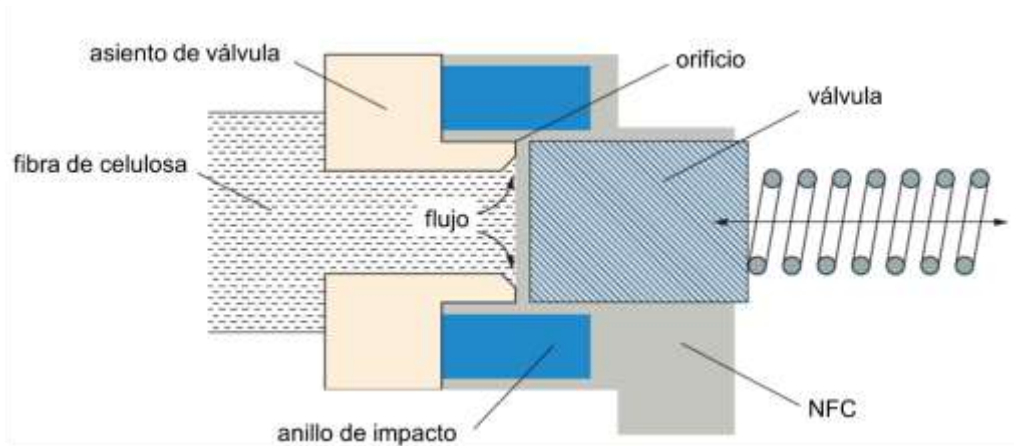


Figura 20. Esquema del proceso de homogeneización a alta presión [54]

- **Microfluidización:** se emplea el microfluidizador, un instrumento similar al homogeneizador a alta presión. En este tratamiento, la suspensión de fibras con una consistencia del 1%, se bombea a través de cámaras de interacción en forma de Z donde son sometidas a elevadas fuerzas cizalla (Figura 21). La presión puede alcanzar hasta 40.000 psi, es decir, alrededor de 2.760 bares [54]. El interior de la cámara está diseñado especialmente con microcanales de geometría a través de los cuales el producto se acelera a altas velocidades, creando las fuerzas de cizallamiento e impacto deseadas cuando la suspensión de fibras impacta contra sí misma, y contra las paredes de los canales. Conforme la bomba de alta intensidad continúa bombeando la suspensión en una dirección, una serie de válvulas de retención permiten que el producto sea arrastrado hacia el lado opuesto de la bomba. A medida que la bomba completa su recorrido, invierte la dirección y el nuevo volumen de producto se presuriza, repitiendo el proceso. Esto crea un flujo constante de producto a una presión casi constante a través de la cámara de interacción. Al salir de la cámara, el producto puede ser recirculado hacia un intercambiador de calor, recirculado a través del sistema para su posterior procesamiento, o recirculado hacia otro tratamiento distinto en serie. Este proceso es necesario repetirlo varias veces para obtener una desintegración completa de la fibra. Se estima que son necesarias entre 10 – 20 pasadas a través del equipo para una completa desintegración de la fibra, obteniendo fibras de tamaño homogéneo de entre 5 – 20 nm [55].

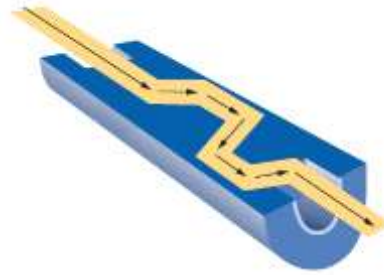


Figura 21. Detalles de la cámara de colisión en forma de Z del microfluidizador (Microfluidics Inc.)

- **Molienda por fricción:** se emplean discos de molienda. El molino cuenta con dos discos cerámicos no porosos con una distancia ajustable entre los discos superior e inferior. Mientras que el disco superior es fijo, el inferior se gira a alta velocidad. Estos discos tienen superficies equipadas con barras y ranuras contra las cuales las fibras están sometidas a repetidas tensiones cíclicas. La materia prima se introduce en una tolva y se dispersa por fuerza centrífuga en el espacio libre entre los discos de molienda donde se produce la fricción. Las NFC se producen debido a las fuerzas masivas de compresión, cizallamiento y fricción de rodadura (Figura 22). Estas fuerzas descomponen la estructura de las fibras de celulosa y su unión por puentes de hidrógeno. Durante este tratamiento, se somete una suspensión de fibra (1 – 4% de consistencia en peso) a un elevado número de pases (20 – 60 pases), haciendo girar el disco inferior a alta velocidad (1500 rpm). Las NFC obtenidas mediante este proceso presentan una distribución uniforme de entre 20 – 50 nm, sin embargo, se produce un descenso en el valor del grado de polimerización y la cristalinidad debido al estrés mecánico al que son sometidas las fibras. Al igual que el resto de los tratamientos, requiere de un gran consumo energético que puede oscilar entre 5 – 30 kWh/tonelada, dependiendo de la naturaleza de la fibra [56].

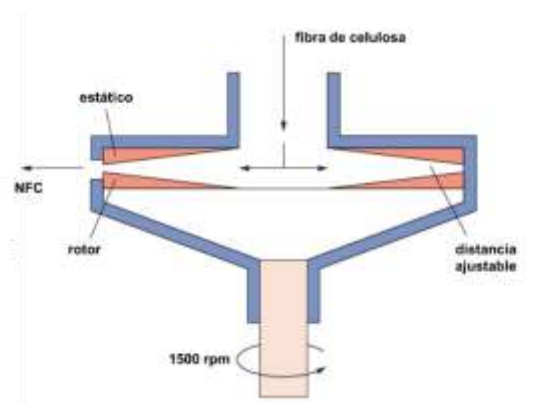


Figura 22. Esquema del proceso de molienda por fricción



- **Extrusión:** las extrusoras de doble tornillo son utilizadas principalmente en alimentación, sector farmacéutico, y para la extrusión continua de polímeros. El equipo está compuesto por dos tornillos corrotativos que encajan entre sí para producir fuerzas de fricción al material introducido (Figura 23). El proceso de desintegración de las fibras celulósicas también puede llevarse a cabo en una extrusora de doble tornillo debido a las fuerzas de fricción que se alcanzan en su interior [57]. A diferencia de los tratamientos clásicos donde las suspensiones de NFC obtenidas son del 1 – 2%, este proceso permite obtener consistencias del 20 – 40%. El proceso de fibrilación a través de la extrusora podría, por lo tanto, dar lugar a una producción de bajo coste debido a la alta eficiencia y a la rapidez del proceso. Además, al obtener nanocelulosa altamente concentrada, se consiguen grandes ventajas respecto al transporte, producción y almacenamiento del producto ampliando el campo de aplicación a sectores que necesiten un producto con una menor cantidad de agua (construcción, polímeros, etc.).

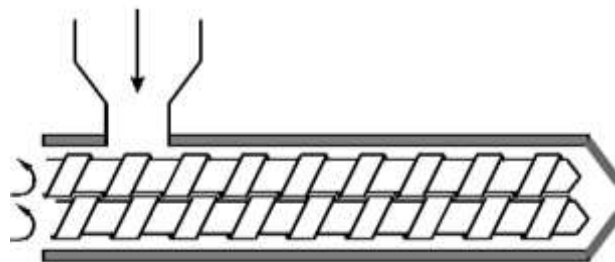


Figura 23. Esquema de una extrusora de doble tornillo

- **Criopresión:** es otro método para la desintegración mecánica de la celulosa. En este proceso, las fibras de celulosa hinchadas por el agua son congeladas en nitrógeno líquido y posteriormente trituradas [58,59]. La aplicación de fuerzas de alto impacto sobre las fibras celulósicas congeladas conduce a la ruptura de la pared celular debido a la presión ejercida por los cristales de hielo, y, por lo tanto, a la liberación de nanofibras. Posteriormente, las nanofibras congeladas son dispersadas uniformemente en agua dando lugar a nanofibras con un diámetro entre 50 – 100 nm y longitudes de varios micrómetros. Este tratamiento presenta una baja efectividad y es costoso, debido principalmente a su alto consumo energético.
- **Ultrasonificación de alta intensidad:** es un proceso mecánico en el que se utiliza un poder oscilante para aislar las nanofibras de celulosa mediante hidrodinámicas de ultrasonido. Durante el tratamiento se produce un proceso de cavitación de un gran poder mecánico-oscilante y, por lo tanto, a ondas de alta intensidad, que consiste en la formación, expansión e implosión de burbujas de gas microscópicas

cuando las moléculas absorben energía ultrasónica. En este proceso influyen diferentes parámetros como la temperatura, concentración, potencia, tamaño, tiempo y distancia desde la punta de ultrasonidos. Se ha comprobado que, a mayor potencia y temperatura, mayor es la efectividad del tratamiento. Sin embargo, una alta concentración y una mayor distancia entre la sonda y el vaso originan que la eficacia del tratamiento disminuya [60]. Pese a todo, sólo se obtienen una mezcla de micro y nanofibras, presentando el producto una gran heterogeneidad. Las nanofibras obtenidas se distribuyen entre 20 – 30 nm a varias micras de diámetro, lo que demuestra que algunas fibras no se desintegran [61]. Este método es efectivo cuando es combinado con una oxidación catalítica TEMPO [61]. Sin embargo, todos los métodos que basan su fundamento en ultrasonidos requieren un elevado consumo energético y causan un descenso en el rendimiento y en la longitud de la fibra.

## **6. Aplicaciones de la nanocelulosa**

Las excelentes propiedades que presenta la nanocelulosa la hacen atractiva para muchos campos de aplicación. Uno de los que más interés ha despertado es la aplicación de nanocelulosa como refuerzo en suspensiones papeleras, especialmente en los procesos de reciclado del papel y cartón. Por otro lado, los materiales compuestos fabricados con nanocelulosa presentan una alta resistencia mecánica y térmica, ligereza y transparencia. Estos materiales compuestos producidos en parte con nanocelulosa, se pueden aplicar en muchos campos de la vida diaria (aerogeneradores, armaduras ligeras, baterías flexibles, embalaje alimentario, accesorios de automóviles, etc.).

La nanocelulosa puede ser utilizada para producir papeles (nanopapeles) con excelentes propiedades mecánicas, ópticamente transparentes y plegables. Los papeles transparentes se pueden aplicar a dispositivos electrónicos, células solares, pantallas y circuitos flexibles [62-65]. Además, debido a su baja toxicidad, biodegradabilidad y biocompatibilidad también es ampliamente aplicable en el campo de la medicina, pues la nanocelulosa puede ser altamente biocompatible para la producción de tejidos para injertos de piel, para mejorar la cicatrización de las heridas, producción de tejidos blandos, etc. Además de las aplicaciones anteriores, existen múltiples aplicaciones potenciales, por ejemplo, como modificador reológico en pinturas, cosméticos y alimentos, como relleno de textiles, envases biodegradables, refuerzo en cementos, adsorbente de CO<sub>2</sub> y recuperadores de aceite.

Para analizar el impacto de la nanocelulosa en los diferentes sectores productivos, es necesario analizar el tamaño del mercado y el potencial de uso de la nanocelulosa en cada sector (Tabla 2). Se estima que la demanda de nanocelulosa en los diferentes sectores es de más de 24 millones de toneladas de producto [66]. Sin embargo, si tenemos en cuenta una penetración potencial de mercado del 5%, se precisa que serían necesarias más de 1,2 millones de toneladas de nanocelulosa. De este valor, más del 80% (1 millón de toneladas) sería destinado al sector de producción de papel y cartón, un 4,5% a la producción de textiles manufacturados, un 3,3% para los sectores de materiales compuestos, films de altas propiedades barrera y pinturas para revestimientos, un 2,8% para el sector de textiles naturales, y el otro 2,5% entre los sectores de la construcción (cemento), excipientes, textiles no tejidos, adhesivos, petróleo y gas. Para ser capaces de producir nanocelulosa para este nicho de mercado, es necesario avanzar en el desarrollo de tratamientos y procesos que hagan de la producción de nanocelulosa un proceso eficiente a escala industrial.

*Tabla 2. Aplicaciones y mercado de la nanocelulosa [62]*

	<b>Tamaño de mercado (en miles de toneladas)</b>	<b>Carga potencial</b>	<b>Uso potencial de nanocelulosa (en miles de toneladas)</b>	<b>Potencial al 5% de penetración en mercado (en miles de toneladas)</b>
<b>Papel y cartón</b>	400.000	5%	20.000	1.000
<b>Excipientes</b>	4.600	2%	92	4
<b>Materiales compuestos</b>	16.000	5%	800	40
<b>Films de altas propiedades barrera</b>	1.600	50%	800	40
<b>Pinturas y revestimientos</b>	40.000	2%	800	40
<b>Textiles naturales</b>	34.500	2%	690	35
<b>Textiles manufacturados</b>	56.300	2%	1.126	56
<b>Cemento</b>	15.000	0.5%	75	4
<b>Petróleo y gas</b>	17.500	1%	175	9
<b>Textiles no tejidos</b>	7.000	2%	140	7
<b>Adhesivos</b>	4.000	2%	80	4
<b>TOTAL</b>			<b>24.778</b>	<b>1.239</b>

### **6.1. Aplicación en suspensiones papeleras**

La resistencia del papel depende en gran parte del número de enlaces entre fibra y fibra durante la formación y secado. Durante el proceso de secado, las fibras se juntan debido al efecto de la presión de Laplace que surge de la curvatura del menisco del puente líquido entre el límite de la fibra. Los puentes de hidrógeno resultantes entre las

zonas delimitadas por el contacto molecular aumentan la cohesión entre las fibras en contacto. Se sabe que existen diferentes factores que afectan a la resistencia del papel, tales como i) la resistencia y longitud de las fibras; ii) resistencia y fuerza de adherencia específicas del área de unión, iii) proceso de formación de la hoja, y iv) la presencia de tensiones residuales de distribución [67]. Cualquier proceso que actúe favorablemente sobre uno de esos factores puede aumentar la resistencia del papel. Actualmente, esto puede hacerse de varias maneras; refinado mecánico, adición de agentes de refuerzo en seco o húmedo, o la modificación química de la fibra [68-71]. En todos esos procesos se añade un aditivo químico, o se aplica un tratamiento mecánico-físico para promover la capacidad de adhesión de las fibras. Sin embargo, la adición de NFC también puede utilizarse como agente de refuerzo en suspensiones papeleras. La contribución al efecto refuerzo puede explicarse a través de dos mecanismos posibles: i) las NFC actúan como promotor de adherencia al unir las fibras adyacentes y favorecer la unión de las fibras al aumentar el área de unión, y ii) las NFC puede generar una red diferente incrustada entre las fibras de mayor tamaño que contribuye a aumentar la capacidad de soporte de la carga del papel (Figura 24). Dado que para que se establezcan los puentes de hidrógeno entre diferentes fibras es necesaria una proximidad de menos de 0,35 nm, la presencia de NFC contribuye a aumentar el área de unión entre las fibras adyacentes y a través de una red formada por estas nanofibras [67]. Además, dada la similitud química entre las fibras del papel y las nanofibras, se produce una alta afinidad entre ambas.

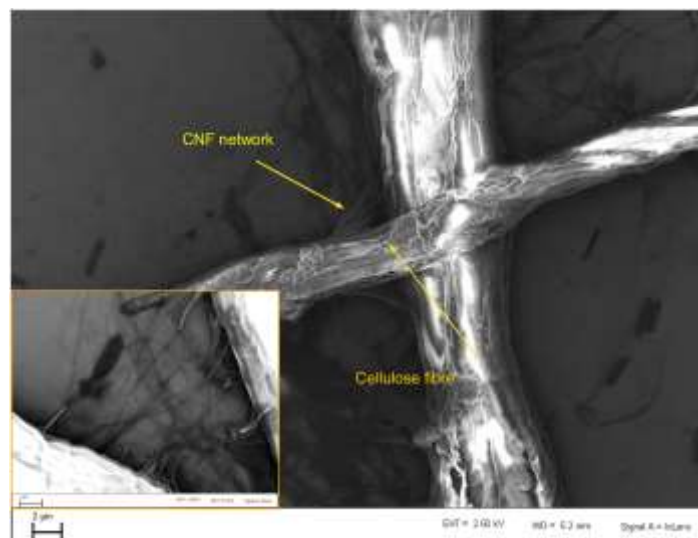


Figura 24. Microfotografía FE-SEM que muestra cómo las NFC se unen a las fibras de celulosa. La imagen más pequeña representa un zoom de dos fibras adyacentes unidas con una red de NFC [66]

Esta tecnología es de especial interés en el sector del reciclaje de papel y cartón, ya que, durante el reciclaje, las fibras experimentan daños estructurales debido a fenómenos de refinación mecánicos y al proceso de hornificación durante los sucesivos

ciclos de dispersión-secado. Estos daños estructurales en la fibra dan como resultado una disminución de las propiedades físicas de la fibra, lo que se traduce en un papel/cartón con unas propiedades mecánicas inferiores al producto virgen. Para recuperar estas propiedades mecánicas, la industria papelera somete generalmente a las fibras recicladas a un proceso de refinado mecánico, que aumenta la superficie específica de las fibras y promueve la capacidad de hinchazón, mejorando así las propiedades del papel. Sin embargo, este proceso mecánico modifica físicamente la fibra lo que produce una limitación en los ciclos de reciclaje del papel. Tras 10 – 12 ciclos de refinado mecánico, este tratamiento no es capaz de devolverle las propiedades físicas iniciales a la fibra reciclada, por lo que es necesario añadir fibra virgen para restablecer los valores iniciales de las propiedades físicas [72]. Esta adición de fibra virgen va en contra del proceso ideal de reciclaje, así como de los principios de la economía circular. La adición de NFC produce esta recuperación de las propiedades físicas sin necesidad de modificar físicamente la fibra, sólo con el incremento de puntos de unión entre fibra y fibra. Esto permite incrementar los ciclos de reciclaje de la vida, aumentando la vida útil de los productos, e incluso reducir el gramaje del papel, lo que conllevaría una economía más circular ya que, por una parte, se precisaría una menor demanda de recursos lignocelulósicos para la producción de un mismo producto, y por otra, aumentaría la permanencia del recurso en la tecnosfera [72,73].

### **6.2. Aplicación en films para productos alimentarios**

En la última década se han producido significativos avances en el desarrollo de envases biodegradables en el sector alimentario. Esto se debe a la vinculación directa e indirecta de las materias primas a la sostenibilidad global, la eficiencia energética y, en particular, la seguridad de suministro. En los últimos años, la aplicación de materias primas de origen biológico en la preparación de materiales compuestos se ha incrementado debido a su disponibilidad como material renovable y sus beneficios ambientales. El uso de materiales de origen biológico en los sistemas de producción no sólo beneficiará al ecosistema, sino que también conducirá a una reducción de la pobreza y al desarrollo de la agricultura y de las zonas rurales. La aplicación de biopolímeros como materiales de envasado respetuosos con el medio ambiente ha sido limitada debido a sus pobres propiedades mecánicas y de barrera. Por ello, los materiales más utilizados desde hace 50 años son los materiales a base de polietileno o copolímeros, debido a su bajo coste, versatilidad, flexibilidad y seguridad [74]. Sin embargo, el estrés medioambiental que producen los residuos generados por estos materiales convencionales ha motivado la investigación e innovación en la sustitución de estos plásticos por materiales biodegradables, procedentes de fuentes renovables y

que presenten características similares. Una de las maneras para superar las limitaciones que presentan los biopolímeros es el uso de nanomateriales y nanopartículas como agente de refuerzo [75]. Los nanomateriales son materiales multifásicos, en los que la mayoría de los componentes tienen una dimensión en el orden de 100 nm o menos. El uso de estos materiales como refuerzo juegan un papel estructural, actuando para mejorar las propiedades mecánicas y barrera de la matriz polimérica mediante la transferencia de la tensión sufrida por la matriz hacia los nanomateriales a través de la interfaz, y al relleno de la matriz por parte de estos materiales dificultando el paso de los gases a través del material [76]

El sector del envasado es una de las áreas donde las nanofibras de celulosa presentan mayor potencial de uso. Se ha demostrado que el uso de la nanocelulosa como elemento de refuerzo en varios polímeros de origen biológico produce una mejora en las propiedades mecánicas y en las propiedades funcionales del material, tales como la biodegradabilidad, transparencia, barrera a los gases, superficie específica y estabilidad térmica. Existe un creciente interés en el desarrollo de films basados o con cierto contenido en nanocelulosa debido a las propiedades barrera que presentan. Los materiales de origen biológico con altas propiedades barrera son cada vez más deseables en nuestra sociedad, para desarrollar materiales eficientes y respetuosos con el medio ambiente en diferentes aplicaciones. La cristalinidad de la nanocelulosa, así como su capacidad para formar redes, producen un aumento de la tortuosidad del camino que tienen que sufrir las moléculas de gas a través de la matriz polimérica (Figura 25).

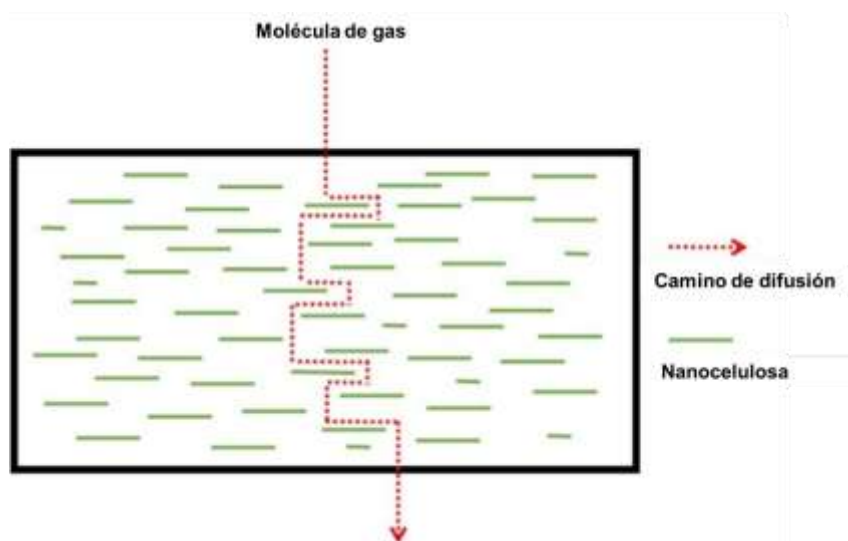


Figura 25. Representación esquemática de la trayectoria de difusión del gas a través de un envase alimentario reforzado con nanocelulosa [76]

Las propiedades barrera son las características más importante que se le requiere a los films alimentarios, ya que estos están destinados a evitar tanto la absorción como la desorción de líquidos, así como la difusión de gases desde el exterior hacia el interior y desde el interior al exterior del envase. Los gases existentes en la atmósfera (oxígeno, nitrógeno, dióxido de carbono) y los existentes en la atmósfera protectora del envase, tienden a la permeabilidad por difusión para alcanzar el equilibrio entre el interior y el exterior del envase. Los films tienen por tanto que proteger a los alimentos de su secado, descomposición, cambio de temperatura, luz, oxígeno, olores y evaporación de aromas, para mantener así las propiedades físicas, bioquímicas y químicas de los alimentos dentro de un estado de cambio razonable para aumentar la vida útil del producto. La difusión de los gases en los films ocurre principalmente en tres etapas [76]: i) absorción de la molécula de gas en la superficie del film, ii) difusión de la molécula de gas a través del film, y iii) desorción de la molécula de gas desde el film al otro lado del envase. Uno de los gases que más problemas presenta en alimentos es el oxígeno, ya que puede causar cambios permanentes en la vida útil del producto alimentario debido a las reacciones de oxidación que pueden producirse. Además, las nanofibras de celulosa pueden utilizarse como portadores de sustancias activas que presenten propiedades antioxidantes y antimicrobianas, lo que permite una mayor eficacia del envasado alimentario, alargando la vida útil del alimento.

## 7. Bibliografía

1. European Comission. Closing the loop - An EU action plan for the Circular Economy. Bruselas, **2015**.
2. BioPlat; Suschem. *Manual sobre las Biorrefinerías en España*; **2017**.
3. Sarkar N., Ghosh SK., Bannerjee S. and Aikat K. Bioethanol production from agricultural wastes: An overview. *Renewable Energy*, **2012**, 37, 19 - 27.
4. FAO. How to Feed the World in 2050.
5. FAO. FAOSTAT 2017. <http://www.fao.org/faostat/en/> (Acceso en Junio).
6. Awika JM. Major Cereal Grains Production and Use around the World. In *Advances in Cereal Science: Implications to Food Processing and Health Promotion*, American Chemical Society, **2011**, 1089, 1-13.

7. Jiménez L. and Rodríguez A. *Valorization of Agricultural Residues by Fractionation of their Components. The Open Agriculture Journal*, **2010**, 4, 125 – 134.
8. Höfte H. and Voxeur A. Plant cell walls. *Current Biology*, **2017**, 27, 865 – 870.
9. Rubin EM. Genomics of cellulosic biofuels. *Nature*, **2008**, 454, 841 – 845.
10. Bovey FA. and Winslow EH. *An Introduction to Polymer Science*. Academic Press: New York, **1981**.
11. Kuhad RC., Singh A. and Eriksson KEL. Microorganisms and enzymes involved in the degradation of plant fiber cell walls. In *Biotechnology in the Pulp and Paper Industry*. Springer Berlin Heidelberg Berlin, **1997**.
12. Reddy N. Yang Y. Biofibers from agricultural byproducts for industrial applications. *Trends in Biotechnology*, **2005**, 23, 22 – 27.
13. Li BZ., Balan V., Yuan YJ. and Dale BE. Process optimization to convert forage and sweet sorghum bagasse to ethanol based on ammonia fiber expansion (AFEX) pretreatment. *Bioresource Technology*, **2010**, 101, 1285 - 1292,
14. Feldman D. *Wood—chemistry, ultrastructure, reactions*. Walter de Gruyter, Berlin and New York, **1984**.
15. Visakh PM. and Thomas S. Preparation of Bionanomaterials and their Polymer Nanocomposites from Waste and Biomass. *Waste and Biomass Valorization*, **2010**, 1, 121 - 134..
16. Pereira H. Chapter 3 - The chemical composition of cork. In *Cork*. Elsevier Science, Amsterdam, **2007**.
17. Collins T., Gerday C. and Feller G. Xylanases, xylanase families and extremophilic xylanases. *FEMS Microbiology Reviews*, **2005**, 29, 3 - 23,
18. Stenius P. *Forest products chemistry*. Fapet Oy: Helsinki, **2000**.
19. Planas A. Bacterial 1,3-1,4- $\beta$ -glucanases: structure, function and protein engineering. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Protein Structure and Molecular Enzymology* **2000**, 1543, 361 - 382.



20. Mahmood Z., Yameen M., Jahangeer M., Riaz M., Ghaffar A. and Javid I. Lignin as Natural Antioxidant Capacity, Lignin – Trends and Applications. IntechOpen, **2018**.
21. Yue Z. Carbonization and activation for production of activated carbon fibers. *Activated Carbon Fiber and Textiles*. Woodhead Publishing: Oxford, **2017**.
22. Vanholme R. Demedts B. Morreel K.. Ralph J. and Boerjan W. Lignin Biosynthesis and Structure. *Plant Physiology*, **2010**, 153, 895 – 905.
23. del Río JC., Rencoret J., Prinsen P., Martínez ÁT., Ralph J. and Gutiérrez A. Structural Characterization of Wheat Straw Lignin as Revealed by Analytical Pyrolysis, 2D-NMR, and Reductive Cleavage Methods. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **2012**, 60, 5922 – 5935.
24. Sun Z., Fridrich B., de Santi A., Elangovan S. and Barta K. Bright Side of Lignin Depolymerization: Toward New Platform Chemicals. *Chemical Reviews*, **2018**, 118, 614 - 678.
25. Jose Chirayil C., Mathew L. and Thomas S. Review of recent research in nano cellulose preparation from different lignocellulosic fibers. *Review on advanced materials science*, **2014**, 37, 20 - 28.
26. Dufresne A. Nanocellulose: a new ageless bionanomaterial. *Materials Today*, **2013**, 16, 220 - 227.
27. Phanthong P., Reubroycharoen P., Hao X., Xu G., Abudula, A. and Guan, G. Nanocellulose: Extraction and application. *Carbon Resources Conversion*, **2018**, 1, 32 – 43.
28. Habibi Y., Goffin AL., Schiltz N., Duquesne E., Dubois P. and Dufresne A. Bionanocomposites based on poly( $\epsilon$ -caprolactone)-grafted cellulose nanocrystals by ring-opening polymerization. *Journal of Materials Chemistry*, **2008**, 18, 5002 – 5010.
29. Bhat AH., Dasan YK., Khan I., Soleimani H. and Usmani A. Application of nanocrystalline cellulose: Processing and biomedical applications. *Cellulose-Reinforced Nanofibre Composites*. Woodhead Publishing, **2017**.
30. Lavoine N., Desloges I., Dufresne A. and Bras J. Microfibrillated cellulose – Its barrier properties and applications in cellulosic materials: A review. *Carbohydrate Polymers*, **2012**, 90, 735 - 764.

31. Moon R.J., Martini A., Nairn J., Simonsen J. and Youngblood J. Cellulose nanomaterials review: structure, properties and nanocomposites. *Chemical Society*, **2011**, *40*, 3941 – 3994.
32. Berglund L., Noël M., Aitomäki Y., Öman T. and Oksman K. Production potential of cellulose nanofibers from industrial residues: Efficiency and nanofiber characteristics. *Industrial Crops and Products*, **2016**, *92*, 84 – 92.
33. Turbak AF., Snyder FW., Sandberg KR., Microfibrillated cellulose, a new cellulose product: properties, uses, and commercial potential. *Conference*. United States, **1983**
34. Pääkkö M., Ankerfors M., Kosonen H., Nykänen A., Ahola S., Österberg M., Ruokolainen J., Laine J., Larsson PT., Ikkala O. and Lindström T. Enzymatic Hydrolysis Combined with Mechanical Shearing and High-Pressure Homogenization for Nanoscale Cellulose Fibrils and Strong Gels. *Biomacromolecules*, **2007**, *8*, 1934 - 1941.
35. Fall AB., Lindström SB., Sundman O., Ödberg L. and Wågberg L. Colloidal Stability of Aqueous Nanofibrillated Cellulose Dispersions. *Langmuir*, **2011**, *27*, 11332 - 11338.
36. Saito T., Kimura S., Nishiyama Y. and Isogai A. Cellulose Nanofibers Prepared by TEMPO-Mediated Oxidation of Native Cellulose. *Biomacromolecules*, **2007**, *8*, 2485 - 2491.
37. Yousefi H., Faezipour M., Nishino T., Shakeri A. and Ebrahimi G. All-cellulose composite and nanocomposite made from partially dissolved micro- and nanofibers of canola straw. *Polymer Journal*, **2011**, *43*, 559 – 564.
38. Jozala AF., de Lencastre-Novaes LC., Lopes AM., de Carvalho Santos-Ebinuma V., Mazzola PG., Pessoa-Jr A., Grotto D., Gerenutti M. and Chaud MV. Bacterial nanocellulose production and application: a 10-year overview. *Applied Microbiology and Biotechnology*, **2016**, *100*, 2063 – 2072.
39. Castro C., Cleenwerck I., Trcek J., Zuluaga R., De Vos P., Caro G., Aguirre R., Putaux JL. and Ganán P. *Gluconacetobacter medellinensis* sp nov., cellulose- and non-cellulose-producing acetic acid bacteria isolated from vinegar. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, **2013**, *63*, 1119 – 1125.

40. Tanskul S., Amornthatree K. and Jaturonlak N. A new cellulose-producing bacterium, *Rhodococcus* sp. MI 2: Screening and optimization of culture conditions. *Carbohydrate Polymers*, **2013**, *92*, 421 – 428.
41. Mohammadkazemi F., Azin M. and Ashori A. Production of bacterial cellulose using different carbon sources and culture media. *Carbohydrate Polymers*, **2015**, *117*, 518 – 523.
42. Klemm D., Kramer F., Moritz S., Lindström T., Ankerfors M., Gray D. and Dorris A. Nanocelluloses: A New Family of Nature-Based Materials. *Angewandte Chemie International Edition*, **2011**, *50*, 5438 – 5466.
43. Schramm M. and Hestrin S. Factors affectin production of cellulose at the air liquid interface of a culture of acetobacter-xylinum. *Journal of General Microbiology*, **1954**, *11*, 123 – 129.
44. Çakar F., Özer I., Aytekin AÖ. and Şahin F. Improvement production of bacterial cellulose by semi-continuous process in molasses medium. *Carbohydrate Polymers*, **2014**, *106*, 7-13.
45. Rehim S.A., Singhal M., Chung KC. Dermal Skin Substitutes for Upper Limb Reconstruction: Current Status, Indications, and Contraindications. *Hand Clinics*, **2014**, *30*, 239 – 252.
46. Akhtar N., Aanchal-Goyal D. and Goyal A. Biodiversity of cellulase producing bacteria and their applications. *Cellulose Chemistry and Technolgy*, **2016**, *50*, 9 – 10.
47. Henriksson M., Henriksson G., Berglund LA. and Lindström T. An environmentally friendly method for enzyme-assisted preparation of microfibrillated cellulose (MFC) nanofibers. *European Polymer Journal*, **2007**, *43*, 3434 - 3441.
48. Yue L., Zheng Y., Xie Y., Liu S., Guo S., Yang B. and Tang T. Preparation of a carboxymethylated bacterial cellulose/polyaniline composite gel membrane and its characterization. *RSC Advances*, **2016**, *6*, 68599 - 68605.
49. Besbes I., Alila S. and Boufi S. Nanofibrillated cellulose from TEMPO-oxidized eucalyptus fibres: Effect of the carboxyl content. *Carbohydrate Polymers*, **2011**, *84*, 975 - 983.
50. Espinosa E., Tarres Q., Delgado-Aguilar M., Gonzalez I., Mutje P. and Rodriguez, A. Suitability of wheat straw semichemical pulp for the fabrication of lignocellulosic nanofibres and their application to papermaking slurries. *Cellulose*, **2016**, *23*, 837 - 852.

51. Espinosa E., Dominguez-Robles J., Sanchez R., Tarres Q. and Rodriguez, A. The effect of pre-treatment on the production of lignocellulosic nanofibers and their application as a reinforcing agent in paper. *Cellulose*, **2017**, *24*, 2605 - 2618.
52. Tarrés Q., Espinosa E., Domínguez-Robles J., Rodríguez A., Mutjé, P. and Delgado-Aguilar, M. The suitability of banana leaf residue as raw material for the production of high lignin content micro/nano fibers: From residue to value-added products. *Industrial Crops and Products*, **2017**, *99*, 27 - 33.
53. Dufresne A. Nanocellulose, From Nature to High Performance Tailored Materials. *De Gruyter*, **2012**.
54. Zimmermann T., Pöhler E. and Geiger T. Cellulose Fibrils for Polymer Reinforcement. *Advanced Engineering Materials*, **2004**, *6*, 754 - 761.
55. Wang W., Mozuch MD., Sabo RC., Kersten P., Zhu JY. and Jin Y. Production of cellulose nanofibrils from bleached eucalyptus fibers by hyperthermostable endoglucanase treatment and subsequent microfluidization. *Cellulose*, **2015**, *22*, 351-361.
56. Rol F., Karakashov B., Nechyporchuk O., Terrien M., Meyer V., Dufresne A., Belgacem MN. and Bras J. Pilot-Scale Twin Screw Extrusion and Chemical Pretreatment as an Energy-Efficient Method for the Production of Nanofibrillated Cellulose at High Solid Content. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*, **2017**, *5*, 6524 - 6531.
57. Ho T., Abe K., Zimmermann T. and Yano H. Nanofibrillation of pulp fibers by twin-screw extrusion. *Cellulose*, **2015**, *22*, 421 - 433.
58. Frone AN., Panaitescu DM. and Donescu D. Some aspects concerning the isolation of cellulose micro- and nano- fibers. *University Politehnica of Bucharest Scientific Bulletin Series B-Chemistry and Materials Science*, **2011**, *73*, 133-152.
59. Siró I. and Plackett D. Microfibrillated cellulose and new nanocomposite materials: a review. *Cellulose*, **2010**, *17*, 459 - 494.
60. Wang S. and Cheng Q. A novel process to isolate fibrils from cellulose fibers by high-intensity ultrasonication, Part 1: Process optimization. *Journal of Applied Polymer Science*, **2009**, *113*, 1270 - 1275.

61. Mishra S.P., Manent AS, Chabot B. and Daneault C. Production of nanocellulose from native cellulose – various options utilizing ultrasound. *BioResources*, **2011**, 7, 422 – 436.
62. Osong SH., Norgren S. and Engstrand, P. Processing of wood-based microfibrillated cellulose and nanofibrillated cellulose, and applications relating to papermaking: a review. *Cellulose*, **2016**, 23, 93 - 123.
63. Fujisaki Y., Koga H., Nakajima Y., Nakata M., Tsuji H., Yamamoto, T., Kurita T., Nogi M., Shimidzu N. Transparent Nanopaper-Based Flexible Organic Thin-Film Transistor Array. *Advanced Functional Materials*, **2014**, 24, 1657 - 1663.
64. Azeredo HMC., Rosa MF. and Mattoso LHC. Nanocellulose in bio-based food packaging applications. *Industrial Crops and Products*, **2017**, 97, 664 - 671.
65. Wang Z., Pan R., Sun R., Edström K., Strømme M. and Nyholm L. Nanocellulose Structured Paper-Based Lithium Metal Batteries. *ACS Applied Energy Materials*, **2018**, 1, 4341 - 4350.
66. Miller, J. Nanocellulose: technology applications and markets. TAPPI International conference on nanotechnology for renewable materials. *Conference Vancouver (Canadá)*, **2014**.
67. Boufi S., González I., Delgado-Aguilar M., Tarrès Q., Pèlach MÀ. and Mutjé P. Nanofibrillated cellulose as an additive in papermaking process: A review. *Carbohydrate Polymers*, **2016**, 154, 151-166.
68. Hubbe MA. Bonding between cellulosic fibers in the absence and presence of dry-strength agents – A review. *BioResources*, **2006**, 1, 281 – 318.
69. Molin U. and Daniel G. Effects of refining on the fibre structure of kraft pulps as revealed by FE-SEM and TEM: Influence of alkaline degradation. *Holzforschung*, **2004**, 58, 226 – 232.
70. Ahola S., Österberg M. and Laine J. Cellulose nanofibrils—adsorption with poly(amideamine) epichlorohydrin studied by QCM-D and application as a paper strength additive. *Cellulose*, **2008**, 15, 303 - 314.
71. Taipale T., Österberg M., Nykänen A., Ruokolainen J. and Laine, J. Effect of microfibrillated cellulose and fines on the drainage of kraft pulp suspension and paper strength. *Cellulose*, **2010**, 17, 1005 - 1020.

72. Delgado-Aguilar M., Tarrés Q., Pèlach MÀ., Mutjé P. and Fullana-i-Palmer P. Are Cellulose Nanofibers a Solution for a More Circular Economy of Paper Products? *Environmental Science & Technology* **2015**, *49*, 12206 - 12213.
73. Delgado-Aguilar M., González Tovar I., Tarrés Q., Alcalá M., Pèlach MÀ. And Mutjé P. Approaching a Low-Cost Production of Cellulose Nanofibers for Papermaking Applications. *BioResources*, **2015**, *10*, 5345-5355.
74. Johansson C., Bras J., Mondragon I., Nechita P., Plackett D., Simon P., Gregor Svetec D., Virtanen S., Giacinti Baschetti M. and Breen, C. Renewable fibers and bio-based materials for packaging applications – A review or recent developments. *BioResources*, **2012**, *7*, 2506 – 2552.
75. Ferrer A., Pal L. and Hubbe M. Nanocellulose in packaging: Advances in barrier layer technologies. *Industrial Crops and Products*, **2017**, *95*, 574 - 582.
76. Nair SS., Zhu JY., Deng Y. and Ragauskas AJ. High performance green barriers based on nanocellulose. *Sustain Chem Process*, **2014**, *2*, 23 – 30.

## **Objetivos**





El objetivo de la presente Tesis Doctoral es la valorización de diversos residuos agro-industriales para la obtención de lignonanofibras de celulosa (LNFC), así como su caracterización y aplicación en suspensiones papeleras y envases alimentarios.

Los objetivos específicos de esta Tesis Doctoral se detallan a continuación:

- I. Estudio preliminar de la idoneidad de la paja de trigo como materia prima para la obtención de lignonanofibras de celulosa y su uso como agente reforzante en suspensiones papeleras. Para la consecución de este objetivo se obtuvieron lignonanofibras de celulosa mediante el diseño de un proceso puramente mecánico, se caracterizaron y se aplicaron en suspensiones papeleras para estudiar su efecto refuerzo. También se estudió la influencia del contenido en finos de la pasta celulósica en la eficacia del refuerzo, así como el coste del tratamiento en comparación con otros descritos en bibliografía (**Publicación I**).
- II. Optimización del proceso de pasteado para la producción de lignonanofibras de celulosa a partir paja de trigo. Para ello se obtuvieron pastas celulósicas de tres procesos de pasteado diferentes (sosa, organosolv y Kraft) y se estudió la idoneidad de cada pasta para la producción de LNFC utilizando dos pretratamientos (oxidación catalítica TEMPO y refinado mecánico) (**Publicación II**).
- III. Estudio comparativo del empleo de diferentes pajas de cereales como materia prima para la producción de lignonanofibras de celulosa. Para este objetivo se utilizaron diferentes pajas de cereales (trigo, avena, cebada y maíz) para la fabricación de pastas celulósicas. Las pastas celulósicas fueron utilizadas para la producción de lignonanofibras de celulosa, y se analizó la influencia de las características físicas y químicas en la producción final. A su vez, se desarrolló una metodología eficaz para la determinación del diámetro de las LNFC mediante la técnica AF4 (**Publicación III**).
- IV. Estudio del efecto de los pretratamientos y tratamientos utilizados en la obtención de LNFC sobre su eficacia como agente reforzante en suspensiones papeleras. Para ello se evaluó la eficacia de distintas LNFC en el proceso de reciclaje del cartón. A su vez, se realizó un estudio económico de la aplicación de LNFC en comparación con el refinado mecánico convencional de la industria papelera. Además, se diseñó y optimizó el proceso de aplicación de las LNFC en aguas de proceso industrial (**Publicación IV, V y VI**).

- V. Análisis del uso de LNFC en envases alimentarios con el fin de mejorar sus propiedades. Estudio del efecto del contenido residual de lignina en las LNFC en comparación con nanofibras obtenidas de pasta blanqueada sobre las propiedades ópticas y mecánicas, capacidad antioxidante y barrera a los gases. A su vez, se estudió la influencia de la oxidación catalítica TEMPO sobre el efecto ejercido por las LNFC sobre estas propiedades (**Publicación VII**).

## **Materialles y métodos**



## **1. Materiales lignocelulósicos**

En la presente Tesis Doctoral se han utilizado como materiales lignocelulósicos los residuos agrícolas originados en la producción de cereal (paja de trigo, maíz, avena y cebada), así como las hojas de platanera (residuo de la producción del plátano).



*Figura 26. Residuos agrícolas utilizados en la presente Tesis Doctoral: Paja de cereales (avena, cebada, trigo y maíz) y hojas de platanera*

## **2. Caracterización química de las materias primas**

Conocer la composición química de la materia prima permite seleccionar adecuadamente los tratamientos a los que se someterán, así como las aplicaciones finales. Determinar la composición química de las materias primas empleadas ayuda a entender el efecto que ocasionan los tratamientos sobre estas, así como el comportamiento de los materiales obtenidos a partir de las pastas celulósicas.

Las muestras se preparan, acorde al estándar TAPPI T 264 cm-07, con el fin de obtener unas condiciones de tamaño y secado homogéneas. Para ello las muestras se muelen en frío utilizando un molino SM 200 de Retsch y posteriormente se tamizan para clasificar la fracción comprendida entre 0,25 y 0,40 mm. Estas muestras se secan a temperatura ambiente hasta humedad constante y se guarda en bolsas de plástico para su posterior caracterización.

A continuación, se explican las normas estandarizadas seguidas en la caracterización química, donde todos los análisis se realizaron por triplicado, expresando el resultado en porcentaje sobre base seca:

### **2.1. Determinación del contenido en cenizas (T 211 om-16)**

El contenido en cenizas es una medida del contenido mineral y otra materia inorgánica de la biomasa, y se usa, junto al resto de procedimientos, para determinar la composición total de la muestra.

Para realizar este análisis se pesan 2 g de muestra seca en un crisol cerámico, y se introducen en un horno de mufla a  $575 \pm 1^\circ\text{C}$  durante 3 horas, produciéndose la calcinación del material. El contenido total de cenizas se calcula por diferencia de pesada antes y después del tratamiento.

### **2.2. Determinación del contenido en extraíbles en sosa (T 4 wd-75)**

El contenido en extraíbles en sosa al 1% de la muestra, es inversamente proporcional al rendimiento del proceso de pasteado.

Para realizar este análisis se pesan 2 g de muestra seca en un vaso de precipitado y se añaden 100 mL de una solución de hidróxido sódico (NaOH) al 1%. Se calienta en un baño termostático a  $100 \pm 1^\circ\text{C}$  durante una hora con agitación manual ocasional. La muestra, filtrada en una placa del número 2, se lava con 5 mL de una disolución de ácido acético 2N, y posteriormente con 200 mL de agua destilada. La placa con la muestra se seca durante 24 h en estufa a  $105 \pm 1^\circ\text{C}$ , calculando el contenido total de extraíbles por diferencia de pesada.

### **2.3. Determinación del contenido en extraíbles en agua (T1 wd-75)**

La extracción con agua caliente permite eliminar sales minerales, almidón, proteínas, gomas, taninos, etc., así como hidrolizar polisacáridos a azúcares, facilitando su solubilización.

Para realizar este análisis se pesan 2 g de muestra seca en un vaso de precipitado, y se añaden 100 mL de agua destilada. Se calienta en un baño termostático a  $100 \pm 1^\circ\text{C}$  durante 3 horas con agitación manual. La muestra se filtra en una placa del número 2 y lava con 200 mL de agua caliente. Posteriormente se seca durante 24 h en estufa a  $105 \pm 1^\circ\text{C}$ , calculando el contenido total de extraíbles por diferencia de pesada.

### **2.4. Determinación del contenido en extraíbles en etanol (T 6 wd-73)**

La extracción en etanol permite determinar sustancias no solubles en agua, como resinas, ceras, grasas, aceites, clorofilas, etc. Un alto contenido en extraíbles en etanol puede provocar posteriores precipitaciones de estos compuestos durante el proceso de pasteado y blanqueado, ocasionando manchas en el papel.

Para realizar este análisis se pesan 20 g secos de muestra en un cartucho cilíndrico de papel de filtro. El cartucho con la muestra se introduce en un extractor Soxhlet acoplado a un matraz erlenmeyer con 150 mL de etanol, y refrigeración con agua fría para evitar las pérdidas de solvente. El etanol se lleva hasta su punto de ebullición, condensando posteriormente sobre el cartucho produciéndose la extracción. El proceso continúa hasta que no se produzca coloración en el disolvente contenido en el extractor Soxhlet, nunca sobrepasando las 6 horas de tratamiento. El matraz erlenmeyer junto al extracto se seca durante 24 h en estufa a  $105 \pm 1^\circ\text{C}$  y el contenido total de extraíbles se calcula por diferencia de pesada.

### **2.5. Determinación del contenido en lignina (T 222 om-15)**

Conocer con anterioridad el contenido de lignina es importante ya que, junto al valor de holocelulosa, permite diseñar el tratamiento adecuado de deslignificación para cada materia prima. La hidrólisis ácida que se produce durante el tratamiento permite solubilizar los carbohidratos de la muestra, permaneciendo inalterada la lignina.

Para realizar este análisis se pesan 0,5 g secos de muestra en un tubo de ensayo. Se añaden 5 mL de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  al 72% en peso. Se mantiene una hora en baño termostático a  $30^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$  con agitación manual. Transcurrido ese tiempo, el contenido del tubo de ensayo se transfiere (arrastrando con agua destilada) a un bote ISO de 250 mL hasta llegar a un peso de 148,67 g. Posteriormente se introduce el frasco en un autoclave durante 1 hora a  $121^\circ\text{C}$ . Tras esto, se filtra el contenido del bote ISO en una placa del número 3. La placa con la muestra se seca durante 24 h en estufa a  $105 \pm 1^\circ\text{C}$  y el contenido total de lignina se calcula por diferencia de pesada.

### **2.6. Determinación del contenido en holocelulosa (T 9 wd-75)**

Conocer el contenido en holocelulosa permite determinar la idoneidad de empleo de una materia prima en la producción de pastas celulósicas y extracción de hemicelulosas. Este análisis se basa en la reacción del dióxido de cloro generado *in situ* que permite disolver la lignina, permaneciendo inalterados los carbohidratos.

Para realizar este análisis se pesan 5 g secos de muestra en un erlenmeyer, añadiendo 160 mL de agua destilada. Se introduce en un baño termostático a  $80 \pm 1^\circ\text{C}$  y se añade 1,5 g de clorito sódico ( $\text{NaClO}_2$ ) y 1 mL de ácido acético glacial concentrado ( $\text{C}_2\text{H}_4\text{O}_2$ ). Se repite este tratamiento cada hora hasta observar un blanqueamiento completo de la muestra (3 tratamientos aproximadamente). Posteriormente se filtra el contenido en una placa del número 2 y se lava primero con 50 mL de acetona y después

con 200 mL de agua destilada. La placa con la muestra se seca durante 24 h en estufa a  $105 \pm 1^\circ\text{C}$  y el contenido total de holocelulosa se calcula por diferencia de pesada.

### **2.7. Determinación del contenido en $\alpha$ -celulosa (T 203 cm-09)**

Conocer el contenido en  $\alpha$ -celulosa es importante para determinar la idoneidad de una materia prima para la producción de pastas celulósicas y nanocelulosas. Este análisis se fundamenta en la resistencia de la  $\alpha$ -celulosa, celulosa de alto peso molecular, a ser degradada en contacto con una solución de hidróxido sódico, a diferencia de la  $\beta$ -celulosa,  $\gamma$ -celulosa y las hemicelulosas.

Para realizar este análisis se pesan 3 g secos de muestra y se introducen en un baño termostático a  $20 \pm 1^\circ\text{C}$ . Se añaden en total 75 mL de una disolución de hidróxido sódico al 17,5% siguiendo la siguiente secuencia:

- 15 mL y agitar 1 minuto
- 10 mL y agitar 45 segundos
- 10 mL y agitar 15 segundos, se deja reposar 1 minuto
- 10 mL y agitar durante 2,5 minutos
- 10 mL y agitar 2,5 minutos
- 10 mL y agitar 2,5 minutos
- 10 mL y agitar 2,5 minutos y dejar reposar durante 30 minutos.
- Se añade finalmente 100 mL de agua fría, se agita y se deja reposar 30 minutos

Una vez finalizado el tratamiento, se filtra el contenido en una placa del número 2 y se lava con 50 mL de ácido acético 2N y agua destilada hasta que no de reacción ácida. La placa con la muestra se seca durante 24 h en estufa a  $105 \pm 1^\circ\text{C}$  y el contenido total de  $\alpha$ -celulosa se calcula por diferencia de pesada.

## **3. Caracterización química de las pastas celulósicas**

La caracterización química de las pastas celulósicas se realiza de manera análoga a lo explicado en la sección anterior.

## **4. Caracterización física de las fibras celulósicas**

Para la fabricación de diferentes productos (papel, cartón, nanocelulosas, envases, etc.), es necesario que sus propiedades mecánicas se encuentren dentro de



un intervalo determinado. Así, puede establecerse una correlación entre la caracterización morfológica de las fibras celulósicas y las propiedades mecánicas del producto final que será fabricado a partir de ellas.

### **4.1. Análisis morfológico**

El análisis morfológico de las fibras celulósicas se llevó a cabo utilizando un analizador compacto MorFi (TechPap) controlado por un ordenador (Figura 27). El equipo caracteriza una muestra de 1000 mL de una suspensión en fibra al 1% en peso, analizando 10.000 fibras por muestra mediante el software MorFi® v. 8.2. Se analiza la longitud real de la fibra, el ancho, la distribución de longitudes y la distribución de diámetros. A su vez, se analiza el % en finos respecto a su longitud, fijando dos límites diferentes de detección (76  $\mu\text{m}$  y 200  $\mu\text{m}$ ).



*Figura 27. Analizador de fibras MorFi Compact (TechPap)*

### **4.2. Grado de polimerización (T 230 om-13)**

El grado de polimerización de un polímero indica cuantas unidades repetitivas de monómeros lo conforman. El grado de polimerización de la celulosa es una propiedad de gran importancia en la industria papelera, ya que la resistencia individual de las fibras es proporcional a dicho valor. Esta propiedad se ve disminuida al someter a la fibra a un proceso de pasteado, así como al aplicar un pretratamiento y tratamiento para la producción de nanocelulosa [9].

El grado de polimerización de la celulosa se halla a partir de la viscosidad intrínseca de la pasta. Para ello, se pesa 0,1 g de pasta y se dispersa en 25 mL de agua destilada mediante un agitador Vibromatic durante 5 minutos. Posteriormente, se añaden 25 mL de cuprietilendiamina 1N previamente filtrada, y se agita del mismo modo durante 15 minutos. El bote con la disolución anterior se atempera en un baño termostático a  $25 \pm 1^\circ\text{C}$  y se procede a medir el tiempo de efusión a través de un viscosímetro Ostwald ( $t_m$ ). Se realiza un ensayo utilizando una disolución de 25 mL de agua destilada y 25 mL de cuprietilendiamina, obteniendo un tiempo de referencia ( $t_0$ ).

El valor de viscosidad intrínseca se determina en función de la relación  $t_m/t_0$  tal y como específica la norma.

La viscosidad intrínseca de la celulosa ( $\eta_s$ ) se relaciona con el grado de polimerización (DP) mediante las siguientes ecuaciones [10]:

$$DP(< 950) \quad DP = \left[ \frac{\eta_s}{0.42} \right]$$

$$DP(> 950) \quad DP^{0.76} = \left[ \frac{\eta_s}{2.28} \right]$$

### 5. Obtención de pastas celulósicas

La obtención de fibras celulósicas se lleva a cabo a través de los procesos de pasteado. Estos tienen como objetivo eliminar el contenido en lignina de la materia prima y liberar las fibras, eliminando además impurezas que pueden causar coloración y problemas en la futura desintegración de la fibra.

El proceso “a la sosa” y el proceso Kraft se llevaron a cabo en un reactor cilíndrico discontinuo de 15 L de capacidad, envuelto por una camisa constituida por un sistema de resistencias eléctricas para su calentamiento, con un eje rotatorio y capaz de soportar 15 kg/cm<sup>2</sup> de presión. Por otro lado, debido a las altas presiones alcanzadas en el proceso organosolv, por el disolvente empleado, se utilizó un reactor discontinuo de geometría cilíndrica y de 1,9 L de capacidad. El vaso del reactor está envuelto por una camisa de resistencias eléctricas para su calentamiento, soportando presiones de 200 kg/cm<sup>2</sup>.



Figura 28. Reactores para proceso de pasteado. Izquierda: Reactor de 15 L; derecha: Reactor de 1,9 L

### **5.1. Procesos de pasteado**

Uno de los procesos de pasteado más simples es el denominado “a la sosa”. Emplea una disolución de hidróxido sódico (NaOH) como lejía de cocción y se utiliza principalmente para la obtención de pastas semiquímicas. Además, se considera medioambientalmente favorable ya que, a diferencia del proceso Kraft, no utiliza compuestos de azufre como reactivo deslignificante [2]. Este proceso se puede utilizar con materias primas alternativas a las convencionales, como la paja de arroz [3], paja de trigo [4], sarmientos de vid [5], paja de cebada [6], entre otros, para obtener pastas celulósicas.

Las condiciones de operación utilizadas fueron  $100 \pm 1^\circ\text{C}$ , durante 150 minutos una vez alcanzada la temperatura de trabajo, con una disolución de NaOH al 7% en peso sobre materia seca (s.m.s), y una relación líquido/sólido de 10:1 (p/p) [4].

El pasteado Kraft es el proceso de pasteado de materiales lignocelulósicos más utilizado, produciendo sobre 130 millones de toneladas de pasta anualmente. En este proceso se utiliza una solución acuosa de NaOH y  $\text{Na}_2\text{S}$  a altas temperaturas. La lignina contenida en el material lignocelulósico reacciona estequiométricamente con los aniones hidróxidos y hidrosulfuros siendo despolimerizada en pequeños fragmentos que se disuelven en la solución básica. Como inconveniente, este tipo de procesos generan grandes cantidades de lejía residual de alto poder contaminante a causa de su contenido en azufre [7].

Las condiciones de operación en el pasteado Kraft fueron  $170 \pm 1^\circ\text{C}$ , durante 40 minutos una vez alcanzada la temperatura de trabajo, una relación líquido/sólido de 8:1 (p/p) y 16% (s.m.s) de alcalinidad y 25% (s.m.s) de sulfidez, expresado como  $\text{Na}_2\text{O}$ . Estas condiciones fueron establecidas por su similitud con los procesos industriales Kraft.

El pasteado organosolv consiste en utilizar disolventes orgánicos como lejía de cocción para la eliminación de la lignina. Este proceso nace de la búsqueda de un proceso de pasteado que evitase la emisión de olores, el alto consumo de agua y coste energético, así como el elevado uso de reactivos de la industria papelera tradicional [2]. En este proceso se distingue principalmente entre disolventes de bajo punto de ebullición (metanol, etanol, acetona, acetato de etilo, etc.), fácilmente recuperables por destilación, y disolventes de alto punto de ebullición (trietilenglicol, etilenglicol, etc.), que requieren instalaciones menos costosas ya que soportan menos presión, si bien son difícilmente recuperables [8].

Las condiciones del proceso de pasteado organosolv utilizado fueron  $210 \pm 1^\circ\text{C}$  durante 60 minutos en una solución al 60% de etanol y una relación líquido/sólido de 10:1 (p/p). Estas condiciones fueron seleccionadas basadas en resultados previos obtenidos en el laboratorio.

### **5.1.1. Desfibrador de materiales cocidos**

Antes de proceder a la desintegración de las fibras celulósicas, se produce una desfibración del material cocido. Este equipo consiste en un recipiente cilíndrico de 30 litros de capacidad provisto de una hélice batidora en el fondo que es accionada por un motor que gira a 1400 rpm, y un tubo de vaciado al que se acopla una válvula de drenaje (Figura 29).



*Figura 29. Desfibrador de materiales cocidos*

### **5.1.2. Refinador-Desintegrador Sprout-Bauer**

Para la desintegración de la matriz lignocelulósica, con el fin de aislar las fibras de celulosa, se utilizó un refinador de discos de laboratorio Sprout-Bauer (Figura 30). Este equipo puede emplearse tanto en el refinado de cualquier tipo de fibra celulósica como en el desfibrado de materiales cocidos.



*Figura 30. Refinador-Desintegrador modelo Sprout-Bauer*

### **5.1.3. Separador de fibras e incocidos**

Para realizar la separación de los materiales desfibrados e incocidos se utilizó un tamiz Sommerville (Figure 31). Este equipo consta de un recipiente de 40 cm de lado y 20 litros de capacidad, cuya base está constituida por una malla metálica con ranuras longitudinales de 0,4 – 1 mm de espesor. El material resultante del desintegrador se vierte sobre el recipiente del tamiz y mediante agitación por vibración y un flujo continuo de agua, se consigue separar los incocidos (material que permanece en el tamiz), y los materiales desfibrados, que van a parar a un separador de fibras y agua.



*Figura 31. Separador de fibras e incocidos*

### **5.1.4. Separador de fibras y agua**

Las fibras procedentes del separador de fibras e incocidos, portan una gran cantidad de agua debido al proceso de tamización. La suspensión de fibras se vierte sobre un separador de fibras y agua que cuenta con una luz de malla de 0,16 mm, donde se retienen las fibras celulósicas y el agua se conduce hacia el desagüe (Figura 32).



*Figura 32. Separador de fibras y agua*

### **5.1.5. Centrífuga para eliminación de exceso de humedad**

Se utilizó una centrífuga Williams (Figura 33). La pasta celulósica se introduce en una malla textil de un tamaño suficiente para retener la fibra y dejar escapar el agua retenida, y se introduce en el cesto de la centrífuga. La centrifugación se lleva a cabo durante 5 minutos.



*Figura 33. Centrífuga Williams*

## **5.2. Proceso de blanqueado**

Esta etapa se lleva a cabo cuando interesa obtener pastas celulósicas totalmente libres de lignina. Para ello se prepara una suspensión al 0,3% de fibra celulósica a  $80 \pm 1^\circ\text{C}$ . Se añaden 0,3 g de clorito sódico ( $\text{NaClO}_2$ ) por gramo de fibra, dejándolos reaccionar durante 1 hora. Se repite el proceso 3 veces, hasta una duración del tratamiento de 3 horas. Una vez enfriada la suspensión, se filtra y se lava con acetona y agua destilada obteniendo fibra celulósica libre de lignina.

## **6. Producción de nanofibras de celulosa (NFC)**

Las nanofibras de celulosa (NFC) son fibras con longitudes en el orden de micrómetros y diámetros en el orden de nanómetros, capaces de formar estructuras de red entre ellas. Las NFC pueden ser producidas a partir de la deconstrucción de las fibras de celulosa por fuerzas cizalla de alta presión. Estas nanofibras están formadas por regiones amorfas y cristalinas, y sus características dependen de la materia prima de partida y de los pre y tratamientos de obtención.

### **6.1. Pretratamientos para la producción de nanofibras de celulosa**

Con el fin de reducir el consumo energético y facilitar el proceso de desintegración de las fibras de celulosa se han desarrollado numerosos pretratamientos.

En la presente Tesis Doctoral se han utilizado tres pretratamientos: i) Hidrólisis enzimática, ii) Oxidación catalítica TEMPO, y iii) Refinado mecánico.

### 6.1.1. Hidrólisis enzimática

Para la hidrólisis enzimática se utilizó un cóctel de enzimas Novozym<sup>®</sup> 476, suministrado por Novozymes A/S (Dinamarca), el cual contiene un 2% en peso de enzimas  $\beta$ -1,4-endoglucanasas con un factor de actividad de 4500 CNF-CA/g celulosa (probado sobre un sustrato de carboxymetil celulosa). La reacción enzimática se lleva a cabo durante 3 horas sobre 75 g de pasta celulósica suspendida en 1,5 L de un tampón pH 5 a  $50 \pm 1^\circ\text{C}$ , utilizando una dosis de enzima de 0,83% (sobre peso seco de pasta). Terminado el tiempo de reacción, la suspensión se calienta a  $80^\circ\text{C}$  durante 15 minutos para desnaturalizar la enzima y parar el pretratamiento [11,12].

### 6.1.2. Oxidación catalítica TEMPO

El pretratamiento TEMPO sigue el procedimiento descrito por Besbes *et al.* [13]. Para llevar a cabo la reacción, se suspenden 10 g de fibra celulósica en 500 mL de agua destilada que contiene disuelto el catalizador TEMPO (0,16 g) y NaBr (1 g). La reacción de oxidación empieza al añadir una solución de NaClO hasta establecer una relación 5 mmol NaClO/g de celulosa bajo agitación constante y a temperatura ambiente. El pH es mantenido en un valor de 10 añadiendo hidróxido sódico 0,5 M hasta que se observe estabilidad en el valor de pH. Llegado ese punto, se añaden 100 mL de etanol para detener la reacción de oxidación, filtrando y lavando con agua destilada a continuación las fibras oxidadas.

### 6.1.3. Refinado mecánico

El pretratamiento mecánico se llevó a cabo utilizando un refinador PFI (Metrotec) (Figura 34). Para este pretratamiento, se refina mecánicamente la pasta celulósica al 10% en peso hasta alcanzar un grado de drenaje de  $90^\circ\text{SR}$ , medido acorde la norma ISO 5264-2:2002.



Figura 34. Refinador mecánico PFI

## **6.2. Tratamientos de obtención de nanofibras de celulosa**

La estructura organizativa de las fibras de celulosa puede ser desestructurada utilizando estrategias de deconstrucción de arriba hacia abajo, consistente en la extracción de las microfibrillas estructurales de la celulosa. Si las paredes celulares de las plantas son sometidas a una acción de desintegración mecánica suficientemente fuerte, la estructura original de la fibra se desintegra dando lugar a micro/nanofibras con diámetros en el orden de 10 - 100 nm y longitudes en la escala de  $\mu\text{m}$ . Esto le confiere una alta relación de aspecto (Longitud/Diámetro) que puede ser determinante para muchas aplicaciones.

Con el fin de estudiar el efecto del tratamiento en la producción de NFC, en la presente Tesis Doctoral se han utilizado tres tratamientos: i) Homogeneización a alta presión, ii) Molino de fricción ultrafina, y iii) Extrusora de doble tornillo.

### **6.2.1. Homogeneización a alta presión**

Para la obtención de NFC con un homogeneizador a alta presión, se prepara una suspensión de fibra pretratada al 1% en peso y se hace pasar a través de un homogeneizador Panda Plus 2000 (GEA NIRO) (Figura 35) siguiendo la siguiente secuencia:

- 4 pases a 300 bares
- 3 pases a 600 bares
- 3 pases a 900 bares

Esta secuencia se utiliza para evitar la obstrucción del equipo en los primeros pases y producir una nanofibrilación ascendente. Durante el proceso, la temperatura de la suspensión crece hasta los 60 – 70 °C. Posteriormente la suspensión se mantiene refrigerada a 4 °C hasta su uso.



*Figura 35. Homogeneizador Panda Plus 2000 (GEA Niro)*



### **6.2.2. Molino de fricción ultrafina**

Una vez pretratada la fibra, se prepara una suspensión al 2% en peso que se hace pasar durante 2,5 horas a través de un molino de fricción ultrafino (modelo MKZA6-2, modelo de disco MKG-C 80, Masuko Sangyo Co.) a 2500 rpm (Figura 36). La máxima apertura entre discos es de -10 y las fibras fueron pasadas durante 1 segundo aproximadamente 60 veces por hora por la zona de fricción. Posteriormente la suspensión se mantiene refrigerada a 4 °C hasta su uso.



*Figura 36. Molino de fricción ultrafino MKZA6-2 (Masuko Sangyo Co.),*

### **6.2.3. Extrusora de doble tornillo**

Para este proceso se prepara una suspensión de fibra de celulosa con un alto contenido de sólidos, entre 18 – 20% en peso, y se pasa a través de una extrusora de doble tornillo (Thermoscientific HAAKE Rheomex OS PTW 16 + HAAKE PolyLab OS RheoDrive 7) con una relación L/D de 40. Los tornillos utilizados son una combinación de discos de amasado y discos de transporte totalmente enroscados (Figura 37). La temperatura se mantiene cercana a los 10 °C mediante la recirculación de agua de refrigeración. La velocidad de extrusión se fija constante en 400 rpm para todo el proceso.



*Figura 37. Perfil de los tornillos utilizado para producir NFC*

### **6.3. Determinación del consumo energético en la producción**

El consumo energético es uno de los principales problemas en la industrialización de la producción de las NFC. Pese a que los pretratamientos de las fibras reducen considerablemente el consumo energético de los tratamientos de nanofibrilación, hoy día sigue siendo un problema a resolver, especialmente cuando las NFC son utilizadas en aplicaciones que requieren grandes cantidades de material, y presentan un precio de mercado bajo (ej: industria papelera, industria plástica, tratamiento de aguas residuales, etc.).

Con el fin de comparar los diferentes pretratamientos y tratamientos en la producción de NFC, se calculó la demanda energética durante los diferentes procesos. El cálculo de la demanda de energía para el homogeneizador y el molino de fricción ultrafino se realizó con un equipo de medición de energía que proporciona los valores de consumo de energía del equipo, o lo que es lo mismo, calcula la energía requerida de la red eléctrica. En el caso de la extrusora, la energía se calcula utilizando la siguiente ecuación:

$$E \text{ (kWh/ton)} = \frac{N \cdot C \cdot Q}{N_{\max} \cdot P_{\max} \cdot C_{\max}}$$

Donde N es la velocidad en rpm,  $N_{\max}$  la máxima velocidad (1.100 rpm),  $P_{\max}$  la máxima presión (7 kW), C (N·m) la fuerza de torque medida,  $C_{\max}$  la máxima fuerza de torque (130 N·m) y Q el caudal seco en ton/h.

## **7. Caracterización de las nanofibras de celulosa**

La elevada variedad de pretratamientos y tratamientos empleados en la producción de NFC hace que, a partir de una misma fibra de celulosa de partida, puedan obtenerse una gran variedad de NFC. Para estudiar el efecto de los pretratamientos y tratamientos en la producción, es necesaria una profunda caracterización del producto obtenido.

### **7.1. Rendimiento de nanofibrilación**

El rendimiento de nanofibrilación se determina centrifugando una suspensión de NFC al 0,2% durante 12 minutos a 10.000 rpm, con el fin de aislar la fracción fibrilada (presente en el sobrenadante) de la no fibrilada, o parcialmente fibrilada (presente en el sedimento). El sedimento se recupera y seca a  $100 \pm 1^{\circ}\text{C}$  durante 24 horas. El rendimiento se calcula acorde a la siguiente ecuación:

$$\text{Rendimiento (\%)} = \left( 1 - \frac{\text{Peso del sedimento seco}}{\text{Peso de la muestra diluida} \cdot \% \text{ Consistencia}} \right) \cdot 100$$

## 7.2. Transmitancia óptica

La transmitancia óptica de una suspensión de NFC se utiliza como indicador indirecto del rendimiento de nanofibrilación. La presencia de fibras de celulosa en el agua conduce a la dispersión de la luz, debido a las diferencias en el índice de refracción entre la celulosa y el agua (1,5 y 1,3, respectivamente). La cantidad de luz refractada está en relación con el tamaño de las partículas, pues a mayor tamaño de partícula, mayor es la cantidad de luz difractada y menor la transmitancia de la suspensión.

Para este análisis se prepara una suspensión de NFC al 0,1% y se mide en el rango de 400 a 800 nm en un espectrofotómetro UV Lambda 25 (Perkin Elmer) (Figura 38).



Figura 38. Espectrofotómetro UV Lambda 25 (Perkin Elmer)

## 7.3. Contenido en carboxilos

El contenido de grupos carboxilos es de gran importancia para analizar el efecto del pretratamiento TEMPO sobre la fibra. Además, un elevado contenido en grupos carboxilos origina una mayor fuerza de repulsión electrostática, favoreciendo así la nanofibrilación de las fibras durante el tratamiento.

El contenido de grupos carboxilos en las fibras se determina mediante una titulación conductimétrica según lo descrito por Besbes *et al.* [13]. Para ello, se pesan 0,3 g secos de NFC y se dispersan en un volumen total de 55 mL de agua destilada. Se añaden 5 mL de NaCl 0,1 M para mejorar la conductividad de la muestra y se deja agitando durante 10 minutos hasta su estabilización. Una vez estabilizada la conductividad de la muestra, se añade HCl 0,1 M hasta pH 2,7 – 2,8, para intercambiar los cationes de sodio enlazados a los grupos COO<sup>-</sup> por protones (H<sup>+</sup>). Se agita la suspensión durante 10 minutos y se burbujea nitrógeno para evitar la oxidación de la muestra durante la realización de la medida. La valoración se lleva a cabo añadiendo 0,1 mL de una solución de NaOH 0,01 M a la suspensión y anotando el valor de

conductividad. La curva de valoración se representa gráficamente, mostrando la presencia de un ácido fuerte (HCl) donde la adición de NaOH produce un pronunciado descenso en la conductividad debido a la neutralización del mismo, y a la presencia de un ácido débil, observándose gráficamente la zona de estabilidad, que corresponde al contenido de carboxilos. La adición de NaOH en exceso produce un aumento de la conductividad, dándose por concluida la titulación (Figura 38). El volumen de NaOH empleado para la determinación del contenido en carboxilos se calcula utilizando la siguiente ecuación:

$$CC = 162 \cdot (V_2 - V_1) \cdot c \cdot [w \cdot -(V_2 - V_1) \cdot c]^{-1}$$

Donde  $V_1$  y  $V_2$  son los volúmenes equivalentes de NaOH (L),  $c$  es la concentración de NaOH (M) valorada con patrón primario y expresada con 4 decimales y  $w$  es el peso seco de muestra (g). Los resultados obtenidos indican el contenido de grupos carboxilos en mmol de grupos COOH por gramo de NFC.

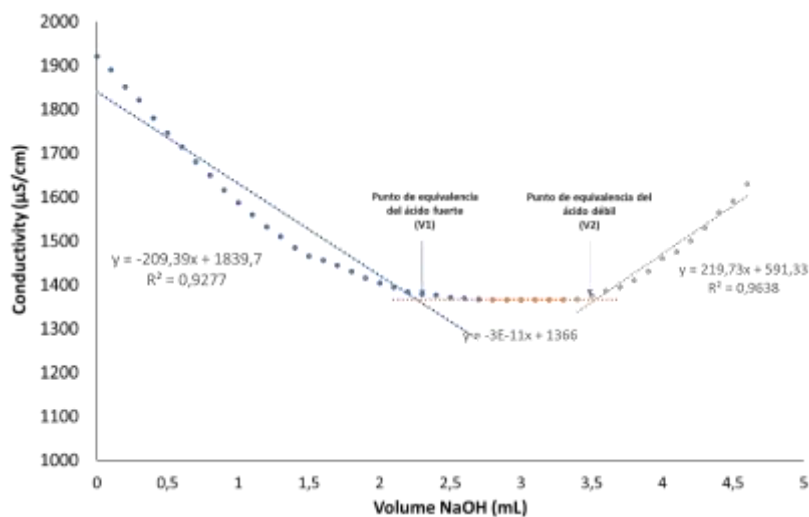


Figura 39. Ejemplo de la determinación de la tasa de carboxilos

#### 7.4. Demanda catiónica

La demanda catiónica de las NFC se determina utilizando un detector de cargas de partículas Mütek PCD-05 (BTG) (Figura 40). Para realizar este análisis, 0,2 g secos de NFC se dispersan en 200 mL de agua destilada, utilizando un UltraTurrax (IKA) a 10.000 rpm durante 5 minutos. Una vez homogeneizada la suspensión, se toma una alícuota de 15 mL y se mezcla con 25 mL de un polímero catiónico (polyDADMAC 0,001 N) durante 5 minutos bajo agitación magnética. Una vez transcurrido este tiempo, la suspensión se centrifuga durante 90 minutos a 4.000 rpm para precipitar las NFC que han adsorbido el polímero catiónico. Se toman 10 mL del sobrenadante (polímero catiónico no adsorbido), y se introducen en el vaso del detector Mütek. Para la

valoración, se añaden volúmenes controlados de un polímero aniónico (Pes-Na 0,001 N) hasta obtener un valor de potencial de 0 mV. El volumen del polímero aniónico consumido se utiliza para calcular la demanda catiónica utilizando la siguiente ecuación [14]:

$$DC = \frac{(C_{Poly-D} \cdot V_{Poly-D}) \cdot (C_{Pes-Na} \cdot V_{Pes-Na})}{w}$$

Donde  $C_{Poly-D}$  es la concentración del polímero catiónico ( $1 \text{ meq} \cdot \text{L}^{-1}$ ),  $C_{Pes-Na}$  es la concentración del polímero aniónico ( $1 \text{ meq} \cdot \text{L}^{-1}$ ),  $V_{Poly-D}$  es el volumen utilizado de polímero catiónico,  $V_{Pes-Na}$  es el volumen utilizado de polímero aniónico y  $w$  el peso seco de NFC.



Figura 40. Detector de cargas de partículas Mütek PCD-05 (BTG)

### 7.5. Estimación superficie específica y diámetro

El área superficial específica ( $\sigma$ ) se define como el área accesible de la superficie de un sólido por unidad de masa del material. El proceso de fibrilación de las fibras de celulosa debe aumentar el valor del área superficial debido a la reducción del diámetro de las fibras. Un alto valor de superficie específica es de gran importancia en la industria papelera, textil y de polímeros, ya que aumenta la capacidad de unión de la NFC con la matriz [14].

Para la estimación de la superficie específica de las NFC hay que tener en cuenta dos posibles mecanismos de absorción del poly-DADMAC sobre la superficie de las NFC [15]: (1) la interacción iónica entre el polímero catiónico y los grupos carboxilos de la superficie de la celulosa, y (2) las interacciones superficiales debido a las fuerzas de London-Van der Waals, tal como se muestra en la siguiente figura:

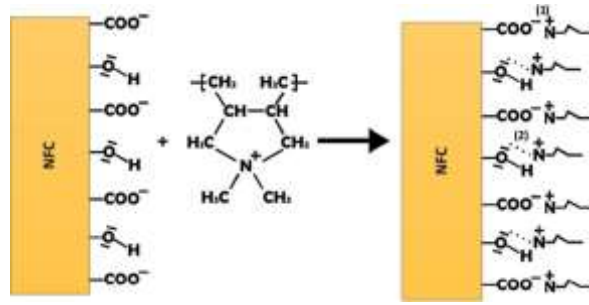


Figura 41. Mecanismo propuesto de interacción entre las NFC y el poly-DADMAC

Si se asume que ambos mecanismos ocurren al mismo tiempo, y que el poly-DADMAC se adsorbe sobre la fibra forma de manera monocapa, el área superficial específica de la NFC ( $\sigma_{NFC}$ ) puede ser teóricamente estimada a partir de la superficie específica de una molécula simple de poly-DADMAC ( $\sigma_{DADMAC}$ ). Considerando las distancias atómicas y los ángulos entre los átomos de un monómero de poly-DADMAC y que la molécula adopta una estructura elíptica, se puede calcular la superficie de un monómero de poly-DADMAC a través de la siguiente ecuación:

$$\sigma_{DADMAC} = \pi \cdot d \cdot l$$

Donde  $\sigma_{DADMAC}$  es el área del monómero,  $d$  y  $l$  es el diámetro y la longitud del monómero de la molécula calculada como 0,528 nm y 0,488 nm respectivamente. Esto da como resultado un área de 0,809 nm<sup>2</sup> para un monómero de la molécula de poly-DADMAC. Teniendo en cuenta que el grado de polimerización de una molécula de poly-DADMAC es 662, el área superficial específica de la molécula se calcula multiplicando el área superficial de un monómero por el grado de polimerización de la molécula, resultando un área superficial de la molécula de poly-DADMAC de 535,56 nm<sup>2</sup>. Para calcular el área superficial específica de un mol de moléculas de poly-DADMAC, se aplica la constante de Avogadro:

$$\sigma_{DADMAC} = 535.56 \text{ nm}^2 \cdot 6.02 \cdot 10^{23} = 3224 \cdot 10^{23} \text{ nm}^2/\text{mol}$$

Posteriormente, la  $\sigma_{DADMAC}$  se convierte de nm<sup>2</sup>/mol a nm<sup>2</sup>/μeq utilizando la siguiente ecuación:

$$\sigma_{DADMAC} = \frac{3224 \cdot 10^{23} \text{ nm}^2}{662 \cdot 10^6 \text{ } \mu\text{eq}} = 4.87 \cdot 10^{17} \text{ nm}^2/\mu\text{eq}$$

Considerando una relación estequiométrica entre los grupos hidroxilos y carboxilos de la celulosa con el poly-DADMAC y aplicando la siguiente ecuación:

$$\sigma_{NFC} = (DC - CC) \cdot \sigma_{DADMAC}$$

Donde  $\sigma_{NFC}$  es el área superficial específica de 1 g de NFC, CD es la demanda catiónica y CC es el contenido en carboxilos de la muestra, es posible obtener el área superficial específica de las NFC. Finalmente, si se considera que la fibra celulósica presenta geometría cilíndrica, es posible calcular el diámetro de una fibra individual utilizando el valor de la superficie específica:

$$d_{CNF} = \frac{4}{\sigma_{NFC} (g/m^2) \cdot 1600 \cdot 10^3 g/m^3}$$

El modelo teórico y sus resultados se validan con los valores de diámetro obtenidos por microscopía electrónica de transmisión observando valores muy cercanos a los estimados teóricamente [16].

### 7.6. Microscopía electrónica de transmisión (TEM)

La microscopía electrónica de transmisión fue llevada a cabo en un equipo ZEISS EM 910 operando a 120 kV (Figura 41). La muestra se prepara para su observación evaporando a temperatura ambiente una gota de la suspensión de NFC al 0,1%, sobre una gradilla de cobre de 400 cubierta por una fina capa de carbón.



Figura 422. Microscopio electrónico de transmisión ZEIS EM 910

### 7.7. Microscopia electrónica de barrido (SEM)

El microscopio electrónico de barrido (SEM) utilizado fue un Hitachi S-3000 de presión variable (Hitachi High-Technologies Corporation). Las imágenes se obtienen a 500 y 10.000 aumentos en modo de imagen con electrón secundario, fijando como valores de aceleración de voltaje y distancia de trabajo 5 kV y 12 mm, respectivamente.

También se utilizó la técnica de microscopía electrónica de barrido de emisión de campo (FESEM), utilizando un microscopio S-4700 (Hitachi High-Technologies Corporation) (Figura 43).



Figura 43. Microscopio electrónico de barrido de emisión de campo S-4700 (Hitachi)

### **7.8. Dispersión de luz dinámica (DLS) y Potencial Z (PZ)**

El potencial Z y la distribución de tamaño por dispersión de luz dinámica, fue medida utilizando un ZetaSizer (ZSP, Malvern Instruments) a 25 °C basado en velocimetría por láser Doppler y técnicas de dispersión de luz dinámica (Figura 44). Se prepara una suspensión de  $10^{-3}$  g/mL para todas las mediciones, utilizando agua destilada filtrada (0,1  $\mu\text{m}$ ) como medio de dispersión y electrólito inerte. La suspensión se homogeneiza utilizando una sonda de ultrasonidos durante 30 segundos. Los valores del índice de refracción para el agua y la celulosa se fijan en 1,33 y 1,54, respectivamente. El análisis se realiza por triplicado y se calcula el valor medio y su desviación estándar. El diámetro hidrodinámico de las NFC se calcula utilizando la relación de Stokes-Einstein utilizando la ecuación:

$$Dh = 2 \cdot \frac{K_B T}{6\pi\eta_0 D}$$

Donde  $K_B$  es la constante de Boltzmann, T es la temperatura en unidades K,  $\eta_0$  la viscosidad del solvente y D el coeficiente de difusión traslacional.



Figura 44. Equipo de medida ZetaSizer Nano ZSP (Malvern Instruments)



### **7.9. Fraccionamiento en flujo mediante campo de flujo asimétrico (AF4)**

Debido a que la luz dispersada por las grandes partículas puede enmascarar la señal proveniente de las más pequeñas al utilizar la técnica DLS, es necesario profundizar en el estudio del diámetro en suspensión de las NFC.

La técnica AF4 permite la separación y fraccionamiento de partículas que se encuentran en una escala de tamaño desde nano hasta micrómetros, especialmente si están compuestas por partículas de diferentes tamaños y que presentan una alta polidispersidad, como es el caso de las NFC. La separación consiste en la inyección de las partículas en el canal que son transportadas por un flujo y, a continuación, la aplicación de un campo externo (flujo de enfoque) perpendicular al flujo del canal cuya función es focalizar y retener parcialmente, y por tanto fraccionar, partículas de acuerdo con sus propiedades fisicoquímicas. Tras la inyección y focalización de las partículas, se produce la separación de la muestra en función de los coeficientes de difusión relativos de las partículas, que, a su vez, son función del tamaño de partícula (volumen hidrodinámico), siendo las más pequeñas las que primero salen del sistema (Figura 45). La variable más influyente en el análisis AF4 es el flujo de enfoque. Las partículas pequeñas requieren un mayor caudal para ser separadas adecuadamente, sin embargo, un elevado caudal conlleva mayor tiempo de retención pudiendo producir pérdidas de las partículas más grandes debido a su adhesión permanente con la membrana. Por esta razón, se debe proceder a la aplicación de un gradiente decreciente del flujo a lo largo del tiempo.

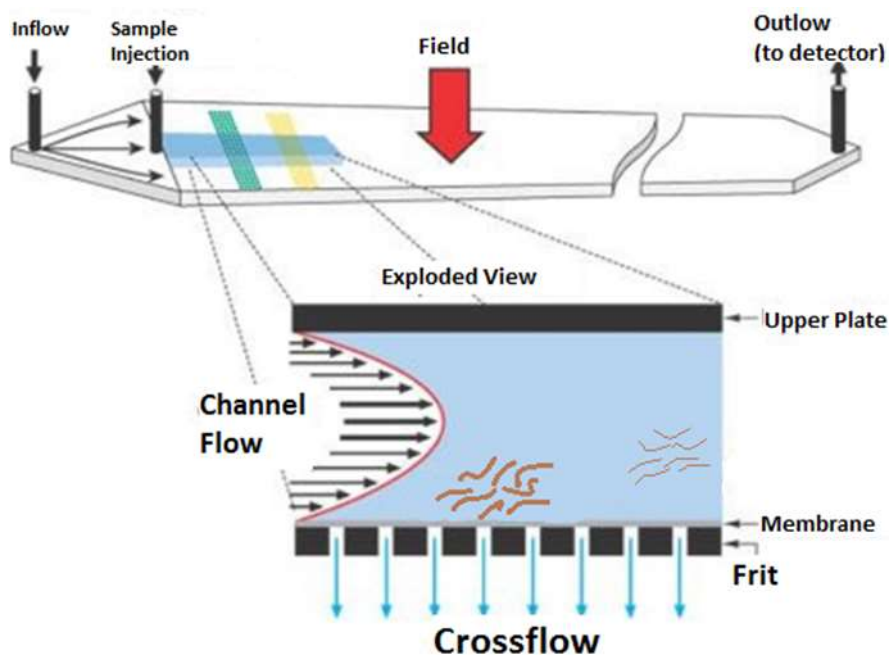


Figura 45. Representación esquemática del principio de separación de la técnica AF4

## Materiales y métodos

El método Zimm fue utilizado para evaluar los fractogramas obtenidos del análisis AF4, debido a que es el método más utilizado para la determinación analítica de la celulosa [17]. Otro parámetro esencial para este análisis es el índice diferencial de refracción ( $dn/dc$ ), que es proporcional a la concentración del soluto, pero también depende de la temperatura y de la presión. Para este trabajo, se fijó un valor de índice diferencial de refracción para las NFC de  $0,126 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ .

El análisis de fraccionamiento de flujo de campo y flujo asimétrico (AF4) se realizó en un modelo AF2000 (Postnova Analytics GmbH) acoplado en línea a un MALS de 21 ángulos modelo PN3621 (Postnova Analytics GmbH) y detectores del índice de refracción (IR) (80% de potencia) (Figura 46). Para la medición de AF4 se preparan suspensiones de  $1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  para las diferentes muestras. La membrana utilizada estaba compuesta de celulosa regenerada con tamaño de corte de 10 KDa. Todas las ejecuciones se realizan utilizando una fase móvil acuosa que consiste en un 0,2 de azida sódica. Se utiliza una muestra de inyección de  $100 \mu\text{L}$  bajo las mismas condiciones durante todo el análisis; caudal transversal constante a  $1 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$  y caudal del detector fijado constante a  $0,5 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$  para reducir las fluctuaciones de presión. Primero se aplica un flujo de enfoque de  $0,9 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$  durante 1,5 minutos antes de la inyección de la muestra. Todas las muestras se inyectaron en una inyección de  $0,6 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$  con un flujo de enfoque de  $1 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$  durante 5 min. Para el proceso de separación se utiliza una secuencia de flujo cruzado de 3 pasos: a)  $1 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$  constante de flujo durante 5 min, b) flujo de potencia a  $1 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$  durante 5 min, c) flujo en rampa de 0,4 a  $0 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$  durante 60 min. En el final del proceso de fraccionamiento, se emplea una etapa de 5 minutos con un flujo cruzado de  $0 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$  para minimizar la posible contaminación entre muestras.

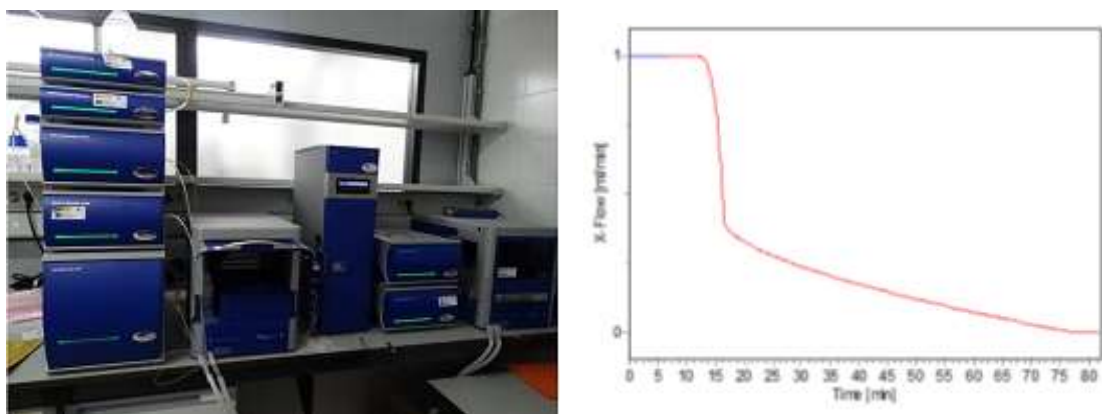


Figura 46. Equipo AF4 modelo AF2000 (Postnova Analytics GmbH)

## **8. Aplicación en suspensiones papeleras**

Una de las aplicaciones de las NFC estudiadas en la presente Tesis Doctoral es su uso como agente de refuerzo en suspensiones papeleras, tanto sobre papel virgen como sobre cartón reciclado. Para estudiar la aplicación sobre papel virgen, se utilizó como sustrato estándar una pasta celulósica de eucalipto Kraft blanqueada cedida por Ence-Celulosas (España). Para la aplicación sobre cartón reciclado se utilizó como sustrato estándar un “fluting” reciclado cedido por Saica Natur Noroeste S.A. (España).

### **8.1. Dispersión de nanofibras de celulosa en suspensiones papeleras**

Debido a que la dimensión del tamaño de poro de la malla de formación de las hojas de papel es demasiado grande como para retener el material nanométrico durante el proceso de drenaje de la suspensión papeleras, es necesario utilizar un sistema de retención para fijar las NFC en las fibras del sustrato estándar para evitar su pérdida. El almidón catiónico es un agente de retención que permite fijar las NFC en la suspensión papeleras sin comprometer el valor del grado de drenaje de la suspensión. Por otro lado, también es necesario añadir sílice coloidal como defloculante para prevenir la formación de flóculos y evitar problemas durante la formación de las hojas.

Las NFC fueron añadidas al sustrato estándar en diferentes cantidades para estudiar el efecto refuerzo producido en suspensiones papeleras. Para realizar este proceso, el sustrato estándar y la cantidad necesaria de NFC fueron dispersadas en una suspensión de 1,5% en peso total (sustrato + NFC) en agua de grifo utilizando un desintegrador de pasta a 3.000 rpm durante 60 minutos (Figura 47). Posteriormente se adicionó 0,5% y 0,8% de almidón catiónico y sílice coloidal, respectivamente, calculado sobre el peso seco del total de fibra y se agitó mecánicamente durante 20 minutos. Una vez transcurrido este periodo, se procedió a la formación de las hojas para su posterior caracterización.



*Figura 47. Desintegrador pastas celulósicas*

## **8.2. Incorporación de nanofibras de celulosa en aguas de proceso**

El agua de proceso de la industria papelera se caracteriza por la gran cantidad de coloides y sales que contiene, usualmente llamadas basura aniónica. Estos coloides están presentes en el agua a causa del uso de agentes de retención y agentes de recubrimiento que son comúnmente utilizados en el proceso de producción. Esta carga aniónica presente en el agua de proceso inhibe el efecto refuerzo de las NFC sobre las suspensiones papeleras debido a que impide la interacción NFC-fibra durante la formación del papel.

Para estudiar el efecto del agua industrial sobre el efecto refuerzo que producen las NFC en suspensiones papeleras, se siguió el mismo protocolo indicado en la sección 8.1, sustituyendo el agua corriente por agua industrial. Además, se llevó a cabo un proceso de neutralización del agua de proceso para incrementar la efectividad del efecto refuerzo de las NFC en su uso industrial.

El agua de proceso fue suministrada por Papelería de la Alquería S.L. (España) y se caracterizó en términos de pH, conductividad y demanda catiónica. El proceso de neutralización consistió en un sistema de retención dual, basado en la combinación de polímeros catiónicos y aniónicos. Tras la dispersión de las NFC en la suspensión papeleras se añadió 6,7% de PolyDadmac, 0,5% de almidón catiónico y 0,5% de policloruro de aluminio, agitando durante 20 minutos a 500 rpm. Posteriormente se añadió 10,5% de poliácridamida aniónica y 0,8% de sílice coloidal y se agitó durante 10 minutos a 500 rpm. Tras este proceso de neutralización y de retención de las NFC sobre las fibras, se llevó a cabo el proceso de formación de las hojas de papel.

## **8.3. Refinado PFI mecánico**

El sustrato utilizado para su refinado mecánico fue dispersado en agua a una consistencia del 1,5% en peso por medio de un desintegrador de pasta, operando a 3.000 rpm durante 20 min. Las fibras fueron filtradas, y ajustada su consistencia al 10% en peso para su posterior refinado. Las fibras se refinaron mecánicamente utilizando un refinador PFI (Metrotec) a 1.000, 2.000 y 3.000 rpm para estudiar el efecto refuerzo producido mediante esta tecnología y su posterior comparación con el refuerzo producido por la adición de NFC.

## **8.4. Grado Schopper – Riegler (°SR)**

El grado Schopper – Riegler (°SR) mide la capacidad de drenaje de una suspensión de fibra celulósica sobre una malla estándar. Este valor está directamente relacionado con la capacidad de drenaje de las suspensiones papeleras, y se ve

afectado por las características superficiales y de hinchazón de las fibras. El °SR se utilizó a su vez para determinar el nivel de refinado de las suspensiones de fibra. El análisis se realizó acorde a la norma ISO 5267/1 con un equipo Schopper – Riegler de Metrotec (Figura 48).



*Figura 48. Refinómetro Schopper-Riegler*

### **8.5. Formación de las hojas de papel**

Las hojas de papel fueron producidas acorde al estándar ISO 5269-2 en un formador de hojas isotrópico (ENJO F-39.71) (Figura 49) con un gramaje de 60 g/m<sup>2</sup> o 75 g/m<sup>2</sup> (dependiendo del estudio).



*Figura 49. Formador de hojas (ENJO F-39.71)*

## **8.6. Caracterización física de las hojas de papel**

Las hojas de papel fueron caracterizadas respecto a sus propiedades físicas determinando el gramaje, densidad, espesor y porosidad, siguiendo los siguientes procedimientos.

### **8.6.1. Preparación y acondicionamiento de las hojas de papel**

Las hojas de papel obtenidas se acondicionan en una habitación climática a 25°C y 50% de humedad relativa durante 48 horas antes de proceder a su caracterización, tal y como estipula la norma TAPPI T402.

### **8.6.2. Gramaje**

El gramaje se define como la cantidad de masa por unidad de superficie en el plano. Teniendo en cuenta que el área de formación de la hoja de papel en el equipo utilizado es de 346,36 cm<sup>2</sup> (d = 21 cm), y conociendo el peso de la hoja de papel tras ser secada a 100 ± 1°C hasta peso constante, es posible determinar el gramaje utilizando la siguiente fórmula:

$$\text{Gramaje (m}^2/\text{g)} = \frac{\text{Peso hoja (g)}}{0.0346 \text{ m}^2}$$

### **8.6.3. Espesor**

La medición del espesor se realizó utilizando un micrómetro digital (Mitutoyo) con una precisión de ± 0,001 mm. Se toman 5 medidas aleatorias que representan la totalidad del área y se calcula el valor medio y la desviación estándar.

### **8.6.4. Porosidad**

La porosidad se define como el porcentaje de espacio vacío entre las fibras que forman el papel. Su valor se obtiene tomando en consideración la densidad del papel ( $\rho_{\text{muestra}}$ ) y la densidad de la celulosa ( $\rho_{\text{celulosa}}$ ), tal y como indica la siguiente ecuación:

$$P(\%) = 100 \cdot \left(1 - \frac{\rho_{\text{muestra}}}{\rho_{\text{celulosa}}}\right)$$

### **8.6.5. Permeabilidad Gurley**

La permeabilidad Gurley mide el tiempo necesario para que 100 mL de aire pasen a través de una superficie de 6,42 cm<sup>2</sup> de un papel y bajo una presión estandarizada. El análisis se realiza de acuerdo con el estándar ISO 5636-5.

## **8.7. Caracterización mecánica de las hojas de papel**

Las hojas de papel fueron caracterizadas respecto a sus propiedades mecánicas, determinando la longitud de ruptura, el módulo de Young, el índice de estallido y el índice de desgarramiento, siguiendo las correspondientes normas ISO y TAPPI.

### **8.7.1. Preparación hojas de papel**

Las hojas de papel acondicionadas se cortan siguiendo el estándar TAPPI T220 para obtener las probetas necesarias para los ensayos de propiedades mecánicas (Figura 50).

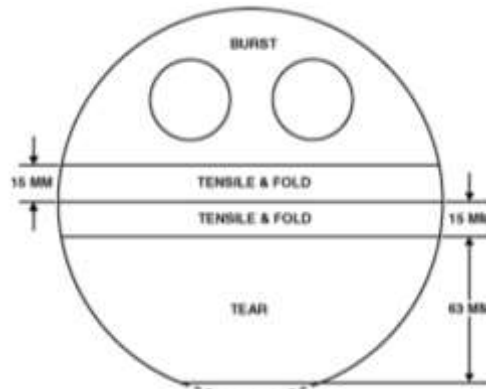


Figura 50. Esquema de la división de la hoja de papel

### **8.7.2. Longitud de ruptura**

La longitud de ruptura se define como la longitud límite calculada de una probeta de papel de anchura uniforme, más allá de la cual, si dicha probeta estuviera suspendida por un extremo, se rompería por su propio peso. El ensayo de la resistencia a tracción se llevó a cabo en una máquina universal de ensayos LF Plus (Lloyd Instruments) equipada con una célula de carga de 1 kN acorde a lo establecido en el estándar ISO 1924-2 (Figura 51). Las dimensiones de la probeta son de 150 mm de largo y 15 mm de ancho, siendo el espesor variable en función de la muestra.

Para calcular la fuerza de tracción (kN/m), se divide la fuerza de rotura obtenida entre la anchura de la probeta. Los valores fueron calculados por el NexyGen Plus 3<sup>®</sup> del equipo LF Plus (Lloyd Instruments) teniendo en cuenta la tracción soportada y el área específica del ensayo.

Para calcular la longitud de ruptura se sigue la metodología descrita en la norma TAPPI T494 om-01 que emplea la siguiente fórmula:

$$L.R. = 102000 \cdot \left(\frac{T}{R}\right)$$

Donde T es la fuerza de tracción en kN/m y R es el gramaje en g/m<sup>2</sup>.



*Figura 51. Equipo universal de ensayos LF Plus (Lloyd Instruments)*

### **8.7.3. Módulo de Young**

El módulo de Young es un parámetro que caracteriza el comportamiento de un material elástico según la dirección en la que sea aplicada la fuerza. Este parámetro es característico de cada material, e indica la relación existente, en la zona de comportamiento elástico de dicho material, entre los incrementos de tensión aplicados en el ensayo de tracción, y los incrementos de deformación longitudinal unitaria en la región plástica de la curva esfuerzo-deformación. Los valores fueron calculados por el software NexyGen Plus 3<sup>®</sup> del equipo LF Plus (Lloyd Instruments) teniendo en cuenta la tracción soportada y el área específica del ensayo.

### **8.7.4. Índice de estallido**

El ensayo del índice de estallido determina la resistencia máxima en kPa que ejerce una probeta de papel ante una presión creciente. El ensayo para determinar el índice de estallido fue llevado a cabo en un analizador de estallido modelo EM-50 (IDMTTest) y realizado acorde a lo establecido en el estándar ISO 2758 (Figura 52).





Figura 52. Equipo de determinación de Índice de Estallido (IDMTest)

### **8.7.5. Índice de desgarro**

La resistencia al desgarro se define como la fuerza necesaria para continuar el desgarro de una grieta iniciada por un corte a través del papel. El ensayo se fundamenta en la medición del diferencial de energía antes y después de la prueba. Se empleó un instrumento de medición Elmendorf (modelo F53.98401 Frank PTI) acorde al estándar ISO 1974 (Figura 53).

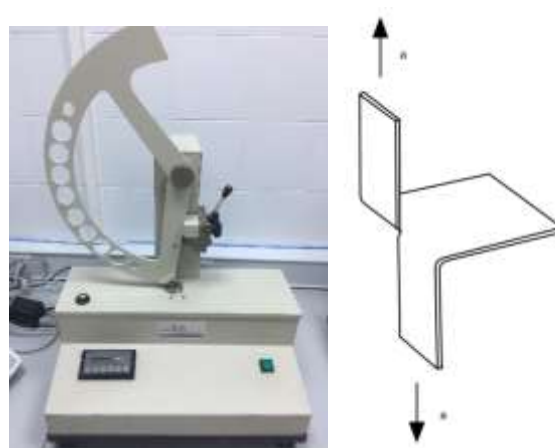


Figura 53. Equipo de medición Elmendorf (Frank PTI) y representación del ensayo

### **8.8. Determinación del consumo energético en el proceso de reciclaje**

La viabilidad de cada tecnología utilizada en el proceso de reciclaje fue evaluada desde el punto de vista de consumo energético, tanto para la producción de NFC como para el refinado mecánico. Para la producción de NFC se tomó en consideración la energía mecánica utilizada en el pretratamiento mecánico, así como el consumo energético de los diferentes tratamientos. Para el refinado mecánico se tomó en cuenta

el consumo energético recogido por el refinador mecánico PFI para las diferentes revoluciones. Los valores de consumo energético fueron expresados como Kwh por tonelada de cartón, teniendo en cuenta el porcentaje de NFC añadido y las revoluciones del refinado mecánico.

## 9. Aplicación en films alimentarios

El alcohol polivinílico (PVA) es un polímero producido por la hidrólisis de acetato de polivinilo que es totalmente biodegradable, biocompatible, semicristalino, no tóxico y soluble en agua. Las propiedades del PVA tales como la resistencia química, propiedades ópticas y físicas indican un gran potencial tecnológico. Este polímero tiene la capacidad de formar puentes de hidrógeno con las superficies hidrofílicas de los biomateriales para producir materiales más sostenibles. Sin embargo, el uso de polímeros biodegradables en el embalaje alimentario está limitado por sus debilidades relacionadas con el rendimiento, tales como la pobre resistencia a los gases y bajas propiedades mecánicas. Uno de los materiales más prometedores para ser utilizado como refuerzo para la producción de biomateriales son las fibras de celulosa, debido al carácter renovable, sostenible y abundante, así como bajo coste. Si esas propiedades se unen a un tamaño nanométrico que permita una mayor capacidad de enlace con los polímeros, y una dispersión uniforme del material en la matriz, hace que se produzca un cambio en las propiedades térmicas y mecánicas del material.

Para la aplicación de las NFC en films alimentarios estudiada en la presente Tesis Doctoral, se utilizaron nanofibras de celulosa con contenido residual de lignina (LNFC) y libre de lignina (NFC) obtenidas a partir de paja de trigo y por tratamientos mecánicos. Además, también se estudió el efecto del pretratamiento TEMPO en la producción de LNFC (Figura 54).

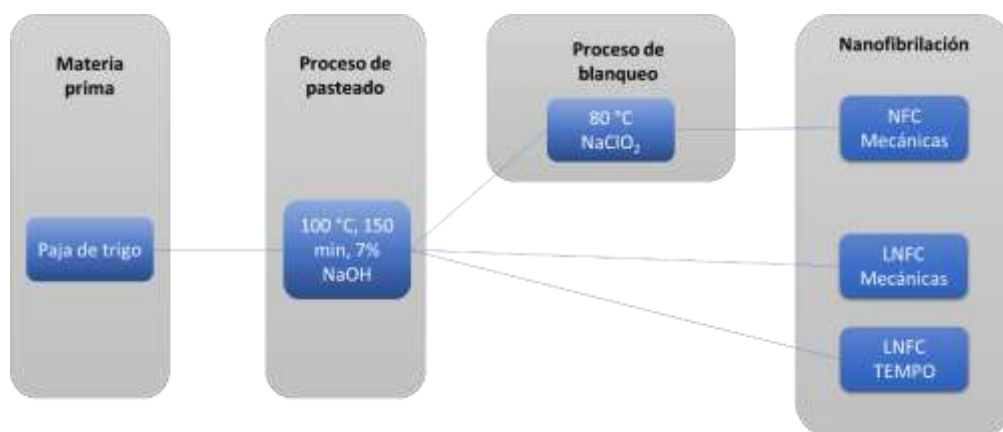


Figura 54. Proceso de obtención de las NFC utilizadas como refuerzo en films alimentarios

### 9.1. Alcohol polivinílico (PVA)

El PVA no se prepara como la gran mayoría de los polímeros, por polimerización del correspondiente monómero (alcohol vinílico). El alcohol vinílico es inestable con respecto al acetaldehído, por lo que se prepara polimerizando primero acetato de vinilo, y el poliacetato de vinilo resultante se convierte por hidrólisis en alcohol polivinílico.

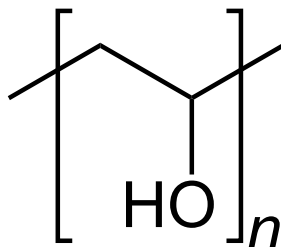


Figura 555. Estructura química del alcohol polivinílico

El alcohol polivinílico (PVA) utilizado fue suministrado por Sigma Aldrich presentando un peso molecular entre 146.000 – 186.000 y un grado de hidrólisis de +99%. El PVA fue disuelto en agua destilada mediante agitación magnética durante 4 horas a 90°C preparando una disolución al 3% en peso.

### 9.2. Proceso de formación de los films

La solución de PVA y la cantidad de NFC fijada fueron mezclados en 50 mL de agua destilada por agitación magnética durante 4 horas a temperatura ambiente. La cantidad de NFC añadida fue calculada para representar diferentes porcentajes (1, 3, 5 y 7% p/p) respecto al peso total del film. Una vez pasado el tiempo de agitación, la suspensión se deposita en una placa Petri de polipropileno ( $\varnothing = 9$  cm) y permanece a temperatura ambiente hasta la evaporación total del agua. Este proceso de formación de films por evaporación del solvente se conoce como “solvent casting” (Figura 56). El peso total de la mezcla fue calculado para obtener un peso final del film de 0,35 g.

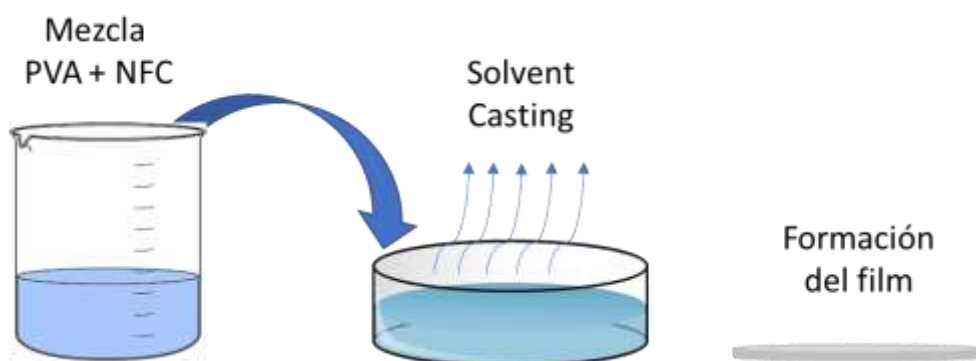


Figura 56. Esquema del proceso de formación de films mediante "solvent casting"

### **9.3. Caracterización de los films**

Los films fueron caracterizados respecto a su morfología, cristalinidad, microestructura superficial, propiedades barreras, transmitancia óptica y capacidad de bloqueo de la luz UV, capacidad antioxidante y propiedades mecánicas, siguiendo los procedimientos detallados a continuación.

#### **9.3.1. Transmitancia óptica y barrera luz UV**

La transmitancia óptica de los films se determinó utilizando un espectrofotómetro UV Lambda 25 en el rango de 400 a 800 nm. El porcentaje de transmitancia a 660 nm ( $T_{660}$ ) y a 280 nm ( $T_{280}$ ) se emplea para evaluar la transmitancia a la luz y las propiedades barrera a la luz UV de los films.

Los valores de transmitancia se utilizaron para determinar transparencia de los films mediante la siguiente fórmula [18]:

$$\text{Transparencia (\%)} = \frac{\log T_{660}}{e}$$

Donde  $T_{660}$  es el valor de transmitancia (%) a 660 nm y  $e$  el espesor del film en mm.

Las propiedades barreras a la luz UV de los films se calcula analizando la transmitancia de la luz en el espectro visible ( $T_{660}$ ), y la transmitancia que presentan en el espectro UV ( $T_{280}$ ). Por tanto, el porcentaje de luz UV absorbida a través del film respecto a la luz total que pasa, se calcula utilizando la siguiente fórmula [19]:

$$\text{Absorción UV (\%)} = \left(1 - \frac{T_{280}}{T_{660}}\right) \cdot 100$$

#### **9.3.2. Barrera a los gases**

Para determinar la tasa de transmisión al vapor de agua (WVTR) de los films, siguiendo la norma ASTM E96/E96M-10, se emplean al menos cinco muestras por film para obtener el valor medio, así como la desviación estándar. Los films se sellan mecánicamente con cinta adhesiva de aluminio sobre recipientes de plástico que contienen  $\text{CaCl}_2$  como material desecante. Los recipientes se colocan en una habitación con condiciones controladas de temperatura (25 °C) y humedad relativa (50%), y se pesan a diferentes intervalos de tiempo para determinar la ganancia de masa. Esta ganancia de masa en función del tiempo se utiliza para calcular el WVTR a través de la siguiente ecuación [19]:

$$WVTR = \frac{\Delta W/t}{A}$$

Donde  $\Delta W$  es la ganancia de masa del recipiente en un tiempo  $t$ , y  $A$  es el área efectiva del film expuesto ( $78,54 \cdot 10^{-4} \text{ m}^2$ ).

Los valores de WVTR se normalizan teniendo en consideración el espesor ( $l$ ) y la diferencia en la presión parcial de la permeabilidad a través del a muestra ( $\Delta p$ ) para calcular la permeabilidad al vapor de agua (WVP) utilizando la siguiente ecuación:

$$WVP = \frac{WVTR \cdot l}{P_{sat} \cdot (HR_{ext} \cdot HR_{int})}$$

Donde  $HR_{ext}$  y  $HR_{in}$  son las humedades relativas de la cara externa (50%) y de la cara interna (0%) del film, y  $P_{sat}$  es la presión de saturación del vapor de agua a 25 °C (1583.7 Pa).

Por otro lado, la tasa de transmisión al oxígeno (OTR) de los films se midió utilizando un sistema de análisis Mocon OX-TRAN® 1/50 (Mocon) a 50% de humedad relativa y 23 °C siguiendo el estándar ASTM D3985 (Figura 57). Al menos tres muestras por cada film se miden, obteniendo el valor medio y desviación estándar.



Figura 57. Equipo de medida de OTR Mocon OX-TRAN 1/50 (Mocon)

### 9.3.3. Capacidad antioxidante

La capacidad antioxidante es la capacidad general de los materiales para atrapar los radicales libres y prevenir su efecto dañino sobre organismos o alimentos. La reacción de oxidación es una reacción química de transferencia de electrones de una sustancia a un agente oxidante. Esta reacción suele producirse por radicales libres que comienzan reacciones en cadena. Las sustancias antioxidantes son moléculas capaces de retardar o prevenir esa oxidación, mediante la eliminación intermedia del radical, inhibiendo otras reacciones de oxidación mediante la oxidación del propio antioxidante.

La lignina contiene una gran cantidad de estructuras fenólicas que le confiere un carácter antioxidante efectivo. El uso de LNFC puede conferir propiedades antioxidantes a los polímeros que sean reforzados con este material.

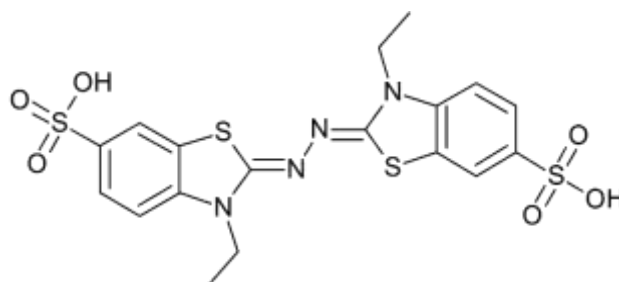
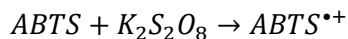


Figura 58. Molécula de ABTS

La capacidad antioxidante de los films se determina mediante el ensayo de decoloración del radical ABTS. Con este método se estudia la capacidad de un material para reducir el radical y oxidarse así mismo, reduciendo la coloración y el valor de absorción de la disolución de  $ABTS^{•+}$ . Para realizar el ensayo, se prepara una solución radical (7 mM ABTS y 2.5 mM persulfato potásico) y se mantiene en oscuridad de 12 a 16 horas a temperatura ambiente antes de su uso. Con ello se consigue oxidar el ABTS para producir el radical  $ABTS^{•+}$ , que es un cromóforo azul-verde con un máximo de absorción a una longitud de onda de 754 nm.



Trascurrido ese tiempo, la disolución se diluye con etanol hasta obtener una absorbancia de  $0,70 \pm 0,02$  a 734 nm. Todos los análisis de absorbancia se realizan utilizando como blanco una solución de etanol. El análisis de las muestras se lleva a cabo sumergiendo una muestra del film de  $1 \text{ cm}^2$  en 2 mL de la solución radical. Tras 6 minutos, la absorbancia de todas las muestras (incluida la disolución de ABTS que no contiene film), se miden, determinando el poder antioxidante (poder de reducción del radical  $ABTS^{•+}$ ) utilizando la siguiente ecuación [20]:

$$PAO = \% \text{ reducción } ABTS^{•+}_{734} = \frac{A_{734,ABTS6'} - A_{734,film6'}}{A_{734,ABTS0'}}$$

Donde  $A_{734,ABTS6'}$  es la absorbancia a 734 nm de la solución radical después de 6 minutos,  $A_{734,film6'}$  es la absorbancia a 734 nm de la solución que ha estado en contacto con el fin a los 6 minutos y  $A_{734,ABTS0'}$ , la absorbancia a 734 nm de la solución radical antes de los 6 minutos. El poder antioxidante de los films se expresa en términos de poder antioxidante por unidad de peso (g) de los films (PAO relativo).

### **9.3.4. Análisis estructural**

La morfología de la superficie de los films fue analizada utilizando un microscopio electrónico de barrido SU3500 (Hitachi High-Technologies Corporation). La aceleración del voltaje y la distancia de trabajo fueron 5 kV y 6 mm, respectivamente.

La rugosidad superficial de los films se determinó utilizando un perfilómetro laser Lehmann (Lehmann Mess-Systeme AG Baden-Dättweil) (Figura 59). Las imágenes topográficas obtenidas son de 1 x 1 mm, con una resolución de 1  $\mu\text{m}/\text{pixel}$ . Las imágenes de la topografía superficial se procesan utilizando el plugin SurfCharJ del software ImageJ según Chinga-Carrasco et al. [21].



Figura 59. Perfilómetro láser Lehmann (Lehmann Mess-Systeme AG Baden-Dättweil)

### **9.3.5. Propiedades físicas**

El gramaje de los films se calcula como el cociente entre el peso seco del film tras ser secado a  $100 \pm 1$  °C hasta peso constante y el área del film ( $63,62 \text{ cm}^2$ ).

La densidad de los films se determina como el cociente entre el peso seco del film y el volumen del film (área · espesor).

La medición del espesor se realizó utilizando un micrómetro digital (Mitutoyo) con una precisión de  $\pm 0.001 \text{ mm}$ . Se toman 5 medidas aleatorias que representan la totalidad del área y se calcula el valor medio y la desviación estándar.

### **9.3.6. Propiedades mecánicas**

El comportamiento mecánico (fuerza de tracción, elongación a la fractura, módulo de Young) de los films de PVA con diferentes cantidades de nanofibras de celulosa, fue determinado utilizando una máquina universal de ensayos LF Plus (Lloyd Instruments) equipada con una célula de carga de 1 kN acorde a lo establecido en el

estándar ASTM D638. Las dimensiones de las probetas de ensayo son 65 mm de longitud, 15 mm de ancho y espesor variable dependiendo de la muestra. Las muestras se acondicionan durante 48 horas a 25 °C y 50% de humedad relativa antes de ser medidas. Diez muestras de cada film se miden y se calcula el valor medio y desviación estándar.

## **10. Técnicas analíticas comunes**

### **10.1. Espectroscopía de infrarrojos en la transformada de Fourier (FTIR)**

La espectroscopía de infrarrojos en la transformada de Fourier (FTIR), es un análisis basado en la absorción específica de la radiación infrarroja por parte de las moléculas, permitiendo la identificación de los grupos funcionales que la componen.

Para que se produzca la absorción por parte de las moléculas, el vector eléctrico de la radiación incidente debe oscilar con la misma frecuencia que el momento dipolar molecular. Cuando las moléculas se exponen a la radiación infrarroja las moléculas absorben selectivamente la radiación de longitudes de onda específicas que causa el cambio del momento dipolar de las moléculas de la muestra. En consecuencia, los niveles de energía vibracional de las moléculas de la muestra se transfieren del estado fundamental al estado excitado. El número de picos de absorción está relacionado con el número de libertad vibracional de la molécula, así como la intensidad de estos picos se asocia con el cambio del momento dipolar, y la posibilidad de la transición de los niveles de energía. [22]

El accesorio de Reflectancia Total Atenuada (ATR) acoplado a la espectroscopía FTIR permite un análisis de la muestra en su estado natural y con una preparación mínima. Este accesorio consta de un cristal ópticamente denso con un alto índice de refracción al cual se dirige el haz de infrarrojos y que es reflejado internamente creando una onda evanescente que se extiende más allá de la superficie del cristal hasta la muestra en contacto con el cristal. En las regiones donde la muestra absorbe energía, la onda se atenúa volviendo al cristal y dirigiéndose al detector del espectrofotómetro.

Este análisis fue realizado utilizando un espectrómetro FTIR-ATR Spectrum Two (Perkin Elmer, Massachusetts, USA). El espectro infrarrojo se analiza en el rango de 450 – 4000  $\text{cm}^{-1}$  con una resolución de 4  $\text{cm}^{-1}$  y recolectando un total de 40 barridos. Para la interpretación y tratamiento de los espectros resultantes se utiliza el software Spectrum 10™ (Perkin Elmer, Massachusetts, USA) (Figura 60).





Figura 60. FTIR-ATR Spectrum Two (Perkin Elmer)

## 10.2. Difracción de Rayos X (DRX)

La difracción de rayos X (XRD) es una técnica analítica utilizada principalmente para la identificación de fases de un material cristalino y que proporciona información sobre las dimensiones de las celdas unitarias del material.

Se basa en la interferencia constructiva de los rayos X monocromáticos y una muestra de naturaleza cristalina. Los rayos X son generados a partir de un tubo de rayos catódicos, filtrados para producir radiación monocromática, colimada, concentrada y dirigida hacia la muestra. La interacción de los rayos incidentes con la muestra produce una interferencia constructiva, resultando un rayo difractado cuando las condiciones satisfacen la Ley de Bragg ( $n \lambda = 2 d \sin \theta$ ). Esta ley relaciona la longitud de onda de la radiación electromagnética con el ángulo de difracción y la separación de la red en una muestra cristalina. Los rayos difractados son posteriormente detectados, procesados y cuantificados. Debido a la orientación aleatoria del material, se precisa de la exploración de la muestra a través de un barrido de ángulos  $2\theta$  en todas las direcciones posibles. La conversión de los picos de difracción a espaciados  $d$  permite la identificación del material debido a la presentación única de estos espacios. Esta identificación se logra mediante comparación de los resultados obtenidos con patrones de referencia estándar.

Este análisis fue realizado utilizando un equipo Bruker D8 Discover (Figura 61) con una fuente monocromático  $\text{CuK}\alpha 1$  sobre un rango angular de  $7$  a  $50^\circ$  con una velocidad de barrido de  $1.56^\circ/\text{min}$ . El Índice de cristalinidad (CI) de las muestras se calcula a partir de la intensidad del pico del plano 200 ( $I_{200}$   $2\theta = 22^\circ$ ) y la intensidad mínima ( $I_{am}$ ) del valle entre los picos de los planos 200 y 110 ( $I_{am}$   $2\theta = 16.5^\circ$ ) considerando la ecuación propuesta por Segal [23]:

$$CI = \frac{I_{200} - I_{am}}{I_{200}} \cdot 100$$



*Figura 61. Difractómetro de Rayos X D8 Discover (Bruker)*

### **10.3. Análisis termogravimétrico (TGA)**

La termogravimetría es la técnica de análisis térmico mediante la cual se miden los cambios de masa de una muestra en función de la temperatura. Los procesos de descomposición, sublimación, reducción, desorción, absorción y vaporación van acompañados de cambios en la masa de la muestra, por lo que pueden ser medidos mediante el análisis termogravimétrico.

Los análisis termogravimétricos (TGA) de la biomasa presentan principalmente dos regiones. La primera región, ocurre entorno a los 100 – 130°C y se debe principalmente a la evaporación de la humedad de la muestra. La segunda región ocurre a una mayor temperatura, entre los 230 – 500°C, y corresponde a la descomposición térmica de las hemicelulosas, celulosa y lignina [24].

Este análisis es de especial interés si el material que queremos caracterizar va a ser sometido a procesos donde se requieren altas temperaturas (industria papelera, industria plástica, etc.) ya que la temperatura de degradación del material tiene que ser superior a la temperatura del proceso para evitar la pérdida de propiedades del material utilizado.

La estabilidad térmica de las muestras fue analizada mediante análisis termogravimétrico utilizando un analizador termogravimétrico TGA/DSC1 de Mettler Toledo (Figura 62). La cantidad de muestra utilizada para cada medida es de  $10,0 \pm 1,0$  mg. El análisis se lleva a cabo bajo atmósfera inerte con un flujo de nitrógeno de  $50 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$  calentando la muestra desde temperatura ambiente hasta 800°C con una rampa de temperatura de 10°C/min.



Figura 62. Analizador Termogravimétrico TGA/DSC 1 (Mettler Toledo)

## **11. Bibliografía**

1. FAO. FAOSTAT 2017. <http://www.fao.org/faostat/en/> (Acceso en Junio)
2. Jiménez Alcaide L. Pastas celulósicas de materias primas alternativas a las convencionales. *Gráficas Sol, Écija (España)* **2005**.
3. Jahan Z., Niazi MBK., Hägg MB. And Gregersen ØW. Decoupling the effect of membrane thickness and CNC concentration in PVA based nanocomposite membranes for CO<sub>2</sub>/CH<sub>4</sub> separation. *Separation and Purification Technology*, **2018**, 204, 220 - 225.
4. Vargas F., González Z., Sánchez R., Jiménez L. and Rodríguez A. Cellulosic pulps of cereal straws as alternative raw material for the manufacture of ecological packaging. *BioResources*, **2012**, 7, 4161 – 4170.
5. Jiménez L., Rodríguez A., Pérez A., Moral A. Serrano L. Alternative raw materials and pulping process using clean technologies. *Industrial Crops and Products*, **2008**, 28, 11 - 16.
6. De Lopez S., Tissot M. and Delmas M. Integrated cereal straw valorization by an alkaline pre-extraction of hemicellulose prior to soda-anthraquinone pulping. Case study of barley straw. *Biomass and Bioenergy* **1996**, 10, 201 - 211.
7. Chakar FS. And Ragauskas AJ. Review of current and future softwood kraft lignin process chemistry. *Industrial Crops and Products*, **2004**, 20, 131 - 141.
8. Uraki Y. and Sano Y. *Polyhydric Alcohol Pulping at Atmospheric Pressure: An Effective Method for Organosolv Pulping of Softwoods*; **1999**, 53, 411 - 415.

9. Nuñez CE. *Pulpa y Papel. Química de la madera*. **2008**.
10. Marx-Figini M. The acid-catalyzed degradation of cellulose linters in distinct ranges of degree of polymerization. *Journal of Applied Polymer Science*, **1987**, 33, 2097 - 2105.
11. Henriksson M., Henriksson G., Berglund LA. and Lindström T. An environmentally friendly method for enzyme-assisted preparation of microfibrillated cellulose (MFC) nanofibers. *European Polymer Journal*, **2007**, 43, 3434 - 3441.
12. Pääkkö M., Ankerfors M., Kosonen H., Nykänen A., Ahola S., Österberg M., Ruokolainen J., Laine J., Larsson PT. and Ikkala O. Enzymatic Hydrolysis Combined with Mechanical Shearing and High-Pressure Homogenization for Nanoscale Cellulose Fibrils and Strong Gels. *Biomacromolecules*, **2007**, 8, 1934 - 1941.
13. Besbes I, Alila S. and Boufi S. Nanofibrillated cellulose from TEMPO-oxidized eucalyptus fibres: Effect of the carboxyl content. *Carbohydrate Polymers*, **2011**, 84, 975 - 983.
15. Carrasco F., Mutje P. and Pelach MA. Refining of bleached cellulosic pulps: Characterization by application of the colloidal titration technique. *Wood Science and Technology*, **1996**, 30, 227 - 236.
16. Delgado-Aguilar M., Gonzalez I., Tarres Q., Pelach MA., Alcalá M., Mutje P. The key role of lignin in the production of low-cost lignocellulosic nanofibres for papermaking applications. *Industrial Crops and Products*, **2016**, 86, 295 - 300.
17. Oberlerchner TJ., Rosenau T. and Potthast A. Overview of Methods for the Direct Molar Mass Determination of Cellulose. *Molecules*, **2015**, 20, 10313 – 10341.
18. Shankar S., Teng X., Li G. and Rhim JW. Preparation, characterization, and antimicrobial activity of gelatin/ZnO nanocomposite films. *Food Hydrocolloids*, **2015**, 45, 264 - 271.
19. Karkhanis SS., Stark NM., Sabo RC. And Matuana LM. Water vapor and oxygen barrier properties of extrusion-blown poly(lactic acid)/cellulose nanocrystals nanocomposite films. *Composites Part A: Applied Science and Manufacturing*, **2018**, 114, 204 - 211.
20. García A., González Alriols M., Spigno G. and Labidi J. Lignin as natural radical scavenger. Effect of the obtaining and purification processes on the antioxidant behaviour of lignin. *Biochemical Engineering Journal*, **2012**, 67, 173 - 185.

21. Chinga-Carrasco G., Averianova N., Kondalenko O., Garaeva M., Petrov V., Leinsvang B. and Karlsen T. The effect of residual fibres on the micro-topography of cellulose nanopaper. *Micron*, **2014**, 56, 80 - 84.
22. Smith B.C. Fundamentals of Fourier Transform Infrared Spectroscopy; CRC Press: **2011**.
23. Segal L. Creely JJ., Martin AE. and Conrad CM. An empirical method for estimating the degree of crystallinity of native cellulose using X-ray diffractometer. *Textile Research Journal*, **1959**, 29, 786 - 974.
24. Rego F., Soares Dias AP., Casquilho M., Rosa FC. and Rodrigues A. Fast determination of lignocellulosic composition of poplar biomass by thermogravimetry. *Biomass and Bioenergy*, **2019**, 122, 375 - 380.



## ***Resultados y discusión***





Los resultados obtenidos durante la presente Tesis Doctoral, y la discusión de los mismos, se muestran a continuación en forma de publicaciones:

**Publicación I.** Espinosa E., Tarrés Q., Delgado-Aguilar M., González I., Mutjé P. and Rodríguez A. Suitability of wheat straw semichemical pulp for the fabrication of lignocellulosic nanofibres and their application to papermaking slurries. *Cellulose*, **2016**, 23(1), 837-852.

**Publicación II.** Sánchez R., Espinosa E., Domínguez-Robles J., Loaiza JM. and Rodríguez A. Isolation and characterization of lignocellulose nanofibers from different wheat straw pulps. *International Journal of Biological Macromolecules*, **2016**, 92, 1025-1033.

**Publicación III.** Espinosa E., Sánchez R., Otero R., Domínguez-Robles J. and Rodríguez A. A comparative study of the suitability of different cereal straws for lignocellulose nanofibers isolation. *International Journal of Biological Macromolecules*, **2017**, 103, 990-999.

**Publicación IV.** Espinosa E., Domínguez-Robles J., Sánchez R., Tarrés Q. and Rodríguez A. The effect of pre-treatment on the production of lignocellulosic nanofibers and their application as a reinforcing agent in paper. *Cellulose*, **2017**, 24(6), 2605-2618.

**Publicación V.** Espinosa E., Tarrés Q., Domínguez-Robles J., Delgado Aguilar M., Mutjé P. and Rodríguez A. Recycled fibers for fluting production: The role of lignocellulosic micro/nanofibers of banana leaves. *Journal of Cleaner Production*, **2018**, 172, 233-238.

**Publicación VI.** Espinosa E., Rol F., Bras J. and Rodríguez A. Production of lignocellulose nanofibers from wheat straw by using different fibrillation methods. Comparison of energy consumption and its viability in cardboard recycling process. *Journal of Cleaner Production (major revision)*.

**Publicación VII.** Espinosa E., Bascón-Villegas I., Rosal A., Pérez-Rodríguez F., Chinga-Carrasco G. and Rodríguez A. PVA/(ligno)nanocellulose biocomposite films. Effect of residual lignin content on structural, mechanical, barrier and antioxidant properties. *Composites Part A: Applied Science and Manufacturing (minor revision)*.

El objetivo general de la presente Tesis Doctoral es la valorización de residuos agro-industriales no madereros para la producción de lignonanofibras de celulosa (LNFC), su caracterización y aplicación en suspensiones papeleras y envases alimentarios. Este trabajo se desarrolla a lo largo de las 7 publicaciones especificadas anteriormente. La **Publicación I**, supuso un acercamiento a la producción de LNFC utilizando pasta celulósica obtenida por pastado a la sosa a partir de paja de trigo y su aplicación en suspensiones papeleras. La obtención de LNFC se llevó a cabo utilizando solamente métodos mecánicos (refinado mecánico como pretratamiento junto a una homogeneización a alta presión). Respecto a la caracterización de las LNFC, se propuso y validó un modelo teórico para la determinación del diámetro individual de las nanofibras utilizando los valores obtenidos a partir de la demanda catiónica y la tasa de carboxilos. Se analizó el efecto refuerzo de las LNFC sobre suspensiones papeleras y la influencia del contenido en finos sobre la eficacia del refuerzo producido. En la **Publicación II**, se compararon diferentes procesos de pastado (sosa, Kraft y organosolv) para la producción de pastas celulósicas a partir de paja de trigo con el fin de utilizarlas en la producción de LNFC. Además, se estudió la eficacia de dos pretratamientos diferentes (oxidación catalítica TEMPO y refinado mecánico) en la obtención de las LNFC y el efecto en sus características. Se puso de manifiesto la importancia de realizar un proceso de pastado suave, con el fin de retener la mayor cantidad posible de hemicelulosas en la fibra, para obtener una mayor eficacia en el proceso de nanofibrilación. Tras definir las condiciones de pastado idóneas para la paja de trigo, en la **Publicación III** se exploró la idoneidad de diferentes pajas de cereales (trigo, maíz, avena y cebada) para la producción de LNFC bajo tres pretratamientos diferentes (oxidación catalítica TEMPO, hidrólisis enzimática y refinado mecánico). Se observó que la oxidación catalítica TEMPO es el proceso que muestra mejores resultados, seguido del refinado mecánico y por último la hidrólisis enzimática. Respecto a las diferentes materias primas, se determinó que la paja de trigo es la más idónea para la producción de LNFC con cualquiera de los tres pretratamientos estudiados. Además, se analizó el estudio del diámetro de las LNFC por Fraccionamiento en flujo mediante campo de flujo asimétrico (AF4) en comparación con otras técnicas convencionales utilizadas.

Tras determinar la idoneidad de la paja de trigo como materia prima en la producción de LNFC bajo diferentes pretratamientos, en la **Publicación IV** se estudió la influencia del pretratamiento en las características de las LNFC y su aplicación como agente refuerzo en suspensiones papeleras. Se determinó que el efecto refuerzo producido por las LNFC obtenidas mediante oxidación catalítica TEMPO es superior al resto, debido a la eficacia del pretratamiento en el proceso de nanofibrilación. Sin

embargo, las LNFC obtenidas utilizando refinado mecánico como pretratamiento, ejercieron un efecto refuerzo similar a las anteriores debido a su mayor longitud y por tanto una mayor capacidad de entrecruzamiento. Esto indica que es posible alcanzar valores de refuerzo cercanos al 100% utilizando bajas cargas de LNFC (3-5%) y con un coste 100 veces menor que el exigido por las LNFC obtenidas por oxidación catalítica TEMPO. Comprobada la eficacia del efecto refuerzo en suspensiones papeleras de las LNFC obtenidas mediante pretratamiento y tratamiento mecánico a partir de paja de trigo, en la **Publicación V** se estudió la idoneidad de los residuos generados en la recolección de la banana (hojas de bananera) para la producción de LNFC siguiendo el mismo proceso. Se caracterizaron las LNFC y se compararon con las obtenidas en las publicaciones anteriores para analizar la idoneidad de esta materia prima. Con las LNFC producidas se analizó el efecto refuerzo sobre cartón reciclado para corregir la merma en las propiedades físicas que produce el fenómeno de hornificación durante el proceso de reciclado. Al utilizar aguas industriales de proceso, el mecanismo de acción de las LNFC se ve comprometido debido a la alta demanda aniónica que evita la interacción LNFC-fibra. Para ello, se diseñó un proceso de neutralización de carga de las aguas industriales y se obtuvieron valores similares a los alcanzados al utilizar agua destilada. Se observó que la tecnología de adición de LNFC como agente reforzante sobre cartón reciclado produce efectos muy similares al refinado mecánico convencional utilizado en la industria actual, pero con un coste ligeramente superior. En la **Publicación VI**, se analizaron diferentes tratamientos mecánicos (homogeneización a alta presión, extrusión de doble tornillo y molino de fricción ultrafino) con el fin de conseguir unos costes energéticos competitivos en comparación con el refinado mecánico convencional. Se concluyó que todos los métodos consiguen obtener LNFC de diámetros 13 – 22 nm, siendo la homogeneización a alta presión la que mejores resultados arroja. Al ser aplicadas sobre cartón reciclado, se obtuvo que la mayoría de las LNFC estudiadas presenta un efecto refuerzo similar al producido por el refinado convencional, aumentando considerablemente las propiedades mecánicas del cartón. Sin embargo, el tratamiento de nanofibrilación producido a partir de extrusión de doble tornillo requiere 5 veces menos energía que el resto de los tratamientos, siendo el único tratamiento de los estudiados, que se presenta como una alternativa viable energéticamente en comparación con el refinado mecánico convencional.

La **Publicación VII** exploró la aplicación de las LNFC en envases alimentarios. En ella se analizó el efecto que ejerce el contenido residual de lignina en las LNFC al utilizarlas como agente de refuerzo en films alimentarios a partir de alcohol polivinílico (PVA). Se observó como la adición de pequeñas cantidades LNFC sobre la matriz

## ***Resultados y discusión***

polimérica produce una mejora en las propiedades mecánicas y propiedades barrera a los gases de los films alimentarios. Además, el contenido en lignina residual de las LNFC le proporciona un refuerzo superior al producido por las nanofibras de celulosa libres de lignina y le confiere propiedades barrera ante la luz UV y capacidad antioxidante, lo que puede verse reflejado en una mayor preservación de la vida útil de los alimentos.

## **Publicación I**

***Suitability of wheat straw semichemical pulp for the  
fabrication of lignocellulosic nanofibres and their  
application papermaking slurries***

E. Espinosa, Q. Tarrés, M. Delgado-Aguilar, I. González, P.  
Mutjé and A. Rodríguez

**Cellulose (2016) 23:837-852**

JCR Factor de Impacto (2016): 3,417

Posición (2016): 1/21, Q1 en "Materials Science, Paper & Wood"





## Suitability of wheat straw semichemical pulp for the fabrication of lignocellulosic nanofibres and their application to papermaking slurries

E. Espinosa · Q. Tarrés · M. Delgado-Aguilar ·  
I. González · P. Mutjé · A. Rodríguez

Received: 2 January 2015 / Accepted: 30 October 2015  
© Springer Science+Business Media Dordrecht 2015

**Abstract** The present work studies the feasibility of wheat soda pulp as a raw material for the fabrication of cellulose nanofibres and their application as an additive in papermaking. Wheat straws were cooked under alkaline conditions and the resulting pulp was used as a raw material for the production of lignocellulosic nanofibres (LCNF). Nanofibres were fabricated by intense mechanical beating followed by high-pressure homogenization. The produced LCNF were characterized and applied to papermaking slurry based also on wheat straw soda pulp. Paper sheets made thereof were analysed for their physical and mechanical properties. The results indicated that paper strength was improved after addition of LCNF, whereas density increased and porosity was reduced. These improvements in properties (except the Tear Index) are significant because they were achieved using LCNF with lower fibrillation degree compared to previous works where chemically pre-treated LCNF were used as reinforcement.

**Keywords** Cellulose nanofibres · Wheat straw pulp · Paper · Mechanical and physical properties

### Introduction

Europe produced over 96.5 million tons of paper and cardboard in 2010, where approximately a 17 % was from non-wood raw materials (Confederation of European Paper Industries, CEPI 2010). These non-wood raw materials are usually formed by residues from agriculture or agri-food industry; cellulosic fibres found in this type of residues are useful for fabricating papers that have special characteristics due to their fibre morphology, composition and heterogeneity (García Hortal 2007; González-García et al. 2010). Among all of these alternative raw materials, cereal straws are the most important source; world production of wheat, corn, barley, oats and rapeseed reached 1742 million tons in 2009 (FAO). Considering that 1 kg of grain generates approximately 1 kg of residue in the form of straw (Rodríguez et al. 2010), the agricultural activity generates a huge amount of waste each year. These residues are used today, in the best of cases and in small quantities, as organic compost and as cattle feed. However, most of these residues are simply burnt in the field causing air pollution and risk of fire. Moreover, if these residues are not removed they can support infestations.

E. Espinosa · A. Rodríguez (✉)  
Chemical Engineering Department, Faculty of Science,  
University of Córdoba, Building Marie-Curie, Campus of  
Rabanales, Córdoba, Spain  
e-mail: a.rodriguez@uco.es

Q. Tarrés · M. Delgado-Aguilar · I. González · P. Mutjé  
Group LEPAMAP, Department of Chemical Engineering,  
University of Girona, c/M. Aurèlia Campmany, no 61,  
Girona 17071, Spain

Published online: 05 November 2015

Springer

It is also important to consider the environmental aspects of wheat crops; each wheat plant has an annual CO<sub>2</sub> absorption of 10.3 g CO<sub>2</sub>/plant. If a wheat crop field has a density of 125 plants/m<sup>2</sup> (Carvajal et al. 2008) then a hectare of crop would have an absorption capacity of 12,875 tons CO<sub>2</sub>/has. From this amount, 3.5 tons of C are assimilated; this C would return to the atmosphere as CO<sub>2</sub> if plants are burnt. Therefore, integral use of this agricultural residue has not only economic advantages by enhancing what so far is a residue, but it has also direct environmental effects.

The use of cellulose nanofibres (CNF) as an additive for papermaking slurries has gathered increasing interest during the last years. Several recent publications confirm the improvement of paper's strength after addition of CNF as a bulk additive (Brodin et al. 2014; González et al. 2012; Taipale et al. 2010; Eriksen et al. 2008). The presence of CNF in the papermaking slurries boosts the formation of hydrogen bonds between fibres during paper formation, the main mechanism that dominates the increase of paper's strength. Besides, CNF promote reduction of porosity and increase of the density in the paper.

Fabrication of CNF consists mainly in disassembling the hierarchical structure of cellulose fibres by means of intense mechanical treatment. Usually, chemical (Saito et al. 2007; Wågberg et al. 2008; Besbes et al. 2011; González et al. 2014) or enzymatic (Janardhnan and Sain 2006; Pääkkö et al. 2007; Henriksson et al. 2007) pre-treatments are applied to cellulose fibres in order to facilitate the mechanical treatment step and reduce energy consumption. However, the fabrication of CNF using only mechanical treatments has also been reported (Nogi et al. 2009; Spence et al. 2011; Ferrer et al. 2012; Afra et al. 2013). In fact, the first attempts to produce cellulose nanofibres were based only on mechanical treatments (Turbak et al. 1983). Most of these studies have been performed mainly on bleached chemical pulps from woody plants such as eucalyptus and pine. Other plant fibres have been also successfully used as a source of nanofibres after bleaching (Alila et al. 2013; Besbes et al. 2011). These authors reported that the properties of cellulose nanofibres from non-woody plants do not differ significantly from CNF of woody plants. Bleaching removes lignin, hemicelluloses and other polymer carbohydrates that naturally accompany cellulose fibres. The effect that these components have on the fabrication and properties of CNF was

already studied by other authors (Spence et al. 2011; Ferrer et al. 2012; Chaker et al. 2013). Their results indicated that residual amounts of both lignin and hemicelluloses play a key role on the nanofibrillation effectiveness. Basically, small amounts of lignin and high hemicelluloses content (25–30 %) seem to have a beneficial effect during cellulose nanofibrillation by allowing high degrees of fibrillation. This means that cellulose fibres with such characteristics are potential candidates as raw materials for the production of CNF by using only mechanical disintegration.

In the present work, lignocellulosic nanofibres (LCNF) were fabricated from wheat straw soda pulps by applying only mechanical treatments via PFI-beating followed by high pressure homogenization and used as reinforcement for paper hand sheets fabricated from the same pulp. To our knowledge, this is the first time that LCNF have been isolated from wheat residues using only mechanical treatment; the resulting nanofibres were then characterized and applied as a bulk additive in papermaking slurry of wheat pulp. Then, papers hand sheets were fabricated and characterized for their physical and mechanical properties.

## Materials and methods

### Materials

Wheat straws were provided by Ecopapel S.L. from cooperatives of Écija, Seville, Spain. Because of the way in which these raw materials are harvested, it was necessary to first sift and perform a manual screening in order to separate undesirable elements such as stones, plastic bags, seeds, dust, wires, etc. Once these elements were separated, straws were dried at room temperature to constant moisture and stored in plastic bags for conservation. The content of  $\alpha$ -cellulose, holocellulose, lignin, ash and ethanol extractable was determined according to TAPPI standards T-9m54, T-203os61, T-222, T-211 and T-204, respectively. Bleached kraft hardwood pulp (BKHP) was used for the production of the enzymatic and mechanical CNF, as well as a standard substrate, and was kindly supplied by Ence-Celulosas (Navia, Spain). This substrate presented 2098 m of breaking length and 15°SR.



Methods

*Pulping and characterization of the pulps*

Wheat straws were pulped in a 15 L batch reactor at  $99 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$  for 150 min containing a 7 % NaOH (o.d.m) solution and heated by an outer jacket heater. The reactor contents were stirred by rotating the reaction vessel via a motor; the liquid/solid ratio was 10:1. After pulping, cooked material was dispersed in a pulp disintegrator at 1200 rpm during 30 min. The pulp was then passed through a Sprout-Bauer beater and separated by sieving through a netting of 0.14 mm mesh size. The beating degree (Schopper-Riegler) of the resulting pulp was determined according to TAPPI T-227. The yield was determined by a gravimetric method after removing uncooked material. Finally the content of  $\alpha$ -cellulose, lignin, holocellulose, ash, ethanol extractable, Kappa number and viscosity were determined according to TAPPI standards T-9m54, T-203os61, T-222, T-211, T-204, T-236cm85 and T-230om94, respectively. Morphological analysis and fines content was studied using a MorFI compact analyser (TechPap) controlled with a computer. The equipment analyses 1000 mL of a 1 wt% fibre suspension; about 10,000 fibres were analysed by the software MorFI v. 8.2. The pulping and characterization process is resumed in Fig. 1.

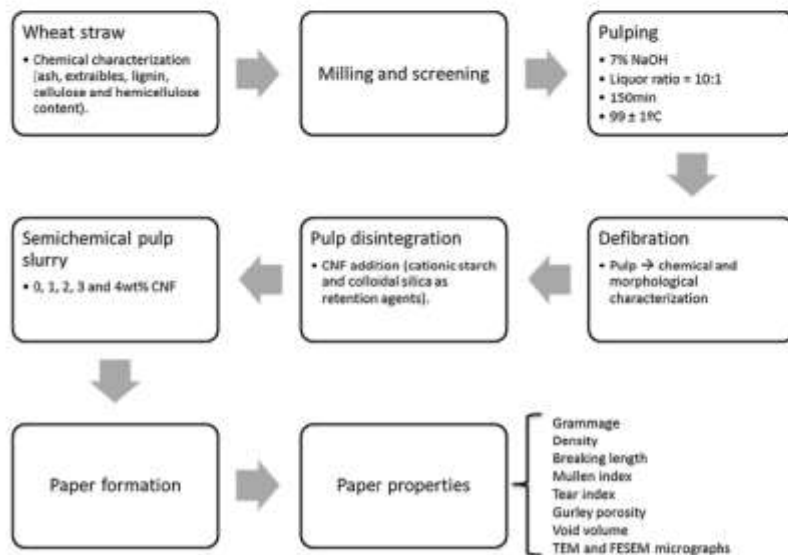
*LCNF production*

Lignocellulosic nanofibres were obtained by mechanical treatment. First, wheat soda pulp was beaten in a PFI beater (NPFI 02 Metrotec SA) according to ISO 5264-2:2002 until achieving a drainage rate of 90°SR. Then, 1.5 % aqueous suspension was prepared and passed through a Panda Plus 2000 (GEA NIRO) high pressure homogenizer following the next sequence: 4 times at 300 bars, 3 times at 600 bars and 3 times at 900 bars. This sequence was chosen to avoid clogging of the equipment in the first passes. During the process the temperature of the suspensions raised to 60–70 °C. After this, the suspension was cooled down at room temperature and stored at 4 °C. Figure 2 resumes the fabrication and characterization process of LCNF used for the present study.

*Characterization of the LCNF, Enz-CNF and Mec-CNF*

The degree of polymerization (DP) of wheat soda fibres and LCNF was determined from intrinsic viscosity measurements, according to UNE 57-039-92. The viscosimetric average molecular weight was calculated from the equation:  $\eta = K \cdot M^a$ , where  $\eta$  is the intrinsic viscosity,  $K = 2.28$  and  $a = 0.76$  (Henriksson et al. 2008). The water retention value (WRV)

**Fig. 1** Flow chart of the whole wheat soda pulp fabrication process and characterization



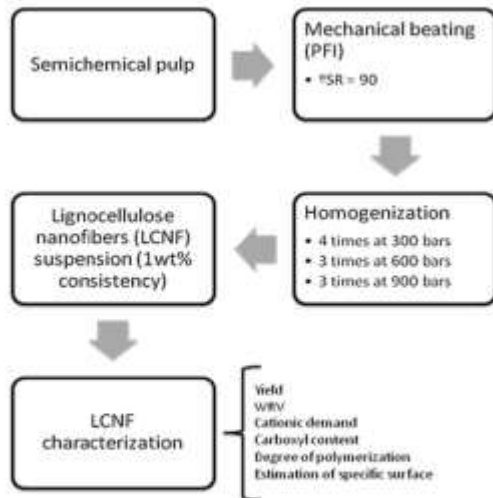


Fig. 2 Flow chart of the fabrication and characterization of LCNF

was measured by separating a determined volume of LCNF gel into two equal portions, which were then centrifuged in a Sigma Laborzentrifugen model 6K15 (7 cm of rotation radius) at 2400 rpm for 30 min to eliminate non-bonded water. In order to retain the LCNF, a nitrocellulose membrane with a diameter pore of 0.22 μm was used at the bottom of the centrifuge bottles. Once centrifuged, only the LCNF in contact with the membrane was removed, weighed and then dried at 105 ± 2 °C for 24 h in containers of previously measured weight. This methodology is partially based on TAPPIUM 256. The average WRV value was then calculated according to the next equation:

$$WRV (\%) = \frac{W_w - W_d}{W_d} \times 100 \quad (1)$$

$W_w$  is the wet weight (g),  $W_d$  the dry weight (g). The carboxyl content (CC) of LCNF was calculated by conductimetric titration. A dried sample (50–100 mg) was suspended in 15 mL of 0.01 M HCl solution; this exchanges Na cations bound to the COOH group by H ions. After 10 min of magnetic stirring, the suspensions were titrated with 0.01 M NaOH, adding 0.1 mL of NaOH to the suspension and then recording the conductivity in mS/cm; this process was repeated until observing a reduction, stabilization and increase in the conductivity. The CC is given by the following equation:

$$CC = 162(V_2 - V_1)c[w - 36(V_2 - V_1)c]^{-1} \quad (2)$$

The results indicate the average in mmol of -COOH groups per gram of LCNF. The cationic demand of LCNF was also determined by means of a Mütek PCD 04 particle charge detector, adapting the methodology described by Carrasco et al. (1998). First, 0.04 g of LCNF (dried weight) was diluted in 1 L distilled water and dispersed with a pulp disintegrator for 10 min at 3000 rpm. Afterwards, 10 mL were taken and mixed with 25 mL of cationic polymer polydiallyldimethylammonium chloride (poly-DADMAC) during 5 min with magnetic stirring. After this, the mixture was centrifuged in a Sigma Laborzentrifugen model 6 K 15 for 90 min at 4000 rpm. Then, 10 mL of the supernatant were taken to the Mütek equipment. Anionic polymer (Pes-Na) was then added to the sample drop by drop with a pipette until the equipment reached 0 mV. The volume of anionic polymer consumed was used to calculate the cationic demand through the next equation:

$$CD = \frac{(C_{PolyD} \cdot V_{PolyD}) - (V_{Pes-Na} \cdot C_{Pes-Na})}{W_{sample}} \quad (3)$$

where CD is the cationic demand (μeq/L),  $C_{PolyD}$  = cationic polymer concentration (g/L),  $V_{PolyD}$  = volume used of cationic polymer (mL),  $C_{Pes-Na}$  = anionic polymer concentration (g/L),  $V_{Pes-Na}$  = volume used of anionic polymer (mL) and  $W_{sample}$  = sample's dry weight (g). The yield in nanofibrillation was determined by centrifuging a 0.2 wt% suspension at 4500 rpm for 20 min in order to isolate the nanofibrillated fraction (contained in the supernatant) from the non-fibrillated and partially fibrillated one retained in the sediment fraction, which was recovered, weighed and oven-dried at 90 °C until constant weight. The yield of nanofibrillation was then calculated from the next equation:

$$Yield\% = \left( 1 - \frac{\text{weight of dried sediment}}{\text{weight of diluted sample} \times \% Sc} \right) \times 100 \quad (4)$$

where %Sc represents the solid content of the diluted gel sample. Transmittance measurements were performed on LCNF suspensions with 0.1 % of solid content. The sample was introduced in quartz cuvettes and the transmittance measured with a UV-Vis

Shimadzu spectrophotometer UV-160A set in the range between 400 and 800 nm. Distilled water was used as reference.

In addition, the effect of a 3 wt% addition of the LCNF over a standard substrate (bleached kraft hardwood pulp) was also studied. The methodology followed for this addition was the same of incorporating LCNF into the wheat pulp suspension, as it is described later.

#### *Determination of the energy consumption*

The energy consumption of the homogenizer during the production of LCNF was carried out with an energy measuring equipment (Circutor CVM-C10), that gives values of the energy consumption of the equipment or, which is the same, the energy required from the electrical grid.

#### *Wood-based CNF production and characterization*

Enzymatic CNF (Enz-CNF) were produced from BKHP according to a modified methodology based on Henriksson et al. (2007), where cellulose fibers are hydrolyzed with endo- $\beta$ -1,4-glucanases. In this sense, the pulp consistency was increased to 5 wt%, the treatment time was 3 h, and enzyme charge was set at 0.83 wt% and pH at 5. Temperature and denaturalization were not changed, by means of 50 °C as the treatment temperature. In order to stop the process the pulp slurry was heated (80 °C) and kept during 30 min. The nanofibrillation process was performed as explained above for LCNF.

Mechanical CNF (Mec-CNF) were produced by beating the BKHP for 20,000 revolutions and submitting them to a homogenization process following the same sequence than LCNF from wheat pulp.

Both types of CNF were produced and characterized according to the abovementioned methodologies and in order to compare the obtained results with LCNF, both technical and economical.

#### *Incorporation of LCNF into the pulp suspension*

In the case of wheat suspensions with LCNF, they were added and mixed into the semichemical wheat

pulp slurry by means of a pulp disintegrator operating at 3000 rpm during 60 min and 1.5 % consistency using tap water (289  $\mu$ S/cm) as a background. This methodology has been used in previous works (Alcalá et al. 2013; González et al. 2012, 2013; Delgado-Aguilar et al. 2014) and has proved to be effective in improving the dispersion of CNF in papermaking slurries. After this step, cationic starch and colloidal silica were added at corresponding doses of 0.5 and 0.8 %, respectively, expressed on dry pulp. The application of these retention agents was done at gentle agitation of the suspension at 1 % consistency for 20 min. This step becomes necessary in order to avoid the loss of LCNF during the dewatering process since filters at the bottom of the stock container in the Rapid-Köthen equipment are not able to retain nanometric material. The amount of LCNF added was calculated to obtain paper hand sheets with different percentages of LCNF (from 0 to 4 wt%). Paper hand sheets with an average basis weight of 75 g/m<sup>2</sup> were fabricated in a sheet former (ISP mod. 786FH) according to ISO standard 5269-2 and conditioned in a weather chamber at 25 °C and 50 % humidity for 48 h before mechanical tests were performed.

#### *Characterization of paper hand sheets*

Characterization of paper hand sheets obtained from the different fibrous suspensions was performed by determining first the basis weight (ISO 536) and thickness (ISO 534) of the sheet; density was calculated from the sheet's basis weight and the dimensions; Breaking length was calculated from tensile experiments performed in an Instron universal testing machine provided with 2.5 kN load cell. The testing conditions were set according to ISO standards 1924-1 and 1924-2. Tear index was determined in an Elmendorf Tearing Tester (mod. F53.98401 Frank PTT) and assay conditions were set according to ISO standard 1974. Burst index tests were carried out in a burst tester (IDM mod. EM-50) and test conditions were set according to ISO standard 2758. Gurley porosity was determined in a Gurley porosimeter (Papelquímica) was used and testing conditions were set according to ISO standard 5636/5. Percentage of void volume (%), Scott bond (TAPPI T569). Percentage of void volume was calculated from the next equation:

$$\text{Porosity (\%)} = 100 \cdot \left( 1 - \frac{\rho_{\text{sample}}}{\rho_{\text{cellulose}}} \right) \quad (5)$$

where  $\rho_{\text{sample}}$  is the density of the paper hand sheet (calculated from basis weight, thickness and area) and  $\rho_{\text{cellulose}}$  is the density of cellulose, assumed to be 1.5 g/cm<sup>3</sup>.

#### Scanning electron microscopy (SEM)

The microscope was a Hitachi S-3000 variable pressure SEM (Hitachi High-Technologies Corporation, Minatoku, Tokyo, Japan). SEM surface images were acquired at 509 and 10,009 magnifications, in secondary electron imaging mode. The acceleration voltage and working distance were 5 kV and 12 mm, respectively.

#### Transmission electron microscopy (TEM)

Transmission electron microscopy (TEM) was carried out with a ZEISS EM910 TEM operating at 120 kV. Specimens for inspection by TEM were prepared by slowly evaporating one drop of the LCNF gel, at room temperature on a 400 mesh copper grid, coated by a carbon-supported film.

## Results and discussion

### Wheat stalks characterization

Wheat stalks had the following composition: alcohol extractables (5.2 %), ash (7.72 %),  $\alpha$ -cellulose (39.7 %), hemicelluloses (30.6 %) and lignin (17.7 %). It can be said that the ash content is similar or even lower in comparison to similar agricultural residues such as corn (5.95 %), oats (7 %), rape (6.38 %) and barley (9.49 %) (Vargas et al. 2012). High values of ashes might give rise to problems of corrosion and fouling in the industrial plants. Lignin is a hydrophobic constituent, which if found in high proportions, can hinder the refining process, since it inhibits the absorption of water from the pulp. However, a slight percentage of lignin, as in this case, gives to the pulp relatively high values of specific volume, dimensional stability and rigidity (García Hortal 2007). Lignin content in wheat straws is very similar to those found in corn (18.2 %), oats (16.6 %), rape (17.2 %) and barley (16.3 %) (Vargas et al. 2012). The hemicellulose,

in contrast to lignin, is very hydrophilic and this fact favors the swelling of fibres, increasing plasticity, flexibility and the ability to bind with other compounds, resulting in improvement of density, strength and physical properties of paper hand sheets (García Hortal 2007).

### Pulp characterization

Wheat soda pulp was characterized by determining the percentage of alcohol extractables, ash,  $\alpha$ -cellulose, hemicellulose and lignin obtaining following values, respectively; 3.37, 10.90, 73.0, 16.3 and 2.8 %. Other characteristics were also determined such as yield, beating degree ( $^{\circ}$ SR), Kappa number and viscosity (mL/g) as reflected in Table 1.

The yield value obtained with the wheat straw soda pulp is around 70 %, a high value within semi-chemical pulp and higher than yields achieved with other raw materials: corn (65.5 %), oats (66.9 %), rape (63.1 %) and barley (65.6 %) (Vargas et al. 2012). The drainage rate was relatively high compared to that of commercial chemical bleached pulps such as pine and eucalyptus. Higher  $^{\circ}$ SR is found in some chemithermomechanical pulps from other agricultural residues such as rapeseed (González et al. 2013). An elevated Schopper-Riegler grade implies high bonding strength between the fibres (González et al. 2012). The Kappa number is a measure of the delignification degree of the raw material. High values for this parameter imply that pulp is not adequate for bleaching process because of its high cost. The value obtained for the wheat straw soda pulp (38.6) is the lowest of the different raw materials that have been compared (from 56.7 for the corn until 115.1 for the rape). It must be pointed out that the Kappa number found and the lignin content are not in agreement. This is probably due to the accuracy in the gravimetric techniques that have been used for the chemical characterization. On the other hand, the standard ISO 302:2004 provides a correlation between Kappa number and lignin content, in percentage (approximately 6.57). This constant refers to wood pulps with values of Kappa numbers from 25 to 30.

**Table 1** Wheat soda pulp properties

Yield (%)	$^{\circ}$ SR	Kappa number	Viscosity (mL/g)	DP
70	51	38.6	536	1381

Cellulose

Applying this constant and taking the Kappa number determination as more accurate, the content of lignin would vary from 2.8 to 5.9 %, still being a quite low value. The degree of polymerization (DP) calculated from intrinsic viscosity measurements was 1381.

Table 2 shows the morphology of fibres after pulping. The detection limit for fines was set at 76 and 200 µm in order to indicate the great amount of these particles present in the pulp. The presence of fines accounts for the high breaking length found in paper hand sheets fabricated from wheat soda pulp and the elevated °SR of its suspensions. As it is possible to see in Table 2, the percentage of fines is higher when the detection limit is set at 200 µm. Paper industry usually considers the fine elements to be those particles with lengths lower than 200 µm. With the MorFI equipment set at 200 µm, moreover, as shown later, the percentage of fines in the pulp plays an important role in the rate of increase of breaking length in LCNF-reinforced papers.

LCNF characterization

Characterization of LCNF is important since it helps understand the mechanisms that rule the reinforcing effect that they have on papermaking slurries. Table 3 shows the characterization of the nanofibres used in this work. The PFI beating pre-treatment allows a greater capacity of hydration and swelling of fibres, thus facilitating the passing of the pulp suspension through the homogenizer.

The LCNF of wheat straw have a nanofibrillation yield of 55.6 %. This is a comparatively moderate result in contrast to NFC fabricated after TEMPO-

oxidized fibres from bleached chemical pulps reported in the bibliography where nanofibrillation yield reaches over 95 % (González et al. 2012; Delgado-Aguilar et al. 2014). These differences are a direct consequence of the type of pre-treatment applied on the pulp: in CNF fabricated from TEMPO-oxidized fibres, the formation of negatively-charged carboxyl groups in the C6 of the cellulose chain introduces repulsive forces between the fibres which promote water uptake, fibre swelling and hydration (Saito et al. 2007). This facilitates the disassembling of the fibre structure during the mechanical treatment.

Another important factor that determines the suitability of CNF production is the content of lignin and hemicelluloses. In general, the presence of these components along with other heteropolysaccharides seems to ease the mechanical individualization of microfibrils; it has been inferred that hemicelluloses attached to microfibrils by hydrogen bonds form a physical barrier among them that inhibits the formation of microfibrils aggregates (Chaker et al. 2013). The same author concluded that, in the case of non-woody plants, a hemicellulose content of 25 % decisively stimulates high fibrillation. In the case of lignin Ferrer et al. (2012) reported that residual amounts of lignin promote fibrillation by stabilizing the radicals formed during beating stages. Moreover, the amorphous nature of lignin and hemicellulose also influences the fibrillation process (Solala et al. 2011). Therefore, it is clear that a high hemicellulose content and low amount of residual lignin make the wheat soda pulp a good candidate for LCNF production through solely mechanical treatment. The role of lignin is quite clear when assessing the yield of nanofibrillation. For instance, both wood-based CNF, which are lignin free, presented lower nanofibrillation

**Table 2** Morphology of the wheat soda pulp fibres in relation to the fines detection limit set during the experiment

Fines detection limit (µm)	Length arithmetic (µm)	Length weighted in length (µm)	Width (µm)	Fines (% in length)	Breaking length (m)
76	502	730	20.1	26.9	5435
200	510	742	20.1	47.6	5435

**Table 3** Characterization of the LCNF

Yield (%)	Transmittance (%)	Cationic demand (µeq g/g)	Carboxyl content (µeq g/g)	WRV (%)	Viscosity (mL/g)	DP	Breaking length increase (%)
55.6	<75	230	<74.4	480.3	436	1004.8	89.31

yields than LCNF from wheat, being 28.9 and 18.2 % for Enz-CNF and Mec-CNF, respectively.

Transmittance is another method to indirectly measure the fibrillation degree of a LCNF suspension. The presence of cellulose fibres in the aqueous suspension leads to light scattering due to the differences in the refractive index between cellulose and water (1.5 and 1.3 respectively). Since the amount of scattered light is in relation to the particle size when Mie scattering is considered, then high transmittance values indicate that the suspended material has extensive fibrillation. The transmittance of LCNF from wheat pulp is reflected in Fig. 3. Taking into account that these LCNF contain lignin, it can be stated that the transmittance is quite high, since when comparing it at 700 nm of wavelength with the wood-based and lignin free CNF, it is possible to see that LCNF present a 70 % of transmittance, while Enz-CNF and Mec-CNF present a 46 and 20 % of transmittance, respectively. Both wood-based CNF, even being lignin free, present higher light deflection due to their morphology thus, as it has been stated before, they present lower nanofibrillation yields. Cationic demand serves as an indirect indicator of the specific surface area of LCNF. Further mechanical treatment would lead to a slight increase in cationic demand. A possible mechanism of interaction between the cationic polymer (poly-DADMAC) an LCNF surface is reflected in Fig. 4.

This drawing tries to show the two possible mechanisms (Rouger and Mutjé 1984; Carrasco et al. 1996): (1) ionic interaction between the cationic polymer and the carboxylic groups on the cellulose surface, and (2) surface interactions due to London-

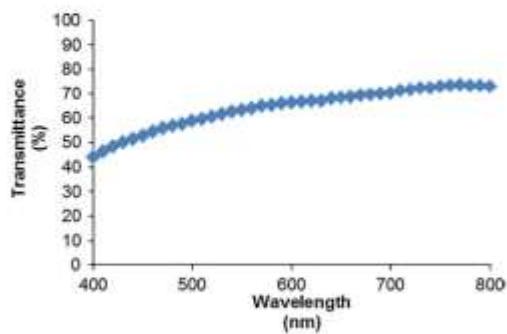


Fig. 3 Transmittance of the suspension of CNF in the range of the visible light spectrum

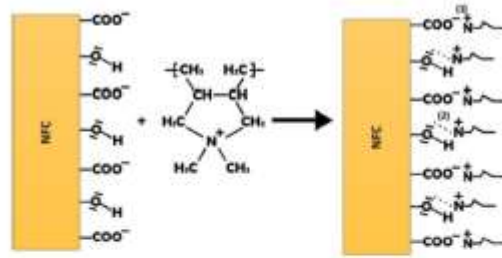


Fig. 4 Proposed mechanisms of interaction between LCNF and poly-DADMAC

Van Der Waals forces. If both mechanisms are assumed to occur at the same time and the poly-DADMAC forms a single layer, then by estimating the specific surface area of a single poly-DADMAC ( $\sigma_{DADMAC}$ ) molecule, it would be then possible to theoretically calculate the specific surface area of LCNF ( $\sigma_{LCNF}$ ). Considering the atomic distances and angles between the atoms of a poly-DADMAC monomer and that the molecule adopts an elliptical structure the surface of the poly-DADMAC monomer could be calculated through the next equation:

$$\sigma_{DADMAC} = \pi \cdot d \cdot l \tag{6}$$

where  $\sigma_{DADMAC}$  is the monomer's area,  $d$  and  $l$  the diameter and length of the monomer's molecule, calculated to be 0.528 nm and 0.488 nm respectively. This makes 0.809 nm<sup>2</sup> for a single monomer molecule. Since the average degree of polymerization of poly-DADMAC is 662, the surface area of the polymer is the surface area of the monomer multiplied by degree of polymerization ( $DP$ ). This yields 535.56 nm<sup>2</sup> for a poly-DADMAC molecule. To calculate the specific surface area of a poly-DADMAC mol, the Avogadro constant is then applied:

$$\begin{aligned} \sigma_{DADMAC} &= 535.56 \text{ nm}^2 \cdot 6.02 \cdot 10^{23} \\ &= 3224 \cdot 10^{23} \text{ nm}^2/\text{mol} \end{aligned} \tag{7}$$

Then,  $\sigma_{dadmuc}$  is converted from nm<sup>2</sup>/mol to nm<sup>2</sup>/μeq by the next equation:

$$\sigma_{DADMAC} = \frac{3224 \cdot 10^{23} \text{ nm}^2}{662 \cdot 10^6 \mu\text{eq}} = 4.87 \cdot 10^{17} \text{ nm}^2/\mu\text{eq} \tag{8}$$

Considering the stoichiometric relationship between hydroxyl and carboxyl groups with poly-DADMAC and applying the next relationship:

$$\sigma_{LCNF} = (CD - CC) \cdot \sigma_{DADMAC} \quad (9)$$

where  $\sigma_{LCNF}$  is the specific surface area of 1 g of LCNF, CD the cationic demand and CC the carboxyl content of the sample, then 75.77 m<sup>2</sup>/g was obtained. Finally, it is possible to calculate from this value the average diameter of a single LCNF fibre ( $d_{CNF}$ ), considering a cylindrical geometry:

$$d_{CNF} = \frac{4}{75.77 \text{ m}^2/\text{g} \cdot 1600 \cdot 10^3 \text{ g/m}^3} \quad (10)$$

$$d_{CNF} = 32.99 \text{ nm}$$

The diameter calculations based on the poly-DADMAC surface adsorption on the LCNF, show a mean diameter of approximately 33 nm. The actual diameter of LCNF was assessed by TEM microphotography, as reflected in Fig. 5.

The images show a wide distribution of widths with an average diameter of 28 nm. This value is not significantly different from 33 nm calculated by the method described above. Though this theoretical calculation is based on a series of assumptions, it allows having an approximate idea of the evolution of  $\sigma_{LCNF}$  and  $d_{CNF}$  in a simple, rapid manner. The TEM microphotography also shows that it is possible to obtain considerably nanofibrillated material by applying only mechanical forces on an unbleached, non-woody pulp.

The carboxyl content is considerably low when compared to values observed in TEMPO-oxidized CNF (Delgado-Aguilar et al. 2014). It is well known that intense fibrillation of cellulose fibres increases carboxylic content which facilitates their dispersion in water, so it would be expected that further mechanical treatment would boost the carboxylic content. Regarding WRV, a result of 480 % means that LCNF from wheat have 4.8 g of water per gram of LCNF associated chemically.

The viscosity of the LCNF suspension allowed calculating the degree of polymerization (1004.8). This indicates a reduction of 31 % from the original DP of the soda pulp (1381) due to the mechanical forces applied for the preparation of LCNF. One of the main advantages of mechanical treatments for LCNF manufacture is that the loss in DP is not as intense as in LCNF prepared from some types of chemically modified fibres. The DP is directly linked to the intrinsic mechanical properties of the LCNF, as described in Henriksson et al. (2008).

The breaking length increase was assessed over the standard substrate described in the Materials and Methods chapter. This parameter helps determine the effectiveness or performance that LCNF imparts on breaking length, as well as allowing reliable comparisons between different CNF. For instance, some published results showed that the addition of a 3 wt% of CNF prepared by TEMPO oxidation (from bleached kraft hardwood pulp) at three different oxidation levels (3, 5 and 15 mmol of hypochlorite) imparts an increase of about 97, 100 and 112 % in breaking length, respectively (González et al. 2014). In the present work, the obtained LCNF presented a 93 % increase on breaking length when applied over the standard substrate. Comparatively, Enz-Mec presented an increase of 78 %, which it can be mainly due to its lower yield of nanofibrillation, as well as for the case of Mec-CNF, which provided a 70 % increase.

Since the production of LCNF for this study required intense mechanical treatment, an analysis of energy consumption was performed. Additionally, Enz-CNF and Mec-CNF were also subjected to this analysis in order to bear out the influence of the raw material used (when comparing both mechanical CNF and LCNF), as well as the effect of using bio-based methodologies. The results are shown in Table 4.

There are some methods reported elsewhere to determine the energy consumption of passing a suspension through the homogenizer (Ankerfors 2015; Naderi et al. 2015). These methodologies are based on the energy balance between two data collection points (the surface of the inlet tank and after the pressure pump). Inasmuch as the energy losses of the internal and dynamical energy are quite difficult to measure, it has to be assumed that there are no changes, as well as in the case of the sample heating due to friction in the chambers. Not only that, but the pump efficiency is also neglected, thus forcing to assume an efficiency of 100 %.

On the other hand, using the energy measurement equipment (Circutor CVM-C10), it is possible to determine the energy required, which is the same as the energy required from the electrical grid, becoming more reliable energy consumptions since it takes into account all the assumptions listed above. In fact, when assessing production costs, this is the energy that producers will supposedly pay for.

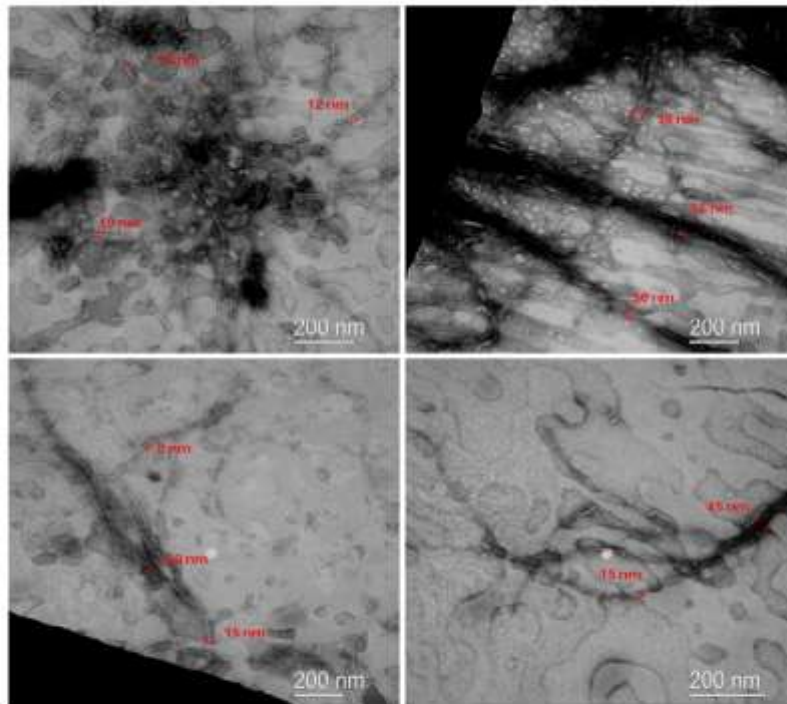


Fig. 5 TEM images of LCNF indicating the diameter of some of the nanofibres

Table 4 Total cost of the production of cellulose nanofibres by enzymatic and mechanical treatments

Type of CNF	Pretreatment		Nanofibrillation process				Total cost (€/kg CNF)
	Chemicals (€/kg CNF)	Enzymes (€/kg CNF)	Pressure (bar)	Number of passes	Energy consumption (kW h/kg)	Energy cost <sup>a</sup> (€/kg CNF)	
Wheat LCNF			300	4	14.22	1.14	2.55
			600	3	11.00	0.88	
			900	3	6.66	0.53	
Enz-CNF	11.11 <sup>b</sup>	0.64	300	4	7.53	0.45	13.71
			600	3	5.74	1.07	
			900	3	5.55	0.44	
Mec-CNF			300	4	14.33	1.15	2.8
			600	3	12.59	1.01	
			900	3	8.05	0.64	

<sup>a</sup> Total cost calculated at a price of 0.08€/kW h

<sup>b</sup> Cost of pH buffer

As it is possible to see in Table 4, for the same homogenization sequence, each (L)CNF presents different production costs. There is no doubt that Enz-CNF, even being based on bioprocesses by the

action of the enzymes, are unaffordable for paper-making applications due to their production costs. For instance, if a 3 wt% of Enz-CNF was used for paper reinforcement, it would mean that 30 kg per ton of



paper would be required, which derives in huge production costs per ton of paper. On the other hand, when comparing both types of nanofibers obtained by mechanical processes, the role of lignin is evident, as it has been stated before and reported by several authors (Ferrer et al. 2012). Not only that, except for the case of LCNF a waste product is being recovered, what leads to a higher permanence of the raw material in the technosphere promoting circular economy. Moreover, the effectiveness of these LCNF is much higher than both wood-based CNF, what also could drive to lower resources consumption if they were applied for the same application.

**Bulk application of LCNF on wheat soda pulp**

To evaluate the feasibility of wheat straws in the papermaking industry, paper sheets from wheat soda pulps were fabricated and added with different percentages of LCNF in combination with cationic starch and colloidal silica as retention agents. The first one, cationic starch, is added in order to ensure a good retention of the LCNF on paper. On the other hand, and due to the flocculation effect of cationic starch, colloidal silica is added in order to ensure a good paper formation. The physical properties of the manufactured paper sheets are shown in Table 5.

The results indicate that, under a constant grammage, paper's thickness decreases with growing contents of LCNF. Probably, nanofibres moving freely in fibres suspensions behave in a similar way to that of fines by reducing the meniscus radius that appears during the dewatering of the papermaking suspension; this increases the pressure difference between the aqueous phase and the fibres surroundings, helping thus to draw the fibres closer together, compacting the paper sheet. Besides, nanofibres attached to the larger fibres' surface significantly increase the contact area

between fibres which boost the formation of hydrogen bonds and establish permanent bonds among the fibres when they are brought into contact during the dewatering step. This also explains the increase in density higher LCNF contents. Papers with a 4 wt% of LCNF presented the highest density. Porosity calculated as the percentage of empty space is also reduced with the presence of LCNF. The decrease in porosity is also a consequence of the increase in paper's compactness. It is also expected that a part of the nanofibres occupy the spaces between the larger fibres, forming a nanometer network that occupy the gaps between fibres. As a whole these mechanisms help to reduce the diameter and number of pores of the paper. The same trend is observed in the Gurley porosity, whose test time increases until a 685 % versus paper sheets made of pulp without reinforcement. Test times develop linearly in relation to the amount of LCNF. In fact, the evolution of physical properties in paper sheets has a good correlation with the content of the LCNF as shown in Fig. 6.

Table 6 summarizes the Schopper-Riegler and mechanical properties of LCNF-reinforced papers sheets. Neat wheat straw soda pulp has a high Schopper-Riegler in comparison to a typical bleached eucalyptus pulp (González et al. 2012).

An elevated °SR is a consequence of the high percentage of fines found in wheat straw pulp in comparison to bleached chemical pulps; these fines increase the specific surface of the pulp and block the spaces between fibres where water drains, increasing the °SR. After addition of LCNF, the °SR increases due to the high water-holding capacity that LCNF in general show. The large specific surface area of LCNF promotes the formation of hydrogen bonds between the hydroxyl groups of cellulose and water. This causes that the LCNF retain a great quantity of water even at low concentrations, modifying the viscosity of the suspension and hampering dewatering. As the

**Table 5** Physical properties of the paper sheets made with different percentages of LCNF

CNF content (wt%)	Grammage (m <sup>2</sup> /g)	Thickness (µm)	ρ <sub>paper</sub> (g/cm <sup>3</sup> )	Porosity (%)	Gurley porosity (s)
Wheat + 0 % CNF	75.10	113.8 ± 0.1	0.660	56 ± 0.3	49.8 ± 0.2
Wheat + 1 % CNF	76.15	112 ± 0.5	0.680	54.7 ± 0.6	112.3 ± 0.4
Wheat + 2 % CNF	75.50	109.8 ± 0.6	0.688	54.1 ± 0.4	209.9 ± 0.4
Wheat + 3 % CNF	75.25	106.5 ± 0.5	0.706	52.9 ± 0.7	269.9 ± 0.7
Wheat + 4 % CNF	75.40	106 ± 0.4	0.711	52.6 ± 0.3	391 ± 0.6

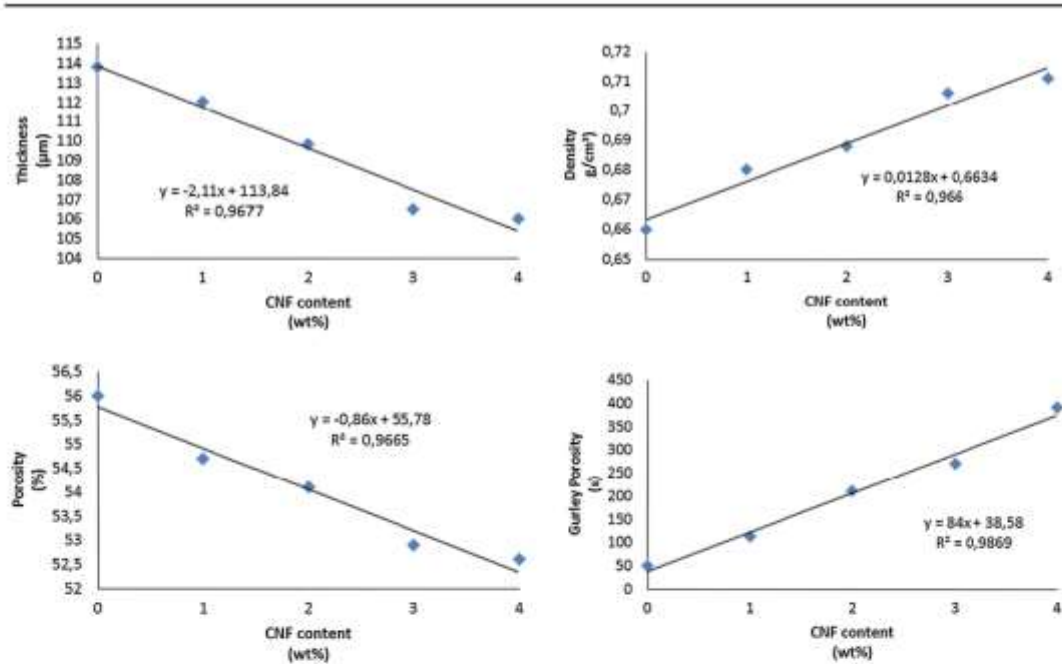


Fig. 6 Evolution of the physical properties of papers based on the contents of CNF

Table 6 Drainage and mechanical properties of the paper sheets with different percentages of LCNF

CNF content (wt%)	°SR	Breaking length (m)	Burst index (kPa m <sup>2</sup> /g)	Tear index (mN m <sup>2</sup> /g)
Wheat + 0 % CNF	28	5435 ± 115	2.38 ± 0.12	4.2 ± 0.01
Wheat + 1 % CNF	44	6121 ± 87	2.98 ± 0.05	4.5 ± 0.03
Wheat + 2 % CNF	52	6555 ± 102	3.16 ± 0.09	4.4 ± 0.02
Wheat + 3 % CNF	57	6937 ± 91	3.39 ± 0.10	3.9 ± 0.07
Wheat + 4 % CNF	60	6674 ± 77	3.65 ± 0.11	4.3 ± 0.04

LCNF content rises, °SR significantly increases. The evolution of °SR shows a correlation with the amount of LCNF (Fig. 7).

Regarding the mechanical properties of paper sheets made without LCNF, it is important to highlight that this fibre already has a breaking length suitable for the manufacture of certain types of paper. Figure 7 shows the evolution of the breaking length according to the percentage of LCNF added; the results obtained are from paper sheets made with an isotropic former. It can be observed that breaking length experiences a linear increase up to a 28 % with the addition of a 3 % of LCNF. Tensile strength of paper mainly depends on three factors: the number of links among fibres, the

type of links and the intrinsic resistance of the fibre. The improvement observed in paper reinforced with LCNF is due to the boost in the number of hydrogen bonds between fibres promoted by the greater specific surface area of the LCNF. More than 3 wt% of LCNF did not lead to an improvement in breaking length, probably because there was no more linkable area available. The burst index also increased up to 50 % after the addition of 4 % of LCNF. In contrast to the other physical properties, tear index showed its maximum value with 1 % of LCNF, being this increase of a 7.1 % versus initial value. This is because in pulps with a low degree of union between the fibres, the tear index increases when the fibre-to-

Cellulose

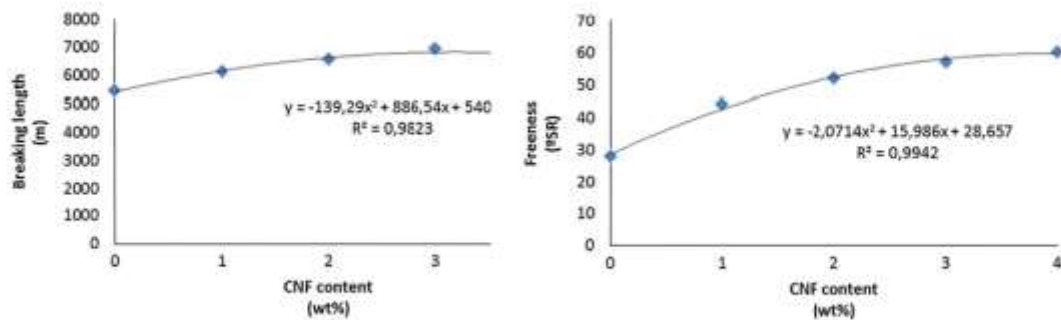


Fig. 7 Evolution of the breaking length (left) and Schopper-Riegler (right) of wheat straw pulps in relation with the CNF content

fibre union improves, as it is in the case with the addition of LCNF. However, when the degree of union between fibres is already high, as in the case of pulps reinforced with LCNF, tear index is determined by the strength and length of the fibres, so larger amounts of LCNF will not produce significant improvement of the tear index.

#### Interactions between wheat fibres, fines and LCNF

The rate of increase in breaking length after LCNF addition depends on the tensile strength of fibres and their morphological properties. This means that pulps and fibres with different morphology and tensile strength will increase their breaking length at different rates. Considering that the increase in the number of hydrogen bonds between fibres is the main mechanism of resistance of paper, it is expected that fibres with a low binding capacity show higher rate increase than those that are well linked. Therefore, it can be accepted that mechanical and recycled pulp show a more significant increase than, for example, beaten chemical pulps (Brodin et al. 2014). However, when LCNF were used to reinforce papermaking slurries from bleached eucalyptus pulp, breaking length improved from 2098 to 3972 m, an increase of 89 % after adding 3 wt% of LCNF; this rate of increase is far superior than seen in paper sheets from wheat soda pulp with the same nanofibres content, as it has been explained before.

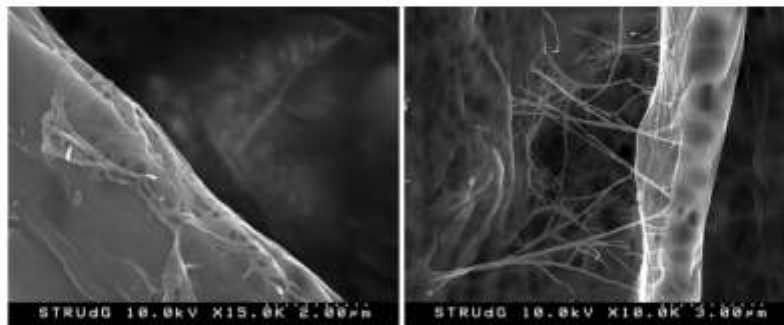
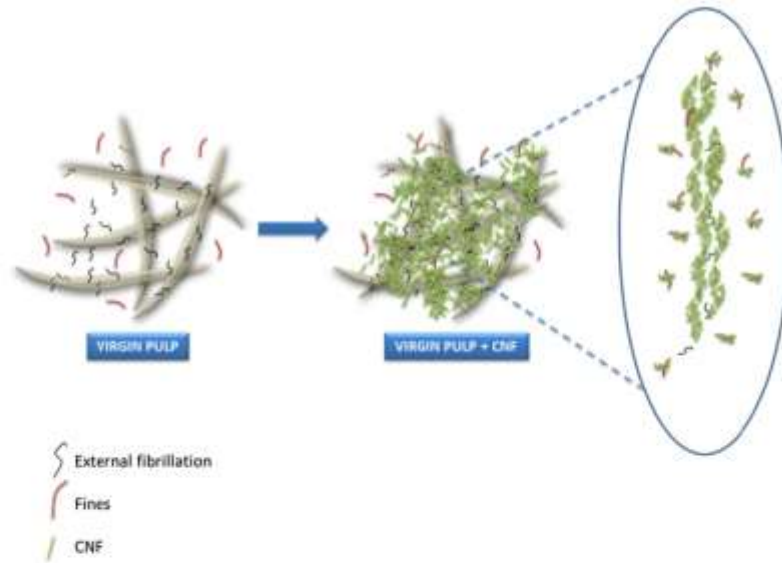
In order to understand this difference in the rate of increase it is important to consider the role that the high content of fines may have in the interaction between wheat soda pulp and LCNF.

During paper formation, the fines that freely float in the water interact with the LCNF in such a way that a part of the nanofibres forms links with the fines and not with the fibres. This would significantly reduce the reinforcing effect of nanofibres while the °SR would remain at high levels by the combined effect of fines and LCNF. Figure 8 shows the proposed mechanism of interaction among fines, LCNF and fibres within the suspension. It is expected, therefore, that by removing fines before the addition of LCNF it could be possible to improve the linking ability of LCNF with fibres, which could ultimately lead to more significant increases in paper's strength. According to this reasoning, paper sheets with 3 wt% of LCNF were fabricated from wheat soda pulp without fines. Mechanical tests indicated an improvement in breaking length from originally 5713 m (wheat semichemical pulp with 13.9 % of fine content) to 7609 m. This result clearly shows that the presence of fines limits the reinforcing effect of LCNF. FE-SEM images of LCNF and fibres are shown in Fig. 9. The images indicate that the LCNF are distributed either filling the gaps between (right picture) fibres or partially covering them (left picture). Both types of distribution increase the amount of hydrogen bonds between fibres, accounting for the significant increase in mechanical properties even at low LCNF content.

#### Conclusions

In this work, the feasibility of wheat straw as a raw material to produce lignocellulose nanofibres and their application as papermaking additive was studied. This pulp was chosen due to its relatively low residual

**Fig. 8** Proposed mechanism of interaction between fines, CNF and fibres



**Fig. 9** FE-SEM images of LCNF and fibres. *Left* LCNF covering the surface of a fibre; *right* LCNF occupying the gaps between fibres

lignin content and high amount of hemicelluloses. LCNF were prepared using mechanical pre-treatment via PFI beater followed by high-pressure homogenization. In addition, LCNF have been compared to in principle sustainable and low-cost CNF from wood obtained by enzymatic based processes as well as with mechanical CNF also from wood. It has been demonstrated that not only LCNF are cheaper, but also that they are better in terms of effectiveness when applied in paper. The use of LCNF on papermaking slurry based on wheat soda pulp induced an improvement in breaking length and burst index in relation to

unreinforced paper, whereas tear index remained almost constant. Besides, paper sheets became thinner as more LCNF was added, leading to an increase in density and a reduction in porosity. It was also demonstrated that the presence of fines can sensibly hinder the rate of increase in paper's mechanical properties. By removing fines, the rate of increase was significantly improved in comparison with fine-containing pulps.

**Acknowledgments** The authors are grateful to Spain's DGICYT, MICINN for funding this research within the framework of the Projects CTQ2013-46804-C2-2-R.

## References

- Afra E, Yousefi H, Hadilam MH, Nishino T (2013) Comparative effect of mechanical beating and nanofibrillation on paper properties made from bagasse and softwood pulps. *Carbohydr Polym* 97:725–730
- Alcalá M, González I, Boufi S, Vilaseca F, Mutjé P (2013) All-cellulose composites from unbleached hardwood kraft pulp reinforced with nanofibrillated cellulose. *Cellulose* 20: 2909–2921
- Alila S, Besbes I, Rei Vilar M, Mutjé P, Boufi S (2013) Non-woody plants as raw materials for production of microfibrillated cellulose (MFC): a comparative study. *Ind Crop Prod* 41:250–259
- Ankerfors M (2015) Microfibrillated cellulose: energy-efficient preparation techniques and applications in paper. Doctoral Thesis, KTH Royal Institute of Technology
- Besbes I, Rei Vilar M, Boufi S (2011) Nanofibrillated cellulose from Alfa, Eucalyptus and Pine fibres: preparation, characteristics and reinforcing potential. *Carbohydr Polym* 86:1198–1206
- Brodin FW, Gregersen ØW, Syverud K (2014) Cellulose nanofibrils: challenges and possibilities as paper additive or coating material. *Nor Pulp Pap Res J* 29(1):156–166
- Carrasco F, Mutjé P, Pelach MA (1996) Refining of bleached cellulosic pulps: characterization by application of the colloidal titration technique. *Wood Sci Technol* 30(4): 227–236
- Carrasco F, Mutjé P, Pelach MA (1998) Control of retention in paper-making by colloid titration and zeta potential techniques. *Wood Sci Technol* 32(2):145–155
- Carvajal M, Mota C, Alcaraz-López C, Iglesias M, Martínez Ballesta MC (2008) Investigación sobre la absorción de CO<sub>2</sub> por los cultivos más representativos. Accessed Nov 2014
- Chaker A, Alila S, Mutjé P, Rei Vilar M, Boufi S (2013) Key role of the hemicelluloses content and the cell morphology on the nanofibrillation effectiveness of cellulose pulp. *Cellulose* 20:2863–2875
- Confederation of European Paper Industries. Key statics 2010. [www.cepi.org](http://www.cepi.org). Accessed Nov 2014
- Delgado-Aguilar M, González I, Pelach MA, De La Fuente E, Negro C, Mutjé P (2014) Improvement of deinked old newspaper/old magazine pulp suspensions by means of nanofibrillated cellulose addition. *Cellulose* 22(1): 789–802
- Eriksen Ø, Syverud K, Gregersen Ø (2008) The use of microfibrillated cellulose produced from kraft pulp as strength enhancer in TMP paper. *Nor Pulp Pap Res J* 23(3):299–304
- Ferrer A, Quintana E, Filpponen I, Solala I, Vidal T, Rodríguez A, Laine J, Rojas OJ (2012) Effect of residual lignin and heteropolysaccharides in the nanofibrillar cellulose and nanopaper from wood fibers. *Cellulose* 19:2179–2193
- García Hortal JA (2007) Fibras papeleras. Universidad Politécnica Cataluña, Barcelona
- González I, Boufi S, Pelach M, Alcalá M, Vilaseca F, Mutjé P (2012) Nanofibrillated cellulose as paper additive in eucalyptus pulps. *BioResources* 7(4):5167–5180
- González I, Alcalá M, Arbat G, Vilaseca F, Mutjé P (2013) Suitability of rapeseed chemithermomechanical pulp as raw material in papermaking. *BioResources* 8(2): 1697–1708
- González I, Alcalá M, Chinga-Carrasco G, Vilaseca F, Boufi S, Mutjé P (2014) From paper to nanopaper: evolution of mechanical and physical properties. *Cellulose* 21(4): 2599–2609
- González-García S, Moreira MT, Artal G, Li Maldonado, Feijoo G (2010) Environmental impact assessment of non-wood based pulp production by soda-anthraquinone pulping process. *J Clean Prod* 18(2):137–145
- Henriksson M, Henriksson G, Berglund LA, Lindström T (2007) An environmentally friendly method for enzyme-assisted preparation of microfibrillated cellulose (MFC) nanofibers. *Eur Polym J* 43:3434–3441
- Henriksson M, Berglund LA, Isaksson P, Lindström T, Nishino T (2008) Cellulose nanopaper structures of high toughness. *Biomacromolecules* 9:1579–1585
- Janardhanan S, Sain MM (2006) Isolation of cellulose microfibrils—an enzymatic approach. *BioResources* 1(2): 176–188
- Naderi A, Lindström T, Sundström J (2015) Repeated homogenization, a route for decreasing the energy consumption in the manufacturing process of carboxymethylated nanofibrillated cellulose? *Cellulose* 22(2):1147–1157
- Nogi M, Iwamoto S, Nakagaito AN, Yano H (2009) Optically transparent nanofiber paper. *Adv Mater* 21:1595–1598
- Pääkkö M, Ankerfors M, Kosonen H, Nykänen A, Ahola S, Österberg M, Ruokolainen J, Laine J, Larsson PT, Ikkala O, Lindström T (2007) Enzymatic hydrolysis combined with mechanical shearing and high-pressure homogenization for nanoscale cellulose fibrils and strong gels. *Biomacromolecules* 8:1934–1941
- Rodríguez A, Sánchez R, Requejo A, Ferrer A (2010) Feasibility of rice straw as a raw material for the production of soda cellulose pulp. *J Clean Prod* 18:1084–1091
- Rouger J, Mutjé P (1984) Correlation between the cellulose fibres beating and the fixation of a soluble cationic polymer. *Br Polym J* 16(2):83–86
- Saito T, Kimura S, Nishiyama Y, Isogai A (2007) Cellulose nanofibres prepared by TEMPO-mediated oxidation of native cellulose. *Biomacromolecules* 8:2485–2491
- Solala I, Volperts A, Anderson A, Dizhbite T, Mironova-Ulmane N, Vehniäinen A, Pere J, Vuorinen T (2011) Mechanoradical formation and its effects on birch kraft pulp during the preparation of nanofibrillated cellulose with Masuko refining. *Holzforchung* 66:477–483
- Spence K, Venditti RA, Rojas OJ, Habibi Y, Pawlak JJ (2011) A comparative study of energy consumption and physical properties of microfibrillated cellulose produced by different processing methods. *Cellulose* 18:1097–1111
- Taipale T, Österberg M, Nykänen A, Ruokolainen J, Laine J (2010) Effect of microfibrillated cellulose and fines on the drainage of kraft pulp suspension and paper strength. *Cellulose* 17:1005–1020
- Turbak A, Snyder F, Sandberg K (1983) Microfibrillated cellulose: a new cellulose product: properties, uses, and commercial potential. *J Appl Polym Sci Appl Polym Symp* 37:815–827

Vargas F, González Z, Sánchez R, Jiménez L, Rodríguez A (2012) Straw pulps for packaging. *BioResources* 7(3):4161–4170  
[www.fao.org](http://www.fao.org). Accessed Nov 2014

Wågberg L, Decher G, Norgren M, Lindström T, Ankerfors M, Axnäs K (2008) The build-up of polyelectrolyte multilayers of microfibrillated cellulose and cationic polyelectrolytes. *Langmuir* 24:784–795

## **Publicación II**

***Isolation and characterization of lignocellulose nanofibers  
from different wheat straw pulps***

R. Sánchez, E. Espinosa, J. Domínguez-Robles, JM. Loaiza  
and A. Rodríguez

**International Journal of Biological Macromolecules**

**(2016) 92:1025-1033**

JCR Factor de Impacto (2016): 3,671

Posición (2016): 9/72, Q1 en "Chemistry, Applied"







## Isolation and characterization of lignocellulose nanofibers from different wheat straw pulps



Rafael Sánchez<sup>a</sup>, Eduardo Espinosa<sup>a,\*</sup>, Juan Domínguez-Robles<sup>a</sup>, Javier Mauricio Loaiza<sup>b</sup>, Alejandro Rodríguez<sup>a</sup>

<sup>a</sup> Chemical Engineering Department, Faculty of Science, University of Córdoba, Building Marie-Curie, Campus of Rabanales, 14014 Córdoba, Spain  
<sup>b</sup> Chemical Engineering Department, Campus "El Carmen", University of Huelva, Av. 3 de Marzo s/n, 21071 Huelva, Spain

### ARTICLE INFO

#### Article history:

Received 19 May 2016

Received in revised form 12 July 2016

Accepted 8 August 2016

Available online 8 August 2016

#### Keywords:

Lignocellulose nanofiber

Organosolv

Kraft

Soda

Wheat straw

Characterization

### ABSTRACT

Wheat straw was cooked under different pulping processes: Soda (100 °C, 7% NaOH, 150 min), Kraft (170 °C, 16% alkalinity, 25% sulfidity, 40 min) and Organosolv (210 °C, 60% ethanol, 60 min). Once the pulps were obtained, lignocellulose nanofibers (LCNF) were isolated by mechanical process and TEMPO-mediated oxidation followed by a high pressure homogenization. After pulping process, the different pulps were characterized and its chemical composition was determined. The pulps characterization indicates that the Soda process is the process that, despite producing less delignification, retains much of the hemicelluloses in the pulp, being this content a key factor in the nanofibrillation process. Regarding the LCNF obtained by mechanical process, those nanofibers isolated from Organosolv wheat pulp (OWP) and Kraft wheat pulp (KWP) show low values for nanofibrillation yield, specific surface area and greater diameter. However, those nanofibers isolated from Soda wheat pulp (SWP) reach much higher values for these parameters and presents a diameter of 14 nm, smaller than those obtained by TEMPO-mediated oxidation from OWP. Smaller diameters are generally obtained in TEMPO-oxidized LCNF. This work concludes that the lignin content does not affect greatly to obtain LCNF as does the hemicellulose content, so it is accurate to use a soft pulping process.

© 2016 Elsevier B.V. All rights reserved.

### 1. Introduction

Lignocellulosic waste materials obtained from energy crops, wood and agricultural activity represents the most abundant global source of renewable biomass [1]. About 21% of the world's food depends on the wheat crop and its global production needs to be increased to satisfy the growing demand of human consumption [2], thereupon, wheat is one of the most cultivated cereals worldwide, with 2.5 million tons produced in 2015 [3]. Around 6–5 million tons were produced in Spain, being the 21st world producer. The wheat crops generate huge amount of straws, in addition to grain which is used mainly to produce bread, flour, animal feeding, etc. These straws, in the most occasions, are buried in soil or burnt in the field causing air pollution and fire risk, used as organic compost and as cattle feed. These uses do not added value to agricultural activity and are not sufficient to manage all waste generated in agricultural activity.

The use of different kinds of lignocellulosic materials for bio-composites have great potential in many important fields, such as optoelectronic devices, packaging and building [4]. This fact is due to its availability, biocompatibility, biological degradability and sustainability. These new fields of application for the lignocellulosic materials could valorize those residues produced in the agricultural industry.

The hierarchical structure of cellulose can be deconstructed by means of intense mechanical treatment to obtain nanosized fibrils known as cellulose nanofibers (CNF). The cellulose nanomaterials exhibit excellent properties such as: high elastic modulus, high specific surface areas, high optical transparency, low thermal expansion coefficient and chemical reactivity [5,6].

Different pre-treatments have been developed since the first isolation of cellulose nanofibers [7]:

- TEMPO-mediated oxidation [8].
- Mechanical process [9].
- Enzymatic Hydrolysis [10].
- High-intensity ultrasonification [11].

\* Corresponding author at: University of Córdoba, Campus of Rabanales, Marie-Curie Building, Ctra. N-IV, km. 396, 14014, Córdoba, Spain.  
 E-mail address: [eduardo.espinosa@uco.es](mailto:eduardo.espinosa@uco.es) (E. Espinosa).

**Table 1**  
Characterization of different wheat pulps.

	AE (%)	Ash (%)	$\alpha$ -cellulose (%)	Hemicellulose (%)	Lignin (%)	SR	DP	Kappa Number	Yield (%)
SWP	1.4 $\pm$ 0.2	2.47 $\pm$ 0.1	60.7 $\pm$ 0.6	26.0 $\pm$ 3.2	13.3 $\pm$ 0.6	28	1464.9 $\pm$ 3.9	47.7	49.6
OWP	3.40 $\pm$ 0.4	1.08 $\pm$ 0.1	82.7 $\pm$ 1.2	8.4 $\pm$ 0.6	11.5 $\pm$ 0.2	20	1421.6 $\pm$ 10.5	51.1	42.5
KWP	0.95 $\pm$ 0.1	1.10 $\pm$ 0.1	91.8 $\pm$ 2.5	3.9 $\pm$ 0.1	5.9 $\pm$ 0.7	20.6	2480.4 $\pm$ 5.6	21.0	40.7

AE: Alcohol Extractable; SR: Schopper-Riegler Degree; DP: Degree of Polymerization.

### 2.9. Carboxyl content

The carboxyl content for the different LCNF was determined by conductimetric titration, following the methodology described by Besbes et al. [16] according to the next equation:

$$CC = \frac{(V_2 - V_1) \cdot [NaOH]}{\text{Sample dried weight (g)}}$$

Three measures for each sample were realized and the mean and the standard deviation were calculated.

### 2.10. Cationic demand

The cationic demand was determined using a Mutek PCD 05 particle charge detector adapting the methodology followed by Carrasco et al. [18]. Firstly, different samples of LCNF (0.04 g dried weight) were diluted in 1L distilled water and dispersed using a pulp disintegrator at 3000 rpm for 10 min. Then, 10 mL were taken and mixed with 25 mL of cationic polymer, polydiallyldimethylammonium chloride (poly-DADMAC) for 5 min with magnetic stirring. Once mixed, the mixture was centrifuged in a Nahita Centrifuge model 2740 for 90 min at 4000 rpm. Then, 10 mL of the supernatant were taken to the Mutek equipment. An anionic polymer (Pes-Na) was added to the sample with a pipette until the equipment reached 0 mV. The volume of anionic polymer consumed was used to calculate the cationic demand using the next equation:

$$CD = \frac{(C_{\text{Poly-D}} \cdot V_{\text{Poly-D}}) \cdot (V_{\text{Pes-Na}} \cdot C_{\text{Pes-Na}})}{\text{Dried weight of sample}}$$

Three measures for each sample were realized and the mean and the standard deviation were calculated.

### 2.11. Specific surface and diameter estimation

The theoretical estimation of specific surface and diameter for the different LCNF was determined following assumptions and methodology proposed by Carrasco et al. [19].

## 3. Results and discussion

### 3.1. Wheat straw fibers

Furthermore to containing 39.7%  $\alpha$ -cellulose, wheat straw present other non-cellulose materials such as 30.6% hemicellulose, 5.20% alcohol extractable, 7.72% ash and 17.7% lignin and other minor components like waxes, pectin, etc. [14]. Some of these non-cellulosic materials like lignin, waxes, etc. must be reduced from the fiber to ease the LCNF production. To accomplish this reduction, wheat straw underwent to different pulping processes (kraft, organosolv and soda) to analyse the suitability of different processes in the LCNF production.

The chemical characterization of the different pulps obtained and other characteristics were determined for the different pulp such as: Schopper-Riegler Degree (SR), Degree of Polymerization (DP), Kappa Number and Yield as is reflected in Table 1.

Once pulped, it is observed that a decrease in lignin, hemicellulose and ash contents occurs. The kraft and organosolv processes

result in fibers with low hemicellulose content, high  $\alpha$ -cellulose content and in the case of kraft process, low lignin content. Regarding soda process, the pulp obtained present a lower  $\alpha$ -cellulose content and a higher hemicellulose content compared to other pulping processes, hemicelluloses play an important role on nanofibrillation, because it inhibits coalescence of the cellulose microfibrils promoting nanofibrillation process [20,21].

The different pulps obtained present a similar SR, founding the highest one in the pulp obtained by soda process. The Schopper-Riegler Degree indicates the bonding strength of the fibers [22]. The Degree of Polymerization was obtained from the intrinsic viscosity and it is related to the length of the fiber. Then, fibers of greater length are obtained from kraft process compared to the resulting fibers from soda and organosolv processes, which give as result similar length fibers. The Kappa Number indicates the delignification degree which the pulp has suffered during the pulping process. In relation to the observed data in Table 1, the value of Kappa number of different pulps is in relation to the lignin content of fibers [23]. Due to soda process produces lower delignification and removal of hemicellulose, a slightly higher yield is obtained in comparison with the other pulping processes.

The effects caused by the different pulping processes in the FTIR spectra are presented in Fig. 1. The peaks at 3335  $\text{cm}^{-1}$  and 2894  $\text{cm}^{-1}$ , can be attributed to stretching vibrations of O–H and C–H groups, respectively [24]. The peak at 1642  $\text{cm}^{-1}$  assigned to C=O stretching in carboxyl group. The peak at 1514  $\text{cm}^{-1}$  occurs because of stretching of aromatic rings of lignin [25]. This peak is less intense in pulp obtained by kraft process because of the lower lignin content than the lignin content of the pulps obtained by soda and organosolv processes. The peaks at 1369  $\text{cm}^{-1}$  and 1163  $\text{cm}^{-1}$  correspond to C–H groups vibration and glycosidic bond related to cellulose structure [26]. The intense peak at 1036  $\text{cm}^{-1}$  is related to carbonyl linkage present in cellulose [27]. The peak at 901  $\text{cm}^{-1}$  is indicative of the purity of the cellulose and it is associated with C–H vibrations of cellulose [28].

The XRD analyses were performed to determine the influence of the pulping process in the crystallinity of the cellulose structure. Fig. 2 shows the XRD pattern and the corresponding crystallinity indices. All cellulose samples show typical cellulose I structure with the characteristic peaks of 2 $\theta$  angles at around 16.5 $^\circ$  and 22 $^\circ$  corresponding to the (110) and (200) planes. Lignin and hemicelluloses are non-crystalline components, therefore, the crystallinity of the samples is determined by the composition thereof. Due to the higher content of hemicellulose and lignin, the pulp obtained by soda process present a lower crystallinity index [29]. The pulps resulting from kraft and organosolv processes feature higher crystallinity index owing to the higher  $\alpha$ -cellulose content in fiber.

The TGA and DTG curves obtained on the thermogravimetric analysis are shown in Fig. 3. All the pulp samples showed two steps of weight loss. The first one, was observed at 60–300  $^\circ\text{C}$  with 5–6% of weight loss which was mainly due to the evaporation of water in the fiber. The major weight loss was observed in the second step around 300–400  $^\circ\text{C}$ , which corresponds mainly to the degradation of cellulose and hemicellulose. The maximum thermal degradation for OWP, KWP and SWP occurs at 359  $^\circ\text{C}$ , 350  $^\circ\text{C}$  and 346  $^\circ\text{C}$ , respectively. These differences on the thermal stability for the different samples could be relate to the crystallinity of samples, due

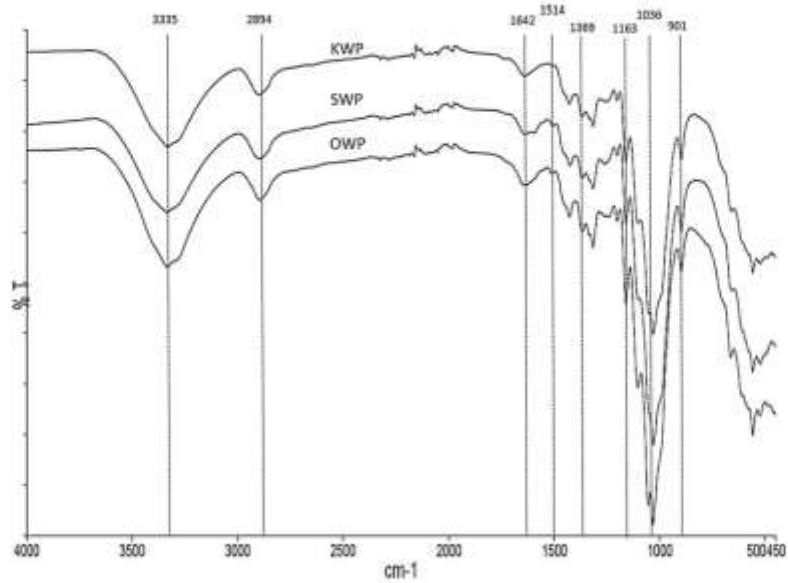


Fig. 1. FTIR spectra of kraft wheat pulp (KWP), soda wheat pulp (SWP) and organosolv wheat pulp (OWP).

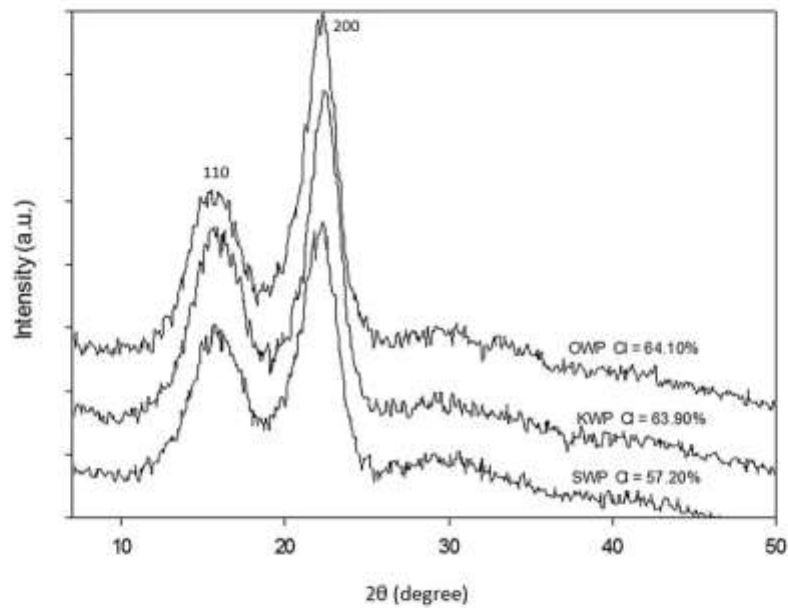


Fig. 2. XRD spectra of Organosolv Wheat Pulp (OWP), Kraft Wheat Pulp (KWP) and Soda Wheat Pulp (SWP).

to the greater thermal stability of the crystalline regions regarding amorphous region.

### 3.2. Wheat straw lignocellulosic nanofibers characterization

The characteristics of wheat straw lignocellulosic nanofibers are showed in Table 2. It is observed that for both pre-treatment,

mechanical and TEMPO-mediated oxidation, those LCNF isolated from wheat straw pulp from soda process allow a greater nanofibrillation yield than the rest of LCNF isolated (kraft and organosolv). This major nanofibrillation yield may be due to high content of hemicellulose that soda wheat straw pulp presents, favouring the nanofibrillation process [20,21]. This higher nanofibrillation degree is also observed in the transmittance values, in this case it is

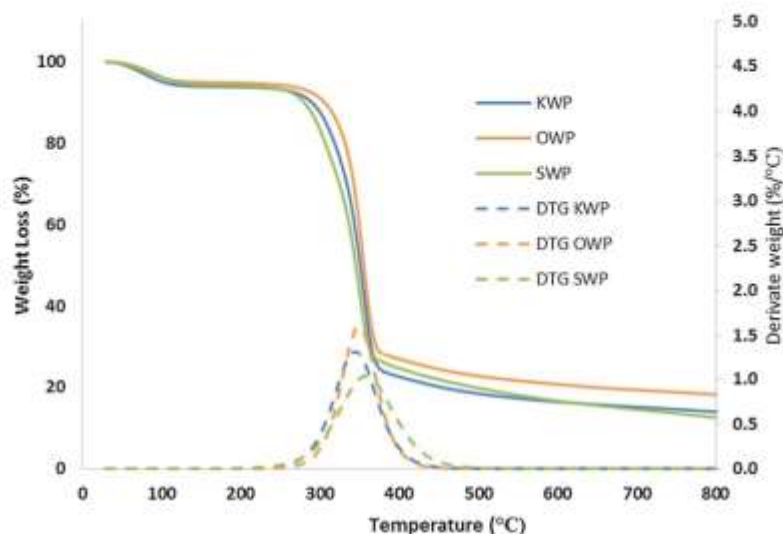


Fig. 3. TGA and DTG curves of wheat straw pulp.

Table 2  
Wheat straw lignocellulose nanofibers characteristics.

LCNF type	Yield (%)	Transmittance (%)	Cationic Demand ( $\mu\text{eq/g}$ )	Carboxyl Content ( $\mu\text{eq/g}$ )	Specific Surface ( $\text{m}^2/\text{g}$ )	Diameter (nm)	Degree of Polymerization (DP)
Mec-KWP	20.0 $\pm$ 2.1	14	101.90 $\pm$ 15.01	<74.4	13.4	186.71	1327.2 $\pm$ 4.3
Mec-OWP	11.2 $\pm$ 1.5	8	84.87 $\pm$ 15.01	<74.4	5.1	490.20	853.5 $\pm$ 7.7
Mec-SWP	55.6 $\pm$ 2.0	55	441.06 $\pm$ 7.50	<74.4	178.5	14.01	1395.6 $\pm$ 5.7
TO-KWP	25.7 $\pm$ 0.9	57	899.93 $\pm$ 31.75	361.7 $\pm$ 4.72	262.1	9.54	310.3 $\pm$ 1.5
TO-OWP	20.0 $\pm$ 3.3	17	650.45 $\pm$ 31.75	362.5 $\pm$ 6.08	140.2	17.83	275.4 $\pm$ 4.7
TO-SWP	>95	75	1116.50 $\pm$ 15.01	367.0 $\pm$ 8.72	367.0	6.81	502.4 $\pm$ 6.0

observed again than the highest values are obtained for those LCNF isolated from soda pulp. In isolating LCNF from mechanical process, smaller diameter nanofibers for those originating from soda pulp are obtained, followed from those isolated from kraft pulp and finally those obtained from organosolv pulp. Due to its smaller diameter, these nanofibers present higher specific surface area than the rest. After TEMPO-mediated oxidation, carboxyl content increases due to the introduction of carboxylic groups into the primary alcohol groups on the surface of cellulose nanofibrils, being the carboxyl content values similar to those reported previously on bibliography for those obtained by mechanical treatment (77.4  $\mu\text{mol/g}$ ) [23] and by TEMPO-mediated oxidation (300  $\pm$  10) [16,30]. Generally, as a result of higher specific surface and carboxyl content, TEMPO-oxidized (TO) LCNF presents a higher cationic demand compare with those obtained by mechanical process (Mec), due to fibrillation leads to a larger specific surface area of fibers as a result of cell-wall delamination, which increases the cationic demand, reaching even, for the case of TO-SWP, higher values to those obtained from softwood bleached Kraft pulp (859  $\mu\text{eq/g}$ ) [31]. Finally, the degree of polymerization reveals that nanofibers obtained by TEMPO-mediated oxidation undergo further degradation than those obtained mechanically, resulting in smaller diameter fibers and length [32]. Although TEMPO-mediated oxidation is specific for selective oxidation of C6 primary alcohol groups into aldehydes and/or carboxylic acid groups, they affect the degree of polymerization of the oxidized cellulose [33].

Figs. 4 and 5 show the diffraction spectra for the different LCNF obtained by mechanical process and TEMPO-mediated oxidation

which was used to evaluate the effect of pre-treatment on crystallinity. For those LCNF that were obtained by mechanical beating as pre-treatment shows that a decrease occurs in the crystallinity index of the samples. A depth beating produces that the crystallinity index of the samples decreased due to a high beating intensify the forces acting on crystalline regions of cellulose [34]. The mechanical LCNF obtained from the soda pulp (Mec-SWP), presents a higher crystalline index, this fact can occur for two reasons, the first may be that these fibers present higher lignin content, which is a hydrophobic component that do not allow the swelling of the fiber during the mechanical beating resulting in a reduction in the effectiveness of it; and the second, that these fibers present a higher hemicellulose content, which favour the fibrillation, thereby producing less 'stress' on the cellulose structure, including crystalline regions.

Regarding the LCNF obtained by TEMPO-mediated oxidation, also it produced a decrease in crystalline index in all samples, resulting LCNF with a similar crystallinity. The decrease in the CI of TEMPO-oxidized LCNF was suggested by the sodium glucuronosyl units that lead to convert some crystalline cellulose molecules into disordered structures [35].

The infrared spectra of LCNF obtained by TEMPO-mediated oxidation and mechanical processes are illustrated in Fig. 6. In the spectra for mechanical LCNF, no differences were observed compared to the original paste because no modifications occur in the chemical structure of cellulose during the mechanical process. However, the spectra for TEMPO-oxidized LCNF reveal some structure changes in samples. The peak at 1642  $\text{cm}^{-1}$  corresponding to C=O stretching in carboxyl groups are more intense in the oxidized

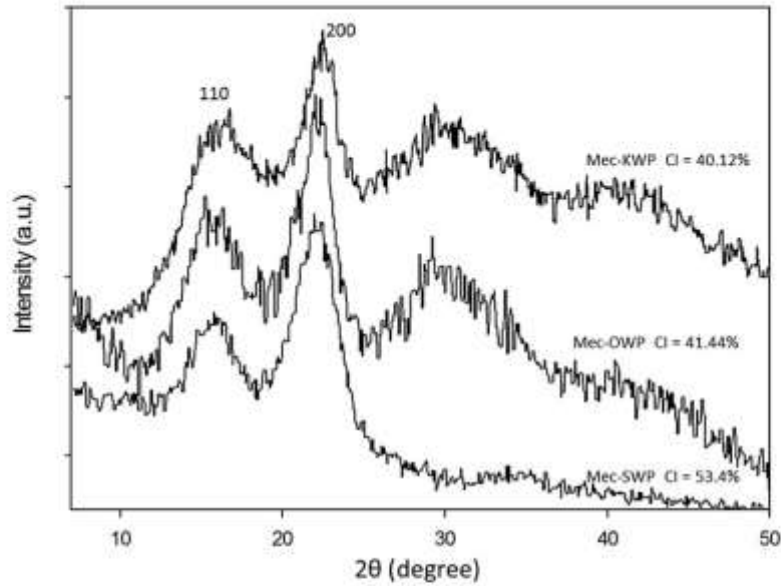


Fig. 4. XRD diffraction pattern of mechanical LCNF from kraft wheat pulp (Mec-KWP), organosolv wheat pulp (Mec-OWP) and soda wheat pulp (Mec-SWP).

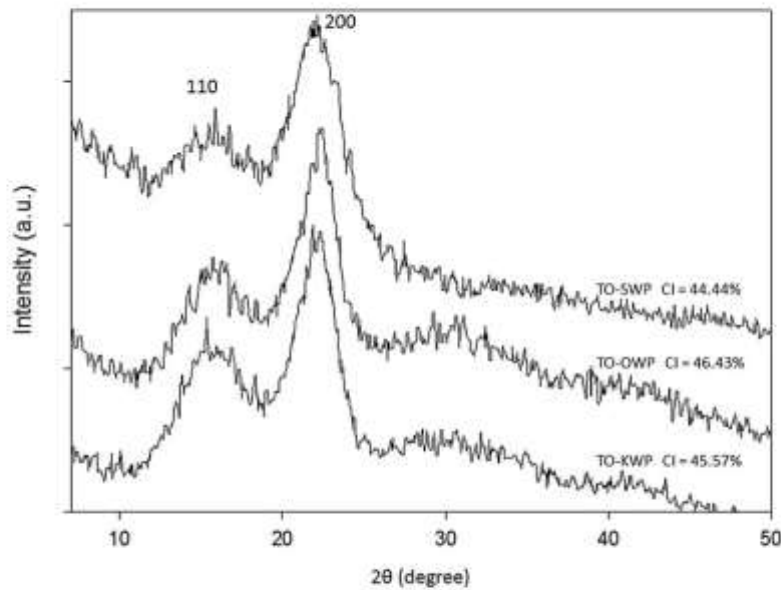


Fig. 5. XRD diffraction pattern of TEMPO-oxidized LCNF from kraft wheat pulp (TO-KWP), organosolv wheat pulp (TO-OWP) and soda wheat pulp (TO-SWP).

cellulose as it reflected in carboxyl content of samples. The peak at  $1514\text{ cm}^{-1}$ , corresponding to aromatic ring of lignin structure, disappears as a result of lignin oxidation suffered during TEMPO-mediated oxidation, resulting bleached fibers.

The thermal stability of different LCNF were investigated by TGA and DTG curves shown in Fig. 7. All LCNF prepared by TEMPO-mediated oxidation presents similar patterns in TGA and DTG

curves. The maximum rate of thermal degradation for TO-KWP, TO-OWP and TO-SWP betides at  $304\text{ }^\circ\text{C}$ ,  $301\text{ }^\circ\text{C}$  and  $295\text{ }^\circ\text{C}$ , respectively. The lower thermal stability of TEMPO-oxidized fibers from soda wheat pulp is due to the smaller diameter of the LCNF compared with the rest of TO-LCNF isolated. In the case of LCNF obtained by mechanical process, although the Mec-SWP presents a higher crystallinity index than the others, the smallest diameter presented

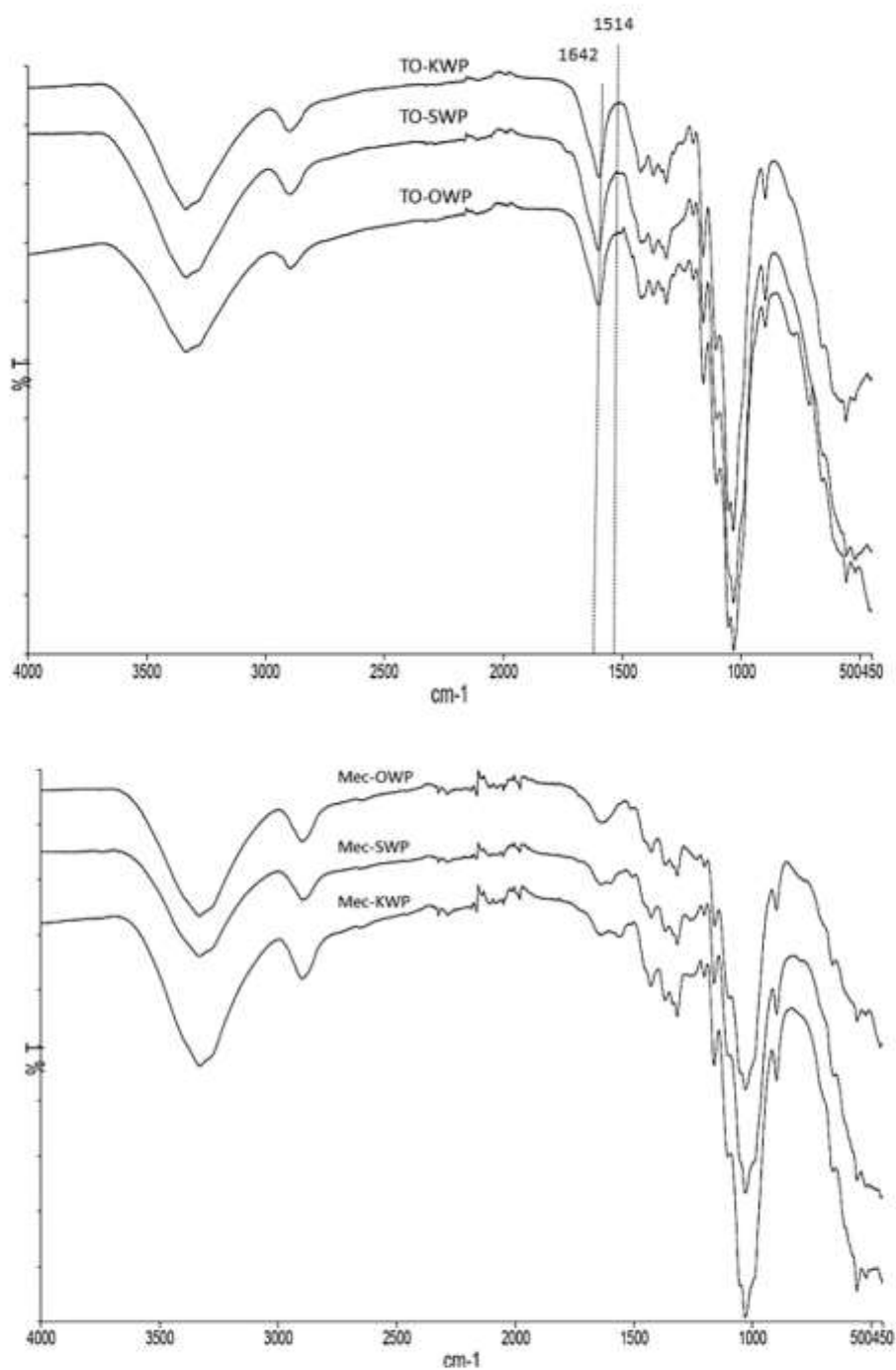


Fig. 6. FTIR spectra of LCNF obtained by TEMPO-mediated oxidation (up) and by mechanical process (down).

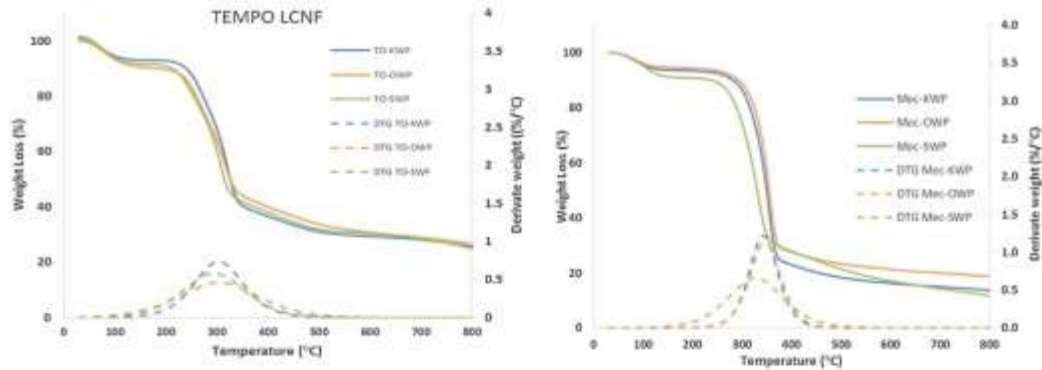


Fig. 7. TGA and DTG curves of the different LCNF. Left) TO-LCNF, Right) Mec-LCNF.

by this fibers, results in a lower thermal stability than the rest of Mec-LCNF [36]. The differences in the maximum degradation between Mec-LCNF (around 345 °C) and TO-LCNF (around 300 °C) is attributed to the higher carboxyl content on the TO-LCNF surface (300  $\mu\text{eq/g}$ ) resulting in a larger number of free ends and in a worse thermal stability compared with carboxyl content on the Mec-LCNF surfaces (74.4  $\mu\text{eq/g}$ ) [37].

#### 4. Conclusions

The values of the nanofibrillation yields for the three lignocellulose nanofibers obtained by TEMPO-mediated oxidation (Kraft, Soda and Organosolv) were the greatest, except for the value obtained for the mechanical LCNF from Soda wheat straw pulp, which reach similar values than TEMPO-oxidized LCNF. The crystallinity indices for the LCNF are lower than those indices for the original pulps. The thermal stability of the LCNF are higher in those obtained by mechanical process, which have a maximum degradation around 345 °C compared to 300 °C in TO-LCNF. It is concluded that for an effective isolation of LCNF is required a pulping processes that are able to maintain high hemicellulose contents, in the case of this work, the soda process.

#### Acknowledgements

The authors are grateful to Spain's DGICYT, MICINN for funding this research within the framework of the Projects CTQ2013-46804-C2-2-R and supported by the Spanish Ministry of Science and Education through the National Program FPU (grant number FPU14/02278), and also to the staff of the Central Service for Research Support (SCAI) at the University of Córdoba.

#### References

- [1] Y. Lin, S. Tanaka, Ethanol fermentation from biomass resources: current state and prospects, *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 69 (206) (2016) 627–642.
- [2] R. Ortiz, K.D. Sayre, B. Govaerts, R. Gupta, G.V. Subbarao, T. Bai, D. Hodson, J.M. Dixon, J. Ivan Ortiz-Monasterio, M. Reynolds, Climate change: can wheat beat the heat? *Agric. Ecosyst. Environ.* 126 (2008) 46–58.
- [3] FAOSTAT, 2014. <http://faostat3.org/faostat-gateway/go/to/home/#> (Last time accessed April 2016).
- [4] K. Missoom, F. Martola, M.N. Balgacem, J. Bras, Effect of chemically modified nanofibrillated cellulose addition on the properties of fiber-based materials, *Ind. Crops Prod.* 48 (2013) 98–105.
- [5] X. Miao, J. Lin, F. Tian, X. Li, F. Bian, J. Wang, Cellulose nanofibrils extracted from the by-products of cotton plants, *Carbohydr. Polym.* 136 (2016) 841–850.
- [6] J. Velásquez-Cock, C. Castro, P. Galán, M. Osorio, J.L. Putaux, A. Sorpa, R. Zuluaga, Influence of the maturation time on the physico-chemical properties

- of nanocellulose and associated constituents isolated from pseudostems of banana plant cv. Valery, *Ind. Crops Prod.* 83 (2016) 551–560.
- [7] A. Turhak, F. Snyder, K. Sandberg, Microfibrillated cellulose: a new cellulose product: properties, uses, and commercial potential, *J. Appl. Polym. Sci. Appl. Polym. Symp.* 37 (1986) 815–827.
- [8] T. Saito, S. Kimura, Y. Nishiyama, A. Isoga, Cellulose nanofibers prepared by TEMPO-mediated oxidation of native cellulose, *Biomacromolecules* 8 (2007) 2485–2491.
- [9] A. Ferrer, I. Filpponen, A. Rodríguez, J. Laine, O.L. Rojas, Valorization of residual empty palm fruit bunch fibers (EPFBF) by microfluidization: production of nanofibrillated cellulose and EPFBF nanopaper, *Bioresour. Technol.* 125 (2012) 249–255.
- [10] M. Pääkkö, M. Ankerfors, H. Kosonen, A. Nykänen, S. Ahola, M. Österberg, J. Rucköhlman, J. Laine, P.T. Larsson, O. Ikkala, T. Lindström, Enzymatic hydrolysis combined with mechanical shearing and high-pressure homogenization for nanoscale cellulose fibrils and strong gels, *Biomacromolecules* 8 (2007) 1934–1941.
- [11] S. Wang, A. Cheng, A novel process to isolate fibrils from cellulose fibers by high-intensity ultrasonification. Part 1: process optimization, *J. Appl. Polym. Sci.* 113 (2009) 1270–1275.
- [12] F. Vargas, Z. González, R. Sánchez, L. Jiménez, A. Rodríguez, Cellulosic pulps of cereal straws as raw material for the manufacture of ecological packaging, *BioResource* 7 (3) (2012) 4161–4170.
- [13] W.J.J. Huigen, G. Telysheva, A. Arshanjitsa, R.J.A. Gosseleek, P.J. de Wild, Characteristics of wheat straw lignins from ethanol-based Organosolv treatment, *Ind. Crops Prod.* 59 (2014) 85–95.
- [14] E. Espinosa, Q. Tarrés, M. Delgado-Aguilar, I. González, P. Mutjé, A. Rodríguez, Suitability of wheat straw semi-chemical pulp for the fabrication of lignocellulosic nanofibers and their application to papermaking slurries, *Cellulose* 23 (2016) 837–852.
- [15] L. Segal, J.J. Creely, A.E. Martin, C.M. Conrad, An empirical method for estimating the degree of crystallinity of native cellulose using X-ray diffractometer, *Text. Res. J.* 29 (1959) 786–794.
- [16] I. Berbes, S. Allisa, S. Boufi, Nanofibrillated cellulose from TEMPO-oxidized eucalyptus fibres: effect of the carboxyl content, *Carbohydr. Polym.* 84 (3) (2011) 975–983.
- [17] M. Marx-Figini, The acid-catalyzed degradation of cellulose fillers in distinct ranges of bacterial nano-cellulose reinforced fiber-cement composites, *Constr. Build. Mater.* 101 (1987) 958–964.
- [18] F. Carrasco, P. Mutjé, M.A. Pelach, Control of retention in paper-making by colloid titration and zeta potential techniques, *Wood Sci. Technol.* 32 (2) (1998) 145–155.
- [19] F. Carrasco, P. Mutjé, M.A. Pelach, Refining of bleached cellulosic pulps: characterization by application of the colloidal titration technique, *Wood Sci. Technol.* 30 (4) (1996) 227–236.
- [20] S. Iwanata, K. Abe, H. Yano, The effect of hemicellulose on wood pulp nanofibrillation and nanofiber network characteristics, *Biomacromolecules* 9 (3) (2008) 1022–1026.
- [21] S. Aroja, J. Malho, P. Laaksonen, M. Lillie, M.B. Linder, The role of hemicellulose in nanofibrillated cellulose networks, *Soft Matter* 9 (2013) 1319–1326.
- [22] M.E. Valijios, F.E. Felissia, M.C. Aroa, N.V. Ehnman, Q. Tarrés, P. Mutjé, Nanofibrillated cellulose (CNF) from eucalyptus sawdust as a dry strength agent of unrefined eucalyptus handsheets, *Carbohydr. Polym.* 139 (2016) 99–105.
- [23] M. Delgado-Aguilar, I. González, Q. Tarrés, M. Angels Pelach, M. Alcalá, The key role of lignin in the production of low-cost lignocellulosic nanofibers for papermaking applications, *Ind. Crops Prod.* 86 (2016) 295–300.
- [24] M.F. Rosa, E.S. Mercieros, J.A. Malmonge, K.S. Gregoreski, D.F. Wood, L.H.C. Mattoso, G. Glenn, W.J. Orts, S.H. Imam, Cellulose nanowhiskers from coconut

- husk fibres: effect of preparation conditions on their thermal and morphological behaviour, *Carbohydr. Polym.* 81 (2010) 83–92.
- [25] A. Afendrar, M. Sain, Isolation and characterization of nanofibers from agricultural residues – wheat straw and soy hulls, *Bioresour. Technol.* 99 (2008) 1664–1671.
- [26] Z. Xiang, W. Gao, L. Chen, W. Lan, J.Y. Zhu, T. Runge, A comparison of cellulose nanofibrils produced from *Chlorella glomerata* algae and bleached eucalyptus pulp, *Cellulose* 21 (2015) 493–503.
- [27] X. Sun, Q. Wu, S. Ren, T. Lei, Comparison of highly transparent all-cellulose nanopaper prepared using sulfuric acid and TEMPO-mediated oxidation methods, *Cellulose* 22 (2015) 1123–1133.
- [28] A.A. Oung, J.W. Rhim, Characterization of nanocelluloses isolated from Ushar (*Coloprops procerus*) seed fiber: effect of isolation method, *Mater. Lett.* 168 (2016) 146–150.
- [29] C.S. Julie Chandra, G. Neena, K.N. Sumi, Isolation and characterization of cellulose nanofibrils from arecanut husk fibre, *Carbohydr. Polym.* 142 (2016) 158–166.
- [30] F. Jiang, Y.L. Hsieh, Chemically and mechanically isolated nanocellulose and their self-assembled structures, *Carbohydr. Polym.* 95 (1) (2013) 32–40.
- [31] I. González, M. Alcalá, G. Chinga-Carrasco, F. Vilaseca, S. Boufi, P. Mutjé, From paper to nanopaper: evolution of mechanical and physical properties, *Cellulose* 21 (2014) 2599–2609.
- [32] E. Tanaka, T. Saito, D. Ishii, A. Isogai, Determination of nanocellulose fibril length by shear viscosity measurement, *Cellulose* 21 (2014) 1581–1589.
- [33] A. Chaker, P. Mutjé, M.R. Vilar, S. Boufi, Agriculture crop residues as a source for the production of nanofibrillated cellulose with low energy demand, *Cellulose* 21 (2014) 4247–4259.
- [34] S. Iwamoto, A. Nakagaito, H. Yano, Nano-fibrillation of pulp fibers for the processing of transparent nanocomposites, *Appl. Phys. A* 89 (2007) 461–466.
- [35] B. Puangsin, Q. Yang, T. Saito, A. Isogai, Comparative characterization of TEMPO-oxidized cellulose nanofibril films prepared from non-wood resources, *Int. J. Biol. Macromol.* 59 (2013) 208–213.
- [36] J. Li, X. Wei, Q. Wang, J. Chen, G. Chang, L. Kong, J. Su, Y. Liu, Homogeneous isolation of nanocellulose from sugarcane bagasse by high pressure homogenization, *Carbohydr. Polym.* 90 (2012) 1609–1613.
- [37] P.R. Sharma, A.J. Varma, Thermal stability of cellulose and their nanoparticles: effect of incremental increases in carboxyl and aldehyde groups, *Carbohydr. Polym.* 114 (2014) 335–343.



## **Publicación III**

***A comparative study of the suitability of different cereal straws for lignocellulose nanofibers isolation***

E. Espinosa, R. Sánchez, R. Otero, J. Domínguez-Robles and  
A. Rodríguez

**International Journal of Biological Macromolecules**

**(2017) 103:990-999**

JCR Factor de Impacto (2017): 3,909

Posición (2016): 9/72, Q1 en "Chemistry, Applied"





## A comparative study of the suitability of different cereal straws for lignocellulose nanofibers isolation



Eduardo Espinosa<sup>a,\*</sup>, Rafael Sánchez<sup>a</sup>, Rocío Otero<sup>b</sup>, Juan Domínguez-Robles<sup>a</sup>, Alejandro Rodríguez<sup>a</sup>

<sup>a</sup> Chemical Engineering Department, Faculty of Science, University of Córdoba, Building Marie-Curie, Campus of Rabanales, Córdoba, Spain  
<sup>b</sup> Instituto Universitario de Investigación en Química Fina y Nanotecnología (IUQFN), Campus of Rabanales, University of Córdoba, Spain

### ARTICLE INFO

**Article history:**  
 Received 7 April 2017  
 Received in revised form 3 May 2017  
 Accepted 25 May 2017  
 Available online 26 May 2017

**Keywords:**  
 Cereal straws  
 Lignocellulose nanofibers  
 Pretreatments  
 High pressure homogenization  
 Asymmetrical flow field-flow fractionation

### ABSTRACT

The aim of this work is to study the suitability of different soda cereal straw pulps (wheat, barley, corn and oats) to produce lignocellulose nanofibers (LCNF). For the study of the influence of the composition and physical characteristics, the pulps were characterized, observing that the physical characteristics do not influence the nanofibrillation process. However, the composition of the fibers plays a key role, mainly the hemicellulose content. The LCNF produced were characterized: chemical structure (FTIR), crystallinity (XRD), thermal stability (TGA), size (DLS) and colloidal stability (ZP). The TO-LCNF are those which presents higher nanofibrillation yields and lower nanofibers size, however presents low crystallinity, thermal stability and a further depolymerization compared to the others LCNF. The lignin contents allow a greater thermal stability (<330 °C) than the same size CNF (<250 °C). TO-LCNF present more stable suspensions (ZP < -25 mV) due to their higher surface charge (COO<sup>-</sup> groups). AF4 technique was used to effectively determine the size of polydispersed samples of LCNF by avoiding the errors committed by conventional techniques. In addition, it is observed that wheat and barley straws present the most homogeneity in the LCNF samples, being the wheat which presents the best values in the production of LCNF under the three pretreatments.

© 2017 Elsevier B.V. All rights reserved.

### 1. Introduction

The circular economy seeks to achieve a greater efficiency in the use and exploitation of natural resources, as well as less dependence on fossil resources. The agricultural sector is one of the largest consumers of natural resources, in addition, generating large quantities of waste. The conversion of these residues into value added products through innovation and technological development will make agriculture activity a more sustainable and competitive sector than it is nowadays, favoring a circular economy.

Cereal is one of the most widespread crops worldwide, being the world production in 2014 of 2707 million tons [1], due to their possibility to grown in diversity of latitudes, climates and soils. Wheat, corn, oats and barley are the main cereals produced worldwide (along with rice), producing more than 1934 million tons per year [1], representing these four straws more than 71% of the

total cereals production. Due to the limited use that is given to the agricultural waste, the large amount of cereal straws residues generated annually implies a serious environmental problem as an important focus of crop infection, contamination of irrigation water, as well as the increase in production cost and the landscape impact that they produce.

Owing to the large amount of lignocellulosic biomass they suppose, the use of cereal residues as source for the production of cellulose nanofibers has aroused a great interest in the scientific community [2]. Several studies have been realized on the suitability of wheat straws [3,4] corn stalk [5], triticale [6] and oat husk [7].

To produce cellulose nanofiber, the chemical composition of the raw material employed is relevant, due to the effects that hemicellulose and lignin content produces in the fibrillation process [8,9]. Therefore, it is necessary to study the appropriateness of the different cereal straws and analyze which one presents better characteristics to produce lignocellulosic nanofibers.

The aim of the present work is to study the suitability of different cereal straws (wheat, corn, oats and barley) for its utilization as raw material to produce lignocellulose nanofibers. In addition,

\* Corresponding author at: Chemical Engineering Department, University of Córdoba, Campus of Rabanales, Marie-Curie Building, Ctra. N-IV, km. 396, 14014, Córdoba, Spain.

E-mail address: [eduardo.espinosa@uco.es](mailto:eduardo.espinosa@uco.es) (E. Espinosa).

the present work also intends to study the effect of the characteristics of the cellulosic fibers on the effectiveness of the different pretreatments used (mechanical, enzymatic and TEMPO-mediated oxidation) as well as on the properties of the LCNF produced.

## 2. Materials and methods

### 2.1. Materials

The different cereal straws (wheat, corn, barley and oats) were manually screened to eliminate undesired elements, dried at room temperature and stored in plastic bags for storage.

These raw materials were chemically characterized according to TAPPI standards to determine  $\alpha$ -cellulose (T-9m54), lignin (T-203os61), holocellulose (T-222), ash (T-211) and ethanol extractables (T-204).

### 2.2. Methods

#### 2.2.1. Pulping process

The cereal straws were subjected for alkali treatment by soaking it in a 7 wt% NaOH solution (over dry matter, o.d.m) at  $100 \pm 1$  °C for 150 min and a liquid/solid ratio of 10:1. This pulping process has been reported previously as an effective method for obtaining cellulosic pulps from cereal straws to produce lignocellulose nanofibers [3]. The pulps were characterized in the same way as the raw materials:  $\alpha$ -cellulose (T-9m54), lignin (T-203os61), holocellulose (T-222), ash (T-211), ethanol extractables (T-204), and also, the beating degree (T-227) and pulping yield (gravimetric method) was determined.

The intrinsic viscosity was obtained according to UNE-57-039-92 and used for the calculation of the degree of polymerization [10].

The morphological analysis of the pulp fibers was studied using a MorFi compact analyzer (TechPad) controlled with a computer. About 10,000 fibers of a 1% fiber suspension were analyzed by the software MorFi v.8.2.

#### 2.2.2. Lignocellulose nanofibers isolation

Lignocellulose nanofibers were obtained from cereal straws pulp by different pretreatment. The mechanical pretreatment consists in a pulp beating in a PFI beater according to ISO 5264-2:2002 until achieve a drainage rate of 90-SR (20,000 revolutions). The enzymatic pretreatment was performed using the commercial enzyme cocktail Novozym 476, kindly provided by Novozymes A/S (Denmark), which contains 2% *endo*- $\beta$ -1,4-glucanases with an activity factor of 4500 CNF-CA/g cellulose (tested over a CMC substrate). The enzymatic reaction was carried out for 3 h on 75 g of pulp suspended in a 1.5 L of pH 5 buffer at 50 °C, using a 0.83% enzyme dosage based (o.d.m) and stopped heating to 80 °C for 15 min to denature the enzyme. A TEMPO-mediated oxidation with 2,2,6,6-tetramethylpiperidinyl-1-oxyl (TEMPO) was performed according to Saito et al. The cellulosic pulp fibers (10 g) was suspended in water (600 mL) containing TEMPO (0.16 g) and sodium bromide (1 g). The TEMPO-mediated oxidation was started with the addition of 30 mL of a commercial NaClO (12%) solution. The pH was maintained at 1.5 by adding 0.5 M NaOH. The reaction was stopped when the pH remains stable ( $\approx$  2 h) [11]. In all the pretreatments, the fibers were filtered and washed with distilled water several times.

Once the different pulps were subjected to the different pretreatments, a 1 wt% fiber suspension was passed through a high pressure homogenizer PANDA 2000 (Gea Niro Soavi, Italy) according to the following sequence: 4 times at 300 bar, 3 times at 600 bar and 3 times at 900 bar [4].

#### 2.2.3. LCNF characterization

A 0.1 wt% LCNF suspension was centrifuged at 10,000 rpm for 12 min to separate the nanofibrillar material from non-nanofibrillar material. The non-fibrillated fraction was dried at 100 °C for 24 h to determine the nanofibrillation yield as described by Besbes et al. [12]. Also, the optical transmittance of 0.1 wt% was measured in a Lambda 25 UV-Spectrometer from 400 to 800 nm using distilled water as reference, as indirect indicator of the nanofibrillation yield.

The methodology followed by Carrasco et al. [13] was adapted to determine the cationic demand of the LCNF [4,6] using a Mutek PCD 05 particle charge detector.

The carboxyl content of the lignocellulose nanofibers was determined using conductometric titration, according to the method described by Saito et al. [11]. The cationic demand and carboxyl content values were used for the theoretical estimation of specific surface and diameter of the LCNF following assumptions and the methodology proposed by Carrasco et al. [14].

The degree of polymerization was calculated as in the pulp samples.

The different analyzes were performed in triplicate and the mean and standard deviation was calculated.

#### 2.2.4. Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR) analysis

The FTIR spectroscopy analysis were realized to determine possible changes in the chemical composition and functional groups due to the lignocellulose nanofibers isolation processes. The spectrum, using a spectrometer FTIR-ATR Perkin-Elmer Spectrum Two, was analyzed in the range of 450–4000  $\text{cm}^{-1}$  with a resolution of 4  $\text{cm}^{-1}$  and a total of 40 scans were collected.

#### 2.2.5. X-ray diffraction analysis (XRD)

X-ray diffraction of the pulps and lignocellulose nanofibers were performed using a Bruker D8 Discover with a monochromatic source  $\text{CuK}\alpha 1$  over an angular range of 7–50° at a scan speed of 1.56°/min. The Crystallinity Index (CI) of the different samples was calculated using Segal method [15].

#### 2.2.6. Thermogravimetric analysis (TGA)

The thermogravimetric analysis was carried out on a Mettler Toledo TGA/DSC 1. An approximate 10 mg of the sample was loaded in the open platinum pan and heated from room temperature to 800 °C at a heating rate of 10 °C/min under nitrogen atmosphere gas flow of 50 mL  $\text{min}^{-1}$ . The TGA equivalent derivate (DTG) were evaluated to analyze the temperature value where the degradation rate is fastest ( $T_{\text{max}}$ ) referred to the maximum value of the derivate weight loss. The initial decomposition temperature ( $T_{\text{omet}}$ ) was obtained by extrapolating the slope of the DTG curve in correspondence with the first local maximum derivate thermogravimetric curve ( $D^2TG$ ) and down to the zero level of DTG axis.

#### 2.2.7. Dynamic light scattering (DLS) and zeta potential

The zeta potential and size distribution of LCNF were measured using a Zetasizer (ZSP, Malvern Instrument Ltd, Worcestershire, UK) at 25 °C based on laser Doppler velocimetry and dynamic light scattering techniques. A concentration of  $10^{-3}$  g/mL was prepared for all measured using filtered distilled water (0.1  $\mu\text{m}$ ) as solvent and inert electrolyte. Previously, the suspension was homogenized using an ultrasonication probe for a period of 30 s. The refraction index values for the dispersant was set as 1.33 and for the material (cellulose) as 1.54. The analysis was realized by triplicate and medium and standard deviation was calculated. The hydrodynamic diameter ( $D_h$ ), was calculated by using Stokes-Einstein relation as:

$$D_h = 2 \frac{K_B T}{6\pi\eta_s D}$$

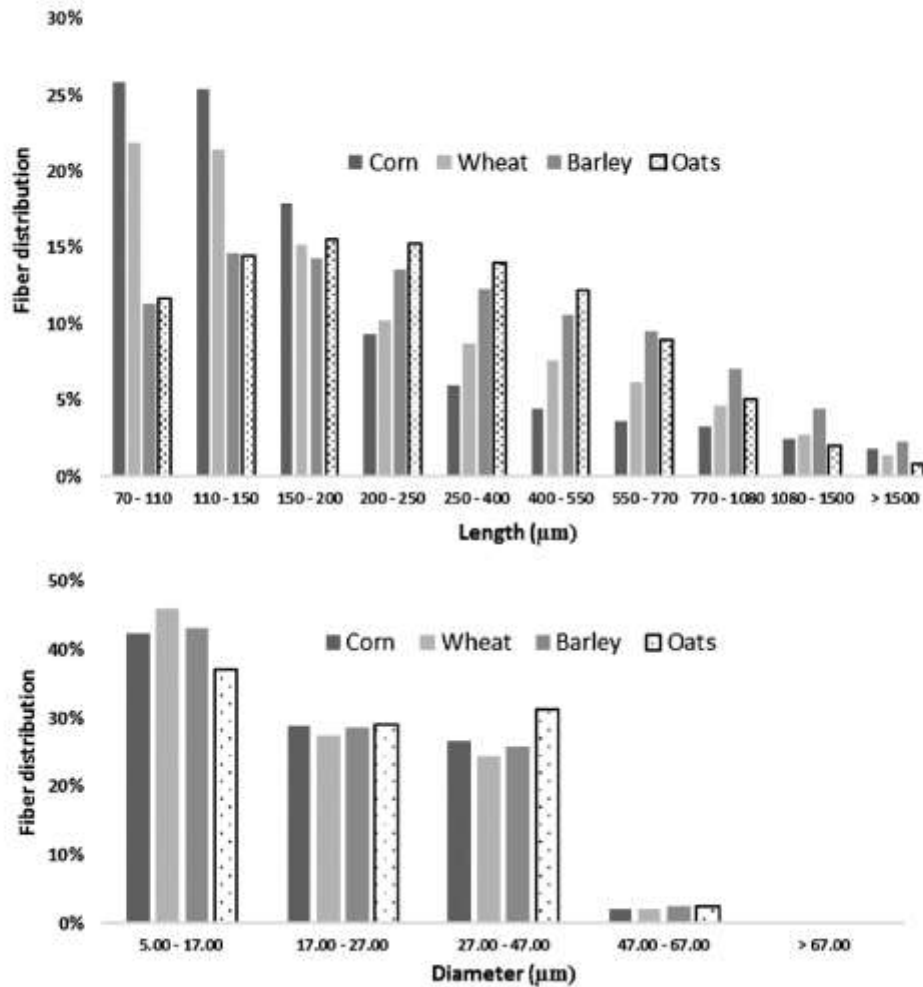


Fig. 1. Morphological characteristics of the cereal straw pulp fibers. Length (up) and diameter (down) fiber distribution.

where  $K_B$  is the Boltzmann constant,  $T$  the temperature in units of  $K$ ,  $\eta_0$  the solvent viscosity, and  $D$  the translational diffusion coefficient.

2.2.8. Asymmetrical flow field-flow fractionation (AF4)

The Asymmetrical flow field-flow fractionation (AF4) analysis were performed with the commercially AF2000 (Postnova Analytics GmbH, Landsberg, Germany) model coupled online to a 21-angle MALS (PN3621, Postnova Analytics), and RI detectors (80% power). For AF4 measurement a  $1 \text{ mg L}^{-1}$  suspensions were prepared for the different samples. The membrane forming the accumulation wall was composed of regenerated cellulose with a 10 kDa cut-off. All runs were performed using an aqueous mobile phase consisting of 0.2% of sodium azide. A  $100 \mu\text{L}$  injection sample was used under the following conditions: During all settings, the cross-flow rate was kept constant at  $1 \text{ mL min}^{-1}$  and detector flow rate was fixed at  $0.5 \text{ mL min}^{-1}$  to reduce pressure fluctuations. A focus flow of  $0.9 \text{ mL min}^{-1}$  was first applied for 1.5 min prior the injection of the sample. All samples were injected at an injection flow of

$0.6 \text{ mL min}^{-1}$  with a focus flow of  $1 \text{ mL min}^{-1}$  for 5 min. For the separation process a 3-step cross flow sequence was used (Fig. S1): a)  $1 \text{ mL min}^{-1}$  flow constant for 5 min, b) power flow at  $1 \text{ mL min}^{-1}$  for 5 min, c) ramped flow from  $0.4$  to  $0 \text{ mL min}^{-1}$  for 60 min. At the end of the fractionation process, a rinse stop of 5 min with a cross flow of  $0 \text{ mL min}^{-1}$  was used to minimize the possible contamination between samples.

3. Results and discussion

3.1. Cereal straw fibers

In order to study the suitability of the different cereal straws for the production of LCNF, the raw material was characterized to determine its chemical composition. The results given in Table 1 indicate that these cereal straws have a similar composition to each other, highlighting the high hemicellulose values (27–38%) and low lignin values (16–18%) that they present. These results indicate that

**Table 1**  
Chemical characterization of the different raw materials and pulps.

Sample	AE(%)	Ash (%)	$\alpha$ -cel(%)	HE(%)	LI(%)	SR	$\eta$ (%)	DP
Corn Straw	6.8	5.95	44.0	30.7	18.2			
Corn Pulp	0.86	1.36	71.0	20.0	8.9	16.8	48.10	3158
Wheat Straw	5.2	7.72	39.7	30.6	17.7			
Wheat Pulp	1.65	1.52	62.0	23.3	9.0	28	49.63	1465
Barley Straw	8.1	9.49	34.0	27.7	16.3			
Barley Pulp	1.31	2.64	69.9	18.3	10.9	13.1	52.36	1103
Oats Straw	6.4	7.00	37.9	37.7	16.6			
Oats Pulp	0.89	2.50	69.2	16.4	13.1	20.7	52.36	1414

AE: Alcohol Extractable;  $\alpha$ -cel:  $\alpha$ -cellulose; HE: Hemicellulose; LI: Lignin; SR: Schopper-Riegler Degree;  $\eta$ : Pulping yield; DP: Degree of Polymerization.

these raw materials have a chemical composition suitable for use as a source for the LCNF isolation [3,6,8,9].

The cereal straws were subjected to an alkali pulping process to make the cellulose fiber more accessible for the different pretreatments, allowing also a greater efficiency in the nanofibrillation process. Table 1 also shows the chemical characterization of the cellulosic pulps after the pulping process. It can be observed that the  $\alpha$ -cellulose content increases considerably due to the decrease of other components such as hemicellulose and lignin. Due to the key role that hemicellulose content play in the nanofibrillation process by inhibiting the aggregation of microfibrils, a higher hemicellulose content allows an easier aptitude of cell wall delamination. Thus, Chaker et al. [16] studied the effect of hemicellulose content on cellulosic pulps for the production of nanofibrillar cellulose, determining that, about a 25% hemicellulose content is the ideal value to obtain the maximum nanofibrillation yield, being the nanofibrillation yield decreased by half in pulps with just a 12% of hemicellulose content. Considering this, cellulosic pulps from wheat straw are the ones that present better characteristics to produce LCNF, followed by corn straw cellulosic pulps, in comparison with the rest of cereal straw pulps that presents lower hemicellulose content values. Cellulosic pulps with residual amounts of lignin also favors the nanofibrillation process [9], so that cellulosic pulps from wheat and corn straw also present in this aspect better features than the rest. Regarding the pulping yield, all the cellulosic pulps present values around 50%, being this an optimum value for a semichemical pulping process. The corn pulp fibers present the highest degree of polymerization (3158) and the wheat straw fibers the highest value for the SR (28). A higher SR may facilitate the beating of the fiber during the mechanical pretreatment due to its greater initial accessibility.

With the aim of study the effect of the fiber morphology on the nanofibrillation process, the fiber morphology was analyzed as Fig. 1 shown. The diameter distribution of the different cellulosic pulps shows that wheat and corn present lower mean fiber length values (301 and 262  $\mu\text{m}$ , respectively), compared to the values shown by oats (339  $\mu\text{m}$ ) and barley (398  $\mu\text{m}$ ). Otherwise, the mean diameter values of the fibers are more homogeneous among the different cellulosic pulps showing values of 21.36  $\mu\text{m}$ , 22.01  $\mu\text{m}$ , 21.98  $\mu\text{m}$  and 23.49  $\mu\text{m}$  for wheat, corn, barley and oats, respectively. Due to the similarity of the diameters of all cellulosic pulps, the diameter of the original fiber should not affect the process of reduction to nanometric sizes, being the chemical composition of the fibers the main influence factor that explains the suitability of each material for LCNF production.

### 3.2. LCNF characterization

To analyze the suitability of the different raw materials for obtaining LCNF under different pretreatments, it is necessary to study the properties of the LCNF obtained (Table 2). In general terms, the TEMPO-oxidation LCNF (TO-LCNF) presents a higher nanofibrillation yield, and therefore greater optical transmittance,

as well as greater specific surface area and lower diameter values. This LCNF type, also presents higher carboxyl content than the other LCNF. It is due to the selective formation of C6 carboxylate groups on microfibrils surface by the oxidation of primary hydroxyl of cellulose. This fact, alongside its greater specific surface, is reflected in a higher cationic demand that this type of LCNF presents in comparison with the rest. As expected, there is also a decrease in the degree of polymerization of the nanofibers with respect to the original fiber. This is an important parameter, since it is an indicator of the fiber length, being preferred high values for the use of nanocellulose as reinforcing agent in composites, paper, etc. [3,17]. The degree of polymerization also reveals that lignocellulose nanofibers obtained by TEMPO-mediated oxidation undergo further degradation than those obtained mechanically and enzymatically, resulting both in shorter fibers [3].

Comparing the raw materials to analyze which of them is more suitable for obtaining LCNF, it is observed that wheat straw (in all pretreatments) is the ones with the best values. The Mec-Wheat presents twice the values of nanofibrillation yield, as well as much higher values in optical transmittance than the rest of Mec-LCNF. It is observed that those fibers which presents a higher SR value (wheat and oats) are the most suitable (lower diameters and higher nanofibrillation yields are obtained) for the mechanical pretreatment. The carboxyl content is similar in all mechanical samples due to no chemical modification or introduction of carboxyl groups were realized, as occurs in TEMPO-mediated oxidation. It also has much higher values in cationic demand associated to the small diameter that, in comparison with the rest (>50 nm), these presents (14 nm), and therefore its high specific surface. This fact, although with lower values of the different parameters, is also observed for Enz-LCNF where the Enz-Wheat again present higher values than the rest of raw materials used. For the case of TO-LCNF, it is observed how a higher nanofibrillation occurs, obtaining high values of nanofibrillation yield and optical transmittance and low values of diameter. Its greater specific surface and its high rate of carboxyl content (due to TEMPO-mediated oxidation), make this type of LCNF present a high cationic demand, being suitable for their effective binding as a reinforcement with other components or the elimination of cationic contaminants of wastewaters [18]. The TO-Wheat also presents higher values than the rest when TEMPO-mediated oxidation is used as pretreatment. It is observed that the fiber with higher hemicellulose content (wheat) is the most suitable for obtaining LCNF under the different pretreatments.

### 3.3. Fourier transform infrared spectroscopy analysis

The different cereal straw pulps and the LCNF samples obtained from the different pretreatments were analyzed with respect to their chemical structure by ATR-FTIR spectroscopy. The Fig. 2 shows the spectrum of the different samples (pulps, Mec-LCNF, Enz-LCNF and TO-LCNF) in the range 4000–450  $\text{cm}^{-1}$ . All the samples show the typical spectrum of lignocellulosic materials corresponding to cellulose, hemicellulose and lignin as main constituents.

**Table 2**  
Characterization of cereal straw LCNF (isolated from different treatments).

LCNF	$\eta$ (%)	T (%)	CD ( $\mu\text{eq/g}$ )	CC ( $\mu\text{mol/g}$ )	$\sigma_{\text{LCNF}}$ ( $\text{m}^2/\text{g}$ )	D (nm)	DP
Mec-Wheat	55.6	75	441.06 $\pm$ 93.1	53.41 $\pm$ 4.19	178.5	14.01	1395
Mec-Barley	13.72	12	146.23 $\pm$ 61.10	57.93 $\pm$ 12.46	43	58.14	756
Mec-Corn	25.8	21	144.7 $\pm$ 69.61	53.89 $\pm$ 7.87	44.22	56.54	1411
Mec-Oats	30.07	15	149.97 $\pm$ 83.40	48.78 $\pm$ 5.53	49.3	50.71	956
Enz-Wheat	37.45	40	428.66 $\pm$ 109.02	48.53 $\pm$ 3.54	172.2	14.52	931
Enz-Barley	25.56	12	146.58 $\pm$ 26.85	25.83 $\pm$ 5.50	58.8	42.51	778
Enz-Corn	22.34	20	68.96 $\pm$ 0	24.87 $\pm$ 1.47	21.56	115.93	1169
Enz-Oats	27.54	16	123.37 $\pm$ 54.80	39.92 $\pm$ 9.01	40.64	61.52	754
TO-Wheat	98.71	90	1116.5 $\pm$ 43.10	367.0 $\pm$ 8.72	367.01	6.81	502
TO-Barley	97.4	70	507.1 $\pm$ 0	163.3 $\pm$ 11.02	167.43	14.83	279
TO-Corn	94.76	76	292.77 $\pm$ 0	99.71 $\pm$ 8.32	96.42	25.93	447
TO-Oats	84.06	51	681.63	221.68 $\pm$ 17.69	224.01	11.16	323

$\eta$ : Nanofibrillation Yield; T: Optical Transmittance at 800 nm; CD: Cationic Demand; CC: Carboxyl Content;  $\sigma_{\text{LCNF}}$ : Specific Surface Area; D: Diameter; DP: Degree of Polymerization.

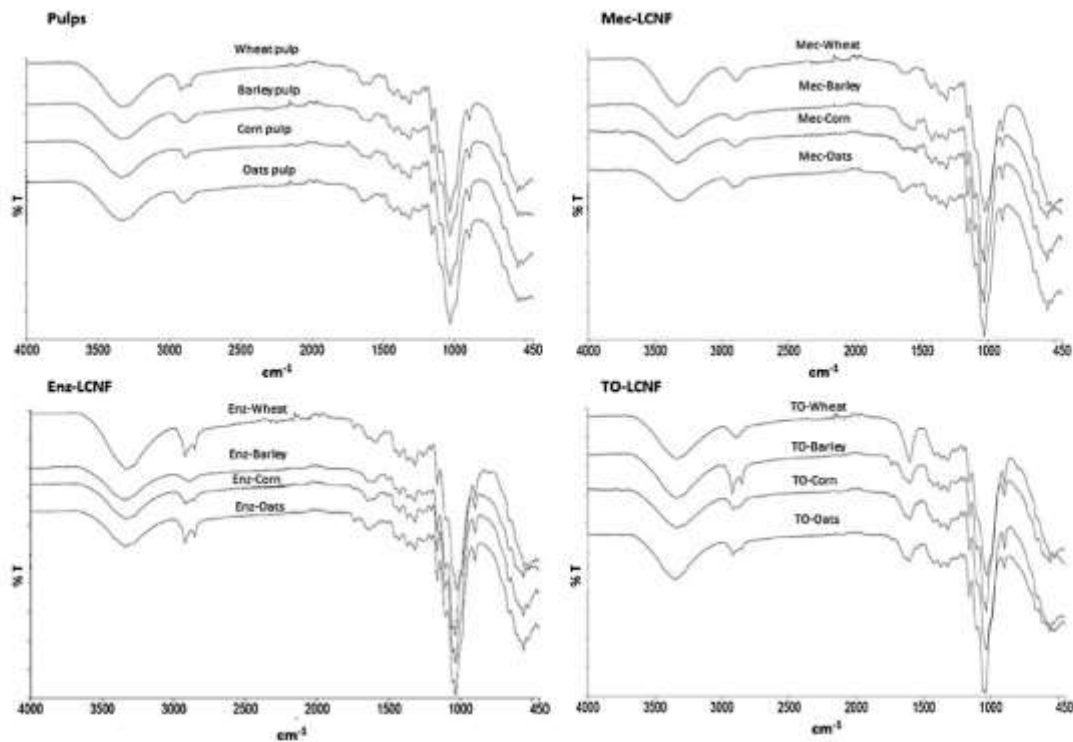


Fig. 2. FTIR spectrum of cereal straw pulps and lignocellulose nanofibers.

The absorption peak at 3600–3100  $\text{cm}^{-1}$  is associated to the O–H stretching vibrations and the peak at 2900  $\text{cm}^{-1}$  corresponds to the C–H stretching vibration in  $\text{CH}_2$  groups [19]. The peak at 1630  $\text{cm}^{-1}$  appertains to the C=O linkage of carbonyl groups, showing a growth of this peak for TO-LCNF due to the oxidation of primary alcohol groups of C6 of cellulose in carboxyl groups during the TEMPO-mediated oxidation. The small peak observed at 1510  $\text{cm}^{-1}$  is attributed to the aromatic ring vibrations of lignin. This intensity is lower in TO-LCNF due to the partial removal of lignin during the pretreatment. The peaks at 1430, 1160, 1110 and 900  $\text{cm}^{-1}$  correspond to the typical bonds of cellulose I [20].

### 3.4. X-Ray diffraction analysis

As can be seen in Fig. 3, all the XRD patterns of the different samples show two diffraction peaks at  $2\theta = 16.5^\circ$  and  $22^\circ$  corresponding to the (110) and (200) crystallographic planes of characteristics diffraction peaks of cellulose I. Cellulosic pulps do not exhibit high crystallinity compared to bleached pulps [21] because of the high proportion of hemicellulose, non-crystalline component, remaining in the fibers and the presence of lignin. For cellulosic pulps, those obtained from wheat and corn straws are the most crystalline. In general, LCNFs obtained by enzymatic hydrolysis do not suffer significant variations in their CI, however, those obtained from mechanical pretreatment, except for wheat straw, show an increase

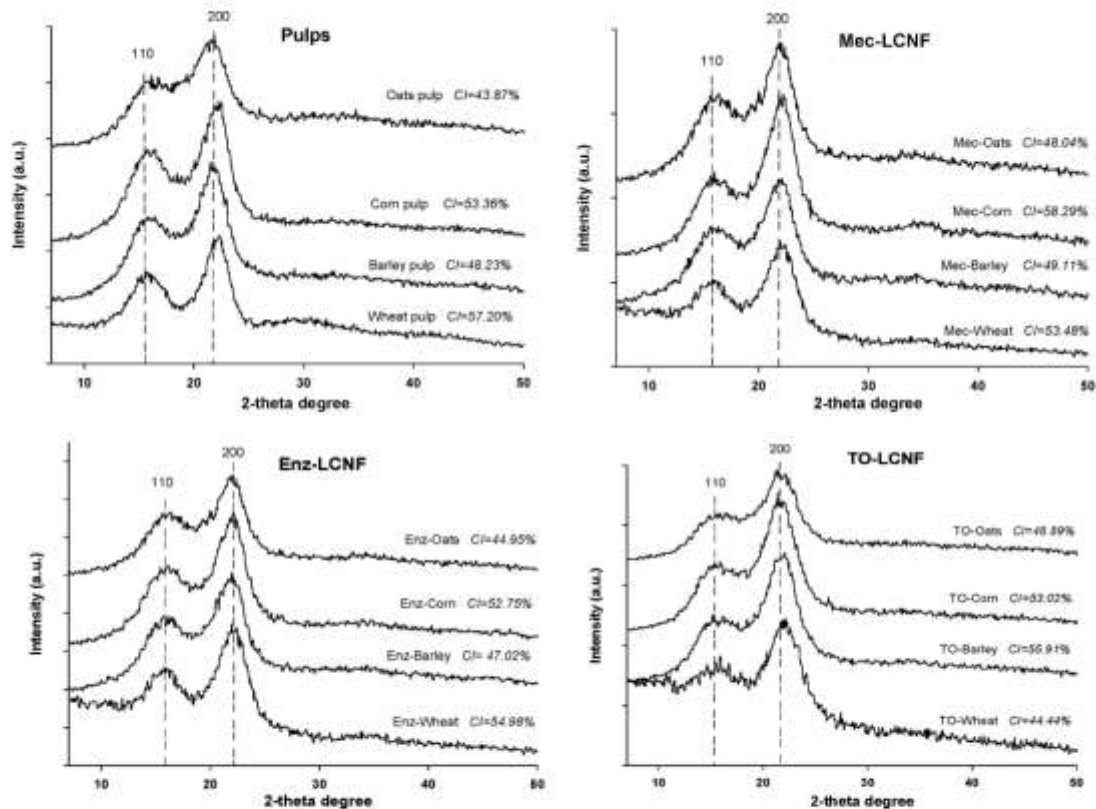


Fig. 3. X-ray diffraction patterns and crystallinity index of cereal straw pulps and lignocellulose nanofibers.

in their CI, probably due to the loss of hemicellulose in the fiber during the nanofibrillation process. For the TO-LCNF is observed that in most cases there is an increase in CI due to the elimination of a large part of the lignin during the TEMPO-mediated oxidation, as indicated by the FTIR analysis. In particular, for all the LCNF from wheat a decrease in CI was observed, this fact is related to the high nanofibrillation yields and small sizes reached from wheat cellulosic pulps, due to a greater capacity of delamination of the cell wall of the fibers. The pretreatment effect is masked by the effect of the high pressure homogenization process, producing a diminishing effect on CI due to the damage in the crystalline domains of cellulose [22].

### 3.5. Thermogravimetric analysis (TGA)

The TG and DTG curves of the different pulps and LCNF from cereal straw are shown in Fig. 4. For all samples, a small weight loss stage related to the loss of moisture occurs in the range of 50 to 120 °C, and a main stage of weight loss occurs from 250 to 400 °C due to the thermal degradation of the hemicellulose present in the fiber. From this step, small weight losses due to the pyrolysis of certain cellulose and lignin compounds are observed until a remaining carbonaceous residue is obtained by the complete pyrolysis of the lignocellulosic materials.

From the data obtained of thermogravimetric analysis (Table 3), it is observed that  $T_{onset}$  show higher values for cellulosic pulps

Table 3  
Degradation characteristics of cereal straw pulps and lignocellulose nanofibers.

Sample	$T_{onset}$ (°C)	$T_{max}$ (°C)	DTG <sub>max</sub> (%/°C)	Char (%)
Wheat pulp	314	340	1.24	18.18
Barley pulp	313	338	1.13	18.05
Corn pulp	318	340	1.26	16.72
Oats pulp	304	331	1.08	19.94
Mec-Wheat	296	325	1.09	20.58
Mec-Barley	299	327	1.06	22.38
Mec-Corn	314	337	1.25	18.00
Mec-Oats	311	336	1.10	23.10
Enz-Wheat	307	333	1.22	17.82
Enz-Barley	313	340	1.13	15.61
Enz-Corn	312	332	1.13	18.5
Enz-Oats	317	340	1.23	18.63
TO-Wheat	239	285	0.70	27.49
TO-Barley	247	293	0.71	28.49
TO-Corn	252	296	0.73	23.89
TO-Oats	273	315	0.77	26.74

(304–318 °C), followed by Enz-LCNF (307–317 °C) and Mec-LCNF (296–311 °C), and finally TO-LCNF (239–273 °C). This fact is also repeated for the  $T_{max}$  where the same order is observed for the different samples. This phenomenon is related to the fiber sizes presented by the different samples, since at a lower fiber diameter this presents a higher specific surface, being higher the surface exposed to heat favoring the thermal degradation, causing that



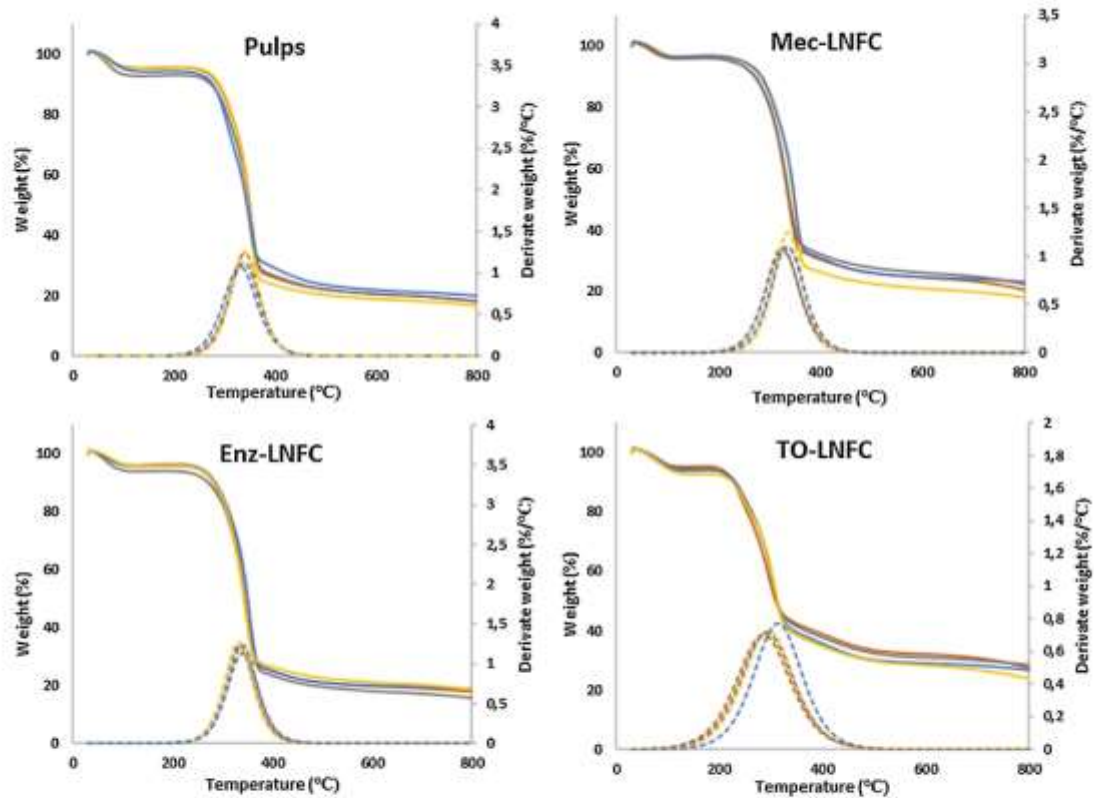


Fig. 4. TGA and DTG curves of cereal straw pulps and lignocellulose nanofibers: red wheat, yellow corn, grey barley and blue oat.

Table 4  
Zeta potential values of cereal straw lignocellulose nanofibers.

	Mec-LCNF				Enz-LCNF				TO-LCNF			
	Wheat	Barley	Corn	Oats	Wheat	Barley	Corn	Oats	Wheat	Barley	Corn	Oats
ZP (mv)	-14.6	-22.0	-19.5	-29.0	-22.7	-23.5	-24.6	-23.8	-36.4	-34.9	-20.0	-32.2
SD (mv)	±2.9	±4.9	±3.4	±6.7	±3.7	±4.9	±4.5	±4.3	±5.9	±3.1	±7.6	±6.3

ZP: Zeta potential; SD: Standard deviation.

nano-scale fibers dimension compared to the macroscopic cellulose fibers undergo an earlier thermal degradation for the LCNF [23].

Regarding cellulosic pulps, wheat, barley and corn have a similar behavior in terms of thermal degradation, however, the fibers obtained from oats presents a lower resistance to degradation, as well as a greater carbonaceous residue related with its higher lignin content. In the case of Mec-LCNF, it is observed that Mec-Wheat and Mec-Barley presents lower values of  $T_{onset}$  (<300 °C) and  $T_{max}$  (<330 °C) compared to the other cereal straws. In the case of Mec-Wheat, it is explained by the small size that they present, 14 nm, while the rest Mec-LCNF exceed 50 nm. In spite of these values, the Mec-Wheat presents a greater resistance to the thermal degradation in comparison with other CNF of similar size described in bibliography [24,25], whose  $T_{max}$  is below 250 °C. A similar behavior

is observed for the Enz-LCNF, where the Enz-Wheat once again presents a lower thermal stability due to their smaller size. For TO-LCNF, it is observed that it presents a remarkable lower stability in comparison to the rest of LCNF. This is mainly due to two facts; i) the smaller diameter they present, and ii) the greater number of free ends they present (higher cationic demand and carboxyl content) which favor the thermal degradation [26].

### 3.6. Colloidal stability analysis

Dynamic Light Scattering (DLS) is an extensively used method for determining the particle size distribution in colloidal suspensions. The advantage of using this technique is their flexibility in terms of easy, quick, non-destructive and reproducible results [27]. In case of rod like or fibril structure, this technique displays some

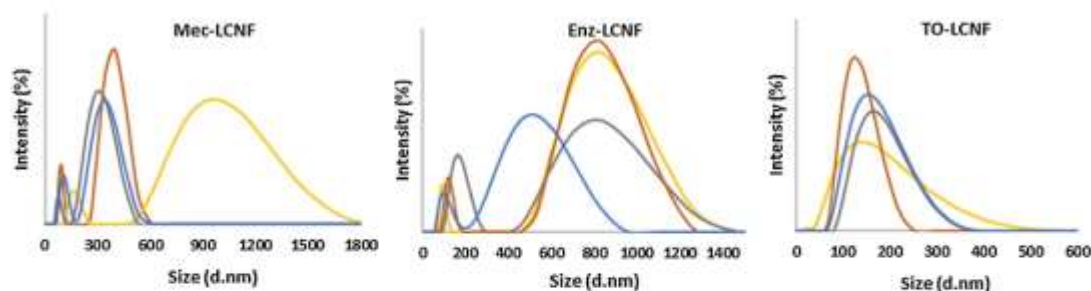


Fig. 5. Hydrodynamic size distribution of LCNF from cereal straw pulps: red wheat, yellow corn, grey barley and blue oat.

limitations due to the strongly dependent on the orientation of fibers in the fluid, however, this technique has been used effectively to determine the size of CNF [28]. Unlike the previous theoretical estimation used for the calculation of the diameter for an individual nanofiber, this analysis allows the calculation of the hydrodynamic diameter of the suspension's aggregates. The size distribution of the different lignocellulose nanofibers is given in Fig. 5.

The data clearly shows that there are differences in the size distribution for each LCNF type and between raw materials. In general, can be observed that LCNF obtained by TEMPO-mediated oxidation are the ones which presents the smallest diameter of the samples characterized in this work, in addition to presenting greater uniformity because they present a single population between 120 and 160 nm for the different raw materials, compared to the two populations observed for Mec-LCNF and Enz-LCNF. In the case of Mec-LCNF and Enz-LCNF, not only a narrow size distribution is observed but two types of populations, being these sizes smaller for the Mec-LCNF where a first population is observed around 100–150 nm and another one at 350–400 nm, except for Mec-Corn which presents a wide distribution for their second population at 1000 nm. In the case of Enz-LCNF, two types of populations are also observed, one around 100–180 nm and the other at 800 nm, except for oats which presents the second population at 500 nm. Mec-LCNF and Enz-LCNF presented two peaks for all the samples, the first one could be attributed to individual cellulose nanofibers, whereas the second one value represent to its aggregates [29], meaning a greater polydispersity in the samples. The tendency to aggregation of the cellulose fibers in various solutions have been reported by different researchers [29,30].

Avoiding nanofiber aggregation is desirable for many applications to ensure good homogeneity and effect. The suspension of nanocellulose is considered stable at  $\pm 25$  mV since it is considered that from this value the repulsion force between nanofibers is sufficient to not form aggregates [31,32]. The Table 4 shows the zeta potential values for the different LCNF.

It is observed that TO-LCNF presents higher values than the others LCNF meaning stable suspensions ( $< -25$  mV). It is mostly due to the presence of carboxyl groups ( $\text{COO}^-$ ) at the surface of the lignocellulose nanofibers generated during the TEMPO-mediated oxidation. A higher charge on the surface of the nanofibers generates a greater repulsive force between nanofibers, thus avoiding the aggregation and precipitation of them. This fact is not observed in TO-Corn. This is related to the lower efficiency of TEMPO-mediated oxidation in corn fibers, which is related in its lower carboxyl content and lower cationic demand, resulting in less charged fibers than the rest of TO-LCNF. For the case of Mec-LCNF and Enz-LCNF, which were not subjected to chemical modification, less stable sus-

pensions ( $> -25$  mV) are obtained which could form aggregates, except for the Mec-Oats which presents enough charge to be stable.

### 3.7. Sizing by asymmetrical flow field-Flow fractionation (AF4)-MALS

Since the light scattered from larger particles in DLS can overshadow the signal coming from smaller ones, it was not possible to effectively determine the nanometric size of the LCNF. For this reason, the different LCNF were analyzed using an AF4 pre-separation (Fig. S2) before MALS detection. The AF4 can be an effective tool to separate complex mixture of nanometric particles of different sizes and high polydispersed samples [32], as in the case of LCNF. The Zimm method, which is largely applied in cellulose analytics as it is best for mid-sized polymers (10–100 nm) [33], was used to evaluate the AF4 fractograms. Another essential parameter is the differential index of refraction ( $dn/dc$ ), which is proportional to the solute concentration but also depends on temperature and pressure. The differential refractive index value of nanocellulose has been determined by other authors setting a value of  $0.126 \text{ gL}^{-1}$  [34]. Fig. 6 shows the size distribution derived from MALS for the different LCNF. It can be observed how this technique is able to differentiate between populations of very close sizes allowing a better study of the real size of the lignocellulose nanofibers. From the polydispersity of the sample, two different groups can be observed, one that has a lower polydispersity for the different pretreatments (wheat and barley) and one that presents a greater polydispersity (corn and oats). As in DLS and in the theoretical estimate of the diameter of LCNF, AF4 technique shows that TO-LCNF are those which presents a smaller size, showing sizes between 30 and 80 nm mainly for all raw materials. In the case of Mec-LCNF, sizes between 30 and 100 nm are shown, however a greater variation of size between the different raw material is observed, being those which present smaller sizes the wheat and barley, obtaining nanofibers between 30 and 60 nm. The larger sizes are displayed by the Enz-LCNF, which is related to the values obtained in Table 2 and in DLS analysis. In this case, the LCNF from 40 to 140 nm are obtained by enzymatic pretreatment, being the Enz-Wheat and Enz-Oats those which presents smaller sizes (40–100 nm).

## 4. Conclusions

Four different cereal straws (wheat, barley, corn and oats) were used to the production of lignocellulose nanofibers (LCNF) using mechanical, enzymatic and TEMPO-mediated oxidation followed by high pressure homogenization. The LCNF characterization shows that TO-LCNF presents the highest values for nanofibrillation yield, cationic demand, and carboxyl content due to the effectiveness of

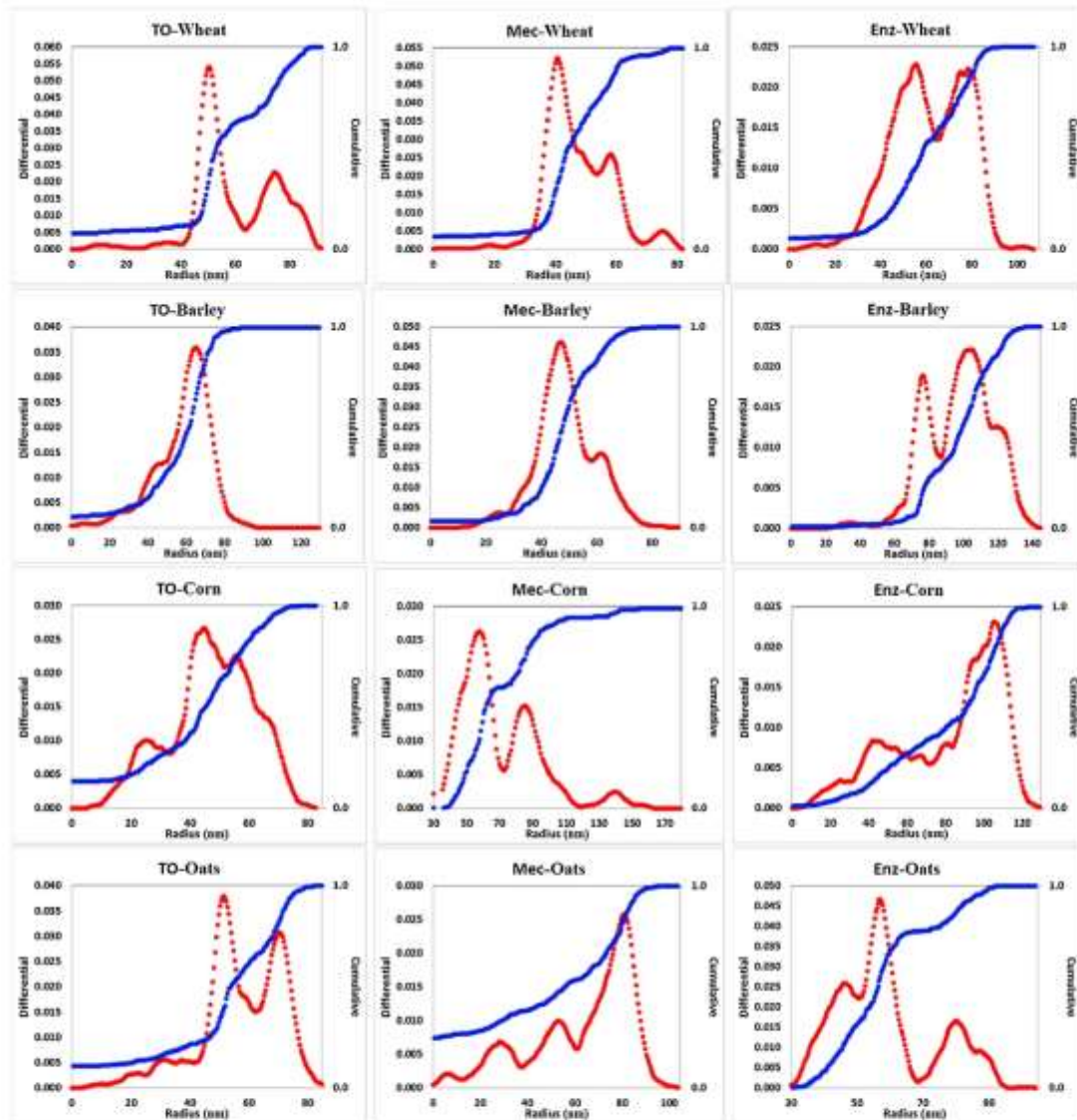


Fig. 6. Cumulative size distribution plots of the different LCNF.

TEMPO-mediated oxidation, obtaining the nanofibers with smaller diameter followed by those obtained by Mec-LCNF, obtaining the best results in the case of wheat. It is observed that a high nanofibrillation yields produce a high decrease in the crystallinity index of the LCNF due the greater delamination of the cell wall of the fibers. The LCNF obtained from wheat presents a lower thermal stability than the rest of cereal straws due to their lower size, but it is observed how the lignin content of the LCNF provides a greater resistance to the degradation in comparison with CNF of similar size. An analytical method to determine the size using AF4 was developed and applied to the analysis of LCNF samples. The tendency to aggregation of the cellulose nanofibers makes the AF4 technique an efficient

tool to determine its size distribution, especially in polydispersed samples which presents problems with DLS technique.

#### Acknowledgements

The authors are grateful to Spain's DGICYT, MICINN for funding this research within the framework of the Projects CTQ2016-78729-R and supported by the Spanish Ministry of Science and Education through the National Program FPU (grant number FPU14/02278) and to the staff of the Instituto Universitario de Investigación en Química Fina y Nanoquímica (IUIQFN).

## Appendix A. Supplementary data

Supplementary data associated with this article can be found, in the online version, at <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.05.156>.

## References

- [1] FAO/STAT, 2014. [www.fao.org/faostat/en/#data](http://www.fao.org/faostat/en/#data) (Last time Accessed 05 January 2017).
- [2] A. García, A. Candiñi, J. Labidi, N. Belgacem, J. Brat, Industrial and crop wastes: a new source for nanocellulose biorefinery. *Ind. Crops Prod.* 93 (2016) 26–38.
- [3] R. Sánchez, E. Espinosa, J. Domínguez-Robles, J.M. Lozaiza, A. Rodríguez, Isolation and characterization of lignocellulosic nanofibers from different wheat straw pulps. *Int. J. Biol. Macromol.* 92 (2016) 1025–1033.
- [4] E. Espinosa, Q. Tarrés, M. Delgado-Aguilar, I. González, P. Mutjé, A. Rodríguez, Suitability of wheat straw semichemical pulp for the fabrication of lignocellulosic nanofibers and their application to papermaking slurries. *Cellulose* 23 (2016) 837–852.
- [5] S. Boufi, A. Chaker, Easy production of cellulose nanofibers from corn stalk by a conventional high speed blender. *Ind. Crops Prod.* 93 (2016) 39–47.
- [6] Q. Tarrés, N.V. Ehmman, M.E. Vallejos, M.C. Area, M. Delgado-Aguilar, P. Mutjé, Lignocellulosic nanofibers from triticale straw: the influence of hemicellulose and lignin in their production and properties. *Carbohydr. Polym.* (2017). <http://dx.doi.org/10.1016/j.carbpol.2017.01.017>.
- [7] Z. Qazanfarzadeh, M. Kadivar, Properties of whey protein isolate nanocomposite films reinforced with nanocellulose isolated from oat husk. *Int. J. Biol. Macromol.* 91 (2016) 1134–1140.
- [8] S. Iwamoto, K. Abe, H. Yano, The effect of hemicellulose on wood pulp nanofibrillation and nanofiber network characteristics. *Biomacromolecules* 9 (2008) 1022–1026.
- [9] M. Delgado-Aguilar, I. González, Q. Tarrés, M.A. Peláez, M. Alcalá, The key role of lignin in the production of low-cost lignocellulosic nanofibers for papermaking applications. *Ind. Crops Prod.* 86 (2016) 295–300.
- [10] M. Marrs-Figini, The acid-catalyzed degradation of cellulose liners in distinct ranges of bacterial nano-cellulose reinforced fiber-cement composites. *Constr. Build. Mater.* 101 (1987) 958–964.
- [11] T. Saito, Y. Nishiyama, J.L. Putaux, M. Vignon, A. Isogai, Homogeneous suspensions of individualized microfibrils from TEMPO-catalyzed oxidation of native cellulose. *Biomacromolecules* 7 (2006) 1687–1691.
- [12] I. Berbes, S. Afifa, S. Boufi, Nanofibrillated cellulose from TEMPO-oxidized eucalyptus fibers: effect of the carboxyl content. *Carbohydr. Polym.* 114 (2011) 975–983.
- [13] F. Carrasco, P. Mutjé, M.A. Peláez, Control of retention in paper-making by colloid titration and zeta potential techniques. *Wood Sci. Technol.* 32 (1998) 145–155.
- [14] F. Carrasco, P. Mutjé, M.A. Peláez, Refining of bleached cellulose pulps: characterization by application of the colloidal titration technique. *Wood Sci. Technol.* 30 (1996) 227–236.
- [15] I. Segal, J.J. Creely, A.E. Martin, C.M. Conrad, An empirical method for estimating the degree of crystallinity of native cellulose using X-ray diffractometer. *Text. Res. J.* 29 (1959) 785–794.
- [16] A. Chaker, S. Afifa, P. Mutjé, M.B. Vilar, S. Boufi, Key role of the hemicellulose content and the cell morphology on the nanofibrillation effectiveness of cellulose-pulps. *Cellulose* 20 (2013) 2863–2875.
- [17] M.B. Agustin, F. Nakatsubo, H. Yano, The thermal stability of nanocellulose and its acetates with different degree of polymerization. *Cellulose* 23 (2016) 451–464.
- [18] A. Kardam, K.R. Raj, S. Srivastava, M.M. Srivastava, Nanocellulose fibers for biosorption of cadmium, nickel and lead ions from aqueous solution. *Clean Technol. Environ.* 16 (2014) 385–393.
- [19] H. Mou, B. Li, P. Fardim, Pretreatment of corn stover with the modified hydrothermal method to enhance enzymatic hydrolysis. *Energy Fuels* 28 (2014) 4288–4293.
- [20] S. Paek, J.O. Baker, M.E. Himmel, P.A. Parilla, D.K. Johnson, Cellulose crystallinity index: measurement techniques and their impact on interpreting cellulase performance. *Biotechnol. Biofuel* 3 (2010) 10.
- [21] M.G. Thomas, E. Abraham, P. Jyotishkumar, H.J. Maria, L.A. Pothan, S. Thomas, Nanocellulose from jute fibers and their nanocomposites with natural rubber: preparation and characterization. *Int. J. Biol. Macromol.* 81 (2015) 768–777.
- [22] H. Du, C. Liu, Y. Zhang, G. Yu, C. Si, B. Li, Preparation and characterization of functional cellulose nanofibers via formic acid hydrolysis pretreatment and the followed high-pressure homogenization. *Ind. Crops Prod.* 94 (2016) 736–745.
- [23] J. Zhao, W. Zhang, X. Zhang, C. Lu, Y. Deng, Extraction of cellulose nanofibers from dry softwood pulp using high shear homogenization. *Carbohydr. Polym.* 97 (2013) 695–702.
- [24] A.A. Oun, J.W. Rhim, Characterization of nanocellulose isolated from Uthar (*Callitropa procera*) see fiber: effect of isolation method. *Mater. Lett.* 168 (2016) 146–150.
- [25] J. Li, X. Wei, Q. Wang, J. Chen, G. Chang, L. Kong, J. Su, Y. Liu, Homogeneous isolation of nanocellulose from sugarcane bagasse by high pressure homogenization. *Carbohydr. Polym.* 90 (2012) 1609–1613.
- [26] P.R. Sharma, A.J. Varma, Thermal stability of cellulose and their nanoparticles: effect of incremental increases in carboxyl and aldehyde groups. *Carbohydr. Polym.* 114 (2014) 339–343.
- [27] B. Bruus, J.R. Dorgan, J.P. Chandler, Theory and application of light scattering from polydisperse spherulites in the Rayleigh-Gans-Debye regime. *Biomacromolecules* 9 (2008) 1255–1263.
- [28] C. Vadav, A. Saeni, P.K. Maji, Energy efficient facile extraction process of cellulose nanofibers and their dimensional characterization using light scattering techniques. *Carbohydr. Polym.* 165 (2017) 276–284.
- [29] J. Cai, L. Zhang, S. Liu, Y. Liu, X. Xu, X. Chen, B. Chu, X. Guo, J. Xu, H. Cheng, C.C. Han, S. Kuga, Dynamic self-assembly induced rapid dissolution of cellulose at low temperatures. *Macromolecules* 41 (2008) 9345–9351.
- [30] X. Chen, C. Burgner, F. Wang, J. Zhang, L. Rong, B. Hsiao, B. Chu, J. Cai, L. Zhang, Structure study of cellulose fibers wet-spun from environmentally friendly NaOH/urea aqueous solutions. *Biomacromolecules* 8 (2007) 1918–1926.
- [31] J.P.S. Morais, M.F. Rosa, M.M.S. Filho, L.D. Nascimento, D.M. Nascimento, A.R. Cassales, Extraction and characterization of nanocellulose structures from raw cotton linter. *Carbohydr. Polym.* 91 (2013) 229–235.
- [32] B. Bocca, E. Sabbioni, I. Manti, A. Alimonti, F. Petrucci, Size and metal composition characterization of nano and microparticles in tattoo inks by a combination of analytical techniques. *J. Anal. At. Spectrom.* 32 (2017) 618–628.
- [33] J.T. Oberlechner, T. Rosenau, A. Porstner, Overview of methods for the direct molar mass determination of cellulose. *Molecules* 20 (2015) 10313–10341.
- [34] C. Ruiz-Palomeán, M.L. Soriano, M. Valcárcel, Detection of nanocellulose in commercial products and its size characterization using asymmetric flow field-flow fractionation. *Microchim. Acta* 184 (2017) 1069–1076.

Supplementary Material

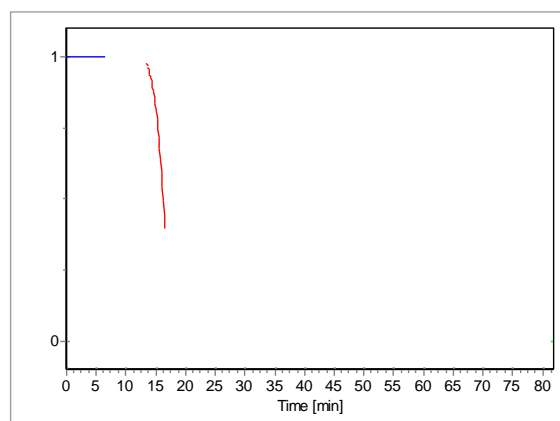


Fig. S1. AF4 separation process

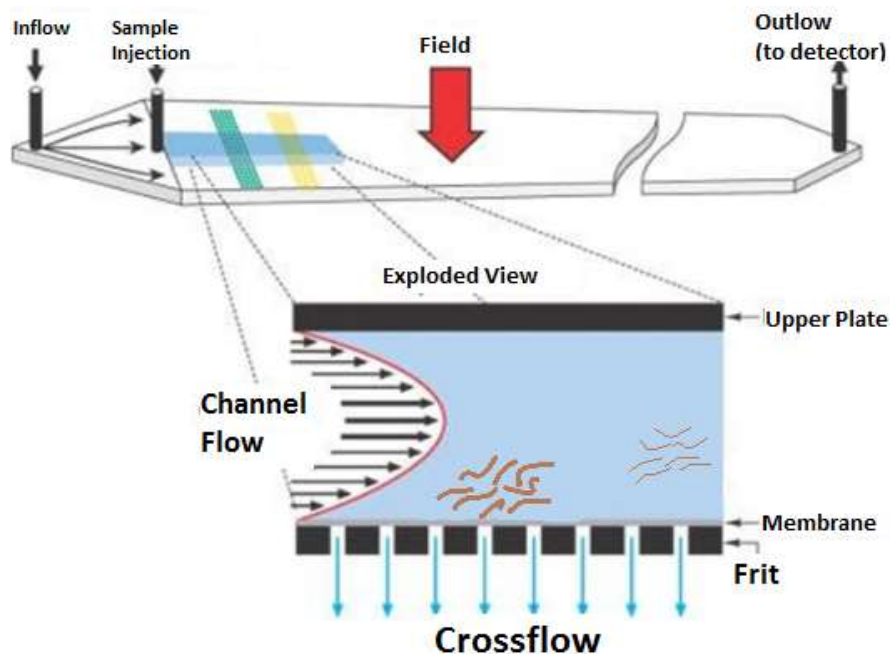


Fig. S2. Schematic representation of the separation principle in AF4 technique.



## **Publicación IV**

***The effect of pre-treatment on the production of lignocellulosic nanofibers and their application as a reinforcing agent in paper***

E. Espinosa, J. Domínguez-Robles, R. Sánchez, Q. Tarrés and  
A. Rodríguez

**Cellulose (2017) 24:2605-2618**

JCR Factor de Impacto (2017): 3,809

Posición (2017): 1/21, Q1 en "Materials Science, Paper & Wood"







## The effect of pre-treatment on the production of lignocellulosic nanofibers and their application as a reinforcing agent in paper

Eduardo Espinosa · Juan Domínguez-Robles · Rafael Sánchez · Quim Tarrés · Alejandro Rodríguez

Received: 3 October 2016 / Accepted: 28 March 2017 / Published online: 3 April 2017  
© Springer Science+Business Media Dordrecht 2017

**Abstract** In this work, three different lignocellulosic nanofibers (LCNF) were produced from unbleached wheat straw soda pulp by using different pre-treatments: mechanical, enzymatic, and TEMPO [(2,2,6,6-tetramethylpiperidin-1-yl) oxy radical]-mediated oxidation processes. The different LCNF were characterized and studied by their chemical composition (FTIR), crystal structure (XRD), thermal degradation behaviour (TGA), morphological (TEM), and their reinforcement effect on papermaking slurries. The pre-treatment used to obtain LCNF showed significant differences on the nanofibrillation yield (37–95%), carboxyl content ( $74\text{--}362\ \mu\text{mol g}^{-1}$ ), cationic demand ( $428\text{--}1116\ \mu\text{eq g}^{-1}$ ), and on its dimensions (7–14 nm), thermal stability, and structure. Regarding application as reinforcement on papermaking slurries, LCNF obtained by TEMPO-mediated oxidation produced a greater reinforcing effect than the other LCNF. Nevertheless, the obtained LCNF from mechanical process produce a similar

increase in the mechanical properties of the paper-sheets due to its high length, compared with LCNF obtained by TEMPO-mediated oxidation.

**Keywords** Wheat straw · TEMPO · Enzymatic · Mechanical · Isolation · Characterization

### Introduction

In the near future, bio-economy should become the engine that drives the advancement of developed and developing countries. To reach this objective, one of the main vectors must be research into effectiveness and efficiency of exploitation of natural resources, with the ultimate objective to maximise their use entirely and, therefore, generate the least possible amount of residue. The lignocellulosic materials constitute a very heterogeneous set of raw materials in origin and composition (all sharing the prevalence of lignin and cellulose as fundamental constituents), subject to be fully exploited. In recent decades, cellulosic fibers from lignocellulosic biomass have been researched for application in multiple industry sectors such as construction industry, paper and cardboard industry, biomedicine, etc. (Lu et al. 2014; Mohammadkazemi et al. 2009). Thus, to supply such growing demand, it is necessary to research non-wood cellulosic raw materials, such as fast-growing annual plants and waste from agricultural activity (Vargas et al. 2012; Feria et al. 2012).

E. Espinosa · J. Domínguez-Robles · R. Sánchez · A. Rodríguez (✉)  
Chemical Engineering Department, Faculty of Science,  
University of Córdoba, Building Marie-Curie, Campus of  
Rabanales, 14014 Córdoba, Spain  
e-mail: a.rodri@uco.es

Q. Tarrés  
Group LEPAMAP, Department of Chemical Engineering,  
University of Gerona, c/M. Aurèlia Campmany, no. 61,  
17071 Gerona, Spain

Cereal straw is an example of agricultural waste susceptible for use. World cereal production in 2015 was close to 2530 million tons, 30% (736 million tons) of which was wheat (FAO 2016). Considering that for every 1 kg of grain, approximately 1 kg of residue in the form of straw is generated (Rodríguez et al. 2010), in 2015 736 million tons of wheat straw was produced, which may be used for the production of cellulosic fibers.

Cellulose nanofibers (CNF) offer a huge potential in the design of new materials and properties. This is due to the nanometric size of the fibers, which gives them different properties than those present in their original size. CNF obtained from the disintegration of cellulosic pulps have long length and small diameter, also presenting good stiffness values and the ability to form networks through secondary bonds, including hydrogen bonds (Benhamou et al. 2014).

The first CNFs were obtained by Turbak et al. (1983), by submitting wood cellulose pulp suspension to high shearing and impact forces, passing it through a high pressure homogenizer several times getting a cellulosic fiber suspension with 25–100 nm diameter.

The most effective method for the production of CNF in the range of 3–10 nm was developed by Saito et al. (2007). The method consists of a chemical pre-treatment of the pulp (TEMPO-mediated oxidation) causing an electrostatic repulsion due to the induction of negative charges on the carboxylate groups at the surface of the fibrils.

The enzymatic hydrolysis of cellulose has also been used as pre-treatment prior to homogenization using  $\beta$ -1,4-endoglucanases, which randomly hydrolyze accessible intramolecular  $\beta$ -1,4-glucosidic bonds in cellulose chains exposing the individual cellulose polysaccharide chains (Henriksson et al. 2007; Pääkkö et al. 2007). The production of CNF is also possible through exclusive use of mechanical treatments, using as pre-treatment a high mechanical beating to individualize the fibers before homogenization (Yousefi et al. 2011; Afra et al. 2013).

In the field of nanotechnology, the CNF effect on conventional paper has been studied by many authors (González et al. 2012; Delgado-Aguilar et al. 2014). The addition of CNF as additive for paper improves the permeability and tensile index of papers due to the increment of the number of hydrogen bond fibril-fibers (Kajanto and Kosonen 2012). The increase of paper strength due to CNF addition can be compared with

strength improvement after a light refining (González et al. 2012).

The addition of CNF to unrefined pulp produces papersheets with higher tensile strength than standard papersheets, allowing significant grammage reduction and energy savings (refining processes) (Vallejos et al. 2016).

The morphology and properties of cellulose nanostructures produced by the aforementioned treatments are different. For this reason, it is necessary to study the effect that different pre-treatments produce in the production of CNF, to know the final physical and chemical characteristics of nanofibers and optimize its use and application (Yousefi et al. 2011). Using cellulosic pulps obtained from wheat straw through soda pulping process, as this process is the most effective for LCNF isolation from wheat straw (Sánchez et al. 2016), this work aims to analyse the effect of the different pre-treatments (mechanical process, TEMPO-mediated oxidation, and enzymatic hydrolysis) on the production of cellulose nanofibers, as well as the reinforcement effect on eucalyptus bleached kraft paper strength.

## Materials and methods

### Raw materials

The raw material used in this work, wheat straw, was provided by Ecopapel S.L. enterprise from Seville, Spain. Regarding the raw material preparation and chemical characterization, a previous work was considered (Espinosa et al. 2016). Bleached kraft hardwood pulp (BKHP) was used as a standard substrate and was kindly supplied by Ence-Celulosas (Navia, Spain).

### Pulp and lignocellulosic nanofibers isolation

#### *Delignification process*

The delignification process of the wheat straw was made using the same operational conditions [100 °C, 150 min, 7% soda (over dry matter), and liquid/solid ratio of 10:1] as in a previous work (Espinosa et al. 2016). The characterization of the dried pulp was determined using the following methods, beating degree (TAPPI T-227), yield (gravimetric method),

$\alpha$ -cellulose (T-9m54), lignin (T-203os61), holocellulose (T-222), ash (T-211), ethanol extractable (T-204), Kappa number (T-236cm85), and viscosity (T-30om94).

#### *TEMPO pre-treatment (TO-LCNF)*

The procedure and reagent ratios used by Besbes et al. (2011a) were applied for TEMPO-mediated oxidation of cellulose fibers. A  $10 \pm 0.1$  g sample of wheat soda pulp was suspended in 500 mL distilled water containing TEMPO (0.16 g) and NaBr (1 g). TEMPO-mediated oxidation was started adding 12% NaClO solution (5 mmol) with continuous stirring at room temperature. The pH was maintained at 10 by adding 0.5 M NaOH using a pH stat until no NaOH consumption was observed (reaction time  $\approx$  2 h). After the end of the oxidation reaction, 100 mL of ethanol was added, and the oxidized fibers were filtered and washed several times with distilled water. After that, a 1% aqueous suspension of these oxidized fibers was passed through a high pressure homogenizer in order to avoid seals in the equipment.

#### *Mechanical pre-treatment (Mec-LCNF)*

The lignocellulosic nanofibers were obtained by mechanical pre-treatment beating the wheat soda pulp (28 °SR) in a PFI beater (Metrotec) according to ISO 5264-2:2002 until achieving a drainage rate of 90°SR. Then, a 1% aqueous suspension was prepared and passed through a high pressure homogenizer.

#### *Enzymatic pre-treatment (Enz-LCNF)*

An enzymatic pre-treatment (biobeating) was used followed by a high pressure homogenization to obtain LCNF. The enzymatic hydrolysis was performed using the commercial enzyme cocktail Novozym 476, kindly provided by Novozymes A/S (Denmark), which contains 2% endo- $\beta$ -1,4-glucanases with an activity factor of 4500 CNF-CA/g cellulose (tested over a CMC substrate). The enzymatic reaction was carried out for 3 h on 75 g of wheat soda pulp suspended in a 1.5 L of pH 5 buffer at 50 °C, using a 0.83% enzyme dosage based on the dry weight of the pulp. At the end of the reaction time, the suspension was heated to 80 °C for 15 min in order to denature the enzyme and stop the pre-treatment. The obtained

fibers were filtered and washed several times with distilled water. Then, a 1% aqueous suspension was prepared and passed through a high pressure homogenizer.

#### *High pressure homogenization*

Once the pulp was brought under the different pre-treatments, it was passed through a high pressure homogenizer (PANDA GEA 2 K NIRO). The homogenization was realized following the sequence described by Espinosa et al. (2016).

#### *Papersheets production and characterization*

Increasing amounts (0–5%, 1% increments) of lignocellulose nanofibers (LCNF) from the different pre-treatments were added and mixed on bleached kraft hardwood pulp (BKHP) by means of a pulp disintegrator with the following operation conditions: 3000 rpm during 60 min and 1.5% consistency. This methodology has been used in previous works and has proved to be effective in improving the dispersion of CNF in papermaking slurries (Alcalá et al. 2013; González et al. 2013; Delgado-Aguilar et al. 2015). After this step, a 1% solution of cationic starch (Vector SC 20157) and colloidal silica (LUDOX® HS-40 colloidal silica) were added at 0.5 and 0.8% expressed on dry BKHP, respectively. The application of these retention agents was done at soft agitation of the suspension at 1% consistency for 30 min. This step is necessary in order to avoid LCNF loss during the dewatering process because the equipment is not able to retain nanometric material. The LCNF presents an anionic charge; therefore, a cationic element is needed to be used as microparticle retention system (Xu et al. 2013). Different types of retention agents have been studied to analyze their effectiveness in the retention of cellulose nanofibers. Taipale et al. (2010) investigated the effect that different types of CNF have on the drainage of kraft pulp and the strength of papers produced, using cationic polychloride (poly-DAD-MAC), cationic starch, and three different types of polyacrylamides (C-PAM). The use of cationic starch as retention agent has been used to retain nanocrystalline cellulose (NCC) in the application in deinked pulp (Xu et al. 2013). In that study, two retention systems were investigated, cationic polyacrylamide (CPAM/NCC) and cationic starch (CS/

NCC). These retention systems increased the retention of NCC on pulp without affecting the drainage value in papersheets. The use of these retention systems can promote the occurrence of fiber flocs, thus affecting the uniformity of the sheet and, therefore, the performance of paper. To avoid this problem, colloidal silica is used as deflocculant to prevent floc formation and avoid problems during sheet formation. The negatively charged particles of colloidal silica have a great interaction with the positive surfaces of the fibers, once the cationic starch is added and retain on the fibers, and this interaction avoids the formation of fiber flocs, making the distribution of fiber in the sheet much better. The retention system used in this work has been studied and widely used in literature (Alcalá et al. 2013; Delgado-Aguilar et al. 2014; Espinosa et al. 2016; Tarrés et al. 2016). Papersheets with LCNF content (from 0 to 5% over dried material) were fabricated in a sheet former (ENJO-F-39.71) according to ISO standard 5269-2 and conditioned in a weather chamber at 25 °C and 50% humidity for 48 h before the mechanical test was performed.

Once conditioned, the basis weight, as well as their physico-chemical characteristics were determined following ISO standards (ISO 536, 1924-1, 1924-2, 1974, and 2758).

#### Characterization

##### *Yield of nanofibrillated cellulose*

The LCNF suspension was centrifuged in order to separate the unfibrillated part from the partially fibrillated materials. The protocol was carried out as described in the bibliography (Besbes et al. 2011a): A 0.1 wt% solid content suspension (Sc) was centrifuged at 4500 rpm for 30 min to separate the nanofibrillated material (in the supernatant fraction) from the non-fibrillated or partially fibrillated fractions, which settled out. The sediments were dried to a constant weight at 100 °C. The yield was calculated from the next equation:

$$\text{Yield \%} = \left( 1 - \frac{\text{Weight of dried sediments}}{(\text{Weight of diluted sample} \cdot \%SC)} \right) \cdot 100 \quad (1)$$

##### *Optical transmittance*

The optical transmittance is an indirect indicator of the nanofibrillation yield (Delgado-Aguilar et al. 2016; Meng et al. 2016). The LCNF suspensions were introduced into a quartz cuvette, and the transmittance was measured from 400 to 800 nm using a Lambda 25 UV-Spectrometer. The spectrum of a cuvette filled with distilled water was used as the reference.

##### *Carboxyl content*

The carboxyl content (CC) of the different LCNF was determined using conductometric titration, as described in Besbes et al. (2011a). The LCNF samples (15 mg dried weight) were suspended into 15 mL of 0.01 M HCl solution. After stirring for 30 min, the suspension was titrated with 0.05 M NaOH. The titration curves showed three characteristics regions with two intersection points ( $V_1$  and  $V_2$ ) corresponding the first regions to the excess of HCl, the second corresponds to the volume of NaOH required to neutralize the weak acidic (carboxylic) groups, and the third region corresponds to the NaOH excess. The volume of NaOH (L) used in the second region is used to determine the carboxyl content of the fibers,

$$CC = \frac{162(V_2 - V_1) \cdot c}{w - 36(V_2 - V_1) \cdot c} \quad (2)$$

where  $c$  is the concentration of the sodium hydroxide ( $\text{mol L}^{-1}$ ) solution and  $w$  is the oven-dry weight of cellulose (g). The results indicate the average mmols of  $-\text{COOH}$  groups per gram of LCNF.

##### *Cationic demand*

The cationic demand was determined by means of a Mutek PCD 05 particle charge detector, following the methodology described by Espinosa et al. (2016) through the next equation:

$$CD = \frac{(C_{\text{Poly-D}} \cdot V_{\text{Poly-D}}) \cdot (V_{\text{Pes-Na}} \cdot C_{\text{Pes-Na}})}{w} \quad (3)$$

where CD is the cationic demand ( $\mu\text{eq g}^{-1}$ ),  $C_{\text{Poly-D}}$  = cationic polymer concentration ( $1 \text{ meq L}^{-1}$ ),  $C_{\text{Pes-Na}}$  = anionic polymer concentration ( $1 \text{ meq L}^{-1}$ ),

$V_{\text{Poly-D}}$  = used volume of cationic polymer and  $V_{\text{Pcs-Na}}$  = used volume of anionic polymer and  $w$  = sample's dry weight.

#### Degree of polymerization

The degree of polymerization of cellulose chains forming pulp and LCNF can be estimated from the average intrinsic viscosity value (Tanaka et al. 2014). For cellulose, the intrinsic viscosity ( $\eta_s$  in mL g<sup>-1</sup>) is related to the degree of polymerization (DP) and empirical relationship is suggested following the next equations (Marx-Figini 1987):

$$\text{DP}(< 950) \quad \text{DP} = \left[ \frac{\eta_s}{0.42} \right] \quad (4)$$

$$\text{DP}(> 950) \quad \text{DP}^{0.76} = \left[ \frac{\eta_s}{2.28} \right] \quad (5)$$

The analyses were performed dissolving pulp and LCNF in cupriethylenediamine (1 N) as the solvent. For each sample, three measurements of the efflux time at the same concentration have been realized to determine the intrinsic viscosity at  $25 \pm 0.1$  °C.

#### Specific surface and diameter estimation

Several authors explain two possible mechanisms that could be involved in the interaction between CNF and poly-DADMAC (Rouger and Mutjé 1984; Carrasco et al. 1998), (1) ionic interaction between the cationic polymer and the carboxylic groups on the cellulose surface and (2) surface interactions due to London-Van der Waals forces. Both mechanisms could be assumed to occur at the same time forming poly-DADMAC in a single layer. In this case, by estimating the specific surface area of a single poly-DADMAC molecule, it is possible to calculate theoretically the specific surface of LCNF, and finally, considering a cylindrical geometry for LCNF, it is possible to calculate their average diameter.

#### Field emission scanning electron microscopy (FE-SEM)

In order to corroborate the accuracy of the diameter calculation, nanopapers from the different LCNF were

prepared by casting and observed through FE-SEM. Nanopaper was fixed to the substrate with double-sided tape and metalize with a 10 nm gold layer before observation. The size and morphology of the coated nanofibers were examined by field emission scanning electron microscopy (FE-SEM) in a S-4700 microscope (Hitachi, Japan).

#### FTIR analysis

The effect of the pre-treatments on chemistry structure of LCNF was examined by FTIR. Infrared spectra were obtained on a FTIR-ATR Perkin-Elmer Spectrum Two collecting 20 scans from 450 to 4000 cm<sup>-1</sup> with a resolution of 4 cm<sup>-1</sup>. Analysis was performed on pulp dried in an air oven at 60 °C for 24 h and NFC films prepared by heat-drying of LCNF suspensions.

#### Thermogravimetric analysis (TGA)

The thermal stability of the pulp and the different samples of LCNF were determined by TGA measurements performed using a Mettler Toledo Thermogravimetric analyser (TGA/DSC 1). The amount of sample used for each measurement was  $10.0 \pm 1.0$  mg. All measurements were performed under nitrogen atmosphere with a nitrogen gas flow of 50 mL min<sup>-1</sup> by heating the samples from room temperature to 900 °C at a heating rate of 10 °C min<sup>-1</sup>.

#### X-ray diffraction (XRD)

The XRD Spectra for soda pulp and the different LCNF were collected on a Bruker D8 Discover with a monochromatic source Cu K $\alpha$ 1. The LCNF were freeze-dried and compressed into flat sheets with the thickness of around 1 mm before measurement. Diffractograms were recorder over an angular range of 7°–50° at a scan of 1°/38.4 s. The crystallinity index (CI) was calculated from the intensity of the 2 0 0 peak ( $I_{200}$   $2\theta = 22^\circ$ ) and the intensity minimum ( $I_{\text{am}}$  between the peaks at 2 0 0 and 1 1 0 ( $I_{110}$   $2\theta = 15^\circ$ )) by using the empirical equation (Segal et al. 1959):

$$\text{CI} = \frac{I_{200} - I_{\text{am}}}{I_{200}} \cdot 100 \quad (6)$$

## Results and discussion

### Wheat straw fibers

Table 1 shows the results obtained from the chemical characterization of wheat straw compared with other raw materials used in obtaining LCNF found in the literature.

The comparison of raw materials underscores that wheat straw could be used for the production of LCNF, such as the other raw materials, due to the high  $\alpha$ -cellulose and hemicellulose content that it has. Moreover, the lower lignin content of wheat straw compared to the rest, facilitates the efficient production of LCNF by the three processes mentioned (TEMPO-mediated oxidation, mechanical process, and enzymatic hydrolysis). In general, for a TEMPO-mediated oxidation, a low lignin content allows the use of oxidative power in the oxidation of cellulose instead of in the oxidation of lignin. In the mechanical process, the effectiveness of mechanical beating increases because during the beating the fiber swelling is reduced by the presence of lignin for its hydrophobic character which harm the water absorption of the fibers. Last, in the enzymatic hydrolysis, high lignin content avoids the unfolding of cellulose chains hindering the enzyme accessibility.

After the pulping process the content of  $\alpha$ -cellulose in pulp increases (from 39.7 to 59.20%) and the lignin and ash content decreases (from 17.7 and 7.72% to 13.31 and 2.47%, respectively). As for the hemicellulose content, a slight decrease occurs (from 30.6 to 25.71%), despite this, a higher content remains compared with other pulp used in LCNF production, such as *Cladophora glomerata* (15.3%) and those obtained from bark residue (15.3%) (Nair and Yan 2015; Xiang et al. 2016).

The hemicellulose content plays a key factor in the nanofibrillation because hemicelluloses act as inhibitors of the coalescence of microfibrils and facilitate the nanofibrillation (Iwamoto et al. 2008). The polymerization degree obtained (1630) indicates a high fiber length.

### Characterization and morphology of CNF

The nanofibers obtained by TEMPO-mediated oxidation have a higher nanofibrillation yield than the ones obtained by mechanical process and enzymatic hydrolysis (Table 2).

The light transmittance is wavelength-dependent and it is related to nanofiber size due to the Rayleigh scattering effect (Meng et al. 2016). The light scattering, therefore, depends on the size of the dispersed nanofibrils, so if the LCNF presents a bigger size, it scatters more light, resulting in a lower transparency degree (Besbes et al. 2011b). Then, this parameter can be used as an indirect indicator of nanofibrillation yield of LCNF suspensions due to lower nanofibrillation yield result in a high light scattering compared with those suspensions which have a high nanofibrillation yield causing a lower light scattering. The carboxylate groups amount also affects the stability and transparency of nanocellulose suspension as a result by the electrostatic repulsion among the nanofibrils (Meng et al. 2016). Due to the synergy of these parameters, TO-LCNF presents the highest value followed by those obtained by a mechanical process and last, those obtained by enzymatic hydrolysis.

The cationic demand is calculated for the absorption of a cationic polymer (poly-DADMAC) onto the LCNF surface. The cationic demand is related to two parameters, (1) the specific surface of the fiber and (2)

**Table 1** Raw material characterization

	Ash (%)	$\alpha$ -cellulose (%)	Hemicellulose (%)	Lignin (%)	References
Wheat straw	7.72	39.7	30.6	17.7	
Cotton stalks	1.8	40.1	25.7	30.9	Soni et al. (2015)
Eucalyptus sawdust	0.59	41.8	10.7	32.3	Vallejos et al. (2016)
Rapeseed straw	6.5	44	31	21	Chacker et al. (2014)
Rice straw	19	41	31	24	Chacker et al. (2014)
Corn straw	7.5	40.8	34	22	Chacker et al. (2014)

**Table 2** LCNF Characterization

LCNF	Yield (%)	Transmittance (%)	Cationic demand ( $\mu\text{eq g}^{-1}$ )	Carboxyl content ( $\mu\text{mols g}^{-1}$ )	Specific surface ( $\text{m}^2 \text{g}^{-1}$ )	Diameter (nm)	Degree of polymerization (DP)
TO-LCNF	>95	<90	1116	362.4	367.01	6.81	502
Mec-LCNF	55.6	<75	441	<74.4	178.53	14.01	1395
Enz-LCNF	37.45	<40	428	<74.4	172.20	14.52	931

the number of carboxyl groups, so an increase in this demand is associated with an increase in the specific surface of the fiber or an increase in the carboxyl groups content.

Because TEMPO-mediated oxidation produces nanofibers with a very small diameter and presents a higher carboxyl content (Besbes et al. 2011a; González et al. 2014; Delgado-Aguilar et al. 2015), the cationic demand is much higher than the nanofibers obtained by other processes, since it is close to  $1200 \mu\text{eq g}^{-1}$ , similar to the values described in literature (González et al. 2014). Regarding the carboxyl content, the Mec-LCNF and Enz-LCNF have a value of  $74.4 \mu\text{eq g}^{-1}$ . However, nanofibers obtained by TEMPO-mediated oxidation have a higher carboxyl content because of oxidation augment the amount of carboxylate groups on the surface of the fiber (Benhamou et al. 2014; Besbes et al. 2011b; Saito and Isogai 2004).

Regarding diameter, smaller diameter nanofibers are obtained using TEMPO-mediated oxidation as pre-treatment compared to mechanical and enzymatic pre-treatments. Nevertheless, the oxidation results in fiber degradation as indicated by the values obtained for the degree of polymerization, since this is highest in the nanofibers obtained by mechanical process where less fiber degradation occurs compared to chemical and enzymatic pre-treatment.

Figure 1 shows nanometric size for the different LCNF, presenting similar diameter in Enz-LCNF and Mec-LCNF, and a smaller diameter in those nanofibers obtained by TEMPO-mediated oxidation (TO-LCNF), adjusting to the results obtained by the theoretical estimate.

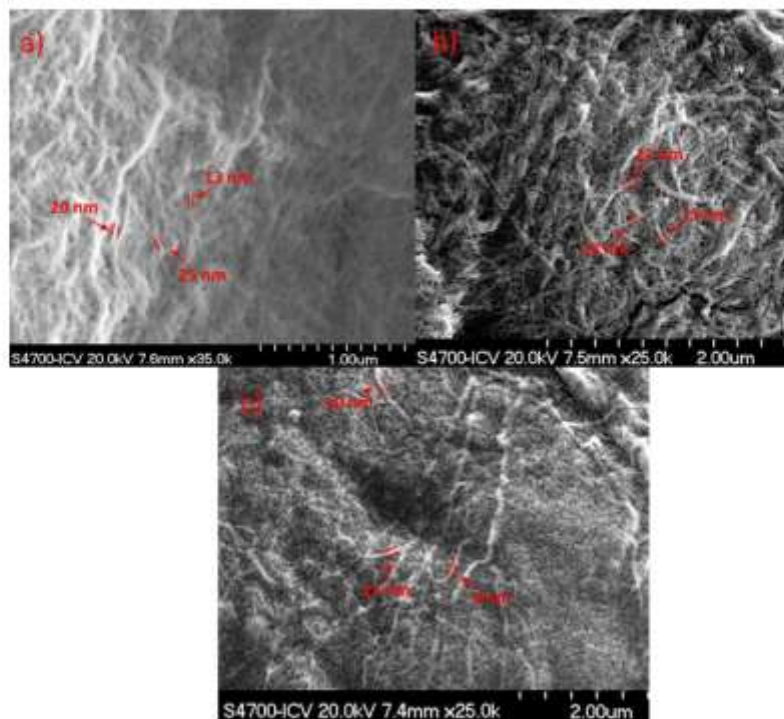
#### Fourier transform-infrared spectroscopy (FTIR) analysis

Figure 2 shows the FTIR spectrum for wheat straw soda pulp and the different cellulose nanofibers. The

spectral bands at  $3300$  and  $2845 \text{ cm}^{-1}$  correspond to O–H and C–H stretching vibration of  $\text{CH}_2\text{–OH}$  groups of cellulose structure (Moran et al. 2008). Despite analysing the dried samples, the peak detected at  $1743 \text{ cm}^{-1}$  in Enz-LCNF corresponds to O–H bending of absorbed water during the test (Tian et al. 2016). TEMPO-mediated oxidation converts selectively the C6 primary hydroxyls of cellulose into C6 sodium carboxylate groups, for this reason, the peak at  $1604 \text{ cm}^{-1}$ , assigned to C=O stretching in carboxyl groups, is more prominent in TO-LCNF (Jiang and Hsieh 2013). This is corroborated by the higher carboxyl content present in TO-LCNF compared to the rest of LCNF. The peak at  $1510 \text{ cm}^{-1}$  correspond to aromatic ring vibrations related with the lignin content in soda pulp, Mec-LCNF, and Enz-LCNF, but it is not present in TO-LCNF due to lignin oxidation during the pre-treatment and, therefore, fiber bleaching (Ibrahim et al. 2013). The peaks at  $1370$ ,  $1162$ , and  $1110 \text{ cm}^{-1}$  correspond to C–H vibrations, glycosidic bonds (C–O–C) and C–OH, respectively (Xiang et al. 2016). The intense peak at  $1600 \text{ cm}^{-1}$  is due to C–C stretching related with the cellulose structure (Moran et al. 2008).

#### X-ray diffraction analysis

The crystalline structure of cellulose is well studied using the XRD patterns. Two characteristic peaks are present in all the patterns at around  $22^\circ$  and  $15^\circ$   $2\theta$  angles, attributed to the diffraction planes of (101) and (002), which commonly represent typical cellulose I crystal form (Bettaieb et al. 2015). The ordered crystalline arrangements in the celluloses appears due to the formation of inter- and intramolecular H-bonding by the hydroxyl groups (Chirayil et al. 2014). The H-bonding restricts the free movement of the cellulosic chains, and the chains align close together in an orderly manner, which tends to have



**Fig. 1** Nanopapers FE-SEM microphotography: **a** Enz-LCNF, **b** Mec-LCNF, and **c** TO-LCNF

the crystallinity. Unlike in nanocrystalline cellulose, where the amorphous regions have been destroyed, the crystalline domains in the lignocellulose nanofibers are embedded in the matrix of amorphous components such as hemicellulose, lignin, and pectin, thus a low crystallinity is shown. Figure 3 shows XRD patterns of soda pulp and the different LCNF, which was used to evaluate the effect of pre-treatment on crystallinity. Soda pulp presents a low crystallinity associated with the presence of amorphous components such as hemicellulose, lignin, and pectin (Chandra et al. 2016). This value is lower in unbleached pulps compared to bleached pulps due to the removal of lignin. Compared to the original fibers (soda pulp), the LCNF samples present lower values of CI due to the pre-treatment and to high pressure homogenization. Each pre-treatment has a different effect on the cellulose crystalline domains. The decrease in the CI of TEMPO-oxidized cellulose could be explained by the fact that almost all carboxyl groups formed by the

oxidation are present on the surfaces of crystalline cellulose microfibrils (Tanaka et al. 2012) and by the sodium glucuronosyl units that lead to convert some crystalline regions of cellulose into disordered structures during the oxidation reaction (Puangsin et al. 2013). In the case of Mec-LCNF, a depth beating produces that the crystalline index of the samples decreased due to a high beating intensify the forces action on crystalline regions of cellulose, resulting in a higher disordering of these regions.

In the case of Enz-LCNF, a slight decrease in the CI is observed, associated with the shear forces which they are subjected to during the homogenization process (Iwamoto et al. 2007). Despite all LCNF suffer the effect of high pressure homogenization process, those obtained from mechanical beating process have a higher mechanical beating as pre-treatment resulting in a higher disordering of crystalline regions than those obtained from enzymatic hydrolysis.



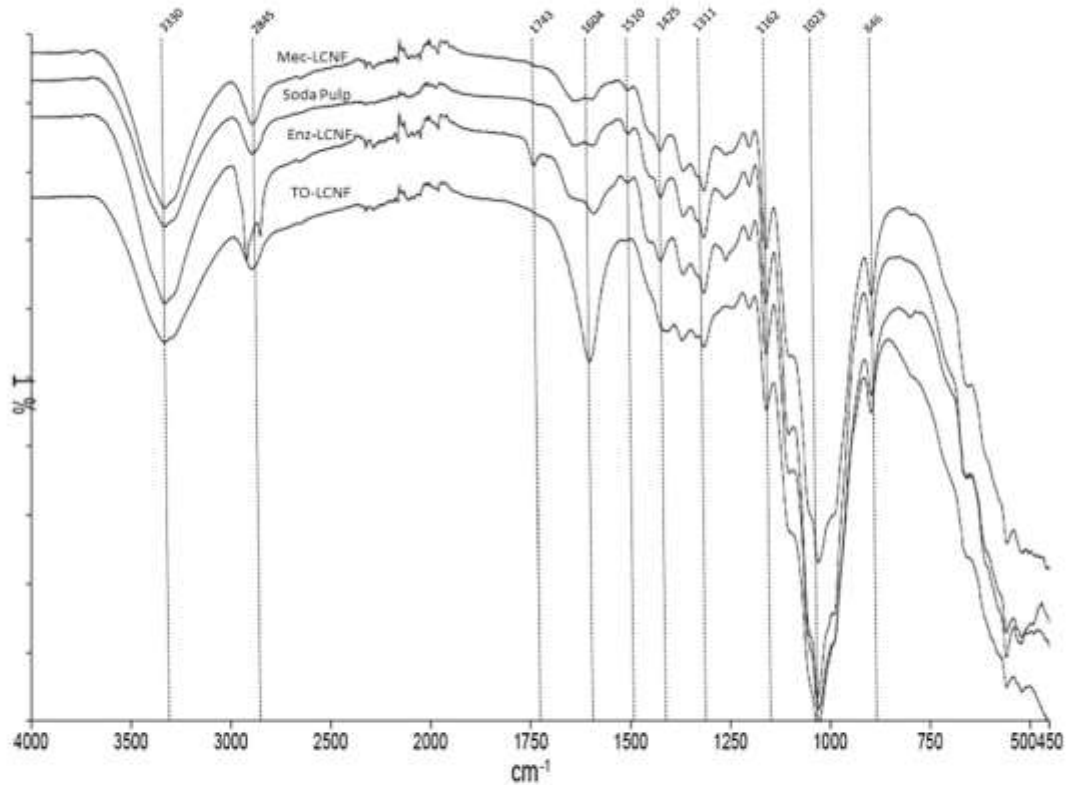


Fig. 2 FTIR Spectrum of Mec-LCNF, soda pulp, Enz-LCNF, and TO-LCNF

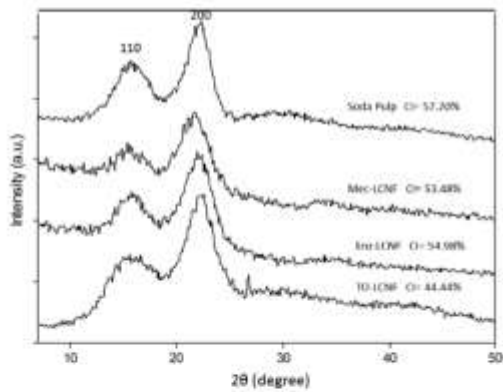
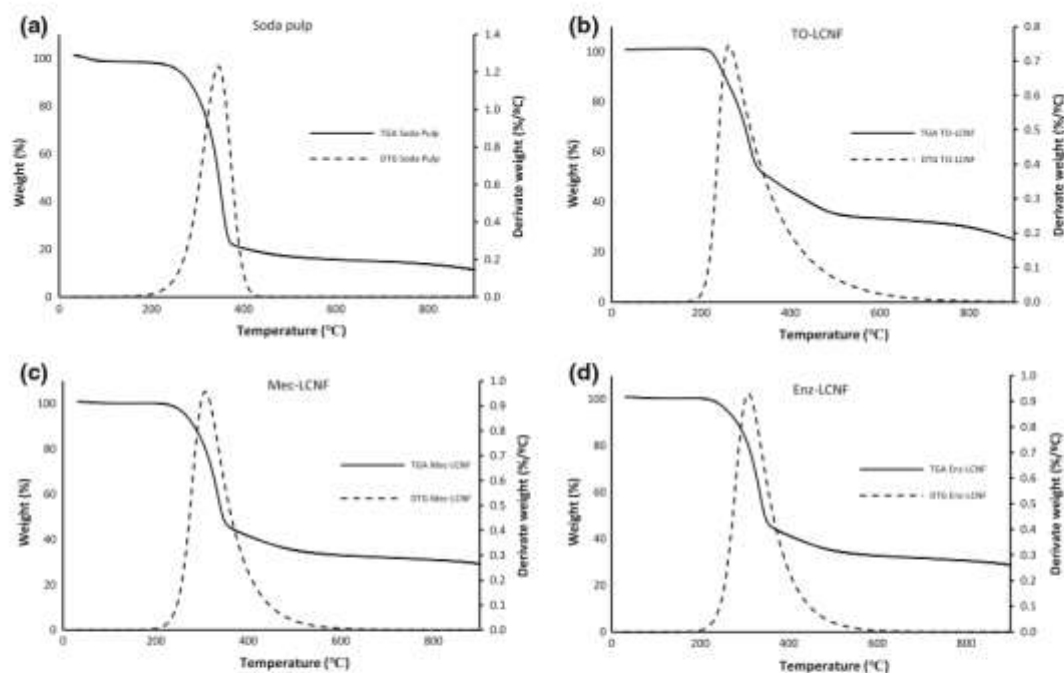


Fig. 3 XRD patterns of soda pulp, Mec-LCNF, Enz-LCNF, and TO-LCNF

#### Thermogravimetric analysis

The thermal stability and degradation behaviour of LCNF is an important parameter for the application in biocomposite processing (Abdul Khalil et al. 2012). The TGA weight loss curve and the derivative of the weight loss curve with temperature ( $dm/dT$ ) were analysed to obtain results of thermogravimetric analysis of soda pulp, TO-LCNF, Mec-LCNF, and Enz-LCNF as shown in Fig. 4. A slight weight loss is observed in the range of 30 to 200 °C in all TGA weight loss curves due to evaporation of absorbed and intermolecular H-bonded water. In the 250–400 °C range the greatest weight loss occurs in all the samples due to the breaking of glycosidic bonds, pyrolysis reactions of polysaccharides, dehydration, and



**Fig. 4** TGA and DTG curves of **a** soda pulp, **b** TO-LCNF, **c** Mec-LCNF, and **d** Enz-LCNF

depolymerisation, with production of low molecular weight compounds and formation of charred residue to occur under nitrogen atmosphere (Tian et al. 2016).

As described in the literature, the thermal stability of LCNF is lowest compared to larger size cellulosic fibers (Quiévy et al. 2010; Nair and Yan 2015). When LCNF are exposed to heat, due to its higher specific surface begin to discompose faster than those with a lower specific surface and higher diameter (Tian et al. 2016). The  $T_{max}$  values of the derivate weight loss denoting the temperature at which the degradation rate is fastest, are 345, 263, 307, and 309 °C for soda pulp, TO-LCNF, Mec-LCNF, and Enz-LCNF, respectively. It is noted that TO-LCNF, which has a considerably smaller diameter than other LCNF, reaches the maximum value of degradation at lower temperature than the other LCNF, followed by Mec-LCNF and finally Enz-LCNF. As Table 2 shows, the order regarding temperature where the maximum degradation values are reached, are in agreement with the order from smallest to largest size diameter obtained for the different LCNF. On the other hand, the

crystallinity of the fiber affects their thermal stability, so it relates that those presenting higher CI as LCNF obtained by mechanical process and enzymatic hydrolysis show a higher thermal stability that those that present low CI such as those obtained from TEMPO-mediated oxidation. The worse thermal stability of TO-LCNF could be also explained that because of their higher carboxyl content, they present a larger number of free ends, thus affecting the thermal stability of the nanofibers (Sharma and Varma 2014).

#### Reinforcement effect on papermaking slurries

With a larger specific surface and a higher charge density, the ability of the fiber to form bonds with other fibers is higher, thereby increasing the strength of papersheets. Because of this feature, LCNF are perfect candidates to be used as reinforcement in papermaking slurries as a replacement step for mechanical beating. It is unclear what effect the cationic starch has on the mechanical properties of the papersheets when it is added as retention agent. To determine this effect, the effect of the retention system

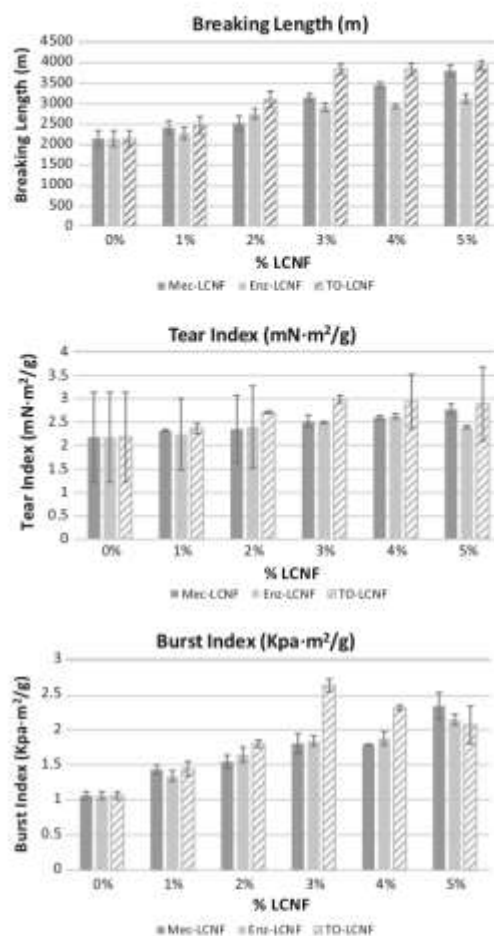
without LCNF addition was studied, and it showed that the mechanical properties increase reaching a maximum value of 18–20%. Determining that most of the reinforcement effect is produced by adding LCNF. The strengthening contribution of LCNF to papersheets properties may be explained through two possible mechanisms; in the first one, LCNF act as an adhesion promoter by bridging adjacent fibers and favouring the fiber–fiber bonding, increasing the bonded area; in the second one, LCNF may generate a different network embedded among larger fibers that contributes to boost the load-bearing capacity of the paper (Boufi et al. 2016).

To check the viability of the usage of wheat straw LCNF as a reinforcement agent in papermaking slurries, the evolution of physical properties of the papersheets was studied by adding them on bleached kraft hardwood pulp (Fig. 5).

As expected, the addition of LCNF increased the strength properties of papersheets, but it was shown that the isolation conditions of the LCNF samples have much influence in its application as reinforcement, due to their differences in size and surface charge. The breaking length, tear index, and burst index were all improved with the addition of LCNF.

The largest increase in the different physical properties is produced by the addition of TO-LCNF due to its higher specific surface, increasing the relative bonded area and improving the physical properties of papersheets. Regarding the reinforcement effect of the LCNF, from a content of 3% LCNF (except for Mec-LCNF) an asymptotic value is reached where a further increase is not achieved for the physical properties values. This effect is due to this relative bonded area and cannot be further increased at a certain point, which leads to a stagnation of the physical properties improvement (Tarrés et al. 2016).

Although TO-LCNF produces a greater increase, the Mec-LCNF, despite its larger diameter, has a higher length as is observed in the values obtained for degree of polymerization (Table 2). This higher length promotes a better crosslinking with the rest of the fibers, thereby improving the physical properties of papersheets in similar values to those obtained by the addition of TO-LCNF. However, LCNF produced by enzymatic pre-treatment present a similar diameter to those obtained mechanically, but with a significantly smaller length. Because of these parameters, the improvement in physical properties of papersheets



**Fig. 5** Evolution of the mechanical properties of BKHP with different amounts of LCNF

does not reach high values compared with the other LCNF used in this work.

The drainage properties of the papermaking slurries are of key importance in the papermaking processes, because if the drainage is too slow, the retention time of the papermaking slurries during the dewatering process is increased, thus affecting the capacity of production. The large specific surface of the LCNF and, therefore, the high amount of hydroxyl groups on nanofiber's surface, bind water increasing the retention values, causes the viscosity of the fibrous suspensions to increase and reduces the drainage rate, despite the low added amounts of LCNF. The fact that

the addition of LCNF on papermaking slurries increased Schopper Riegler Degree ( $^{\circ}$ SR) has been reported previously by several works (Delgado-Aguilar et al. 2016; Vallejos et al. 2016).

The drainage properties evolution of BKHP papermaking slurries reinforced with ascending amounts of the different LNFC are shown in Fig. 6. The graph shows how the increase in the Schopper Riegler Degree ( $^{\circ}$ SR) produced by the Mec-LCNF and Enz-LCNF is less than the increase produced by TO-LCNF. This phenomenon is due to the higher charge density and carboxyl content, which produce a greater water binding to the fiber compared to those that present a lower charge density and carboxyl content. Therefore, the use of Mec-LCNF as reinforcement agent produces similar values of reinforcement, and in turn, produces a lower increase in the  $^{\circ}$ SR, damaging to a lesser extent the papermaking process compared to TO-LCNF.

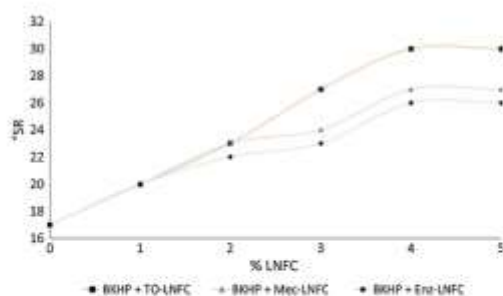
In view of the results, it can be concluded that TO-LCNF have the greatest reinforcement capacity of the three LCNF studied. Nevertheless, if the cost of obtaining the different LCNF is considered, the TO-LCNF have an estimated cost of 206€/kg (Delgado-Aguilar et al. 2015), due to the high price of reagents used in the oxidation process, mainly TEMPO catalyst, because even nowadays, no successful methodology has been reported to recover the TEMPO catalyst at an industrial scale. By contrast, Enz-LCNF needs a lower investment to be produced, 13.71€/kg (Delgado-Aguilar et al. 2015), but the process requires greater control (pH and temperature) to promote a proper operation for the pre-treatment. In this case, the buffering agents represent a great part of the final cost to obtain this type of LCNF. Finally, for those LCNF

obtained by mechanical pre-treatment a final cost of 2.55€/kg is needed (Espinosa et al. 2016), almost 100 times less than for those obtained by TEMPO-mediated oxidation and five times less than those obtained by enzymatic hydrolysis. The costs to obtain LCNF by enzymatic hydrolysis and mechanical pre-treatment are much lower, so these types of LCNF are presented as an economically viable alternative for use as reinforcement on papermaking slurries, especially Mec-LCNF, which despite its low cost with a 5% LCNF content, reaches a reinforcement effect just 5.7% lower than the achieved with TO-LCNF. Its high specific surface and his great length facilitate the crosslinking of nanofibers with the other fibers during the papersheets formation allowing an increase similar to that obtained by TO-LCNF despite its larger diameter.

Therefore, Mec-LCNF are good candidates for use as industrial-scale reinforcement to improve physical properties of papersheets due to their low cost and simple production process. This technology would be particularly relevant as a substitute for mechanical beating in the recycling process of paper and cardboard, because the traditional refining process involves, generally, a loss of physical-mechanical fiber properties due to the physical modification that it produces, so if this modification is avoided, the number of recycling cycles that the original fibers can endure increases.

## Conclusions

Wheat straw soda pulp was used to isolated lignocellulose nanofibers (LCNF) using mechanical, enzymatic, and chemical pre-treatments followed by high pressure homogenization. The lignonnanofibers characterization indicates that the lignonnanofibers obtained by TEMPO-mediated oxidation, presents smaller diameter, but shorter lengths due to the degradation during the oxidation process than those values obtained in mechanical and enzymatic lignonnanofibers. FE-SEM images were used to assure the nanometric size of the fibers. The FTIR spectrum reveals the increase in carboxyl content caused by TEMPO-oxidation. The XRD patterns of the different samples shows the decrease in the crystallinity index by the different pre-treatments, resulting a higher crystallinity index in the mechanical and enzymatic



**Fig. 6** Drainage properties evolution of papermaking slurries by adding different amounts LCNF

lignonanofibers. In addition, the lignonanofibers with a high crystallinity index present a higher thermal stability. The application of the LCNF as reinforcement agent on papermaking shows that, due to its high specific surface and the ability to form bonds with other fibers, increase the mechanical properties of the papersheets. This is stressed in TO-LCNF and Mec-LCNF, since the latter is cheaper than TO-LCNF to obtain similar values of reinforcement. This work provides a way to generate lignocellulose nanofibers from wheat straw soda pulp, using different pre-treatments and its effective application as papermaking reinforcement.

**Acknowledgments** The authors are grateful to Spain's DGICYT, MICINN for funding this research within the framework of the Projects CTQ2013-46804-C2-2-R and supported by the Spanish Ministry of Science and Education through the National Program FPU (Grant Number FPU14/02278), and also to the staff of the Central Service for Research Support (SCAI) at the University of Córdoba.

## References

- Abdul Khalil HPS, Bhat AH, Ireana Yusra AF (2012) Green composites from sustainable cellulose nanofibrils: a review. *Carbohydr Polym* 87:963–979
- Afra E, Yousefi H, Hadilam MH, Nishino T (2013) Comparative effect of mechanical beating and nanofibrillation on paper properties made from bagasse and softwood pulps. *Carbohydr Polym* 97:725–730
- Alcalá M, González I, Boufi S, Vilaseca F, Mutjé P (2013) All-cellulose composites from unbleached hardwood kraft pulp reinforced with nanofibrillated cellulose. *Cellulose* 20:2909–2921
- Benhamou K, Dufresne A, Magnin A, Mortha G, Kaddami H (2014) Control of size and viscoelastic properties of nanofibrillated cellulose from palm tree by varying the TEMPO-mediated oxidation. *Carbohydr Polym* 99:74–83
- Besbes I, Alila S, Boufi S (2011a) Nanofibrillated cellulose from TEMPO-oxidized eucalyptus fibers: effect of the carboxyl content. *Carbohydr Polym* 84(3):975–983
- Besbes I, Vilar MR, Boufi S (2011b) Nanofibrillated cellulose from Alfa, Eucalyptus and Pine fibers: preparation, characteristics and reinforcing potential. *Carbohydr Polym* 84:1198–1206
- Bettaieb F, Khiari R, Dufresne A, Mhenni MF, Belgacem MN (2015) Mechanical and thermal properties of *Posidonia oceanica* cellulose nanocrystal reinforced polymer. *Carbohydr Polym* 123:99–104
- Boufi S, González I, Delgado-Aguilar M, Tarrés Q, Pèlach MA, Mutjé P (2016) Nanofibrillated cellulose as an additive in papermaking process: a review. *Carbohydr Polym* 154:151–166
- Carrasco F, Mutjé P, Pèlach MA (1998) Control of retention in paper-making by colloid titration and zeta potential techniques. *Wood Sci Technol* 32(2):145–155
- Cereal Supply and Demand Brief. Food and Agriculture Organization of the United Nation (FAO) (2016) <http://www.fao.org/worldfoodsituation/csdb/en/>. Accessed 30 May 2016
- Chacker A, Mutje P, Vilar MR, Boufi S (2014) Agriculture crop residues as a source for the production of nanofibrillated cellulose with low energy demand. *Cellulose* 21:4247–4259
- Chandra CS, Neena G, Sunil KN (2016) Isolation and characterization of cellulose nanofibrils from arecanut husk fiber. *Carbohydr Polym* 142:158–166
- Chirayil CJ, Joy J, Mathew L, Mozetic M, Koetz J, Thomsa S (2014) Isolation and characterization of cellulose nanofibrils from *Helicteres isora* plant. *Ind Crop Prod* 59:27–37
- Delgado-Aguilar M, González I, Pèlach MA, De la Fuente E, Negro C, Mutjé P (2014) Improvement of deinked old newspaper/old magazine pulp suspensions by means of nanofibrillated cellulose addition. *Cellulose* 22(1):789–802
- Delgado-Aguilar M, González I, Tarrés Q, Alcalá M, Pèlach MA, Mutjé P (2015) Approaching a low-cost production of cellulose nanofibers for papermaking applications. *BioResources* 10(3):5345–5355
- Delgado-Aguilar M, González I, Tarrés Q, Pèlach MA, Alcalá M, Mutjé P (2016) The key role of lignin in the production of low-cost lignocellulosic nanofibers for papermaking applications. *Ind Crops Prod* 86:295–300
- Espinosa E, Tarrés Q, Delgado-Aguilar M, González I, Mutjé P, Rodríguez A (2016) Suitability of wheat straw semi-chemical pulp for the fabrication of lignocellulosic nanofibers and their application to papermaking slurries. *Cellulose* 23:837–852
- Feria JM, Alfaro A, López F, Pérez A, García JC, Rivera A (2012) Integral valorization of *Leucaena diversifolia* by hydrothermal and pulping processing. *Bioresour Technol* 103:381–388
- González I, Boufi S, Pèlach MA, Alcalá M, Vilaseca F, Mutjé P (2012) Nanofibrillated cellulose as paper additive in eucalyptus pulps. *BioResources* 7(4):5167–5180
- González I, Alcalá M, Arbat G, Vilaseca F, Mutjé P (2013) Suitability of rapeseed chemithermomechanical pulp as raw material in papermaking. *BioResources* 8(2):1697–1708
- González I, Alcalá M, Chinga-Carrasco G, Vilaseca F, Boufi S, Mutjé P (2014) From paper to nanopaper: evolution of mechanical and physical properties. *Cellulose* 21(4):2599–2609
- Henriksson M, Henriksson G, Berglund LA, Lindström T (2007) An environmentally friendly method for enzyme-assisted preparation of microfibrillated cellulose (MFC) nanofibers. *Eur Polym J* 43(8):3434–3441
- Ibrahim MM, El-Zawawy WK, Juttke Y, Koschella A, Heinze T (2013) Cellulose and microcrystalline cellulose from rice straw and banana plant waste—preparation and characterization. *Cellulose* 20:2403–2416

- Iwamoto S, Nakagaito A, Yano H (2007) Nano-fibrillation of pulp fibers for the processing of transparent nanocomposites. *Appl Phys A Mater Sci Process* 89:461–466
- Iwamoto S, Abe K, Yano H (2008) The effect of hemicellulose on wood pulp nanofibrillation and nanofiber network characteristics. *Biomacromolecules* 9(3):1022–1026
- Jiang F, Hsieh YL (2013) Chemically and mechanically isolated nanocellulose and their self-assembled structures. *Carbohydr Polym* 95(1):32–40
- Kajanto I, Kosonen M (2012) The potential use of micro- and nanofibrillated cellulose as a reinforcing element in paper. *J For* 2(6):42–48
- Lu Y, Tekinalp HL, Eberle CC, Peter W, Naskar AK, Ozcan S (2014) Nanocellulose in polymer composites and biomedical applications. *Tappi J* 13(6):47–54
- Marx-Figini M (1987) The acid-catalyzed degradation of cellulose linters in distinct ranges of degree of polymerization. *J Appl Polym Sci* 33(6):2097–2105
- Meng Q, Fu S, Lucia LA (2016) The role of heteropolysaccharides in developing oxidized cellulose nanofibrils. *Carbohydr Polym* 144:187–195
- Mohammadkazemi F, Doosthoseini K, Ganjian E, Azin M (2009) Manufacturing of bacterial nano-cellulose reinforced fiber-cement composites. *Constr Build Mater* 101:958–964
- Moran JL, Alvarez VA, Cyrus VP, Vazquez A (2008) Extraction of cellulose and preparation of nanocellulose from sisal fibers. *Cellulose* 15:149–159
- Nair SS, Yan N (2015) Effect of high residual lignin on the thermal stability of nanofibrils and its enhanced mechanical performance in aqueous environments. *Cellulose* 22:3137–3150
- Pääkkö M, Ankerfors M, Kosonen H, Nykänen A, Ahola S, Österberg M, Ruokolainen J, Laine J, Larsson PT, Ikkala O, Lindström T (2007) Enzymatic hydrolysis combined with mechanical shearing and high-pressure homogenization for nanoscale cellulose fibrils and strong gels. *Biomacromolecules* 8:1934–1941
- Puangsin B, Yanga Q, Saito T, Isogai A (2013) Comparative characterization of TEMPO-oxidized cellulose nanofibril films prepared from non-wood resource. *Int J Biol Macromol* 59:208–213
- Quiévy N, Jacquet N, Sclavons M, Deroanne C, Paquet M, Devaux J (2010) Influence of homogenization and drying on the thermal stability of microfibrillated cellulose. *Polym Degrad Stab* 95:165–188
- Rodríguez A, Sánchez R, Requejo A, Ferrer A (2010) Feasibility of rice straw as a raw material for the production of soda cellulose pulp. *J Clean Prod* 18:1084–1091
- Rouger J, Mutjé P (1984) Correlation between the cellulose fibers beating and the fixation of a soluble cationic polymer. *Br Polym J* 16(2):83–86
- Saito T, Isogai A (2004) TEMPO-mediated oxidation of native cellulose. The effect of oxidation conditions on chemical and crystal structures of the water-insoluble fractions. *Biomacromol* 5(5):1983–1989
- Saito T, Kimura S, Nishiyama Y, Isogai A (2007) Cellulose nanofibrils prepared by TEMPO-mediated oxidation of native cellulose. *Biomacromolecules* 8:2485–2491
- Sánchez R, Espinosa E, Domínguez-Robles J, Loaiza JM, Rodríguez A (2016) Isolation and characterization of lignocellulose nanofibers from different wheat straw pulps. *Int J Biol Macromol* 92:1025–1033
- Segal L, Creely JJ, Martin AE, Conrad CM (1959) An empirical method for estimating the degree of crystallinity of native cellulose using X-ray diffractometer. *Text Res J* 29:786–794
- Sharma PR, Varma AJ (2014) Thermal stability of cellulose and their nanoparticles: effect of incremental increases in carboxyl and aldehyde groups. *Carbohydr Polym* 114:339–343
- Soni B, Hassan EB, Mahmoud B (2015) Chemical isolation and characterization of different cellulose nanofibers from cotton stalks. *Carbohydr Polym* 134:581–589
- Taipale T, Österberg M, Nykänen A, Ruokolainen J, Laine J (2010) Effect of microfibrillated cellulose and fines on the drainage of kraft pulp suspension and paper strength. *Cellulose* 17:1005–1020
- Tanaka R, Saito T, Isogai A (2012) Cellulose nanofibrils prepared from softwood cellulose by TEMPO/NaClO/NaClO<sub>2</sub> systems in water at pH 4.8 or 6.8. *Int J Biol Macromol* 51(3):228–234
- Tanaka R, Saito T, Ishii D, Isogai A (2014) Determination of nanocellulose fibril length by shear viscosity measurement. *Cellulose* 21:1581–1589
- Tarrés Q, Saguer E, Pèlach MA, Alcalá M, Delgado-Aguilar M, Mutjé P (2016) The feasibility of incorporating cellulose micro/nanofibers in papermaking processes: the relevance of enzymatic hydrolysis. *Cellulose* 23(2):1433–1445
- Tian C, Yi J, Wu Y, Wu Q, Qing Y, Wang L (2016) Preparation of highly charged cellulose nanofibrils using high-pressure homogenization coupled with strong acid hydrolysis pretreatments. *Carbohydr Polym* 136:485–492
- Turbak A, Snyder F, Sandberg K (1983) Microfibrillated cellulose: a new cellulose product: properties, uses, and commercial potential. *J Appl Polym Sci Appl Polym Symp* 37:815–827
- Vallejos ME, Felissia FE, Area MC, Ehman NV, Tarrés Q, Mutjé P (2016) Nanofibrillated cellulose (CNF) from eucalyptus sawdust as a dry strength agent of unrefined eucalyptus handsheets. *Carbohydr Polym* 139:99–105
- Vargas F, González Z, Sánchez R, Jiménez L, Rodríguez A (2012) Cellulosic pulps of cereal straws as raw material for the manufacture of ecological packaging. *BioResources* 7(3):4161–4170
- Xiang Z, Gao W, Chen L, Lan W, Zhu JY, Runge T (2016) A comparison of cellulose nanofibrils produced from *Cladophora glomerata* algae and bleached eucalyptus pulp. *Cellulose* 23:493–503
- Xu Q, Gao Y, Qin M, Wu K, Fu Y, Zhao Y (2013) Nanocrystalline cellulose from aspen kraft pulp and its application in deinked pulp. *Int J Biol Macromol* 60:241–243
- Yousefi H, Faezipour M, Nishino T, Shakeri A, Ebrahimi G (2011) All-cellulose composite and nanocomposite made from partially dissolved micro and nanofibers of canola straw. *Polym J* 43:559–564

## **Publicación V**

***Recycled fibers for fluting production: The role of lignocellulosic micro/nanofibers of banana leaves***

E. Espinosa, Q. Tarrés, J. Domínguez-Robles, M. Delgado-Aguilar, P. Mutjé and A. Rodríguez

**Journal of Cleaner Production (2018) 172:233-238**

JCR Factor de Impacto (2018): 6,395

Posición (2018): 18/250, Q1 en "Environmental Sciences"







## Recycled fibers for fluting production: The role of lignocellulosic micro/nanofibers of banana leaves



Eduardo Espinosa<sup>a</sup>, Quim Tarrés<sup>b</sup>, Juan Domínguez-Robles<sup>a</sup>, Marc Delgado-Aguilar<sup>b</sup>, Pere Mutjé<sup>b</sup>, Alejandro Rodríguez<sup>a,\*</sup>

<sup>a</sup> Chemical Engineering Department, Faculty of Science, University of Córdoba, Building Marie-Curie, Campus of Rabanales, Córdoba, 14014, Spain

<sup>b</sup> Group LEPAMAP, Department of Chemical Engineering, University of Girona, c/ M. Aureli Còmpans, n° 61, Girona 17071, Spain

### ARTICLE INFO

#### Article history:

Received 5 April 2017

Received in revised form

10 October 2017

Accepted 16 October 2017

Available online 17 October 2017

#### Keywords:

Banana leaves

Fluting

Recycled fibers

Lignomicro/nanofibers

### ABSTRACT

Recycling is becoming one of the main activities of the papermaking industry to palliate the consumption of natural resources. However, with the recycling process, the fibers experience structural damages due to the hornification phenomena and the mechanical refining. The present work aims to compare the effect of mechanical refining during recycling cycles, to recover the original mechanical properties of paper with the incorporation of lignocellulosic micro/nanofibers (LCMNF) from banana leaf residue. For that, industrial fluting paper was submitted to a recycling cycle and the effect of the increasing intensity of PF-refining was compared versus the incorporation of LCMNF additions ranging from 1.5 to 4.5 wt%. In addition, with the objective of demonstrating that the proposed process could be plausible at a large scale, process water with high conductivity and charge density was used for comparison with tap water, usually used at laboratory scale. Results showed that the incorporation of 1.5 wt% of LCMNF was enough to recover the original properties of fluting paper (a breaking length value greater than 3443 m) with a low impact in pulp drainability (54 \*SR). At the same time, no structural damages were caused to the fibrous compounds, implying that the life span of paper products can be successfully increased. Higher dosages lead to papers with significantly improved mechanical properties, opening the opportunity to adopt environmental friendly strategies such as decreasing basis weight or, on the other hand, to reach new market niches by maintaining the basis weight.

© 2017 Elsevier Ltd. All rights reserved.

### 1. Introduction

Forested lands and croplands have a limited capacity to supply lignocellulosic resources, and as the amount of fibrous resources decrease, wood pricing rapidly grows, making the paper manufacturing process completely unsustainable, both from an environmental and an economical point of view. Luckily, European papermaking industries are sensitized with this issue and paper recycling is, nowadays, one of their main activities (Hubbe, 2014). A proof of that is the recycling rate in Europe, which accounted for 72.5% in 2016, according to the Confederation of European Paper Industries (CEPI) (Key Statics, 2016). Specifically, for brown-line papers, this recycling rate is almost 100%.

Bearing in mind that there are several single-use paper grades (e.g. toilet paper or cigarette paper) that cannot be recycled and, at

the same time, several geographical areas where paper collection is completely unfeasible and unsustainable, it becomes apparent that the reported recycling rate is reaching its limits.

During recycling, fibers experience structural damages due to mechanical refining and hornification phenomena (Jayme, 1944; Weise, 1998). This effect is much higher in kraft and sulfite than in high-yield pulps (mechanical and thermomechanical), being these last commonly used in newsprint production (Hubbe, 2014). However, while it is true that mechanical refining increases the specific surface of fibers, promotes swelling capacity and increases mechanical properties of papers, in the long term the permanent structural damages and fines creation will have a direct impact on the life span of paper and pulp drainability, respectively (Delgado-Aguilar et al., 2015a). In this sense, there is a clear need to develop alternative strategies and methodologies to overcome the properties loss that fibers experience.

The use of high-yield fibers from agricultural and forestry residues could be a way to relieve the pressure on the recycled paper demand. In fact, it has been previously reported that the

\* Corresponding author.

E-mail address: [a.rodriguez@uco.es](mailto:a.rodriguez@uco.es) (A. Rodríguez).

<https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2017.10.174>

0959-6526/© 2017 Elsevier Ltd. All rights reserved.

incorporation of pulp made from these resources can significantly improve the physic and mechanical properties of paper, with minor effects on the structure of the fibers (Moral et al., 2017). In addition to palliating the consumption of virgin sources, their use has several other advantages in the production of printing and writing paper, such as opacity and brightness. However, the incorporation of these fillers, due mainly to their low aspect ratio, usually have negative effects on the mechanical properties of paper (Lourenço et al., 2014).

In the recent years, several methodologies have appeared to further improve mechanical properties of paper, permitting the production of high performance papers or, on the other hand, lighter products for a common use (Hubbe, 2014). In all cases, the ultimate objective is to increase the bonding capacity of fibers to produce stronger papers.

Cellulose nanofibers (CNF) have become a topic of great interest due to their high intrinsic mechanical properties, specific surface and capacity to be functionalized. The incorporation of such nanostructured cellulosic material significantly increases inter-fiber bonding, leading to stronger and denser papers, and also has been reported to increase in more than twice the life span of paper products (Delgado-Aguilar et al., 2015a). Cellulose nanofibers can be easily obtained from several sources and by means of a wide range of methods. However, the sustainability of some methods, such as TEMPO (2,2,6,6-Tetramethylpiperidin-1-yl)oxyl catalyzed oxidation, are in question.

Following the reasoning that the supplying capacity of forested lands and croplands is limited, CNF should be produced with the maximum yield and fit-for-use.

Recently it has been shown that the use of CNF obtained without chemical or enzyme pretreatments leads to a considerable increase in the tensile strength of the resulting papers with a much more competitive economic cost (Boufi et al., 2016; Espinosa et al., 2016). In this type of nanofibers, the presence of a certain percentage of lignin and hemicelluloses is essential to achieve the necessary level of nanofibrillation (Tarrés et al., 2017a). In this context, the use of agricultural residues could be an alternative to the typical fibers obtained by chemical and enzymatic pretreatment to produce recycled paper. In fact, there are several works dealing with the use of agricultural residues, straws and plants for LCMNF production, such is the case of *triticale*, wheat, *curauá*, and alfa grass, among others (Tarrés et al., 2017a; Espinosa et al., 2016; Besbes et al., 2011; Corréa et al., 2010).

For the above reasons, the present work shows the feasibility of producing cellulose nanofibers, which will be called lignomicro-nanofibers (LCMNF) due to their lignin content and the coexistence with micro-sized fibers, and incorporating them into recycled cardboard pulp. With the purpose of making the work more plausible, process water was used as background when LCMNF were incorporated to recycled slurries. The high anionic trash content (colloids and salts) was neutralized by means of several polyelectrolytes-based systems. Physic and mechanical properties were assessed and compared to increasing intensities of mechanical refining.

## 2. Experimental

### 2.1. Materials

The Canary Islands produce around 400,000 tons of bananas each year, considering that the "prune/fruit" relationship could be established in 0.8, a huge quantity of residue is generated each year (Rodríguez et al., 2010). These residues represent an important economic and environmental problem for the farmer, and should

be removed from the plantation for various reasons: pollution, pests, interference with soil cultivation, occupation of large areas of soil cultivation, etc. The raw material, *Musa acuminata* var. *Dwarf Cavendish*, supplied by Agricultural Cooperative of Tenerife, Spain, was characterized chemically in a previous work, obtaining the following results; holocellulose 55.48%, hemicellulose 20.28%, lignin 25.25%, extractives ethanol-benzene 7.59%, ash 15.35%, and Fixed Carbon 14.51% (Tarrés et al., 2017b). Fluting was provided supplied by Saica Natur Noroeste S.A. (Spain).

### 2.2. LCMNF production

Banana leaves were treated according to a previously reported methodology (Tarrés et al., 2017b); the raw material was pulped in a 15 L batch reactor under Specel<sup>®</sup> process conditions, (100 °C ± 1 °C, 150 min, 7% (o.d.m) NaOH as reagent and a liquid/solid ratio 10:1). This pulp was characterized in a previous work in terms of yield, hemicellulose and lignin content, kappa number and morphology (Tarrés et al., 2017b).

Then, the soda pulp was mechanically refined in a PFI mill (NPI 02 Metrotec SA) according to ISO 5264-2:2011 until a drainage rate of 90 °SR. Finally, 1% aqueous suspension was prepared and passed through a high-pressure homogenizer (Panda Plus, 2000) (Espinosa et al., 2016; Sánchez et al., 2016). The obtained LCMNF were stored at 4 °C for further use and characterization. LCMNF were characterized in terms of carboxyl content, cationic demand, nanofibrillation yield and transmittance (Tarrés et al., 2017b). Carboxyl content and cationic demand provided an idea of the specific surface of the obtained LCMNF and, on the other hand, nanofibrillation yield and transmittance indicated the fraction of nanofibrillated fibers in the LCMNF suspension.

### 2.3. Pulping and mechanical refining of fluting papers

Fluting papers were dispersed in water at 1.5 wt% consistency by means of a pulp disintegrator operating at 3000 rpm for 20 min. In some cases, pulp at 10 wt% was then refined in the abovementioned PFI mill at 1000, 2000 and 3000 revolutions.

### 2.4. Incorporation of LCMNF into the pulp suspension

LCMNF (ranging from 1.5 to 4.5%) were added and dispersed into fluting slurry by means of a pulp disintegrator operating at 3000 rpm for 60 min and 1.5% consistency in tap water (conductivity of 289 µS/cm). Then, 0.5 and 0.8% of cationic starch and colloidal silica, respectively, were incorporated into the pulp slurry under gentle stirring for 20 min. These retention agents have been reported to successfully retain the incorporated LCMNF during the paper sheet filtration process (Delgado-Aguilar et al., 2015b; Tarrés et al., 2017a). Paper sheets were prepared in an isotropic paper sheet former (ISP mod. 786FH) and basis weight was set at 75 g/m<sup>2</sup>. The obtained papers were vacuum dried and stored in a weather chamber at 23 °C and 50% of relative humidity for 48 h before testing, following the ISO standard 5269-2.

### 2.5. Incorporation of LCMNF into the industrial pulp suspension

The incorporation of LCMNF into the industrial pulp slurry was conducted as described in the previous section. However, with the purpose of providing more accurate and plausible results, process water provided by Papelería de la Alquería S.L. (Spain) was used as background instead of tap water. This water was characterized in terms of pH, conductivity and cationic demand.

Process water is characterized by the huge amount of colloids

and salts it contains, usually called anionic trash. These colloids are present in water due to the excess of retention aids that are commonly used in the papermaking process, as well as coating agents. With the purpose of inactivating their effect, the addition of the LCMNF through different mechanisms of retention was studied. Process water was used for this process throughout all the steps, including the paper sheet formation. Dual retention system, based on the combination of cationic and anionic polymers, were added following the methodology kindly supplied by LC Paper S.A (Besalú, Spain). After LCMNF dispersion on pulp suspension, 6.7% of poly-DADMAC, 0.5% of cationic starch, and 0.5% of aluminum polychloride were added, stirring for 20 min at 500 rpm. Then, 10.5% of anionic polyacrylamide and 0.8% of colloidal silica were added under stirring 10 min at 500 rpm. Conductimetry and the colloidal titration ratio method (CTR) was employed to determinate the total colloidal charge of materials.

### 2.6. Paper sheets characterization

The paper sheets obtained from the different fibrous suspensions (industrial fluting, recycled fluting, refined fluting and LCMNF-reinforced fluting) were characterized by determining first the basis weight (ISO 534). Breaking length was calculated from tensile experiments performed in an Instron universal testing machine provided with 2.5 kN load cell. The testing conditions were set according to ISO standard 1924-2, at constant elongation rate. Tear Index was determined in an Elmendorf Tearing Tester (mod. F53.98401 Frank PTL) and testing conditions were set according to ISO standard 1974. Burst index tests were carried out in a burst tester (IDM mod. EM-50) and test conditions were set according to ISO standard 2758. Internal bonding was determined according to TAPPI T-569.

## 3. Results and discussion

### 3.1. Pulps and LCMNF characterization

As explained above, LCMNF were obtained from banana leaf residue semichemical pulp. The yield of the process was 82%, being quite a high value considering the operating conditions, which usually leads to lower yields. This pulp contained 22.37% of lignin and, after mechanical refining, it was submitted to high pressure homogenization, leading to high-lignin content LCMNF. However, the difference on the characteristics between the obtained LCMNF and the classic and widely produced CNF by means of TEMPO-mediated oxidation from bleached pulps, deserve special attention. On the one hand, CNF obtained by oxidative methods present carboxyl rates higher than 800  $\mu\text{eq-g/g}$  (González et al., 2014). On the other, the obtained LCMNF in this study, presented values ranging between 165 and 204  $\mu\text{eq-g/g}$ . These results are entirely logical if the differences in both treatments are considered. However, it must be mentioned that the carboxyl rate of banana leaf residue LCMNF was significantly higher to other agricultural residues derived LCMNF, such as the case of wheat straw (74.4  $\mu\text{eq-g/g}$ ) and triticale straw (47.2  $\mu\text{eq-g/g}$ ) (Espinosa et al., 2016; Tarrés et al., 2017a). Regarding cationic demand, those CNF obtained by oxidative methods also present higher values than those subjects of this study. However, in line with carboxyl rate, LCMNF from banana leaf residue also presented higher cationic demand than those of other agricultural residues.

Cationic demand and carboxyl rate are useful to estimate the specific surface and diameter of both LCMNF and CNF obtained by TEMPO-mediated oxidation as described by Espinosa et al. (2016). Considering this methodology, it is possible to estimate a specific

surface area of 73.4  $\text{m}^2/\text{g}$  and 172.4  $\text{m}^2/\text{g}$ , respectively, leading to average diameters of 35.15 nm for LCMNF and 14.95 nm for CNF prepared by TEMPO-catalyzed oxidation. The differences on both specific surface and diameter bring to the light that, although both are considered as nanostructured cellulose, their behavior and properties should be significantly different. This technique has been previously demonstrated through AFM measurements (Gamelas et al., 2015).

The yield of fibrillation of banana-LCMNF (15.8%) was clearly lower than the values usually obtained for CNF-TEMPO, which usually accounts above 95% (Delgado-Aguilar et al., 2015c). However, LCMNF, although presenting clearly lower characteristics, their reinforcing potential on a bleached kraft hardwood substrate was found to be the same as that of CNF-TEMPO, while its impact on drainability was significantly lower (Tarrés et al., 2017b).

Nonetheless, nanofibers containing lignin have a significant impact on paper brightness and brightness. In fact, the incorporation of a 3 wt% of LCMNF prepared from triticale straw decreased the paper brightness in 12.7%, limiting their use to brown-line papers, such is the case of fluting (Tarrés et al., 2017a).

### 3.2. Industrial and recycled fluting characterization

Table 1 shows the results of the mechanical properties of fluting industrial paper and the obtained properties once recycled.

The anisotropy of the industrial paper becomes apparent considering the differences on several properties when tested at machine and cross direction.

Considering that the industrial paper has been superficially treated with starch and, at the same time, that this treatment usually increases tensile strength of paper on about 12% (Tarrés et al., 2017c), the breaking length at machine direction can be assumed to have a value of 5656 m. On the other hand, paper sheets from the machine chest were prepared in the isotropic former, obtaining papers with 3443 m of breaking length. Taking into account this value, it becomes apparent that the fiber alignment increases the breaking length in 65%. However, comparing the obtained breaking length of the industrial pulp with the one obtained from the pulp prepared from the industrial recycled papers, it becomes apparent that there is a loss on mechanical properties, from 3443 to 3052 m. This loss of physic-mechanical properties can be produced by the generation of many nanostructural pores during drying (Berghold and Salmén, 1997). Another factor affecting the quality of the fibers is the hornification phenomena, resulting in weaker fibers with a lower ability to form inter-fiber bonds (Jayme, 1944; Weise, 1998). In the same way, the values of Young modulus, Scott Bond and burst index were affected by such properties loss. However, tear index evolves in the opposite direction due to the random formation of the role in the isotropic former.

Therefore, taking into account the results above, the target breaking length will be set at 3443 m through the incorporation of

**Table 1**  
Characterization of industrial and recycled fluting.

Fluting tested	Test direction	Industrial	Recycled
Breaking length (m)	MD	6335 ± 41	3052 ± 26
	CD	2387 ± 15	
Young's Modulus (GPa)	MD	5.81 ± 0.35	3.21 ± 0.28
	CD	3.60 ± 0.16	
Tear Index (mN·m <sup>2</sup> /g)	MD	5.54 ± 0.51	7.80 ± 0.77
	CD	6.43 ± 0.33	
Scott Bond (J/m <sup>2</sup> )	–	258.1 ± 18.8	228.8 ± 16.0
Burst Index (kPa·m <sup>2</sup> /g)	–	2.18 ± 0.19	1.78 ± 0.09

MD: machine direction, CD: cross direction.

**Table 2**  
Morphology of recycled fluting fibers.

L <sup>a</sup> (μm)	Diameter (μm)	RoM (%)	Fines elements <sup>b</sup> (%)
1033 ± 31	19.8 ± 0.6	0.787	37.9 ± 0.3

RoM: Rate of macrofibrils.

<sup>a</sup> Weighted in Length.

<sup>b</sup> Percentage in Length.

moderate amounts of LCMNF.

Table 2 presents the results obtained from the morphological analysis of recycled fluting suspension.

The obtained fiber length was similar to that typical in bleached kraft eucalyptus pulps, indicating, thus, that fibers were not dramatically damaged. However, the ratio of macrofibrils and fines content was significantly higher, bringing to the light that this pulp has been mechanically refined several times. While it is true that the presence of fines, as well as the greater ratio of macrofibrils, contribute to the ultimate paper strength due to their higher specific surface, at the same time they significantly affect the drainage capacity of the pulp, requiring higher energy during filtering and drying due to the higher amount of absorbed water and/or decreasing the machine speed and, thus, the whole production capacity.

### 3.3. Reinforcement effect in recycled fluting

The traditional process to improve physic and mechanical properties of paper is mechanical refining. In fact, this is the technic currently used at a large scale due to its simplicity. Fig. 1 shows the evolution of several pulp and paper properties as refining intensity and, on the other hand, LCMNF amount are increased.

As expected, as refining intensity was increased, pulp drainability was decreased (<sup>o</sup>SR increases), reaching 51 <sup>o</sup>SR for a refining intensity of 3000 revolutions. In spite of the decrease on drainage capacity, by submitting the pulp to 1000 revolutions, the objective of 3443 m of breaking length was already achieved. At the same time that tensile resistance of paper was increased, paper stiffness was enhanced as well, as it comes off from the Young's modulus graph. Internal bonding (Scott bond) and burst index increased as well. The enhancement of mechanical properties mainly come from the increase on specific surface of fibers and swelling capacity, which leads to a higher amount of inter-fiber bonds per unit and, thus, an increase on the relative bonded area (RBA) (Page, 1969). However, it is well known that fibers are stronger than inter-fiber bonds. While refining, fiber length is significantly decreased, at the same time that several quantities of fines are generated. In this sense, tear index was decreased due to the higher easiness that fracture had to propagate along the paper structure.

Regarding the incorporation of LCMNF, due to their higher specific surface, water retention was increased, leading to lower drainage capacity. However, comparing a similar level of <sup>o</sup>SR between mechanically refined and LCMNF-reinforced pulps, breaking length was higher in the case of nanostructured additives being used. In addition, with the incorporation of 4.5 wt% of LCMNF, the obtained papers presented 4987 m in isotropic, meaning that, considering the anisotropy ratio (1.65) and the starch effect (12%), this suspension in an industrial paper machine would lead to papers stronger than 8000 m of breaking length. This high tensile resistance offers the opportunity of adopting several strategies. On the one hand, for the same market, basis weight could be decreased or mineral filler content, increased, and even a combination of both. This strategy would contribute to a decrease on the consumption of fibrous raw materials, with the subsequent cost savings and benefits for the environment (Hubbe, 2014). On the other, the

production of such papers with the original composition and basis weight allows its introduction in market niches with higher technical requirements.

Since the morphology of fibers is not modified as occurs with mechanical refining, tear index was not affected in the same extent as with mechanical refining. However, internal cohesion and burst index increased to a lesser degree than those achieved with mechanical refining.

At this stage, the feasibility of substituting mechanical refining with the incorporation of LCMNF in recycled liner slurries using tap water has been demonstrated. However, at large scale, water contains several colloids, fillers, fines and salts, as well as "stickies", usually called anionic trash. Such impurities in water, usually increase its conductivity and the reinforcing mechanism of LCMNF could be dramatically interfered. Table 3 shows the original pH, conductivity and charge density of the selected process water.

The high conductivity and charge density come mainly from the huge amount of dissolved colloidal matter, fines, sludge and salts. This can hinder the interaction between LCMNF and fibers, as well as with retention agents. In fact, such retention agents also interact with the environment, decreasing their interactions with the fibrous components. To verify this phenomenon, mechanical properties of 3 wt% - LCMNF reinforced papers using process water and the usual retention system were determined, as it can be seen in Table 4.

The anionic trash significantly affected the properties of the non-reinforced paper due to the presence of sludge, colloids and other compounds. In addition, as stated above, this fact hindered the interaction potential of LCMNF, obtaining a breaking length of 3129 m, representing a 2.9% increase. In fact, the incorporation of such 3 wt% did not achieve the proposed objective of 3443 m and the drainage capacity was significantly impaired.

For all the above, a new retention system was developed based on aluminum polyvinyl chloride, polyDADMAC, anionic polyacrylamide, cationic starch and colloidal silica, as described in the experimental section.

Table 5 shows how the incorporation of cationic polyelectrolytes significantly improves the retention/reinforcing mechanism of LCMNF in the pulp slurry, since the obtained papers presented similar levels of mechanical properties to those prepared with tap water. In this sense, by the incorporation of such polyelectrolytes, anionic trash was completely neutralized, making plausible the use of LCMNF at a large scale for the production of brown-line papers. Fig. 2 shows the obtained breaking length as the amount of LCMNF was increased, both with tap and process water.

An addition of 1.5 wt% increased the breaking length of paper up to the desired objective (3443 m) and, in addition, higher dosages gave significantly stronger rise to papers. This point is interesting, since it brings to the light that mechanical refining can be perfectly avoided and, consequently, fibers will not suffer structural damages during recycling cycles. Thus, life span of paper products could be significantly increased and, on the other hand, as stated above, new market niches could be reached or papermakers could adopt resource saving strategies (i.e. lower basis weight or higher mineral filler content) (Delgado-Aguilar et al., 2015a).

### 3.4. Cost evaluation of the different treatments

Finally, Table 6 presents the associated costs of LCMNF addition and mechanical refining per ton of paper.

Considering the production cost of the obtained LCMNF (1.78 €/kg) (Tarrés et al., 2017b), it was found that the incorporation of 1.5, 3.0 and 4.5 wt% of LCMNF represented 26.70, 53.40 and 80.10 €/ton of paper. On the other hand, considering that the energy cost

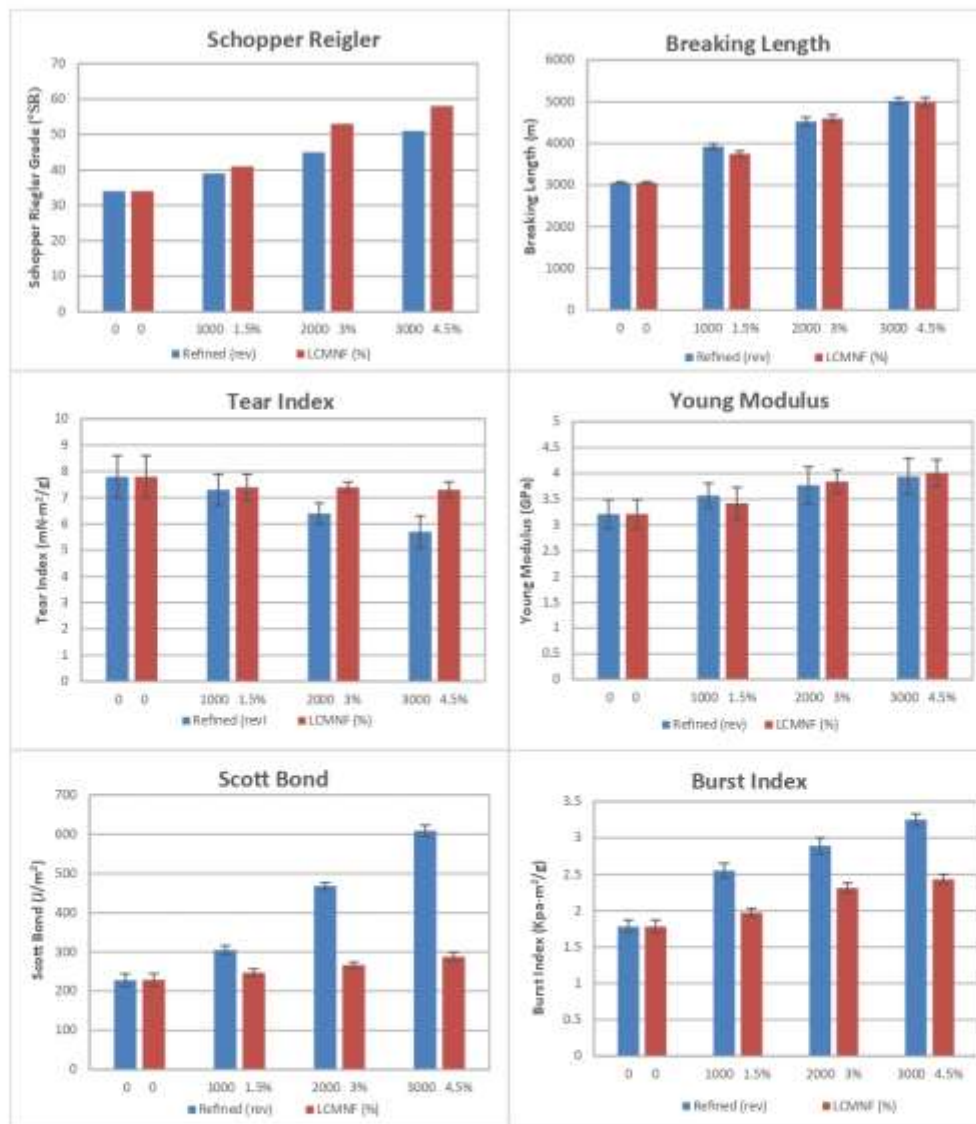


Fig. 1. Mechanical properties of recycled fluting with different degrees of mechanical refining and different percentages of LCMNF added.

Table 3  
Process water characterization.

pH	Conductivity (μS/cm)	Charge density (μeq/L)
6.43	4310	-8580

in Spain, assuming cogeneration, is 0.08 €/kWh and that the PFI mill used in this study has a consumption of 0.3 kWh·rev/Tn. 1000, 2000 and 3000 PFI revolutions led to 24, 48 and 72 €/Tn of paper, respectively. Although the incorporation of LCMNF is quite higher, the environmental benefits are clear.

#### 4. Conclusions

LCMNF from banana leaf residue presented a reinforcing potential on paper substrates of the same magnitude than those prepared by means of TEMPO-catalyzed oxidation, while production costs are significantly lower. The impact on pulp drainability was low and through the addition of 1.5 wt%, the established objective of 3443 m was achieved.

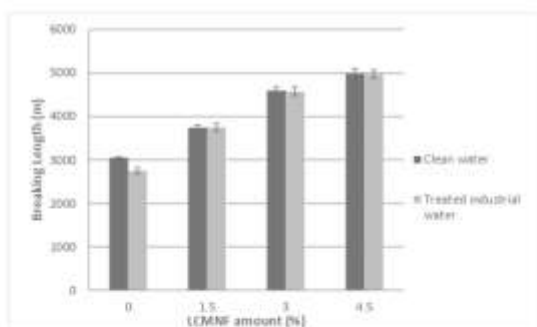
Additionally, it has been proved that the use of LCMNF at large scale is plausible, since the experimentation with process waters demonstrated that, if the appropriate cationic polyelectrolytes are

**Table 4**  
Mechanical properties of paper fluting with 3% LCMNF in industrial water.

% LCMNF	*SR	Breaking Length (m)	Young Modulus (GPa)	Tear Index (mN·m <sup>2</sup> /g)	Scott Bond (J/m <sup>2</sup> )	Burst Index (KPa·m <sup>2</sup> /g)
0	44	2749 ± 67	3.19 ± 0.07	7.1 ± 0.1	232.1 ± 2.3	1.80 ± 0.07
3	60	3129 ± 99	3.27 ± 0.04	7.8 ± 0.2	231.7 ± 5.4	1.97 ± 0.09

**Table 5**  
Mechanical properties of paper fluting with LCMNF in treated industrial water.

% LCMNF	*SR	Breaking Length (m)	Young Modulus (GPa)	Tear Index (mN·m <sup>2</sup> /g)	Scott Bond (J/m <sup>2</sup> )	Burst Index (KPa·m <sup>2</sup> /g)
0	44	2749 ± 67	3.19 ± 0.07	7.1 ± 0.1	232.1 ± 2.3	1.80 ± 0.07
1.5	54	3751 ± 87	3.45 ± 0.09	7.4 ± 0.1	248.3 ± 5.4	1.94 ± 0.04
3	59	4576 ± 105	3.83 ± 0.10	7.4 ± 0.2	265.4 ± 3.7	2.32 ± 0.03
4.5	63	4976 ± 94	4.02 ± 0.06	7.2 ± 0.3	288.6 ± 2.8	2.47 ± 0.05



**Fig. 2.** Comparison of the evolution of the addition of LCMNF with clean water and industrial water.

**Table 6**  
Cost of LCMNF addition to enhance mechanical properties.

Type of treatment	Amount of treatment	Cost (€/tn)
Addition of LCMNF	1.5%(o.d.m)	26.7
	3%(o.d.m)	53.4
	4.5%(o.d.m)	80.1
Mechanical refining	1000 revolutions	24
	2000 revolutions	48
	3000 revolutions	72

incorporated, the reinforcing potential of LCMNF is of the same magnitude than at laboratory scale with tap water.

From an economical point of view, it has been demonstrated that the use of LCMNF is slightly more expensive. However, their use does not imply any structural damage to fibers, meaning that life span of paper products could increase significantly. In addition, the properties level that LCMNF allow to achieve opens a new horizon of several strategies for papermaking industry, such as the case of decreasing basis weight, increasing mineral filler and even reaching new market niches.

**References**

Bierghold, J., Salmén, L., 1997. Effects of mechanical and chemical treatments on the pore-size. Distribution in wood pulps examined by inverse size-exclusion chromatography. *J. Pulp. Pap. Sci.* 23 (6), 245–253.  
 Besbes, I., Vilar, M.R., Boufi, S., 2011. Nanofibrillated cellulose from Alfa. *Eucalyptus and Pine fibres: preparation, characteristics and reinforcing potential.* *Carbohydr. Polym.* 86, 1198–1206. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2011.06.015>.  
 Boufi, S., González, I., Delgado-Aguilar, M., Tarrés, Q., Pelach, M.A., Mutjé, P., 2016. Nanofibrillated cellulose as an additive in papermaking process: a review. *Carbohydr. Polym.* 154, 151–166. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2016.07.117>.

Correia, A.C., de Triveira, E.M., Pessan, L.A., Mattoso, L.H.C., 2010. Cellulose nanofibers from curauá fibers. *Cellulose* 17, 1183–1192. <https://doi.org/10.1007/s10570-010-0453-3>.  
 Delgado-Aguilar, M., Tarrés, Q., Pelach, M.A., Mutjé, P., Fullana-I-Palmer, P., 2015a. Are cellulose nanofibers a solution for a more circular economy of paper products? *Environ. Sci. Technol.* 49 (20), 12206–12213. <https://doi.org/10.1021/acs.est.5b02676>.  
 Delgado-Aguilar, M., González, I., Pelach, M.A., De la Fuente, E., Negro, C., Mutjé, P., 2015b. Improvement of deinked old newspaper/old magazine pulp suspensions by means of nanofibrillated cellulose addition. *Cellulose* 22 (1), 789–802. <https://doi.org/10.1007/s10570-014-0473-1>.  
 Delgado-Aguilar, M., González, I., Tarrés, Q., Alcalá, M., Pelach, M.A., Mutjé, P., 2015c. Approaching a low-cost production of cellulose nanofibers for papermaking applications. *BioResour.* 10, 5345–5355. <https://doi.org/10.15376/biores.10.3.5330-5344>.  
 Espinosa, E., Tarrés, Q., Delgado-Aguilar, M., González, I., Mutjé, P., Rodríguez, A., 2016. Suitability of wheat straw semichemical pulp for the fabrication of lignocellulosic nanofibers and their application to papermaking slurries. *Cellulose* 23, 837–852. <https://doi.org/10.1007/s10570-015-0807-8>.  
 Gamelas, J.A.F., Pedrosa, J., Lourenço, A.F., Mutjé, P., González, I., Chinga-Carrasco, G., Singh, G., Ferreira, P., 2015. On the morphology of cellulose nanofibers obtained by TEMPO-mediated oxidation and mechanical treatment. *Micron* 72, 28–33. <https://doi.org/10.1016/j.micron.2015.02.003>.  
 González, I., Alcalá, M., Chinga-Carrasco, G., Vilaseca, F., Boufi, S., Mutjé, P., 2014. From paper to nanopaper: evolution of mechanical and physical properties. *Cellulose* 21 (4), 2599–2609. <https://doi.org/10.1007/s10570-014-0341-1>.  
 Hubbe, M.A., 2014. Prospects for maintaining strength of paper and paperboard products while using less forest resources: a review. *BioResources* 9 (1), 1634–1763. <http://doi.org/10.15376/biores.9.1.1634-1763>.  
 Jayme, G., 1944. Micro-swellling measurement in cellulosic pulps. *Wochenbl. Pap. 6*, 187–194.  
 Confederation of European Paper Industries (CEPI). Key Statics, 2016. [www.cepi.org](http://www.cepi.org). Accessed July 2017.  
 Lourenço, A.F., Gamelas, J.A.F., Ferreira, P.J., 2014. Increase of the filler content in papermaking by using a silica-coated PCC filler. *Nord. Pulp Pap. Res. J.* 29, 240–245. <https://doi.org/10.1183/NPP99-2014-29-02-p240-245>.  
 Moral, A., Aguado, R., Tijero, A., Tarrés, Q., Delgado-Aguilar, M., Mutjé, P., 2017. High-Yield pulp from *Brassica napus* to manufacture packaging paper. *BioResources* 12 (2), 2792–2804. <https://doi.org/10.15376/biores.12.2.2792-2804>.  
 Page, D.H., 1969. A theory for the tensile strength of paper. *TAPPI J.* 50 (4), 674–681.  
 Rodríguez, A., Rusal, A., Jiménez, L., 2010. Biorefinery of agricultural residues by fractionation of their components through hydrothermal and organosolv processes. *Almidón* 62, 14–19.  
 Sánchez, R., Espinosa, E., Domínguez-Robles, J., Loaliza, J.M., Rodríguez, A., 2016. Isolation and characterization of lignocellulosic nanofibers from different wheat straw pulps. *Int. J. Biol. Macromol.* 92, 1025–1033. <https://doi.org/10.1016/j.jbiomac.2016.08.016>.  
 Tarrés, Q., Ehsan, N.V., Vallejos, M.E., Area, M.C., Delgado-Aguilar, M., Mutjé, P., 2017a. Lignocellulosic nanofibers from triticale straw: the influence of hemicelluloses and lignin in their production and properties. *Carbohydr. Polym.* 163, 20–27. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2017.01.017>.  
 Tarrés, Q., Espinosa, E., Domínguez-Robles, J., Rodríguez, A., Mutjé, P., Delgado-Aguilar, M., 2017b. The suitability of banana leaf residue as raw material for the production of high lignin content micro/nano fibers: firm residue to value-added products. *Ind. Crop Prod.* 99, 27–33. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2017.01.021>.  
 Tarrés, Q., Pelach, M.A., Alcalá, M., Delgado-Aguilar, M., 2017c. Cardboard boxes as raw material for high-performance papers through the implementation of alternative technologies: more than closing the loop. *J. Ind. Eng. Chem.* 54, 52–58. <https://doi.org/10.1016/j.jiec.2017.05.016>.  
 Wēise, U., 1998. Homification: mechanism and terminology. *Pap. puu-pap tim* 80 (2), 110–115.

## **Publicación VI**

***Production of lignocellulose nanofibers from wheat straw by using different fibrillation methods. Comparison of energy consumption and its viability in cardboard recycling process***

E. Espinosa, F. Rol, J. Bras and A. Rodríguez

**Journal of Cleaner Production (major revision)**

JCR Factor de Impacto (2018): 6,395

Posición (2018): 18/205, Q1 en "Environmental Sciences"





**Production of lignocellulose nanofibers from wheat straw by using different fibrillation methods. Comparison of energy consumption and its viability in cardboard recycling process**

Eduardo Espinosa,<sup>a\*</sup> Fleur Rol,<sup>b</sup> Julien Bras,<sup>b, c</sup> Alejandro Rodríguez<sup>a</sup>

<sup>a</sup> Universidad de Córdoba, Departamento de Ingeniería Química, Campus de Rabanales, 14014 Córdoba, Spain

<sup>b</sup> Univ. Grenoble Alpes, CNRS, Grenoble INP, LGP2, F-38000 Grenoble, France

<sup>c</sup> Institut Universitaire de France (IUF), F-75000 Paris, France

\* Corresponding author : eduardo.espinosa@uco.es

**This research article is not available for publication yet**



## **Publicación VII**

***PVA/(ligno)nanocellulose biocomposite films. Effect of residual lignin content on structural, mechanical, barrier and antioxidant properties***

E. Espinosa, I. Bascón-Villegas, A. Rosal, F. Pérez-Rodríguez,  
G. Chinga-Carrasco and A. Rodríguez

**Composites Part A: Applied Science and Manufacturing  
(minor revision)**

JCR Factor de Impacto (2018): 6,282

Posición (2018): 3/49, Q1 en "Engineering, Manufacturing"



**PVA/(ligno)nanocellulose biocomposite films. Effect of residual lignin content on structural, mechanical, barrier and antioxidant properties**

Eduardo Espinosa<sup>a\*</sup>, Isabel Bascón-Villegas<sup>a</sup>, Antonio Rosal<sup>a</sup>, Fernando Pérez-Rodríguez<sup>b</sup>, Gary Chinga-Carrasco<sup>c</sup>, Alejandro Rodríguez<sup>a</sup>

\*Corresponding author: [eduardo.espinosa@uco.es](mailto:eduardo.espinosa@uco.es)

<sup>a</sup> Chemical Engineering Department, Faculty of Science, University of Córdoba, Córdoba, 14014, Spain

<sup>b</sup> Department of Food Science and Technology, Faculty of Veterinary, University of Córdoba, 14014, Córdoba, Spain

<sup>c</sup> RISE PFI, Høgskoleringen 6b, 7491 Trondheim, Norway

**This research article is not available for publication yet**



## ***Conclusiones / Conclusions***





A continuación, se exponen las conclusiones obtenidas en cada uno de los artículos que conforman la presente Tesis Doctoral:

**Publicación I.** Espinosa E., Tarrés Q., Delgado-Aguilar M., González I., Mutjé P. and Rodríguez A. Suitability of wheat straw semichemical pulp for the fabrication of lignocellulosic nanofibres and their application to papermaking slurries. *Cellulose*, 2016, 23(1), 837-852.

1. *Se prepararon eficazmente LNFC de 33 nm de diámetro a partir de pasta celulósica de paja de trigo utilizando exclusivamente procesos mecánicos.*
2. *El coste de producción de las LNFC obtenidas fue más bajo en comparación con NFC obtenidas mediante pretratamientos enzimáticos y mecánicos a partir de pasta blanqueada de eucalipto.*
3. *Se ha demostrado que no solo el proceso de obtención es más económico, sino que también presentan mejores valores en términos de efectividad cuando son aplicadas como refuerzo en suspensiones papeleras.*
4. *El uso de LNFC como agente de refuerzo sobre papel producido a partir de paja de trigo indujo una mejora en la longitud de rotura y en el índice de estallido en relación con el papel no reforzado, mientras que el índice de desgarro se mantuvo casi constante.*
5. *Además, las hojas de papel producidas se volvieron más delgadas a medida que aumentaba el contenido en LNFC, lo que origina un aumento de la densidad y a una reducción de la porosidad.*
6. *Se demostró que la presencia de finos en la pasta puede dificultar sensiblemente la tasa de aumento en las propiedades mecánicas del papel al utilizar LNFC. Al eliminar el contenido en finos, se observó que la tasa de incremento fue significativamente mejorada en comparación con las pastas que contienen finos.*

**Publicación II.** Sánchez R., Espinosa E., Domínguez-Robles J., Loaiza JM. and Rodríguez A. Isolation and characterization of lignocellulose nanofibers from different wheat straw pulps. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2016, 92, 1025-1033.

1. *Los valores de los rendimientos de nanofibrilación para las tres LNFC obtenidas por oxidación catalítica TEMPO (Kraft, Sosa y Organosolv) fueron los mayores, excepto por el valor obtenido para las LNFC mecánicas obtenidas a partir de*

## Conclusiones

*paja de trigo tratada mediante un proceso de pasteado a la sosa, que alcanza valores similares a las LNFC obtenidas por oxidación catalítica TEMPO.*

- 2. Los índices de cristalinidad de las LNFC son más bajos que los presentados en las pastas originales.*
- 3. La estabilidad térmica de las LNFC es mayor cuando son producidas a partir de un pretratamiento mecánico, que tienen una degradación máxima en torno a 345°C frente a los 300°C que presentan las obtenidas por oxidación catalítica.*
- 4. Se concluye que para una producción efectiva de las LNFC se requiere un proceso de pasteado que sea capaz de mantener altos los contenidos de hemicelulosa. En el caso de este trabajo, el proceso de pasteado a la sosa.*

**Publicación III.** Espinosa E., Sánchez R., Otero R., Domínguez-Robles J. and Rodríguez A. A comparative study of the suitability of different cereal straws for lignocellulose nanofibers isolation. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2017, 103, 990-999.

- 1. La caracterización de las LNFC muestra que las obtenidas por pretratamiento TEMPO (TO-LNFC) presentan los valores más altos de rendimiento de nanofibrilación, demanda catiónica y contenido de carboxilos, debido a la efectividad de la oxidación catalítica TEMPO, obteniendo las nanofibras de menor diámetro seguidas de las obtenidas por pretratamiento mecánico (Mec-LNFC), obteniendo los mejores resultados en el caso del trigo.*
- 2. Se observa que un alto rendimiento de nanofibrilación produce una alta disminución en el índice de cristalinidad de las LNFC debido a la mayor delaminación de las fibras de celulosa.*
- 3. Las LNFC obtenidas a partir de paja de trigo presentan una menor estabilidad térmica que las obtenidas a partir de otras pajas de cereales debido a su menor tamaño. También se observa como el contenido de lignina de las LNFC proporciona una mayor resistencia a la degradación en comparación con NFC de tamaño similar.*
- 4. Se desarrolló un método analítico para determinar el tamaño de las nanofibras utilizando AF4 y se aplicó al análisis de las muestras de LNFC. La tendencia a la agregación de las nanofibras de celulosa hace de la técnica AF4 una*

*herramienta eficaz para determinar su distribución de tamaño, especialmente en muestras polidispersas que presentan problemas con la técnica DLS.*

**Publicación IV.** Espinosa E., Domínguez-Robles J., Sánchez R., Tarrés Q. and Rodríguez A. The effect of pre-treatment on the production of lignocellulosic nanofibers and their application as a reinforcing agent in paper. *Cellulose*, 2017, 24(6), 2605-2618.

- 1. La caracterización de las lignonanofibras indica que las lignonanofibras obtenidas por oxidación catalítica TEMPO, presentan diámetros menores, pero longitudes más cortas, debido a la degradación durante el proceso de oxidación, que los valores obtenidos en las lignonanofibras mecánicas y enzimáticas. Se utilizaron imágenes de FE-SEM para verificar el tamaño nanométrico de las fibras.*
- 2. El espectro FTIR de las muestras revela el aumento del contenido en carboxilos causado por la oxidación catalítica TEMPO. Los patrones de DRX de las diferentes LNFC muestran la disminución del índice de cristalinidad por los diferentes pretratamientos, resultando en un mayor índice de cristalinidad las lignonanofibras obtenidas mediante pretratamientos mecánico y enzimático. Además, las lignonanofibras con una mayor cristalinidad presentan una mayor estabilidad térmica.*
- 3. La aplicación de LNFC como agente de refuerzo en la fabricación de papel muestra que, debido a su alta superficie y a la capacidad de formar enlaces con otras fibras, aumentan las propiedades mecánicas de las hojas de papel. Este efecto es mayor en las TO-LNFC y en las Mec-LNFC, destacando que estas últimas son significativamente más baratas para un efecto refuerzo similar.*

**Publicación V.** Espinosa E., Tarrés Q., Domínguez-Robles J., Delgado Aguilar M., Mutjé P. and Rodríguez A. Recycled fibers for fluting production: The role of lignocellulosic micro/nanofibers of banana leaves. *Journal of Cleaner Production*, 2018, 172, 233-238.

- 1. Las LNFC obtenidas a partir de residuos de hojas de platanera presentan un potencial de refuerzo en sustratos de cartón reciclado similar al obtenido por medio de nanofibras obtenidas por oxidación catalítica TEMPO, con unos costes de producción significativamente menores. El impacto sobre la drenabilidad de*

la suspensión papelera fue bajo, y con una adición de un 1.5% en peso de LNFC, se logró el objetivo establecido de 3443.

2. Adicionalmente, se ha comprobado que el uso de las LNFC a gran escala es plausible, ya que la experimentación con aguas de proceso demostró que, si se incorporan los polielectrolitos adecuados, el potencial de refuerzo de LNFC es de la misma magnitud que a escala de laboratorio con agua corriente.
3. Desde un punto de vista económico, se ha demostrado que el uso de las LNFC en suspensiones paperas es ligeramente más caro que el refinado mecánico convencional. Sin embargo, su uso no implica ningún daño estructural a la fibra, lo que significa que la vida útil de los productos de papel podrá aumentar significativamente.
4. Además, el nivel de propiedades que las LNFC permiten alcanzar, abre nuevas estrategias para la industria papelera, como es el caso de la disminución del peso base, el aumento de relleno mineral e incluso el de alcanzar nuevos nichos de mercado.

**Publicación VI.** Espinosa E., Rol F., Bras J. and Rodríguez A. Production of lignocellulose nanofibers from wheat straw by using different fibrillation methods. Comparison of energy consumption and its viability in cardboard recycling process. *Journal of Cleaner Production* (major revision).

1. Se produjeron con éxito LNFC a partir de pasta celulósica refinada obtenida de la paja de trigo utilizando un homogeneizador a alta presión (HPH), un molino de fricción ultrafina (UFG) o una extrusora de doble tornillo (TSE). Además, el uso de un pretratamiento enzimático mejoró notablemente las propiedades del LNFC obtenido mediante TSE por efecto del aumento de la superficie específica y del menor diámetro, sin embargo, presentaron menores longitudes.
2. El efecto de las LNFC sobre las propiedades del cartón fue comparable al del refinado mecánico convencional y las propiedades objetivo se cumplieron añadiendo una proporción baja (1.5%) de LNFC al cartón reciclado.
3. El tratamiento mediante TSE requiere 5 veces menos energía que el HPH y UFG para producir nanocelulosa – 10 veces menos si se usa junto a un pretratamiento

enzimático –, proporcionando así una alternativa ventajosa en comparación con el resto de los tratamientos, e incluso al refinado mecánico.

4. Por lo tanto, el uso de extrusora de doble tornillo como tratamiento de nanofibrilación, permite que la utilización de LNFC como agente de refuerzo sobre cartón reciclado sea un proceso energéticamente eficiente, proporcionando una nueva y atractiva tecnología para la industria papelera.

**Publicación VII.** Espinosa E., Bascón-Villegas I., Rosal A., Pérez-Rodríguez F., Chinga-Carrasco G. and Rodríguez A. PVA/(ligno)nanocelulose biocomposite films. Effect of residual lignin content on structural, mechanical, barrier and antioxidant properties. *Composites Part A: Applied Science and Manufacturing (minor revision)*.

1. Los films de PVA/nanocelulosa fueron producidos eficazmente utilizando la técnica “solvent casting”.
2. Las propiedades de bloqueo de la luz UV de los films fueron mejoradas al incorporar nanocelulosa en la matriz de PVA, especialmente al utilizar nanocelulosa con contenido en lignina (>50%).
3. Las propiedades mecánicas de los films fueron significativamente mejoradas con la adición de nanocelulosa, sin embargo, con cargas superiores al 5% se produce un descenso de estas propiedades debido a una potencial agrupación de las nanofibras.
4. La oxidación catalítica TEMPO reduce el efecto de refuerzo de la nanocelulosa debido a la degradación y acortamiento de las fibras.
5. Las propiedades barrera al vapor de agua y al oxígeno de los films también se mejoraron mediante la incorporación de nanocelulosa.
6. La capacidad antioxidante de los films se incrementó al utilizar nanocelulosa con contenido en lignina, pasando del 4,7% que presenta el PVA puro a más del 10%.

*The conclusions derived from each research paper and that compose this Doctoral Thesis are shown below:*

**Publication I.** Espinosa E., Tarrés Q., Delgado-Aguilar M., González I., Mutjé P. and Rodríguez A. Suitability of wheat straw semichemical pulp for the production of lignocellulosic nanofibres and their application to papermaking slurries. *Cellulose*, 2016, 23(1), 837-852.

- 1. LCNF of 33 nm diameter were effectively prepared from wheat straw cellulosic pulp using purely mechanical processes.*
- 2. The production cost of the obtained LCNF was lower compared to NFC obtained by enzymatic and mechanical pre-treatments from bleached eucalyptus pulp.*
- 3. It has been demonstrated that not only LCNF are cheaper, but also that they are better in terms of effectiveness when applied as a reinforcement agent in papermaking slurries.*
- 4. The use of LNFC as a reinforcing agent on paper obtained from wheat straw induced an improvement in breaking length and burst index in relation to unreinforced paper, whereas the tear index remained almost constant.*
- 5. Besides, paper sheets became thinner as more LCNF was added, leading to an increase in density and a reduction in porosity.*
- 6. It was also demonstrated that the presence of fines in the pulp can sensibly hinder the rate of increase in paper's mechanical when using LNFC. By removing fines, the rate of increase was significantly improved in comparison with fine-containing pulps.*

**Publication II.** Sánchez R., Espinosa E., Domínguez-Robles J., Loaiza JM. and Rodríguez A. Isolation and characterization of lignocellulose nanofibers from different wheat straw pulps. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2016, 92, 1025-1033.

- 1. The values of the nanofibrillation yields for the three LCNF obtained by TEMPO-mediated oxidation (Kraft, Soda and Organosolv) were the greatest, except for the value obtained for the mechanical LCNF from Soda wheat straw pulp, which reach similar values than TEMPO-oxidized LCNF.*

2. *The crystallinity indices for the LCNF are lower than those indices for the original pulps.*
3. *The thermal stability of the LCNF are higher in those obtained by mechanical process with a maximum degradation around 345 °C compared to 300 °C in TO-LNFC.*
4. *It is concluded that for an effective isolation of LCNF, pulping process able to maintain high hemicellulose contents is required. In this work, it was achieved with the soda process.*

**Publication III.** Espinosa E., Sánchez R., Otero R., Domínguez-Robles J. and Rodríguez A. A comparative study of the suitability of different cereal straws for lignocellulose nanofibers isolation. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2017, 103, 990-999.

1. *The LCNF characterization shows that TO-LCNF presents the highest values for nanofibrillation yield, cationic demand, and carboxyl content due to the effectiveness of TEMPO-mediated oxidation, obtaining the nanofibers with smaller diameter followed by those obtained by Mec-LCNF, obtaining the best results in the case of wheat.*
2. *It is observed that a high nanofibrillation yields produce a high decrease in the crystallinity index of the LCNF due to the greater delamination of the cell wall of the fiber.*
3. *The LCNF obtained from wheat presents a lower thermal stability than the rest of cereal straws due to their lower size, but it is also observed how the lignin content of the LCNF provides a greater resistance to the degradation in comparison with CNF of similar size.*
4. *An analytical method to determine the size using AF4 was developed and applied to the analysis of LCNF samples. The tendency to aggregation of the cellulose nanofibers makes the AF4 technique an efficient tool to determine its size distribution, especially in polydispersed samples which presents problems with DLS technique.*

**Publication IV.** Espinosa E., Domínguez-Robles J., Sánchez R., Tarrés Q. and Rodríguez A. The effect of pre-treatment on the production of lignocellulosic nanofibers and their application as a reinforcing agent in paper. *Cellulose*, 2017, 24(6), 2605-2618.

1. *The lignonnanofibers characterization indicates that the lignonnanofibres obtained by TEMPO-mediated oxidation, presents smaller diameter, but shorter lengths due to the degradation during the oxidation process than those values obtained in mechanical and enzymatic lignonnanofibers. FE-SEM images were used to assure the nanometric size of the fiber.*
2. *The FTIR spectrum reveals the increase in the carboxyl content caused by TEMPO-oxidation. The XRD patterns of the different samples show the decrease in the crystallinity index by the different pretreatments, resulting a higher crystallinity index in the mechanical and enzymatic lignonnanofibers. In addition, the lignonnanofibers with a high crystallinity index present a higher thermal stability.*
3. *The application of the LCNF as reinforcement agent on papermaking shows that, due to its high specific surface and the ability to form bonds with other fibers, increase the mechanical properties of the papersheets. This is stressed in TO-LCNF and Mec-LCNF, since the latter one is cheaper than TO-LCNF to obtain similar values of reinforcement.*

**Publication V.** Espinosa E., Tarrés Q., Domínguez-Robles J., Delgado Aguilar M., Mutjé P. and Rodríguez A. Recycled fibers for fluting production: The role of lignocellulosic micro/nanofibers of banana leaves. *Journal of Cleaner Production*, 2018, 172, 233-238.

1. *LCNF from banana leaf residue presented a reinforcing potential on paper substrates of the same magnitude than those prepared by means of TEMPO-catalyzed oxidation, while production costs are significantly lower. The impact on pulp drainability was low and through the addition of 1.5 wt%, the established objective of 3443 m was achieved.*
2. *Additionally, it has been proved that the use of LCNF at a large scale is plausible, since the experimentation with process waters demonstrated that, if the*



*appropriate cationic polyelectrolites are incorporated, the reinforcing potential of LCNF is of the same magnitude as at laboratory scale with tap water.*

- 3. From an economic point of view, it has been demonstrated that the use of LNFC is slightly more expensive. However, their use does not imply any structural damage to fiber, meaning that life span of paper products could increase significantly.*
- 4. In addition, the level of LCNF properties opens a new horizon of several strategies for papermaking industry, such as the case of decreasing basis weight, increasing mineral filler and even reaching new market niches.*

**Publication VI.** Espinosa E., Rol F., Bras J. and Rodríguez A. Production of lignocellulose nanofibers from wheat straw by using different fibrillation methods. Comparison of energy consumption and its viability in cardboard recycling process. *Journal of Cleaner Production (mayor revision).*

- 1. LCNFs were successfully isolated from mechanical refined wheat straw pulp processed with a high pressure homogeneizer (HPH), ultrafine grinder (UFG) or twin-screw extruder (TSE). Also, using an enzymatic pretreatment markedly improved the properties of the LCNF obtained with the TSE by the effect of the increased specific surface area and smaller diameter, but shorter length, of the nanofibers.*
- 2. The effect of the LCNF on cardboard properties was comparable to that one of conventional mechanical refining and the target properties were obtained by adding as low a proportion of LCNF as 1.5% to recycled cardboard.*
- 3. The TSE required 5 times less energy than the HPH and UFG to produce nanocellulose – 10 times less if used jointly with an enzymatic pretreatment –, thus providing an advantageous alternative to both methods and even to conventional refining.*
- 4. Therefore, a twin-screw extruder allows recycled cardboard to be energy efficiently reinforced with LCNF and provides an attractive new technology for the papermaking industry.*

**Publication VII.** Espinosa E., Bascón-Villegas I., Rosal A., Pérez-Rodríguez F., Chinga-Carrasco G. and Rodríguez A. PVA/(ligno)nanocellulose biocomposite films. Effect of residual lignin content on structural, mechanical, barrier and antioxidant properties. *Composites Part A: Applied Science and Manufacturing (minor revision)*.

1. *PVA/nanocellulose biocomposite films were successfully produced using solution casting method.*
2. *The UV-light blocking properties of the films were enhanced by incorporating nanocellulose into PVA matrix, especially for lignin-containing nanocellulose (>50%).*
3. *The mechanical properties of the films were significantly improved by the addition of nanocellulose. However, from loads higher than 5% there is a decrease in the trend due to a potential clustering of nanocellulose components.*
4. *The TEMPO-mediated oxidation reduces the reinforcing effect of nanocellulose due to the degradation and shortening of the fibers.*
5. *The barrier properties to water steam and oxygen of the films was also improved by incorporating nanocellulose.*
6. *The antioxidant capacity of the films was increased when using lignin-containing nanocellulose from 4.7% of pure PVA to more than 10%.*