



Bovi, Jimena

Desarrollo de nanocompuestos basados en nanocelulosa y ácido poliláctico



Esta obra está bajo una Licencia Creative Commons Argentina.
Atribución - No Comercial - Sin Obra Derivada 2.5
<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/2.5/ar/>

Documento descargado de RIDAA-UNQ Repositorio Institucional Digital de Acceso Abierto de la Universidad Nacional de Quilmes de la Universidad Nacional de Quilmes

Cita recomendada:

Bovi, J. (2024). Desarrollo de nanocompuestos basados en nanocelulosa y ácido poliláctico. (Tesis de doctorado). Universidad Nacional de Quilmes, Bernal, Argentina. Disponible en RIDAA-UNQ Repositorio Institucional Digital de Acceso Abierto de la Universidad Nacional de Quilmes <http://ridaa.unq.edu.ar/handle/20.500.11807/4645>

Puede encontrar éste y otros documentos en: <https://ridaa.unq.edu.ar>

Desarrollo de nanocompuestos basados en nanocelulosa y ácido poliláctico

TESIS DOCTORAL

Jimena Bovi

jimena.b@hotmail.com

Resumen

En la Tesis de mi autoría, titulada “Desarrollo de nanocompuestos basados en nanocelulosa y ácido poliláctico”, se emplearon nanocelulosas de origen vegetal y bacteriano como refuerzo de materiales compuestos de ácido poliláctico (PLA) procesados tanto por extrusión como por mezclado intensivo seguido de moldeo por compresión. Puntualmente se trabajó con nanocelulosa bacteriana obtenida a partir de un descarte de la producción de té de Kombucha y con nanocelulosa vegetal aislada de cáscara de arroz. Se utilizaron tanto las nanocelulosas nativas como acetiladas superficialmente. A efectos de abordar la problemática de lograr una adecuada dispersión de las nanocelulosas en la matriz de PLA, se investigaron tres estrategias distintas de incorporación y se estudiaron sistemáticamente las propiedades de los nanocompuestos resultantes. En primer lugar, se procesaron las mezclas directas de las nanocelulosas secas molidas y el PLA. En segundo lugar, antes del procesamiento en fundido se elaboraron masterbatches de PLA y las nanocelulosas nativas por evaporación de solvente. Finalmente, se prepararon masterbatches utilizando las nanocelulosas hidrofobizadas superficialmente mediante reacciones de acetilación. Para cada caso, se varió el contenido de refuerzo entre 0.5% y 7% en peso. Los materiales resultantes se evaluaron en términos de morfología, propiedades ópticas, mecánicas, térmicas y de barrera, y se analizó su capacidad de desintegración en condiciones de compostaje industrial simuladas.

DESARROLLO DE NANOCOMPUESTOS BASADOS EN NANOCELULOSA Y ÁCIDO POLILÁCTICO

Tesis presentada para obtener el título de Doctora en Ciencia y Tecnología de la
Universidad Nacional de Quilmes

LIC. JIMENA BOVI

DIRECTORA DE TESIS: DRA. MARÍA LAURA FORESTI

CODIRECTORA DE TESIS: DRA. CELINA RAQUEL BERNAL

CONSEJERA ACADÉMICA: DRA. MERCEDES ANA PELTZER

Lugar de trabajo: Instituto de Tecnología en Polímeros y Nanotecnología (ITPN),
Facultad de Ingeniería, Universidad de Buenos Aires.

En el marco de la beca doctoral CONICET.

A Silvana, Gabriel, Paulina y Julián.

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar, quisiera agradecer a mis directoras, María Laura y Celina, por su guía profesional a lo largo de todos estos años. También a Mariana, Luciano, Nazareno y Laura por haber hecho mi trabajo mucho más fácil y llevadero en todo momento. Todos ustedes conforman un gran equipo de trabajo.

Muchas gracias por la infinita paciencia, el acompañamiento y las risas a mis compañeros del ITPN y la UBA, de quienes aprendí muchísimo: Maribel, Alejandro, Úrsula, Eliana, Martín, Juan, Franco, Cristian, Rosa, Silvina, Christian, Mercedes, Fabián, Sandra, Gisela y Valeria. Gracias también a mis grandes compañeros de cátedra, Patricia, Ángela, Rosa y Lucas, por escucharme y ayudarme siempre. También les agradezco a quienes se transformaron en mis amigos y ocupan un lugar muy especial en mi vida: Ema, Tomás y Carlos. A todos ustedes les dedico este logro que no hubiera sido posible sin su ayuda.

Infinitas gracias a mis amigos de toda la vida, quienes fueron, son y serán mi sostén emocional y fuente inagotable de compañerismo: Sabrina, Luisina, Alve, Antonela, Sabri, Sonia, Julieta, Andrea, Yamila, Rober, Marti, Diego, Ayelén y Valeria, y a mi adorado ahijado Lorenzo. Gracias por ser hogar, familia, ejemplo y empuje. También agradezco enormemente a mis amigos de la facultad, de quienes aprendí sobre la constancia, la lucha y la recompensa: Nicolás, Solange, Lucas y Agustín. Ojalá el futuro cercano nos encuentre del mismo lado de los océanos.

Quisiera agradecer muy especialmente a mi familia por el apoyo constante y el esfuerzo que hicieron toda la vida por brindarme bienestar físico y emocional. Silvana, Gabriel y Julián: gracias por no haber dudado nunca de mí, incluso cuando yo misma lo hacía. Son lo más importante que tengo y siempre lo serán. Gracias también a mis amados abuelos, tíos y primos por los mensajes de aliento y cariño. Son un gran ejemplo de unidad y, si pudiera elegir a mi familia, no dudaría en elegirlos a ustedes en esta y todas las vidas que pueda haber.

Gracias a las instituciones que me otorgaron la oportunidad de cumplir este objetivo, tanto al darme el lugar de trabajo como el financiamiento necesario: Instituto de Tecnología el Polímeros y Nanotecnología (ITPN), Universidad de Buenos Aires (UBA), Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET) y Fondo para la Investigación Científica y Tecnológica (FONCyT).

Por último, quiero agradecer a la universidad pública, gratuita y de calidad, a las universidades del conurbano y muy especialmente a la Universidad Nacional de Quilmes que siempre será para mí símbolo de lucha, orgullo y admiración. Sostengo firmemente la importancia del acceso equitativo a la educación en todos los niveles, de las oportunidades y del Estado presente.

“Pobres de nosotros si olvidamos que somos un telar”.

Liliana Bodoc.

ARTÍCULOS PUBLICADOS EN REVISTAS INDEXADAS

1. Ávila Ramírez, J. A., Bovi, J., Bernal, C., Errea, M. I. & Foresti, M. L. (2020). Development of poly (lactic acid) nanocomposites reinforced with hydrophobized bacterial cellulose. *Journal of Polymers and the Environment*, 28, 61.

2. Bovi, J., Butto, M., Arroyo, S., Bernal, C. & Foresti, M. L. (2024). Bacterial cellulose nanofibrils from a by-product of the growing kombucha business: obtention and use in the development of poly (lactic acid) composites. *Latin American Applied Research-An International Journal*, 54(1), 55.

3. Bovi, J., Delgado, J. F., de la Osa, O., Peltzer, M. A., Bernal, C. R. & Foresti, M. L. (2024). Biobased composites of poly (lactic acid) melt compounded with bacterial and vegetal nanocelluloses incorporated through different strategies. *Polymers*, 16(7), 898.

CAPÍTULO DE LIBRO

1. Delgado, J. F., Bovi, J., Foresti, M. L., & Bernal, C. (2022). All-cellulose composites derived from natural plant fibers. En Khan, A., Khan, I., Manikandan, A. & Asiri, A. M. (Eds.), *Sustainable Natural Fibers Composite (NFC)* Vol. 122, (p. 1). Materials Research Forum LLC.

PARTICIPACIÓN EN CONGRESOS

1. Hidrofobización superficial de nanocelulosa para su compatibilización con matrices poliméricas hidrofóbicas. Bovi, J., Cerrutti, P., Bernal, C., Foresti, M. L. II Jornada Nacional y I Regional de Bionanotecnología. Universidad Nacional de Quilmes, Bernal, Buenos Aires. 4-5 de octubre de 2018.

2. Desarrollo de nanocompuestos de ácido poliláctico y celulosa bacteriana hidrofobizada superficialmente. Ávila Ramírez, J.A., Bovi, J., Bernal, C., Errea, M. I., Foresti, M. L. XV Simposio Argentino de Polímeros. Universidad Tecnológica Nacional, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Buenos Aires. 9-11 de octubre de 2019.

3. Desarrollo de nanocompuestos biobasados y biodegradables de ácido poliláctico y nanofibras de celulosa. Bovi, J., Bernal, C., Foresti, M. L. IV edición de las Jornadas de Investigadores en Formación CyT. Universidad Nacional de Quilmes, Bernal, Buenos Aires. 25-27 de marzo de 2021 (modalidad virtual).

4. Avances en compuestos autoreforzados de celulosa y su impacto en la vida cotidiana. Delgado, J. F., Bovi, J., Bernal, C., Foresti, M. L. IV edición de las Jornadas de Investigadores en Formación CyT. Universidad Nacional de Quilmes, Bernal, Buenos Aires. 25-27 de marzo de 2021 (modalidad virtual).

5. Compuestos basados en PLA y nanocelulosa bacteriana obtenidos por mezclado en fundido y moldeo por compresión. Bovi, J., Cerrutti, P., Bernal, C., Foresti, M. L. IV Workshop de Polímeros Biodegradables y Biocompuestos (BioPoli 2020). Instituto de Investigaciones en Ciencia y Tecnología de los Materiales, Universidad Nacional de Mar del Plata, Mar del Plata, Buenos Aires. 23-25 de agosto de 2021 (modalidad virtual). **Premio al mejor póster.**

6. *On the performance of biodegradable self-reinforced composites (SRCs) based on poly(lactic acid) (PLA).* Frerking, M. E., Rouyer, A., Butto, M., Bovi, J., Melaj, M., Bernal, C. 17º Conferencia y Seminario de problemas "Comportamiento a la deformación y fractura de los plásticos. Universidad de Merseburgo, Merseburgo, Alemania. 9-11 de junio de 2021 (modalidad virtual).

7. Desarrollo de compuestos de ácido poliláctico y nanocelulosa bacteriana nativa y modificada superficialmente mediante mezclado en fundido y moldeo por compresión. Bovi,

J., Cerrutti, P., Bernal, C., Foresti, M. L. XVI Simposio Argentino de Polímeros. Universidad Nacional del Sur, Bahía Blanca, Buenos Aires. 1-3 de diciembre de 2021 (modalidad virtual).

8. Purificación de nanocelulosa bacteriana derivada de la fermentación de Kombucha y su empleo como refuerzo en compuestos basados en PLA. Bovi, J., Bernal, C., Foresti, M. L. III Workshop de Fronteras en Nanobiotecnología. Universidad de Buenos Aires, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Buenos Aires. 20-22 de julio de 2022.

9. Evaluación de nanocelulosa bacteriana como nuevo aditivo de fluidos de perforación en base agua. Dell Elce, S., Taverna, M. E., Villada, Y., Bovi, J., Busatto, C., Foresti, M. L., Estenoz, D. XXI Encuentro de Superficies y Materiales Nanoestructurados (Nano 22). Universidad Nacional de Río Cuarto, Río Cuarto, Córdoba. 9-11 de agosto de 2022 (modalidad virtual).

10. Bacterial nanocellulose as a polymeric additive for drilling operations. Dell Elce, S., Taverna, M. E., Bovi, J., Villada, Y., Busatto, C., Foresti, M. L., Estenoz, D. IX Summer School “Converging Technologies in Energy Transition” (EV2022). Universidad Nacional de Colombia, Medellín, Colombia. 8-11 de noviembre de 2022.

11. Bacterial nanocellulose as an eco-friendly additive in water-based drilling fluids applied to shale formations. Dell Elce, S., Taverna, M. E., Bovi, J., Villada, Y., Busatto, C., Foresti, M. L., Estenoz, D. AIChE Annual Student Conference. Phoenix Convention Center, Phoenix, Arizona, Estados Unidos. 11-14 de noviembre de 2022.

12. Development of nanocomposite films of poly(lactic acid) and bacterial cellulose by common melt processing techniques. Bovi, J., Dominici, F., Butto, M., Bernal, C., Foresti, M. L., Puglia, D. World Congress of Chemical Engineering 11 (WCCE 11). Universidad Católica Argentina, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Buenos Aires. 4-8 de junio de 2023.

13. Estrategias para mejorar la dispersión de nanofibras de celulosa en nanocompuestos basados en ácido poliláctico obtenidos por técnicas de procesamiento convencionales para plásticos. Bovi, J., Delgado, J. F., de la Osa, O., Dominici, F., Peltzer, M. A., Puglia, D., Bernal, C., Foresti, M. L. XV Simposio Argentino de Polímeros y I Congreso Argentino de Materiales Compuestos (SAP-COMAT 2023). Mar del Plata, Buenos Aires. 5-7 de diciembre de 2023.

RESUMEN

La presente tesis consta de siete capítulos cuyo contenido se resume brevemente a continuación.

*En el **capítulo 1** — Introducción general — se presentan los conceptos fundamentales relacionados con los materiales desarrollados en esta tesis. Tras una breve descripción del contexto en el que se enmarca el trabajo realizado, se discuten las características más importantes del ácido poliláctico (PLA) y de las nanocelulosas utilizadas en el desarrollo de las películas compuestas. Luego, se presenta un breve resumen del estado del arte de los materiales compuestos que son el objeto de esta tesis, y finalmente se expone la propuesta general, los objetivos y la innovación del trabajo realizado.*

*En el **capítulo 2** —Materiales y métodos— se realiza una descripción detallada de los materiales y metodologías empleados en la tesis para la obtención y caracterización de las nanocelulosas y de las películas compuestas. En primer lugar, se describen los protocolos implementados para obtener las nanofibrillas de celulosa de origen bacteriano y vegetal, y su modificación química mediante reacciones de acetilación. Luego, se detalla el desarrollo de materiales compuestos a base de PLA y las nanocelulosas obtenidas, incluyendo el secado y la molienda de las nanocelulosas, la preparación de masterbatches por evaporación de solvente y el procesamiento mediante mezclado intensivo seguido de moldeo por compresión, y mediante extrusión plana. Finalmente, se describen las técnicas de caracterización aplicadas tanto a los materiales nanocelulósicos como a las películas compuestas obtenidas.*

*En el **capítulo 3** —Obtención y caracterización de nanocelulosas— se resumen los resultados correspondientes a la obtención de las nanocelulosas nativas (sin modificación química) que se utilizan a lo largo de la tesis para el desarrollo de materiales compuestos de matriz polimérica. Estas incluyen nanocelulosa bacteriana aislada de un subproducto de la elaboración de Kombucha (BNC), y nanocelulosa vegetal obtenida a partir de cáscara de arroz (VNC). También se abarca la caracterización morfológica, estructural y térmica de las mismas en comparación con nanocelulosa bacteriana producida por una cepa pura de *Komagataeibacter xylinus* y con celulosa microcristalina de origen comercial, respectivamente.*

En el **capítulo 4**—*Obtención y caracterización de nanocelulosas acetiladas*— se describen los resultados de la acetilación de las nanocelulosas nativas del capítulo anterior, reacción llevada a cabo a fin de mejorar su compatibilidad con el PLA. Se discuten los resultados de la caracterización morfológica, estructural y térmica de ambas nanocelulosas acetiladas (AcBNC y AcVNC) y se comparan sus propiedades con sus contrapartes nativas.

En el **capítulo 5** —*Desarrollo de películas compuestas de ácido poliláctico y nanocelulosas*— se presentan y discuten los resultados de la caracterización morfológica, óptica y mecánica de las películas compuestas basadas en PLA y diferentes contenidos de las distintas nanocelulosas. Las mismas se obtuvieron tanto por mezclado intensivo seguido de moldeo por compresión como por extrusión plana y, en cada caso, se implementaron tres estrategias diferentes de incorporación de las nanocelulosas en el poliéster: i) mezcla directa de las nanocelulosas secas y molidas junto con pellets de PLA; ii) preparación de masterbatches por evaporación de solvente utilizando las nanocelulosas nativas (BNC y VNC) y el PLA como paso previo al mezclado en fundido; y iii) producción de masterbatches utilizando las nanocelulosas acetiladas (AcBNC y AcVNC).

En el **capítulo 6** —*Estudio del comportamiento térmico, de barrera y de desintegración de las películas compuestas extruidas*— se exhiben y discuten los resultados de la caracterización térmica, de la permeabilidad al vapor de agua y al oxígeno, y de la desintegración en condiciones de compostaje simuladas en laboratorio de películas seleccionadas obtenidas mediante extrusión.

Finalmente, en el **capítulo 7** —*Conclusiones*— se resumen las conclusiones generales de la tesis y se proponen estudios futuros derivados del presente trabajo.

ABSTRACT

The present thesis consists of seven chapters, whose contents are briefly summarized below.

*In **chapter 1** — General introduction — the fundamental concepts related to the materials developed in this thesis are introduced. After a brief description of the context in which the work is framed, the most important characteristics of polylactic acid (PLA) and nanocelluloses used in the development of composite films are discussed. Then, a summary of the state of the art of the composite materials studied in this thesis is presented, followed by the general proposal, objectives, and innovation of the work conducted.*

*In **chapter 2** — Materials and methods — a detailed description of the materials and methodologies used in the thesis for the production and characterization of nanocelluloses and PLA composite films is provided. Firstly, the protocols used to obtain bacterial nanocellulose and vegetal nanocellulose, along with their chemical modification through acetylation reactions, are described. Then, the development of PLA-based composite materials with the obtained nanocelluloses is detailed, including the drying and grinding of nanocelluloses, preparation of masterbatches by solvent casting, and processing by intensive mixing followed by compression molding, and cast extrusion. Finally, the characterization techniques applied to both the nanocellulosic materials, and the obtained composite films are described.*

*In **chapter 3** — Obtention and characterization of nanocelluloses — the results corresponding to the production of native (non-chemically modified) nanocelluloses, which will be used throughout the thesis for the development of polymer matrix composite materials are summarized. These include bacterial nanocellulose isolated from a byproduct of Kombucha production (BNC) and vegetal nanocellulose obtained from rice husk (VNC). The morphological, structural, and thermal characterization of these nanocelluloses is also covered, and compared with bacterial nanocellulose produced by a pure strain of *Komagataeibacter xylinus* and with commercially sourced microcrystalline cellulose, respectively.*

*In **chapter 4** — Production and characterization of acetylated nanocelluloses — the results of the acetylation of the nanocelluloses obtained in the previous chapter are described, a reaction carried out to improve their compatibility with PLA. The results of the morphological,*

structural, and thermal characterization of both acetylated nanocelluloses (AcBNC and AcVNC) are discussed and compared with the properties of their native counterparts.

*In **chapter 5** — Development of polylactic acid and nanocellulose composite films — the results of the morphological, optical, and mechanical characterization of the composite films based on PLA with different nanocellulose contents are presented and discussed. These films were obtained by both intensive mixing followed by compression molding and cast extrusion. In each case, three different strategies for incorporating nanocelluloses into the polyester were implemented: i) direct mixing of dried and ground nanocelluloses with PLA pellets; ii) preparation of masterbatches by solvent casting using native nanocelluloses (BNC and VNC) and PLA as a preliminary step to melt compounding; and iii) production of masterbatches using acetylated nanocelluloses (AcBNC and AcVNC).*

*In **chapter 6** — Study of thermal, barrier and disintegration behavior of extruded composite films— the results of thermal characterization, water vapour and oxygen permeability, and disintegration under simulated laboratory composting conditions of the extruded films are presented and discussed.*

*Finally, in **chapter 7** — Conclusions — the general conclusions of the thesis are summarized, and future studies derived from the present work are proposed.*

Índice general

AGRADECIMIENTOS	3
ARTÍCULOS PUBLICADOS EN REVISTAS INDEXADAS.....	5
CAPÍTULO DE LIBRO	5
PARTICIPACIÓN EN CONGRESOS	6
RESUMEN	8
ABSTRACT.....	10
CAPÍTULO 1: INTRODUCCIÓN GENERAL Y OBJETIVOS	18
<i>RESUMEN.....</i>	<i>19</i>
<i>1.1 Contexto.....</i>	<i>20</i>
<i>1.2 Ácido poliláctico</i>	<i>23</i>
<i>1.3 Nanocelulosas.....</i>	<i>26</i>
1.3.1 Celulosa.....	26
1.3.2 Nanomateriales celulósicos	30
1.3.2.1 Nanocelulosa bacteriana	32
1.3.2.2 Nanocelulosa vegetal.....	34
<i>1.4 Compuestos de ácido poliláctico y nanocelulosa.....</i>	<i>36</i>
1.4.1 Estado del arte específico	37
1.4.2 Compatibilización entre el PLA y la nanocelulosa.....	39
1.4.3 Técnicas de procesamiento.....	41
1.4.3.1 Evaporación de solvente	41
1.4.3.2 Procesamiento en fundido.....	42

1.5 Propuesta general y objetivos	44
1.6 Bibliografía	45
CAPÍTULO 2: MATERIALES Y MÉTODOS	60
RESUMEN	61
2.1 Materiales	62
2.2 Obtención de las nanocelulosas.....	63
2.2.1 Nanocelulosa bacteriana obtenida con una cepa de <i>Komagataeibacter xylinus</i>	63
2.2.2 Nanocelulosa bacteriana aislada de un subproducto de la elaboración de Kombucha	64
2.2.3 Nanocelulosa vegetal obtenida a partir de cáscara de arroz	65
2.3 Acetilación de las nanocelulosas.....	66
2.4 Caracterización de las nanocelulosas nativas y acetiladas.....	66
2.4.1 Saponificación.....	66
2.4.2 Dispersión en solventes de diferente polaridad.....	67
2.4.3 Microscopía electrónica de barrido	68
2.4.4 Microscopía de fuerza atómica	68
2.4.5 Espectrometría de energía dispersiva de rayos X	69
2.4.6 Espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier.....	69
2.4.7 Resonancia magnética nuclear	69
2.4.8 Difracción de rayos X.....	70
2.4.9 Termogravimetría.....	71
2.5 Obtención de las películas compuestas de ácido poliláctico y nanocelulosas	72
2.5.1 Estrategias de incorporación de las nanocelulosas.....	72

2.5.2 Procesamiento en fundido	72
2.5.2.1 Mezclado intensivo seguido de moldeo por compresión	72
2.5.2.2 Extrusión plana.....	73
2.6 Caracterización de las películas compuestas de ácido poliláctico y nanocelulosas	74
2.6.1 Opacidad	74
2.6.2 Colorimetría.....	74
2.6.3 Microscopía electrónica de barrido	75
2.6.4 Espectrometría de energía dispersiva de rayos X	75
2.6.5 Macroscopía.....	75
2.6.6 Caracterización mecánica en tracción.....	75
2.6.7 Estudio del comportamiento térmico	76
2.6.8 Permeabilidad al vapor de agua	76
2.6.9 Tasa de transmisión de oxígeno.....	77
2.6.10 Desintegración bajo condiciones de compostaje simuladas en laboratorio.....	77
2.7 Bibliografía	78
CAPÍTULO 3: OBTENCIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE NANOCELULOSAS	82
RESUMEN	83
3.1 Introducción	84
3.2 Resultados y discusión	88
3.2.1 Nanocelulosa bacteriana (BNC).....	88
3.2.1.1 Obtención de BNC.....	88
3.2.1.2 Caracterización de BNC	92

3.2.2 Nanocelulosa vegetal (VNC)	105
3.2.2.1 Obtención de VNC.....	105
3.2.2.2. Caracterización de VNC	107
3.3 Conclusiones del Capítulo 3.....	116
3.4 Bibliografía	117
CAPÍTULO 4: OBTENCIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE NANOCELULOSAS ACETILADAS...	126
RESUMEN	127
4.1 Introducción	128
4.2 Resultados y discusión	130
4.3 Conclusiones del Capítulo 4.....	143
4.4 Bibliografía	143
CAPÍTULO 5: DESARROLLO DE PELÍCULAS COMPUESTAS DE ÁCIDO POLILÁCTICO Y NANOCELULOSAS	148
RESUMEN	149
5.1 Introducción	150
5.2 Resultados y discusión	153
5.2.1 Morfología y propiedades ópticas	154
5.2.2 Propiedades mecánicas.....	178
5.3 Conclusiones del Capítulo 5.....	184
5.4 Bibliografía	185
CAPÍTULO 6: ESTUDIO DEL COMPORTAMIENTO TÉRMICO, DE BARRERA Y DE DESINTEGRACIÓN DE LAS PELÍCULAS COMPUESTAS EXTRUIDAS	190

RESUMEN	191
6.1 <i>Introducción</i>	192
6.2 <i>Resultados y discusión</i>	194
6.3 <i>Conclusiones del Capítulo 6</i>	207
6.4 <i>Bibliografía</i>	208
CAPÍTULO 7: CONCLUSIONES GENERALES	214
NOMENCLATURA.....	217
ANEXO A	219
ANEXO B	221
ANEXO C.....	223
LISTADO DE FIGURAS	229
LISTADO DE TABLAS.....	239

CAPÍTULO 1:

INTRODUCCIÓN GENERAL Y OBJETIVOS

RESUMEN

En el presente capítulo se introducen los conceptos fundamentales relacionados con los materiales desarrollados en esta tesis. Luego de una breve descripción del contexto en el que se inserta el trabajo realizado, se discuten las características más importantes del ácido poliláctico (PLA) y de las nanocelulosas empleadas en la obtención de los materiales compuestos. Seguidamente se presenta un breve resumen del estado del arte de los materiales compuestos en base a estos componentes que son el objeto de esta tesis, y finalmente se expone la propuesta general, los objetivos y la innovación del trabajo realizado.

1.1 Contexto

En las últimas décadas la demanda y la producción de plásticos no biodegradables ha generado múltiples problemas ambientales debido a su persistencia y acumulación en el ambiente luego de ser descartados. Se ha reportado que desde 2016 se vierten entre 9 y 23 millones de toneladas métricas de residuos plásticos por año en ríos, lagos y océanos, y que una cantidad similar (entre 13 y 25 millones de toneladas métricas por año) se libera en entornos terrestres (**MacLeod et al., 2021**). A partir de la proyección de las tendencias actuales, se estima que estas tasas podrían duplicarse para 2025 (**Borrelle et al., 2020**). La acumulación de plásticos en el ambiente se debe principalmente a que la velocidad con la que son generados supera la velocidad de biodegradación y de transformación por actividades humanas (reciclado, incineración, etc.). Debido a su durabilidad en la naturaleza, los plásticos pueden persistir durante décadas o incluso siglos, lo que depende principalmente de sus propiedades y de los diversos factores a los que son sometidos como la radiación UV, la temperatura, la actividad biológica y los esfuerzos mecánicos (**Min, Cuiffi & Mathers, 2020**).

Por otro lado, dado que el gas y el petróleo son las materias primas principales para la fabricación de plásticos, el agotamiento de estas reservas fósiles no renovables también representa un problema, al que se suman las fluctuaciones de sus precios que impactan directamente en los productos finales.

Todos estos factores han generado una creciente conciencia en la sociedad, que impulsa el desarrollo de materiales alternativos más sostenibles, competitivos en cuanto a sus propiedades con los plásticos convencionales e, idealmente, de menor costo (**Raquez, Habibi, Murariu & Dubois, 2012; Thakur et al., 2014**). Entre ellos merecen gran interés los bioplásticos, que se refieren a plásticos biobasados (lo que significa que todos o algunos de sus componentes provienen de fuentes naturales renovables); y/o biodegradables (es decir, que se degradan por la acción de microorganismos presentes en el ambiente de acuerdo con determinados estándares).

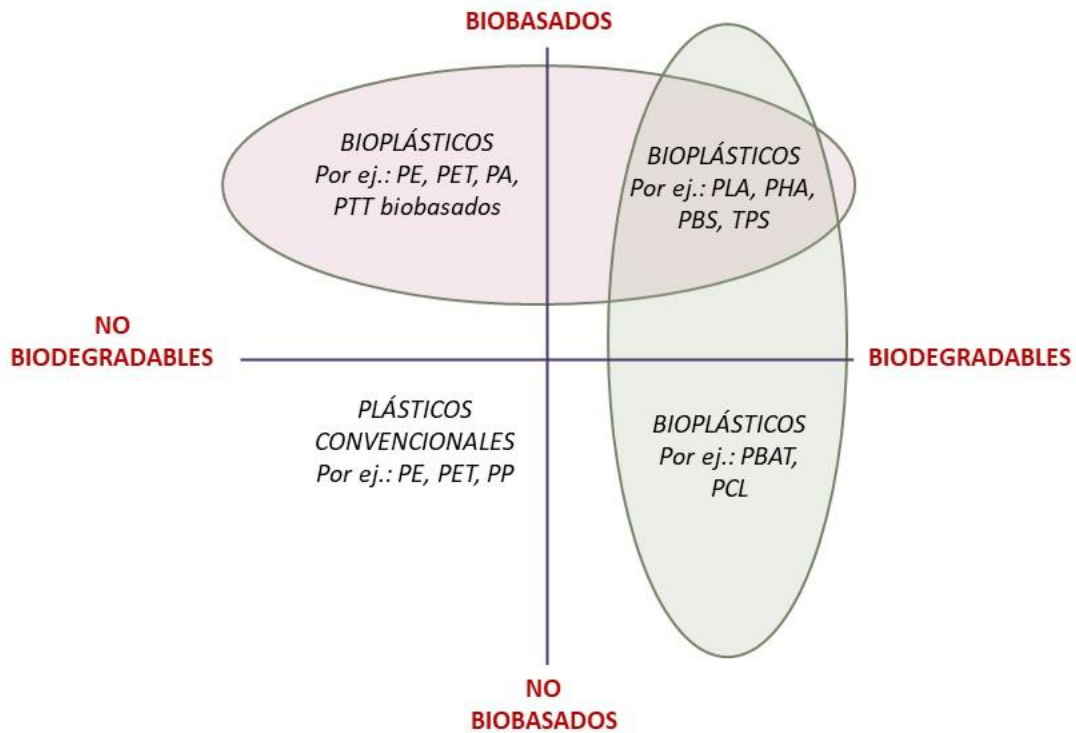


Figura 1.1. Clasificación de bioplásticos de acuerdo con su origen y con su biodegradabilidad. PE: polietileno; PET: polietileno tereftalato; PA: poliamida; PTT: politrimetileno tereftalato; PP: polipropileno; PLA: ácido poliláctico; PHA: polihidroxialcanoatos; PBS: polibutileno succinato; TPS: almidón termoplástico; PBAT: polibutileno adipato tereftalato; PCL: policaprolactona (adaptado de *European Bioplastics- Nova-Institute, 2024*).

El diagrama de la **Figura 1.1** esquematiza los conceptos antes mencionados, exhibiendo la clasificación de los materiales según su origen (arriba o abajo) y según su biodegradabilidad (derecha o izquierda). Los materiales basados en recursos fósiles no biodegradables quedan excluidos de la denominación de bioplásticos.

La demanda por el desarrollo de bioplásticos con mejores propiedades impulsa un continuo crecimiento del mercado. Según un estudio reciente, la producción global de bioplásticos en el año 2023 fue de 2.18 millones de toneladas (**Figura 1.2, European Bioplastics- Nova-Institute**, <https://www.european-bioplastics.org/bioplastics>). Sin embargo, los costos aún elevados, las propiedades y los bajos rendimientos en la producción de algunos bioplásticos en comparación con los plásticos tradicionales, aún limitan su participación en el segmento de los plásticos.

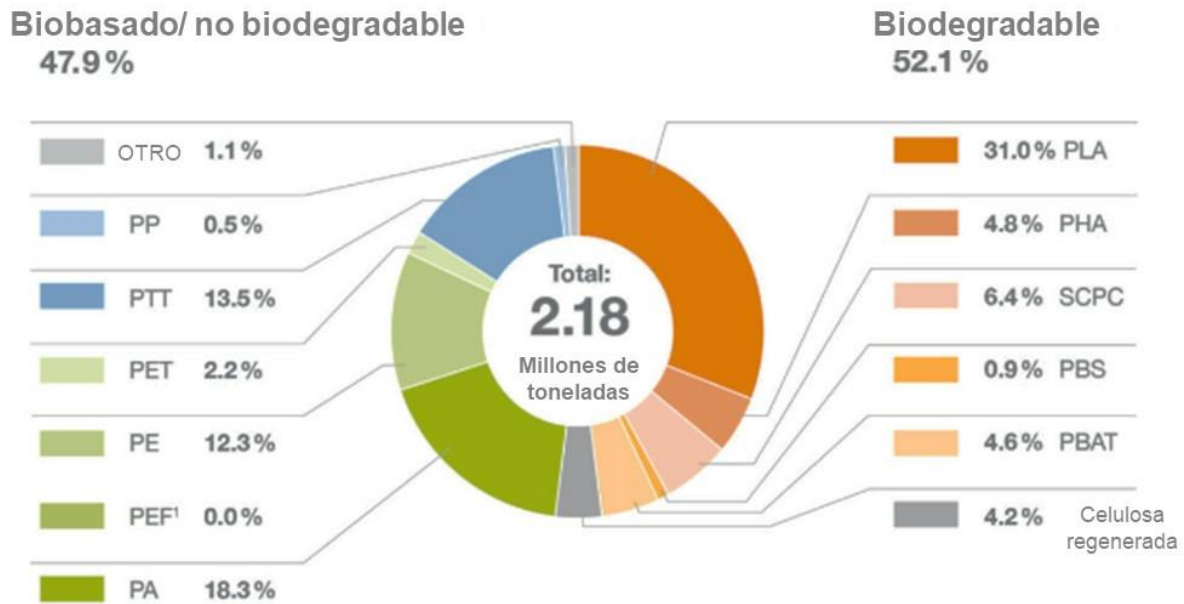


Figura 1.2. Capacidad de producción global de bioplásticos en 2023. PP: polipropileno; PTT: politrimetileno tereftalato; PET: polietileno tereftalato; PE: polietileno; PEF: polietileno furanoato; PA: poliamida; PLA: ácido poliláctico; PHA: polihidroxialcanoatos; SCPC: compuestos poliméricos que contienen almidón; PBS: polibutileno succinato; PBAT: polibutileno adipato tereftalato (adaptado de *European Bioplastics- Nova-Institute, 2024*).

Al igual que en el caso de los plásticos convencionales, el desarrollo de bioplásticos con propiedades y costos mejorados muchas veces requiere de la mezcla con otros plásticos y/o la incorporación de aditivos, cargas y refuerzos. En este marco, la presente tesis plantea el desarrollo de materiales compuestos biobasados y biodegradables por técnicas de procesamiento en fundido utilizando insumos disponibles en nuestro país. Con esta premisa se seleccionó como matriz un bioplástico comercial disponible en el mercado local (ácido poliláctico -PLA- empleado para la extrusión de filamentos de impresión 3D) y como nanocargas nanocelulosas que pueden obtenerse a partir de descartes o subproductos de la industria alimentaria nacional. En las secciones siguientes se describen los conceptos básicos y las características fundamentales de los componentes de los materiales compuestos objeto de esta tesis. Posteriormente se presenta el estado del arte del desarrollo de películas compuestas de PLA y nanocelulosas microbianas y vegetales.

1.2 Ácido poliláctico

Uno de los bioplásticos considerado como más prometedor para sustituir a muchos plásticos convencionales es el ácido poliláctico. El PLA es un poliéster alifático biobasado, reciclable y biodegradable en condiciones de compostaje industrial que se produce a un precio competitivo. Además, existen distintas variedades del poliéster, dando como resultado un abanico de materiales que se pueden procesar por inyección, extrusión, soplado y termoformado (**Drumright, Gruber & Henton, 2000; Ren, Ren & Hong, 2007; Sawyer, 2003**). El PLA se destaca por su elevada resistencia y rigidez, su carácter hidrofóbico, estabilidad a los rayos UV, transparencia y brillo (**Jamshidian *et al.*, 2010**). La unidad constitutiva del PLA es el ácido láctico (ácido 2-hidroxipropiónico), una molécula quiral que posee dos enantiómeros: L y D. Por este motivo, el polímero puede presentar distintos estereoisómeros tales como el ácido poli-D-láctico (PDLA), el ácido poli-L-láctico (PLLA) y el ácido poli-DL-láctico (PDLLA) (**Savioli Lopes *et al.*, 2012**) (**Figura 1.3**).

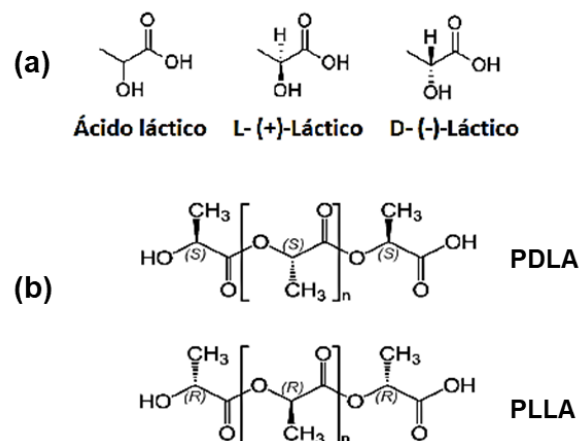


Figura 1.3. Estructura química de (A) enantiómeros del ácido láctico y (B) estereoisómeros de PLA.

El ácido láctico puede obtenerse mediante la conversión de distintos carbohidratos por la acción de bacterias del género *Lactobacillus*. La producción fermentativa de ácido láctico ha recibido mucha atención debido a su bajo costo e impacto ambiental y a la pureza de los enantiómeros formados (**Lunelli *et al.*, 2010**). La posterior polimerización del ácido láctico puede lograrse a través de dos tipos de reacción por condensación directa o por formación

del dímero intermediario cíclico lactida (**Mohanty, Misra & Hinrichsen, 2000; Sawyer et al., 2003**), (**Figura 1.4**).

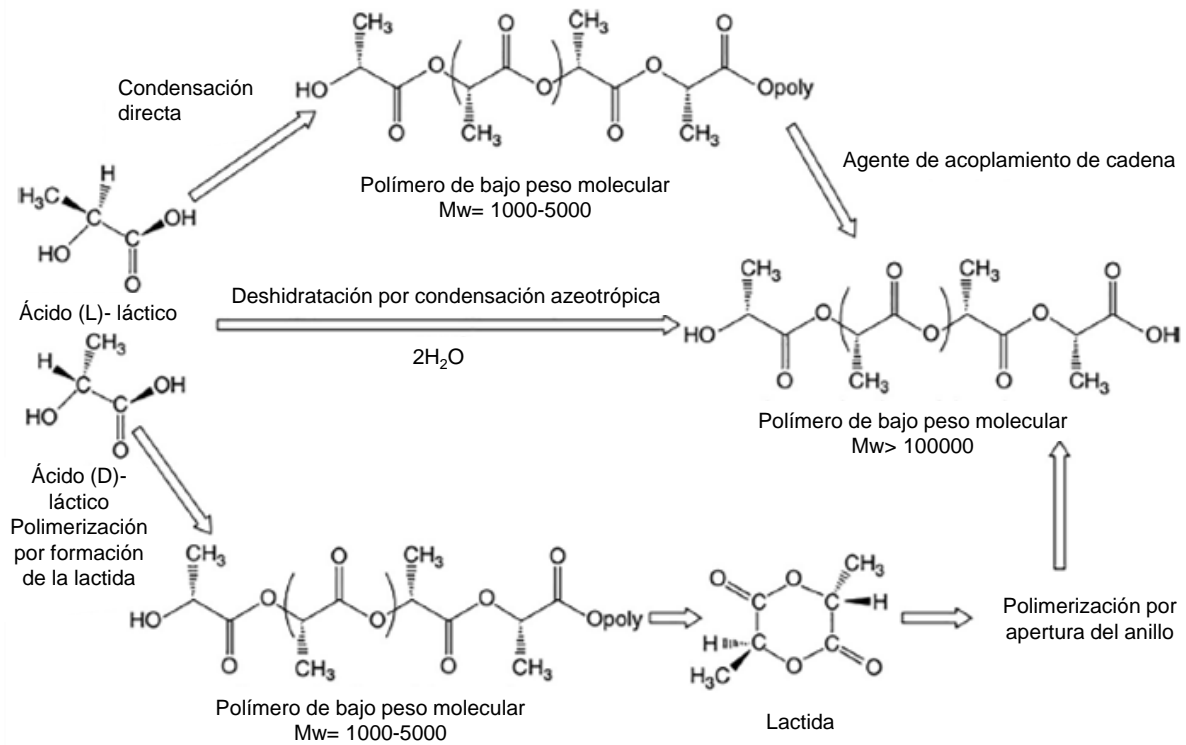


Figura 1.4. Rutas de síntesis del PLA (adaptado de **Ashothaman et al., 2023**).

La condensación directa del ácido láctico fue utilizada por primera vez en el año 1932 por el químico Wallace Carothers, y el proceso fue patentado por la empresa DuPont (Estados Unidos) años después. Esta reacción se realiza en una atmósfera de alto vacío a temperaturas que propicien la eliminación del agua producida en la condensación. El proceso se da en tres etapas: eliminación del agua libre, policondensación del oligómero y condensación del PLA de alto peso molecular. La segunda etapa es el paso determinante de la velocidad de la reacción química, y normalmente depende del catalizador empleado. El polímero resultante es un material de peso molecular bajo o intermedio, por lo que esta reacción no se utiliza para la producción de PLA a gran escala (**Tsuji, 2011**). Por otro lado, el proceso de formación de la lactida se da en medio sin disolventes y el dímero intermediario cíclico producido es purificado por destilación. Este proceso de tres pasos que incluye policondensación, despolimerización y polimerización de apertura de anillo, da como resultado cadenas de PLA de mayor peso molecular. Además, ajustando las temperaturas, el tiempo y el tipo y

concentración del catalizador, es posible controlar la secuencia y proporción de cada enantiómero en el polímero obtenido (**Tsuji, 2011**).

Existen múltiples variantes de PLA con características distintas que dependen de su peso molecular, estructura y cristalinidad. Las propiedades mecánicas del PLA están influenciadas por su estructura cristalina. A medida que aumenta la cristalinidad del PLA y se reduce la movilidad de las cadenas moleculares, la elongación a la rotura del material disminuye, mientras que la resistencia a la tracción y el módulo aumentan. En general, el PLA presenta valores de resistencia a la tracción similares y un módulo ligeramente superior al polietileno tereftalato (PET) (**Armentano et al., 2015; Wu et al., 2023; Zhou et al., 2021**).

Otra particularidad importante del PLA es su biodegradabilidad. La biodegradación se define como un proceso en el cual un material se descompone debido a la acción enzimática de microorganismos tales como bacterias, hongos y algas. Los productos resultantes de este proceso incluyen dióxido de carbono, biomasa y agua en condiciones aeróbicas, o metano en condiciones anaeróbicas. La descomposición orgánica puede ocurrir en diversos entornos incluyendo suelos, áreas de compostaje, plantas de tratamiento de aguas y ambientes marinos (**Bastioli, 2005**). Este proceso puede ser propiciado por reacciones abióticas tales como la fotodegradación, oxidación e hidrólisis por factores ambientales. Es por este motivo que no solo depende de la biodegradabilidad de los materiales y de que sus enlaces químicos sean reconocidos por enzimas, sino también de las condiciones ambientales en las que se encuentran (**Bastioli, 2005**). En el caso del PLA, la biodegradación ocurre generalmente en dos etapas: en primer lugar, se da la escisión aleatoria no enzimática de la cadena de grupos éster, reduciendo el peso molecular del polímero. Luego, los fragmentos se reducen aún más hasta llegar a ácido láctico u otros oligómeros, que son posteriormente metabolizados por microorganismos hasta la mineralización parcial o completa. La velocidad de degradación depende, además, de la temperatura, el pH y la humedad del ambiente. En general, se necesitan temperaturas superiores a 50°C y una humedad elevada para acelerar la degradación por hidrólisis de la cadena polimérica, por lo que el PLA solo es degradable en condiciones de compostaje industrial (a 58°C) y por digestión anaeróbica (**Jamshidian et al., 2010; www.bio-based.eu/graphics**).

En cuanto a las aplicaciones principales del PLA sus propiedades lo vuelven un material especialmente atractivo para envoltorios, envases de alimentos y vajilla de un solo uso, bolsas de residuos (**Cai, Hu & Ren, 2016; Muller, González Martínez & Chiralt, 2017**), y materiales biomédicos tales como implantes ortopédicos, injertos vasculares, vendajes, suturas, y dispositivos para la administración de fármacos (**Taib et al., 2023**). Sin embargo, el PLA es

un material relativamente frágil y de baja tenacidad, lo que puede restringir su empleo en algunas aplicaciones. Además, presenta baja estabilidad térmica, capacidad limitada de cristalización y permeabilidad a ciertos gases y al vapor de agua (**Farah, Anderson & Langer, 2016; Lima de Albuquerque et al., 2021; Ljungberg & Wesslen 2002; Raquez et al., 2012**). En los últimos años, se han llevado a cabo numerosas investigaciones enfocadas a mejorar las propiedades del PLA mediante el agregado de modificadores, cargas y refuerzos de distinta naturaleza.

1.3 Nanocelulosas

Según la norma *ISO/TS 20477: 2017 "Nanotechnologies - Standard terms and their definition for cellulose nanomaterial"*, las nanocelulosas (también llamadas nanomateriales celulósicos) comprenden los materiales compuestos predominantemente por celulosa con alguna de sus dimensiones externas en la nanoescala. Esta definición también incluye a los materiales celulósicos con estructura interna o superficial en la nanoescala.

1.3.1 Celulosa

La celulosa es el biopolímero más abundante en la naturaleza ya que constituye el material estructural primario de las plantas superiores, representando entre un 15% y un 30% del peso seco de las paredes celulares vegetales. Además, es sintetizada por ciertas especies de algas, animales marinos conocidos como tunicados y varios géneros de bacterias (**Habibi, Lucia & Rojas, 2010; Moon et al., 2011**). La madera es la fuente de celulosa más abundante y es la más utilizada por las industrias de pasta y papel y embalaje. Los materiales típicos obtenidos son la pulpa de Kraft blanqueada y la pulpa de disolución (utilizada para la producción de productos de celulosa regenerada como el rayón). Al igual que la madera de los árboles, las plantas también son una fuente abundante de celulosa. En las últimas décadas se han estudiado una amplia variedad de materiales vegetales como fuente para la extracción de celulosa incluyendo algodón, ramio, sisal, lino, etc. Por otro lado, resulta especialmente interesante la posibilidad de aislar la celulosa, y luego nanocelulosa, a partir de residuos agroindustriales. Los mismos incluyen una amplia variedad de materiales como tallos, hojas, cáscaras, cortezas, vainas, semillas y rastrojos, provenientes de cereales, café, cacao, té, frutas, legumbres, algodón, palma aceitera, entre otros (**Singh et al., 2009**). Estos residuos

se generan en grandes cantidades en todo el mundo y representan una fuente abundante, económica y fácilmente accesible de biomasa lignocelulósica. Sin embargo, solo una fracción se utiliza como alimento animal o combustible para hogares, mientras que una parte considerable se quema en los campos contribuyendo a la contaminación ambiental (**Kalia et al., 2011**).

Por otro lado, varias especies de algas también contienen celulosa dentro de la pared celular. Algunas de las especies más estudiadas son *Micrasterias denticulata*, *Micrasterias rotate*, *Valonia*, *Caldophora* y *Boergesenia*. Los tunicados son los únicos animales conocidos por producir celulosa contenida en una matriz de proteínas. Algunas de las especies más estudiadas son *Halocynthia roretzi*, *Halocynthia papillosa* y *Metandrocarpa uedai*. Adicionalmente, en determinadas condiciones de cultivo, algunas especies de bacterias pueden producir celulosa en forma de nanocintas (**Moon et al., 2011**).

La celulosa fue aislada por primera vez de fuentes vegetales por el químico francés Anselme Payen en 1839, y su estructura polimérica se determinó en la década del 20 (**Henriksson, Henriksson, Berglund & Lindström, 2007; Iwamoto, Nakagaito & Yano, 2007**). La celulosa está compuesta por moléculas de anhidroglucosa ($C_6H_{10}O_5$) unidas por enlaces glucosídicos β 1-4 (**Moon et al., 2011**). La unión de dos moléculas de anhidroglucosa da lugar a una molécula de celobiosa, que constituye la unidad repetitiva de la celulosa (**Figura 1.5a**). Aquellos grupos hidroxilo (-OH) que no están involucrados en los enlaces β , se encuentran disponibles para la formación de enlaces puentes de hidrógeno intra e intermoleculares o para su funcionalización (**Figura 1.5b**).

Las moléculas de celulosa se unen mediante enlaces puente de hidrógeno conformando fibrillas elementales, las cuales forman a su vez microfibrillas por el mismo tipo de enlace (**Habibi, 2014; John & Thomas 2008; Klemm et al., 2005; Moon et al., 2011**). El grado de polimerización, que suele expresarse en términos de moléculas de anhidroglucosa, varía dependiendo de la fuente de obtención de la celulosa y de las metodologías de aislamiento utilizadas, pudiendo disminuir notablemente debido a la escisión de las cadenas poliméricas (**Khalil, Bhat & Yusra, 2012; Klemm et al., 2005**).

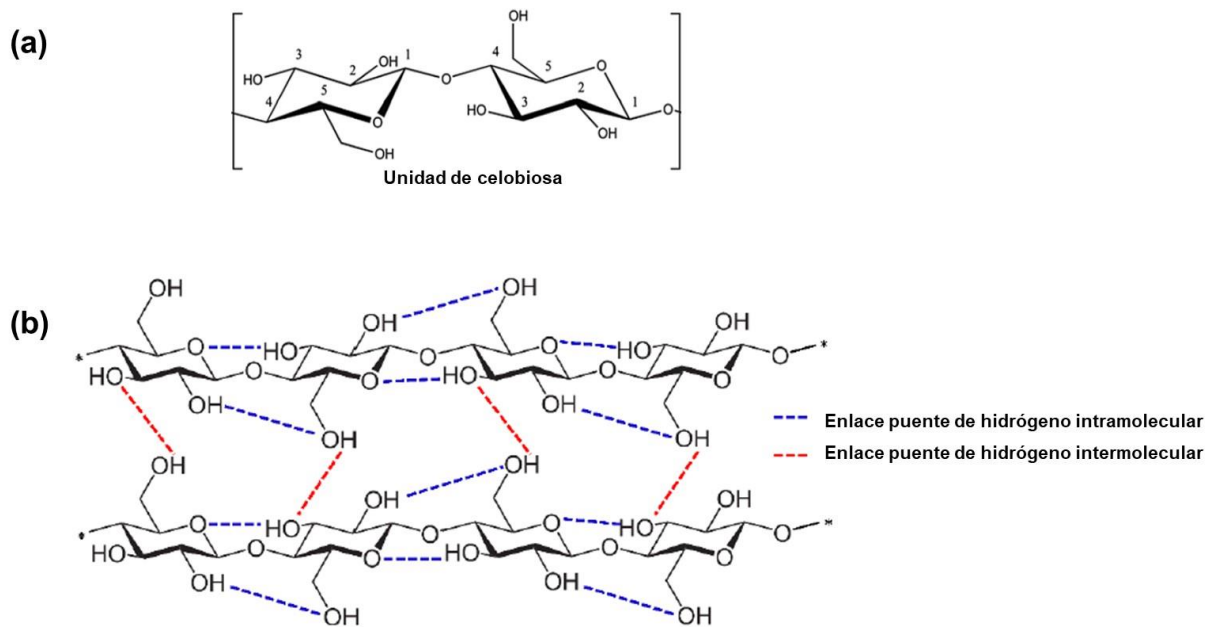


Figura 1.5. (A) Estructura de la celobiosa y (B) formación de enlaces puente de hidrógeno intramoleculares (línea punteada azul) e intermoleculares (línea punteada roja) en la celulosa (adaptada de **Jaffar et al., 2022**).

Los enlaces puente de hidrógeno en la celulosa desempeñan un rol clave en su solubilidad (limitada en la mayoría de los solventes), en la reactividad de los grupos -OH, en su cristalinidad y en sus propiedades mecánicas. Las áreas hidrofóbicas de la celulosa (alrededor de los átomos de carbono) también influyen en sus propiedades generales (**Heinze & Koschella, 2005**). La presencia de grupos -OH libres confiere una gran versatilidad al material para adquirir nuevas funcionalidades mediante modificaciones químicas superficiales o completas, como reacciones de esterificación, eterificación, oxidación, injertos, entre otras (**Ghasemlou et al., 2021**).

Los enlaces puente de hidrógeno intra e intermoleculares de la celulosa dan lugar a su empaquetamiento cristalino, confiriendo a las cadenas un arreglo tridimensional altamente ordenado. Además de estas regiones cristalinas, la celulosa posee otras regiones menos ordenadas denominadas amorfas (**John & Thomas, 2008; Moon et al., 2011**). Mediante el empleo de técnicas de caracterización como la difracción de rayos X y la espectroscopía de resonancia magnética nuclear de ^{13}C en estado sólido, se han identificado cuatro alomorfos distintos de la celulosa, cada uno caracterizado por un patrón específico de enlaces de hidrógeno que unen las cadenas poliméricas y determinan la geometría de las celdas

cristalinas resultantes. Estos alomorfos se denominan celulosa I, II, III y IV, siendo la celulosa I el más común en la naturaleza. A su vez, la celulosa I está compuesta por una mezcla de dos estructuras cristalinas con configuraciones distintas, conocidas como celulosa I α (triclínica) y I β (monoclínica). En la fase triclínica cada unidad de celda contiene una cadena paralela, mientras que en la fase monoclínica hay dos cadenas independientes paralelas por unidad de celda (**Dufresne, 2018**). La proporción relativa de celulosa I α y I β varía según el organismo; por ejemplo, la celulosa bacteriana y la proveniente de algas es predominantemente celulosa I α , mientras que en las plantas superiores y en los tunicados predomina la celulosa I β . Por otro lado, la celulosa II puede obtenerse a partir de la celulosa I mediante un proceso de mercerización o mediante la regeneración de celulosa a partir de una disolución previa. En cuanto a las celulosas III y IV, pueden obtenerse a partir de las celulosas I y II, respectivamente, mediante el tratamiento con amoníaco líquido en una reacción reversible (**Park et al., 2010**).

El comportamiento mecánico de la celulosa depende del polimorfo de celulosa presente, así como de su contenido cristalino y amorfo. Nishino *et al.* (1995) midieron mediante difracción de rayos X el módulo elástico de las regiones cristalinas de los polimorfos de celulosa en dirección paralela al eje de la cadena, determinando valores de 138 GPa y 88 GPa para la celulosa I y II, respectivamente (**Nishino, Takano & Nakamae, 1995**).

Como ya se mencionó, los métodos de aislamiento de la celulosa pueden tener un impacto significativo en la estructura y en las propiedades finales del polímero. En el caso de la celulosa aislada de la pared celular de células vegetales, por ejemplo, este polímero se encuentra integrado a una matriz de hemicelulosa y lignina, y se requieren distintos métodos de purificación para lograr la eliminación total o parcial de estos componentes. Los tratamientos empleados pueden incluir etapas físicas, como la disrupción mecánica realizada mediante molienda, corte, trituración, pulverización; y/o etapas químicas, como tratamientos con álcalis, ácidos diluidos, agentes oxidantes, solventes orgánicos, etc. (**Lee, Hamid & Zain, 2014**). Entre los enfoques dirigidos a la hidrólisis de las hemicelulosas, se pueden realizar tratamientos con álcalis (KOH, NaOH). El proceso de blanqueo (con H₂O₂, NaClO₂, CH₃COOH) se lleva a cabo para disolver los componentes de lignina. Si es necesario eliminar pectinas y componentes cerosos, también se pueden realizar pasos de purificación previos con agua caliente y extracciones con diferentes solventes o sistemas de solventes. Algunos de ellos pueden ser mezclas que contienen hexano/etanol/agua, benceno/metanol o tolueno/etanol (**Kian et al., 2019; Sharma & Bhardwaj, 2019**). En el caso de la celulosa de origen bacteriano, suelen emplearse tratamientos alcalinos a fin de remover el medio de cultivo y los restos celulares, y también pueden estar acompañados de métodos de disrupción

mecánica o química. En general, se busca que los métodos de aislamiento de celulosa sean rentables, minimicen la producción de residuos peligrosos, tengan bajos requerimientos de energía y conserven la estructura del material.

1.3.2 Nanomateriales celulósicos

Si bien la celulosa y sus derivados se conocen hace más de 150 años, en las últimas décadas ha habido un interés renovado por este polímero a partir del conocimiento de que las fibras de celulosa vegetal están constituidas por elementos de mucho menor tamaño que en condiciones adecuadas se pueden aislar para dar lugar a nanomateriales innovadores.

Tabla 1.1. Definición y características principales de las nanofibrillas y los nanocristales de celulosa de acuerdo con la norma *ISO/TS 20477: 2017 "Nanotechnologies - Standard terms and their definition for cellulose nanomaterial"*.

Tipo de nanocelulosa	Definición	Características principales
Nanofibrillas de celulosa (CNF)	Nano-objetos con dos dimensiones externas similares en la nanoescala y una tercera dimensión significativamente mayor, compuestos de celulosa con al menos una fibrilla elemental. Contienen regiones cristalinas, paracristalinas y amorfas.	Relación de aspecto > 10. Pueden contener separaciones longitudinales, entrelazamientos entre partículas o estructuras similares a redes. Sección transversal típica de 3-100 nm y longitud de hasta 100 micrones.
Nanocristales de celulosa (CNC)	Nano-objetos con estructura cristalina compuesta de celulosa con al menos una fibrilla elemental. Contienen predominantemente regiones cristalinas y paracristalinas.	5 <relación de aspecto< 50. Generalmente no exhiben separaciones longitudinales ni entrelazamientos entre partículas ni estructuras similares a redes. Sección transversal típica de 3-50 nm y longitud entre 100 nm y varios micrones.

Como se mencionó al comienzo de la sección 1.3, recientemente se publicó una norma sobre la terminología estandarizada para denominar a las nanocelulosas (*ISO/TS 20477: 2017 "Nanotechnologies - Standard terms and their definition for cellulose nanomaterial"*). Dentro de la definición de nanocelulosa o nanomateriales de celulosa se distinguen dos grandes grupos que son las nanofibrillas de celulosa (CNF por sus siglas en inglés), también denominadas algunas veces en la literatura nanofibras de celulosa; y los llamados nanocristales de celulosa (CNC por sus siglas en inglés), también denominados frecuentemente *nanowhiskers* de celulosa (**Tabla 1.1**).

La **Figura 1.6** presenta un esquema simplificado de la estructura de las nanofibrillas y los nanocristales de celulosa. En las nanofibrillas de celulosa existen regiones donde las cadenas de celulosa están dispuestas en una estructura altamente ordenada (cristalina), y otras menos ordenadas (regiones paracristalinas y amorfas) (**Figura 1.6a**). La estructura y distribución de estos dominios dentro de las nanofibrillas de celulosa depende de la fuente. La hidrólisis ácida permite aislar dichos dominios cristalinos dando lugar a nanocristales (**Figura 1.6b**). En general, el proceso de hidrólisis se lleva a cabo con una concentración de ácido (típicamente sulfúrico) del 60-65%, una temperatura de reacción de 40-50°C y un tiempo en el rango de 30 a 60 minutos. Además, se han desarrollado protocolos para la obtención de nanocristales de celulosa mediados por enzimas (**Khalil et al., 2012; Moon et al., 2011**).

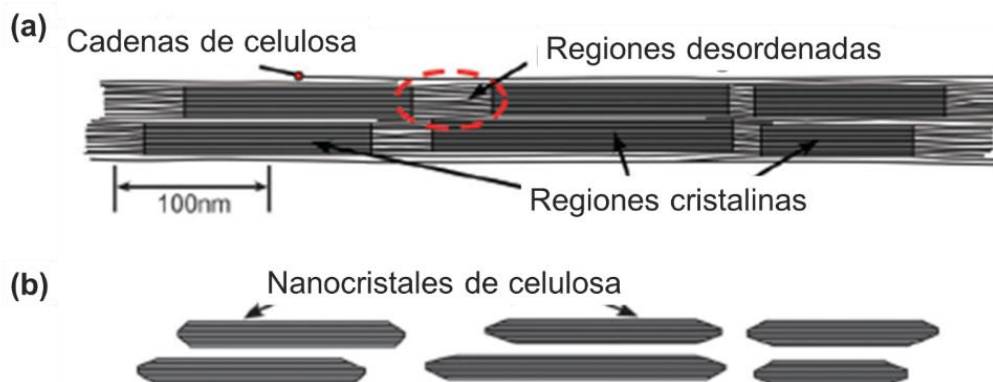


Figura 1.6. Esquema de (A) nanofibrillas de celulosa idealizadas, constituidas por dominios amorfos y cristalinos, y (B) nanocristales de celulosa (adaptado de **Moon et al., 2011**).

1.3.2.1 Nanocelulosa bacteriana

La nanocelulosa bacteriana (BNC) es sintetizada en forma de nanofibrillas de celulosa como metabolito primario extracelular por ciertas bacterias. Entre los géneros bacterianos productores de BNC se encuentran *Acetobacter*, *Achromobacter*, *Aerobacter*, *Agrobacterium*, *Alcaligenes*, *Azotobacter*, *Pseudomonas*, *Rhizobium*, *Salmonella* y *Sarcina* (**Charreau, Cavallo & Foresti, 2020**). Entre ellos, la cepa productora más prolífica y ampliamente estudiada es *Acetobacter xylinum*, ahora reclasificada y conocida como *Komagataeibacter xylinus* (**Yamada, 2014**). En general, se trata de bacterias aeróbicas ácido-acéticas que pueden crecer a pH bajo. Se cree que las moléculas de celulosa se sintetizan dentro de la célula, formando protofibrillas de 2-4 nm de diámetro que se agrupan extracelularmente en microfibrillas, éstas en haces y luego en nanocintas de 30 a 80 nm de ancho y varios micrones de longitud (**Figura 1.7**).

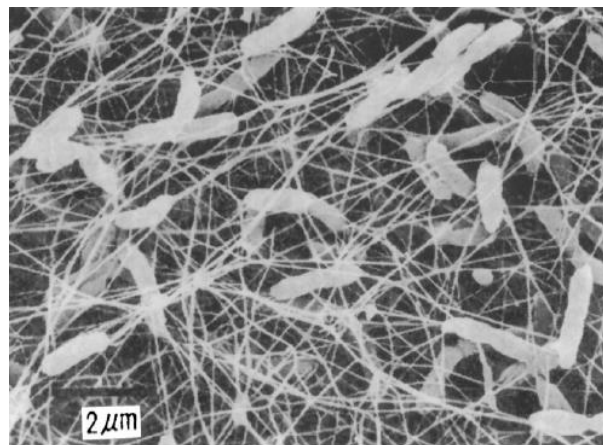


Figura 1.7. Micrografía electrónica de barrido de la superficie de una película de nanocelulosa bacteriana (adaptada de **Iguchi, Yamanaka & Budhiono, 2000**).

En condiciones de cultivo estático, estas nanocintas se superponen y entrelazan formando una estructura reticulada densa en la interfaz aire-medio de cultivo del fermentador (conocida como película o membrana) estabilizada por enlaces de hidrógeno y conteniendo hasta un 99% de agua. En fermentaciones agitadas, las nanocintas de celulosa bacteriana se interconectan con menos frecuencia formando gránulos, estructuras estrelladas y filamentos fibrosos dispersos en el medio de cultivo, en lugar de una membrana continua (**Iguchi, Yamanaka & Budhiono, 2000; Vázquez et al., 2015**). La razón exacta por la que las bacterias generan nanocelulosa no está clara, pero se ha sugerido que podría servir como un

mecanismo para mantenerse cerca de la superficie aireada del medio de cultivo, para protegerlas de la radiación ultravioleta y para actuar como una barrera contra hongos y iones de metales pesados.

La nanocelulosa microbiana presenta una estructura nanofibrilar única que le confiere extraordinarias propiedades físicas y mecánicas (**Miyashiro, Hamano & Umemura, 2020**). Además, se caracteriza por un alto grado de polimerización, cristalinidad y elevada pureza (**Vázquez et al., 2015**). El rendimiento de la producción de BNC depende principalmente de la cepa utilizada y de las condiciones de cultivo, como la temperatura, el suministro de oxígeno y la composición del medio, incluyendo la fuente de carbono. La biosíntesis de BNC es un proceso multietapa precisamente regulado que implica numerosas enzimas y complejos proteicos. Aunque la glucosa ha sido la fuente de carbono más comúnmente utilizada, los costos asociados con la producción a gran escala han impulsado la búsqueda de sustratos alternativos, principalmente residuos agroforestales, alimentarios e industriales (**Andriani, Apriyana & Karina, 2020**).

Además de cultivarse a partir de cepas puras de las bacterias productoras, la BNC puede obtenerse a partir de la "nata de coco", un postre tradicional filipino apreciado por su textura y sabor delicado. El mismo se produce mediante la fermentación del agua de coco, que da como resultado la formación de una capa gelatinosa comestible en la superficie del líquido que contiene las nanocintas de celulosa. Asimismo, puede obtenerse como subproducto de la elaboración de Kombucha, una bebida ancestral ligeramente ácida y con bajo contenido alcohólico que se produce mediante la fermentación del té -comúnmente té negro o verde- llevada a cabo por un cultivo simbiótico de bacterias y levaduras conocido como SCOBY por sus siglas en inglés (*Symbiotic Culture Of Bacteria and Yeasts*). Aunque su composición puede variar, las bacterias del ácido acético, del ácido láctico y las levaduras, son sus principales componentes (**Andreson et al., 2022**). Durante la fermentación, las levaduras transforman los azúcares en etanol, mientras que las bacterias del ácido acético convierten el etanol y los azúcares restantes en ácidos orgánicos como el ácido acético, ácido glucónico y ácido glucurónico (**Laavanya, Shirkole & Balasubramanian, 2021**). En paralelo, ciertas bacterias específicas producen nanocelulosa en la superficie del recipiente de fermentación, con características similares a la que se obtiene empleando cepas aisladas de *K. xylinus*, pero en condiciones menos demandantes. El mercado de la Kombucha está experimentando un crecimiento particularmente rápido en la categoría de bebidas funcionales. En 2021, este mercado alcanzó los 2200 millones de dólares y se proyecta que superará los 5000 millones de dólares para 2025, y más de 13000 millones de dólares para 2030 (**Andreson et al., 2022; Kim & Adhikari, 2020; <https://www.acumenresearchandconsulting.com/Kombucha-market>**).

Este aumento en el consumo de Kombucha a nivel mundial se relaciona con la creciente demanda de bebidas funcionales orgánicas. Además, se le atribuyen numerosos efectos terapéuticos (promoción de la excreción de toxinas y aquellos relacionados con las propiedades antioxidantes, antimicrobianas, antiinflamatorias y antihipertensivas de la bebida) aunque aún no han sido completamente respaldados por evidencia clínica (**Dima *et al.* 2017; Dutta & Paul, 2019; Jayabalan *et al.*, 2014**).

1.3.2.2 Nanocelulosa vegetal

A partir de la celulosa de origen vegetal pueden obtenerse tanto nanocristales como nanofibrillas de celulosa. Como se mencionó en la sección 1.3.2 los nanocristales se obtienen mayormente por hidrólisis ácida de la fuente de celulosa. En cuanto a las nanofibrillas de celulosa, que serán el motivo de esta sección por ser la nanocelulosa vegetal empleada en esta tesis, las mismas pueden ser obtenidas a partir del tratamiento mecánico intensivo de la fuente de celulosa. La desfibrilación mecánica del material celulósico se puede llevar a cabo por distintos métodos, como por ejemplo la homogeneización de alta presión, la microfluidización, la molienda por fricción y los tratamientos con ultrasonido de alta intensidad, entre otros (**Figura 1.8**). Estas técnicas de procesamiento producen cambios irreversibles en la morfología y el tamaño de las fibras (**Ghasemlou *et al.*, 2021**).

Durante la homogeneización (**Figura 1.8a**), una suspensión acuosa de celulosa es bombeada a alta presión y forzada a pasar a través de un pequeño espacio, sometiendo al material a fuerzas de cizallamiento e impacto que provocan la desfibrilación (**Nakagaito, Iwamoto & Yano, 2005**). Esta es una de las técnicas más comúnmente utilizadas para la desfibrilación mecánica y suele requerir múltiples pasadas por el homogeneizador para lograr el grado de desfibrilación deseado. Sin embargo, el aumento de la viscosidad del medio puede incrementar la demanda energética y provocar obstrucciones. La cantidad de pasos por el homogeneizador necesarios varía según la fuente de extracción y la concentración de celulosa en la pulpa, con un límite máximo para evitar la pérdida de su integridad física (**Nakagaito *et al.*, 2005**).

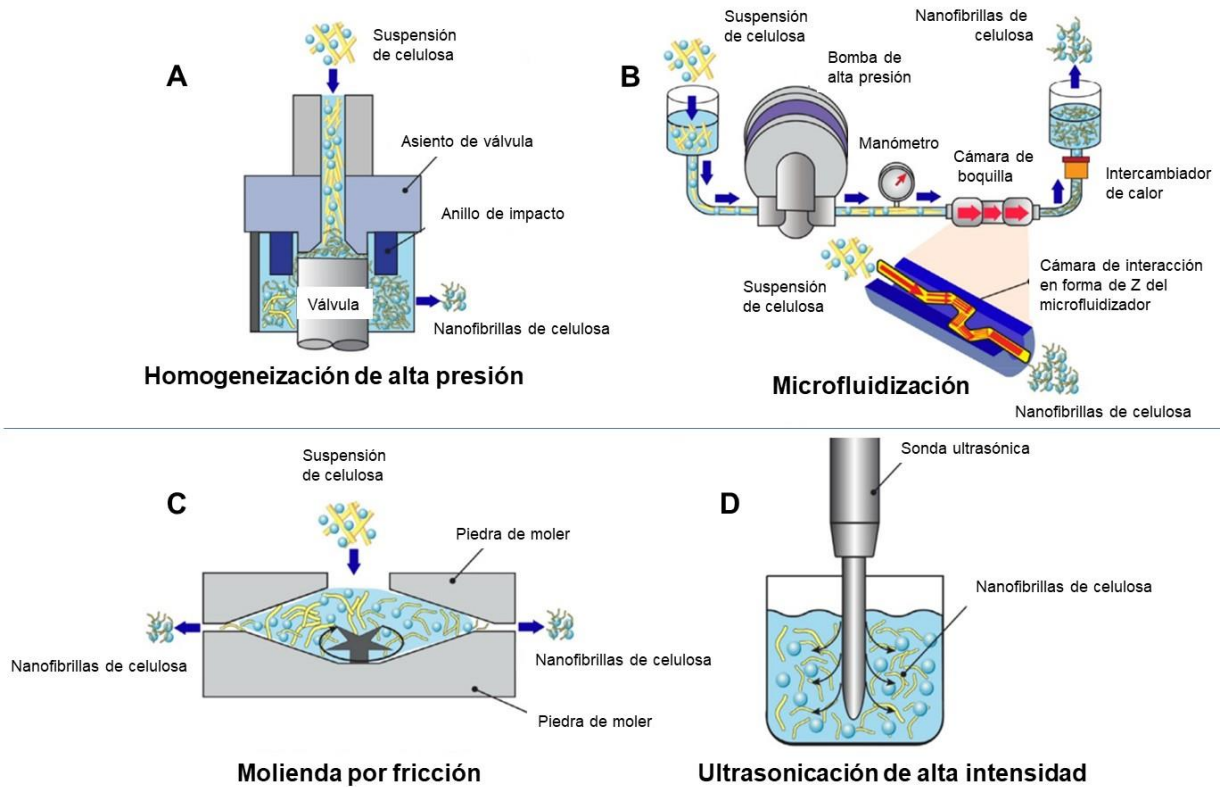


Figura 1.8. Ilustración esquemática de los procesos típicos de (A) homogeneización de alta presión, (B) microfluidización (C) molienda por fricción y (D) ultrasonificación de alta intensidad para producir nanofibrillas de celulosa (adaptado de **Ghasemlou et al., 2021**).

Otra alternativa es el uso de un microfluidizador (**Figura 1.8b**). El principio de esta técnica consiste en hacer pasar la suspensión de celulosa a través de una cámara delgada con una geometría específica (por ejemplo, en forma de Z o Y) con un ancho de orificio nanométrico. Al aplicar alta presión, se logra la fibrilación de la celulosa debido a las fuerzas de corte y el impacto de la suspensión contra las paredes del canal (**Ghasemlou et al., 2021**).

Otra opción es la molienda por fricción (**Figura 1.8c**) en la que se emplean molinillos comerciales. En estos equipos, la suspensión de celulosa se hace pasar entre una piedra de molienda estática y otra piedra de molienda giratoria que puede alcanzar las 1500 rpm. Las fuerzas de corte generadas rompen los enlaces de hidrógeno que unen las nanofibrillas de la pulpa permitiendo su individualización. Una ventaja de esta técnica es que la distancia entre las piedras abrasivas se puede ajustar y evitar así problemas de obstrucción (**Khalil et al., 2012**).

Por último, la ultrasonificación de alta intensidad (**Figura 1.8d**) es un proceso mecánico en el que se utiliza energía oscilante para aislar a las nanofibrillas de celulosa mediante fuerzas hidrodinámicas de ultrasonido. Durante este proceso, la cavitación produce una energía mecánica oscilante y, por lo tanto, ondas de alta intensidad que provocan la formación, expansión e implosión de burbujas de gas microscópicas (**Chen et al., 2011**).

La gran demanda energética y el tiempo necesarios para la obtención de nanofibrillas de celulosa mediante estos tratamientos mecánicos dificultan y encarecen su escalado. Es por este motivo que se han implementado pre-tratamientos químicos como por ejemplo la oxidación superficial selectiva utilizando TEMPO como catalizador (**Saito et al., 2006**) o la carboximetilación (**Eyholzer et al., 2012**), que introducen cargas en la superficie de la celulosa para generar fuerzas repulsivas facilitando así la desfibrilación (**Aulin et al., 2013; Liimatainen et al., 2014**). También se han estudiado pre-tratamientos enzimáticos con celulasas, celobiohidrolasas y endoglucanasas para reducir la demanda energética del proceso mecánico posterior (**Henriksson et al., 2007; Pääkkö et al., 2007; Siqueira, Bras & Dufresne, 2010; Siró & Plackett, 2010**). Algunas investigaciones han propuesto también tratamientos con ácido clorhídrico (HCl) para facilitar la fibrilación mecánica (**Delgado, 2020; Zuluaga et al., 2009**).

Independientemente de su origen, o de si se trata de nanofibrillas o nanocristales de celulosa, las nanocelulosas se han utilizado ampliamente como refuerzo en materiales compuestos incluyendo aquellos de matriz de ácido poliláctico que se tratan en la siguiente sección.

1.4 Compuestos de ácido poliláctico y nanocelulosa

Un material compuesto puede definirse como aquel en el que dos o más materiales de distinta naturaleza química se combinan en una estructura multifásica para dar lugar a un nuevo material con propiedades macroscópicas distintas a las de los materiales de partida. Están constituidos por una fase continua denominada matriz y, otra fase discontinua o dispersa embebida en ella. Según la naturaleza de la fase dispersa, los materiales compuestos pueden clasificarse en fibrosos (reforzados con fibras tanto naturales como sintéticas); laminados o particulados. En un material compuesto la matriz es la responsable de proporcionar resistencia térmica y cohesión, y de transmitir los esfuerzos a la fase discontinua. Las matrices pueden ser inorgánicas (minerales o metales) u orgánicas

(polímeros). Estas últimas son ampliamente utilizadas por la industria automotriz, aeronáutica, aeroespacial, naval, electrónica y de la construcción debido a su baja densidad, entre otras características (Ibrahim *et al.*, 2021).

En el contexto de la búsqueda de materiales más sostenibles, en las últimas décadas se han desarrollado materiales compuestos con diversas matrices bioplásticas, como por ejemplo el PLA. Para esto, se han explorado mezclas de PLA con varios polímeros y compuestos de bajo peso molecular como plastificantes, además del desarrollo de materiales compuestos mediante la adición de cargas minerales como arcillas, sílice y talco para reducir costos o mejorar el rendimiento (Wu *et al.*, 2023). También se ha analizado el uso de refuerzos orgánicos, siendo los de naturaleza celulósica los más estudiados debido a sus numerosos atributos relacionados con su biodegradabilidad, naturaleza no tóxica, amplia disponibilidad y carácter renovable, ligereza, rigidez y resistencia, entre otros (Klemm *et al.*, 2011; Vatanever, Arslan & Nofar, 2019). En particular, se ha reportado ampliamente el uso de nanofibrillas de celulosa tanto bacteriana como de origen vegetal, según se resume en la siguiente sección.

1.4.1 Estado del arte específico

El desarrollo de nanocompuestos de PLA y nanofibrillas de celulosa se considera prometedor para mejorar las propiedades del polímero (Abdulkhani *et al.*, 2014; Herrera, Mathew & Oksman, 2015; Joonobi *et al.*, 2010; Okubo, Fujii & Yamashita, 2005; Petersson, Kvien & Oksman, 2007; Sánchez-García, Gimenez & Lagaron, 2008; Suryanegara, Nakagaito & Yano, 2009). Los materiales compuestos basados en PLA y nanofibrillas de celulosa bacteriana y vegetal han sido obtenidos mediante diversas técnicas de procesamiento tales como evaporación de solvente (Abdulkhani *et al.*, 2014; Almasi *et al.*, 2015; Ávila Ramírez *et al.*, 2019; Ávila Ramírez *et al.*, 2020; Bulota *et al.*, 2012; Liu *et al.*, 2010; Tingaut, Zimmermann & Lopez-Suevos, 2010); mezclado intensivo (Johari *et al.*, 2016; Jung *et al.*, 2020; Panaitescu *et al.*, 2017; Ruz-Cruz *et al.*, 2022; Tomé *et al.*, 2011); extrusión (Blaker *et al.*, 2014; Jonoobi *et al.*, 2010; Jonoobi *et al.*, 2012; Lee *et al.*, 2009; Luddee *et al.*, 2014; Robles *et al.*, 2015; Virtanen *et al.*, 2016); impregnación (Quero *et al.*, 2010; Urbina *et al.*, 2016); y mezclado con rodillos (Frone *et al.*, 2013; Iwatake *et al.*, 2008; Suryanegara *et al.*, 2009), entre otras. En muchos casos la bibliografía del tema reporta la implementación de distintas modificaciones químicas aplicadas sobre las nanofibrillas de celulosa con el fin de compatibilizarlas con el PLA, tales como esterificación con ácidos grasos

(**Almasi et al., 2015; Lee et al., 2009**), introducción de grupos silano (**Somord et al., 2018**), y acetilación (**Ávila Ramírez et al., 2019; Ávila Ramírez et al., 2020; Bulota et al., 2012; Tingaut et al., 2010**), entre otros.

En la mayoría de las contribuciones del tema se reportaron mejoras en las propiedades mecánicas de los compuestos con nanofibrillas de celulosa respecto del PLA puro, principalmente aumentos en la rigidez (20-100%) y la resistencia (20-315%) para concentraciones de nanocelulosa de 0.5-20.0% (p/p) (**Bulota et al., 2012; Panaitescu et al., 2017; Quero et al., 2010; Tomé et al., 2011; Urbina et al., 2016**). Si bien existe bibliografía que reporta aumentos en la ductilidad de las películas de PLA como consecuencia del agregado de nanocelulosas (**Abdulkhani et al., 2014; Bulota et al., 2012; Johari et al., 2016; Jung et al., 2020; Robles et al., 2015**), normalmente la introducción de las nanofibrillas conduce a una disminución de la ductilidad de los compuestos debido a la restricción a la deformación plástica de la matriz impuesta por un refuerzo más rígido (**Fortunati et al., 2012; Jonoobi et al., 2012; Kale et al., 2018; Ren et al., 2023**).

Por otro lado, en la mayoría de las contribuciones se observaron aumentos en la cristalinidad del PLA tras el agregado de nanofibrillas de celulosa, ya que las mismas actuaron como agentes de nucleación promoviendo el crecimiento de cristales en el PLA. En muchos casos se han relacionado estos aumentos en la cristalinidad con mejoras en las propiedades mecánicas y de barrera de los compuestos (**Abdulkhani et al., 2014; Blaker et al., 2014; Johari et al., 2016; Luddee et al., 2014; Panaitescu et al., 2017**).

Específicamente respecto de las nanofibrillas de celulosa utilizadas en esta tesis, hasta el momento, la literatura sobre el uso de nanocelulosa recuperada de subproductos de la elaboración de Kombucha para desarrollar materiales compuestos de matriz de PLA es sumamente limitada. Además, la misma se restringe a nanocelulosas secas y molidas incorporadas como polvos en los que las partículas no conservan sus dimensiones nanométricas características, sino que se encuentran en forma de agregados de mucho mayor tamaño. Recientemente, **Arteaga-Ballesteros et al. (2020)** desarrollaron compuestos de PLA con diferentes contenidos de nanocelulosa de Kombucha seca, molida y tamizada por extrusión utilizando anhídrido maleico como compatibilizador. Los compuestos, en los que la nanocelulosa se encontraba en forma de agregados de varios cientos de micrones, mostraron un aumento en la cristalinidad del material con el contenido de nanocelulosa y reducciones en el módulo y la resistencia a la tracción respecto de la matriz (**Arteaga-Ballesteros et al., 2020**). Por su parte, **Agüero et al. (2023)** obtuvieron compuestos de PLA y nanocelulosa

bacteriana recuperada del subproducto de la elaboración de Kombucha producida utilizando residuos de yerba mate como medio de cultivo. Las membranas de celulosa fueron secadas, molidas y tamizadas antes de su incorporación por evaporación de solvente en PLA reciclado. Las películas compuestas obtenidas presentaron menor rigidez y resistencia que la matriz. Algunas de ellas exhibieron propiedades antioxidantes (**Agüero et al., 2023**).

Por otro lado, en cuanto a los antecedentes de la preparación de películas de PLA con nanofibrillas de celulosa extraídas de cáscara de arroz, la revisión exhaustiva de la bibliografía usando diversos motores de búsqueda y plataformas en línea académicas como *Google*, *Carrot2* y *Science Direct*, y cruzando una amplia variedad de palabras clave frecuentemente utilizadas en la literatura para denominar a las nanofibrillas de celulosa (“*cellulose nanofibrils/ cellulose nanofibers/ microfibrillated cellulose /microfibrillar cellulose/ nanofibrillated cellulose/ nanofibrillar cellulose/ nanocellulose*”, según nomenclatura recomendada por **Charreau, Foresti & Vazquez, 2013**) con “*PLA/polylactic acid*” y con “*rice/rice husk*”; indicó que no habría antecedentes específicos en el tema de compuestos de PLA y nanofibrillas de celulosa de esta fuente; aunque sí hay algunos de compuestos de PLA y cáscara de arroz completa o tratada químicamente para remover componentes no celulósicos (**Adeosun et al., 2016; Batteggazzore et al., 2014; Biyanti, Hertiana & Paramitha, 2023; Farah Dina et al., 2014; Islam et al., 2019; Yiga, Lubwama & Olupot, 2022**). Batteggazzore et al. (2014), por ejemplo, desarrollaron compuestos de PLA por extrusión con cantidades de 5%, 10%, 20% y 30% en peso de celulosa aislada de cáscara de arroz con diámetros de 2 a 5 micrones. Los autores reportaron que cantidades crecientes de celulosa provocaron aumentos en la cristalinidad de los compuestos, así como incrementos en la rigidez del material (**Batteggazzore et al., 2014**). Por su parte, Biyanti et al. (2023) fabricaron por evaporación de solvente compuestos con celulosa microcristalina aislada de cáscara de arroz. Los compuestos con contenidos del 10% en peso de celulosa exhibieron mayor resistencia que el PLA puro (**Biyanti et al., 2023**).

1.4.2 Compatibilización entre el PLA y la nanocelulosa

Lograr una buena dispersión de las nanofibrillas de celulosa en el ácido poliláctico es un desafío debido a la naturaleza hidrofílica de la nanocelulosa que tiende a agregarse en matrices poliméricas hidrofóbicas como el PLA. Por ello, la revisión de la literatura evidencia numerosos esfuerzos realizados para compatibilizar ambas fases. Estas estrategias, en general, pueden resumirse en la adición de agentes surfactantes que alteran las fuerzas intermoleculares existentes entre las fases reduciendo su tensión superficial, aumentando su

compatibilidad y promoviendo la dispersión de la carga (**Azizi Samir, Alloin & Dufresne, 2005; Dufresne, 2018; Pereda, Kissi & Dufresne, 2014**); el injerto de cadenas poliméricas en la nanocelulosa (**Habibi et al., 2010; Labet, Thielemans & Dufresne, 2007; Morandi, Heath & Thielemans, 2009; Oksman et al., 2016**); y su funcionalización a través de diferentes reacciones químicas tendientes a hidrofobizar la superficie de las nanofibrillas de celulosa. Esta última estrategia fue la utilizada en esta tesis para promover una adecuada dispersión de las nanocelulosas en el PLA.

La funcionalización de las nanofibrillas de celulosa a través de reacciones químicas es una estrategia clave para modular su polaridad y facilitar su dispersión en matrices poliméricas hidrofóbicas. Puntualmente, las reacciones de esterificación que implican la introducción de grupos funcionales éster ($O-C=O$) en la superficie de la nanocelulosa mediante la condensación de reactivos como ácidos carboxílicos, anhídridos de ácido o cloruros de acilo con un grupo $-OH$ disponible en el polisacárido (**Missoum, Belgacem & Bras, 2013**), han sido ampliamente estudiadas para modificar las propiedades superficiales y químicas de las nanofibrillas de celulosa (**Dufresne, 2018; Oksman et al., 2016**). En la bibliografía se encuentran diferentes reportes de la esterificación de la nanocelulosa bacteriana y vegetal con diversas moléculas orgánicas, utilizando ácidos de longitud de cadena variable como agentes de acilación. Estos incluyen ácidos como el acético, propiónico, butírico, hexanoico, decanoico, dodecanoico, málico y malónico, entre otros (**Eyholzer et al., 2018; Wang & Li, 2018**). La acetilación, específicamente, es un tipo de esterificación que introduce grupos acetilos ($CH_3-C=O$) en las unidades anhidroglucosa. Se trata de un proceso bien conocido que se ha utilizado comercialmente para producir derivados de celulosa durante muchas décadas. El nivel de modificación se expresa comúnmente como grado de sustitución (GS), definido como el número promedio de grupos éster introducidos por unidad anhidroglucosa. Dado que estas unidades tienen tres grupos oxhidrilos susceptibles de esterificación (C2, C3 y C6), el valor máximo posible de GS es 3. En la bibliografía pueden encontrarse diversos protocolos de acetilación de nanocelulosas (**Goncalves et al., 2015; Goncalves et al., 2016; Ifuku et al., 2007; Kim, Nishiyama & Kuga, 2002**).

Si bien las reacciones de esterificación permiten ajustar la polaridad de las nanocelulosas para mejorar su compatibilidad con matrices poliméricas hidrofóbicas como el PLA, la derivatización puede afectar algunas de las propiedades del polímero, como la cristalinidad y la estabilidad térmica. El grado de cristalinidad del refuerzo influye en las propiedades mecánicas del producto final, mientras que su estabilidad térmica afecta tanto las posibilidades de procesamiento del material como sus aplicaciones potenciales (**Berglund & Peijs, 2010**). En este marco, ensayos previos llevados a cabo por el grupo de trabajo

evaluaron el efecto de las condiciones de acetilación para conferir a nanocelulosa bacteriana distintos GS que mejoraran su compatibilidad con el PLA sin comprometer su cristalinidad (**Ávila Ramírez et al., 2019**). Los resultados de este estudio fueron determinantes para seleccionar las condiciones de acetilación de las nanocelulosas utilizadas en esta tesis.

1.4.3 Técnicas de procesamiento

En las últimas décadas diversas investigaciones han abordado el desarrollo de películas compuestas basadas en PLA y nanocelulosas empleando mayoritariamente la técnica de evaporación de solvente. Si bien esta técnica es muy utilizada a escala de laboratorio, el desarrollo de estas películas a escala industrial requiere el empleo de métodos de procesamiento convencionales para plásticos. En este sentido, y en base a experiencia previa del grupo en el desarrollo de películas de PLA y nanocelulosa bacteriana por evaporación de solvente (**Ávila Ramírez, 2019; Ávila Ramírez et al., 2014; Ávila Ramírez et al., 2016; Ávila Ramírez et al., 2019; Ávila Ramírez et al., 2020**), la presente tesis procuró estudiar la posibilidad de desarrollar estrategias de obtención de estas películas por procesamiento en fundido, empleando mezclado intensivo seguido de moldeo por compresión y extrusión plana. En las siguientes secciones se describen los métodos mencionados.

1.4.3.1 Evaporación de solvente

Una de las técnicas más ampliamente utilizadas para la obtención de compuestos de PLA y nanocelulosas es la técnica de evaporación de solvente. La misma consiste en dispersar las nanofibrillas de celulosa en un solvente orgánico de baja temperatura de ebullición en el cual se disuelva completamente el PLA. Al efecto, se implementan intercambios de solvente para remover progresivamente el medio acuoso original en el que se obtienen las nanocelulosas y dispersarlas en el solvente elegido. Los solventes orgánicos más empleados son la acetona, el diclorometano y el cloroformo. La capacidad del PLA de disolverse en ellos depende del grado del PLA utilizado (**Iwatake et al., 2008**). Para facilitar la dispersión de la nanocelulosa, suelen utilizarse homogeneizadores de punta o ultrasonicadores. Luego el solvente se deja evaporar en condiciones controladas para obtener la película compuesta. Esta es una técnica de procesamiento simple y flexible que permite el uso de nanocelulosas *never-dried* (nunca secadas) lo que, sumado a la posibilidad de una buena homogeneización de un sistema de viscosidad relativamente baja, permite obtener altos niveles de dispersión de las nanofibrillas

en la matriz. Pese a esto, la cantidad de solvente y el tiempo requeridos suelen limitar su escalabilidad industrial, y generalmente se utiliza solo a escala de laboratorio (**Aigaje et al., 2023; Bandera et al., 2014; Nicharat, Sapkota & Foster, 2016; Sapkota et al., 2014**).

1.4.3.2 Procesamiento en fundido

En la industria las técnicas de procesamiento en fundido resultan muy convenientes para el conformado de piezas en base a polímeros termoplásticos. En el mezclado intensivo, los componentes se introducen en un recipiente cerrado que cuenta con una o más zonas de calentamiento y se mezclan mediante cuchillas contra-rotativas, pudiéndose ajustar las condiciones de temperatura, tiempo y velocidad de rotación (**Hong & Kim, 2013**). Se trata de un proceso discontinuo que se utiliza mayormente a escala de laboratorio y resulta apropiado para lotes pequeños. Este método sirve también como punto de partida para determinar la utilidad de un dado material procesado en fundido previo a su procesamiento por un método industrial, como por ejemplo la extrusión (**Mokhena et al., 2018**). Se ha empleado para desarrollar nanocompuestos de PLA y nanocristales de celulosa nativos o modificados superficialmente con grupos silano, así como para combinar PLA con anhídrido maleico injertado como agente compatibilizador y nanocristales de celulosa nativos (**Hong et al., 2013; Raquez et al., 2012**). Para la producción de películas compuestas, luego del mezclado intensivo, se requiere una segunda etapa de conformado. En particular, en esta tesis, las películas se moldearon por compresión en una prensa hidráulica calefaccionada aplicando presión y temperatura simultáneamente.

Por otro lado, la extrusión es un proceso continuo en el que los materiales se mezclan mientras avanzan en el equipo de procesamiento. Tiene la ventaja de que el tiempo de residencia del material dentro del equipo es de tan solo unos pocos minutos, lo que ayuda a prevenir la degradación térmica de los polímeros (**Oksman & Mathew, 2014**). Este proceso permite la producción de perfiles de sección transversal constante, así como la mezcla de diferentes polímeros, y de polímeros con cargas, aditivos y/o refuerzos. El equipo utilizado consta de tres zonas de procesamiento: la zona de alimentación, donde se introduce el material; la zona de amasado y la zona de calentamiento, donde se alcanzan las temperaturas, presiones y cizallamiento necesarios para obtener el producto terminado. Las variables que afectan el proceso incluyen la configuración y velocidad de giro del/de los tornillo/s, su relación longitud-diámetro, el perfil de temperaturas, las velocidades de alimentación del material, así como la forma y tamaño de la boquilla (**Mokhena et al., 2018**).

Para la producción de películas compuestas es conveniente mezclar los componentes en una extrusora doble tornillo y conformar la mezcla obtenida en una segunda etapa. En la presente tesis las películas compuestas de PLA y nanocelulosas se obtuvieron empleando una mini-extrusora doble tornillo equipada con una boquilla plana en línea con rodillos de calandrado.

A diferencia de los métodos que implican la evaporación de solventes, el procesamiento en fundido de los compuestos de PLA suele requerir materiales secos, ya que la presencia de agua a altas temperaturas puede provocar la hidrólisis del polímero. En el caso puntual del uso como carga/refuerzo de las nanofibrillas de celulosa, las mismas suelen obtenerse y comercializarse como suspensiones acuosas diluidas, por lo que su deshidratación es altamente recomendable para prevenir la degradación del PLA durante el procesamiento térmico (**Dias & Chinelatto, 2022; Peng, Gardner & Han, 2012**). Sin embargo, durante su deshidratación, las nanofibrillas de celulosa experimentan agregación irreversible en un proceso conocido como “hornificación” (**Fernandes Diniz, Gil & Castro, 2004**). Este fenómeno deriva de la formación de enlaces puente de hidrógeno entre nanofibrillas adyacentes tras la remoción del agua, impidiendo mayormente su re-dispersión en solventes o matrices poliméricas (**Tingaut et al., 2010**). Entre los métodos de secado de las suspensiones de nanofibrillas de celulosa más comunes (secado en estufa, liofilización, secado por atomización y secado supercrítico), el secado en estufa es particularmente severo redundando en la mayor hornificación (**Silva et al., 2021; Wang et al., 2019**).

En procesos industriales convencionales, los materiales termoplásticos se funden para producir productos específicos o generar compuestos o nanocompuestos que luego se conforman mediante procesos como moldeo por compresión o inyección (**Wang et al., 2019**). Sin embargo, en el caso de los nanocompuestos con nanofibrillas de celulosa, la hornificación que tiene lugar durante la deshidratación de esta nanocelulosa hace que el procesamiento por los métodos convencionales de mezclado en fundido requiera del desarrollo de estrategias especiales para incorporar la nanocelulosa y promover su dispersión en la matriz preservando sus dimensiones en la nanoescala.

En este marco, en los últimos años, se han propuesto diversas estrategias para abordar los desafíos del procesamiento en fundido del PLA y nanofibrillas de celulosa. Una de estas estrategias es la elaboración de *masterbatches* mediante evaporación de solvente como paso intermedio en el desarrollo de los compuestos en fundido. El secado en presencia de cadenas de PLA interpuestas entre las nanofibrillas limita su agregación irreversible en el proceso de deshidratación. Así, en los *masterbatches* el PLA actúa como un vehículo o *carrier* para introducir la nanocelulosa en el equipo de procesamiento en forma seca. Posteriormente, el

masterbatch se procesa en fundido con cantidades variables de PLA para alcanzar la concentración final de nanocelulosa (Platnieks *et al.*, 2021). El *masterbatch* preparado por evaporación de solvente puede combinarse con la modificación de la superficie de la nanocelulosa para contribuir a promover su dispersión en el PLA, según se describió en la sección 1.4.2.

Adicionalmente a la elaboración de *masterbatches*, en la literatura se encuentran otras estrategias implementadas para evitar el secado de la nanocelulosa y su consiguiente agregación, como el *liquid feeding*. Esta técnica implica verter directamente las suspensiones de nanofibrillas de celulosa en el equipo de procesamiento en fundido, evitando así el secado del material que podría llevar a su hornificación (Bondeson & Oksman, 2006). Aunque en este sentido algunos estudios han informado la preparación de nanocompuestos de PLA y nanofibrillas de celulosa con equipamiento específico para *liquid feeding* (Herrera *et al.*, 2015; Iwatake *et al.*, 2008; Suryanegara *et al.*, 2009), varios mencionan la hornificación de las nanofibrillas de celulosa y la degradación de los polímeros durante el procesamiento de compuestos elaborados mediante esta estrategia (Clemons & Sabo, 2021).

1.5 Propuesta general y objetivos

En el contexto relevado en las secciones anteriores, este trabajo de tesis se centra en utilizar nanocelulosa bacteriana (BNC) obtenida como subproducto de la producción de Kombucha y nanocelulosa vegetal aislada de cáscara de arroz (VNC) para el desarrollo de películas compuestas basadas en PLA. Las películas se procesan mediante mezclado intensivo seguido de moldeo por compresión, y también por extrusión plana. Dada la complejidad de lograr una dispersión adecuada de las nanofibrillas de celulosa previamente deshidratadas en el PLA fundido se investigan tres estrategias diferentes de incorporación de las nanocelulosas en la matriz. Como estrategia más sencilla y directa, la primera alternativa es mezclar las nanocelulosas secas y molidas con los *pellets* de PLA en el equipo de procesamiento en fundido. La segunda estrategia consiste en preparar *masterbatches* con PLA y las nanocelulosas nativas mediante evaporación de solvente, molerlos y contactarlos con el PLA en el equipo de procesamiento. La tercera estrategia implica la elaboración de los *masterbatches* por evaporación de solvente, pero utilizando las nanocelulosas acetiladas (AcBNC y AcVNC).

Considerando el estado del arte de la temática, y bajo el **objetivo general** de desarrollar películas nanocompuestas basadas en polímeros biobasados y biodegradables por metodologías escalables, la **innovación** de este estudio radica en el uso de nanocelulosas derivadas de descartes y subproductos de la industria alimentaria nacional para el desarrollo de películas compuestas utilizando técnicas de procesamiento en fundido e implementando diferentes estrategias para mejorar la dispersión de las cargas en la matriz.

Para alcanzar el objetivo general se plantean los siguientes **objetivos específicos**:

- Obtener nanocelulosas bacterianas y vegetales a partir de descartes y subproductos de la industria alimentaria nacional.
- Hidrofobizar la superficie de las nanocelulosas para mejorar su compatibilidad con el PLA.
- Caracterizar las nanocelulosas nativas y modificadas obtenidas en términos de su morfología, estructura química, propiedades térmicas y cristalinidad.
- Desarrollar películas compuestas utilizando las nanocelulosas nativas y acetiladas y un bioplástico comercial como el PLA mediante dos técnicas de procesamiento en fundido: mezclado intensivo seguido de moldeo por compresión, y extrusión plana.
- Evaluar la utilidad de distintas estrategias de incorporación de las nanocelulosas en la matriz a partir de las propiedades de las películas compuestas obtenidas (morfología, propiedades ópticas, mecánicas, térmicas y de barrera, y desintegración en condiciones de compostaje simulado en laboratorio).

1.6 Bibliografía

Abdulkhani, A., Hosseinzadeh, J., Ashori, A., Dadashi, S., & Takzare, Z. (2014). Preparation and characterization of modified cellulose nanofibers reinforced polylactic acid nanocomposite. *Polymer testing*, 35, 73.

Adeosun, S. O., Aworinde, A. K., Diwe, I. V., & Olaleye, S. A. (2016). Mechanical and Microstructural characteristics of rice husk reinforced polylactide nano composite. *West Indian Journal of Engineering*, 39(1), 1.

Agüero, Á., Corral Perianes, E., Abarca de las Muelas, S. S., Lascano, D., de la Fuente García-Soto, M. D. M., Peltzer, M. A., & Arrieta, M. P. (2023). Plasticized mechanical recycled

PLA films reinforced with microbial cellulose particles obtained from kombucha fermented in yerba mate waste. *Polymers*, 15(2), 285.

Aigaje, E., Riofrio, A., & Baykara, H. (2023). Processing, properties, modifications, and environmental impact of nanocellulose/biopolymer composites: a review. *Polymers*, 15(5), 1219.

Almasi, H., Ghanbarzadeh, B., Dehghannya, J., Entezami, A. A., & Asl, A. K. (2015). Novel nanocomposites based on fatty acid modified cellulose nanofibers/poly (lactic acid): Morphological and physical properties. *Food Packaging and Shelf Life*, 5, 21.

Andreson, M., Kazantseva, J., Kuldjärv, R., Malv, E., Vaikma, H., Kaleda, A., & Vilu, R. (2022). Characterisation of chemical, microbial and sensory profiles of commercial kombuchas. *International Journal of Food Microbiology*, 373, 109715.

Andriani, D., Apriyana, A. Y., & Karina, M. (2020). The optimization of bacterial cellulose production and its applications: a review. *Cellulose*, 27(12), 6747.

Armentano, I., Fortunati, E., Burgos, N., Dominici, F., Luzi, F., Fiori, S., & Kenny, J. M. (2015). Processing and characterization of plasticized PLA/PHB blends for biodegradable multiphase systems. *eXPRESS Polymer Letters*, 9(7) 583.

Arteaga-Ballesteros, B. E., Guevara-Morales, A., Martín-Martínez, E. S., Figueroa-López, U., & Vieyra, H. (2020). Composite of polylactic acid and microcellulose from kombucha membranes. *e-Polymers*, 21(1), 15.

Ashothaman, A., Sudha, J., & Senthilkumar, N. (2023). A comprehensive review on biodegradable polylactic acid polymer matrix composite material reinforced with synthetic and natural fibers. *Materials Today: Proceedings*, 80, 2829.

Aulin, C., Karabulut, E., Tran, A., Wågberg, L., & Lindström, T. (2013). Transparent nanocellulosic multilayer thin films on polylactic acid with tunable gas barrier properties. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 5(15), 7352.

Ávila Ramírez, J. A. (2019). Obtención y Esterificación Sostenible de Nanocelulosa Bacteriana Para Usos Que Requieren Regular La Polaridad de Las Nanofibras. Tesis de doctorado en Ingeniería. Instituto Tecnológico de Buenos Aires.

Ávila Ramírez, J. A., Bovi, J., Bernal, C., Errea, M. I., & Foresti, M. L. (2020). Development of poly (lactic acid) nanocomposites reinforced with hydrophobized bacterial cellulose. *Journal of Polymers and the Environment*, 28, 61.

Ávila Ramírez, J. A., Cerrutti, P., Bernal, C., Errea, M. I., & Foresti, M. L. (2019). Nanocomposites based on poly (lactic acid) and bacterial cellulose acetylated by an α -hydroxyacid catalyzed route. *Journal of Polymers and the Environment*, 27, 510.

Ávila Ramírez, J. A., Gómez Hoyos, C., Arroyo, S., Cerrutti, P., & L Foresti, M. (2016). Naturally occurring α -hydroxy acids: Useful organocatalysts for the acetylation of cellulose nanofibres. *Current Organocatalysis*, 3(2), 161.

Ávila Ramírez, J. A., Juan Suriano, C., Cerrutti, P., & Foresti, M. L. (2014). Surface esterification of cellulose nanofibers by a simple organocatalytic methodology. *Carbohydrate Polymers*, 114, 416.

Azizi Samir, M. A. S., Alloin, F., & Dufresne, A. (2005). Review of recent research into cellulosic whiskers, their properties and their application in nanocomposite field. *Biomacromolecules*, 6(2), 612.

Bandera, D., Sapkota, J., Josset, S., Weder, C., Tingaut, P., Gao, X., & Zimmermann, T. (2014). Influence of mechanical treatments on the properties of cellulose nanofibers isolated from microcrystalline cellulose. *Reactive and Functional Polymers*, 85, 134.

Bastioli, C. (2005) Starch-Based Technology. En: Bastioli, C., (Ed.), *Handbook of Biodegradable Polymers*, Rapra Technology Limited, Shawbury, 257.

Battegazzore, D., Bocchini, S., Alongi, J., Frache, A., & Marino, F. (2014). Cellulose extracted from rice husk as filler for poly (lactic acid): preparation and characterization. *Cellulose*, 21, 1813.

Berglund, L. A., & Peijs, T. (2010). Cellulose biocomposites—from bulk moldings to nanostructured systems. *MRS Bulletin*, 35(3), 201.

Biyanti, S. K., Hertiana, D. R., & Paramitha, T. (2023, December). Synthesis and characterization of poly-lactic acid (PLA) biocomposites reinforced with rice husk and clay. In *AIP Conference Proceedings* (Vol. 2828, No. 1). AIP Publishing.

Blaker, J. J., Lee, K. Y., Walters, M., Drouet, M., & Bismarck, A. (2014). Aligned unidirectional PLA/bacterial cellulose nanocomposite fibre reinforced PDLLA composites. *Reactive and Functional Polymers*, 85, 185.

Bondeson, D., & Oksman, K. (2007). Dispersion and characteristics of surfactant modified cellulose whiskers nanocomposites. *Composite Interfaces*, 14(7-9), 617.

Borrelle, S. B., Ringma, J., Law, K. L., Monnahan, C. C., Lebreton, L., McGivern, A., & Rochman, C. M. (2020). Predicted growth in plastic waste exceeds efforts to mitigate plastic pollution. *Science*, 369(6510), 1515.

Bulota, M., Kreitsmann, K., Hughes, M., & Paltakari, J. (2012). Acetylated microfibrillated cellulose as a toughening agent in poly (lactic acid). *Journal of Applied Polymer Science*, 126(S1), E449.

Cai, S., Hu, G., & Ren, J. (2016). Processing, properties and application of poly lactic acid (PLA) fiber. *Chinese Journal of Biotechnology*, 32(6), 786.

Charreau, H., Cavallo, E., & Foresti, M. L. (2020). Patents involving nanocellulose: Analysis of their evolution since 2010. *Carbohydrate Polymers*, 237, 116039.

Charreau, H., L Foresti, M., & Vazquez, A. (2013). Nanocellulose patents trends: a comprehensive review on patents on cellulose nanocrystals, microfibrillated and bacterial cellulose. *Recent Patents on Nanotechnology*, 7(1), 56.

Chen, Y. M., Wan, J. Q., Huang, M. Z., Ma, Y. W., Wang, Y., Lv, H. L., & Yang, J. (2011). Influence of drying temperature and duration on fiber properties of unbleached wheat straw pulp. *Carbohydrate Polymers*, 85(4), 759.

Clemons, C., & Sabo, R. (2021). A review of wet compounding of cellulose nanocomposites. *Polymers*, 13(6), 911.

Delgado, J. F. (2020). Desarrollo de películas multicomponentes a base de levadura. Evaluación de sus propiedades físicas y aplicaciones potenciales. Tesis de doctorado en Ciencia y Tecnología. Universidad Nacional de Quilmes.

Dias, P. D. P., & Chinelatto, M. A. (2022). Oven-drying microfibrillated cellulose covered with a low molecular weight copolymer for dispersion in a polymer matrix. *Macromolecular Symposia* 406(1), 2200038.

Dima, S. O., Panaitescu, D. M., Orban, C., Ghiurea, M., Doncea, S. M., Fierascu, R. C. & Oancea, F. (2017). Bacterial nanocellulose from side-streams of kombucha beverages production: preparation and physical-chemical properties. *Polymers*, 9(8), 374.

Drumright, R. E., Gruber, P. R., & Henton, D. E. (2000). Polylactic acid technology. *Advanced materials*, 12(23), 1841.

Dufresne, A. (2013). Nanocellulose: a new ageless bionanomaterial. *Materials Today*, 16(6), 220.

Dufresne, A. (2018). Cellulose nanomaterials as green nanoreinforcements for polymer nanocomposites. *Philosophical Transactions of the Royal Society A: Mathematical, Physical and Engineering Sciences*, 376(2112), 20170040.

Dutta, H., & Paul, S. K. (2019). Kombucha drink: Production, quality, and safety aspects. En *Production and management of beverages* (p. 258). Woodhead Publishing.

Eyholzer, C., Tingaut, P., Zimmermann, T., & Oksman, K. (2012). Dispersion and reinforcing potential of carboxymethylated nanofibrillated cellulose powders modified with 1-hexanol in extruded poly (lactic acid)(PLA) composites. *Journal of Polymers and the Environment*, 20, 1052.

Farah, S., Anderson, D. G., & Langer, R. (2016). Physical and mechanical properties of PLA, and their functions in widespread applications—A comprehensive review. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 107, 367.

Farah Dina, A., Siti Zaleha, S. A., Noor Najmi, B., & Nor Azowa, I. (2014). The influence of alkaline treatment on mechanical properties and morphology of rice husk fibre reinforced polylactic acid. *Advanced Materials Research*, 911, 13.

Fernandes Diniz, J. M. B., Gil, M. H., & Castro, J. A. A. M. (2004). Hornification—its origin and interpretation in wood pulps. *Wood Science and Technology*, 37, 489.

Frone, A. N., Berlioz, S., Chailan, J. F., & Panaitescu, D. M. (2013). Morphology and thermal properties of PLA–cellulose nanofibers composites. *Carbohydrate polymers*, 91(1), 377.

Ghasemlou, M., Daver, F., Ivanova, E. P., Habibi, Y., & Adhikari, B. (2021). Surface modifications of nanocellulose: From synthesis to high-performance nanocomposites. *Progress in Polymer Science*, 119, 101418.

Goncalves, S., Padrao, J., Rodrigues, I. P., Silva, J. P., Sencadas, V., Lanceros-Mendez, S. & Rodrigues, L. R. (2015). Bacterial cellulose as a support for the growth of retinal pigment epithelium. *Biomacromolecules*, 16(4), 1341.

Goncalves, S., Rodrigues, I. P., Padrão, J., Silva, J. P., Sencadas, V., Lanceros-Mendez, S. & Rodrigues, L. R. (2016). Acetylated bacterial cellulose coated with urinary bladder matrix as a substrate for retinal pigment epithelium. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 139, 1.

Habibi, Y. (2014). Key advances in the chemical modification of nanocelluloses. *Chemical Society Reviews*, 43(5), 1519.

Habibi, Y., Lucia, L. A., & Rojas, O. J. (2010). Cellulose nanocrystals: chemistry, self-assembly, and applications. *Chemical Reviews*, 110(6), 3479.

Heinze, T., & Koschella, A. (2005). Solvents applied in the field of cellulose chemistry: a mini review. *Polímeros*, 15, 84.

Henriksson, M., Henriksson, G., Berglund, L. A., & Lindström, T. (2007). An environmentally friendly method for enzyme-assisted preparation of microfibrillated cellulose (MFC) nanofibers. *European Polymer Journal*, 43(8), 3434.

Herrera, N., Mathew, A. P., & Oksman, K. (2015). Plasticized polylactic acid/cellulose nanocomposites prepared using melt-extrusion and liquid feeding: Mechanical, thermal and optical properties. *Composites Science and Technology*, 106, 149.

Hong, J., & Kim, D. S. (2013). Preparation and physical properties of polylactide/cellulose nanowhisker/nanoclay composites. *Polymer Composites*, 34(2), 293.

Ibrahim, N. I., Shahr, F. S., Sultan, M. T. H., Shah, A. U. M., Safri, S. N. A., & Mat Yazik, M. H. (2021). Overview of bioplastic introduction and its applications in product packaging. *Coatings*, 11(11), 1423.

Ifuku, S., Nogi, M., Abe, K., Handa, K., Nakatsubo, F., & Yano, H. (2007). Surface modification of bacterial cellulose nanofibers for property enhancement of optically transparent composites: dependence on acetyl-group DS. *Biomacromolecules*, 8(6), 1973.

Iguchi, M., Yamanaka, S., & Budhiono, A. (2000). Bacterial cellulose—a masterpiece of nature's arts. *Journal of Materials Science*, 35(2), 261.

Islam, M. S., Ahmed-Haras, M. R., Kao, N., Gupta, R., Bhattacharya, S., & Islam, M. N. (2019). Physico-mechanical properties of bio-composites fabricated from polylactic acid and rice husk treated with alkali and ionic liquid. *Research Communication in Engineering Science & Technology*, 2, 28.

Iwamoto, S., Nakagaito, A. N., & Yano, H. J. A. P. A. (2007). Nano-fibrillation of pulp fibers for the processing of transparent nanocomposites. *Applied Physics A*, 89, 461.

Iwatake, A., Nogi, M., & Yano, H. (2008). Cellulose nanofiber-reinforced polylactic acid. *Composites Science and Technology*, 68(9), 2103.

Jaffar, S. S., Saallah, S., Misson, M., Siddiquee, S., Roslan, J., Saalah, S., & Lenggoro, W. (2022). Recent development and environmental applications of nanocellulose-based membranes. *Membranes*, 12(3), 287.

Jamshidian, M., Tehrany, E. A., Imran, M., Jacquot, M., & Desobry, S. (2010). Poly-lactic acid: production, applications, nanocomposites, and release studies. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 9(5), 552.

Jayabalan, R., Malbaša, R. V., Lončar, E. S., Vitas, J. S., & Sathishkumar, M. (2014). A review on kombucha tea—microbiology, composition, fermentation, beneficial effects, toxicity, and tea fungus. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 13(4), 538.

Johari, A. P., Kurmvanshi, S. K., Mohanty, S., & Nayak, S. K. (2016). Influence of surface modified cellulose microfibrils on the improved mechanical properties of poly (lactic acid). *International Journal of Biological Macromolecules*, 84, 329.

John, M. J., & Thomas, S. (2008). Biofibres and biocomposites. *Carbohydrate Polymers*, 71(3), 343.

Jonoobi, M., Harun, J., Mathew, A. P., & Oksman, K. (2010). Mechanical properties of cellulose nanofiber (CNF) reinforced polylactic acid (PLA) prepared by twin screw extrusion. *Composites Science and Technology*, 70(12), 1742.

Jonoobi, M., Mathew, A. P., Abdi, M. M., Makinejad, M. D., & Oksman, K. (2012). A comparison of modified and unmodified cellulose nanofiber reinforced polylactic acid (PLA) prepared by twin screw extrusion. *Journal of Polymers and the Environment*, 20, 991.

Jung, B. N., Jung, H. W., Kang, D. H., Kim, G. H., Lee, M., Shim, J. K., & Hwang, S. W. (2020). The fabrication of flexible and oxygen barrier cellulose nanofiber/polylactic acid nanocomposites using cosolvent system. *Journal of Applied Polymer Science*, 137(47), 49536.

Kalia, S., Dufresne, A., Cherian, B. M., Kaith, B. S., Avérous, L., Njuguna, J., & Nassiopoulos, E. (2011). Cellulose-based bio-and nanocomposites: a review. *International Journal of Polymer Science*, 2011(1) 837875.

Khalil, H.A., Bhat, A. H., & Yusra, A. I. (2012). Green composites from sustainable cellulose nanofibrils: A review. *Carbohydrate Polymers*, 87(2), 963.

Kian, L. K., Saba, N., Jawaid, M., & Sultan, M. T. H. (2019). A review on processing techniques of bast fibers nanocellulose and its polylactic acid (PLA) nanocomposites. *International Journal of Biological Macromolecules*, 121, 1314.

Kim, D. Y., Nishiyama, Y., & Kuga, S. (2002). Surface acetylation of bacterial cellulose. *Cellulose*, 9, 361.

Kim, J., & Adhikari, K. (2020). Current trends in kombucha: Marketing perspectives and the need for improved sensory research. *Beverages*, 6(1), 15.

Klemm, D., Heublein, B., Fink, H. P., & Bohn, A. (2005). Cellulose: fascinating biopolymer and sustainable raw material. *Angewandte Chemie International Edition*, 44(22), 3358.

Klemm, D., Kramer, F., Moritz, S., Lindström, T., Ankerfors, M., Gray, D., & Dorris, A. (2011). Nanocelluloses: a new family of nature-based materials. *Angewandte Chemie International Edition*, 50(24), 5438.

Laavanya, D., Shirkole, S., & Balasubramanian, P. (2021). Current challenges, applications and future perspectives of SCOBY cellulose of Kombucha fermentation. *Journal of Cleaner Production*, 295, 126454.

Labet, M., Thielemans, W., & Dufresne, A. (2007). Polymer grafting onto starch nanocrystals. *Biomacromolecules*, 8(9), 2916.

Lee, H. V., Hamid, S. B. A., & Zain, S. K. (2014). Conversion of lignocellulosic biomass to nanocellulose: structure and chemical process. *The Scientific World Journal*, 2014(1), 631013.

Lee, K. Y., Blaker, J. J., & Bismarck, A. (2009). Surface functionalisation of bacterial cellulose as the route to produce green polylactide nanocomposites with improved properties. *Composites Science and Technology*, 69(15-16), 2724.

Liimatainen, H., Suopajarvi, T., Sirvio, J., Hormi, O., & Niinimäki, J. (2014). Fabrication of cationic cellulosic nanofibrils through aqueous quaternization pretreatment and their use in colloid aggregation. *Carbohydrate Polymers*, 103, 187.

Ljungberg, N., & Wesslen, B. (2002). The effects of plasticizers on the dynamic mechanical and thermal properties of poly (lactic acid). *Journal of Applied Polymer Science*, 86(5), 1227.

Lima de Albuquerque, T., Júnior, J. E. M., de Queiroz, L. P., Ricardo, A. D. S., & Rocha, M. V. P. (2021). Polylactic acid production from biotechnological routes: A review. *International Journal of Biological Macromolecules*, 186, 933.

Liu, D. Y., Yuan, X. W., Bhattacharyya, D., & Easteal, A. J. (2010). Characterisation of solution cast cellulose nanofibre–reinforced poly (lactic acid). *Express Polymer Letters*, 4(1), 26.

Luddee, M., Pivsa-Art, S., Sirisansaneeyakul, S., & Pechyen, C. (2014). Particle size of ground bacterial cellulose affecting mechanical, thermal, and moisture barrier properties of PLA/BC biocomposites. *Energy Procedia*, 56, 211.

Lunelli, B. H., Andrade, R. R., Atala, D. I., Wolf Maciel, M. R., Maugeri Filho, F., & Maciel Filho, R. (2010). Production of lactic acid from sucrose: strain selection, fermentation, and kinetic modeling. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 161, 227.

MacLeod, M., Arp, H. P. H., Tekman, M. B., & Jahnke, A. (2021). The global threat from plastic pollution. *Science*, 373(6550), 61

Min, K., Cuiffi, J. D., & Mathers, R. T. (2020). Ranking environmental degradation trends of plastic marine debris based on physical properties and molecular structure. *Nature Communications*, 11(1), 727.

Missoum, K., Belgacem, M. N., & Bras, J. (2013). Nanofibrillated cellulose surface modification: a review. *Materials*, 6(5), 1745.

Miyashiro, D., Hamano, R., & Umemura, K. (2020). A review of applications using mixed materials of cellulose, nanocellulose and carbon nanotubes. *Nanomaterials*, 10(2), 186.

Mohanty, A. K., Misra, M. A., & Hinrichsen, G. I. (2000). Biofibres, biodegradable polymers and biocomposites: An overview. *Macromolecular Materials and Engineering*, 276(1), 1.

Mokhena, T. C., Sefadi, J. S., Sadiku, E. R., John, M. J., Mochane, M. J., & Mtibe, A. (2018). Thermoplastic processing of PLA/cellulose nanomaterials composites. *Polymers*, 10(12), 1363.

Moon, R. J., Martini, A., Nairn, J., Simonsen, J., & Youngblood, J. (2011). Cellulose nanomaterials review: structure, properties and nanocomposites. *Chemical Society Reviews*, 40(7), 3941.

Morandi, G., Heath, L., & Thielemans, W. (2009). Cellulose nanocrystals grafted with polystyrene chains through surface-initiated atom transfer radical polymerization (SI-ATRP). *Langmuir*, 25(14), 8280.

Muller, J., González-Martínez, C., & Chiralt, A. (2017). Combination of poly (lactic) acid and starch for biodegradable food packaging. *Materials*, 10(8), 952.

Nakagaito, A. N., Iwamoto, S., & Yano, H. (2005). Bacterial cellulose: the ultimate nanoscalar cellulose morphology for the production of high-strength composites. *Applied Physics A*, 80, 93.

Nicharat, A., Sapkota, J., & Foster, E. J. (2016). Pre-mixing and masterbatch approaches for reinforcing poly (vinyl acetate) with cellulose based fillers. *Industrial Crops and Products*, 93, 244.

Nishino, T., Takano, K., & Nakamae, K. (1995). Elastic modulus of the crystalline regions of cellulose polymorphs. *Journal of Polymer Science Part B: Polymer Physics*, 33(11), 1647.

Oksman, K., & Mathew, A. P. (2014). Melt compounding process of cellulose nanocomposites. En *HANDBOOK OF GREEN MATERIALS: 2 Bionanocomposites: Processing, Characterization and Properties* (p. 53).

Oksman, K., Aitomäki, Y., Mathew, A. P., Siqueira, G., Zhou, Q., Butylina, S., & Hooshmand, S. (2016). Review of the recent developments in cellulose nanocomposite processing. *Composites Part A: Applied Science and Manufacturing*, 83, 2.

Okubo, K., Fujii, T., & Yamashita, N. (2005). Improvement of interfacial adhesion in bamboo polymer composite enhanced with micro-fibrillated cellulose. *JSME International Journal Series A Solid Mechanics and Material Engineering*, 48(4), 199.

Pääkkö, M., Ankerfors, M., Kosonen, H., Nykänen, A., Ahola, S., Österberg, M., & Lindström, T. (2007). Enzymatic hydrolysis combined with mechanical shearing and high-pressure homogenization for nanoscale cellulose fibrils and strong gels. *Biomacromolecules*, 8(6), 1934.

Panaiteescu, D. M., Frone, A. N., Chiulan, I., Gabor, R. A., Spataru, I. C., & Cășărică, A. (2017). Biocomposites from polylactic acid and bacterial cellulose nanofibers obtained by mechanical treatment. *BioResources*, 12(1), 662.

Park, S., Baker, J. O., Himmel, M. E., Parilla, P. A., & Johnson, D. K. (2010). Cellulose crystallinity index: measurement techniques and their impact on interpreting cellulase performance. *Biotechnology for Biofuels*, 3, 1.

Peng, Y., Gardner, D. J., & Han, Y. (2012). Drying cellulose nanofibrils: in search of a suitable method. *Cellulose*, 19, 91.

Pereda, M., Kissi, N. E., & Dufresne, A. (2014). Extrusion of polysaccharide nanocrystal reinforced polymer nanocomposites through compatibilization with poly (ethylene oxide). *ACS Applied Materials & Interfaces*, 6(12), 9365.

Petersson, L., Kvien, I., & Oksman, K. (2007). Structure and thermal properties of poly (lactic acid)/cellulose whiskers nanocomposite materials. *Composites Science and Technology*, 67(11-12), 2535.

Platnieks, O., Sereda, A., Gaidukovs, S., Thakur, V. K., Barkane, A., Gaidukova, G., & Fridrihsone, V. (2021). Adding value to poly (butylene succinate) and nanofibrillated cellulose-based sustainable nanocomposites by applying masterbatch process. *Industrial Crops and Products*, 169, 113669.

Quero, F., Nogi, M., Yano, H., Abdulsalami, K., Holmes, S. M., Sakakini, B. H., & Eichhorn, S. J. (2010). Optimization of the mechanical performance of bacterial cellulose/poly (L-lactic acid) composites. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 2(1), 321.

Raquez, J. M., Murena, Y., Goffin, A. L., Habibi, Y., Ruelle, B., DeBuyl, F., & Dubois, P. (2012). Surface-modification of cellulose nanowhiskers and their use as nanoreinforcers into polylactide: A sustainably-integrated approach. *Composites Science and Technology*, 72(5), 545.

Ren, J., Yu, X., Ren, T., & Hong, H. (2007). Preparation and characterization of fenofibrate-loaded PLA-PEG microspheres. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 18, 1481.

Robles, E., Urruzola, I., Labidi, J., & Serrano, L. (2015). Surface-modified nano-cellulose as reinforcement in poly (lactic acid) to conform new composites. *Industrial Crops and Products*, 71, 44.

Ruz-Cruz, M. A., Herrera-Franco, P. J., Flores-Johnson, E. A., Moreno-Chulim, M. V., Galera-Manzano, L. M., & Valadez-González, A. (2022). Thermal and mechanical properties of PLA-based multiscale cellulosic biocomposites. *Journal of Materials Research and Technology*, 18, 485.

Saito, T., Nishiyama, Y., Putaux, J. L., Vignon, M., & Isogai, A. (2006). Homogeneous suspensions of individualized microfibrils from TEMPO-catalyzed oxidation of native cellulose. *Biomacromolecules*, 7(6), 1687.

Sánchez-García, M. D., Gimenez, E., & Lagaron, J. M. (2008). Morphology and barrier properties of solvent cast composites of thermoplastic biopolymers and purified cellulose fibers. *Carbohydrate Polymers*, 71(2), 235.

Sapkota, J., Jorfi, M., Weder, C., & Foster, E. J. (2014). Reinforcing poly (ethylene) with cellulose nanocrystals. *Macromolecular Rapid Communications*, 35(20), 1747.

Savioli Lopes, M., Jardini, A. L., & Maciel Filho, R. J. P. E. (2012). Poly (lactic acid) production for tissue engineering applications. *Procedia Engineering*, 42, 1402.

Sawyer, D. J. (2003). Bioprocessing—no longer a field of dreams. In *Macromolecular symposia* (Vol. 201, No. 1, p. 271). Weinheim: WILEY-VCH Verlag.

Sharma, C., & Bhardwaj, N. K. (2019). Biotransformation of fermented black tea into bacterial nanocellulose via symbiotic interplay of microorganisms. *International Journal of Biological Macromolecules*, 132, 166.

Silva, L. E., Dos Santos, A. D. A., Torres, L., McCaffrey, Z., Klamczynski, A., Glenn, G., & Tonoli, G. H. D. (2021). Redispersion and structural change evaluation of dried microfibrillated cellulose. *Carbohydrate Polymers*, 252, 117165.

Singh, K., Risse, M., Das, K. C., & Worley, J. (2009). Determination of composition of cellulose and lignin mixtures using thermogravimetric analysis. *Journal of Energy Resources Technology, Transactions of the ASME* 131(2), 022201.

Siqueira, G., Bras, J., & Dufresne, A. (2010). Cellulosic bionanocomposites: a review of preparation, properties and applications. *Polymers*, 2(4), 728.

Siró, I., & Plackett, D. (2010). Microfibrillated cellulose and new nanocomposite materials: a review. *Cellulose*, 17, 459.

Suryanegara, L., Nakagaito, A. N., & Yano, H. (2009). The effect of crystallization of PLA on the thermal and mechanical properties of microfibrillated cellulose-reinforced PLA composites. *Composites Science and Technology*, 69(7-8), 1187.

Taib N. A. A. B., Rahman, M. R., Huda, D., Kuok, K. K., Hamdan, S., Bakri, M. K. B., & Khan, A. (2023). A review on poly lactic acid (PLA) as a biodegradable polymer. *Polymer Bulletin*, 80(2), 1179.

Thakur, V. K., Thakur, M. K., Raghavan, P., & Kessler, M. R. (2014). Progress in green polymer composites from lignin for multifunctional applications: a review. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*, 2(5), 1072.

Tingaut, P., Zimmermann, T., & Lopez-Suevos, F. (2010). Synthesis and characterization of bionanocomposites with tunable properties from poly (lactic acid) and acetylated microfibrillated cellulose. *Biomacromolecules*, 11(2), 454.

Tomé, L. C., Pinto, R. J., Trovatti, E., Freire, C. S., Silvestre, A. J., Neto, C. P., & Gandini, A. (2011). Transparent bionanocomposites with improved properties prepared from acetylated bacterial cellulose and poly (lactic acid) through a simple approach. *Green Chemistry*, 13(2), 419.

Tsuji, H. (2011). Poly (lactic acid): synthesis, structures, properties, processing, and applications. En: *Poly(Lactic Acid)* (p. 343). Wiley.

Urbina, L., Algar, I., García-Astrain, C., Gabilondo, N., González, A., Corcuera, M., & Retegi, A. (2016). Biodegradable composites with improved barrier properties and transparency from the impregnation of PLA to bacterial cellulose membranes. *Journal of Applied Polymer Science*, 133(28).

Vatansever, E., Arslan, D., & Nofar, M. (2019). Polylactide cellulose-based nanocomposites. *International Journal of Biological Macromolecules*, 137, 912.

Vázquez, A., Foresti, M. L., Moran, J. I., & Cyras, V. P. (2015). Extraction and production of cellulose nanofibers. En *Handbook of Polymer Nanocomposites. Processing, Performance and Application: Volume C: Polymer Nanocomposites of Cellulose Nanoparticles*, (p. 81). Springer.

Virtanen, S., Wikström, L., Immonen, K., Anttila, U., & Retulainen, E. (2016). Cellulose kraft pulp reinforced polylactic acid (PLA) composites: effect of fibre moisture content. *AIMS Materials Science*, 3(3), 756.

Wang, B., & Li, R. (2018). Inhibition of hornification of eucalyptus kraft pulp by acetylation. In *IOP conference series: earth and environmental science* (Vol. 170, No. 5, p. 052023). IOP Publishing.

Wang, Q., Yao, Q., Liu, J., Sun, J., Zhu, Q., & Chen, H. (2019). Processing nanocellulose to bulk materials: A review. *Cellulose*, 26, 7585.

Wu, Y., Gao, X., Wu, J., Zhou, T., Nguyen, T. T., & Wang, Y. (2023). Biodegradable polylactic acid and its composites: Characteristics, processing, and sustainable applications in sports. *Polymers*, 15(14), 3096.

Yamada, Y. (2014). Transfer of *Gluconacetobacter kakaiceti*, *Gluconacetobacter medellinensis* and *Gluconacetobacter maltaceti* to the genus *Komagataeibacter* as *Komagataeibacter kakaiceti* comb. nov., *Komagataeibacter medellinensis* comb. nov. and *Komagataeibacter maltaceti* comb. nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 64, 1670.

Yiga, V. A., Lubwama, M., & Olupot, P. W. (2022). Thermal stability of unmodified and alkali-modified rice husks for flame retardant fiber-reinforced PLA composites. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, 147(20), 11049.

Zhou, L., Ke, K., Yang, M. B., & Yang, W. (2021). Recent progress on chemical modification of cellulose for high mechanical-performance Poly (lactic acid)/Cellulose composite: A review. *Composites Communications*, 23, 100548.

Zuluaga, R., Putaux, J. L., Cruz, J., Vélez, J., Mondragon, I., & Gañán, P. (2009). Cellulose microfibrils from banana rachis: Effect of alkaline treatments on structural and morphological features. *Carbohydrate Polymers*, 76(1), 51.

Normas consultadas

ISO/TS 20477. "Nanotechnologies - Standard terms and their definition for cellulose nanomaterial". 2017.

Enlaces visitados

Acumen Research and Consulting (ARC): <https://www.acumenresearchandconsulting.com/Kombucha-market> (visitado el 14 de enero de 2024).

European Bioplastics- Nova-Institute: <https://www.european-bioplastics.org/bioplastics> (visitado el 2 de junio marzo de 2024).

Renewable Carbon: www.bio-based.eu/graphics (visitado el 14 de marzo de 2024).

CAPÍTULO 2:

MATERIALES Y MÉTODOS

RESUMEN

En este capítulo se describen en detalle todos los materiales y las metodologías utilizados a lo largo de la tesis para la obtención y caracterización de las nanocelulosas y las películas compuestas basadas en ácido poliláctico y dichas cargas. En primer lugar, se describen los protocolos desarrollados para obtener las nanofibrillas de celulosa de origen bacteriano y vegetal, así como su modificación química mediante reacciones de acetilación. A continuación, se aborda el desarrollo de materiales compuestos basados en PLA y las nanocelulosas obtenidas, incluyendo el secado y la molienda de las nanocelulosas, la elaboración de masterbatches por evaporación de solvente, y el procesamiento por mezclado intensivo seguido de moldeo por compresión y por extrusión. Finalmente, se describen todas las técnicas de caracterización aplicadas tanto a los materiales nanocelulósicos como a las películas compuestas obtenidas.

2.1 Materiales

Para producir la nanocelulosa bacteriana utilizada como referencia en este estudio se utilizó una cepa de la bacteria *Komagataeibacter xylinus* NRRL-B42, la cual fue gentilmente proporcionada por el Dr. Luis Ielpi de la Fundación Instituto Leloir (Buenos Aires, Argentina). El medio de cultivo empleado para el crecimiento de este microorganismo se formuló con glicerol (Biopack, Buenos Aires, Argentina. Pureza = 99%) y macerado de maíz (*corn steep liquor*, CSL, Ingredion, Buenos Aires, Argentina). El CSL, es un subproducto de la molienda húmeda del maíz que contiene en promedio un 42-45% de proteínas y aporta vitaminas del grupo B. Para la producción del inóculo se utilizó el medio Hestrin-Schramm (HS) (**Hestrin & Schramm, 1954**), cuya formulación involucró dextrosa anhidra (Biopack), peptona de carne (Britania, Buenos Aires, Argentina), extracto de levadura (Britania), NaH_2PO_4 (Anedra, Buenos Aires, Argentina), ácido cítrico (Biopack).

Para la obtención de nanocelulosa de origen microbiano a partir de un subproducto de la elaboración de Kombucha se utilizó un cultivo simbiótico de bacterias y levaduras (*Symbiotic Culture Of Bacteria and Yeast*, SCOBY) gentilmente proporcionado por Aloha Fermentos (Buenos Aires, Argentina). El medio de cultivo consistió en una infusión de té negro (Green Hills, Buenos Aires, Argentina) y glucosa (Xantana, Buenos Aires, Argentina).

La cáscara de arroz empleada como materia prima para el aislamiento de nanocelulosa de origen vegetal fue amablemente donada por la empresa productora de arroz El Chajá (Entre Ríos, Argentina), conteniendo celulosa (25-35%), hemicelulosa (18-21%), lignina (26-31%), sílice (15-17%) y compuestos solubles (2-5%) (**Ludueña et al., 2013; Marin et al., 2015**). Como referencia de celulosa vegetal de alta pureza, se utilizó celulosa microcristalina (MCC) marca Biopack.

Para la purificación de las nanocelulosas bacterianas utilizó hidróxido de sodio (Cicarelli, Santa Fe, Argentina) e hidróxido de potasio (Cicarelli). Para el aislamiento de la celulosa vegetal se empleó clorito de sodio (Anedra), hidróxido de sodio (Anedra) y ácido clorhídrico (Biopack).

La acetilación de las nanocelulosas requirió del uso de ácido acético (Cicarelli), anhídrido acético (Cicarelli) y etanol 96° (Porta, Córdoba, Argentina) para los lavados.

Para la elaboración de los *masterbatches* y películas compuestas se empleó ácido poliláctico comercial (PLA, NatureWorks 4043D), con 6% de D-lactida y 94% de L-lactida

(Backes *et al.*, 2019; Yazdaninia *et al.*, 2016), una densidad de 1.24 g/cm³ y un índice de fluencia de 6 g/10 min (210°C, 2.16 kg) (hoja técnica PLA4043D, NatureWorks). Se utilizaron como disolventes acetona y cloroformo (ambos de Cicarelli).

Para los ensayos de caracterización de las nanocelulosas y de las películas compuestas se utilizó biftalato de potasio (Cicarelli), carbonato de sodio (Cicarelli), fenoltaleína (Cicarelli), bromuro de potasio (Cicarelli), cloruro de calcio (Cicarelli), urea (Anedra), y aceite de maíz, alimento de conejos, almidón de maíz, sacarosa y aserrín de marcas genéricas.

Todos los químicos utilizados fueron de grado analítico y se emplearon tal como se recibieron.

2.2 Obtención de las nanocelulosas

2.2.1 Nanocelulosa bacteriana obtenida con una cepa de *Komagataeibacter xylinus*

Para la obtención de la nanocelulosa bacteriana utilizada como referencia en esta tesis se siguieron procedimientos de uso habitual en el grupo de trabajo para este tipo de cultivo con cepa única (Cerrutti *et al.*, 2016; Vázquez *et al.*, 2013). A tal fin, se cultivó un inóculo de *K. xylinus* en Erlenmeyers de 100 mL, cada uno conteniendo 20 mL de medio HS compuesto por 20 g/L de dextrosa anhidra, 5 g/L de peptona de carne, 5 g/L de extracto de levadura, 2.7 g/L de NaH₂PO₄ y 1.5 g/L de ácido cítrico esterilizado en autoclave. El inóculo se incubó a 28°C durante 72 horas bajo agitación orbital de 200 rpm. Posteriormente, se transfirieron 500 mL del inóculo a un total de 5 L de medio de fermentación formulado con 40 g/L de glicerol y 40 g/L de macerado de maíz, y se dejó fermentar a 28°C en cultivo estático durante 14 días en bandejas de acero de 10 L.

Después de este tiempo, las películas de nanocelulosa obtenidas se sometieron a sucesivos lavados con agua corriente para eliminar el medio de cultivo impregnado, y luego fueron licuadas durante 4 minutos en una solución de KOH 0.9 M. La suspensión alcalina resultante se dejó en reposo durante 14 horas a temperatura ambiente a fin de eliminar restos celulares y de medio de cultivo, y finalmente se realizaron sucesivos lavados con agua destilada hasta alcanzar su pH en las aguas de lavado.

La producción de la BNC de referencia con la cepa de *K. xylinus* se llevó a cabo en colaboración con la Dra. Patricia Cerrutti, Profesora de Microbiología Industrial de la Facultad de Ingeniería de la Universidad de Buenos Aires (UBA) e investigadora del Instituto de Tecnología en Polímeros y Nanotecnología (ITPN).

2.2.2 Nanocelulosa bacteriana aislada de un subproducto de la elaboración de Kombucha

La formulación del medio de cultivo y las condiciones de fermentación se seleccionaron de modo de emular las utilizadas en la planta industrial de producción de Kombucha que donó el inóculo (Aloha Fermentos, Buenos Aires, Argentina). A tal fin se preparó una infusión de té negro (10 g/L) y glucosa (60 g/L) usando agua mineral a 90°C. Después de 30 minutos se retiraron las bolsitas de té, y una vez que la infusión registró una temperatura inferior a 30°C, se añadió el inóculo (10% v/v) líquido tomado de un lote previo de té de Kombucha. Los contenedores (*tuppers* plásticos de 300 mm x 200 mm x 100 mm) se cubrieron con lienzo y se mantuvieron estáticos a una temperatura de 28-30°C durante un periodo de 14 días. Pasado este tiempo las películas flotantes desarrolladas en la interfaz aire-líquido como subproducto de la fermentación del té fueron retiradas, lavadas con agua corriente y sometidas a tres procedimientos de purificación diferentes:

Protocolo A): las películas fueron trituradas en una licuadora de cocina durante 4 minutos y lavadas abundantemente con agua destilada.

Protocolo B): las películas se sumergieron en NaOH 0.5 M a 70°C durante 4 horas (500 g de membrana/L de solución), y luego se licuaron y lavaron con agua destilada hasta alcanzar su pH en las aguas de lavado (**Oliver-Ortega et al., 2021**).

Protocolo C): las películas se licuaron en una solución de KOH 0.9 M durante 4 minutos (500 g de membrana/L de solución) a temperatura ambiente. La suspensión alcalina se conservó a temperatura ambiente durante 14 horas y luego se realizaron sucesivos intercambios con agua destilada hasta alcanzar su pH en las aguas de lavado (**Ávila Ramírez et al., 2019**).

Los materiales nanocelulósicos obtenidos en cada caso, denominados “BNC - Kombucha A”, “BNC - Kombucha B” y “BNC - Kombucha C”, respectivamente, consistieron en hidrogeles con contenidos de 1.0-1.5% (p/v) de sólidos, que se conservaron refrigerados hasta su uso.

2.2.3 Nanocelulosa vegetal obtenida a partir de cáscara de arroz

La cáscara de arroz suministrada por el proveedor fue extensamente lavada con agua corriente, secada a 105°C durante 3 horas y posteriormente molida utilizando un molinillo de cuchillas (FW 100, Arcano, Argentina). El material particulado se tamizó a fin de obtener tamaños menores a 125 micrones.

Para el aislamiento de celulosa a partir de cáscara de arroz se siguieron procedimientos tomados de la bibliografía con algunas modificaciones (**Johar *et al.*, 2012; Marin *et al.*, 2015**). Inicialmente, se realizó un tratamiento alcalino, en el cual la cáscara de arroz micronizada se puso en contacto con una solución de NaOH al 4% (p/v) en una relación de 50 g/L. La mezcla se llevó a reflujo durante 2 horas con agitación magnética, seguida de un lavado exhaustivo con agua destilada hasta pH neutro de las aguas de lavado. La suspensión resultante se filtró y el sólido obtenido se puso en contacto con una solución de NaClO₂ al 1.7% (p/v) en *buffer* ácido acético/acetato de sodio (pH 4) en una proporción de 30 g/L en peso seco. La mezcla se llevó a reflujo durante 2 horas, proceso que se repitió dos veces. Luego, el material se lavó hasta pH neutro de las aguas de lavado. La fracción celulósica obtenida se trató a 90°C durante 45 minutos con agitación con una solución de HCl 1 M en relación 40 g/L, a lo que siguieron sucesivos lavados hasta pH neutro de las aguas de lavado. El tratamiento ácido fue adaptado de Delgado *et al.* (2021), con el propósito de contribuir a exfoliar las nanofibrillas de celulosa, pero sin inducir su corte transversal (**Delgado *et al.*, 2021**).

Finalmente, la suspensión obtenida (1% p/p) se sometió a un ciclo de 5 minutos de ultrasonificación a 100 W (VCX 750, Sonics, Estados Unidos), seguido de un proceso de homogeneización en un homogeneizador a válvula (Panda 2K NS1001L, GEA Niro-Soavi, Italia), disponible en la Universidad Nacional de Quilmes. Inicialmente, se aplicó una presión de 30 MPa, aumentándola gradualmente hasta alcanzar los 100 MPa, con ciclos de homogeneización de una duración total de 1 hora. La suspensión de nanofibrillas de celulosa resultante (0.9-1% p/v) se mantuvo refrigerada hasta su uso.

La nanocelulosa de origen vegetal (VNC) se obtuvo en colaboración con el Laboratorio de Obtención, Modificación, Caracterización y Evaluación de Materiales (LOMCEM) de la Universidad Nacional de Quilmes.

2.3 Acetilación de las nanocelulosas

Para evitar la descomposición del anhídrido acético usado en la acetilación de BNC y VNC y la reversión de la reacción, fue necesario remover el agua de la suspensión de nanofibrillas de celulosa antes de comenzar la acetilación. Para esto se realizaron intercambios de solvente, llevando al material nanocelulósico desde agua hasta ácido acético (2 lavados con 250 mL) y luego a anhídrido acético (2 lavados con 250 mL). En cada paso las nanofibrillas se contactaron con el solvente durante 10 min con agitación magnética y la recuperación se llevó a cabo por filtración al vacío.

En el estudio preliminar destinado a determinar el tiempo y la temperatura a los que se llevarían a cabo las reacciones de acetilación, se contactaron las nanocelulosas mencionadas en el párrafo anterior (1 g de nanocelulosa en base seca) con 100 mL de anhídrido acético en balones de 250 mL conectados a condensadores de reflujo, homogeneizados con agitación magnética. Se evaluó el efecto del tiempo (1 o 3 horas) y la temperatura de reacción (100°C o 120°C) en el grado de sustitución conferido a la nanocelulosa en cada caso (ver detalle en sección 2.4.1). Para las reacciones a mayor escala (2.5 g de nanocelulosa en base seca) se emplearon balones de 1 L con 250 mL de anhídrido acético, y las condiciones de reacción seleccionadas fueron 120°C y 1 hora de reacción.

Las nanocelulosas acetiladas se lavaron en primer lugar con etanol (2 x 200 mL) y luego exhaustivamente con agua destilada hasta pH neutro de las aguas de lavado, removiendo el líquido por filtración entre cada etapa. Las nanocelulosas acetiladas de origen bacteriano (AcBNC) y vegetal (AcVNC) obtenidas se mantuvieron refrigeradas hasta su uso.

2.4 Caracterización de las nanocelulosas nativas y acetiladas

2.4.1 Saponificación

El grado de sustitución (GS, expresado como la cantidad promedio de grupos funcionales introducidos por unidad de anhidroglucosa) de las muestras se determinó por saponificación heterogénea con NaOH 0.1 N y posterior titulación por retorno con HCl 0.1 N, en condiciones adaptadas de la norma *ASTM D817-12*, “*Standard Test Methods of Testing Cellulose Acetate*”. Para este ensayo, se colocaron aproximadamente 0.1 g de muestra previamente secada a 110°C por 2 horas y molida en Erlenmeyers de 50 mL, y se añadieron 10 mL de alcohol etílico al 75%. Las mezclas se calentaron durante 30 minutos a 55°C, luego de lo cual se añadió

NaOH 0.1 N hasta el viraje de la fenolftaleína (1 o 2 gotas) a fin de neutralizar cualquier traza de ácido que hubiera quedado luego de la acetilación. Posteriormente, se agregaron 10 mL de NaOH 0.1 N a cada Erlenmeyer, se volvieron a calentar las mezclas a 55°C durante 15 minutos y se dejaron reposar durante 72 horas a temperatura ambiente. Luego de este tiempo, el exceso de NaOH se valoró con HCl 0.1 N, empleando fenolftaleína como indicador. Los ensayos se realizaron por duplicado, y se utilizaron nanocelulosas nativas como blanco. Las soluciones de NaOH y HCl empleadas fueron previamente valoradas con biftalato de potasio y carbonato de sodio, respectivamente, secados a 110°C por 2 horas.

El contenido de grupos acetilo de cada muestra se obtuvo mediante la ecuación (2.1):

$$\%Acetilo = \frac{(VB-VS)*NHCl*43}{W} X 100 \quad (2.1)$$

donde VB (mL) y VS (mL) son los volúmenes de HCl requeridos para la titulación del blanco y de la muestra, respectivamente; NHCl es la normalidad de la solución de HCl, W (mg) es la masa seca de cada muestra, y 43 es el peso molecular del grupo acetilo.

El GS se calculó luego según la ecuación (2.2):

$$GS = \frac{162*\%Acetilo}{[4300-(42*\%Acetilo)]} \quad (2.2)$$

donde 162 corresponde al peso molecular de la unidad anhidroglucosa.

2.4.2 Dispersión en solventes de diferente polaridad

Con el fin de evidenciar cualitativamente variaciones en la polaridad de las nanocelulosas inducidas por la acetilación se llevaron a cabo pruebas de dispersabilidad de las muestras en solventes con distintos índices de polaridad (IP agua=10.2; IP acetona=5.1; IP

cloroformo=4.1). Para ello, las suspensiones acuosas de las nanocelulosas nativas y acetiladas fueron sometidas a intercambios de solvente (dos intercambios en 5 mL con agitación constante a 1000 rpm durante 10 minutos) y luego homogeneizadas con un homogeneizador de punta (T 18 digital UltraTurrax, IKA, Estados Unidos) a 18000 rpm durante 15 minutos. Los distintos sistemas nanocelulosa/solvente se dejaron reposar durante 48 horas a temperatura ambiente y luego se tomaron fotos.

2.4.3 Microscopía electrónica de barrido

Las micrográficas FESEM de las nanocelulosas fueron obtenidas con un microscopio electrónico de barrido con emisión de campo Carl Zeiss NTS modelo Supra 40 (Alemania) provisto de un detector de electrones secundarios de presión variable y operado a un voltaje de aceleración de 3 kV. Dicho equipo se encuentra en el Centro de Microscopías Avanzadas (CMA) de la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales de la UBA. Las muestras se sembraron en vidrios de microscopía como suspensiones acuosas con una concentración aproximada de 0.1 % (p/v), se secaron a 100°C por unos minutos y se metalizaron. Las dimensiones de las nanofibrillas de celulosa nativas y acetiladas se midieron en las micrográficas obtenidas con el programa *ImageJ* 153e.

2.4.4 Microscopía de fuerza atómica

La longitud de las nanofibrillas de celulosa se evaluó mediante la observación de imágenes obtenidas empleando un microscopio de fuerza atómica Nanoscope V-Multimode (Veeco, Estados Unidos) en modo de contacto, con una sonda de silicio modelo Arrow-NCR-50 (Nano World, Suiza) (frecuencia de resonancia en *cantilever*: 258 kHz, fuerza constante 42 N/m, radio de la punta 5-10 nm). Las frecuencias típicas de escaneo fueron 1.0 Hz-1.5 Hz. El equipo pertenece al Instituto de Investigaciones Fisicoquímicas, Teóricas y Aplicadas (INIFTA) de la Universidad Nacional de La Plata. En todos los casos las muestras se sembraron en mica como suspensiones acuosas con una concentración aproximada de 0.2 % (p/v) y se secaron a 100°C durante unos minutos.

2.4.5 Espectrometría de energía dispersiva de rayos X

Para obtener la distribución local de los elementos presentes en las muestras se utilizó un microscopio electrónico de barrido Phenom World ProX, operado a 15 kV y equipado con un detector de energía dispersiva de rayos X Silicon Drift.

2.4.6 Espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier

El equipo utilizado para obtener los espectros infrarrojo de todas las muestras fue un espectrofotómetro Affinity-1 de Shimadzu (Japón) operado en modo de absorción. Cada muestra se introdujo al equipo en forma de pastilla obtenida por prensado de 12.5 mg de muestra (previamente secada a 110°C durante 1 hora) con la cantidad necesaria de KBr (previamente secado a 130°C durante 6 horas) para lograr una proporción de 1:20. Las pastillas se secaron durante toda la noche a 110°C antes de la medición. Los espectros se registraron en el rango de número de onda comprendido entre 4000-400 cm^{-1} con 32 escaneos y una resolución de 4 cm^{-1} . Se corrigieron las líneas de base de los espectros y se normalizaron respecto a la intensidad de la absorción a 1165 cm^{-1} correspondiente a la flexión del enlace (C-O-C) de la celulosa, según lo sugerido en la bibliografía (Ilharco, Gracia, da Silva & Ferreira, 1997).

2.4.7 Resonancia magnética nuclear

Los espectros de resonancia magnética nuclear de carbono 13 en estado sólido de las muestras se obtuvieron empleando un resonador Bruker Advance II-300 equipado con un cabezal de 4 mm apto para Rotación de Ángulo Mágico disponible en la Facultad de Matemática, Astronomía y Física de la Universidad Nacional de Córdoba. El equipo fue operado a una frecuencia de 300.13 MHz para protones y 75.46 MHz para carbonos. Se utilizó glicina como espectro de referencia externa para carbono 13, y para ajustar las condiciones de HartmannHahn en los experimentos de polarización cruzada. El tiempo de reciclaje varió de 5 a 6 s según la muestra y el tiempo de contacto durante la polarización cruzada fue de 2 ms. Para el desacople heteronuclear durante la adquisición se utilizó la secuencia SPINAL64 con un campo de protón de H1H cumpliéndose que $\omega_{1H}/2\pi = \nu_{HH1H} = 62$ kHz. Todas las mediciones se realizaron a temperatura ambiente y la rotación del ángulo mágico fue de 10 kHz.

A partir de los espectros obtenidos se calculó el índice de cristalinidad (ICr) de las muestras utilizando el “método de separación de picos C4 de RMN” indicado por Park *et al.* (2010). El mismo consiste en individualizar la región correspondiente al carbono C4 (80 a 93 ppm) del espectro y dividiendo el área del pico cristalino (87 a 93 ppm) por el área total (ecuación 2.3):

$$ICr = \frac{\text{área del pico cristalino}}{\text{área total}} \quad (2.3)$$

2.4.8 Difracción de rayos X

Los estudios de estructura cristalina de todas las muestras se llevaron a cabo en un difractómetro de rayos X Rigaku D/Max-C con goniómetro vertical disponible en el laboratorio de Sólidos Amorfos de la Facultad de Ingeniería de la UBA. Este difractómetro cuenta con un monocromador de cristal único (GRAPHITE). Se utilizaron hendiduras de 1.0 DS (hendidura de divergencia) - 1.0 SS (hendidura de dispersión) - 0.6 mm-0.8 mm. Los difractogramas se adquirieron en el rango de $2\theta=10$ a 40° con un paso de 0.02° , utilizando una longitud de onda de la fuente de radiación de Cu/K α de 0.154 nm, una intensidad de 30 mA y un voltaje de 40 kV.

Se calculó el índice de cristalinidad (ICr) de las muestras a partir de los difractogramas de rayos X obtenidos, siguiendo los métodos descritos por Park *et al.* (2010). En el método 1 denominado “método de la altura del pico” o “método Segal” se le resta a la altura del pico de máxima intensidad del difractograma la altura del mínimo (I_{am}) ubicado alrededor de $2\theta=18^\circ$ - 19° . El resultado de esa resta se divide por la altura del pico de máxima intensidad (considerada como la intensidad total). El ICr se calcula a partir de la ecuación 2.4:

$$ICr = \frac{(I_{m\acute{a}x} - I_{am})}{I_{m\acute{a}x}} \quad (2.4)$$

Por otro lado, el “método de deconvolución” consiste en realizar la separación de los picos cristalinos individuales del difractograma de rayos X mediante un proceso de ajuste de curvas de los perfiles de difracción. Para ello se utilizó el *software OriginPro 2021*. En primer lugar, se asignó una función gaussiana para cada uno de los picos cristalinos hallados en $2\theta \sim 14-17$, $22-23^\circ$ y $34-35$; y se consideró un pico ancho ubicado en $2\theta \sim 21.5^\circ$ relacionado según bibliografía (**Park et al., 2010**) con la contribución de las regiones amorfas de la celulosa. El cálculo del ICr se llevó a cabo empleando la ecuación 2.5:

$$ICr = \frac{\text{área de los picos cristalinos}}{\text{área total}} \quad (2.5)$$

Finalmente, el “método de sustracción amorfa” o “método de las dos fases”, consiste en restar la contribución amorfa de la celulosa tomado en este caso de Park et al. (2010) al difractograma completo de la muestra. El ICr se calcula posteriormente dividiendo el área restante del difractograma (asociado a la celulosa cristalina) por el área total original (ecuación 2.6):

$$ICr = \frac{\text{área cristalina}}{\text{área total}} \quad (2.6)$$

2.4.9 Termogravimetría

La estabilidad térmica de las distintas muestras (previamente secadas a 110°C durante 2 horas) se estudió empleando un equipo TGA-50 Shimadzu, operado en el intervalo de temperatura de 20°C a 800°C a una velocidad de calentamiento de $10^\circ\text{C}/\text{min}$ en atmósfera de nitrógeno ($30 \text{ mL}/\text{min}$) para prevenir la degradación termo-oxidativa de las nanocelulosas. Los parámetros evaluados fueron la $T_{\text{máx}}$, es decir, la temperatura de máxima velocidad de descomposición; y la T_{onset} definida como la temperatura a la cual el material redujo en un 10% su masa inicial, luego de la evaporación de agua.

2.5 Obtención de las películas compuestas de ácido poliláctico y nanocelulosas

2.5.1 Estrategias de incorporación de las nanocelulosas

Las nanocelulosas se incorporaron en el PLA mediante tres estrategias distintas. La primera estrategia (“directa”) consistió en secar las nanocelulosas nativas a 110°C durante 24 horas, molerlas en un molinillo de cuchillas y finalmente introducir el material seco y molido en los equipos de procesamiento (mezcladora intensiva o extrusora) junto con los *pellets* de PLA.

Como segunda estrategia, se prepararon *masterbatches* de PLA y las nanocelulosas nativas *never-dried* (nunca secadas) por evaporación de solvente. Al efecto se sometió a las suspensiones acuosas originales de las nanocelulosas bacterianas y vegetales nativas a intercambios de solvente agua -> acetona (2 x 250 mL) -> cloroformo (2 x 250 mL) con filtrado al vacío intermedio, combinados con pasos de homogeneización (UltraTurrax a 18000 rpm por 5-10 min) para promover la correcta dispersión de las nanofibrillas. Finalmente, las nanocelulosas se contactaron con cloroformo conteniendo el PLA disuelto en concentraciones adecuadas para lograr contenidos finales de nanocelulosa en los *masterbatches* del 16.7% (p/p). Seguidamente, las mezclas se homogeneizaron, se vertieron en recipientes de vidrio cubiertos con cinta de teflón, se dejaron secar a temperatura ambiente por 48 horas, y luego se colocaron a 60°C bajo vacío durante 2 semanas hasta peso constante.

La tercera estrategia consistió en el mismo procedimiento que la segunda estrategia recién descrita, pero empleando nanocelulosas acetiladas bajo las condiciones detalladas en la sección 2.3, en lugar de sus contrapartes nativas.

Todos los *masterbatches* obtenidos se molieron, se secaron bajo vacío a 80°C durante 4 horas según lo recomendado por el proveedor del PLA al igual que los *pellets* de poliéster (**hoja técnica PLA4043D, NatureWorks**), y se procesaron como se describe a continuación.

2.5.2 Procesamiento en fundido

2.5.2.1 Mezclado intensivo seguido de moldeo por compresión

Las nanocelulosas secas y molidas de la primera estrategia y los *masterbatches* molidos y secos de la segunda y tercera estrategia fueron introducidos alternativamente junto con los *pellets* de PLA en una mezcladora Brabender Plasti-corder Lab-Station REO-6 (Alemania) en

cantidades suficientes para alcanzar concentraciones finales de nanocelulosas del 0.5, 1, 1.5, 3, 5 y 7% (p/p) en 50 g totales de mezcla. El material molido y los *pellets* de PLA se introdujeron en la mezcladora funcionando a 170°C y a una velocidad de 20 rpm para evitar pérdidas y/o atascamientos en el equipo, y se procesaron durante 2 minutos. A esta etapa siguieron 8 minutos de mezclado a 50 rpm y 170°C. Luego de este tiempo el material fundido fue retirado del equipo y conservado a temperatura ambiente en una atmósfera libre de humedad. Como material de referencia se mezclaron también 50 g de *pellets* de PLA sin agregado de nanocelulosas empleando las mismas condiciones de procesamiento.

Para la obtención de las películas de PLA y de las películas compuestas de PLA y nanocelulosas se moldearon por compresión porciones de 5.5 g del material mezclado, previo secado en estufa a 80°C por 4 horas. Al efecto se utilizó una prensa hidráulica Carver modelo 3853 (Estados Unidos). Inicialmente, el material se fundió a 170°C sin presión durante 8 minutos, luego se aplicaron 2 MPa de presión durante 5 minutos a la misma temperatura y, por último, la película se dejó enfriar a temperatura ambiente antes del desmolde. El espesor de las películas compuestas estuvo en el rango de 0.6-0.9 mm.

2.5.2.2 Extrusión plana

Alternativamente las películas compuestas con composiciones equivalentes a las del mezclado intensivo se obtuvieron por extrusión plana empleando al efecto una extrusora DSM Xplore 15 Micro Compounder operada a 165-170-175°C a una velocidad de tornillo de 90 rpm durante 3 min. Estas películas fueron desarrolladas en conjunto con el Laboratorio de Ciencia y Tecnología de Materiales del Departamento de Ingeniería Civil y Ambiental en la Facultad de Ingeniería de la *Università degli Studi di Perugia*, Italia, en condiciones adaptadas de contribuciones previas del grupo (**Yang et al., 2015; Yang et al., 2016a; Yang et al., 2018**).

2.6 Caracterización de las películas compuestas de ácido poliláctico y nanocelulosas

2.6.1 Opacidad

Se midió la absorbancia a 600 nm de la película de PLA y de las películas compuestas utilizando un espectrofotómetro UV-visible Shimadzu modelo UV-1650pc. Para el cálculo de la opacidad se empleó la ecuación 2.7:

$$\text{Opacidad} = \frac{A_{600}}{x} \quad (2.7)$$

donde A_{600} es el valor de la absorbancia a 600 nm y x es el espesor de las películas expresado en milímetros (**Abd El-Rehim et al., 2018; Patwa et al., 2019; Pirinc et al., 2020**).

2.6.2 Colorimetría

El color de las películas se evaluó utilizando un colorímetro Minolta (CR-20, Konica Minolta, Inc., Tokio, Japón) previamente calibrado con una placa reflectante blanca. Las mediciones se expresaron como coordenadas colorimétricas en la escala CIELAB, y las diferencias de color, tomadas como la distancia euclidiana en el espacio CIELAB (ΔE), se calcularon utilizando la ecuación 2.8:

$$\Delta E = \sqrt{\Delta L^2 + \Delta a^2 + \Delta b^2} \quad (2.8)$$

donde la coordenada L (Luminosidad) varía desde 0 (negro absoluto) hasta 100 (blanco absoluto); la coordenada a varía de -128 a 128 y describe la posición del color en el eje rojo-verde, con valores positivos que indican tonos rojos y valores negativos que indican tonos verdes; y la coordenada b varía de -128 a 128 y describe la posición del color en el eje amarillo-

azul, con valores positivos que indican tonos amarillos y valores negativos que indican tonos azules.

2.6.3 Microscopía electrónica de barrido

Las películas de PLA y las películas compuestas se crio-fracturaron a temperatura de nitrógeno líquido y se metalizaron con una delgada capa de oro previo a su observación en un microscopio electrónico de barrido con emisión de campo FEG Quanta 250 (Estados Unidos) operado a un voltaje de aceleración de 5 Kv. El mismo se encuentra en el Departamento de Mecánica del Instituto Nacional de Tecnología Industrial (INTI).

2.6.4 Espectrometría de energía dispersiva de rayos X

Para conocer la distribución local de los elementos presentes en las superficies de fractura de las películas se utilizó nuevamente el microscopio electrónico de barrido Phenom World ProX, operado a 15 kV y equipado con un detector de energía dispersiva de rayos X Silicon Drift.

2.6.5 Macroscopía

Todas las películas compuestas fueron visualizadas en una lupa estereoscópica Hokenn (China) que se encuentra en el Laboratorio de Materiales y Estructuras del Departamento de Estabilidad de la Facultad de Ingeniería de la UBA.

2.6.6 Caracterización mecánica en tracción

Para la caracterización mecánica de las películas obtenidas se llevaron a cabo ensayos de tracción uniaxial en un dinamómetro INSTRON 5985 con una celda de carga de 1kN, operado a una velocidad de cruceta de 5 mm/min. Los ensayos se realizaron a temperatura ambiente sobre 6 a 10 probetas tipo IV (según la norma *ASTM D638*, “*Standard Test Method for Tensile Properties of Plastics*”). A partir de las curvas de tensión en función de la deformación correspondientes a cada ensayo se obtuvieron los valores del módulo de Young (como la

pendiente al origen), de resistencia a la tracción (como la tensión máxima) y de la deformación a la rotura.

2.6.7 Estudio del comportamiento térmico

Las propiedades térmicas de las películas de PLA y de las películas compuestas con distintas nanocelulosas fueron analizadas utilizando un calorímetro diferencial de barrido Shimadzu DSC-60. Inicialmente, se realizó un calentamiento de 25°C a 200°C a una velocidad de 10°C/min y se mantuvo esta temperatura durante 2 minutos para borrar el historial térmico de las muestras. Seguidamente las muestras se enfriaron hasta -25°C a 10°C/min, y finalmente se efectuó un segundo calentamiento a 10°C/min hasta 200°C. Las temperaturas de cristalización en frío (T_{cc}) y de fusión (T_m) se determinaron como el valor máximo del pico exotérmico y endotérmico, respectivamente, y la temperatura de transición vítrea (T_g) se obtuvo del escaneo de enfriamiento. La cristalinidad de las películas se calculó a partir de los valores obtenidos durante el primer calentamiento utilizando la ecuación 2.9:

$$X (\%) = \frac{\Delta H_m - \Delta H_{cc}}{\Delta H_{m0} * W_{PLA}} X 100 \quad (2.9)$$

donde ΔH_m y ΔH_{cc} son las entalpías de fusión y cristalización, respectivamente, ΔH_{m0} es la entalpía de fusión del PLA 100% cristalino, con un valor promedio de 93.7 J/g (**Fischer, Sterzel y Wegner, 1973**), y W_{PLA} es la fracción en peso de PLA en la muestra.

2.6.8 Permeabilidad al vapor de agua

Los ensayos de permeabilidad al vapor de agua de las películas compuestas se llevaron a cabo siguiendo las recomendaciones de la norma *ASTM E9E/E96M-15*, “*Standard Test Methods for Water Vapor Transmission of Materials*”. Para esto, se utilizaron dispositivos de acrílico conteniendo un agente desecante ($CaCl_2$, Cicarelli) en cuya parte superior se ubicaron las películas cubriendo un orificio de diámetro estandarizado de $3.8 \times 10^{-4} \text{ m}^2$. Todos los dispositivos se colocaron en una cámara de temperatura y humedad constante Memmert

modelo HPP110 (Alemania) mantenida a una temperatura de 25°C y una humedad relativa de ~50%. Los sistemas se pesaron durante un período de 10 días consecutivos y de los datos obtenidos se determinó la tasa de transmisión de vapor de agua (WVTR) a través de la muestra hacia el desecante. Con este valor, se calculó la permeabilidad al vapor de agua (WVP) en unidades de kg/msPa, utilizando la ecuación 2.10:

$$\text{Permeabilidad al vapor de agua} = (WVTR * P * RH) * x \quad (2.10)$$

donde WVTR se calcula como la relación entre la pendiente de la recta del gráfico de peso en función del tiempo (kg/s) y la superficie de la celda (m²), P es la presión de vapor de saturación del agua (Pa), RH es la humedad relativa en el desecador y x es el espesor de la película (m).

2.6.9 Tasa de transmisión de oxígeno

Los valores de tasa de transmisión de oxígeno (OTR) (cc/m²/día) se determinaron utilizando un analizador de permeación de oxígeno (Systech Instruments, modelo 8500, Metrotec, España), siguiendo las recomendaciones de la norma *ASTM F2622-08E1, "Standard Test Method for Oxygen Gas Transmission Rate Through Plastic Film and Sheeting Using Various Sensors"*. Las muestras se colocaron en la cámara de difusión a (25±1)°C, y se introdujo oxígeno puro (99.9%) en la mitad superior de la cámara, y nitrógeno en la mitad inferior, donde se ubicó el sensor de oxígeno. Este ensayo se llevó a cabo en el Laboratorio de Ciencia y Tecnología de Materiales del Departamento de Ingeniería Civil y Ambiental (Italia).

2.6.10 Desintegración bajo condiciones de compostaje simuladas en laboratorio

Los experimentos de desintegración de las películas se llevaron a cabo bajo condiciones simuladas de compostaje en laboratorio siguiendo las recomendaciones de la norma *ISO-20200:2004, "Determination of the degree of disintegration of plastic materials under simulated composting conditions in a laboratory-scale test"*. Para esto, se preparó una mezcla de

compost maduro (10% p/p) con residuos biológicos sintéticos que incluían aserrín (40% p/p), alimento para conejos (30% p/p), almidón de maíz (10% p/p), sacarosa (5% p/p), aceite de maíz (4% p/p) y urea (1% p/p). Se fijó el contenido de agua del sustrato en 55% (p/p).

Para el estudio se utilizaron fracciones de películas de 25 mm x 25 mm, las cuales se enterraron a una profundidad de 40-60 mm en cajas de vidrio perforadas conteniendo la mezcla de *compost*. Los sistemas fueron incubados a 58°C durante 17 días en una estufa de cultivo Faeta IS 2300C (Argentina), asegurando condiciones aeróbicas mediante un mezclado periódico. Se emplearon dos réplicas de cada muestra, las cuales fueron ubicadas en bandejas separadas. Las muestras se recuperaron a diferentes intervalos de tiempo, se lavaron con agua destilada y se secaron a 37°C durante 24 horas, antes de ser pesadas. La evolución del proceso se representó gráficamente a partir del grado de desintegración (D), normalizando la diferencia entre la masa inicial (m_0) y la masa recuperada (m_r) con respecto a la masa inicial (ecuación 2.11) en función del tiempo.

$$D = \frac{(m_0 - m_r)}{m_0} \times 100 \quad (2.11)$$

2.7 Bibliografía

Abd El-Rehim, H., Kamal, H., Hegazy, E. S. A., Soliman, E. S., & Sayed, A. (2018). Use of gamma rays to improve the mechanical and barrier properties of biodegradable cellulose acetate nanocomposite films. *Radiation Physics and Chemistry*, 153, 180.

Ávila Ramírez, J. A., Cerrutti, P., Bernal, C., Errea, M. I., & Foresti, M. L. (2019). Nanocomposites based on poly (lactic acid) and bacterial cellulose acetylated by an α -hydroxyacid catalyzed route. *Journal of Polymers and the Environment*, 27, 510.

Backes, E. H., Pires, L. D. N., Costa, L. C., Passador, F. R., & Pessan, L. A. (2019). Analysis of the degradation during melt processing of PLA/Biosilicate® composites. *Journal of Composites Science*, 3(2), 52.

Cerrutti, P., Roldán, P., García, R. M., Galvagno, M. A., Vázquez, A., & Foresti, M. L. (2016). Production of bacterial nanocellulose from wine industry residues: Importance of fermentation time on pellicle characteristics. *Journal of Applied Polymer Science*, 133(14), 43109.

Fischer, E. W., Sterzel, H. J., & Wegner, G. K. Z. Z. (1973). Investigation of the structure of solution grown crystals of lactide copolymers by means of chemical reactions. *Kolloid-Zeitschrift und Zeitschrift für Polymere*, 251, 980.

Hestrin, S., & Schramm, M. J. B. J. (1954). Synthesis of cellulose by *Acetobacter xylinum*. 2. Preparation of freeze-dried cells capable of polymerizing glucose to cellulose. *Biochemical Journal*, 58(2), 345.

Ilharco, L. M., Garcia, A. R., Lopes da Silva, J., & Vieira Ferreira, L. F. (1997). Infrared approach to the study of adsorption on cellulose: influence of cellulose crystallinity on the adsorption of benzophenone. *Langmuir*, 13(15), 4126.

Johar, N., Ahmad, I., & Dufresne, A. (2012). Extraction, preparation and characterization of cellulose fibres and nanocrystals from rice husk. *Industrial Crops and Products*, 37(1), 93.

Ludueña, L. N., Vecchio, A., Stefani, P. M., & Alvarez, V. A. (2013). Extraction of cellulose nanowhiskers from natural fibers and agricultural byproducts. *Fibers and Polymers*, 14, 1118.

Marin, D. C., Vecchio, A., Ludueña, L. N., Fasce, D., Alvarez, V. A., & Stefani, P. M. (2015). Revalorization of rice husk waste as a source of cellulose and silica. *Fibers and Polymers*, 16, 285.

Oliver-Ortega, H., Geng, S., Espinach, F. X., Oksman, K., & Vilaseca, F. (2021). Bacterial cellulose network from kombucha fermentation impregnated with emulsion-polymerized poly (methyl methacrylate) to form nanocomposite. *Polymers*, 13(4), 664.

Park, S., Baker, J. O., Himmel, M. E., Parilla, P. A., & Johnson, D. K. (2010). Cellulose crystallinity index: measurement techniques and their impact on interpreting cellulase performance. *Biotechnology for Biofuels*, 3, 1.

Patwa, R., Saha, N., Saha, P., & Katiyar, V. (2019). Biocomposites of poly (lactic acid) and lactic acid oligomer-grafted bacterial cellulose: It's preparation and characterization. *Journal of Applied Polymer Science*, 136(35), 47903.

Pirinc, F. T., Dağdelen, A. F., & Sarıcaoğlu, F. T. (2020). Optical and mechanical properties of bi-layer biodegradable films from poly lactic acid and bovine gelatin. *European Food Science and Engineering*, 1(1), 13.

Vázquez, A., Foresti, M. L., Moran, J. I., & Cyras, V. P. (2015). Extraction and production of cellulose nanofibers. En *Handbook of Polymer Nanocomposites. Processing, Performance and Application: Volume C: Polymer Nanocomposites of Cellulose Nanoparticles*, (p. 81). Springer.

Yang, W., Fortunati, E., Dominici, F., Kenny, J. M., & Puglia, D. (2015). Effect of processing conditions and lignin content on thermal, mechanical and degradative behavior of lignin nanoparticles/poly(lactic acid) bionanocomposites prepared by melt extrusion and solvent casting. *European Polymer Journal*, 71, 126.

Yang, W., Fortunati, E., Dominici, F., Giovanale, G., Mazzaglia, A., Balestra, G. M., & Puglia, D. (2016). Effect of cellulose and lignin on disintegration, antimicrobial and antioxidant properties of PLA active films. *International journal of biological macromolecules*, 89, 360.

Yang, W., Fortunati, E., Gao, D., Balestra, G. M., Giovanale, G., He, X., & Puglia, D. (2018). Valorization of acid isolated high yield lignin nanoparticles as innovative antioxidant/antimicrobial organic materials. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*, 6(3), 3502.

Yazdaninia, A., Khonakdar, H. A., Jafari, S. H., & Asadi, V. (2016). Influence of trifluoropropyl-POSS nanoparticles on the microstructure, rheological, thermal and thermomechanical properties of PLA. *RSC Advances*, 6(43), 37149.

Normas consultadas

ASTM D638. "Standard Test Method for Tensile Properties of Plastics". 2010.

ASTM D817. "Standard Test Methods of Testing Cellulose Acetate". 2012.

ASTM E90/E96M6-15. "Standard Test Methods for Water Vapor Transmission of Materials". 2019.

ASTM F2622-08E1. "Standard Test Method for Oxygen Gas Transmission Rate Through Plastic Film and Sheeting Using Various Sensors". 2008.

ISO-20200:2004 "Determination of the degree of disintegration of plastic materials under simulated composting conditions in a laboratory-scale test". 2004.

Hojas técnicas

Free color converter: <https://www.nixsensor.com/free-color-converter/> (visitado el 20 de diciembre de 2023).

Enlaces visitados

NatureWorks IngeoTM Biopolymer 4043D Technical Data Sheet: 3D Printing Monofilament—General Purpose Grade:
https://www.natureworkslc.com/~media/Files/NatureWorks/Technical-Documents/Technical-Data-Sheets/TechnicalDataSheet_4043D_3D-monofilament_pdf.pdf?la=en (visitado el 23 de mayo de 2024).

CAPÍTULO 3:
OBTENCIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE
NANOCELULOSAS

RESUMEN

*En el presente capítulo se resumen los resultados correspondientes a la obtención y caracterización de las nanocelulosas nativas (es decir, sin modificación química) que se usará en esta tesis para el desarrollo de materiales compuestos de matriz polimérica. Las mismas incluyen nanocelulosa bacteriana aislada de un subproducto de la elaboración de Kombucha (BNC), y nanocelulosa vegetal obtenida a partir de cáscara de arroz (VNC). Se resumen los resultados de su caracterización morfológica, estructural y térmica de las mismas, en comparación con nanocelulosa bacteriana producida por *Komagataeibacter xylinus* y con celulosa microcristalina comercial, respectivamente.*

3.1 Introducción

Como se mencionó en la introducción general de esta tesis, la celulosa es un polímero natural sumamente abundante en la naturaleza proveniente principalmente de fuentes vegetales como la madera y las fibras naturales. La celulosa también se puede obtener de otros organismos tales como algunas especies de algas, ciertos animales marinos llamados tunicados o ser sintetizada por bacterias específicas (**Charreau, Cavallo & Foresti, 2020; Dufresne, 2013; Moon et al., 2011; Nzihou, 2020**).

Respecto de los nanomateriales de celulosa o “nanocelulosas”, la norma *ISO/TS 20477:2017* define dos tipos principales: las nanofibrillas de celulosa y los nanocristales de celulosa. Las nanofibrillas de celulosa exhiben dos dimensiones externas similares en la nanoescala y una tercera dimensión significativamente mayor, están compuestas por celulosa con al menos una fibrilla elemental y contiene regiones cristalinas, paracristalinas y amorfas. Se caracterizan por tener una relación de aspecto > 10 , longitudes de hasta 100 micrones y una sección transversal de 3-100 nm. Puede contener separaciones longitudinales, entrelazamiento entre partículas o estructuras similares a redes. Por su parte, los nanocristales de celulosa son nano-objetos con estructuras cristalinas compuestas de celulosa con al menos una fibrilla elemental, que contiene predominantemente regiones cristalinas y paracristalinas. Exhiben una relación de aspecto >5 y <50 , longitudes que van desde 100 nm hasta varios micrones y una sección transversal de 3-50 nm. Generalmente no exhiben separaciones longitudinales ni entrelazamiento entre partículas ni estructuras similares a redes. En cuanto a la nanocelulosa bacteriana, está conformada por nanofibrillas de celulosa con secciones transversales de 20 a 100 nm y longitudes en el rango micrométrico (**Klemm et al., 2011; Moon et al., 2011**).

En la presente tesis se aisló nanocelulosa bacteriana a partir de un subproducto de la industria creciente del té de Kombucha, y nanocelulosa vegetal a partir de cáscara de arroz, dos descartes/subproductos de la industria alimentaria de nuestro país con potencial de valorización. En los párrafos que siguen se resumen los antecedentes más relevantes sobre las nanocelulosas bacterianas y de origen vegetal empleadas en este trabajo.

La nanocelulosa bacteriana (BNC) es químicamente igual a la celulosa de origen vegetal. Sin embargo, a diferencia de ella, no requiere pasos exhaustivos de purificación ya que es sintetizada por bacterias específicas desprovista de lignina, hemicelulosas y demás compuestos presentes en los materiales lignocelulósicos de origen vegetal. Las bacterias productoras como *Komagataeibacter xylinus* secretan nanofibrillas de celulosa que se asocian

en el medio extracelular para formar nanocintas de sección rectangular nanométrica y longitud micrométrica (**Dufresne, 2013**). En cultivos estáticos estas nanocintas se entrelazan para dar lugar a una membrana altamente hidratada ubicada en la interfaz medio de fermentación-aire.

En la producción microbiana de nanocelulosa los costos del medio de cultivo convencional de uso en laboratorio como el medio Hestrin-Schramm o HS (**Hestrin & Schramm, 1954**) pueden resultar prohibitivos para la producción a gran escala de BNC. Por tal motivo, en las últimas tres décadas se han publicado numerosas investigaciones que evalúan el uso de descartes y subproductos agroindustriales y de la industria forestal y alimentaria como fuentes de carbono y nitrógeno alternativas para formular el medio de cultivo (**Andriani, Apriyana & Karina, 2020; Fernández Corujo et al., 2016**). Entre ellos se encuentran extractos de pieles de fruta como banana, melón, ananá; melaza de remolacha, melaza de caña, suero de soja, suero de queso, glicerol de biodiesel, licor de pulpa de sulfito, licor de maceración de maíz, etc. Las materias primas mencionadas son generalmente ricas en azúcares como glucosa, fructosa, lactosa, sacarosa y xilosa (**Fernández Corujo et al., 2016; Ullah et al., 2021**). Los medios de cultivo que contienen las fuentes de carbono descritas generalmente se complementan con extracto de levadura, peptonas y/o sulfato de amonio como fuentes de nitrógeno. El macerado de maíz, la urea y el hidrolizado de pescado también se han utilizado con este propósito, aunque en menor medida (**Fernández Corujo et al., 2016**).

El grupo de Biotecnología y Materiales Biobasados del Instituto de Tecnología en Polímeros y Nanotecnología (ITPN) cuenta con amplia experiencia en la producción de BNC empleando la cepa pura de *Komagataeibacter xylinus* NRRL B-42 en medio HS y otros medios enriquecidos con macerado de maíz y fuentes de carbono variables (jarabe de glucosa, jarabe de maíz de alta glucosa, jarabe de maíz de alta fructosa, glicerol analítico, glicerol residual de la producción de biodiesel, orujo de uva y melaza de caña, entre otros), tanto en condiciones estáticas como en cultivo agitado. Asimismo, el grupo impulsó la constitución de una empresa de base tecnológica (EBT) para la producción de BNC a escala piloto (Nanocellu-ar S.R.L) ubicada en Haedo, provincia de Buenos Aires (EMPRETECNO-PAEBT n.º 101, <http://nanocellular.com.ar/>).

Por otra parte, el creciente mercado de la Kombucha -bebida producida mediante la fermentación de té empleando un cultivo simbiótico de bacterias y levaduras (SCOBY, *Symbiotic Culture Of Bacteria and Yeast*), también presenta una oportunidad para el aislamiento de nanocelulosa bacteriana ya que algunos de los microorganismos que conforman el consorcio microbiano que lleva a cabo la fermentación son bacterias productoras de BNC (**Laavanya, Shirkole & Balasubramanian, 2021**). La producción de Kombucha

normalmente se realiza utilizando medios acuosos con concentraciones de té y de azúcar de alrededor del 0.5-1.0% (p/v) y del 5-10% (p/v), respectivamente (**da Silva et al., 2022**). Al cabo de algunos días, en la superficie aireada del recipiente de fermentación se puede ver una membrana flotante constituida por nanocintas de celulosa. En la elaboración casera de Kombucha es común que la película de celulosa flotante producida durante la fermentación del té se reutilice (ya sea en su totalidad o solo una parte de ella) como inóculo para el siguiente lote. En instalaciones a mayor escala, en cambio, generalmente se utiliza té previamente fermentado como inóculo, por lo que dichas películas se descartan. En cuanto a los intervalos de fermentación y las temperaturas utilizadas, la mayoría de las contribuciones de la bibliografía mencionan cultivos durante 7-20 días, a temperaturas que oscilan entre 18°C y 30°C (**Coelho et al., 2020; Kim & Adhikari, 2020; Laavanya et al., 2021**).

Independientemente del origen de la nanocelulosa bacteriana (cultivo de una cepa única de *K. xylinus* o aislamiento a partir de la membrana flotante generada durante la producción de Kombucha), la recuperación de la BNC luego del tiempo de incubación requiere de la remoción de los restos celulares y del medio de cultivo remanente atrapados en la membrana. Para esto, suelen emplearse tratamientos con álcali diluido (NaOH o KOH 2-5% (p/v)) y posteriores enjuagues con agua destilada hasta alcanzar su pH original (**Abd El-Salam, 2012; Dima et al., 2017**). Menos frecuentemente se ha reportado el uso de NaOH combinado con NaClO₂ o H₂O₂ (**Abd El-Salam, 2012; Amarasekara, Wang & Grady, 2020**). En algunos trabajos también se ha comparado el efecto de soluciones alcalinas con el uso de agua únicamente en la purificación de BNC, demostrándose que el tratamiento alcalino fue más eficiente para la remoción de los restos celulares y del medio de cultivo (**de Sousa et al., 2021; Sederavičiūtė, Bekampienė & Domskienė, 2019**). Todos estos tratamientos pueden llevarse a cabo sobre la película entera de BNC o combinarse con algún método de ruptura mecánica de la membrana (**Dima et al., 2017**).

Dada la proliferación en los últimos años en nuestro país y en el mundo de empresas de Kombucha que exceden la escala artesanal, esta tesis propone valorizar el descarte/subproducto celulósico del proceso de elaboración de la bebida mediante el aislamiento de nanocelulosa bacteriana. Anteriormente, la membrana entera de BNC generada durante la producción de Kombucha fue empleada por otros investigadores en la formulación de compuestos con polimetilmetacrilato polimerizado por emulsión (**Oliver-Ortega et al., 2021**), en la creación de películas plastificadas con glicerol (**Ramírez Tapias et al., 2020**), en la elaboración de prendas ecológicas como alternativa a telas no biodegradables (**Kamiński et al., 2020**), y en la fabricación de apósitos para heridas (**EI-Wakil et al., 2019**), entre otros usos. También hay unas pocas contribuciones que aislaron las nanocintas de

celulosa de la membrana mediante tratamientos con álcali en distintas concentraciones combinados con procesos de microfluidización, atomización y molienda coloidal, evaluando el grado de purificación, el tamaño y el aspecto de las nanofibrillas de celulosa aisladas y las propiedades fisicoquímicas de los productos intermedios y finales (**Dima et al., 2017**).

En la segunda parte de este capítulo se aborda la obtención de nanocelulosa vegetal (VNC) a partir de cáscara de arroz, un subproducto agrícola derivado del proceso de molienda del arroz que representa aproximadamente el 20% del peso total del grano. Tradicionalmente, la cáscara de arroz se emplea como biomasa para la combustión, pirólisis o gasificación; como aislante en la industria siderúrgica, y otra parte se descarta ya que su elevado contenido de sílice (SiO_2) la vuelve indigerible para el consumo animal. Así la cáscara de arroz resulta un contaminante ambiental abundante (**Esa, Ling & Peng, 2013**) cuya valorización resulta de interés.

En el caso particular de la cáscara de arroz (que se utiliza en esta tesis) la misma se halla disponible en los arrozales en grandes cantidades (**Ludueña et al., 2013**). Su recolección y eliminación es difícil y generalmente se prefiere su dispersión en el campo junto a la paja (**Sinha et al., 2020**). Según los datos de la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (ONUAA), la producción mundial de arroz alcanzó los 516 millones de toneladas en marzo de 2023, ubicando a este cultivo en el cuarto lugar entre los más producidos a nivel mundial. China lidera la lista con 211 millones de toneladas, seguida por India con 178 millones de toneladas. En América del Sur, Brasil encabeza la producción contribuyendo con el 1.5% del total mundial. Argentina, por su parte, ha experimentado un notable aumento en su producción en la última década, alcanzando 1.6 millones de toneladas anuales, lo que representa un aumento del 121%, acompañado de un incremento del 16% en los rendimientos (https://www.argentina.gob.ar/sites/default/files/sisa_arroz_2022_2023.pdf). La abundancia de este cultivo y su difícil eliminación resaltan la necesidad de explorar métodos alternativos para agregar valor a este desecho agroindustrial, por lo que en la bibliografía se pueden encontrar numerosos trabajos en los que se exploró la purificación de celulosa y sílice a partir de este residuo.

En cuanto a los antecedentes de obtención de nanocelulosas a partir de cáscara de arroz, en la bibliografía se han reportado diversos tratamientos químicos diseñados para eliminar los componentes que rodean la celulosa y para facilitar el aislamiento de las nanofibrillas. Los procedimientos reportados inician con pasos de lavado, secado y molienda de la cáscara de arroz, y el material particulado se trata posteriormente con soluciones alcalinas (**Collazo-Bigliardi, Ortega-Toro & Boix, 2018; Islam et al., 2018; Johar, Ahmad & Dufresne, 2012;**

Rosa et al., 2012; Wang et al., 2016) promoviendo la disolución de polisacáridos solubles como las hemicelulosas y también los extractivos de bajo peso molecular. A continuación, se lleva a cabo un proceso de blanqueamiento utilizando diferentes agentes oxidantes como NaClO_2 , NaClO o NaHSO_3 (**Islam et al., 2018; Johar et al., 2012; Marin et al., 2015**) con el fin de eliminar moléculas como la lignina y otros polifenoles. En el marco de extracciones de celulosas sin compuestos clorados se han realizado también tratamientos combinando NaOH con H_2O_2 (**Rosa et al., 2012; Wang et al., 2016**). Algunas contribuciones reportaron, además, post-tratamientos con ácido clorhídrico (HCl) para remover componentes o para contribuir a exfoliar la fibra (**Castro-Guerrero et al., 2016; Delgado, 2020; Ludueña et al., 2013; Marin et al., 2015; Onoja, Ahemen & Iorfa, 2019**).

Seguidamente a la purificación de la celulosa, los protocolos de obtención de nanofibrillas de celulosa a partir de cáscara de arroz involucran tratamientos mecánicos intensivos, como por ejemplo desfibrilación empleando un molido coloidal (**Jung et al., 2021**), u homogeneización de alta presión (**Samsalee, Meerasri & Sothornvit, 2023**). Delgado *et al.* (2021) emplearon este tratamiento para la obtención de nanofibrillas de celulosa de cáscara de arroz que se utilizaron posteriormente como refuerzo de películas de biomasa de levadura (**Delgado et al., 2021**).

En las páginas que siguen, se presentan los resultados de la obtención y caracterización de las nanocelulosas nativas que se utilizan para desarrollar las películas compuestas en los siguientes capítulos. Estas nanocelulosas incluyen nanocelulosa bacteriana aislada del subproducto celulósico de la Kombucha y nanocelulosa vegetal aislada a partir de cáscara de arroz.

3.2 Resultados y discusión

3.2.1 Nanocelulosa bacteriana (BNC)

3.2.1.1 Obtención de BNC

Como se describió en la introducción del capítulo, la fuente de nanocelulosa bacteriana seleccionada en esta tesis fue un subproducto de la elaboración de Kombucha, una bebida fermentada de creciente producción y consumo en el país. Concretamente, se trabajó con las

membranas flotantes que crecen en la superficie del medio de cultivo durante la fermentación del té como ya se mencionó.

Para la producción del té de Kombucha se obtuvo el inóculo (SCOBY) de una fábrica de la bebida de la zona de CABA (Aloha Fermentos, Argentina); y se puso a punto la fermentación en cultivo estático en el laboratorio utilizando como medio de cultivo té negro endulzado con glucosa. El medio de fermentación y las condiciones de cultivo fueron análogas a las utilizadas en la fábrica, a excepción del tiempo de fermentación que se extendió a 14 días para aumentar la producción de nanocelulosa. Los detalles del proceso fueron descriptos en el capítulo de materiales y métodos.

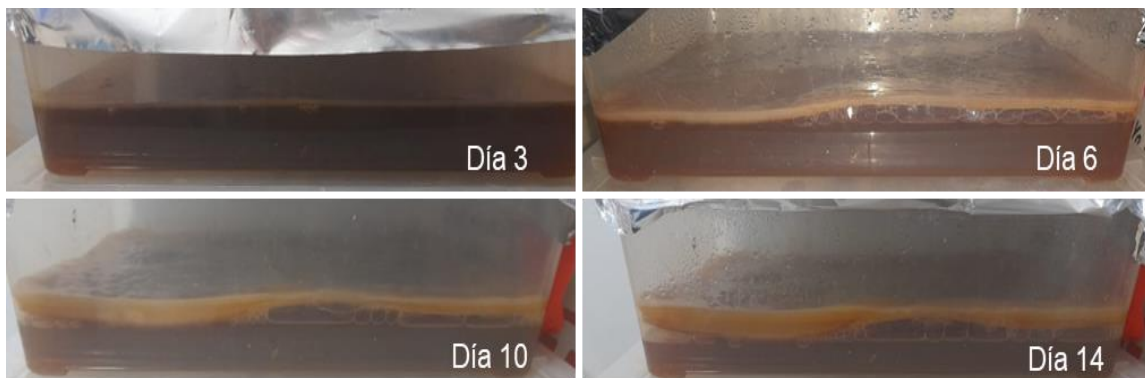


Figura 3.1. Películas flotantes desarrolladas en la interfaz aire-líquido durante la producción de té de Kombucha a distintos días de fermentación.

La **Figura 3.1** muestra imágenes de las membranas desarrolladas en la interfaz aire-medio de cultivo en función del tiempo de fermentación. A los 3 días de sembrado el inóculo ya puede observarse una delgada película que ocupa toda la superficie aireada del medio de fermentación. Dado que las bacterias productoras de nanocelulosa son aeróbicas, la película de celulosa se forma únicamente en la interfaz aire-líquido y se adapta a la forma del contenedor. El grosor de la película flotante aumenta con el tiempo de cultivo.



Figura 3.2. Película flotante desarrollada en la interfaz aire-líquido durante la producción de té de Kombucha recuperada luego de 14 días de cultivo.

La **Figura 3.2** corresponde a una membrana típica recuperada luego de 14 días de cultivo, con espesores en torno a 2-3 cm. La producción en términos de peso húmedo de membrana por unidad de volumen de medio de cultivo utilizado estuvo en torno a 500 g/L. Debido al alto poder de retención de líquido característico de las redes de nanofibrillas de celulosa (**Abba et al., 2017; Nyakuma et al., 2022**), el contenido de sólidos de las membranas es como máximo del 5%. Por otro lado, el color marrón de la membrana observado en la figura ha sido atribuido a la presencia de melanoidinas resultantes de la reacción de Maillard entre los grupos amino de las proteínas y los grupos carbonilo de los azúcares reductores presentes en el té (**Dima et al., 2017; Wang, Qian & Yao, 2011**).

Las membranas obtenidas fueron purificadas por distintos tratamientos adaptados de la bibliografía, a fin de remover las células y los remanentes del medio de cultivo que pudieran haber quedado atrapados en la red intrincada de nanocintas de celulosa. Si bien se conoce que la remoción de residuos no celulósicos y microorganismos generalmente se ve facilitada por tratamientos alcalinos, en este trabajo de tesis también se evaluó la efectividad de protocolos que solo implicaron sucesivos lavados con agua. Los tratamientos implementados y los nombres de los materiales recuperados (“BNC - Kombucha A”; “BNC - Kombucha B” y “BNC - Kombucha C”) se resumen en la **Tabla 3.1**. Debido a la capacidad de hinchamiento de la celulosa, en todos los casos se obtuvieron suspensiones con apariencia de gel, con contenidos de sólidos entre 1.0 y 1.5%.

Tabla 3.1. Protocolos de purificación de la película flotante y muestras de BNC - Kombucha recuperadas.

Tratamiento de purificación empleado	Lavados con agua	Tratamiento alcalino	Temperatura (°C)	Tiempo (h)	Nombre del producto obtenido
Protocolo A	Sí	-	20	-	"BNC - Kombucha A"
Protocolo B	Sí	500 g de membrana entera/1 L de solución de NaOH 0.5 M	70	4	"BNC - Kombucha B"
Protocolo C	Sí	500 g de membrana licuada/1 L de solución de KOH 0.9 M	20	14	"BNC - Kombucha C"

El protocolo A consistió en diez etapas de lavado de las membranas con agua corriente a temperatura ambiente, en una relación 500 g de membrana/1 L de agua, sin tratamiento alcalino posterior. Por otro lado, el protocolo B se adaptó de Oliver-Ortega *et al.* (2021), quienes lo aplicaron a membranas enteras obtenidas tras una fermentación de 14 días a temperatura ambiente de té negro (10 g/L) endulzado con 60 g/L de glucosa. La purificación de la celulosa consistió en colocar las películas lavadas en una solución de NaOH 0.5 M a 70°C durante 4 horas (Oliver-Ortega *et al.*, 2021). Seguidamente, se realizaron sucesivos lavados con agua destilada a temperatura ambiente hasta registrar el pH del agua destilada en las aguas de lavado. Por último, en el protocolo C las membranas lavadas con agua corriente fueron licuadas en una solución de KOH 0.9 M durante 4 minutos, conservadas en álcali durante 14 horas a temperatura ambiente y por último enjuagadas exhaustivamente con agua destilada. Este protocolo es aplicado habitualmente en el ITPN para remover restos de medio de cultivo y lisar las células en la producción convencional de BNC utilizando una cepa única de *K. xylinus* (Ávila Ramírez *et al.*, 2019; Cerrutti *et al.*, 2016; Vázquez *et al.*, 2013).

En las páginas que siguen se describen los resultados de la caracterización morfológica, estructural y térmica de la membrana celulósica flotante recuperada de la producción de Kombucha previo a cualquier tipo de lavado y purificación ("Película flotante no purificada") y

de los materiales obtenidos siguiendo cada protocolo de purificación (“BNC - Kombucha A”, “BNC - Kombucha B” y “BNC - Kombucha C”). Los resultados en todos los casos se comparan con aquellos obtenidos para la BNC producida convencionalmente en el grupo de trabajo usando una cepa pura de *K. xylinus* (“BNC - *K. xylinus*”) en un medio de cultivo de glicerol y macerado de maíz bajo condiciones de fermentación optimizadas en trabajos previos y purificada por el protocolo C (referencia) según se indicó en el capítulo de materiales y métodos (Ávila Ramírez *et al.*, 2019; Cerrutti *et al.*, 2016; Vázquez *et al.*, 2013).

3.2.1.2 Caracterización de BNC

La **Figura 3.3** agrupa fotografías y micrografías SEM de las distintas muestras. En las fotografías se evidencia una reducción progresiva del color marrón característico de la película flotante original, según el protocolo de purificación implementado. Otros investigadores relacionaron esta disminución en la coloración marrón con la eliminación de las melanoidinas residuales de la fermentación. Dima *et al.* (2017) emplearon soluciones de NaOH 1M y 4M para la purificación de películas flotantes similares a las obtenidas en este trabajo de tesis obtenidas mediante la fermentación de té verde endulzado con jarabe de maíz de alta fructosa durante 30 días a 23°C. Los autores observaron que el tratamiento con la solución alcalina de menor concentración resultó en una membrana de color *beige* claro, mientras que el tratamiento con la solución alcalina de mayor concentración permitió remover por completo los compuestos coloreados (Dima *et al.*, 2017).

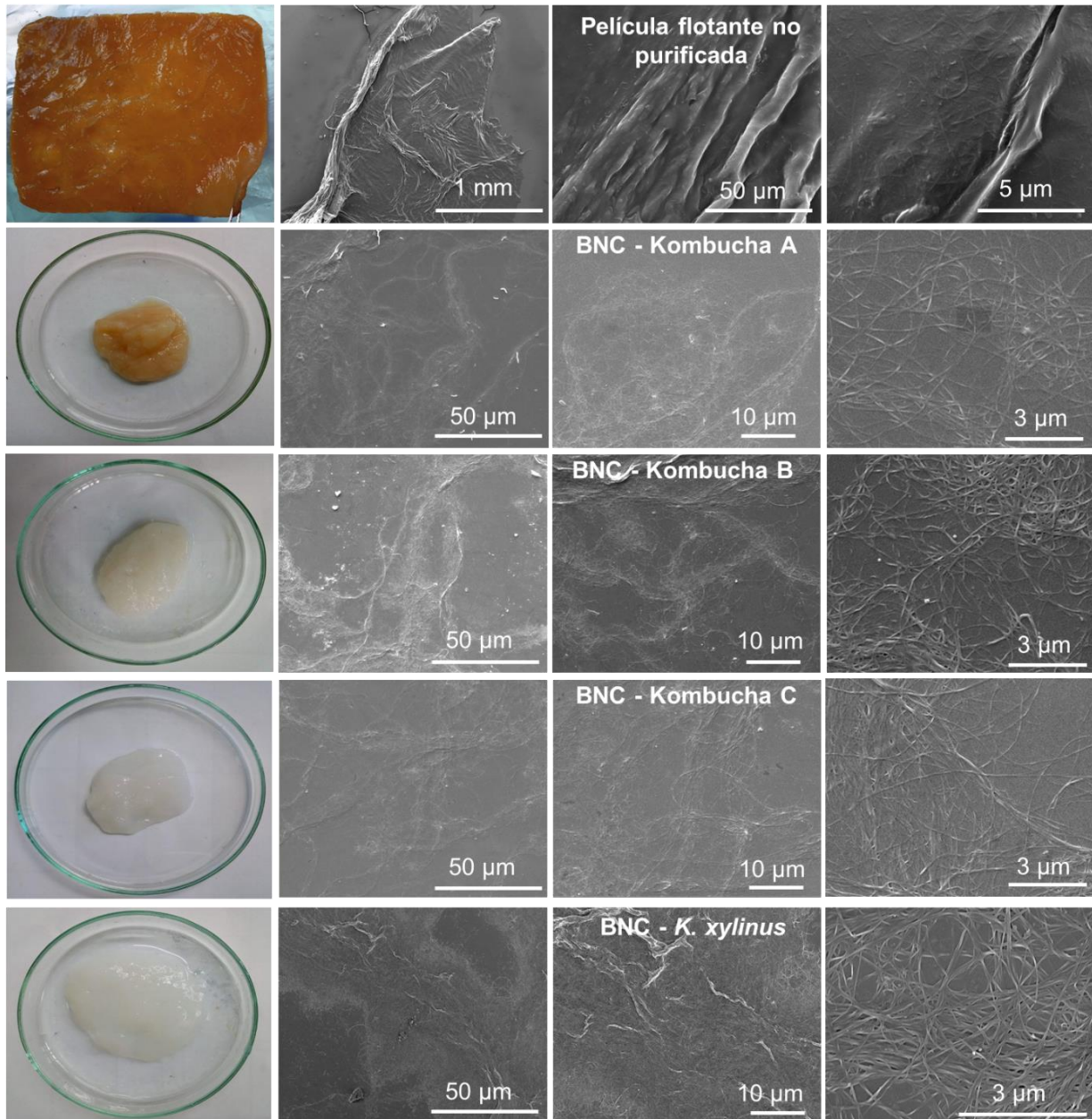


Figura 3.3. Fotografías y micrografías obtenidas por microscopía electrónica de barrido de la película flotante no purificada desarrollada durante la producción de Kombucha, muestras de BNC - Kombucha recuperadas de la purificación de la película mediante los tratamientos A, B y C; y BNC producida por *K. xylinus*.

En cuanto a las micrografías de la película flotante no purificada recolectada de la superficie del té fermentado (**Figura 3.3**, fila superior), se pueden distinguir en las imágenes algunas células bacterianas, así como cintas de celulosa bacteriana típicas de longitud micrométrica y ancho nanométrico entrelazadas dentro de una matriz continua. Observaciones similares fueron previamente reportadas por otros autores abocados a la caracterización de las películas flotantes de la producción de Kombucha. Siguiendo el trabajo de Dima *et al.* (2017), los autores observaron en las micrografías de la membrana sin tratamiento la presencia de conglomerados celulósicos orientados azarosamente, rodeados por una fase homogénea que asociaron a melanoidinas (**Dima *et al.*, 2017**). Resultados similares fueron informados por de Sousa *et al.* (2021) para membranas cultivadas durante 7-10 días de fermentación de té negro a temperatura ambiente (**de Sousa, 2021**). Por otro lado, Ramírez Tapias *et al.* (2020) también observaron mediante microscopía que las superficies de las películas obtenidas al fermentar té negro endulzado con sacarosa durante 21 días a 22°C mostraban una matriz homogénea y continua de melanoidinas y nanofibrillas en forma de cinta (**Ramírez Tapias *et al.*, 2020**).

Por otro lado, en la **Figura 3.3** (filas centrales) las micrografías de las muestras de BNC recuperadas mediante los distintos protocolos de purificación muestran nanocintas entrelazadas, con la morfología característica de las nanofibrillas de celulosa bacteriana, y similares a las obtenidas empleando la cepa pura de *K. xylinus* (última fila de la figura). Según mediciones realizadas con el programa *ImageJ*, en todos los casos las nanocintas presentaron anchos de 60 ± 20 nm y largos de varios micrones. En algunas de las micrografías, especialmente en la muestra BNC - Kombucha A, donde solo se lavó la membrana con agua a temperatura ambiente, también se pueden distinguir algunas células bacterianas. La presencia de microorganismos en membranas lavadas únicamente con agua también fue reportada por de Sousa *et al.* (2021). Sin embargo, en las micrografías correspondientes a la nanocelulosa obtenida después de aplicar un tratamiento alcalino a la membrana (NaOH 0.5M; 80°C; 15 min), los autores indicaron que los restos celulares lograron ser removidos (**de Sousa *et al.*, 2021**).

El espectro infrarrojo por transformada de Fourier (FTIR) de la película flotante no purificada (**Figura 3.4**) exhibe absorbancias típicas de la celulosa bacteriana presentes en el espectro de BNC - *K. xylinus*, tales como aquellas encontradas en la región de $3700-3000$ cm^{-1} que corresponden a la vibración de estiramiento de los enlaces O-H presentes en carbohidratos; bandas en el intervalo de $3000-2800$ cm^{-1} atribuidas al estiramiento de enlaces C-H presentes en grupos metilo y metileno de la celulosa; y señales menos definidas dentro del rango $1450-900$ cm^{-1} asociadas con la flexión simétrica de CH_2 y con la flexión en el plano de los grupos -OH, con la unión C-O-C del enlace glicosídico ($1170-1060$ cm^{-1}) y con la banda típica del

enlace tipo β presente en polímeros de glucosa (898 cm^{-1}). La absorbancia centrada en 1640 cm^{-1} está asociada con la flexión de los grupos $-\text{OH}$ de moléculas de agua adsorbidas (Cerrutti *et al.*, 2016; Song, Birbach & Hinestroza, 2012; Wang *et al.*, 2013).

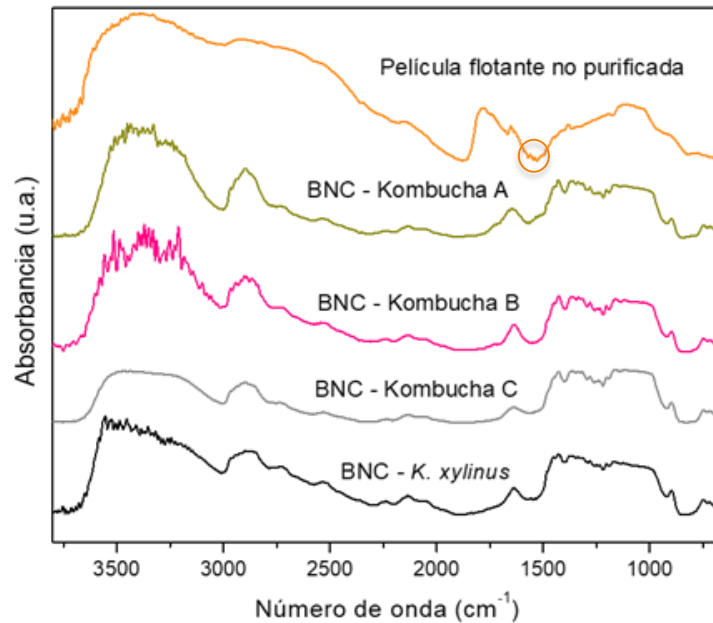


Figura 3.4. Espectros infrarrojo de la película flotante no purificada, muestras de BNC - Kombucha recuperadas de los tratamientos A, B y C; y BNC producida por *K. xylinus*.

Además, la película flotante también muestra otras bandas de absorción que no son típicas de la celulosa y que no se encuentran en la BNC - *K. xylinus*. Por ejemplo, aquellas observadas entre 1780 y 1740 cm^{-1} que fueron previamente asignadas al estiramiento del enlace $\text{C}=\text{O}$ de ésteres de compuestos remanentes de la fermentación (como acetatos), y otras bandas relacionadas con la presencia de proteínas, ácidos nucleicos y residuos celulares, como las observadas en el rango de 1560 - 1510 cm^{-1} (encerradas en un círculo), a menudo atribuidas a grupos $-\text{NH}$ de amida II en proteínas. En el espectro infrarrojo de la membrana sin purificar, Dima *et al.* (2017) reportaron la presencia de una banda adjudicada a este enlace centrada en 1542 cm^{-1} . Adicionalmente, Sederavičiūtė *et al.* (2019) informaron resultados similares a partir del análisis del espectro infrarrojo de una película sin purificar obtenida por fermentación durante siete días en condiciones estáticas de un medio de cultivo preparado con té verde endulzado con sacarosa y conteniendo extracto de levadura (Sederavičiūtė *et al.* 2019).

En cuanto a las muestras recuperadas de los tres protocolos de purificación implementados, todos los espectros muestran las absorbancias típicas de la celulosa previamente mencionadas, que coinciden con las bandas observadas en la muestra de BNC - *K. xylinus* tomada como referencia. Además, en la muestra BNC - Kombucha A, todavía se esboza la banda de absorción asociada con el estiramiento de C=O de compuestos de acetato (alrededor de 1730 cm^{-1}), así como la banda relacionada con los grupos -NH de amida II en proteínas (alrededor de 1530 cm^{-1}) descritas para la película flotante no purificada. Lo anterior sugiere que los lavados con agua no fueron suficientes para la eliminación completa de los residuos de fermentación. En el espectro de BNC - Kombucha B también puede identificarse una señal muy pequeña centrada en 1730 cm^{-1} . En cambio, ninguna de las señales es evidente en el espectro de BNC - Kombucha C, en el que solo se observan las señales propias de la celulosa bacteriana.

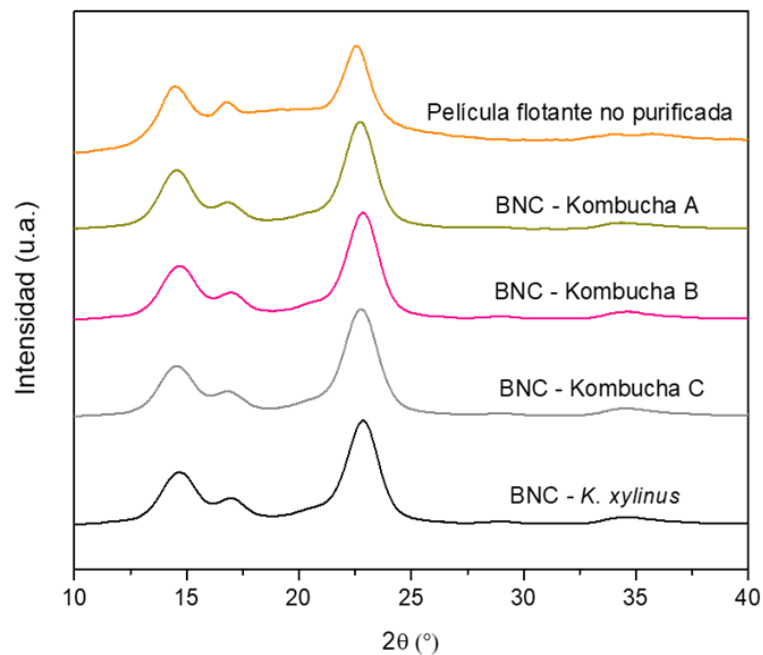


Figura 3.5. Difractogramas de rayos X de la película flotante no purificada, muestras de BNC - Kombucha recuperadas de los tratamientos A, B y C; y BNC producida por *K. xylinus*.

La **Figura 3.5** recopila los difractogramas de rayos X de todas las muestras (película flotante no purificada, muestras de BNC - Kombucha purificadas y BNC - *K. xylinus*). En todos ellos se pueden identificar tres picos de difracción principales centrados en $2\theta = 14.5^\circ$, 16.8° y 22.7° . En las muestras de BNC - *K. xylinus* y en las muestras de BNC - Kombucha recuperadas de los protocolos de purificación se esbozan además señales mucho menos

intensas en 20.5° y 34.5° . En el caso del difractograma de la película no purificada, estos picos no logran visualizarse con claridad debido a la presencia de impurezas remanentes de la fermentación, por lo que no se puede calcular el ICr.

Los picos descritos son característicos de la celulosa I, polimorfo propio de las celulosas de origen natural. Si bien, independientemente de la fuente de la que se la extraiga se sabe que en estas celulosas se da una coexistencia de los polimorfismos de la celulosa I del tipo α y β , la literatura indica que la celulosa de origen bacteriano suele contar con una mayor contribución del polimorfismo α ; mientras que la celulosa vegetal está mayormente compuesta por celulosa β (**French, 2014; Moon et al., 2011**).

En efecto, el patrón de la BNC se correspondería con el de la celulosa α propuesto por French sobre patrones idealizados (**French, 2014**). Siguiendo la asignación de los planos de red propuestas por este autor, las señales observadas en la **Figura 3.5** pueden asignarse según: $2\theta=14.5^\circ$ (plano 100), 16.8° (plano 010), 20.5° (planos 012 y 102, señales de baja intensidad frecuentemente superpuestas), 22.7° (plano 110) y 34.5° (varios planos de red). La presencia de estos picos de difracción concuerda con lo reportado por estudios previos para nanocelulosa de Kombucha (**Dima et al., 2017; Sederavičiūtė et al., 2019; Sharma et al., 2019**), así como para BNC obtenida con *K. xylinus* (**Ávila Ramírez et al., 2019; Bi et al., 2014; Cerrutti et al., 2016; French, 2014; Khan et al., 2021**).

Los difractogramas de rayos X de la celulosa brindan información valiosa sobre la fracción de material cristalino presente. En los últimos noventa años, la determinación del índice de cristalinidad de la celulosa (ICr) ha sido abordada a partir de diversas estrategias de tratamiento de los difractogramas de rayos X, así como también de los espectros de resonancia magnética nuclear de carbono 13 en estado sólido. El trabajo de Park *et al.* (2010) resume las bases, alcances y limitaciones de algunos de los métodos más utilizados al efecto, destacando además las diferencias en los valores absolutos de ICr obtenidos según el método utilizado y la importancia de su consideración a la hora de realizar comparaciones (**Park et al., 2010**). Tres de las estrategias más utilizadas en la literatura para determinar el ICr de la celulosa se ejemplifican en la **Figura 3.6** en difractogramas correspondientes a la muestra BNC - *K. xylinus*.

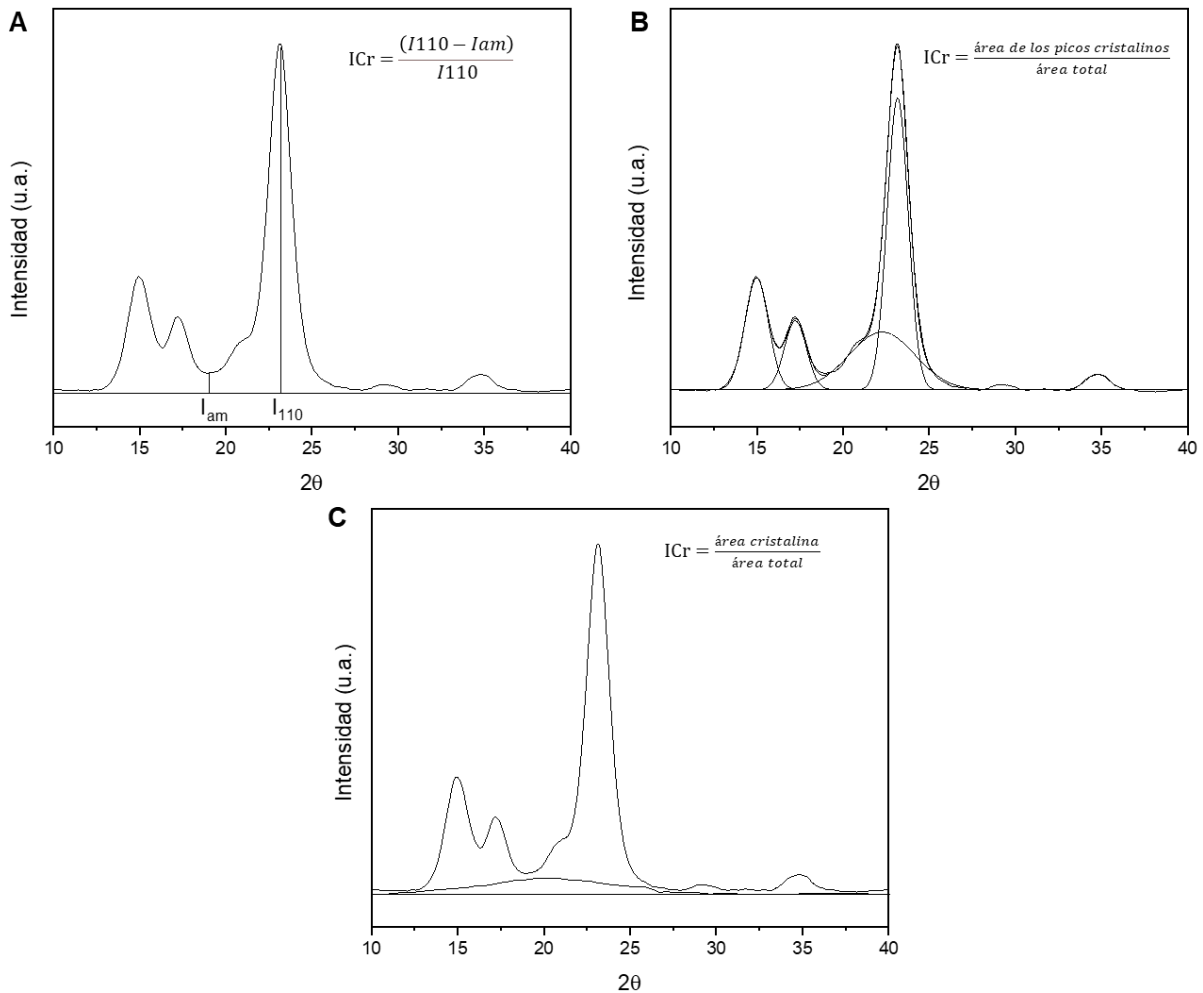


Figura 3.6. Difractogramas de rayos X de BNC producida por *K. xylinus* ilustrando los métodos más comunes para el cálculo del índice de cristalinidad de la muestra (ICr): (A) método de la altura del pico o método de Segal, (B) método de deconvolución y (C) método de sustracción amorfa o de las dos fases.

El primero de los métodos conocido como el método de la altura del pico o método de Segal (en adelante “método 1”), es un método empírico desarrollado por Segal *et al.* (1959) con el propósito de realizar determinaciones sencillas del ICr que facilitarían una comparación rápida entre muestras de celulosa. En este método el índice de cristalinidad se obtiene a partir de la resta entre la intensidad total (tomada como la altura del pico de máxima intensidad ubicado en el plano de red 110 para la celulosa α según **French, 2014**) y la altura del mínimo (I_{am}) entre los picos localizados en los planos 100 y 110 sobre la intensidad total (como se ilustra en la **Figura 3.6a**). Aunque este método es útil para comparar diferencias relativas entre muestras, se conoce que no es adecuado para estimar valores absolutos de cristalinidad de

una muestra de celulosa, ya que la posición mínima entre los picos 100 y 110 no siempre coincide con la altura máxima de la señal amorfa, cuya ubicación puede variar. Además, este enfoque se basa únicamente en un pico como representación de la región cristalina y otra señal como representativa de la región amorfa, sin considerar la contribución de otros picos ni sus anchos (**Park et al., 2010**).

El segundo método, conocido como el método de deconvolución (en adelante “método 2”), consiste en modelar los picos observados en los difractogramas adquiridos con picos que se ajustan a determinadas funciones. Para poder utilizarlo se requiere de un *software* capaz de hacer el modelado como el utilizado en esta tesis (*OriginPro 2021*), y se deben hacer suposiciones respecto de la forma y el número de picos (**Figura 3.6b**). Para la deconvolución de los difractogramas se utilizan comúnmente funciones Gaussianas, Lorentzianas y de Voigt, y el ICr se calcula a partir de la relación entre la suma del área de todos los picos cristalinos y el área total. Según Park et al. (2010), el máximo de la señal amorfa se ubica alrededor de 21.5°. Una suposición importante para este análisis es que la contribución amorfa es el principal contribuyente al ensanchamiento de los picos. Sin embargo, además del contenido amorfo, existen otros factores intrínsecos que influyen en este ensanchamiento, como el tamaño del cristalito y la deformación no uniforme dentro del cristal (**Park et al., 2010**).

El siguiente método de determinación de ICr basado en los difractogramas de rayos X, conocido como el método de sustracción amorfa (en adelante “método 3”), fue establecido por Ruland. El mismo implica restar la contribución amorfa del difractograma utilizando el espectro de una muestra de celulosa amorfa estándar. Se han utilizado varios materiales como estándares amorfos, como por ejemplo celulosa molida o regenerada, cuyo difractograma se resta del original luego de aplicar un factor de escala para que ninguna parte del difractograma generado luego de la resta contenga una señal negativa (**Figura 3.6c**). El ICr se calcula entonces como la relación entre el área de la contribución cristalina y el área total (**Ruland, 1961**).

Park et al. entre otros autores (**Bernardinelli et al., 2015; Foston et al., 2011; Teeäär, Serimaa, & Paakkari, 1987**), también describieron y emplearon el cálculo del ICr a partir de espectros de resonancia magnética nuclear de carbono 13 en estado sólido (en adelante “método 4”), el cual se explicará más adelante en este capítulo. La bibliografía acuerda en que dado que los métodos 2, 3 y 4 consideran las contribuciones de la celulosa amorfa y cristalina de todo el espectro, son más precisos que el método 1, que solo compara alturas relativas (**Ahvenainen et al., 2016; Nam et al., 2016; Salem et al., 2023**). A pesar de esto, en un análisis realizado sobre 244 artículos publicados entre 2010 y 2014, se evidenció que el

método más común para determinar la cristalinidad de la celulosa mediante DRX es el método de la altura del pico o método de Segal (método 1), que fue utilizado en el 64% de los casos; mientras que los métodos de deconvolución de picos y de la sustracción amorfa fueron empleados en el 25% y el 2% de los artículos, respectivamente (**Ahvenainen et al., 2016**). Para las nanocelulosas en general, y para la nanocelulosa bacteriana en particular, la revisión de la bibliografía sugiere que el método 1 es usado aún en mayor proporción que para la celulosa, siendo definitivamente el método más común usado en la bibliografía para calcular el ICr a pesar de las limitaciones descriptas.

En la **Tabla 3.2** se exhiben los ICr calculados según los métodos descriptos derivados del análisis de los difractogramas de rayos X para las muestras de BNC aisladas de la membrana obtenida como subproducto de la elaboración de Kombucha y purificadas mediante los protocolos A, B y C. Los resultados se comparan con los obtenidos para la muestra BNC - *K. xylinus*. El ICr de la película flotante no purificada no se calculó debido a la presencia de impurezas que podrían afectar los resultados.

Tabla 3.2. Índices de cristalinidad (ICr) de las muestras de BNC - Kombucha recuperadas de los tratamientos A, B y C; y BNC producida por *K. xylinus*.

Muestra	ICr (% , método 1)	ICr (% , método 2)	ICr (% , método 3)
BNC - <i>K. xylinus</i>	94±1	74±1	72±3
BNC - Kombucha A	94±1	77±1	71±3
BNC - Kombucha B	94±1	76±1	68±3
BNC - Kombucha C	94±1	77±1	72±3

En primera instancia, los índices de cristalinidad presentados en la **Tabla 3.2** ilustran las diferencias en los valores absolutos obtenidos con cada método, en acuerdo con lo descripto por Park *et al.* (2010) y también alertado por otros autores que relevaron el tema y resaltaron la imposibilidad de comparar valores de ICr calculados por distintos métodos (**Salem et al., 2023**). En efecto, en acuerdo con la bibliografía, los ICr obtenidos empleando el método 1 fueron más altos que aquellos calculados por los métodos 2 y 3, que tienen en consideración las contribuciones de la celulosa amorfa y cristalina de todo el difractograma. En cuanto a la comparación entre muestras, no se encontraron diferencias significativas en los valores de ICr derivadas del protocolo de purificación, para ningún método de cálculo de la cristalinidad empleado.

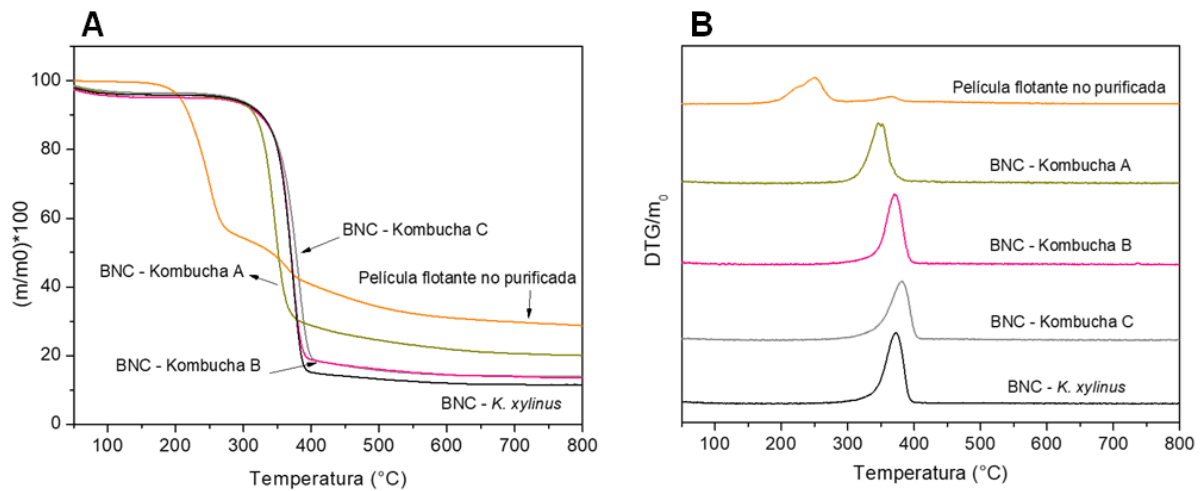


Figura 3.7. (A) Curvas TG y (B) curvas DTG de la película flotante no purificada, muestras de BNC - Kombucha recuperadas de los tratamientos A, B y C; y BNC producida por *K. xylinus*.

El análisis termogravimétrico de la película flotante no purificada se muestra en la **Figura 3.7**. La curva de pérdida de peso correspondiente (**Figura 3.7a**) muestra una primera pérdida menor al 1% en el intervalo de RT-130°C, asociada con la pérdida de humedad. La siguiente pérdida de peso observada en el rango de 150-290°C ha sido previamente atribuida a la descomposición de compuestos fenólicos presentes en el té que permanecen en la película no purificada, así como a fosfolípidos, proteínas, ácidos nucleicos y restos celulares derivados de microorganismos (**Delgado et al., 2018; Xia et al., 2015**). Esta segunda pérdida de peso representa el 44% del peso total de la película y resulta en un pico ancho en la curva de DTG con una temperatura máxima de descomposición centrada en 250°C (**Figura 3.7b**). Para la película flotante no purificada, el valor de Tonset -definida en este trabajo de tesis como la temperatura a la que la muestra acumula una pérdida de masa del 10% respecto de la masa inicial después de la deshidratación- fue de 221°C. Por último, se observa una tercera pérdida de peso del 18% en el intervalo de 290-420°C, con un valor de T_{máx} de 366°C, asociada con el proceso principal de descomposición de la celulosa (**Cerrutti et al., 2016; Ramírez Tapias et al., 2020**), y un residuo a 800°C elevado.

Las curvas de TG y DTG de las distintas muestras de BNC - Kombucha y de BNC - *K. xylinus* también se incluyen en la **Figura 3.7**. En las curvas de pérdida de peso (**Figura 3.7a**), se puede observar que todas las muestras de BNC presentan dos eventos de descomposición: el primero que resulta en una pérdida de peso de aproximadamente el 4%

desde condiciones ambientales hasta 130°C; asociado con la deshidratación de las muestras (**Cerrutti et al., 2016**); seguido de una gran pérdida de peso que ocurre principalmente en el rango de 220-400°C, atribuida a la descomposición de la celulosa (**Ramírez Tapias et al., 2020; Vazquez et al., 2013**). El porcentaje de pérdida de peso asociado con este evento es mucho mayor para las muestras de BNC purificada que para la película flotante original, y es consistente con los valores reportados en la bibliografía, al igual que las temperaturas características de la descomposición térmica de la BNC. *Bhattacharya et al.* (2021), por ejemplo, evaluaron la descomposición térmica de la BNC producida por una cepa aislada de *K. xylinus* SGP8, y registraron una pérdida significativa de peso (~75%) en el rango de 300°C-380°C que relacionaron con la despolimerización de la celulosa (**Bhattacharya et al., 2021**).

Comparando ahora las curvas de las nanocelulosas de Kombucha obtenidas por los distintos protocolos de purificación, las muestras BNC - Kombucha B y BNC - Kombucha C exhiben valores más altos de Tonset y T_{máx} que BNC - Kombucha A, con valores típicos de la nanocelulosa bacteriana obtenida con *K. xylinus* (**Cerrutti et al., 2016**). Por otro lado, los valores de masa residual a 800°C de la BNC - Kombucha derivada de los tratamientos B y C son similares a los de la muestra BNC - *K. xylinus*, mientras que la descomposición a alta temperatura para BNC - Kombucha A registra valores más elevados que sugieren la presencia de impurezas térmicamente estables en la muestra que no tuvo tratamiento alcalino. *Amarasekara et al.* (2020) obtuvieron resultados comparables a partir del análisis termogravimétrico de membranas obtenidas por fermentación de té negro endulzado con sacarosa, purificadas mediante cuatro protocolos distintos, reportando que los tratamientos de purificación más exhaustivos conllevaron a porcentajes de residuos a 600°C inferiores (**Amarasekara et al., 2020**).

Globalmente, los resultados de SEM, FTIR, DRX y TGA presentados hasta el momento indican que el tratamiento alcalino de las películas obtenidas como subproducto de la elaboración de Kombucha (protocolos B y C) permite un fácil aislamiento de nanofibrillas de celulosa bacteriana, con morfología, estructura química, cristalinidad y patrón de descomposición térmica análogos a los de la BNC obtenida empleando una cepa pura de *K. xylinus* en condiciones de cultivo mucho más estrictas que las que permite un consorcio microbiano como el utilizado en la producción de Kombucha (SCOBY), donde el ecosistema de microorganismos puede autorregularse y mantenerse en equilibrio (**Laavanya et al., 2021**). Entre los protocolos de purificación B y C, se seleccionó el C por las observaciones derivadas del análisis infrarrojo y también debido a que -a pesar de implicar más tiempo y una mayor concentración de álcali- no requiere calentamiento. El protocolo C fue el utilizado entonces para llevar a cabo la purificación de toda la BNC utilizada en esta tesis, ampliándose su

caracterización en lo que respecta a estructura química a partir de su espectro de resonancia magnética nuclear de carbono 13 en estado sólido (CP/MAS- ^{13}C RMN) en comparación con el de la BNC de *K. xylinus* (**Figura 3.8**), e imágenes de microscopía de fuerza atómica que permitieron estimar la longitud de las nanocintas de BNC obtenidas (**Figura 3.9**).

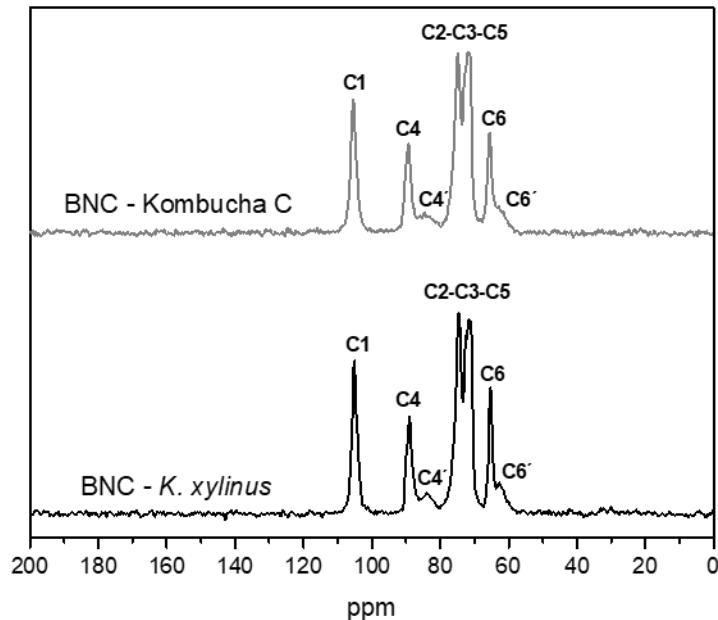


Figura 3.8. Espectros de resonancia magnética nuclear de carbono 13 en estado sólido (CP/MAS- ^{13}C RMN) de BNC - Kombucha recuperada del tratamiento C y BNC producida por *K. xylinus*.

La **Figura 3.8** muestra el espectro de resonancia magnética nuclear de carbono 13 en estado sólido (CP/MAS- ^{13}C RMN) de la BNC purificada por el tratamiento C, en comparación con el de la BNC obtenida con la cepa de *K. xylinus* según protocolos de uso habitual en el grupo de trabajo. En ambos casos se observan las señales características de los carbonos de la celulosa tipo I: C1 (105.1 ppm), C4 (89.1 ppm), *cluster* de carbonos C2 - C3 - C5 (intervalo 80-69 ppm, señales superpuestas) y C6 (65.3 ppm) (**Jandura, Kokta & Riedl, 2000; Yamamoto, Horii & Hirai, 2006**). Por otra parte, las señales asignadas como C4' (84.1 ppm) y C6' (62.7 ppm), han sido previamente asignadas a los carbonos de los componentes amorfos o desordenados de la nanocelulosa que aparecen a campos más altos que los carbonos correspondientes a la forma cristalina (C4 y C6) (**Atalla & VanderHart, 1984; Cunha et al., 2014; Park, Baker, Himmel, Parilla & Johnson, 2010**). La ausencia de señales que indiquen la existencia de otros carbonos con entornos químicos diferentes, así como la gran

similitud del espectro de la BNC derivada del subproducto de la Kombucha con el de la BNC - *K. xylinus*, confirman la elevada pureza de la BNC obtenida, destacando su oportunidad de valorización.

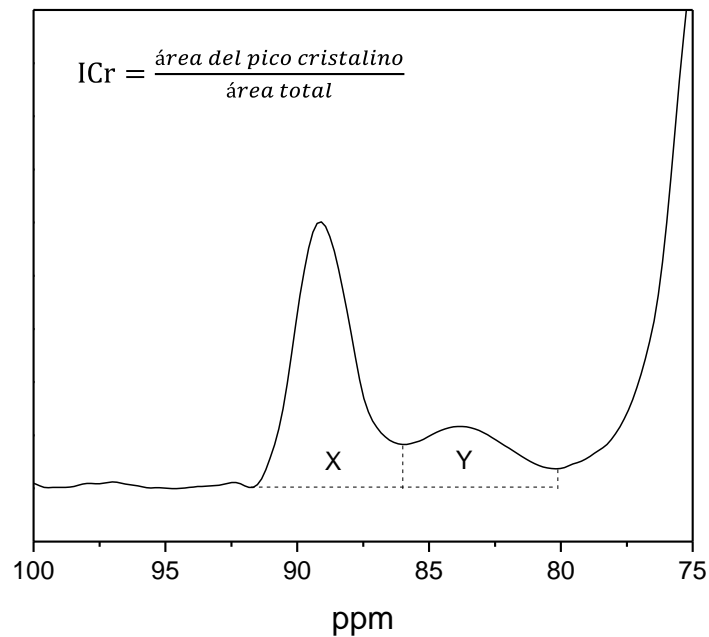


Figura 3.9. Espectro de resonancia magnética nuclear de carbono 13 en estado sólido (CP/MAS-¹³C RMN) de BNC producida por *K. xylinus* ilustrando el método basado en esta técnica para el cálculo del índice de cristalinidad.

Retomando los métodos presentados por Park *et al.* (2010) para calcular el índice de cristalinidad de muestras de celulosa, la técnica de resonancia magnética nuclear de carbono 13 en estado sólido también ofrece esta posibilidad. En este caso, el ICr se calcula dividiendo el área del pico cristalino de C4 ubicado entre 87 y 93 ppm por el área total asignada a las resonancias del C4 (región entre 80 y 93 ppm). El método se ejemplifica en la **Figura 3.9**, en el espectro de BNC - *K. xylinus*. El ICr calculado mediante este método para la muestra BNC - Kombucha C fue de $62 \pm 2\%$, sin diferencias significativas con el calculado para la muestra BNC - *K. xylinus* ($60 \pm 2\%$). Estas similitudes en los valores de ICr coinciden con los resultados obtenidos mediante el cálculo de los ICr empleando los difractogramas de rayos X, aunque los valores absolutos son diferentes, como indica la bibliografía (**Ahvenainen *et al.*, 2016; Nam *et al.*, 2016; Park *et al.*, 2010; Salem *et al.*, 2023**).

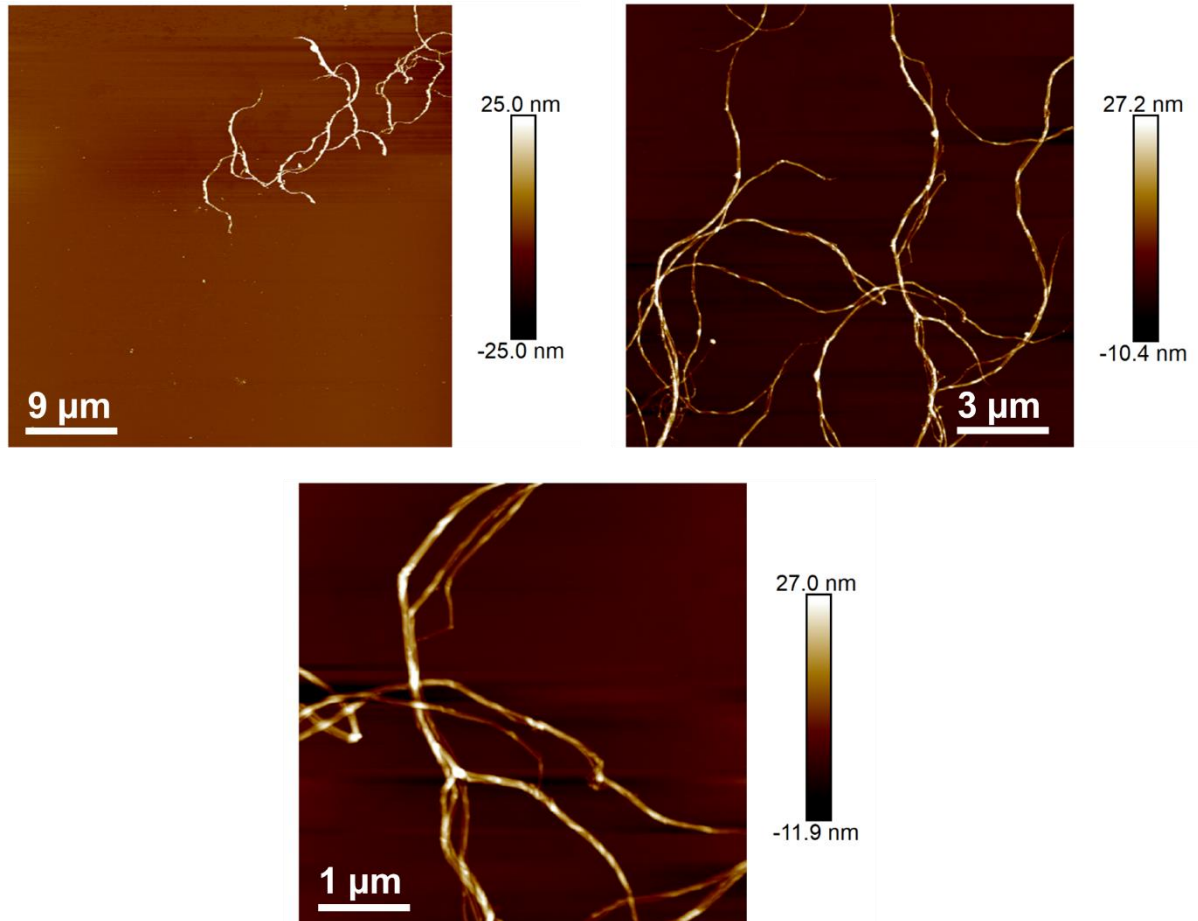


Figura 3.10. Imágenes obtenidas por microscopía de fuerza atómica de BNC - Kombucha recuperada del tratamiento C.

Por último, en la **Figura 3.10**, se exhiben las imágenes adquiridas por microscopía de fuerza atómica (AFM) de suspensiones acuosas de BNC - Kombucha C. Las imágenes permitieron inferir la longitud de las nanocintas de BNC, que registraron valores que en su gran mayoría superan la decena de micrones

3.2.2 Nanocelulosa vegetal (VNC)

3.2.2.1 Obtención de VNC

Además de la nanocelulosa de origen bacteriano procedente de un subproducto de la Kombucha obtenida y caracterizada en las secciones anteriores, en el presente capítulo se

aborda también el aislamiento y caracterización de una nanocelulosa de origen vegetal (VNC) utilizando como fuente de celulosa un descarte de la industria alimentaria nacional como es la cáscara de arroz (**Figura 3.11**).

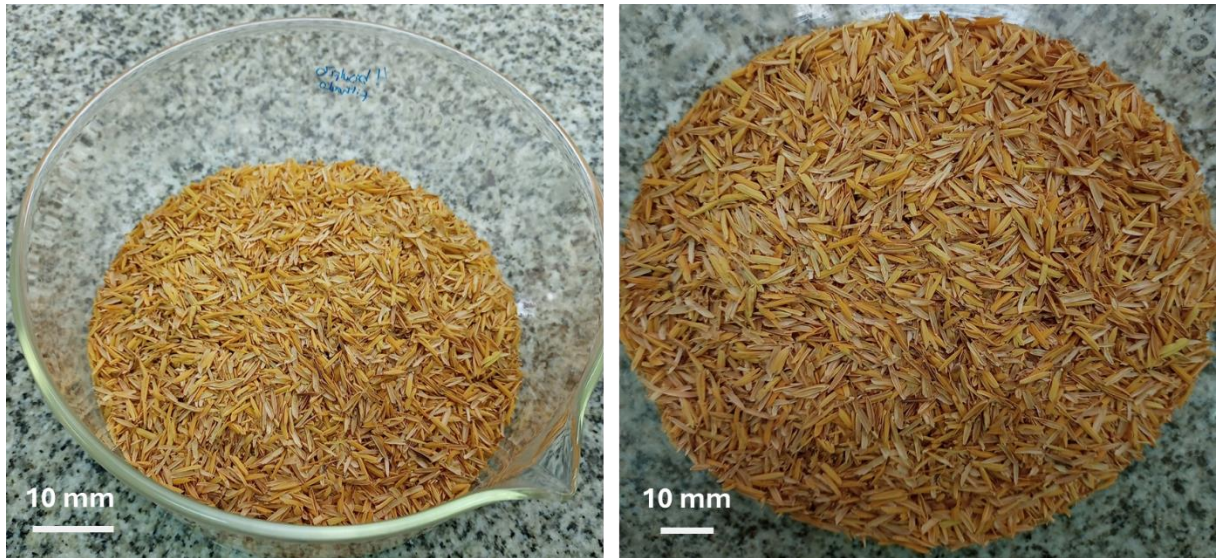


Figura 3.11. Cáscara de arroz lavada y secada.

Según lo reportado en la bibliografía, la cáscara de arroz está compuesta por celulosa (25-35%), hemicelulosa (18-21%), lignina (26-31%), sílice (15-17%) y compuestos solubles (2-5%) (**Ludueña et al., 2013; Marin et al., 2015**). Como en todos los vegetales, la celulosa se encuentra en la pared celular incluida en una matriz constituida mayormente por hemicelulosa y lignina, las cuales deben ser solubilizadas en el proceso de purificación. Como se comentó en la introducción de este capítulo, estos componentes pueden ser removidos mediante tratamientos con ácidos, álcalis y agentes oxidantes. Sin embargo, en el caso de la cáscara de arroz rica en sílice, su remoción no suele ser sencilla y dichos tratamientos químicos no siempre resultan suficientes (**Ludueña et al., 2013**).

La obtención de la nanocelulosa se llevó a cabo siguiendo el protocolo detallado en la sección 2.2.3, que consistió básicamente en la extracción de la celulosa de la cáscara de arroz mediante el tratamiento secuencial con soluciones alcalinas (NaOH al 4% p/v), agentes oxidantes (NaClO₂ al 1.7% p/v) y ácido (HCl 1 M). Posteriormente, se llevó a cabo la fibrilación de la celulosa mediante homogeneización de alta presión. Con el objetivo de determinar su viabilidad, inicialmente este protocolo se evaluó a “pequeña escala” utilizando *1 gramo* de cáscara de arroz lavada, molida y tamizada.



Figura 3.12. Imagen de la suspensión acuosa de VNC al 1% (p/p).

A partir de los resultados obtenidos en esa primera etapa, y dada la necesidad de contar con VNC en el orden ya no de los miligramos sino de decenas de gramos para poder llevar adelante la producción de todas las películas compuestas desarrolladas en esta tesis (más de 36 sistemas, ver detalle en el capítulo 5), la obtención de VNC debió luego escalarse adaptando el protocolo para una base de *70 gramos* de cáscara de arroz. El material obtenido (**Figura 3.12**) se caracterizó extensamente, y los resultados se resumen en la siguiente sección y se comparan con los correspondientes a la cáscara de arroz usada como materia prima y a una muestra de celulosa microcristalina (MCC) utilizada como referencia de una celulosa vegetal de alta pureza.

3.2.2.2. Caracterización de VNC

La **Figura 3.13** muestra fotografías y micrografías obtenidas por microscopía óptica de barrido de la cáscara de arroz molida y tamizada, y de la VNC obtenida. La cáscara de arroz molida y tamizada con la finalidad de obtener partículas menores a 125 micrones resultó en un material particulado de contornos irregulares con una amplia distribución de tamaños, la mayoría en el rango de 2 a 50 micrones (**Figura 3.13**, fila superior).

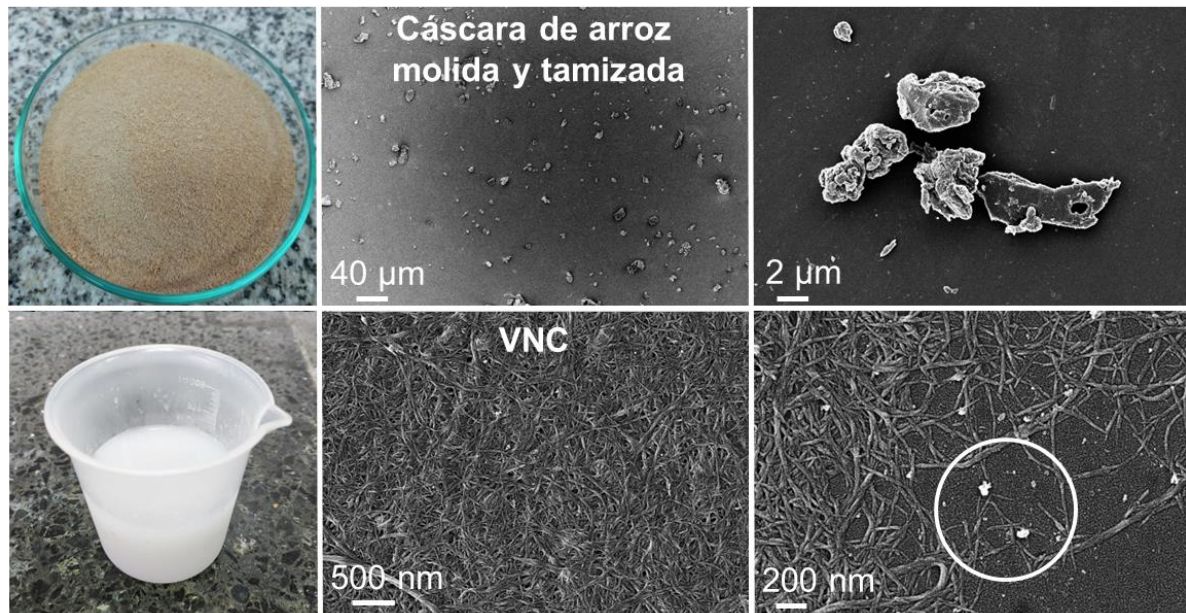


Figura 3.13. Fotografías y micrografías obtenidas por microscopía electrónica de barrido de la cáscara de arroz molida y tamizada y de VNC.

Por otro lado, las micrografías correspondientes a la suspensión de la nanocelulosa vegetal obtenida revelan la presencia de nanofibrillas con anchos entre 15 y 40 nm. Estos valores son comparables con los reportados por Jung *et al.* (2021) quienes purificaron celulosa a partir de cáscara de arroz mediante un tratamiento alcalino con NaOH combinado con blanqueamientos con H₂O₂ y ClO₂ y luego pasaron la suspensión resultante por un molino coloidal operado a 1600 rpm con una distancia entre discos de 150 micrones para fibrilar el material. Los autores obtuvieron nanofibrillas de celulosa con diámetros en el intervalo de 10 a 21 nm (Jung *et al.*, 2021).

En cuanto a la longitud de las nanofibrillas, imágenes obtenidas por AFM (Figura 3.14) indicaron largos variables entre 200 nm y 3 micrones, lo que sugiere que probablemente el tratamiento con ácido clorhídrico incluido en la purificación de la celulosa de cáscara de arroz podría haber inducido una reducción en el largo de las nanofibrillas.

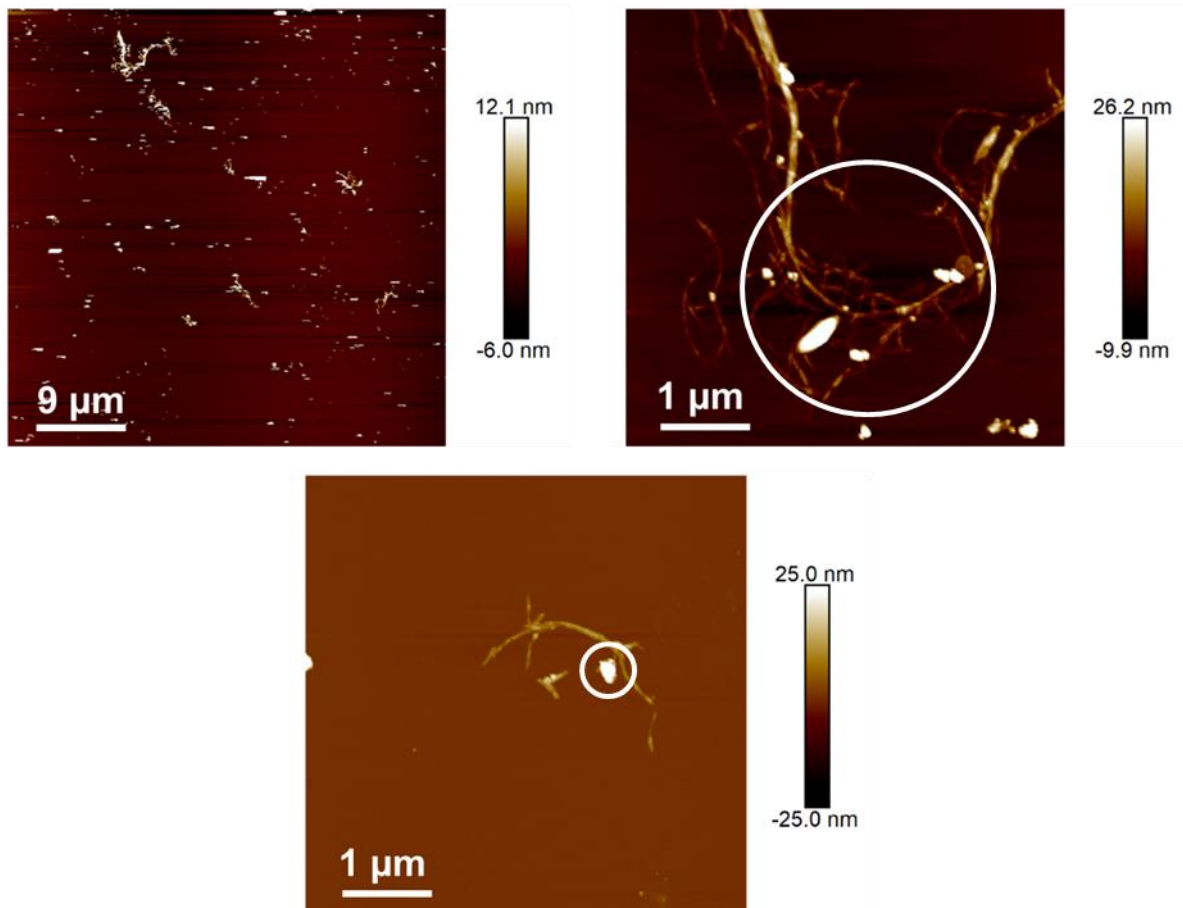


Figura 3.14. Imágenes obtenidas por microscopía de fuerza atómica de VNC.

Por otro lado, tanto en las micrografías FESEM como en las imágenes adquiridas por AFM de la VNC, se observan partículas de tamaño variable con una morfología muy distinta a la de las nanofibrillas de celulosa (encerrada en círculos blancos).

El análisis elemental de dichas partículas llevado a cabo con un analizador de energía dispersiva de rayos X (EDX) acoplado a un microscopio SEM (**Figura 3.15**), permitió determinar la composición de las mismas, identificándose la presencia de oxígeno y sílice, lo que sugiere que podrían tratarse de silicatos provenientes de la cáscara de arroz. Rivas *et al.* (2016) realizaron el análisis elemental de partículas de apariencia similar en muestras de cáscara de arroz y hallaron la presencia mayoritaria de átomos de Si y O, por lo que concluyeron que se trataba de silicatos (Rivas *et al.*, 2016).

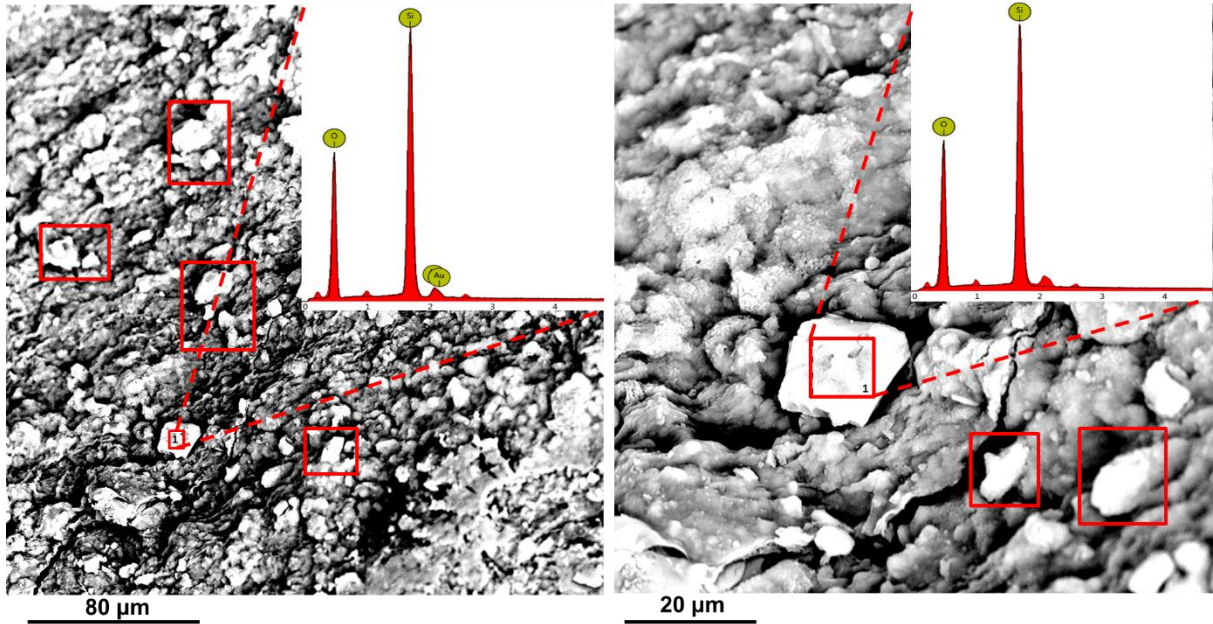


Figura 3.15. Análisis elemental de las partículas presentes en la muestra de VNC.

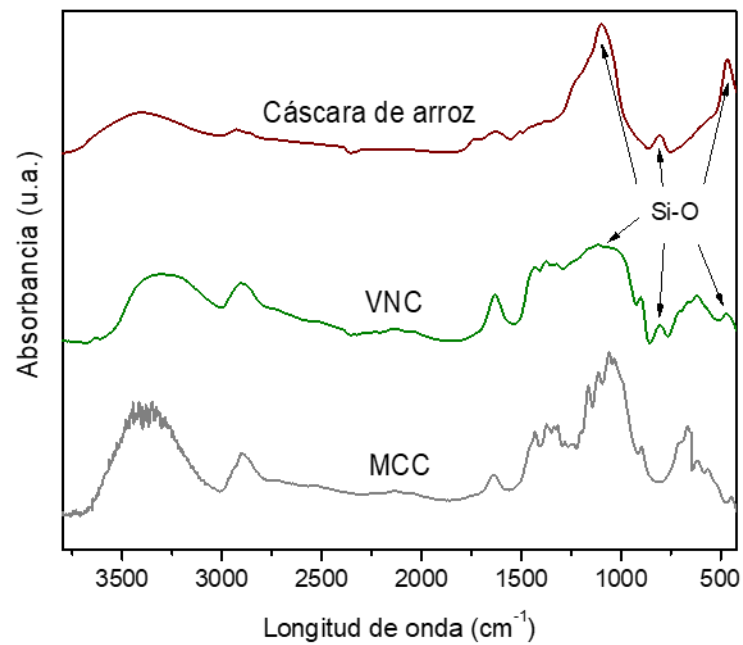


Figura 3.16. Espectros infrarrojo de la cáscara de arroz molida y tamizada, de VNC y de MCC.

La **Figura 3.16** muestra los espectros infrarrojo de la cáscara de arroz, de la VNC y de una referencia de celulosa microcristalina comercial (MCC). En el espectro de la cáscara de arroz

se observan algunas bandas asignadas a la celulosa I ($3700-3000\text{ cm}^{-1}$: vibración de los grupos O-H de los carbohidratos; $3000-2800\text{ cm}^{-1}$: estiramiento de los enlaces C-H de los grupos metilo y metileno; $1450-900\text{ cm}^{-1}$: flexión simétrica de los grupos $-\text{CH}_2$ y flexión en el plano de los grupos $-\text{OH}$). Otros grupos característicos de la celulosa I, ubicados en $1170-1060\text{ cm}^{-1}$ y 898 cm^{-1} no pueden ser visualizados debido al solapamiento con las bandas correspondientes a otros componentes presentes en la muestra. Las absorbancias ubicadas en 2924 cm^{-1} , 2870 cm^{-1} , 1728 cm^{-1} , 1594 cm^{-1} y 1509 cm^{-1} han sido atribuidas previamente a los anillos aromáticos de la lignina (Ludueña *et al.*, 2013; Rashid & Dutta, 2020; Zuluaga *et al.*, 2009), mientras que las centradas en 1732 cm^{-1} y 1630 cm^{-1} han sido asociadas a la presencia de hemicelulosa y a los grupos $-\text{OH}$ del agua presente en la muestra, respectivamente (Marín 2015; Samsalee *et al.*, 2023). Por último, las bandas ubicadas en 1096 cm^{-1} , 804 cm^{-1} y 465 cm^{-1} fueron previamente asignadas al enlace Si-O-Si derivados de la sílice presente en la cáscara de arroz (Ludueña *et al.*, 2013).

En los espectros infrarrojo correspondientes a la VNC y a la muestra de MCC usada como referencia, también se observan las bandas atribuibles a la celulosa I ya descritas en la sección 3.2.1.2 para BNC, a saber: la absorbancia ubicada en la región de $3700-3000\text{ cm}^{-1}$ (O-H); las bandas centradas en 2895 cm^{-1} (C-H), $1450-900$ (CH_2 , $-\text{OH}$ y C-O-C), y aquella ubicada en 898 cm^{-1} (enlace tipo β presente en polímeros de glucosa). Por último, se observa una señal en 1630 cm^{-1} , relacionada con la flexión de los enlaces $-\text{OH}$ del agua absorbida por la celulosa (Marin *et al.*, 2015; Song, Birbach & Hinstroza, 2012; Wang *et al.*, 2016; Zuluaga *et al.*, 2009). Adicionalmente, en la muestra de la nanocelulosa vegetal se pueden observar tres absorbancias centradas en 1096 cm^{-1} , 804 cm^{-1} y 465 cm^{-1} , previamente visualizadas en la cáscara de arroz y asignadas al enlace Si-O-Si, lo que vuelve a señalar la presencia de silicatos en la VNC remanentes de la cáscara original (Ludueña *et al.*, 2013). Por otro lado, vale destacar que en la VNC no se observan bandas correspondientes a hemicelulosa (principalmente aquella ubicada en 1732 cm^{-1}), o a lignina (1594 cm^{-1} y 1509 cm^{-1}); por lo que las impurezas presentes en la muestra, ya previamente observadas en las imágenes de FESEM y AFM, corresponderían a silicatos provenientes de la cáscara de arroz, y no a fragmentos de cáscara completa sin tratar.

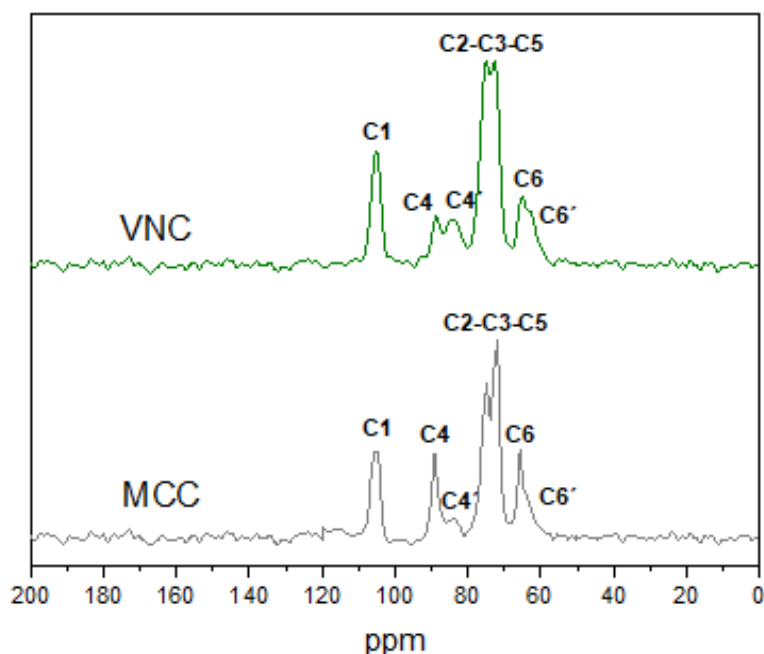


Figura 3.17. Espectro de resonancia magnética nuclear de carbono 13 en estado sólido (CP/MAS- ^{13}C RMN) de VNC y de MCC.

En el espectro de resonancia magnética nuclear de carbono 13 en estado sólido (CP/MAS- ^{13}C RMN) de la VNC, y en concordancia con el espectro de la MCC (**Figura 3.17**) se pueden observar señales características de los carbonos de la celulosa tipo I: C1 (105 ppm), C4 (88.6 ppm), C2 - C3 - C5 (80-70 ppm, señales superpuestas) y C6 (65.2 ppm) (**Jandura et al., 2000; Yamamoto et al., 2006**). Además, se encontraron las señales correspondientes a los carbonos de los componentes amorfos o desordenados de la celulosa ubicadas en C4' (84.1 ppm) y C6' (62.9 ppm) (**Atalla & VanderHart, 1984; Cunha et al., 2014; Park, Baker, Himmel, Parilla & Johnson, 2010**). Estas señales también fueron halladas previamente para muestras de celulosa procedentes de cáscara de arroz (**Fávaro et al., 2010**). Por otro lado, en la **Figura 3.17** no se observan señales características de la presencia de hemicelulosa (señal alrededor de 30 ppm), o de lignina (banda ancha entre 160-110 ppm y una señal a 55 ppm) (**Kostryukov et al., 2021; Kouadri et al., 2017**), descartando así su presencia en la muestra de VNC.

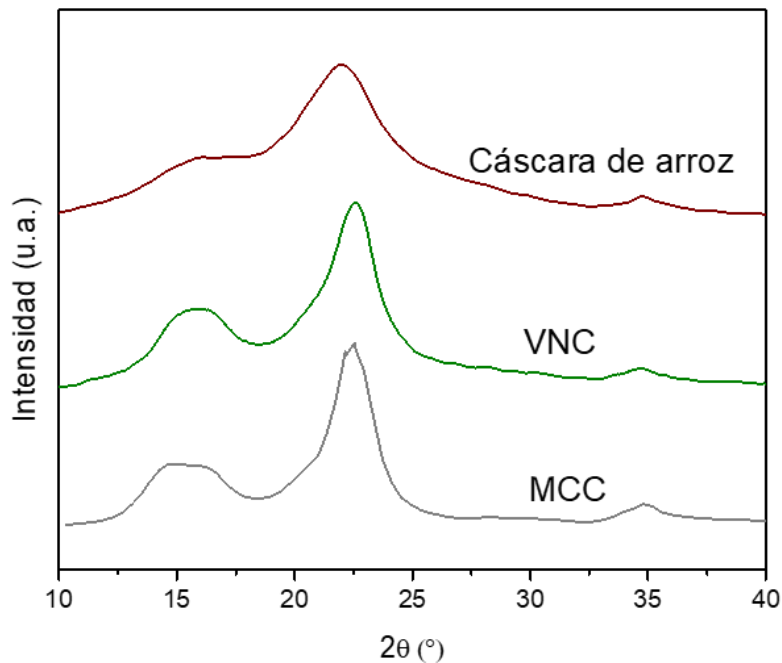


Figura 3.18. Difractogramas de rayos X de la cáscara de arroz molida y tamizada, de VNC y de MCC.

La **Figura 3.18** muestra los difractogramas de rayos X de la VNC y de la MCC se pueden observar, principalmente, tres señales intensas centradas en $2\theta=15.8^\circ$ (resultado de la superposición de picos centrados en $2\theta=14.5^\circ$ y 16.8°); $2\theta=22.7^\circ$ y 34.5° . Considerando que hay acuerdo en la bibliografía en que las celulosas vegetales tienen una composición mayoritaria de celulosa I β (**Atalla & VanderHart, 1984; Battezzore et al., 2014; Klemm et al., 2011; Moon et al., 2011**) las señales identificadas fueron asignadas según las recomendaciones de French (2014) a los planos (1-10) y (110) solapados; y a (200) y (004), respectivamente. En la misma figura se encuentra el difractograma de la cáscara de arroz. En él se observan las mismas señales, pero con una menor resolución debido a la presencia de otros componentes no celulósicos. Otros autores relacionaron los aumentos en la definición de las señales de los difractogramas de la celulosa respecto de los de cáscara de arroz con la eliminación de componentes no celulósicos amorfos (**Collazo-Bigliardi et al., 2018; Johar et al., 2012; Nguyen et al., 2023; Rashid et al., 2020**).

A partir de los difractogramas presentados en la **Figura 3.18** y del espectro de RMN de la **Figura 3.17**, se utilizaron los métodos de determinación del índice de cristalinidad descriptos

en la sección 3.2.1, para el cálculo del ICr de la VNC obtenida. Los resultados se muestran a continuación en la **Tabla 3.3**.

Tabla 3.3. Índice de cristalinidad (ICr) de la nanocelulosa vegetal.

Muestra	ICr (% , método 1)	ICr (% , método 2)	ICr (% , método 3)	ICr (% , método 4)
VNC	85±1	53±1	76±3	17±2

Como puede observarse, el índice de cristalinidad más elevado corresponde al calculado mediante el método de la altura del pico o método de Segal (método 1), en concordancia con lo observado para la BNC, ya que este método se conoce que tiende a sobreestimar la cristalinidad de las muestras (**Park et al., 2010**). El valor obtenido (85±1) se encuentra en el orden del reportado por otros autores para nanocelulosas del mismo origen, usando el mismo método de cálculo. Marin *et al.* (2015), por ejemplo, reportaron un ICr de 77% en muestras de celulosa aislada de cáscara de arroz mediante un tratamiento con clorito de sodio, bisulfito de sodio, HCl, KOH y NaOH (**Marin et al., 2015**). Por otro lado, el ICr obtenido mediante el método 2 también coincide con resultados obtenidos por otros autores para celulosa aislada de cáscara de arroz. Collazo-Bigliardi *et al.* (2018) reportaron valores ICr de 50% determinados por el método de deconvolución de picos, para muestras de celulosa aislada a partir de cáscara de arroz mediante tratamientos con NaOH y clorito de sodio (**Collazo-Bigliardi et al., 2018**). En cuanto al ICr calculado por el método de la sustracción amorfa (método 3), de Oliveira *et al.* (2017) reportaron un índice de cristalinidad de 70% para celulosa obtenida por tratamientos con NaOH y clorito de sodio (**de Oliveira et al., 2017**). Por último, el ICr obtenido empleando el método 4 expone la mayor contribución amorfa (C4') en la señal de C4 de esta nanocelulosa (**Figura 3.17**).

La diferencia en los valores absolutos de ICr que surgen de utilizar cada método remarca la imposibilidad de comparar valores de ICr entre distintas contribuciones que no hayan sido calculados de la misma manera. Además, estos valores absolutos (sobre todo aquellos calculados por los métodos 1, 2 y 4) confirman que la nanocelulosa vegetal exhibe globalmente un menor índice de cristalinidad que su contraparte de origen bacteriano (**Tabla 3.2**), en acuerdo con lo ampliamente informado en la bibliografía tras la comparación de ambas nanocelulosas (**Betlej et al., 2021; Klemm et al., 2011; Moon et al., 2011**).

La **Figura 3.19** exhibe las curvas TG y DTG correspondientes a la cáscara de arroz y a las muestras de VNC y de MCC. En el análisis de la descomposición térmica de la muestra de cáscara de arroz se pueden observar múltiples etapas (**Figura 3.19a** y **Figura 3.19b**).

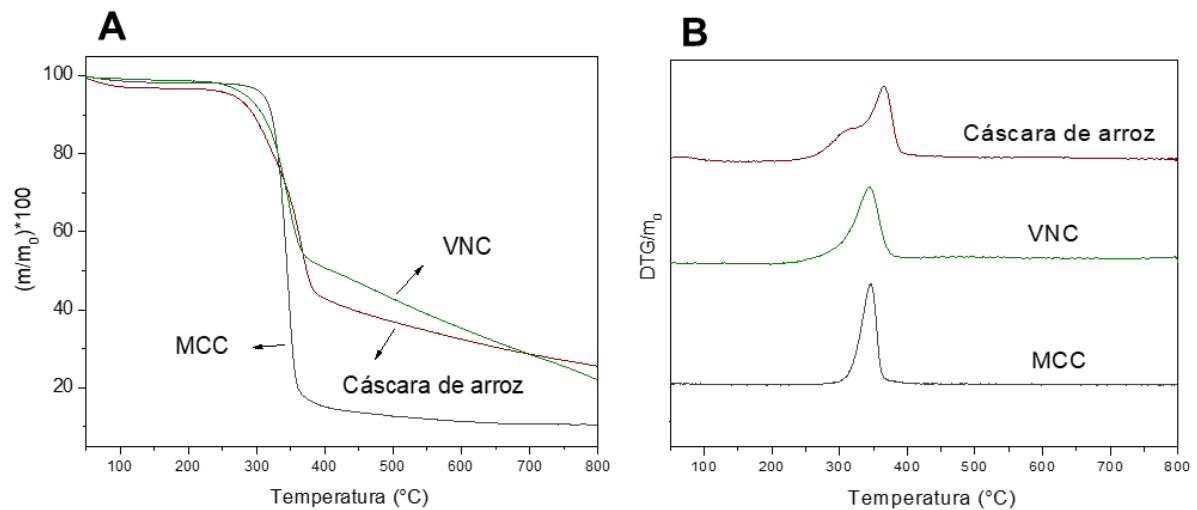


Figura 3.19. (A) Curvas TG y (B) curvas DTG de la cáscara de arroz molida y tamizada, de VNC y de MCC.

La primera de ellas ocurre desde temperatura ambiente hasta los 130°C, con una pérdida de peso de aproximadamente el 1% producto de la deshidratación de la muestra. Luego, entre los 220°C y los 400°C, se evidencia una notable pérdida de peso (~55%) asociada a la descomposición térmica de los enlaces glicosídicos de la celulosa ($T_{\text{máx}}=365^\circ\text{C}$). Por otro lado, en la curva de DTG de la cáscara de arroz, alrededor de los 315°C, es posible distinguir otro pico superpuesto al de la descomposición de la celulosa atribuible a la descomposición térmica de la hemicelulosa, que se degrada a temperaturas más bajas. En el análisis por TGA de cáscara de arroz, Marin *et al.* (2015) también observaron un hombro en el lado izquierdo del pico principal de descomposición de la celulosa, que asociaron con la descomposición de la hemicelulosa. Por otro lado, en cuanto a la descomposición de la lignina, algunos autores sugirieron que se da en el mismo rango de temperaturas que la de los otros componentes de la cáscara, por lo que su presencia no se puede identificar por este método (Marin *et al.*, 2015; Nascimento *et al.*, 2016). Finalmente, a 800°C se observa un alto porcentaje de masa residual (~27%) también para cáscara de arroz. Johar *et al.* (2012) reportaron residuos de hasta un 30-40% a 700°C que relacionaron con el elevado contenido de sílice y residuos

carbonáceos que no lograron volatilizarse en el rango de temperaturas estudiado (**Johar et al., 2012**).

Por otra parte, en la **Figura 3.19** también se encuentran las curvas de TG y DTG de la nanocelulosa vegetal y de la MCC tomada como referencia. En ambas muestras se observa en primer lugar una pérdida de masa de ~2% asociada a su deshidratación, entre la temperatura ambiente hasta 130°C. Posteriormente, se registran pérdidas elevadas de peso (~50% en el caso de la VNC y ~80% para la MCC) en el rango de temperatura de 220 a 400°C, las cuales se atribuyen a la descomposición de la celulosa. Los valores de Tonset y Tmáx de la VNC son 312°C y 345°C, respectivamente, y los de la muestra de MCC son 323°C y 346°C. Los valores registrados para VNC se encuentran en el orden de aquellos reportados por otros autores para muestras de celulosa vegetal de cáscara de arroz. Por ejemplo, Collazo-Bigliardi et al. (2018) hallaron valores de Tonset de 292°C y Tmáx de 327°C en muestras de celulosa obtenida luego del tratamiento de cáscara de arroz con NaOH y clorito de sodio (**Collazo-Bigliardi et al., 2018**). Finalmente, vale destacar que en la VNC no se observan eventos de descomposición térmica atribuibles a la presencia de hemicelulosa (**Marin et al., 2015**).

Sin embargo, el alto nivel de residuos a 800°C de la VNC comparado tanto con la MCC como con las nanocelulosas bacterianas de la primera parte de este capítulo (**Figura 3.7**), una vez más dan cuenta de la presencia en la VNC de una fracción significativa de componentes no celulósicos asignables a silicatos remanentes de la cáscara original. La bibliografía de compuestos de PLA y sílice reporta extensamente los beneficios en términos de las propiedades derivadas de la incorporación de la carga inorgánica (**Battegazzore et al., 2014; dos Santos & Tavares, 2014; dos Santos & Tavares, 2015; Lertphirun & Srikulkit, 2019**). En este marco se decidió utilizar la VNC caracterizada en las páginas anteriores y no modificar el protocolo de purificación para lograr una remoción total de los silicatos.

3.3 Conclusiones del Capítulo 3

En el presente capítulo se obtuvieron y caracterizaron nanocelulosas de distintos orígenes, tanto microbiano como vegetal, aisladas a partir de subproductos/descartes de la industria alimentaria nacional. En el caso de la nanocelulosa bacteriana (BNC), la recuperación de las nanocintas a partir del subproducto de la elaboración de té de Kombucha representó una alternativa muy interesante respecto del empleo de una cepa pura de *Komagataeibacter xylinus* en condiciones estrictas de cultivo. De los distintos protocolos de purificación de BNC

ensayados, el más conveniente resultó ser el tratamiento alcalino de la membrana desintegrada a temperatura ambiente con una solución de KOH (protocolo C).

En cuanto a la nanocelulosa vegetal (VNC) aislada de cáscara de arroz, los tratamientos químicos y mecánicos llevados a cabo resultaron adecuados para la obtención de nanofibrillas de celulosa de longitudes variables. Si bien luego del proceso de purificación se identificó en la VNC la presencia de silicatos remanentes de la cáscara de arroz, no se modificó el protocolo de purificación debido a la reportada utilidad de estos compuestos para mejorar las propiedades térmicas y mecánicas de las películas de PLA.

3.4 Bibliografía

Abba, M., Abdullahi, M., Md Nor, M. H., Chong, C. S., & Ibrahim, Z. (2018). Isolation and characterisation of locally isolated *Gluconacetobacter xylinus* BCZM sp. with nanocellulose producing potentials. *IET Nanobiotechnology*, 12(1), 52.

Abd El-Salam, S. S. (2012). Bacterial cellulose of kombucha mushroom tea. *New York Science Journal*, 5(4), 81.

Ahvenainen, P., Kontro, I., & Svedström, K. (2016). Comparison of sample crystallinity determination methods by X-ray diffraction for challenging cellulose I materials. *Cellulose*, 23(2), 1073.

Amarasekara, A. S., Wang, D., & Grady, T. L. (2020). A comparison of kombucha SCOBY bacterial cellulose purification methods. *SN Applied Sciences*, 2, 1.

Andriani, D., Apriyana, A. Y., & Karina, M. (2020). The optimization of bacterial cellulose production and its applications: a review. *Cellulose*, 27(12), 6747.

Atalla, R. H., & VanderHart, D. L. (1984). Native cellulose: a composite of two distinct crystalline forms. *Science*, 223(4633), 283.

Ávila Ramírez, J. A., Cerrutti, P., Bernal, C., Errea, M. I., & Foresti, M. L. (2019). Nanocomposites based on poly (lactic acid) and bacterial cellulose acetylated by an α -hydroxyacid catalyzed route. *Journal of Polymers and the Environment*, 27, 510.

Ávila Ramírez, J. A., Juan Suriano, C., Cerrutti, P., & Foresti, M. L. (2014). Surface esterification of cellulose nanofibers by a simple organocatalytic methodology. *Carbohydrate Polymers*, 114, 416.

Battegazzore, D., Bocchini, S., Alongi, J., Frache, A., & Marino, F. (2014). Cellulose extracted from rice husk as filler for poly (lactic acid): preparation and characterization. *Cellulose*, 21, 1813.

Battegazzore, D., Bocchini, S., Alongi, J., & Frache, A. (2014). Rice husk as bio-source of silica: preparation and characterization of PLA–silica bio-composites. *RSC Advances*, 4(97), 54703.

Bernardinelli, O. D., Lima, M. A., Rezende, C. A., Polikarpov, I., & de Azevedo, E. R. (2015). Quantitative ¹³C MultiCP solid-state NMR as a tool for evaluation of cellulose crystallinity index measured directly inside sugarcane biomass. *Biotechnology for Biofuels*, 8, 1.

Betlej, I., Zakaria, S., Krajewski, K. J., & Boruszewski, P. (2021). Bacterial cellulose–properties and its potential application. *Sains Malays*, 50(2), 493.

Bhattacharya, A., Sadaf, A., Dubey, S., Singh, R. P., & Khare, S. K. (2021). Production and characterization of *Komagataeibacter xylinus* SGP8 nanocellulose and its calcite based composite for removal of Cd ions. *Environmental Science and Pollution Research*, 28, 46423.

Bi, J. C., Liu, S. X., Li, C. F., Li, J., Liu, L. X., Deng, J., & Yang, Y. C. (2014). Morphology and structure characterization of bacterial celluloses produced by different strains in agitated culture. *Journal of Applied Microbiology*, 117(5), 1305.

Castro-Guerrero, C. F., Díaz-Guillén, M. R., Delgado-Arroyo, F., Rodas-Grain, A., & Godavarthi, S. (2016, August). Purification of cellulose from rice husk for the synthesis of nanocellulose. In *2016 IEEE 16th International Conference on Nanotechnology (IEEE-NANO)* (p. 569). IEEE.

Cerrutti, P., Roldán, P., García, R. M., Galvagno, M. A., Vázquez, A., & Foresti, M. L. (2016). Production of bacterial nanocellulose from wine industry residues: Importance of fermentation time on pellicle characteristics. *Journal of Applied Polymer Science*, 133(14), 43109.

Charreau, H., Cavallo, E., & Foresti, M. L. (2020). Patents involving nanocellulose: Analysis of their evolution since 2010. *Carbohydrate Polymers*, 237, 116039.

Coelho, R. M. D., de Almeida, A. L., do Amaral, R. Q. G., da Mota, R. N., & de Sousa, P. H. M. (2020). Kombucha. *International Journal of Gastronomy and Food Science*, 22, 100272.

Collazo-Bigliardi, S., Ortega-Toro, R., & Boix, A. C. (2018). Isolation and characterisation of microcrystalline cellulose and cellulose nanocrystals from coffee husk and comparative study with rice husk. *Carbohydrate Polymers*, 191, 205.

Cunha, A. G., Zhou, Q., Larsson, P. T., & Berglund, L. A. (2014). Topochemical acetylation of cellulose nanopaper structures for biocomposites: mechanisms for reduced water vapour sorption. *Cellulose*, 21, 2773.

da Silva Júnior, J. C., Mafaldo, Í. M., de Lima Brito, I., & de Magalhães Cordeiro, A. M. T. (2022). Kombucha: Formulation, chemical composition, and therapeutic potentialities. *Current Research in Food Science*, 5, 360.

de Oliveira, J. P., Bruni, G. P., Lima, K. O., El Halal, S. L. M., da Rosa, G. S., Dias, A. R. G., & da Rosa Zavareze, E. (2017). Cellulose fibers extracted from rice and oat husks and their application in hydrogel. *Food Chemistry*, 221, 153.

de Sousa, L. P. D. S. B., Leite, P. M. S. C. M., Vieira, A. A., Faria, A. C., & Vieira, L. (2021). Effect of water and alkali on purification bacterial cellulose membrane from Kombucha. *Research, Society and Development*, 10(15), e526101523267.

dos Santos, F. A., & Tavares, M. I. B. (2014). Development and characterization of hybrid materials based on biodegradable PLA matrix, microcrystalline cellulose and organophilic silica. *Polímeros*, 24, 561.

dos Santos, F. A., & Tavares, M. I. B. (2015). Development of biopolymer/cellulose/silica nanostructured hybrid materials and their characterization by NMR relaxometry. *Polymer Testing*, 47, 92.

Delgado, J. F. (2020). Desarrollo de películas multicomponentes a base de levadura. Evaluación de sus propiedades físicas y aplicaciones potenciales. Tesis de doctorado en Ciencia y Tecnología. Universidad Nacional de Quilmes.

Delgado, J. F., de la Osa, O., Salvay, A. G., Cavallo, E., Cerrutti, P., Foresti, M. L., & Peltzer, M. A. (2021). Reinforcement of yeast biomass films with bacterial cellulose and rice Husk cellulose nanofibres. *Journal of Polymers and the Environment*, 29, 3242.

Delgado, J. F., Peltzer, M. A., Salvay, A. G., de la Osa, O., & Wagner, J. R. (2018). Characterization of thermal, mechanical and hydration properties of novel films based on *Saccharomyces cerevisiae* biomass. *Innovative Food Science y Emerging Technologies*, 48, 240.

Dima, S. O., Panaitescu, D. M., Orban, C., Ghiurea, M., Doncea, S. M., Fierascu, R. C. & Oancea, F. (2017). Bacterial nanocellulose from side-streams of kombucha beverages production: Preparation and physical-chemical properties. *Polymers*, 9(8), 374.

Dufresne, A. (2013). Nanocellulose: a new ageless bionanomaterial. *Materials Today*, 16(6), 22.

El-Wakil, N. A., Hassan, E. A., Hassan, M. L., & Abd El-Salam, S. S. (2019). Bacterial cellulose/phytochemical's extracts biocomposites for potential active wound dressings. *Environmental Science and Pollution Research*, 26, 26529.

Esa, N. M., Ling, T. B., & Peng, L. S. (2013). By-products of rice processing: An overview of health benefits and applications. *Journal of Rice Research*, 1(107), 2.

Fernández Corujo, V., Cerrutti, P., Foresti, M. L., & Vázquez, A. (2016). Production of bacterial nanocellulose from non-conventional fermentation media. En *Multifunctional polymeric nanocomposites based on cellulosic reinforcements* (p. 39). William Andrew Publishing.

Foston, M. B., Hubbell, C. A., & Ragauskas, A. J. (2011). Cellulose isolation methodology for NMR analysis of cellulose ultrastructure. *Materials*, 4(11), 1985.

French, A. D. (2014). Idealized powder diffraction patterns for cellulose polymorphs. *Cellulose*, 21(2), 885.

Hestrin, S., & Schramm, M. J. B. J. (1954). Synthesis of cellulose by *Acetobacter xylinum*. 2. Preparation of freeze-dried cells capable of polymerizing glucose to cellulose. *Biochemical Journal*, 58(2), 345.

Islam, M. S., Kao, N., Bhattacharya, S. N., Gupta, R., & Choi, H. J. (2018). Potential aspect of rice husk biomass in Australia for nanocrystalline cellulose production. *Chinese Journal of Chemical Engineering*, 26(3), 465.

Jandura, P., Kokta, B. V., & Riedl, B. (2000). Fibrous long-chain organic acid cellulose esters and their characterization by diffuse reflectance FTIR spectroscopy, solid-state CP/MAS ¹³C-NMR, and X-ray diffraction. *Journal of Applied Polymer Science*, 78(7), 1354.

Johar, N., Ahmad, I., & Dufresne, A. (2012). Extraction, preparation and characterization of cellulose fibres and nanocrystals from rice husk. *Industrial Crops and Products*, 37(1), 93.

Jung, H. J., Kwak, H., Chun, J., & Oh, K. K. (2021). Alkaline fractionation and subsequent production of nano-structured silica and cellulose nano-fibrils for the comprehensive utilization of rice husk. *Sustainability*, 13(4), 1951.

Kamiński, K., Jarosz, M., Grudzień, J., Pawlik, J., Zastawnik, F., Pandyra, P., & Kołodziejczyk, A. M. (2020). Hydrogel bacterial cellulose: A path to improved materials for new eco-friendly textiles. *Cellulose*, 27, 5353.

Khan, H., Saroha, V., Raghuvanshi, S., Bharti, A. K., & Dutt, D. (2021). Valorization of fruit processing waste to produce high value-added bacterial nanocellulose by a novel strain *Komagataeibacter xylinus* IITR DKH20. *Carbohydrate Polymers*, 260, 117807.

Kim, J., y Adhikari, K. (2020). Current trends in kombucha: Marketing perspectives and the need for improved sensory research. *Beverages*, 6(1), 15.

Klemm, D., Kramer, F., Moritz, S., Lindström, T., Ankerfors, M., Gray, D., & Dorris, A. (2011). Nanocelluloses: a new family of nature-based materials. *Angewandte Chemie International Edition*, 50(24), 5438.

Kostryukov, S. G., Petrov, P. S., Tezikova, V. S., Masterova, Y. Y., Idris, T. J., & Kostryukov, N. S. (2021). Determination of Wood Composition Using Solid-State ¹³C NMR Spectroscopy. *Cellulose Chemistry and Technology*, 55(5–6), 461.

Kouadri, I., Layachi, A., Makhlouf, A., & Satha, H. (2017). Optimization of extraction process and characterization of water-soluble polysaccharide (Galactomannan) from Algerian biomass; *Citrullus colocynthis* seeds. *International Journal of Polymer Analysis and Characterization*, 23(4), 362.

Laavanya, D., Shirkole, S., & Balasubramanian, P. (2021). Current challenges, applications and future perspectives of SCOBY cellulose of Kombucha fermentation. *Journal of Cleaner Production*, 295, 126454.

Lertphirun, K., & Srikulkit, K. (2019). Properties of poly (lactic acid) filled with hydrophobic cellulose/SiO₂ composites. *International Journal of Polymer Science*, 2019(1), 7835172.

Ludueña, L. N., Vecchio, A., Stefani, P. M., & Alvarez, V. A. (2013). Extraction of cellulose nanowhiskers from natural fibers and agricultural byproducts. *Fibers and Polymers*, 14, 1118.

Marin, D. C., Vecchio, A., Ludueña, L. N., Fasce, D., Alvarez, V. A., & Stefani, P. M. (2015). Revalorization of rice husk waste as a source of cellulose and silica. *Fibers and Polymers*, 16, 285.

Moon, R. J., Martini, A., Nairn, J., Simonsen, J., & Youngblood, J. (2011). Cellulose nanomaterials review: structure, properties and nanocomposites. *Chemical Society Reviews*, 40(7), 3941.

Nam, S., French, A. D., Condon, B. D., & Concha, M. (2016). Segal crystallinity index revisited by the simulation of X-ray diffraction patterns of cotton cellulose I β and cellulose II. *Carbohydrate Polymers*, 135, 1.

Nascimento, P., Marim, R., Carvalho, G., & Mali, S. (2016). Nanocellulose produced from rice hulls and its effect on the properties of biodegradable starch films. *Materials Research*, 19, 167.

Nguyen, H. G., Nguyen, T. A. H., Do, D. B., Pham, X. N., Nguyen, T. H., Nghiem, H. L. T. & Pham, T. T. (2023). Natural cellulose fiber-derived photothermal aerogel for efficient and sustainable solar desalination. *Langmuir*, 39(19), 6780.

Nyakuma, B. B., Wong, S., Utume, L. N., Abdullah, T. A. T., Abba, M., Oladokun, O., & Ogunbode, E. B. (2022). Comprehensive characterisation of the morphological, thermal and kinetic degradation properties of *Gluconacetobacter xylinus* synthesised bacterial nanocellulose. *Journal of Natural Fibers*, 19(13), 6255.

Nzihou, A. (Ed.). (2020). *Handbook on characterization of biomass, biowaste and related by-products*. Switzerland. Springer.

Oliver-Ortega, H., Geng, S., Espinach, F. X., Oksman, K., & Vilaseca, F. (2021). Bacterial cellulose network from kombucha fermentation impregnated with emulsion-polymerized poly (methyl methacrylate) to form nanocomposite. *Polymers*, 13(4), 664.

Onoja, D. A., Ahemen, I., & Iorfa, T. F. (2019). Synthesis and characterization of cellulose based nanofibres from rice husk. *Journal of Applied Physics*, 11, 80.

Park, S., Baker, J. O., Himmel, M. E., Parilla, P. A., & Johnson, D. K. (2010). Cellulose crystallinity index: measurement techniques and their impact on interpreting cellulase performance. *Biotechnology for Biofuels*, 3, 1.

Ramírez Tapias, Y. A., Peltzer, M. A., Delgado, J. F., & Salvay, A. G. (2020). Kombucha tea by-product as source of novel materials: Formulation and characterization of films. *Food and Bioprocess Technology*, 13, 1166.

Rashid, S., & Dutta, H. (2020). Characterization of nanocellulose extracted from short, medium and long grain rice husks. *Industrial Crops and Products*, 154, 112627.

Rivas, A., Vera, G., Palacios, V., Rigail, A., & Cornejo Martínez, M. (2016, July). Characterization of rice husk and the crystallization process of amorphous silica from rice husk ash. In *Proceedings of the 14th LACCEI International Multi-Conference for Engineering, Education, and Technology: Engineering Innovations for Global Sustainability, San José, CA, USA* (p. 20).

Rosa, S. M., Rehman, N., de Miranda, M. I. G., Nachtigall, S. M., & Bica, C. I. (2012). Chlorine-free extraction of cellulose from rice husk and whisker isolation. *Carbohydrate Polymers*, 87(2), 1131.

Ruland, W. (1961). X-ray determination of crystallinity and diffuse disorder scattering. *Acta Crystallographica*, 14(11), 1180.

Salem, K. S., Kasera, N. K., Rahman, M. A., Jameel, H., Habibi, Y., Eichhorn, S. J., & Lucia, L. A. (2023). Comparison and assessment of methods for cellulose crystallinity determination. *Chemical Society Reviews*, 52, 5417.

Samsalee, N., Meerasri, J., & Sothornvit, R. (2023). Rice husk nanocellulose: Extraction by high-pressure homogenization, chemical treatments and characterization. *Carbohydrate Polymer Technologies and Applications*, 6, 100353.

Sederavičiūtė, F., Bekampienė, P., & Domskienė, J. (2019). Effect of pretreatment procedure on properties of Kombucha fermented bacterial cellulose membrane. *Polymer Testing*, 78, 105941.

Segal, L. G. J. M. A., Creely, J. J., Martin Jr, A. E., & Conrad, C. M. (1959). An empirical method for estimating the degree of crystallinity of native cellulose using the X-ray diffractometer. *Textile Research Journal*, 29(10), 786.

Sharma, C., & Bhardwaj, N. K. (2019). Biotransformation of fermented black tea into bacterial nanocellulose via symbiotic interplay of microorganisms. *International Journal of Biological Macromolecules*, 132, 166.

Sinha Ray, S., Singh Bakshi, H., Dangayach, R., Singh, R., Deb, C. K., Ganesapillai, M., & Purkait, M. K. (2020). Recent developments in nanomaterials-modified membranes for improved membrane distillation performance. *Membranes*, 10(7), 140.

Song, J., Birbach, N. L., & Hinstroza, J. P. (2012). Deposition of silver nanoparticles on cellulosic fibers via stabilization of carboxymethyl groups. *Cellulose*, 19, 411.

Teeäär, R., Serimaa, R., & Paakkarl, T. (1987). Crystallinity of cellulose, as determined by CP/MAS NMR and XRD methods. *Polymer Bulletin*, 17, 231-237.

Ullah, M. W., Manan, S., Ul-Islam, M., Revin, V. V., Thomas, S., & Yang, G. (2021). Introduction to nanocellulose. En *Nanocellulose: synthesis, structure, properties and applications* (p. 1-50).

Vázquez, A., Foresti, M. L., Cerrutti, P., & Galvagno, M. (2013). Bacterial cellulose from simple and low cost production media by *Gluconacetobacter xylinus*. *Journal of Polymers and the Environment*, 21, 545.

Wang, H. Y., Qian, H., & Yao, W. R. (2011). Melanoidins produced by the Maillard reaction: Structure and biological activity. *Food Chemistry*, 128(3), 573.

Wang, L., Dong, Y., Men, H., Tong, J., & Zhou, J. (2013). Preparation and characterization of active films based on chitosan incorporated tea polyphenols. *Food Hydrocolloids*, 32(1), 35.

Wang, Z., Li, J., Barford, J. P., Hellgradt, K., & McKay, G. (2016). A comparison of chemical treatment methods for the preparation of rice husk cellulosic fibers. *International Journal of Environmental & Agriculture Research*, 2(1), 2454.

Xia, Z., Singh, A., Kiratitanavit, W., Mosurkal, R., Kumar, J., & Nagarajan, R. (2015). Unraveling the mechanism of thermal and thermo-oxidative degradation of tannic acid. *Thermochimica Acta*, 605, 77.

Yamamoto, H., Horii, F., & Hirai, A. (2006). Structural studies of bacterial cellulose through the solid-phase nitration and acetylation by CP/MAS ^{13}C NMR spectroscopy. *Cellulose*, 13, 327.

Zuluaga, R., Putaux, J. L., Cruz, J., Vélez, J., Mondragon, I., & Gañán, P. (2009). Cellulose microfibrils from banana rachis: Effect of alkaline treatments on structural and morphological features. *Carbohydrate Polymers*, 76(1), 51.

Normas consultadas

ISO/TS 20477. "Nanotechnologies - Standard terms and their definition for cellulose nanomaterial". 2017.

Enlaces visitados

Sistema de Información Simplificado Agrícola:
https://www.argentina.gob.ar/sites/default/files/sisa_arroz_2022_2023.pdf (visitado el 13 de febrero de 2024).

CAPÍTULO 4:
OBTENCIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE
NANOCELULOSAS ACETILADAS

RESUMEN

A efectos de mejorar su compatibilidad con matrices poliméricas hidrofóbicas como el ácido poliláctico (PLA), las nanocelulosas de origen microbiano y vegetal obtenidas en el capítulo anterior fueron modificadas químicamente mediante reacciones de acetilación. En el presente capítulo se describen los resultados de la caracterización de ambas nanocelulosas acetiladas (AcBNC y AcVNC) en comparación con sus contrapartes nativas.

4.1 Introducción

La presencia de grupos hidroxilo (-OH) libres en la superficie de la celulosa le confiere su carácter hidrofílico. En este marco, y como se mencionó en la introducción general de esta tesis, para ciertas aplicaciones resulta crucial poder modificar la superficie de las nanofibrillas de celulosa y adecuar su polaridad. Una forma de hacerlo es mediante reacciones químicas en las que los grupos hidroxilo sean reemplazados por otros grupos funcionales. Sin embargo, dado que los grupos hidroxilo de la celulosa son también responsables de formar los enlaces puente de hidrógeno intra e intermoleculares que dan lugar a las celdas cristalinas, la modificación química deberá limitarse a la superficie y a las regiones amorfas de las nanofibrillas de celulosa para evitar comprometer su cristalinidad y, por consiguiente, alterar sus propiedades (por ejemplo, las mecánicas).

En el caso específico de esta tesis, la naturaleza hidrofílica y la elevada área superficial de las nanofibrillas de celulosa promueven su agregación al ser incorporadas a matrices poliméricas hidrofóbicas como el PLA, por lo que resulta de interés hidrofobizar la superficie de las nanofibrillas para mejorar su dispersión y, eventualmente, la adhesión con la matriz polimérica. En esta tesis el tema se abordó mediante la acetilación de las nanocelulosas nativas en condiciones heterogéneas (las nanofibrillas se mantienen en suspensión, no se disuelven) en niveles cuantificados mediante el llamado grado de sustitución (GS) que corresponde al número promedio de grupos acetilos introducidos por unidad anhidroglucosa.

En cuanto al estado del arte de la acetilación de nanocelulosas tanto de origen bacteriano como vegetal, en la bibliografía se han reportado diversos protocolos que implicaron el uso de diversos medios, catalizadores y condiciones de reacción sobre nanocelulosas en suspensión, “prensadas” o secas. Un resumen de estas estrategias aplicadas a nanocelulosas bacterianas y vegetales se presenta en la **Tabla A.1** del anexo A (“Revisión de estrategias de acetilación de nanocelulosas”). Brevemente, la revisión evidencia que las reacciones de acetilación se han llevado a cabo tanto sobre películas secas o prensadas de nanocelulosas como sobre suspensiones de nanofibrillas *never-dried*, las cuales fueron previamente sometidas a intercambios de solvente con la finalidad de desplazar el agua original del proceso de obtención por el solvente/medio de reacción. Como catalizadores, la mayoría de las contribuciones han usado ácido perclórico, ácido sulfúrico, piridina, ácido tartárico o ácido cítrico; mientras que los medios de reacción más frecuentes han sido ácido acético, ácido acético/tolueno, anhídrido acético, tolueno, anhídrido acético/ácido acético y anhídrido acético/tolueno (**Abdulkhani et al., 2014; Ashori et al., 2014; Ávila Ramírez et al., 2016; Bulota et al., 2012; Cunha et al., 2014; Goncalves et al., 2015; Goncalves et al., 2016;**

Ifuku et al., 2007; Jonoobi et al., 2012, Kim, Nishiyama & Kuga, 2002; Nogi et al., 2006; Olaru et al., 2011; Rodionova et al., 2011; Sassi & Chanzy, 1995; Tserki et al., 2005 Tomé et al., 2011). También se han reportado estrategias de acetilación de nanocelulosas en medios de tolueno o de anhídrido acético sin el agregado de catalizadores, en general en reacciones llevadas a cabo a temperaturas por encima de los 100°C (**Bulota et al., 2012; Nogi et al., 2006; Rodionova et al., 2011; Tserki et al., 2005**).

La mayoría de los protocolos implementados demostraron ser efectivos para hidrofobizar las nanocelulosas y reducir su polaridad, lo que se ilustró en muchos casos a partir de ensayos de dispersabilidad en distintos solventes o determinando el ángulo de contacto de gotas de agua u otros solventes a distintos tiempos sobre el material nativo y acetilado (**Ashori et al., 2014; Rodionova et al., 2011**). La literatura también evidencia el impacto de la metodología y extensión de la modificación química sobre la estructura cristalina de las nanocelulosas usadas como sustrato, con reportes de estrategias que limitaron la modificación a la superficie y regiones amorfas de las nanofibrillas de celulosa preservando su estructura cristalina (**Ávila Ramírez et al., 2016; Nogi et al., 2006**), y otras en las que se indica que la introducción de grupos acetilo impactó negativamente en el arreglo cristalino original de los sustratos (**Ashori et al., 2014; Hu et al., 2011; Ifuku et al., 2007; Jonoobi et al., 2010**).

En la presente tesis, la estrategia de modificación química de BNC y VNC se seleccionó en base al trabajo previo del grupo de investigación en la acetilación de nanocelulosa bacteriana obtenida con una cepa pura de *K. xylinus* en medios de anhídrido acético a 120°C con o sin agregado de ácido cítrico como catalizador. En dicho trabajo se demostró que el tiempo, la temperatura y la carga de catalizador permitían modular el GS conferido a la nanocelulosa bacteriana y reducir la polaridad de la BNC nativa mejorando su dispersión en solventes de baja polaridad como diclorometano o cloroformo, sin comprometer su cristalinidad (**Ávila Ramírez, 2019; Ávila Ramírez et al., 2014; Ávila Ramírez et al., 2016; Ávila Ramírez et al., 2019; Ávila Ramírez et al., 2020**). A la hora de seleccionar el nivel de modificación a conferir a las nanocelulosas de esta tesis, se tuvieron en cuenta también resultados previos del grupo sobre compuestos de PLA y 3% (p/p) de BNC nativa y acetilada con distintos GS (0.25, 0.43 y 0.61) preparados por evaporación de solvente, que evidenciaron que valores de GS de 0.20-0.25 eran suficientes para lograr una buena dispersión de las nanofibrillas en la matriz de PLA debido a una compatibilidad aumentada entre los componentes. Mayores valores de GS no tuvieron un impacto significativo en las propiedades de los compuestos desarrollados (**Ávila Ramírez et al., 2019**).

4.2 Resultados y discusión

En función de lo descripto en la introducción del capítulo, se llevaron adelante reacciones de acetilación de las nanocelulosas tendientes a hidrofobizar su superficie y mejorar su compatibilidad con la matriz de PLA. Antecedentes del grupo de investigación evidenciaron que grados de sustitución (GS) en torno a 0.20-0.25 eran suficientes para mejorar significativamente la compatibilidad y la dispersión de nanofibrillas de celulosa bacteriana obtenidas con *Komagataeibacter xylinus* en películas de PLA (3051D, NatureWorks) desarrolladas por evaporación del solvente, al tiempo que no se alteraba la estructura cristalina de la BNC (Ávila Ramírez, 2019; Ávila Ramírez *et al.*, 2014; Ávila Ramírez *et al.*, 2016; Ávila Ramírez *et al.*, 2019; Ávila Ramírez *et al.*, 2020). En base a ello, en esta tesis se modularon las condiciones de acetilación para conferir a la BNC aislada del subproducto de la producción de Kombucha y a la VNC aislada de la cáscara de arroz valores de GS en el mismo orden.

Al efecto, y considerando la cantidad de BNC y VNC acetiladas requeridas para desarrollar todos los nanocompuestos de esta tesis, se realizó un conjunto acotado de ensayos preliminares destinados a evaluar el efecto de la temperatura (100°C y 120°C) y el tiempo de reacción (1 y 3 h) en el GS de los productos obtenidos, trabajando sobre una base seca de 1 gramo de las nanocelulosas disperso en 100 mL de anhídrido acético con agitación magnética constante. Mediante saponificación se identificó que las condiciones de reacción adecuadas para alcanzar los valores de GS deseados (0.20-0.25) fueron 120°C y 1 hora de reacción.

Seguidamente, y a los fines de aumentar la producción de nanocelulosas acetiladas por lote de reacción dada la cantidad de material necesaria para la formulación de las películas compuestas de los capítulos siguientes, se aumentó la escala a 2.5 gramos de nanocelulosa (siempre en base seca), comprobándose que la acetilación a 120°C durante 1 hora de reacción en medio de anhídrido acético permitía obtener en forma sistemática lotes de 1.5-2.0 gramos secos de BNC acetilada (AcBNC) con un GS de 0.20 ± 0.03 . A efectos de contar con todo el material requerido para la caracterización de la AcBNC y para el desarrollo de los materiales compuestos basados en PLA de los capítulos 5 y 6 (~10 g), la reacción debió repetirse 6 veces. El mismo proceso y bajo las mismas condiciones de reacción se llevó a cabo para la acetilación de VNC, obteniéndose diversos lotes de AcVNC con un GS de 0.20 ± 0.02 .

A los efectos de comprobar si efectivamente la acetilación había conducido a materiales con mayor potencial de compatibilización con el PLA hidrofóbico, las nanocelulosas nativas y

acetiladas con $GS=0.20$ fueron sometidas a ensayos cualitativos de dispersión en solventes de polaridad decreciente, según sus índices de polaridad (IP): agua (IP=10.2), acetona (IP=5.1) y cloroformo (IP=4.1). La **Figura 4.1** ejemplifica los resultados para el caso de BNC y AcBNC (los resultados para VNC y AcVNC son similares).

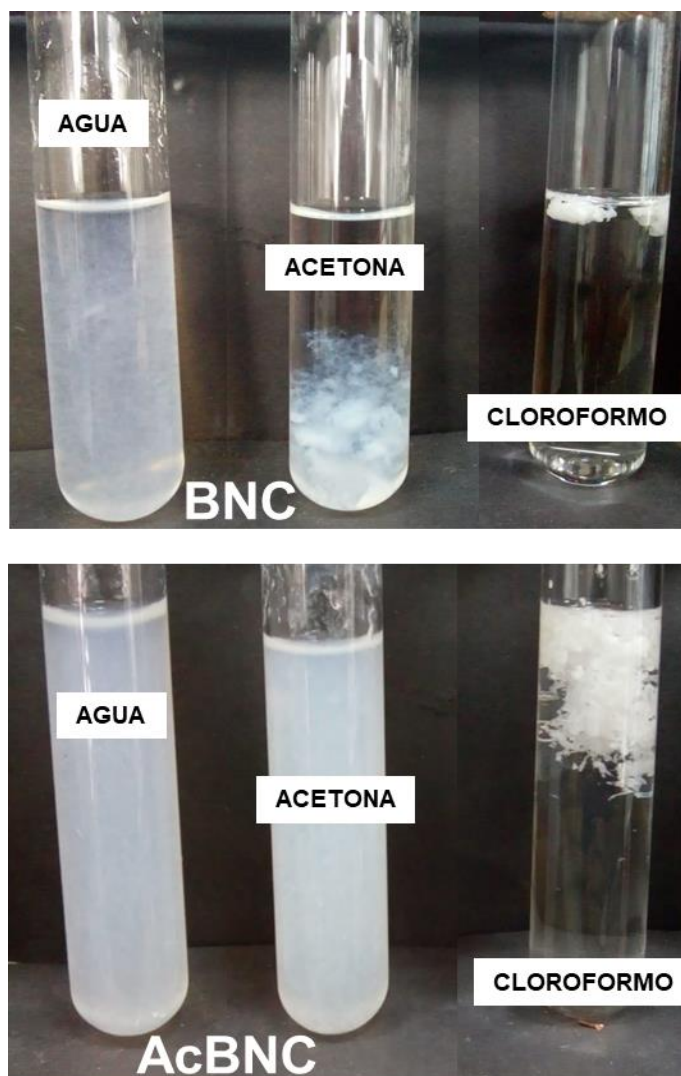


Figura 4.1. Dispersabilidad de BNC y AcBNC en diferentes solventes (de izquierda a derecha: agua, acetona y cloroformo). Imágenes tomadas luego de 48 h en reposo.

Como se puede apreciar, en ambos casos la BNC se dispersó fácilmente en agua, manteniendo una suspensión estable durante todo el período del ensayo. Sin embargo, para los demás solventes con polaridad decreciente utilizados, se observaron diferencias en la dispersabilidad de las nanocelulosas atribuibles a los cambios en su polaridad superficial inducidos como resultado de la acetilación. Mientras que la BNC nativa sedimentó en acetona

y no logró dispersarse en cloroformo; la AcBNC formó una suspensión homogénea y estable en acetona, al tiempo que pudo dispersarse parcialmente en cloroformo. Lo anterior sugirió la efectividad de la acetilación implementada para hidrofobizar las nanocelulosas.

Seguidamente, y como ensayo cualitativo más representativo del efecto de la acetilación sobre la compatibilidad de las nanocelulosas con la matriz a las que se las incorporará, se prepararon películas de PLA y BNC, AcBNC, VNC y AcVNC al 16.7% por evaporación de solvente en medio de cloroformo. La **Figura 4.2** muestra fotografías de las películas obtenidas.

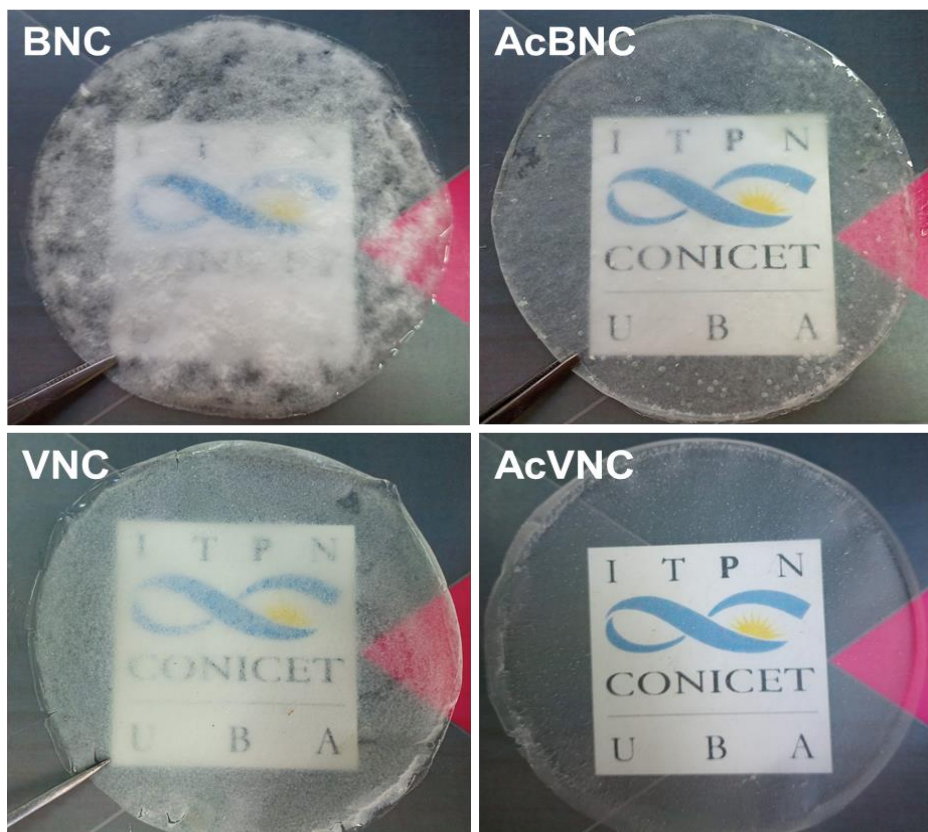


Figura 4.2. Películas compuestas de PLA/nanocelulosa bacteriana nativa y acetilada, y PLA/nanocelulosa vegetal nativa y acetilada.

Las películas compuestas que contienen AcBNC y AcVNC lucen más transparentes que aquellas que contienen sus contrapartes nativas, debido a que estas últimas presentan agregados de mayor tamaño. Observaciones similares fueron reportadas por Ávila Ramírez *et al.* (2019), quienes desarrollaron por evaporación de solvente compuestos de PLA con de BNC nativa y acetilada. Los autores informaron la presencia de agregados de nanocelulosa en los compuestos con BNC nativa y que relacionaron con una dispersión deficiente en el PLA

de la carga no modificada. Los compuestos desarrollados con BNC acetilada, en cambio, lucieron mucho más homogéneos sugiriendo que la acetilación mejoró la compatibilidad entre las fases y favoreció la dispersión del refuerzo (Ávila Ramírez *et al.*, 2019; Ávila Ramírez *et al.*, 2020). Análogamente, en esta tesis, la apariencia más homogénea de las películas con nanofibrillas acetiladas (**Figura 4.2**), sugiere cualitativamente una mejora en la dispersión de las nanocelulosas en el PLA como consecuencia de su hidrofobización.

Las nanocelulosas acetiladas fueron seguidamente caracterizadas en términos de morfología, estructura química y estabilidad térmica. Los resultados obtenidos se resumen a continuación en comparación con sus contrapartes nativas del capítulo 3.

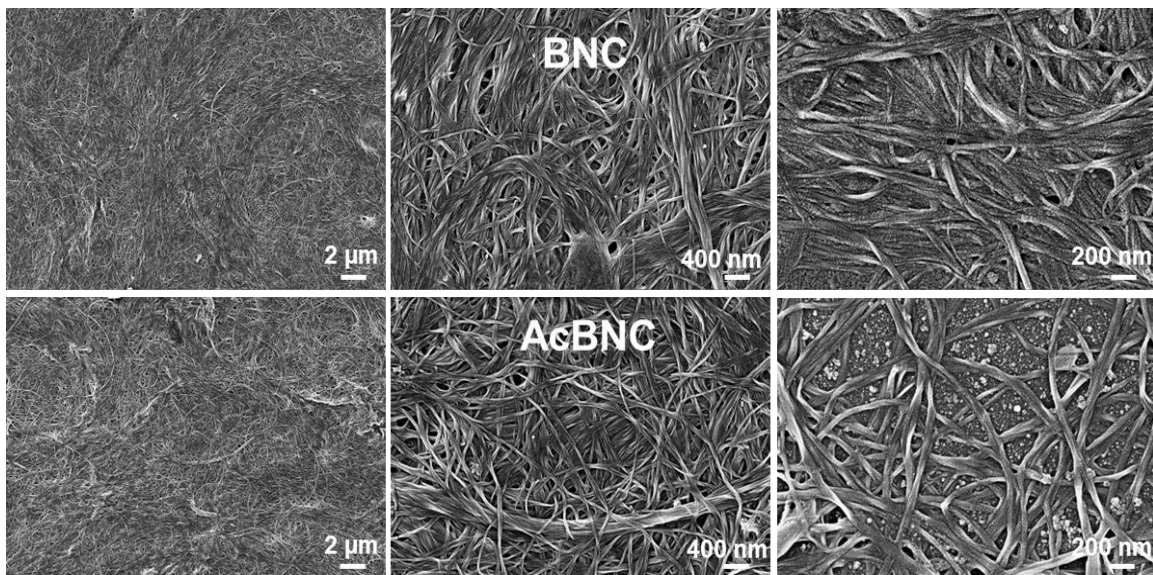


Figura 4.3. Micrografías de barrido electrónico de nanocelulosa bacteriana nativa y acetilada.

La **Figura 4.3** exhibe micrografías FESEM de BNC y AcBNC. En ambos casos se pueden visualizar redes de nanocintas de estructura fibrilar conservada, con anchos entre 40 y 80 nm y sin daños visibles debido a la acetilación. Observaciones similares fueron reportadas por Ávila Ramírez *et al.* (2014) quienes acetilaron BNC obtenida con una cepa de *K. xylinus* durante 1 a 7 horas a 120°C en un medio de anhídrido acético usando ácido cítrico como catalizador, obteniendo productos con valores de GS en el rango de 0.27-0.90. Los autores concluyeron que, bajo las condiciones elegidas, el protocolo de acetilación no alteró la estructura fibrosa de las nanofibrillas de celulosa incluso para el valor de GS más alto conferido (Ávila Ramírez *et al.*, 2014). Resultados comparables fueron reportados previamente por Ifuku *et al.* (2007), quienes confirmaron mediante microscopía electrónica de

barrido la apariencia conservada de la BNC acetilada con anhídrido acético a temperatura ambiente durante 1 h con un GS ~ 0.45 . Sin embargo, para grados de sustitución mucho más altos (~ 1.55), los autores informaron un incremento en el volumen del material asociado a la introducción de grupos éster en el interior de las nanofibrillas (y no sólo confinada a su superficie) (Ifuku *et al.*, 2007).

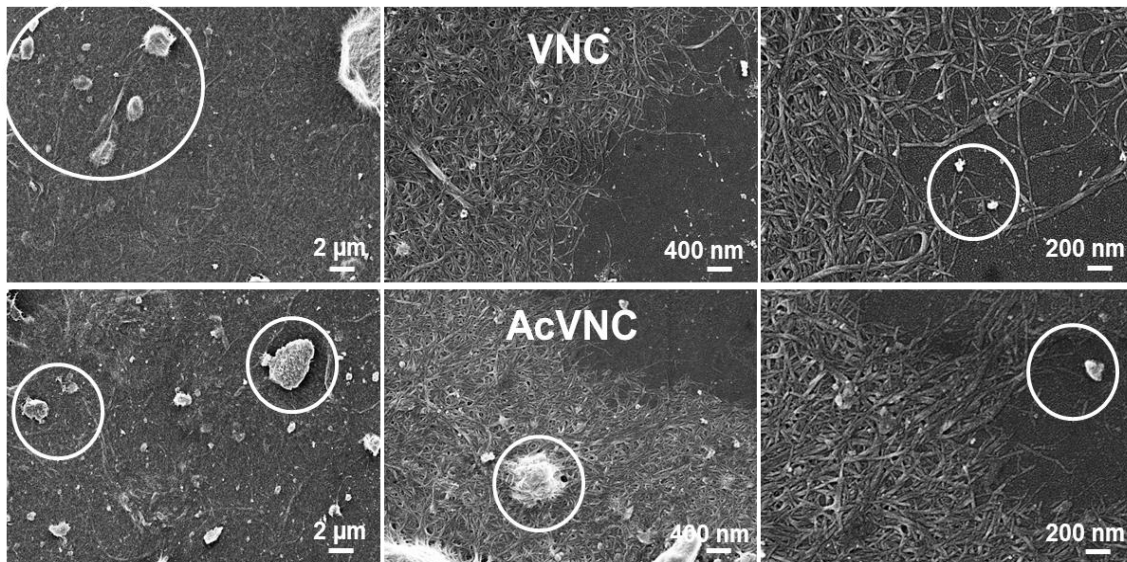


Figura 4.4. Micrografías de barrido electrónico de nanocelulosa vegetal nativa y acetilada.

La **Figura 4.4** exhibe micrografías FESEM de VNC y AcVNC. En las imágenes correspondientes a ambas muestras se observan nanofibrillas continuas con anchos entre 15 y 40 nm y, del mismo modo que para la nanocelulosa de origen microbiano, no se observan cambios morfológicos evidentes en el material atribuibles a la reacción de acetilación. Estos resultados coinciden con los reportados por Rodionova *et al.* (2011) quienes acetilaron nanofibrillas de celulosa vegetal obtenidas a partir de pulpa Kraft en tolueno sin catalizadores a 70°C y con tiempos de reacción entre 0.5 y 4.0 horas. Los autores encontraron que la morfología y la relación de aspecto de las nanofibrillas acetiladas se mantuvieron constantes después de la acetilación para todos los tiempos de reacción utilizados, a los cuales se alcanzaron grados de sustitución en el rango de 0.21 a 0.32 (Rodionova *et al.*, 2011).

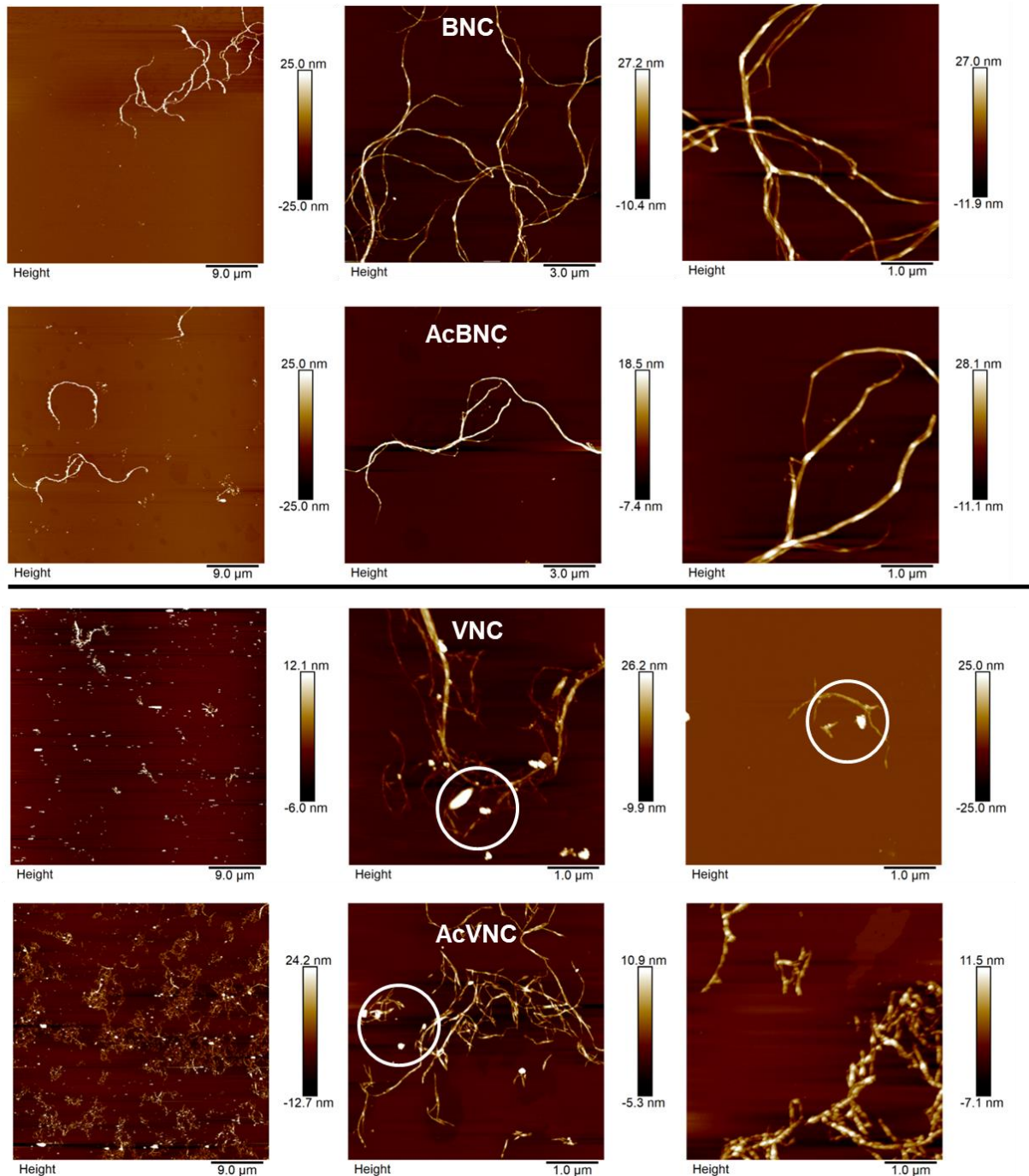


Figura 4.5. Imágenes obtenidas por microscopía de fuerza atómica de la nanocelulosa bacteriana nativa y acetilada, y de la nanocelulosa vegetal nativa y acetilada.

La **Figura 4.5** reúne las imágenes obtenidas por microscopía de fuerza atómica de todas las nanocelulosas. En las imágenes correspondientes a la nanocelulosa bacteriana nativa y acetilada se pueden observar nanocintas con longitudes que superan la decena de micrones.

En cuanto a las imágenes de la nanocelulosa vegetal nativa y acetilada, ambas revelan nanofibrillas con largos variables entre 200 nm y 3 micrones. Las nanofibrillas mucho más cortas habrían sido resultado del tratamiento con ácido clorhídrico en el último paso del aislamiento de la nanocelulosa vegetal. Confirmando lo observado por FESEM, en ningún caso se identificaron por AFM cambios morfológicos evidentes producto de la acetilación de las nanocelulosas. Por otro lado, ambas microscopías evidencian que en la nanocelulosa vegetal acetilada persisten partículas de mayor tamaño (encerradas en círculos en las **Figuras 4.4 y 4.5**) que corresponderían a silicatos remanentes de la purificación de la celulosa, según lo reportado en el capítulo 3.

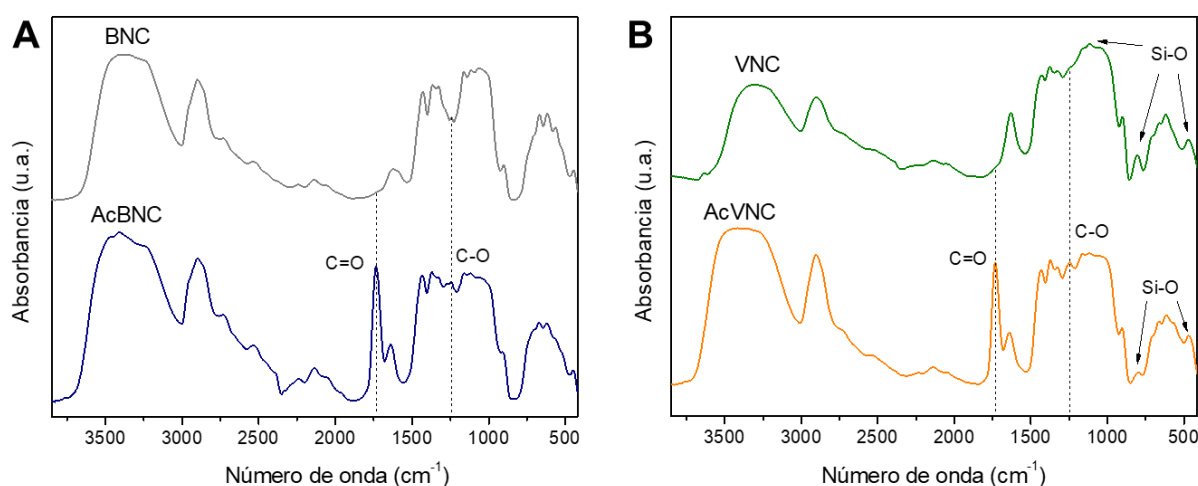


Figura 4.6. Espectros infrarrojo de (A) nanocelulosa bacteriana nativa y acetilada y (B) nanocelulosa vegetal nativa y acetilada.

La **Figura 4.6** muestra los espectros infrarrojo de las nanocelulosas bacteriana y vegetal acetiladas, en comparación con sus formas nativas. Todas las muestras presentan las bandas típicas de la celulosa oportunamente mencionadas en el capítulo anterior al describir los espectros FTIR de la BNC y VNC. Estas bandas corresponden a la vibración de los enlaces O-H de los grupos hidroxilo ($3700\text{-}3000\text{ cm}^{-1}$); al enlace C-H de los grupos metilo y metileno ($3000\text{-}2800\text{ cm}^{-1}$), a la flexión simétrica de los grupos CH_2 y a la flexión en el plano del enlace -OH ($1450\text{-}900\text{ cm}^{-1}$), a los grupos C-O-C del enlace glicosídico ($1170\text{-}1060\text{ cm}^{-1}$), y a los enlaces β presentes en polímeros de glucosa (898 cm^{-1}). Por último, la señal observada a $\sim 1645\text{ cm}^{-1}$ en todas las muestras, se debe a la flexión de los enlaces H-O-H del agua absorbida por la celulosa (**Ávila Ramírez et al., 2019; Cerrutti et al., 2016**). En el caso de las

nanocelulosas vegetales se suman en ambos espectros las señales ubicadas en 804 cm^{-1} y 465 cm^{-1} , previamente asignadas al enlace Si-O-Si de los silicatos.

En cuanto a las nanocelulosas acetiladas en ambos espectros se pueden visualizar, además, señales en 1735 cm^{-1} y 1244 cm^{-1} . Trabajos previos de acetilación de nanocelulosas también identificaron la presencia de estas bandas como consecuencia de la modificación química implementada. Kim *et al.* (2002), por ejemplo, reportaron nuevas absorancias en 1750 cm^{-1} , 1375 cm^{-1} y 1240 cm^{-1} y las asignaron a los enlaces C=O, C-CH₃ y C-O, respectivamente (Kim *et al.*, 2002). Por otro lado, Ifuku *et al.* (2007) informaron la aparición de bandas en 1742 cm^{-1} , 1369 cm^{-1} y 1229 cm^{-1} , asignadas a los mismos grupos ya mencionados (Ifuku *et al.*, 2007). En este trabajo de tesis, la banda correspondiente a los grupos metilo no se observa con claridad.

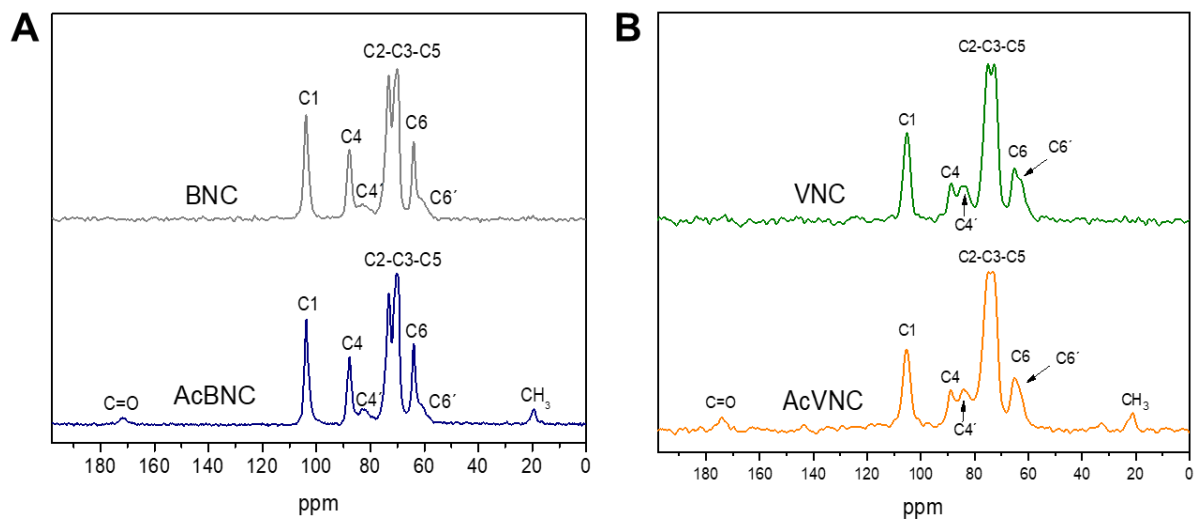


Figura 4.7. Espectros de resonancia magnética nuclear de carbono 13 en estado sólido (CP/MAS-¹³C RMN) de (A) nanocelulosa bacteriana nativa y acetilada y (B) nanocelulosa vegetal nativa y acetilada.

La **Figura 4.7** muestra los espectros de resonancia magnética nuclear de carbono 13 en estado sólido (CP/MAS-¹³C RMN) de las nanocelulosas nativas y acetiladas. En todos los espectros, las nanocelulosas muestran las señales características de la celulosa I, como se detalló en el capítulo 3. Estas señales incluyen las correspondientes al carbono C1 (105.1 ppm), C4 (89.1 ppm), los carbonos C2 - C3 - C5 (80-69 ppm, señales superpuestas) y el carbono C6 (65.3 ppm) (Jandura, Kokta & Riedl, 2000; Yamamoto, Horii & Hirai, 2006).

Las señales atribuidas al C4' (84.1 ppm) y C6' (62.7 ppm) corresponden a los carbonos de los componentes amorfos o desordenados de la nanocelulosa, que aparecen a campos de resonancia más altos que los correspondientes a sus respectivas formas cristalinas (C4 y C6) (**Atalla & VanderHart, 1984; Cunha et al., 2014; Park et al., 2010**).

Adicionalmente, en los espectros correspondientes a las muestras AcBNC y AcVNC se observan señales entre 171 y 173 ppm y resonancias en los 20 ppm. Otros autores adjudicaron previamente la aparición de estas señales a grupos carbonilo (C=O) y metilo (-CH₃) introducidos por reacciones de acetilación. Por ejemplo, Hu *et al.* (2011) informaron la presencia de dichas señales en espectros de resonancia magnética nuclear de muestras de nanocelulosa bacteriana acetilada en medio de anhídrido acético utilizando yodo como catalizador, con valores de GS entre 0.23 y 1.98 (**Hu et al., 2011**). Barud *et al.* (2008) también encontraron estas señales en nanocelulosa bacteriana acetilada con anhídrido acético usando ácido sulfúrico como catalizador con valores de GS entre 2.3 y 2.8. Los autores además reportaron modificaciones en las características de los patrones de los espectros de RMN, particularmente en C4 y C6, que asociaron con alteraciones en la estructura cristalina de la BNC y con la heterogeneidad en la distribución de los grupos éster a GS tan elevados (**Barud et al., 2008**). En cuanto a la acetilación de nanocelulosas de origen vegetal, Özmen reportó la presencia de estas mismas señales en el espectro de RMN de celulosa de fibras de cáñamo acetilada con anhídrido acético usando piridina como catalizador (**Özmen, 2012**).

Respecto del análisis de la cristalinidad de las nanocelulosas derivatizadas, la **Figura 4.8** reúne los difractogramas de rayos X de las muestras nativas y acetiladas. Los difractogramas correspondientes a la BNC y a la AcBNC (**Figura 4.8a**), exhiben señales intensas centradas en $2\theta=14.5^\circ$ (100), 16.8° (010), 22.7° (110), y señales más débiles a $2\theta=20.5^\circ$ (012 y 102) y 34.5° (varios planos de red), todos ellos característicos de la celulosa I α (**French, 2014**). Por otro lado, en los patrones de difracción de rayos X de las nanocelulosas vegetales (**Figura 4.8b**), se pueden identificar señales centradas en $2\theta=15.8^\circ$ (resultado de la superposición de picos centrados en $2\theta=14.5^\circ$ (1-10) y 16.8° (110)), 22.7° (200) y 34.5° (004), correspondientes a la celulosa I β . Como ya se describió en el capítulo 3, las muestras de nanocelulosa bacteriana exhiben picos de difracción más agudos y mejor resueltos, debido a la mayor cristalinidad intrínseca del material (**Klemm et al., 2011**).

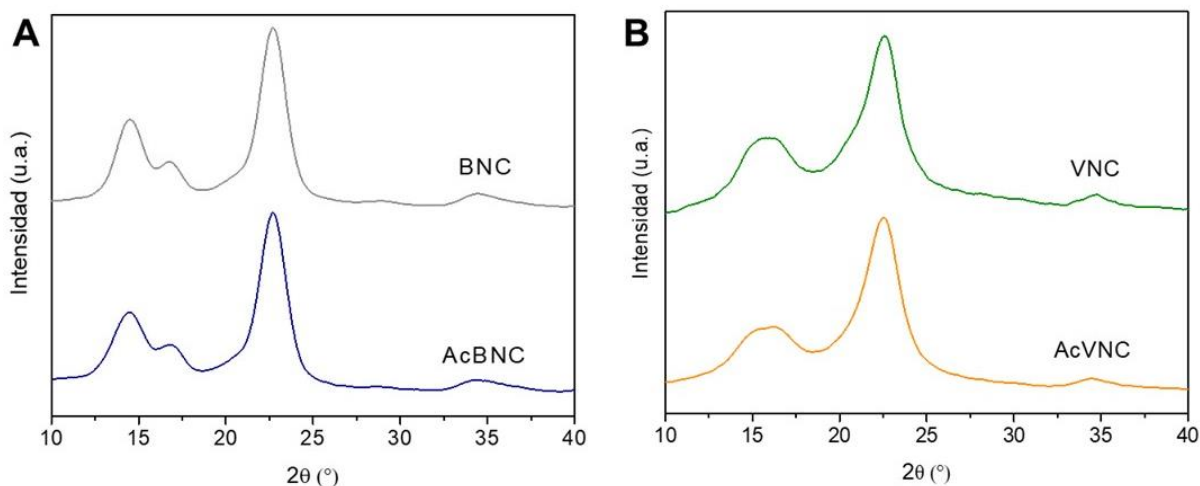


Figura 4.8. Difractogramas de rayos X de (A) nanocelulosa bacteriana nativa y acetilada, y (B) nanocelulosa vegetal nativa y acetilada.

En cuanto a los efectos de la acetilación, no se observan diferencias mayores en los difractogramas respecto de las nanocelulosas nativas. Resultados similares fueron registrados por Tomé *et al.* (2011) para nanocelulosas vegetales y bacterianas acetiladas con GS de 0.06 y de 0.02, respectivamente, en medio de anhídrido acético sin cosolventes, usando ácido sulfúrico como catalizador. En ambos casos, los patrones de difracción de rayos X de las nanocelulosas resultaron similares, concluyendo que la modificación se limitó esencialmente a la superficie de las nanofibrillas y/o a los dominios de celulosa amorfos, sin afectar significativamente las regiones cristalinas de la nanocelulosa (Tomé *et al.*, 2011).

Por su parte, Ifuku *et al.* (2007) demostraron que el patrón de difracción de la muestra de BNC acetilada con un GS de 0.45 fue similar al de la BNC nativa, lo que se atribuyó a una acetilación preferencialmente superficial de la celulosa. En cambio, para GS superiores (0.95 y 1.55), los autores reportaron cambios significativos en los difractogramas asociados con cambios en la estructura cristalina de la celulosa (Ifuku *et al.*, 2007). Por otro lado, Hu *et al.* (2011) también acetilaron BNC con distintos GS. Los autores observaron que la estructura cristalina de la BNC acetilada se mantenía respecto de la nativa para GS de 0.45 y 0.65, pero al alcanzar valores de GS de 1.75 y 1.98, se evidenciaron cambios significativos en los patrones de difracción de rayos X de los productos, por lo que los autores informaron que ya no se trataba de una acetilación superficial. Además, los autores reportaron que la intensidad de las señales en el espectro RMN a 89.0 ppm para el carbono cristalino C4 y a 65.3 ppm para el carbono cristalino C6 disminuyeron bruscamente en los espectros correspondientes a

las BNC acetiladas con GS > a 1.75, en contraposición a lo evidenciado en los espectros la BNC acetilada con menores GS, reforzando la hipótesis (Hu *et al.*, 2011).

Tabla 4.1. Índices de cristalinidad (ICr) de nanocelulosa bacteriana nativa y acetilada, y de la nanocelulosa vegetal nativa y acetilada.

Muestra	ICr (% Método 1)	ICr (% Método 2)	ICr (% Método 3)	ICr (% Método 4)
BNC	94±1	77±1	72±3	62±2
AcBNC	93±1	75±1	77±3	60±2
VNC	85±1	53±1	76±3	17±2
AcVNC	84±1	54±1	70±3	17±2

A efectos de realizar un análisis más cuantitativo, se calcularon los índices de cristalinidad de las nanocelulosas acetiladas a partir de sus difractogramas de rayos X y de sus espectros de resonancia magnética nuclear, mediante los cuatro métodos descritos por Park *et al.* (2010) oportunamente detallados. Los ICr obtenidos se presentan en la **Tabla 4.1** en comparación con los correspondientes a los de las nanocelulosas sin derivatizar. Como puede observarse, una vez más quedan expuestas las diferencias en los valores de ICr de acuerdo con el método empleado para el cálculo, siendo aquellos obtenidos con el método 1 (método de la altura del pico o método de Segal) los más elevados. Por otro lado, comparando los valores obtenidos con un mismo método quedan en evidencia las similitudes entre los ICr de las nanocelulosas acetiladas y sus contrapartes nativas en todos los casos, confirmando que la funcionalización implementada se limitó a la superficie y/o a las regiones amorfas de las nanocelulosas, lo que resulta relevante para promover que se mantengan las propiedades que derivan de la cristalinidad original de las nanocelulosas nativas.

Resultados similares fueron reportados en trabajos dedicados a la obtención y caracterización de nanocelulosas acetiladas con distintos grados de sustitución con GS de 0.27 a 0.90. Ávila Ramírez y equipo, por ejemplo, demostraron que los índices de cristalinidad calculados por el método de Segal para la BNC nativa (90%) no se veían notablemente alterados luego de acetilaciones catalizadas con ácido láctico, ácido (L)-tartárico y ácido cítrico. Los autores informaron valores de ICr de 88%, 86% y 80%, respectivamente. Estos resultados indicaron que la modificación involucró esencialmente los grupos hidroxilo expuestos en la superficie de las nanocintas y/o los que se encuentran en las regiones amorfas de la BNC, sin afectar la ultraestructura de las nanofibras (Ávila Ramírez, 2019). Por otro lado, Cunha *et al.* (2014) acetilaron películas secas de nanocelulosa vegetal y bacteriana

hasta valores de GS de 0.2-1.9. Los autores calcularon los ICr por el método 3 (de sustracción amorfa) obteniendo valores de 65% y 63% para muestras de nanocelulosas vegetales nativas y acetiladas, y de 77% y 80% para nanocelulosas bacterianas nativas y acetiladas, respectivamente. A partir de estos resultados los autores concluyeron que la modificación química llevada a cabo en las condiciones seleccionadas anteriormente descriptas no alteró las regiones ordenadas de la nanocelulosa con GS de 0.2-1.5. Estas conclusiones fueron reforzadas por la similitud de la intensidad de las señales cristalinas (C4) en los espectros de CP/MAS-¹³C RMN de las nanocelulosas modificadas y sin modificar (**Cunha et al., 2014**), al igual que lo observado en este trabajo de tesis (**Figura 4.7**).

Por último, se estudió el impacto de la modificación química de las nanocelulosas en su estabilidad térmica. Los resultados se presentan en la **Figura 4.9**. La misma recoge las curvas de pérdida de masa (TG, **Figuras 4.9a** y **4.9c**) y su derivada (DTG, **Figuras 4.9b** y **4.9d**) de las nanocelulosas nativas y acetiladas. En el caso de la BNC y AcBNC (**Figuras 4.9a** y **4.9b**) se observan inicialmente pérdidas de peso del 3-4% en el rango comprendido entre RT y 130°C, vinculadas a la deshidratación de las muestras. Luego, en el rango de 220-400°C, ambas nanocelulosas presentan una pérdida de peso de ~80%, relacionada con la descomposición de la celulosa. La T_{máx} de la AcBNC fue de 361°C, 20°C menor que el valor registrado para la BNC nativa. Esta misma tendencia fue previamente reportada por Tomé *et al.* (2011) quienes encontraron una disminución en la estabilidad térmica de BNC modificada con anhídrido acético utilizando ácido sulfúrico como catalizador (GS=0.17), y la atribuyeron a la alta labilidad de los enlaces éster introducidos en la estructura de la nanocelulosa (**Tomé et al., 2011**). Otros autores la adjudicaron a una menor interacción entre las nanofibrillas de celulosa debido a la interrupción del establecimiento de enlaces puente de hidrógeno asociada a la presencia de nuevos grupos funcionales (**Huang et al., 2014**). A pesar de ello, la temperatura de descomposición de la nanocelulosa bacteriana acetilada sigue siendo mucho mayor que la temperatura de fusión del PLA 4043D empleado en este trabajo de tesis (170-180°C) por lo que, según estos resultados, no se verá comprometida la estabilidad térmica del refuerzo durante el procesamiento en fundido en el desarrollo de compuestos (capítulo 5). Finalmente, ambas nanocelulosas presentan bajos contenidos de cenizas a 800°C.

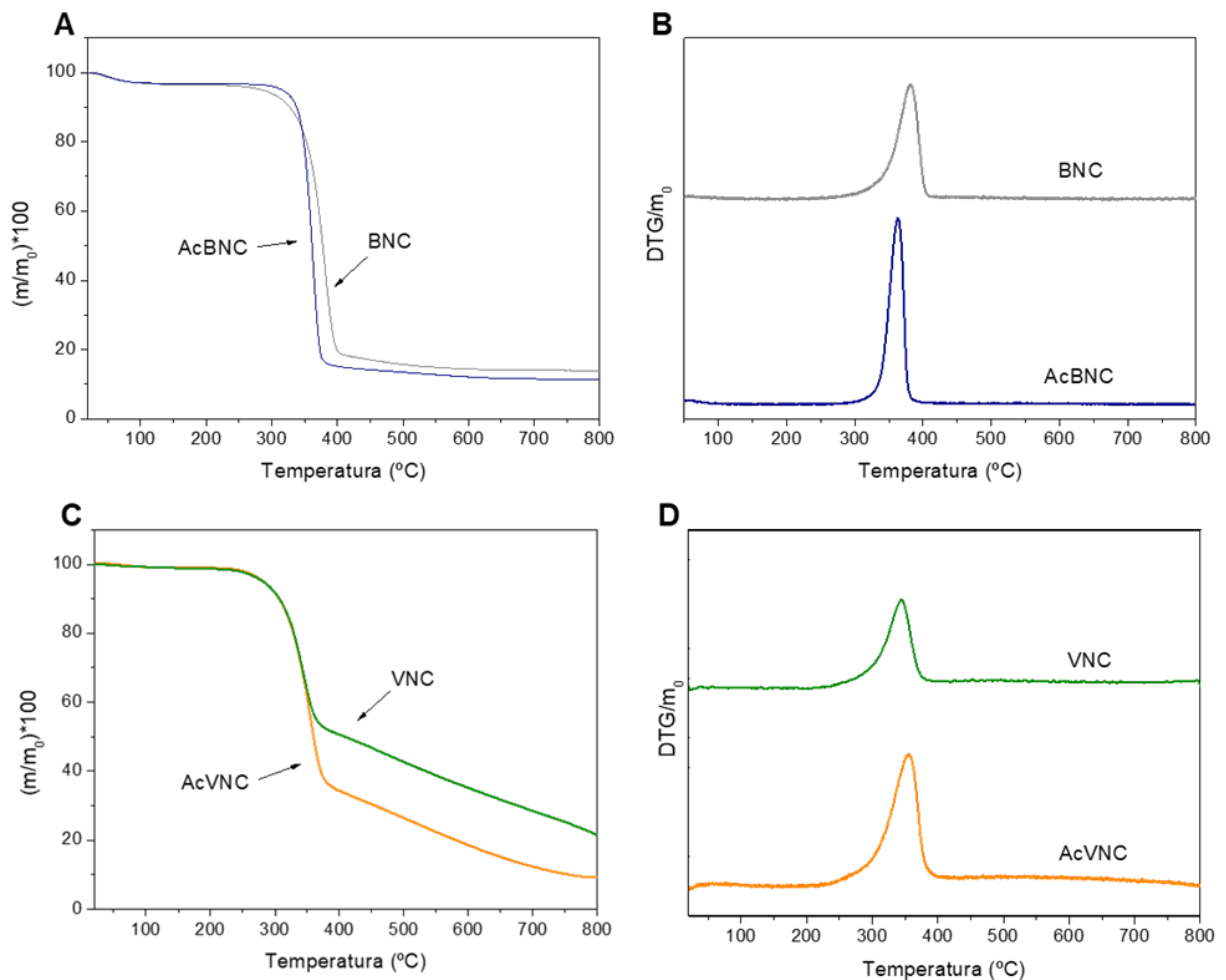


Figura 4.9. (A) Curvas TG y (B) DTG de nanocelulosa bacteriana nativa y acetilada, y (C) curvas TG y (D) DTG de nanocelulosa vegetal nativa y acetilada.

Las curvas que ilustran los patrones de descomposición térmica de las muestras de nanocelulosa vegetal nativa y acetilada se presentan en las **Figuras 4.9c y d**. En ambas curvas se observan pérdidas de peso de aproximadamente 2% entre temperatura ambiente y 130°C relacionadas con la deshidratación de las muestras. Posteriormente, se observan pérdidas de masa del ~65% para la AcVNC frente a pérdidas de ~50% para la VNC, asociadas al principal evento de descomposición de la celulosa ubicado en el rango 220-400°C. Para esta nanocelulosa, no se observó que se redujera la temperatura de mayor velocidad de descomposición ($T_{m\acute{a}x}$) como consecuencia de la acetilación. En cuanto al contenido de cenizas a 800°C, el valor registrado para la AcVNC que fue notablemente inferior (10%) al de su contraparte nativa (22%). Las diferencias en el patrón de descomposición térmica de VNC

y AcVNC sugieren que parte de los silicatos remanentes del proceso de purificación de la nanocelulosa vegetal pudieron haber sido eliminados durante los intercambios de solvente, la reacción de acetilación y los sucesivos lavados posteriores con etanol y agua destilada. La remoción de silicatos no habría sido completa según lo observado en el análisis morfológico (FESEM y AFM) y en los espectros FTIR de las muestras (**Figuras 4.4, 4.5 y 4.6b**, respectivamente).

4.3 Conclusiones del Capítulo 4

En este capítulo se acetilaron las nanocelulosas obtenidas en el capítulo anterior mediante reacciones llevadas a cabo en medio de anhídrido acético sin cosolventes ni catalizador, a 120°C durante 1 hora. Se obtuvieron valores de GS de 0.20 ± 0.03 .

Los resultados de espectroscopía infrarroja y resonancia magnética nuclear de carbono 13 en estado sólido (CP/MAS- ^{13}C RMN) confirmaron la ocurrencia de la acetilación, mientras que las microscopías y la difracción de rayos X indicaron que no hubo cambios sustanciales ni en la morfología ni en la cristalinidad de las nanocelulosas como consecuencia de la derivatización. El análisis de los valores de ICr determinados por distintos métodos a partir de los difractogramas de rayos X y de los espectros de RMN indicaron que la modificación fue mayormente superficial.

Los estudios de dispersión en medios líquidos de distinto índice de polaridad de las nanocelulosas nativas y derivatizadas, así como la evaluación visual de películas basadas en PLA y 16.7% (p/p) de las nanofibrillas nativas y acetiladas desarrolladas por evaporación de solvente, confirmaron cualitativamente que el grado de sustitución conferido permitió mejorar su compatibilidad con medios no polares.

4.4 Bibliografía

Abdulkhani, A., Hosseinzadeh, J., Ashori, A., Dadashi, S., & Takzare, Z. (2014). Preparation and characterization of modified cellulose nanofibers reinforced polylactic acid nanocomposite. *Polymer Testing*, 35, 73.

Ashori, A., Babaei, M., Jonoobi, M., & Hamzeh, Y. (2014). Solvent-free acetylation of cellulose nanofibers for improving compatibility and dispersion. *Carbohydrate Polymers*, 102, 369.

Atalla, R. H., & VanderHart, D. L. (1984). Native cellulose: a composite of two distinct crystalline forms. *Science*, 223(4633), 283.

Ávila Ramírez, J. A., Bovi, J., Bernal, C., Errea, M. I., & Foresti, M. L. (2020). Development of poly (lactic acid) nanocomposites reinforced with hydrophobized bacterial cellulose. *Journal of Polymers and the Environment*, 28, 61.

Ávila Ramírez, J. A., Cerrutti, P., Bernal, C., Errea, M. I., & Foresti, M. L. (2019). Nanocomposites based on poly (lactic acid) and bacterial cellulose acetylated by an α -hydroxyacid catalyzed route. *Journal of Polymers and the Environment*, 27, 510.

Ávila Ramirez, J. A., Gómez Hoyos, C., Arroyo, S., Cerrutti, P., & Foresti, M. L. (2016). Naturally occurring alfa-hydroxy acids: Useful organocatalysts for the acetylation of cellulose nanofibres. *Current Organocatalysis*, 3, 161.

Ávila Ramírez, J. A., Juan Suriano, C., Cerrutti, P., & Foresti, M. L. (2014). Surface esterification of cellulose nanofibers by a simple organocatalytic methodology. *Carbohydrate Polymers*, 114, 416.

Ávila Ramírez, J. A. (2019). Obtención y Esterificación Sostenible de Nanocelulosa Bacteriana Para Usos Que Requieren Regular La Polaridad de Las Nanofibras. Tesis de doctorado en Ingeniería. Instituto Tecnológico de Buenos Aires.

Barud, H. S., de Araújo Júnior, A. M., Santos, D. B., de Assunção, R. M., Meireles, C. S., Cerqueira, D. A., & Ribeiro, S. J. (2008). Thermal behavior of cellulose acetate produced from homogeneous acetylation of bacterial cellulose. *Thermochimica Acta*, 471(1-2), 61.

Bulota, M., Kreitsmann, K., Hughes, M., & Paltakari, J. (2012). Acetylated microfibrillated cellulose as a toughening agent in poly (lactic acid). *Journal of Applied Polymer Science*, 126(S1), E449.

Cunha, A. G., Zhou, Q., Larsson, P. T., & Berglund, L. A. (2014). Topochemical acetylation of cellulose nanopaper structures for biocomposites: mechanisms for reduced water vapour sorption. *Cellulose*, 21, 2773.

Cerrutti, P., Roldán, P., García, R. M., Galvagno, M. A., Vázquez, A., & Foresti, M. L. (2016). Production of bacterial nanocellulose from wine industry residues: Importance of fermentation time on pellicle characteristics. *Journal of Applied Polymer Science*, 133(14), 43109.

Dufresne, A. (2018). Cellulose nanomaterials as green nanoreinforcements for polymer nanocomposites. *Philosophical Transactions of the Royal Society A: Mathematical, Physical and Engineering Sciences*, 376(2112), 20170040.

Fischer, S., Thümmel, K., Volkert, B., Hettrich, K., Schmidt, I., & Fischer, K. (2008, January). Properties and applications of cellulose acetate. In *Macromolecular symposia* (Vol. 262, No. 1, p. 89). Weinheim: WILEY-VCH Verlag.

French, A. D. (2014). Idealized powder diffraction patterns for cellulose polymorphs. *Cellulose*, 21(2), 885.

Goncalves, S., Padrao, J., Rodrigues, I. P., Silva, J. P., Sencadas, V., Lanceros-Mendez, S. & Rodrigues, L. R. (2015). Bacterial cellulose as a support for the growth of retinal pigment epithelium. *Biomacromolecules*, 16(4), 1341.

Goncalves, S., Rodrigues, I. P., Padrão, J., Silva, J. P., Sencadas, V., Lanceros-Mendez, S. & Rodrigues, L. R. (2016). Acetylated bacterial cellulose coated with urinary bladder matrix as a substrate for retinal pigment epithelium. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 139, 1.

Hu, W., Chen, S., Xu, Q., & Wang, H. (2011). Solvent-free acetylation of bacterial cellulose under moderate conditions. *Carbohydrate Polymers*, 83(4), 1575.

Huang, K., Zhang, M., Zhang, G. U. A. N. G. Z. H. I., Jiang, X., & Huang, D. (2014). Acetylation modification of rice straw fiber and its thermal properties. *Cellulose Chemistry and Technology*, 48(3-4), 199.

Ifuku, S., Nogi, M., Abe, K., Handa, K., Nakatsubo, F., & Yano, H. (2007). Surface modification of bacterial cellulose nanofibers for property enhancement of optically transparent composites: dependence on acetyl-group DS. *Biomacromolecules*, 8(6), 1973.

Jandura, P., Kokta, B. V., & Riedl, B. (2000). Fibrous long-chain organic acid cellulose esters and their characterization by diffuse reflectance FTIR spectroscopy, solid-state CP/MAS ¹³C-NMR, and X-ray diffraction. *Journal of Applied Polymer Science*, 78(7), 1354.

Jonoobi, M., Harun, J., Mathew, A. P., Hussein, M. Z. B., & Oksman, K. (2010). Preparation of cellulose nanofibers with hydrophobic surface characteristics. *Cellulose*, 17, 299.

Jonoobi, M., Mathew, A. P., Abdi, M. M., Makinejad, M. D., & Oksman, K. (2012). A comparison of modified and unmodified cellulose nanofiber reinforced polylactic acid (PLA) prepared by twin screw extrusion. *Journal of Polymers and the Environment*, 20, 991.

Kim, D. Y., Nishiyama, Y., & Kuga, S. (2002). Surface acetylation of bacterial cellulose. *Cellulose*, 9, 361.

Klemm, D., Kramer, F., Moritz, S., Lindström, T., Ankerfors, M., Gray, D., & Dorris, A. (2011). Nanocelluloses: a new family of nature-based materials. *Angewandte Chemie International Edition*, 50(24), 5438.

Nogi, M., Abe, K., Handa, K., Nakatsubo, F., Ifuku, S., & Yano, H. (2006). Property enhancement of optically transparent bionanofiber composites by acetylation. *Applied Physics Letters*, 89(23).

Olaru, N., Olaru, L., Vasile, C., & Ander, P. (2011). Surface modified cellulose obtained by acetylation without solvents of bleached and unbleached kraft pulps. *Polimery*, 56(11-12), 834.

Özmen, N. (2012). A study of the effect of acetylation on hemp fibres with vinyl acetate. *BioResources*, 7(3), 3800.

Park, S., Baker, J. O., Himmel, M. E., Parilla, P. A., & Johnson, D. K. (2010). Cellulose crystallinity index: measurement techniques and their impact on interpreting cellulase performance. *Biotechnology for Biofuels*, 3, 1.

Rodionova, G., Lenes, M., Eriksen, Ø., & Gregersen, Ø. (2011). Surface chemical modification of microfibrillated cellulose: improvement of barrier properties for packaging applications. *Cellulose*, 18, 127.

Rosenthal, A. J., & White, B. B. (1952). Fractionation of cellulose acetate. *Industrial & Engineering Chemistry*, 44(11), 2693.

Sassi, J. F., & Chanzy, H. (1995). Ultrastructural aspects of the acetylation of cellulose. *Cellulose*, 2, 111.

Tomé, L. C., Pinto, R. J., Trovatti, E., Freire, C. S., Silvestre, A. J., Neto, C. P., & Gandini, A. (2011). Transparent bionanocomposites with improved properties prepared from acetylated bacterial cellulose and poly (lactic acid) through a simple approach. *Green Chemistry*, 13(2), 419.

Tserki, V., Zafeiropoulos, N. E., Simon, F., & Panayiotou, C. (2005). A study of the effect of acetylation and propionylation surface treatments on natural fibres. *Composites Part A: Applied Science and Manufacturing*, 36(8), 1110.

Yamamoto, H., Horii, F., & Hirai, A. (2006). Structural studies of bacterial cellulose through the solid-phase nitration and acetylation by CP/MAS ¹³C NMR spectroscopy. *Cellulose*, 13, 327.

CAPÍTULO 5:
DESARROLLO DE PELÍCULAS
COMPUESTAS DE ÁCIDO POLILÁCTICO Y
NANOCELULOSAS

RESUMEN

En los capítulos anteriores se describió la obtención, la acetilación superficial y la caracterización de las nanocelulosas de origen bacteriano y vegetal. En este capítulo se presentan y discuten los resultados de la caracterización morfológica, óptica y mecánica de películas compuestas de ácido poliláctico (PLA) con diferentes concentraciones de las nanocelulosas. Las películas se obtuvieron tanto por mezclado intensivo seguido de moldeo por compresión, como por extrusión plana. En cada caso, se implementaron tres estrategias diferentes de incorporación de las nanocelulosas en el poliéster: i) mezcla directa de las nanocelulosas secadas en estufa y molidas junto con pellets de PLA; ii) la preparación de masterbatches por evaporación de solvente utilizando las nanocelulosas nativas (BNC y VNC) y el PLA como paso previo al mezclado en fundido; y iii) la producción de masterbatches utilizando las nanocelulosas acetiladas (AcBNC y AcVNC) y el PLA.

5.1 Introducción

La mayoría de los materiales compuestos existentes en el mercado utilizan matrices poliméricas como polietileno, poliestireno, polipropileno y policloruro de vinilo, además de resinas de poliéster, fenólicas, epoxi y acrílicas, entre otras. Los refuerzos más comunes son las fibras sintéticas, como la fibra de vidrio y la de carbono. Además, en las últimas décadas se han desarrollado compuestos más sostenibles basados en bioplásticos y refuerzos derivados de recursos renovables. Entre los bioplásticos comerciales se destaca el ácido poliláctico (PLA), un poliéster alifático biobasado y compostable con elevada rigidez, resistencia y transparencia (**Jamshidian *et al.*, 2010**). Estas propiedades, junto con su capacidad para ser procesado mediante técnicas convencionales para plásticos, lo convierten en un buen candidato para sustituir y/o complementar a los polímeros tradicionales. Sin embargo, el PLA presenta ciertas limitaciones relacionadas con su fragilidad, su estabilidad térmica y su permeabilidad a ciertos gases. En este contexto, el empleo de nanomateriales de celulosa como refuerzo del PLA ha demostrado ser una estrategia eficaz para mejorar estas propiedades (**Abdulkhani *et al.*, 2014; Herrera, Mathew & Oksman, 2015; Joonobi *et al.*, 2010; Lee *et al.*, 2014; Meng *et al.*, 2018; Petersson, Kvien & Oksman, 2007; Sánchez-García, Gimenez & Lagaron, 2008; Suryanegara *et al.*, 2009**).

Entre los métodos de procesamiento de los compuestos de PLA y nanocelulosa, la técnica de evaporación de solvente (*casting*) ha sido ampliamente utilizada en la literatura, obteniéndose en muchos casos una buena dispersión de la carga en el polímero dada la posibilidad de homogeneizar adecuadamente el sistema en una mezcla con baja viscosidad. Además, en el procesamiento por evaporación de solvente de este tipo de compuestos, en general, el medio acuoso original en el que se obtienen las nanofibrillas de celulosa se intercambia en una o varias etapas al solvente en el que es soluble el PLA, manteniendo así las nanofibrillas siempre en suspensión (*never-dried*). Sin embargo, su escalabilidad industrial se ve limitada por la cantidad de solvente y los tiempos involucrados en el proceso. Por otro lado, las técnicas de procesamiento en fundido, si bien son más escalables, para estos sistemas en particular enfrentan desafíos asociados a la incorporación de suspensiones acuosas diluidas de nanocelulosa (**Iwatake, Nogi & Yano, 2008**), a lo que se suma la posible degradación del poliéster en presencia de agua a elevadas temperaturas.

En este sentido, a menudo resulta necesario secar la nanocelulosa antes de su procesamiento. Sin embargo, es bien conocido que el secado genera la agregación mayormente irreversible de las nanofibrillas de celulosa, en un fenómeno conocido como "hornificación", cuya extensión depende de la estrategia de secado (secado en estufa >

secado por aspersión > liofilización, **Peng et al., 2012**). Por este motivo, los métodos convencionales de mezclado en fundido requieren estrategias para incorporar las nanocelulosas en el PLA de forma tal de limitar al máximo posible su agregación, preservando las características propias de la nanoescala. Algunas de estas estrategias pueden incluir modificaciones químicas de las nanocelulosas para modular la afinidad entre las fases (**Eyholzer et al., 2012; Lee, Blaker & Bismarck, 2009**), el agregado de compatibilizantes a la mezcla, distintas técnicas de secado del material nanocelulósico, el empleo de pre-mezclas en solventes (**Iwatake, Nogi & Yano, 2008**) y de *masterbatches* (**Eyholzer et al., 2012; Joonobi et al., 2010; Joonobi et al., 2012**), o combinación de ellas (**Platnieks et al., 2021**).

Por ejemplo, para mejorar la dispersión del refuerzo en los compuestos finales, **Iwatake et al. (2008)** propusieron realizar una mezcla de nanocelulosa microfibrilada y PLA en acetona y evaporar el solvente bajo vacío, como paso previo a la mezcla en fundido (**Iwatake, Nogi & Yano, 2008**). El mismo enfoque fue seguido posteriormente por **Suryanegara et al. (2009)** empleando diclorometano como solvente (**Suryanegara et al., 2009; Suryanegara et al., 2014**).

Específicamente la elaboración de un *masterbatch* como paso previo al desarrollo de los compuestos resulta atractiva para mejorar la dispersión de la carga en la matriz. El *masterbatch* consiste en un concentrado de la carga en el polímero, que posteriormente se diluye para alcanzar el contenido de carga final. Por ejemplo, **Joonobi et al. (2010)** desarrollaron compuestos de PLA por extrusión reforzados con nanofibrillas de celulosa de origen vegetal (kenaf) mezclando *masterbatches* de PLA y nanocelulosa obtenidos por evaporación de solvente empleando acetona y cloroformo. Los compuestos con el mayor porcentaje de refuerzo exhibieron aumentos en el módulo de Young y en la resistencia a la tracción en torno al 20% respecto del PLA puro, los que fueron atribuidos a una mejor dispersión de las nanofibrillas en la matriz (**Joonobi et al., 2010**). Años más tarde, los mismos autores desarrollaron compuestos similares, pero empleando nanocelulosa nativa y acetilada a fin de comparar el impacto de la modificación química de la carga. La acetilación redujo la estabilidad térmica de la nanocelulosa, pero permitió obtener películas más resistentes que aquellas preparadas empleando su contraparte nativa (**Joonobi et al., 2012**).

Cabe notar que el polímero utilizado para la elaboración del *masterbatch* que contenga las nanofibrillas de nanocelulosa puede ser el mismo que conforma la matriz del compuesto, como se vio en las citas previas, o bien tratarse de un polímero diferente (**Kiziltas et al., 2014; Lee et al., 2011**). Por ejemplo, **Kiziltas et al. (2014)** emplearon almidón termoplástico y alcohol polivinílico como *carrier* (mezclado en solución y secado) de nanofibrillas de celulosa vegetal

para preparar compuestos en fundido con distintas matrices hidrofóbicas como polipropileno, polietileno y ácido poliláctico. Los autores concluyeron que esta estrategia permitió alcanzar mayores niveles de dispersión y distribución de las nanofibrillas en las matrices estudiadas (**Erbas Kiziltas et al., 2018; Kiziltas et al., 2014; Kiziltas et al., 2015; Kiziltas et al., 2015**).

Alternativamente, Lee *et al.* (2009) reportaron otra estrategia para mejorar la dispersión de nanofibrillas de celulosa secas en PLA fundido empleando equipamiento convencional de extrusión. Los autores propusieron un método novedoso basado en la metodología TIPS (*Thermally Induced Phase Separation*) para producir microesferas porosas compuestas de PLA y nanocelulosa bacteriana esterificada con distintos ácidos orgánicos que luego fueron liofilizadas y procesadas por extrusión y moldeo por compresión. Aquellos compuestos reforzados con 2 y 5% (p/p) de nanocelulosa acetilada exhibieron incrementos de hasta el 40% en el módulo de Young respecto al PLA puro, pero no se observaron cambios significativos en la resistencia a la tracción. La incorporación del refuerzo al PLA condujo a una disminución de la elongación a la rotura para las dos composiciones estudiadas (**Lee, Blaker & Bismarck, 2009**).

En este contexto, en el presente capítulo se aborda la preparación de películas compuestas basadas en PLA y todas las nanocelulosas obtenidas en los capítulos 3 y 4 mediante dos técnicas de procesamiento en fundido: mezclado intensivo seguido de moldeo por compresión y extrusión plana. Se evalúan diferentes estrategias de incorporación de las nanocelulosas en el PLA, que consisten en la introducción directa de las nanocelulosas secas y molidas en los equipos de procesamiento junto con los *pellets* de PLA, y la elaboración de un *masterbatch* mediante evaporación de solvente como paso previo al mezclado empleando tanto las nanocelulosas nativas como las nanocelulosas modificadas químicamente mediante reacciones de acetilación.

5.2 Resultados y discusión

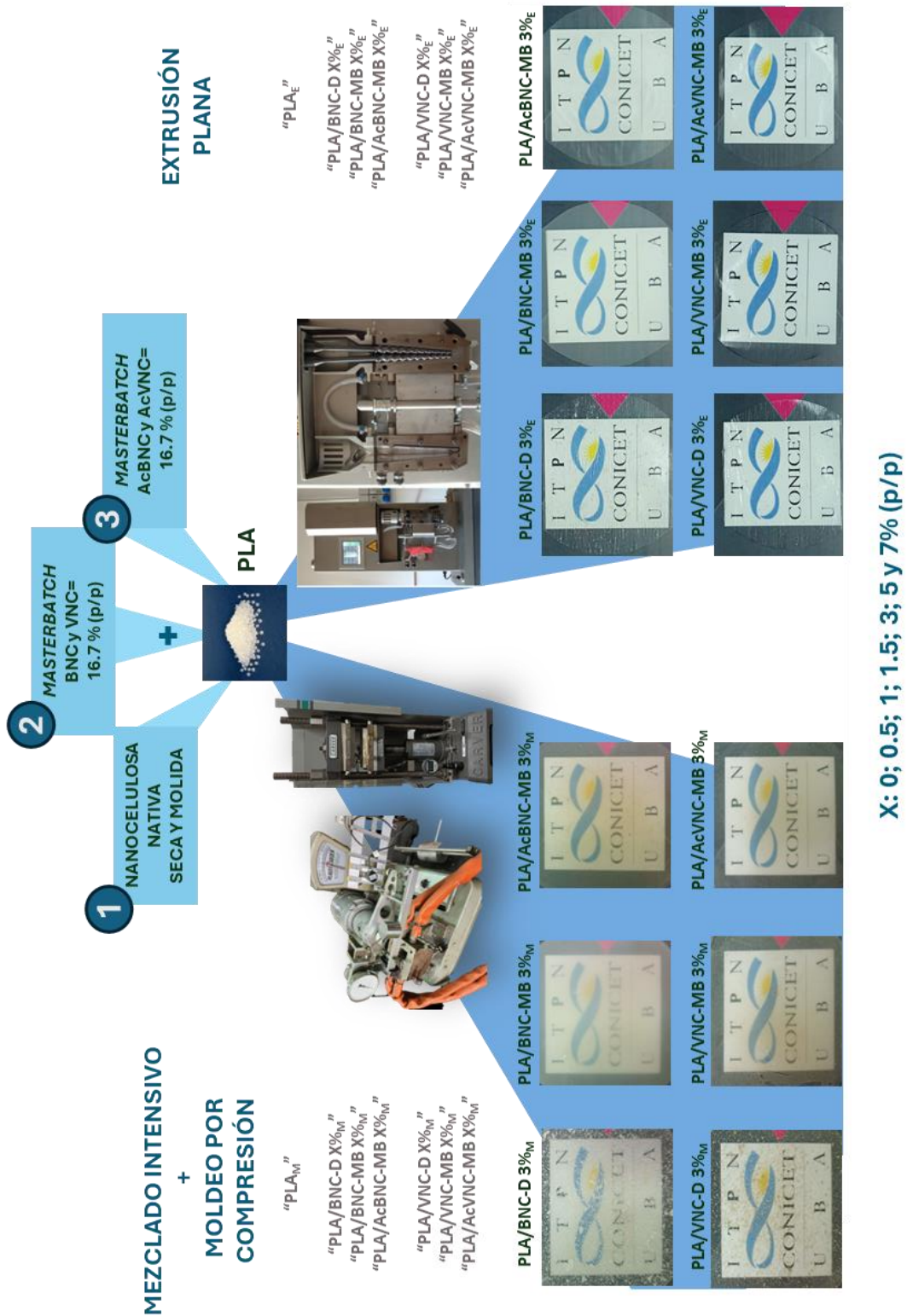


Figura 5.1. Sistemas obtenidos a partir de las distintas estrategias de incorporación de las nanocelulosas en el PLA mediante las dos técnicas de procesamiento en fundido utilizadas.

La **Figura 5.1** esquematiza las estrategias de incorporación de las nanocelulosas en el PLA y describe los distintos sistemas obtenidos empleando la nomenclatura que se utilizará a lo largo de todo el capítulo.

Se denomina “PLA/BNC-D” y “PLA/VNC-D” a los sistemas resultantes de la introducción directa de las nanocelulosas nativas secadas en estufa y molidas en el equipo de mezclado junto con los *pellets* de PLA; “PLA/BNC-MB” y “PLA/VNC-MB” a las películas obtenidas a partir de la introducción de las nanocelulosas nativas como parte de un *masterbatch* elaborado previamente por evaporación de solvente; y “PLA/AcBNC-MB” y “PLA/AcVNC-MB” a las películas desarrolladas mediante la incorporación de las nanocelulosas en sus formas acetiladas también como parte de un *masterbatch* obtenido previamente por evaporación de solvente (**Figura 5.1**). Además, la nomenclatura de todos los sistemas indica el porcentaje de nanocelulosa que contienen (“X” en la **Figura 5.1**, que se varió entre 0.5 y 7% (p/p)), y finaliza con la designación “M” o “E” como subíndices, según el tipo de procesamiento a partir del cual se obtuvieron las películas: mezclado intensivo o extrusión, respectivamente. Los sistemas desarrollados en esta tesis ascienden a un total de 74. A modo de ejemplo, en la **Figura 5.1** se exhiben imágenes superpuestas al logo institucional de las películas compuestas conteniendo 3% (p/p) de las nanocelulosas. Como se observa a simple vista, el procesamiento y la estrategia de incorporación de la carga fueron determinantes en la apariencia de las películas.

5.2.1 Morfología y propiedades ópticas

La **Figura 5.2a** ilustra los materiales que se incorporaron al equipo de procesamiento (mezcladora o extrusora) según la estrategia de incorporación de la carga empleada.

El secado de las suspensiones de las nanocelulosas en estufa conduce a láminas que luego en la molienda son reducidas a escamas. La **Figura 5.2b** presenta la distribución de tamaño de las escamas de BNC y VNC obtenidas. Como se puede observar, el secado y molienda de las nanocelulosas conlleva a partículas de varios cientos de micrones. En la estrategia directa estas escamas se incorporan junto con los *pellets* de PLA en el equipo de procesamiento. En las estrategias que involucran la preparación del *masterbatch* por evaporación de solvente (con una concentración elegida de 16.7% (p/p)), en cambio, son los *masterbatches* molidos los que se incorporan junto al PLA en el equipo de procesamiento.

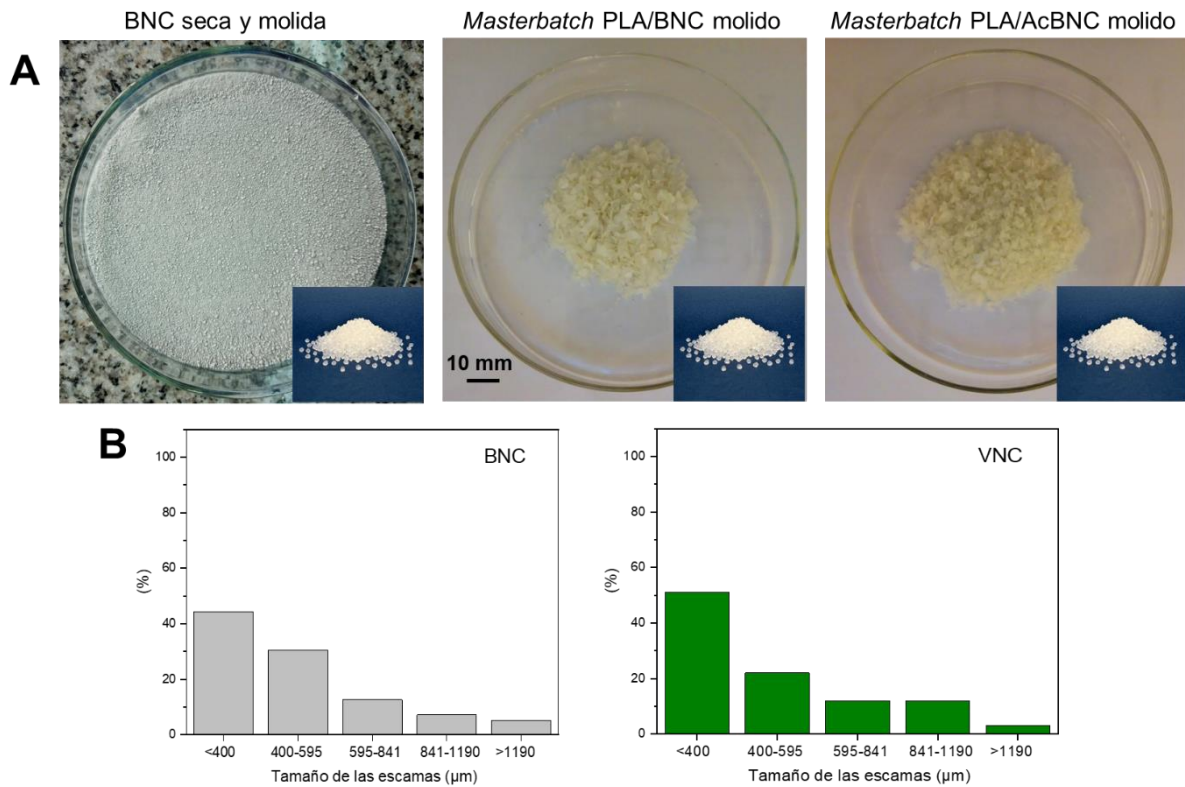


Figura 5.2. (A) Materiales que fueron incorporados a los equipos de procesamiento: *pellets* de PLA y, alternativamente, BNC seca y molida, *masterbatch* con BNC nativa y *masterbatch* con BNC acetilada. (B) Distribución de tamaño de las escamas de BNC y VNC secas y molidas.

Con el fin de analizar el efecto de las diferentes estrategias de incorporación de las nanocelulosas en el PLA sobre su dispersión en la matriz, se estudió la morfología y las propiedades ópticas de las diferentes películas compuestas obtenidas tanto por mezclado intensivo y moldeo por compresión, como por extrusión plana. Las **Figuras 5.3a, 5.4a, 5.5a y 5.6a**, muestran imágenes fotográficas de todas las películas compuestas desarrolladas en esta tesis, correspondiendo la **Figura 5.3a** a las películas de PLA y BNC obtenidas por mezclado intensivo y moldeo por compresión; la **Figura 5.4a** a las películas de PLA y VNC desarrolladas empleando la misma estrategia de procesamiento, y las **Figuras 5.5a y 5.6a** a las películas obtenidas por extrusión plana conteniendo BNC y VNC, respectivamente. Las **Figuras 5.3b, 5.4b, 5.5b y 5.6b**, por su parte, corresponden a macrográficas de las películas con un contenido de 7% (p/p) de las nanocelulosas.

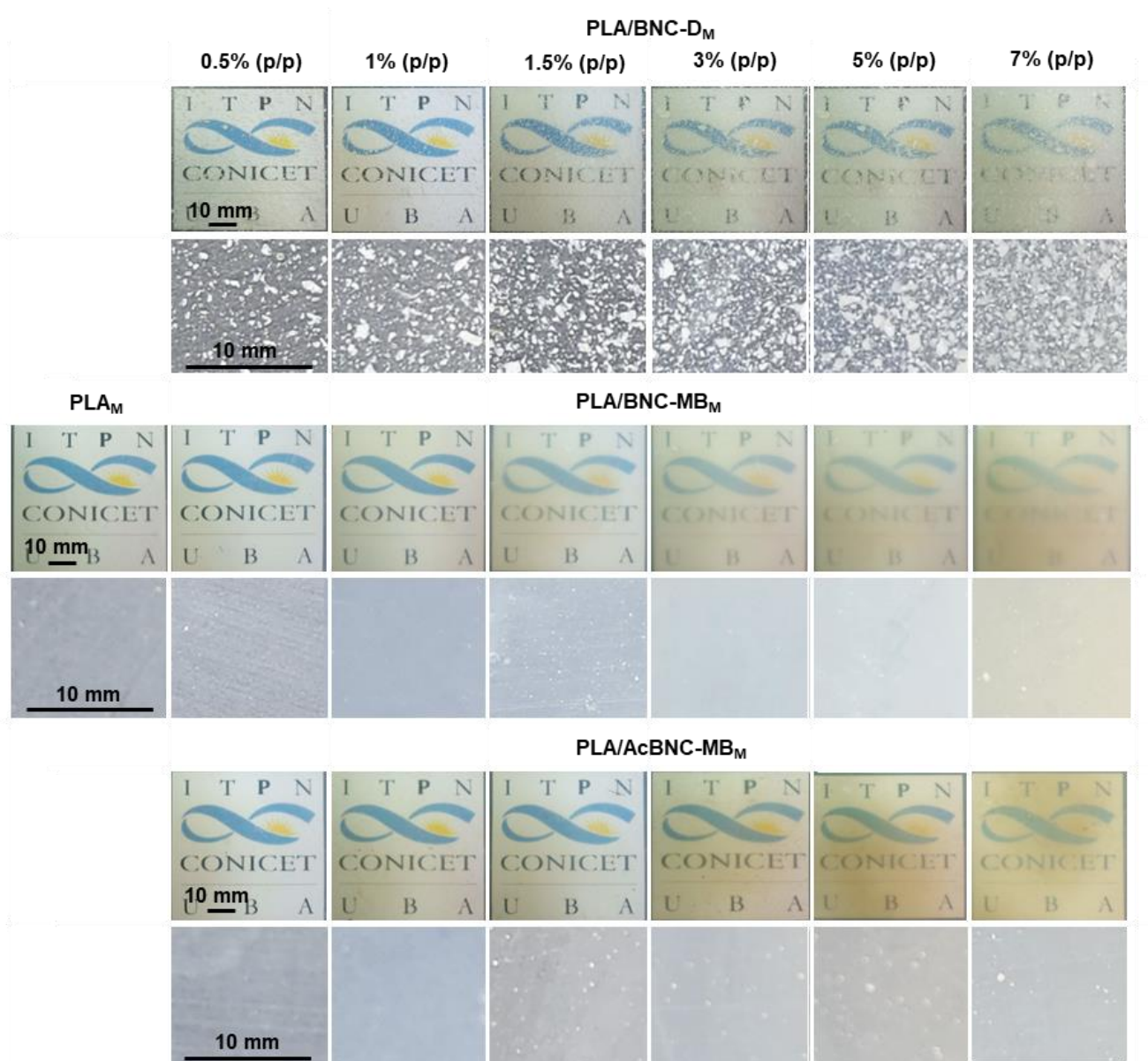


Figura 5.3a. Imágenes fotográficas de las películas de PLA y PLA y nanocelulosa bacteriana desarrolladas por mezclado intensivo y moldeo por compresión. Sistemas obtenidos para seis concentraciones de carga empleando las tres estrategias de incorporación descritas.

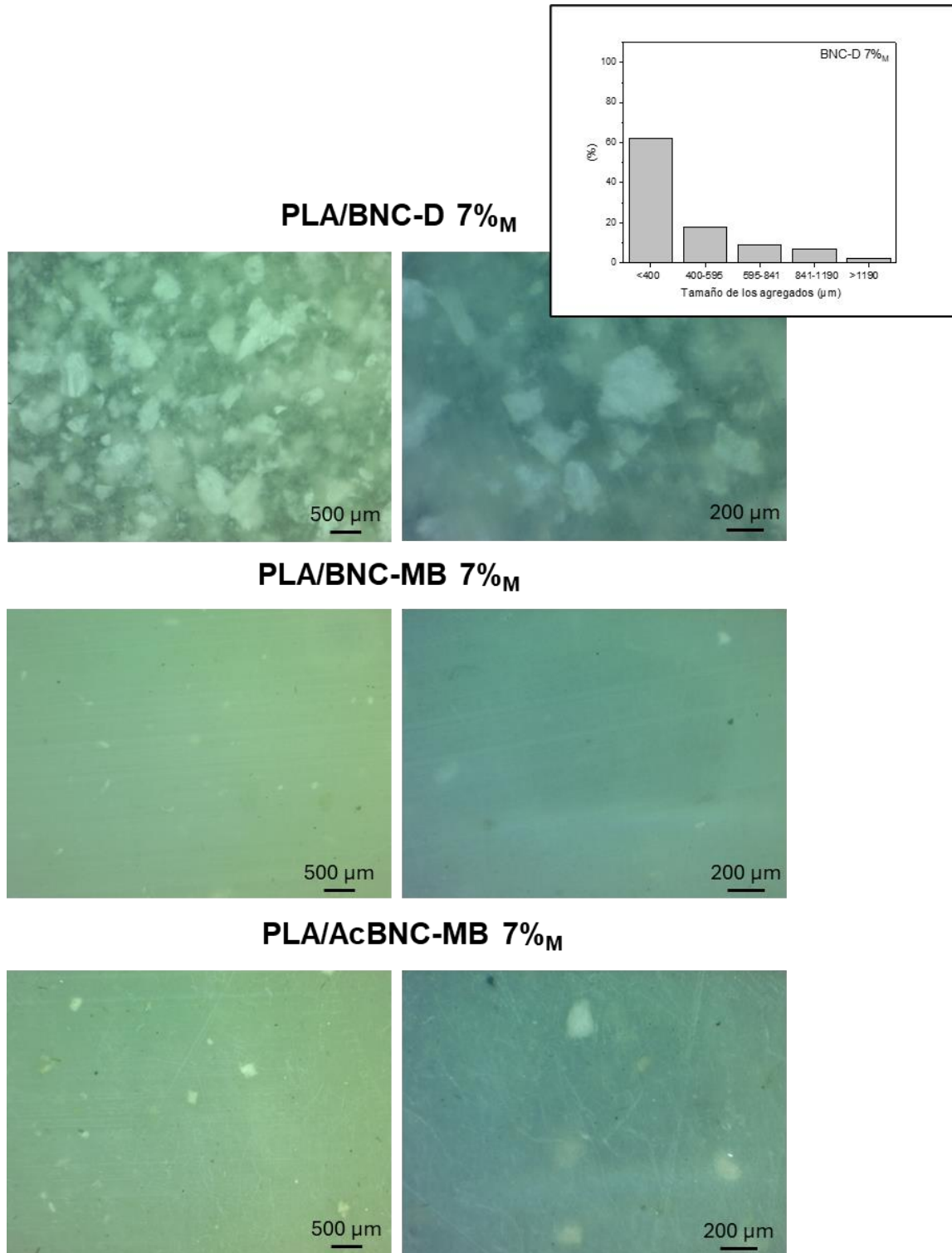


Figura 5.3b. Macrografías de las películas de PLA y de las películas compuestas de PLA con 7% (p/p) de nanocelulosa bacteriana obtenidas por mezclado intensivo y moldeo por compresión empleando el secado de la BNC y mezclado directo, la preparación de un *masterbatch* con BNC nativa, y la preparación de un *masterbatch* con BNC acetilada como estrategia de incorporación de la carga. Distribución de tamaño de los agregados observados en las películas directas (esquina superior derecha), basadas en las macrografías del anexo B.

En las **Figuras 5.3a** y **5.3b** se puede observar que en las películas en las que la BNC nativa fue introducida de forma directa en la mezcladora (filas superiores de ambas figuras) existen agregados de nanocelulosa de contorno irregular distinguibles a simple vista distribuidos en la matriz. Su presencia es más evidente a mayores concentraciones de carga. De acuerdo con las mediciones realizadas con el programa *ImageJ* dichos agregados exhiben una amplia distribución de tamaño de partícula, la cual puede verse en el inserto de la **Figura 5.3b** (ver macrografías con menor magnificación en el anexo B). El tamaño de los agregados observados en las películas obtenidas por la estrategia directa y su comparación con el de las escamas originales de la BNC seca y molida (**Figura 5.2b**), indican que como consecuencia del mezclado intensivo aumentó la contribución de los agregados de menor tamaño (<400 micrones) en desmedro de los de tamaños intermedios (400-841 micrones), manteniéndose aproximadamente constante la contribución de los más grandes (>841 micrones). Un comportamiento similar se observó para las películas directas con nanocelulosa de origen vegetal como se muestra en el inserto de la **Figura 5.4b**. Estos resultados indican que, si bien el mezclado intensivo parece haber inducido la fragmentación de algunos agregados, el secado inicial de las suspensiones acuosas de nanofibrillas de celulosa habría condicionado el tamaño final de los agregados presentes en las películas compuestas a valores de varios cientos de micrones. La agregación de las nanocelulosas durante el secado es un fenómeno mayormente irreversible, ampliamente conocido en la literatura como "hornificación". El mismo resulta del empaquetamiento compacto de las cadenas de nanocelulosa luego de la eliminación del agua durante el secado.

La segunda y tercera fila de las **Figuras 5.3a** y **5.3b** muestran imágenes de las películas de PLA/BNC-MB_M y PLA/AcBNC-MB_M obtenidas a partir del mezclado de los *masterbatches* preparados por evaporación de solvente como paso previo al mezclado en fundido, junto con la cantidad de PLA necesaria para alcanzar las concentraciones finales de nanocelulosa en las películas compuestas (0.5; 1; 1.5; 3; 5 y 7% (p/p)). En estas imágenes se observan muy pocos agregados de nanocelulosa, lo que sugiere una dispersión de las nanofibrillas significativamente superior respecto de su introducción "directa". Lo anterior es el resultado de la implementación de una estrategia que limita la hornificación de las nanofibrillas de nanocelulosa durante el secado, al promover su deshidratación en presencia de cadenas de ácido poliláctico en solución que se "intercalarían" entre las nanofibrillas de celulosa.

Como se mencionó en la introducción del capítulo, la estrategia de la preparación de un *masterbatch* antes del mezclado en fundido ha sido previamente propuesta en la literatura para el desarrollo de diferentes materiales compuestos de PLA y nanocelulosas (**Ambrosio et al., 2015; Eyholzer et al., 2012; Jonoobi et al., 2010; Jonoobi et al., 2012**). En la mayoría

de las contribuciones, la incorporación de la carga en la matriz condujo a mejoras en las propiedades de los materiales compuestos respecto del PLA, las que fueron explicadas en términos de la buena dispersión de las nanocelulosas en la matriz debido a la estrategia de incorporación utilizada.

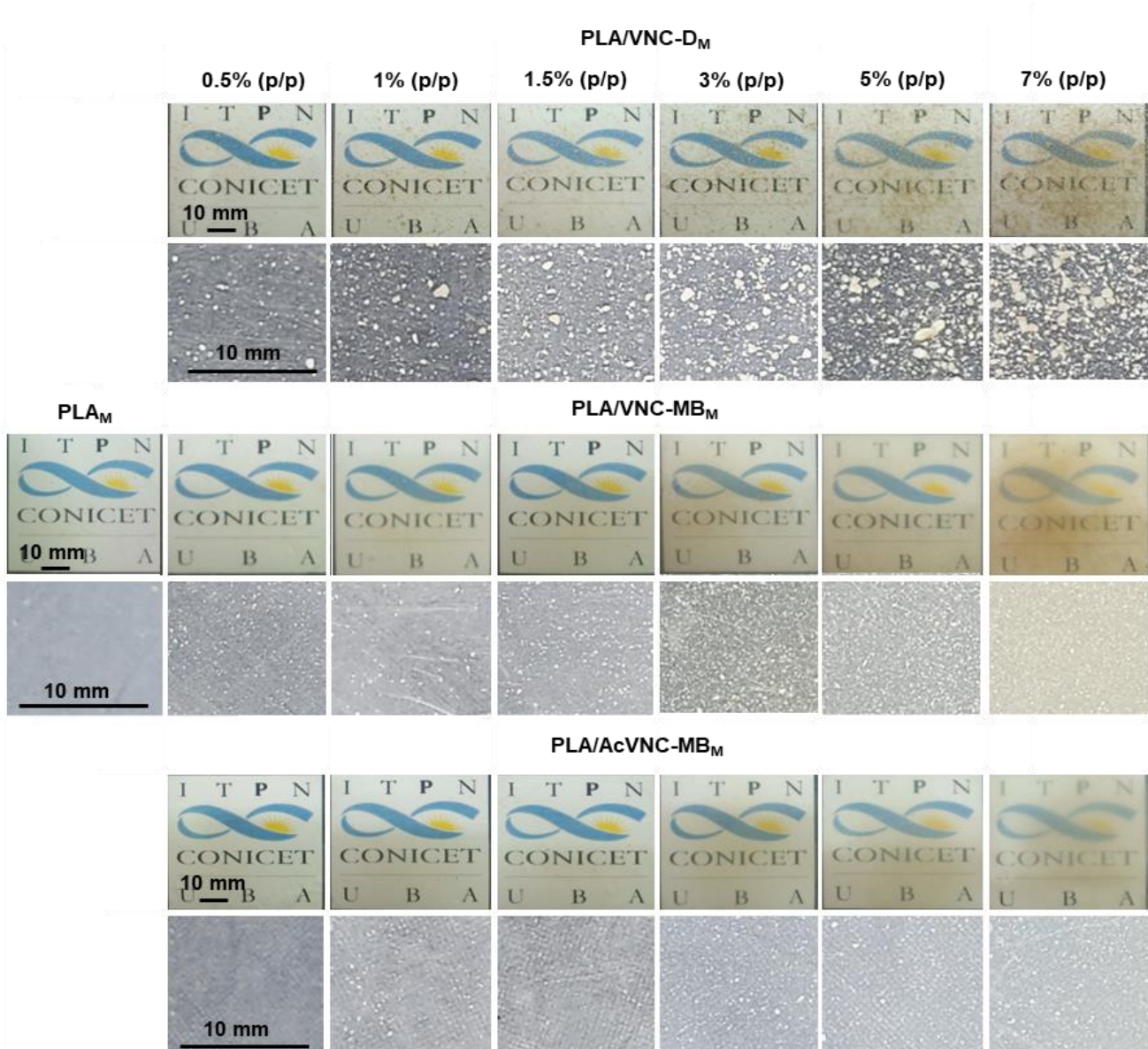


Figura 5.4a. Imágenes fotográficas de las películas de PLA y PLA y nanocelulosa vegetal desarrolladas por mezclado intensivo y moldeo por compresión. Sistemas obtenidos para seis concentraciones de carga empleando las tres estrategias de incorporación descritas.

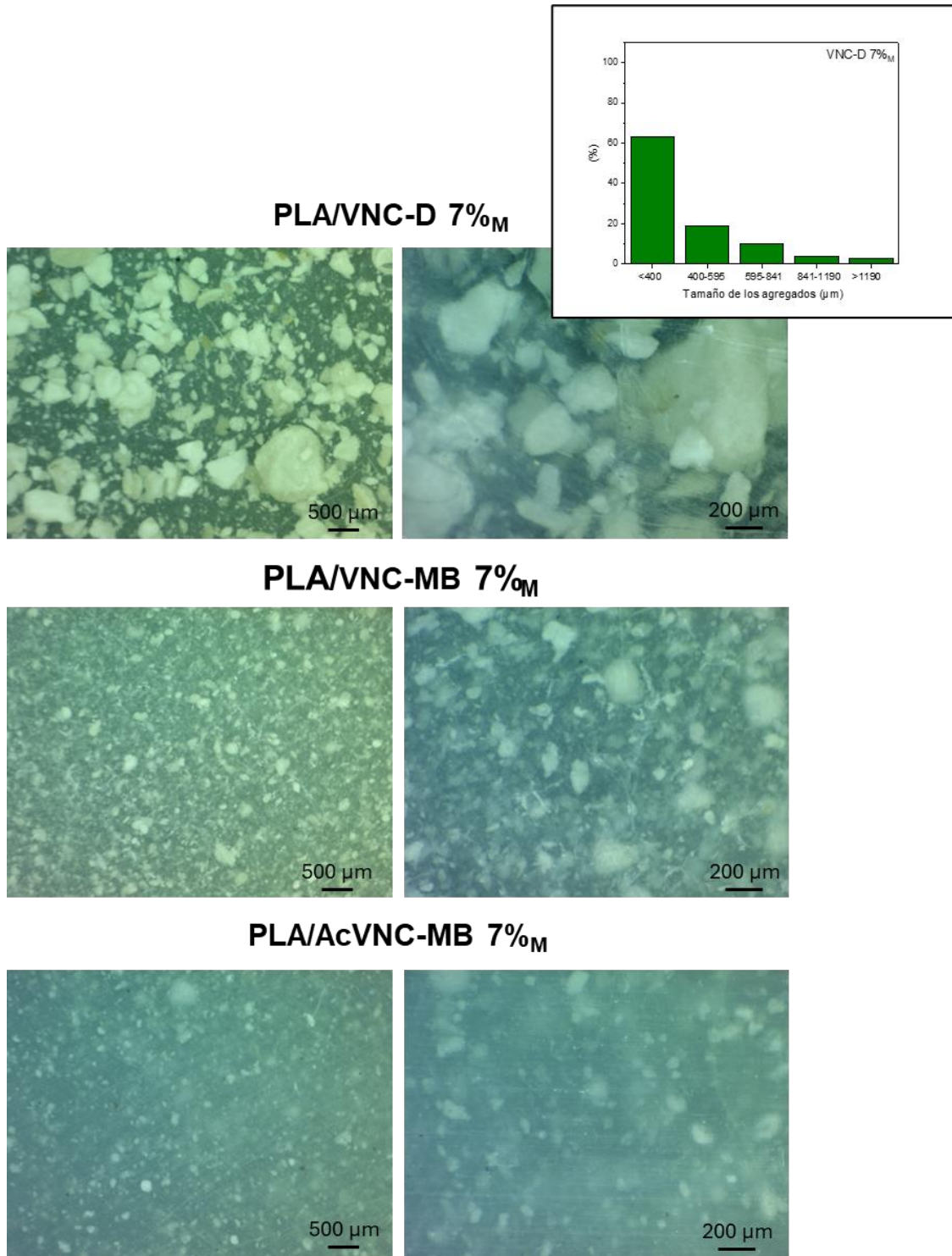


Figura 5.4b. Macrografías de las películas de PLA y de las películas compuestas de PLA con 7% (p/p) de nanocelulosa vegetal obtenidas por mezclado intensivo y moldeo por compresión empleando el secado de la VNC y mezclado directo, la preparación de un *masterbatch* con VNC nativa, y la preparación de un *masterbatch* con VNC acetilada como estrategia de incorporación de la carga. Distribución de tamaño de los agregados observados en las películas directas (esquina superior derecha), basadas en las macrografías del anexo B.

Los beneficios derivados de utilizar la estrategia del *masterbatch* también se evidenciaron en las películas compuestas de PLA y nanocelulosas vegetales (VNC and AcVNC) preparadas en mezcladora (**Figura 5.4a y 5.4b**).

Con esta estrategia, si bien todavía se observan inclusiones, las mismas tienen mucho menor tamaño que las de las películas obtenidas por la estrategia directa (segunda y tercera filas versus primera fila de las **Figuras 5.4a y 5.4b**). Las diferencias en estas observaciones para las nanocelulosas vegetales con respecto a las nanocelulosas bacterianas podrían atribuirse a la presencia de silicatos derivados del proceso de purificación de la VNC que promoverían la formación de agregados de VNC y silicatos.

De modo similar, los materiales obtenidos mediante extrusión (**Figuras 5.5a, 5.5b, 5.6a y 5.6b**) exhiben distintas morfologías de acuerdo con la estrategia de incorporación de la carga empleada. En aquellas películas que contienen BNC incorporada de forma directa (**Figuras 5.5a y 5.5b**, fila superior) se observa un gran número de agregados de aspecto de irregular de varios cientos de micrones según surge del inserto de la **Figura 5.5b**. Análogamente a lo observado en las películas mezcladas y moldeadas por compresión obtenidas por la estrategia directa, la extrusión induce cierta fragmentación de las escamas originales de BNC. Sin embargo, el secado inicial de las suspensiones de nanocelulosa redundaba en inclusiones de varios cientos de micrones que el procesamiento no logra desagregar. Por otro lado, las películas extruidas a partir de los *masterbatches* (**Figuras 5.5a y 5.5b**, fila central e inferior) muestran una morfología considerablemente más homogénea. En concordancia con lo observado en las películas obtenidas por mezclado intensivo y moldeo por compresión, la disposición de las cadenas de PLA entre las nanofibrillas de celulosa bacteriana durante el secado del *masterbatch* habría limitado su agregación irreversible.

Contribuciones previas de otros autores resaltaron resultados prometedores en términos de la dispersión de otras nanocelulosas de origen vegetal (en este caso nanocristales de celulosa) en una matriz de PLA mediante la combinación de las técnicas de evaporación de solvente para la preparación de *masterbatches*, seguida de extrusión. Los autores reportaron una mejora significativa en la dispersión de los nanocristales, que atribuyeron a la combinación de ambos métodos de procesamiento (**Bitinis et al., 2013**).

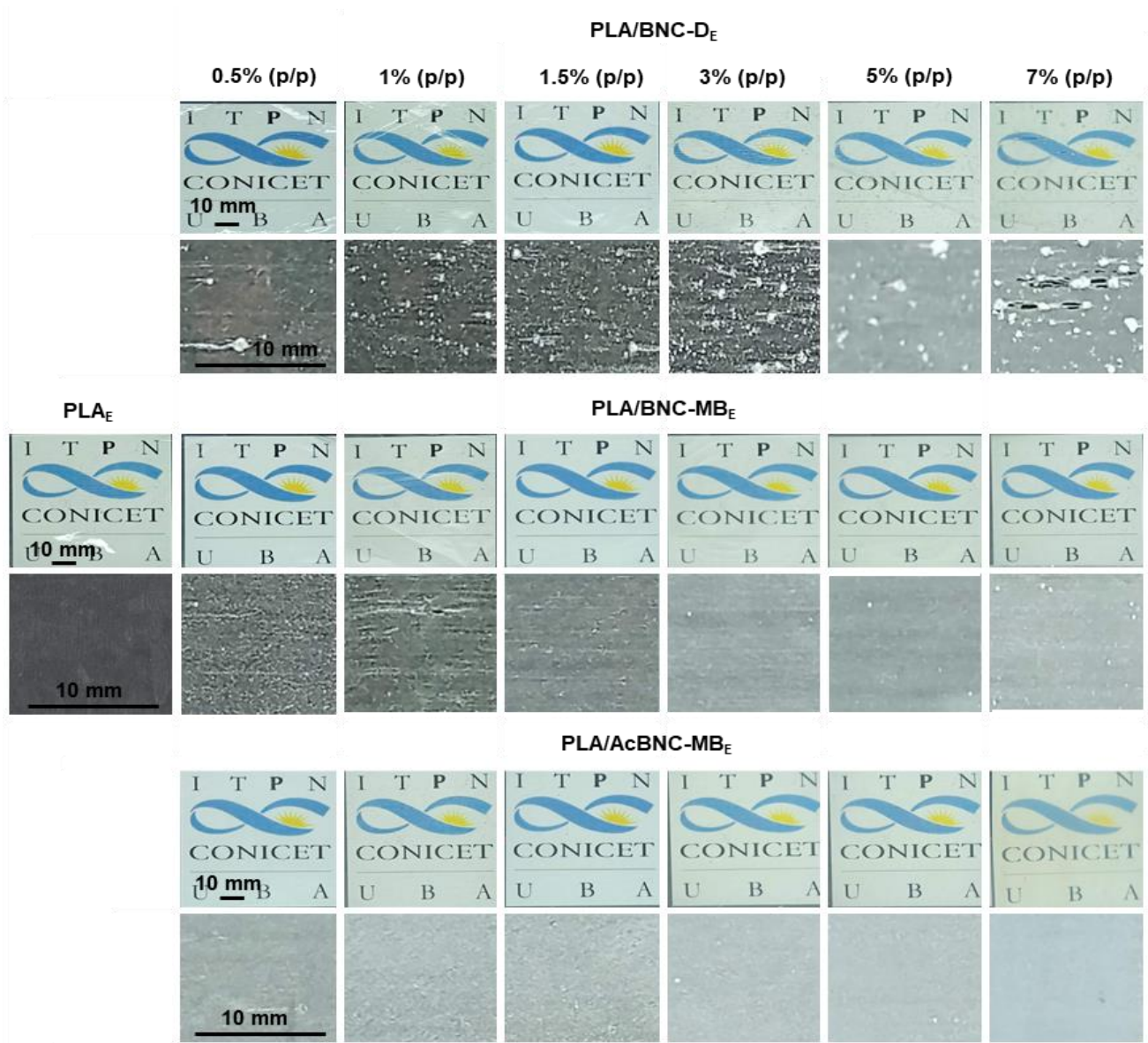


Figura 5.5a. Imágenes fotográficas de las películas de PLA y PLA y nanocelulosa bacteriana desarrolladas por extrusión plana. Sistemas obtenidos para seis concentraciones de carga empleando las tres estrategias de incorporación descriptas.

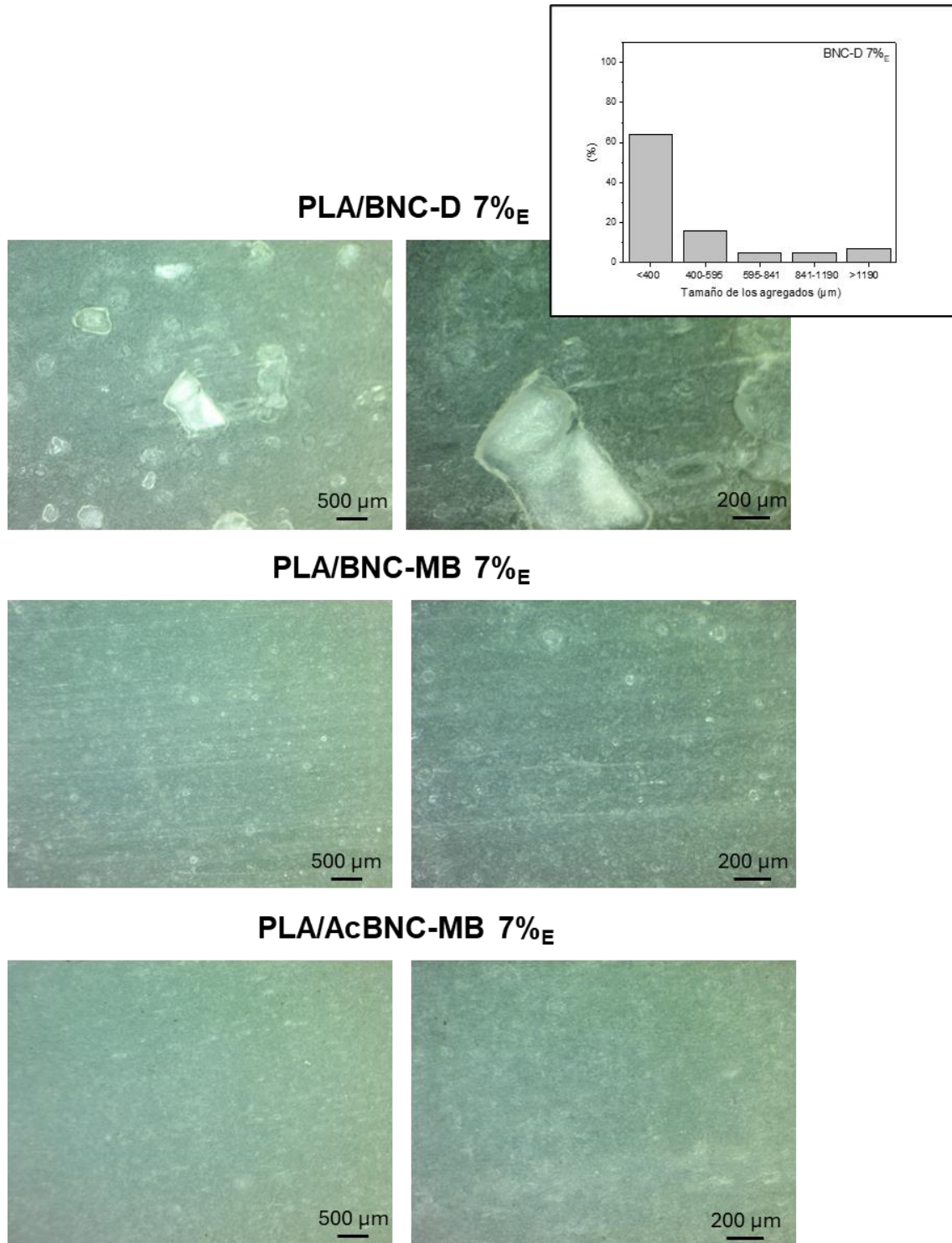


Figura 5.5b. Macrográficas de las películas de PLA y de las películas compuestas de PLA con 7% (p/p) de nanocelulosa bacteriana obtenidas por extrusión plana empleando el secado de la BNC y mezclado directo, la preparación de un *masterbatch* con BNC nativa, y la preparación de un *masterbatch* con BNC acetilada como estrategia de incorporación de la carga. Distribución de tamaño de los agregados observados en las películas directas (esquina superior derecha), basadas en las macrográficas del anexo B.

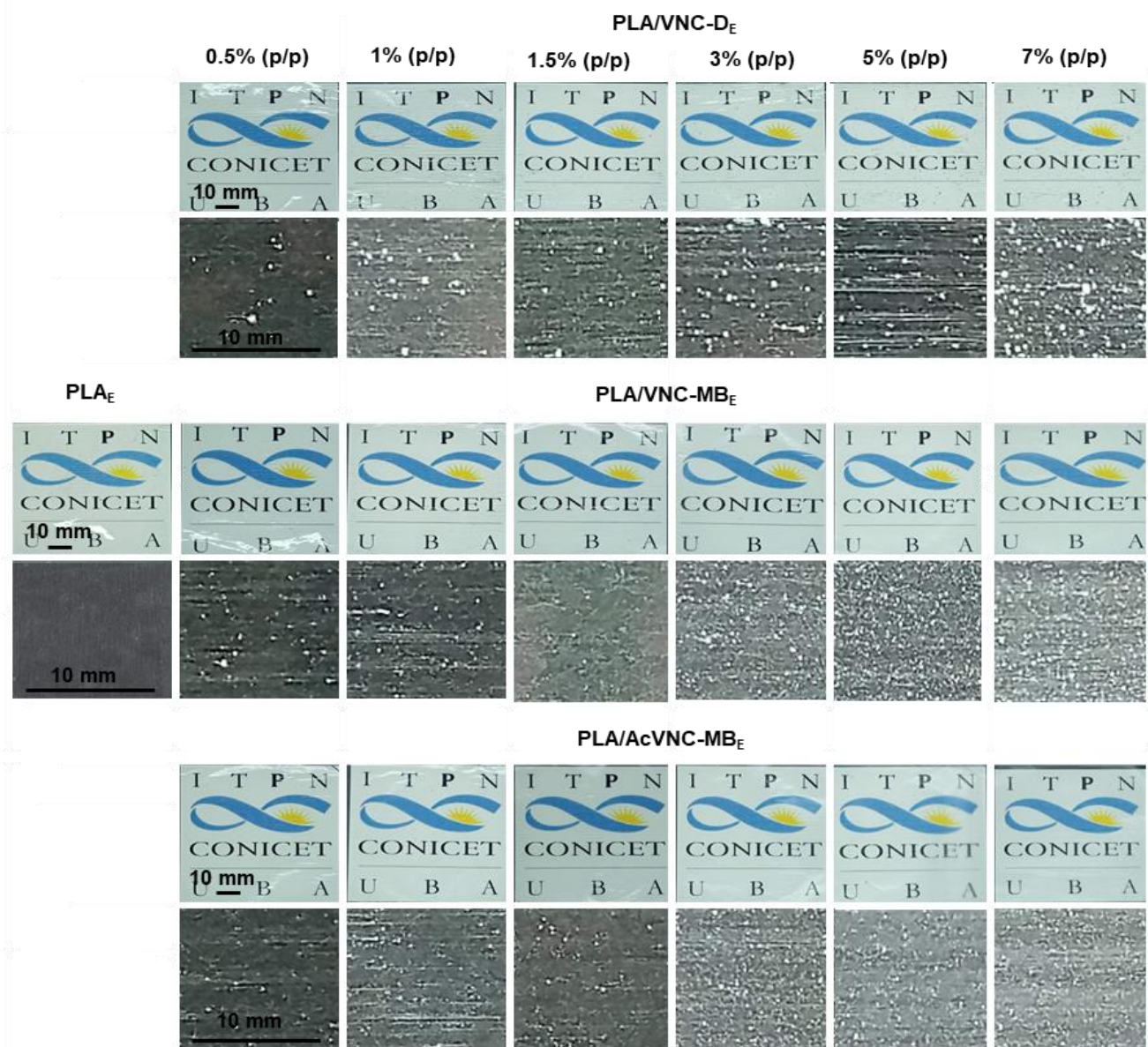


Figura 5.6a. Imágenes fotográficas de las películas de PLA y PLA y nanocelulosa vegetal desarrolladas por extrusión plana. Sistemas obtenidos para seis concentraciones de carga empleando las tres estrategias de incorporación descriptas.

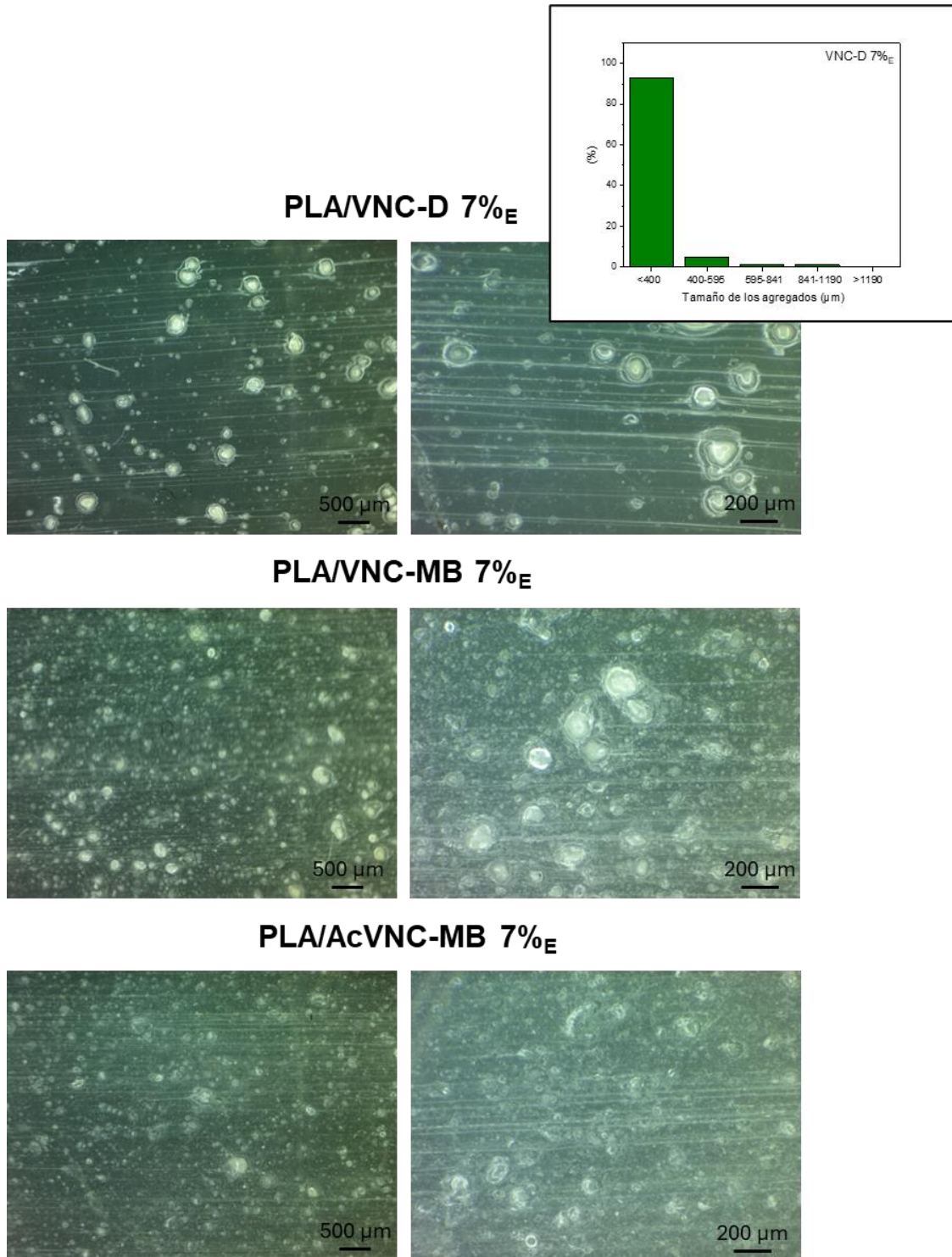


Figura 5.6b. Macrográficas de las películas de PLA y de las películas compuestas de PLA con 7% (p/p) de nanocelulosa vegetal obtenidas por extrusión plana empleando el secado de la VNC y mezclado directo, la preparación de un *masterbatch* con VNC nativa, y la preparación de un *masterbatch* con VNC acetilada como estrategia de incorporación de la carga. Distribución de tamaño de los agregados observados en las películas directas (esquina superior derecha), basadas en las macrográficas del anexo B.

Finalmente, en las fotografías y macrográficas de las películas extruidas de PLA y nanocelulosa vegetal (**Figuras 5.6a** y **5.6b** para las películas con 7% (p/p) de carga) se observan inclusiones en todos los casos, independientemente de la estrategia de incorporación de la carga utilizada. En las películas compuestas obtenidas por medio de la estrategia directa esto era esperable como resultado de la hornificación de la VNC durante el secado de la suspensión acuosa original (la comparación de la distribución de tamaños de partícula del inserto de la **Figura 5.6b** con la de las escamas originales de la **Figura 5.2b**, evidencia un efecto más importante de la extrusión sobre la fragmentación de los agregados de VNC respecto de los de BNC). En las películas preparadas por *masterbatching* la presencia de inclusiones respondería a la existencia de los silicatos residuales de la cáscara de arroz que favorecerían la formación de agregados de VNC, como se mencionó anteriormente.

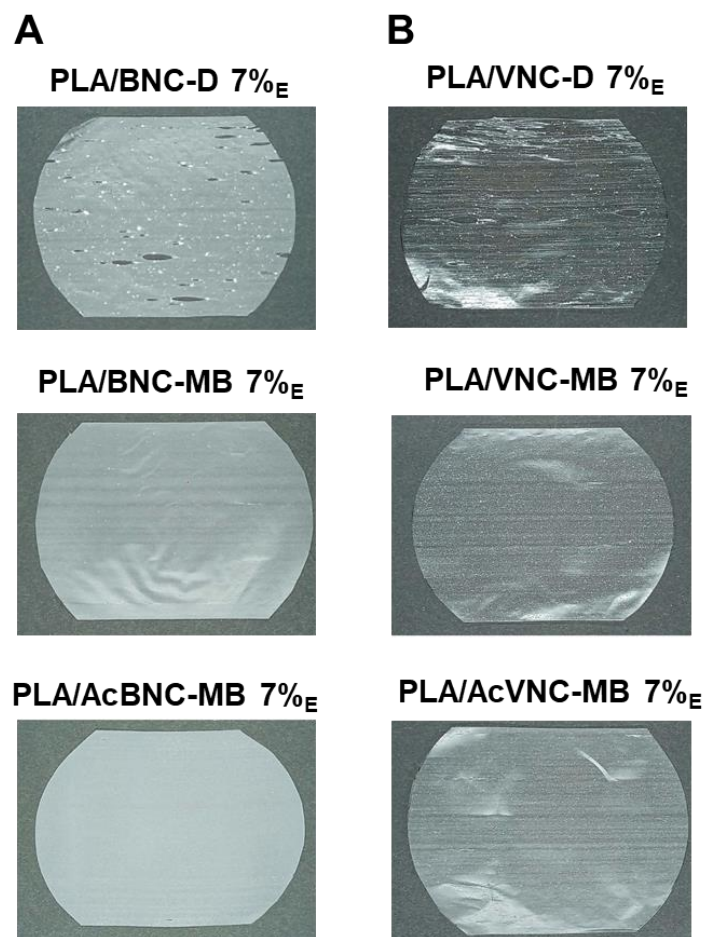


Figura 5.7. Imágenes fotográficas de las películas compuestas de PLA con 7% (p/p) de (A) nanocelulosa bacteriana y (B) nanocelulosa vegetal, obtenidas por extrusión plana empleando las tres estrategias de incorporación de las nanocelulosas en el PLA.

En la **Figura 5.7** se muestran imágenes de las películas extruidas con 7% (p/p) de nanocelulosa, obtenidas mediante las tres estrategias de incorporación analizadas. En este caso, siendo que las películas extruidas son mucho más delgadas que las moldeadas, y considerando además las características intrínsecas de los distintos tipos de procesamiento, los agregados de gran tamaño observados en las películas compuestas obtenidas por la estrategia directa actúan como defectos en la matriz induciendo el crecimiento plástico de huecos a medida que la película se estira a la salida de la extrusora. Las películas obtenidas a través de la estrategia del *masterbatch*, en cambio, exhiben una morfología mucho más homogénea debido a la mejor dispersión de las nanocelulosas.

La morfología de las diferentes películas desarrolladas fue analizada más en detalle por microscopía electrónica de barrido. Las **Figuras 5.8, 5.9a, 5.10 y 5.11** muestran micrografías SEM de las superficies de fractura de las diferentes películas desarrolladas con 7% (p/p) de carga. Además, en el anexo C se pueden ver las micrografías SEM correspondientes a las películas con contenidos de nanocelulosas de 1.5% y 5% (p/p).

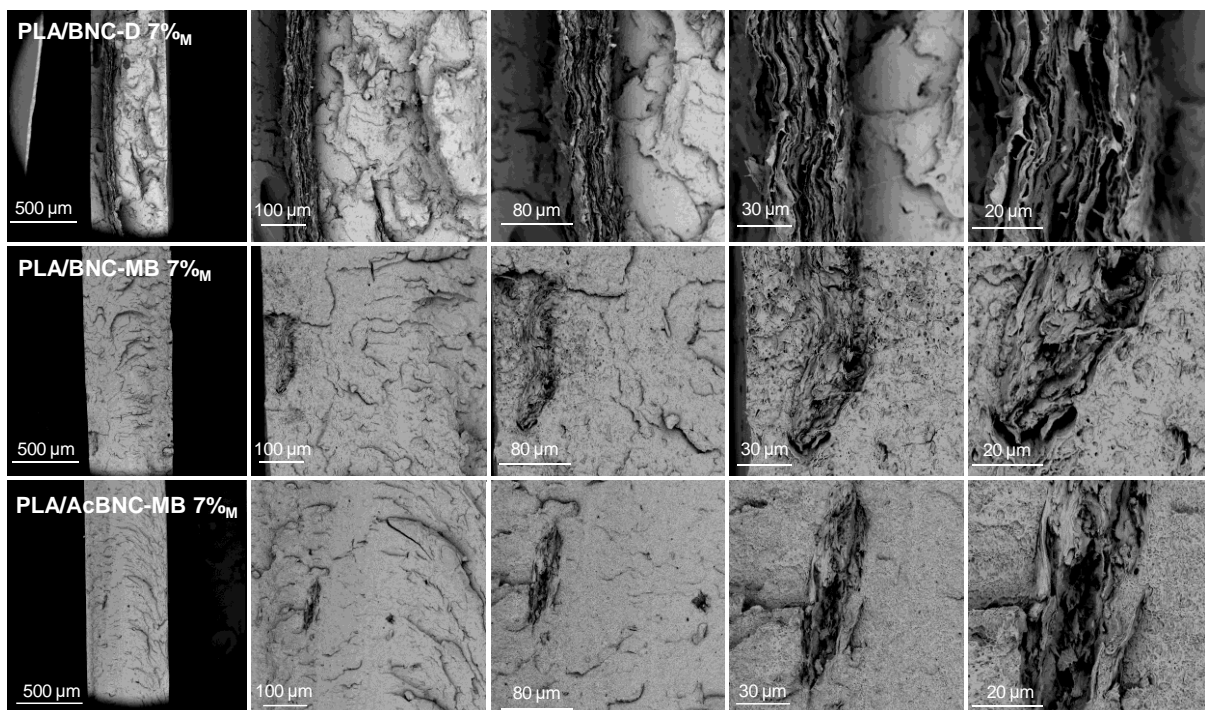


Figura 5.8. Micrografías de barrido electrónico de las películas de PLA y de las películas compuestas de PLA con 7% (p/p) de nanocelulosa bacteriana desarrolladas por mezclado intensivo y moldeo por compresión empleando las tres estrategias de incorporación de las nanocelulosas en el PLA.

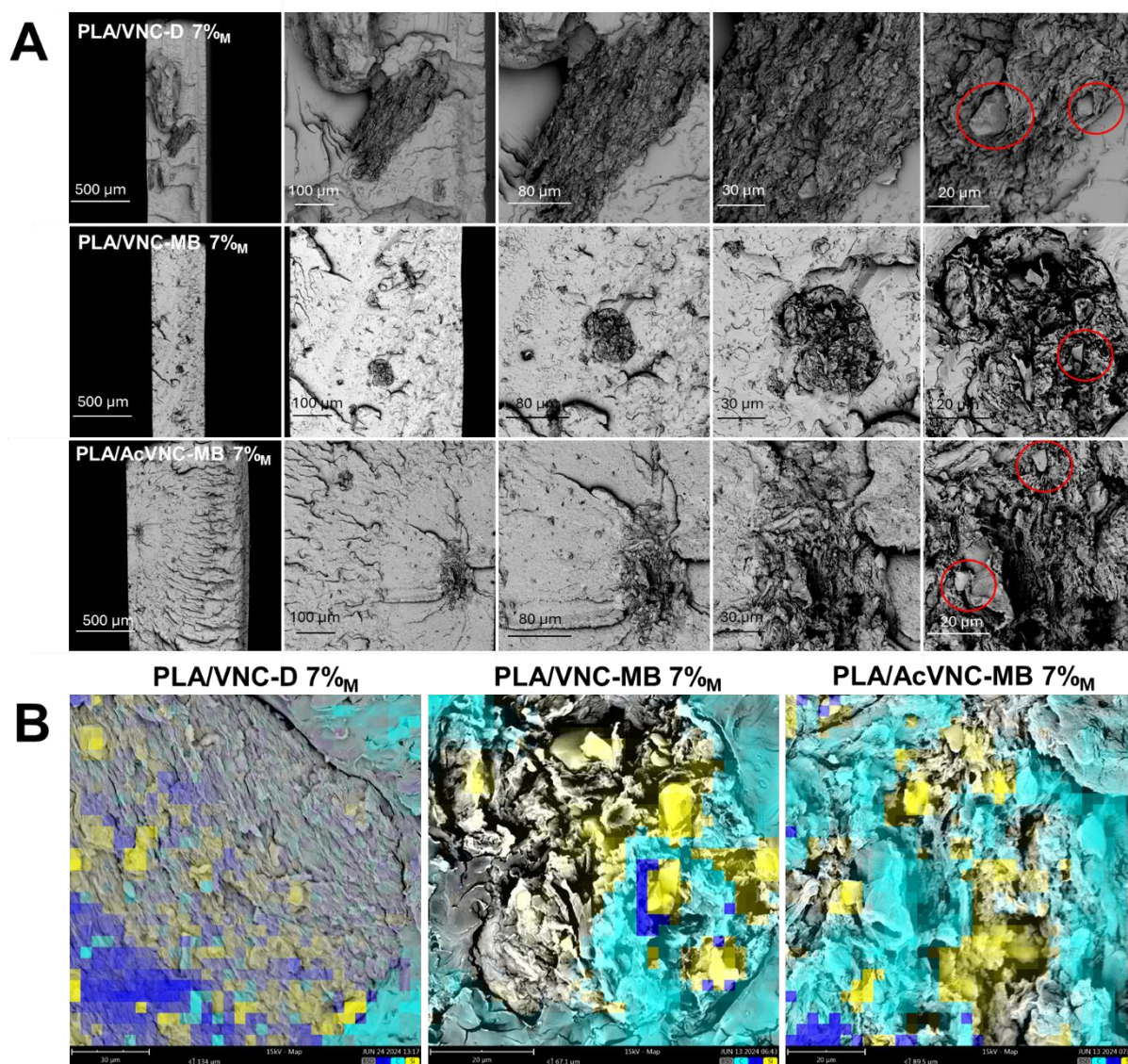


Figura 5.9. (A) Micrografías de barrido electrónico de las películas de PLA y de las películas compuestas de PLA con 7% (p/p) de nanocelulosa vegetal desarrolladas por mezclado intensivo y moldeo por compresión empleando las tres estrategias de incorporación de las nanocelulosas en el PLA. (B) Mapeos de análisis elemental de las superficies de fractura.

En las micrografías de las películas directas con BNC obtenidas por mezclado intensivo y moldeo por compresión (**Figura 5.8**, fila superior) se observan agregados irregulares de gran tamaño, en los que la nanocelulosa está principalmente dispuesta en capas. Este arreglo laminar se ha reportado previamente en otros trabajos en los que se empleó BNC secada en estufa (**Quero et al., 2010; Zhang et al., 2021**). En las películas directas con VNC también se observan inclusiones de varios cientos de micrones (**Figura 5.9**, fila superior).

Para las películas directas que contienen ambas nanocelulosas pueden observarse, además, cavidades alrededor de las inclusiones. Resultados similares fueron reportados por Mathew *et al.* (2005) quienes prepararon películas compuestas de PLA con hasta 25% (p/p) de celulosa microcristalina. En las micrografías de las superficies de fractura de las películas los autores observaron grandes agregados de celulosa rodeados de cavidades en la matriz, y huecos en los sitios donde se hallaban estos agregados antes de la fractura. Los autores atribuyeron la existencia de estas cavidades a una adhesión pobre entre las fases, derivada de la incompatibilidad química existente entre el PLA hidrofóbico y la superficie hidrofílica de la nanocelulosa (**Mathew, Oksman & Sain, 2005**)

Por otra parte, las superficies de fractura de las películas obtenidas en esta tesis por *masterbatching* seguido de mezclado intensivo y moldeo por compresión (**Figuras 5.8 y 5.9**, filas centrales), exhiben agregados mucho más pequeños que los presentes en las películas directas. Estas observaciones son consistentes con lo reportado por Bagheriasl *et al.* (2019), quienes desarrollaron compuestos de PLA y nanocristales de celulosa por mezclado en fundido, comparando la introducción de la carga en la matriz a través de la elaboración de un *masterbatch* por evaporación de solvente, con su introducción directa (ambos secados en estufa). El análisis morfológico por SEM de las películas obtenidas reveló una dispersión superior de los nanocristales introducidos por *masterbatching* (**Bagheriasl et al., 2019**).

Por último, en las imágenes correspondientes a las películas desarrolladas por mezclado intensivo y moldeo por compresión que contienen nanocelulosas acetiladas (**Figuras 5.8 y 5.9**, filas inferiores) también se observan agregados mucho más pequeños que los encontrados en las películas directas, y similares a los observados en las películas desarrolladas por *masterbatching* con nanocelulosas nativas, resaltando la mejor dispersión de las nanocelulosas por el efecto de dicha estrategia.

Por otro lado, en todas las películas con VNC, además de la morfología típica de los agregados de nanocelulosa, las imágenes muestran que las mismas contienen partículas con una morfología diferente (**Figura 5.9a**, círculos rojos). Las mismas fueron analizadas por EDX a los fines de identificar los elementos presentes. Los resultados se muestran en la **Figura 5.9b** donde se hace evidente la presencia de sílice, confirmando que se trataría de silicatos remanentes de la cáscara de arroz.

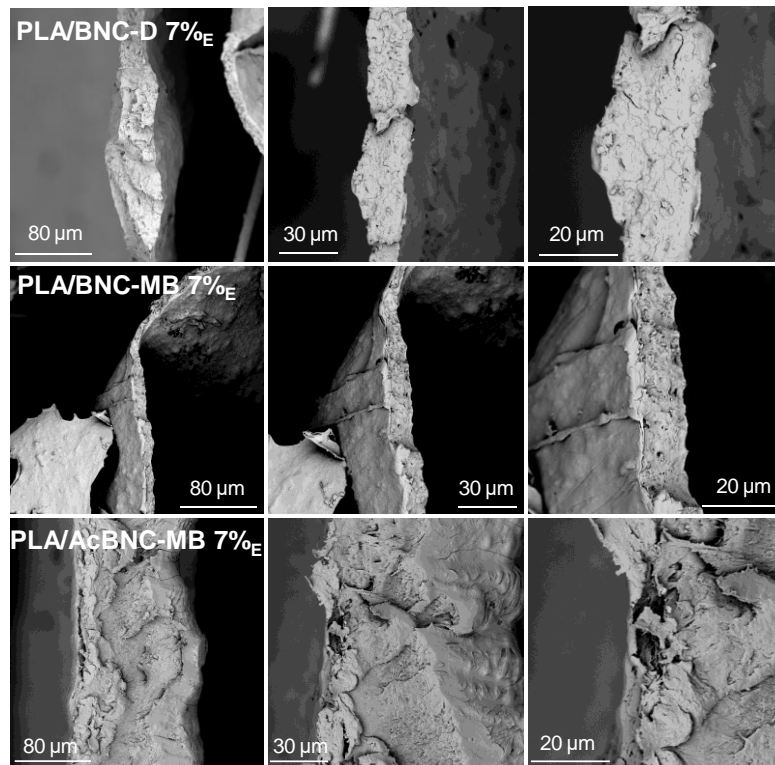


Figura 5.10. Micrografías de barrido electrónico de las películas de PLA y de las películas compuestas de PLA con 7% (p/p) de nanocelulosa bacteriana obtenidas por extrusión plana empleando las tres estrategias de incorporación de las nanocelulosas en el PLA.

En las **Figuras 5.10** y **5.11** se agrupan las micrografías de las superficies de fractura de las películas obtenidas por extrusión. Las películas compuestas directas (fila superior) exhiben agregados de nanocelulosa de gran tamaño, como puede observarse incluso en las superficies laterales, junto con algunas cavidades. Fortunati *et al.* (2012) obtuvieron resultados similares a partir de la observación de la superficie de fractura de películas extruidas de PLA reforzado con un contenido del 5% (p/p) de celulosa microcristalina. Al igual que en las micrografías de esta tesis, también observaron cavidades, las cuales atribuyeron a una adhesión deficiente derivada principalmente de la incompatibilidad entre la nanocelulosa hidrofílica y la matriz de PLA de carácter hidrofóbico (Fortunati *et al.*, 2012). La presencia de estas cavidades también fue observada por otros autores en compuestos de PLA extruidos con un contenido del 1%, 3%, 5% y 7% (p/p) de celulosa microcristalina, y explicada en términos de la incompatibilidad entre las fases (Dogu & Kaynak, 2016).

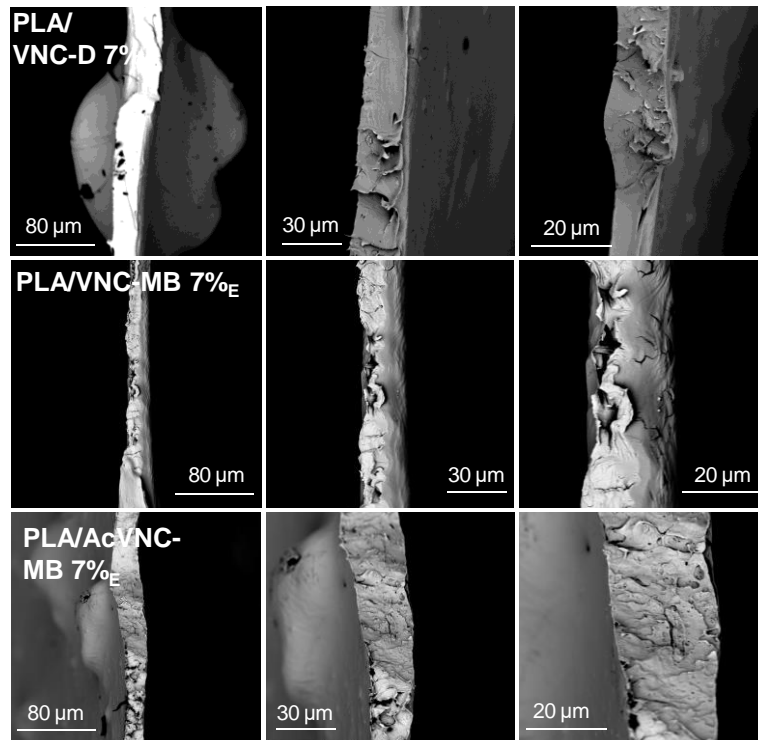


Figura 5.11. Micrografías de barrido electrónico de las películas de PLA y de las películas compuestas de PLA con 7% (p/p) de nanocelulosa vegetal obtenidas por extrusión plana empleando las tres estrategias de incorporación de las nanocelulosas en el PLA.

En comparación con la estrategia directa, y análogamente a lo observado en las películas obtenidas por mezclado en fundido y moldeo por compresión, en las películas extruidas con BNC y con VNC obtenidas por *masterbatching* los agregados son de menor tamaño respecto a los observados en las películas directas (**Figura 5.10** y **5.11**, fila central). Si bien en estas películas extruidas -mucho más delgadas que las moldeadas- se dificulta identificar la presencia de los agregados en las superficies de fractura, los mismos se pueden observar en las caras laterales de las películas, sobre todo en aquellas con VNC.

Por otra parte, se sabe que el análisis de algunas propiedades ópticas de los materiales compuestos puede brindar información valiosa sobre el nivel de dispersión de la fase discreta en la matriz (**Karkhanis et al., 2018**). En este contexto, la **Figura 5.12** muestra los valores de opacidad correspondientes a todas las películas obtenidas. En cada caso se calculó la opacidad relativa como A_{600}/x normalizada al valor de opacidad correspondiente al PLA ya que el espesor de las películas extruidas es mucho menor que el de las películas moldeadas por compresión. Los resultados obtenidos evidencian que el agregado de nanocelulosa al PLA

conduce a un aumento de la opacidad de las películas, siendo este efecto más evidente a mayores concentraciones de carga para las tres estrategias de incorporación de las nanocelulosas, y las dos técnicas de procesamiento.

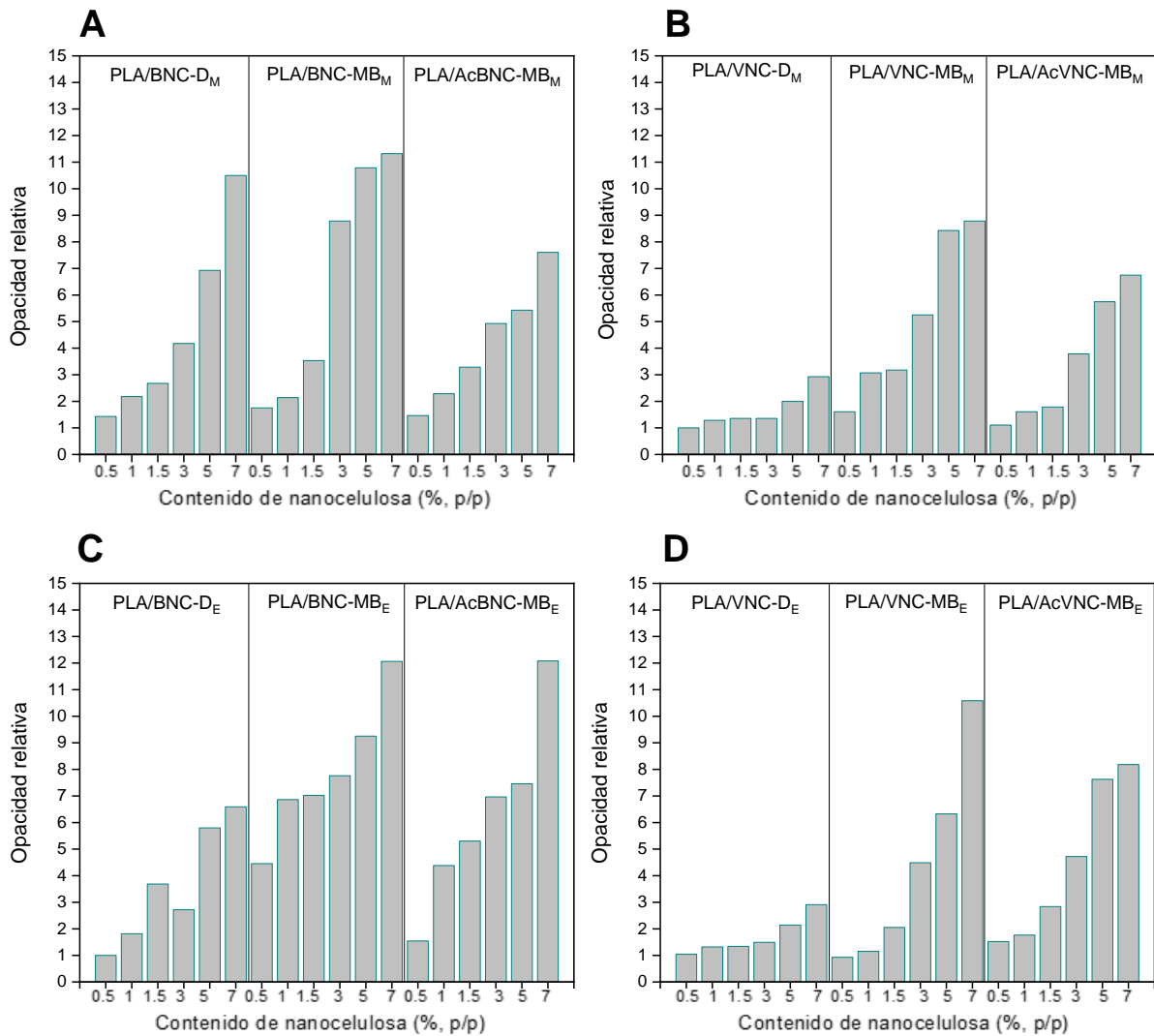


Figura 5.12. Opacidad relativa de las películas de PLA y de las películas compuestas de PLA y (A) nanocelulosa bacteriana y (B) nanocelulosa vegetal obtenidas por mezclado intensivo y moldeo por compresión; y películas compuestas de PLA y (C) nanocelulosa bacteriana y (D) nanocelulosa vegetal obtenidas por extrusión plana, empleando las tres estrategias de incorporación de las nanocelulosas en el PLA.

En general, las películas directas exhiben una opacidad menor respecto de aquellas que contienen nanocelulosas nativas introducidas por *masterbatching*. Lo anterior podría atribuirse a que, en las películas directas, la opacidad medida es un promedio entre zonas relativamente extensas de PLA transparente libre de carga y agregados de nanocelulosa como consecuencia de la pobre dispersión de las nanocelulosas en la matriz. En los materiales en los que se realizaron *masterbatches*, en cambio, las películas son mucho más homogéneas debido a la mejor dispersión de las nanofibrillas, lo que aumenta la opacidad de las películas.

En cuanto al efecto de la acetilación, y si bien en el análisis morfológico no se detectaron cambios significativos respecto de los *masterbatches* con nanocelulosa nativa, las nanocelulosas hidrofobizadas condujeron a valores de opacidad menores respecto de sus contrapartes nativas. Resultados similares fueron reportados por Tomé *et al.* (2011), quienes encontraron que compuestos con nanocelulosas acetiladas (GS=0.02-0.06) exhibían una menor opacidad que aquellos con nanocelulosas sin modificar. Los autores relacionaron estos resultados con una mayor compatibilidad entre el PLA y la nanocelulosa como consecuencia de la acetilación (Tomé *et al.*, 2011). Por su parte, Tingaut *et al.* (2010) desarrollaron nanocompuestos de PLA y celulosa nanofibrilada de origen vegetal mediante la técnica de evaporación de solvente. Los autores observaron una mayor translucencia en películas conteniendo nanocelulosa acetilada (Tingaut *et al.*, 2010). En películas reforzadas con nanocelulosa nativa, en cambio, evidenciaron un color blancuzco como resultado de la formación de agregados del refuerzo que promovieron la dispersión de la luz. Los autores interpretaron la mayor translucencia como indicador de mejor dispersión de las nanofibrillas en la matriz debido a un aumento en la compatibilidad entre ambos componentes, destacando el efecto beneficioso de la acetilación. Resultados similares fueron reportados posteriormente por otros autores (Ávila Ramírez *et al.*, 2020; Jonoobi *et al.*, 2012; Tomé *et al.*, 2011).

Otra razón que podría haber afectado las propiedades ópticas de las películas con nanocelulosas acetiladas se relaciona con el fenómeno de dispersión de la luz vinculado con las diferencias en los índices de refracción de los componentes. La dispersión de la luz es un efecto óptico que ocurre cuando la luz encuentra heterogeneidades en el índice de refracción de los materiales, por lo que se desvía de su trayectoria inicial. En los materiales heterogéneos, el transporte de luz es un fenómeno de volumen y su apariencia depende, entre otras cosas, de la sección transversal de dispersión de las partículas dispersoras, así como de las propiedades del conjunto tales como el porcentaje de volumen ocupado por las partículas dispersoras de la luz, su orientación promedio, su organización espacial, etc. (Jacucci *et al.*, 2021).

Se conoce que, en los materiales compuestos, la similitud en el índice de refracción de la matriz y la carga promueve una menor dispersión de la luz. Considerando la información disponible en la bibliografía, el índice de refracción del PLA es 1.47 (**He et al., 2021**), el de la celulosa es 1.5 (**Jacucci et al., 2021; Nogi et al., 2005**) y el del triacetato de celulosa 1.47 (**Nogi et al., 2005**). En función de ello, es posible que las mejoras en las propiedades ópticas observadas a partir de la acetilación de las nanocelulosas también estén relacionadas con un mejor "*refractive index matching*" entre el PLA y la superficie acetilada de las nanocelulosas.

Por otra parte, la **Tabla 5.1** agrupa los parámetros de color L^* , a^* y b^* de las películas desarrolladas por mezclado intensivo y moldeo por compresión, correspondientes al promedio de los valores obtenidos a partir de diez mediciones válidas para cada muestra. También se presentan los valores de ΔE calculados respecto del PLA según se describió en el capítulo 2.

El ΔE se mide en una escala de 1 a 100 y, en la industria, es común interpretar los valores de este parámetro según intervalos que consideran la capacidad del ojo humano para percibir cambios de color (<https://www.sensientindustrial.com/na/color-college/how-to-choose-color/how-do-we-calculate-a-perceptible-difference>). De acuerdo con los valores obtenidos, las diferencias de color se pueden clasificar como: no perceptibles (menos de 1), solo perceptibles bajo un examen minucioso (1-2), ligeramente perceptibles (2-10), perceptiblemente diferentes, pero aún parecen similares (11-49) y colores opuestos/complementarios en la rueda de colores (100).

Tabla 5.1. Parámetros de color de las películas de PLA y de las películas compuestas de PLA y nanocelulosas obtenidas por mezclado intensivo y moldeo por compresión empleando las tres estrategias de incorporación de las nanocelulosas en el PLA.

Muestra	L^*	a^*	b^*	ΔE
PLA _M	80.8±0.9	-0.2± 0.1	-1.5±0.6	-
PLA/BNC-D 0.5% _M	78.6±1.5	-0.6±0.5	-0.5±0.4	2.5
PLA/BNC-D 1% _M	79.3±0.6	-0.5±0.0	-0.8±0.3	1.7
PLA/BNC-D 1.5% _M	78.7±1.4	-0.5±0.0	1.9±1.0	4.0
PLA/BNC-D 3% _M	77.9±1.1	-0.6±0.0	1.9±1.1	4.5
PLA/BNC-D 5% _M	79.9±0.5	-0.5±0.0	3.4±0.4	5.0
PLA/BNC-D 7% _M	79.5±0.5	-0.2±0.2	6.2±0.9	7.8
PLA/BNC-MB 0.5% _M	79.3±1.1	-0.2±0.0	-0.2±0.5	2.0
PLA/BNC-MB 1% _M	78.1±0.5	-0.5±0.0	1.4±0.4	4.0

PLA/BNC-MB 1.5% _M	75.4±1.5	-0.5±0.0	3.4±0.4	7.3
PLA/BNC-MB 3% _M	77.2±0.9	-0.2±0.2	7.3±0.5	9.5
PLA/BNC-MB 5% _M	78.1±1.1	-0.2±0.1	8.2±0.9	10.1
PLA/BNC-MB 7% _M	72.5±1.8	2.0±0.4	14.5±0.8	18.2
PLA/AcBNC-MB 0.5% _M	79.3±0.5	-0.3±0.4	-0.5±0.5	1.8
PLA/AcBNC-MB 1% _M	77.4±1.2	0.2±0.1	2.4±1.0	5.2
PLA/AcBNC-MB 1.5% _M	78.2±0.9	-0.2±0.0	0.6±0.6	3.4
PLA/AcBNC-MB 3% _M	73.6±0.5	1.0±0.1	7.7±0.4	11.8
PLA/AcBNC-MB 5% _M	68.6±1.6	1.8±0.3	12.0±0.8	18.3
PLA/AcBNC-MB 7% _M	66.0±0.7	3.0±0.1	15.3±0.3	27.4
PLA/VNC-D 0.5% _M	80.6±0.5	-0.2±0.0	-1.9±0.3	0.0
PLA/VNC-D 1% _M	79.7±0.5	-0.2±0.0	-1.2±0.3	1.1
PLA/VNC-D 1.5% _M	78.5±0.9	-0.1±0.1	-0.7±0.4	2.4
PLA/VNC-D 3% _M	76.4±0.8	0.0±0.0	0.8±0.5	5.0
PLA/VNC-D 5% _M	75.5±1.2	0.2±0.1	2.5±0.8	6.7
PLA/VNC-D 7% _M	73.9±1.6	0.5±0.2	4.4±0.1	9.1
PLA/VNC-MB 0.5% _M	80.7±0.8	-0.2±0.1	-1.8±0.6	0.3
PLA/VNC-MB 1% _M	79.2±0.8	-0.3±0.0	0.4±0.2	2.5
PLA/VNC-MB 1.5% _M	78.9±1.2	-0.3±0.0	0.4±0.8	2.7
PLA/VNC-MB 3% _M	75.6±1.3	0.1±0.1	4.4±0.8	7.9
PLA/VNC-MB 5% _M	69.3±0.7	1.2±0.0	10.2±0.3	16.5
PLA/VNC-MB 7% _M	68.8±1.0	1.7±0.3	11.6±1.0	17.9
PLA/AcVNC-MB 0.5% _M	81.7±0.5	-0.3±0.0	-1.4±0.3	0.9
PLA/AcVNC-MB 1% _M	81.1±0.5	-0.4±0.0	-1.4±0.3	0.4
PLA/AcVNC-MB 1.5% _M	80.7±0.7	-0.3±0.0	-1.2±0.3	0.3
PLA/AcVNC-MB 3% _M	78.9±0.5	-0.4±0.0	0.5±0.4	2.8
PLA/AcBNC-MB 5% _M	77.2±0.5	-0.3±0.1	2.2±0.4	5.2
PLA/AcVNC-MB 7% _M	72.8±0.3	0.0±0.1	6.1±0.3	11.0

Globalmente, las películas compuestas obtenidas por mezclado intensivo y moldeo por compresión muestran valores ligeramente reducidos de L^* ; valores similares de a^* y valores más altos de b^* en comparación con el PLA solo, dando lugar a valores de ΔE entre 0.0 y 27.4, producto de las disminuciones en la luminosidad de los materiales, y de corrimientos hacia tonalidades amarillentas perceptibles al ojo humano, que podrían atribuirse a la coloración que les imparten las nanocelulosas. A medida que aumenta el contenido de carga, se observan cambios más pronunciados en los parámetros de color. Hallazgos similares

fueron reportados por Patwa *et al.* (2019) quienes observaron en compuestos de PLA y BNC disminuciones en el parámetro L^* , y aumentos en los valores a^* y b^* con el incremento de la concentración del refuerzo, resultando en valores de $\Delta E=27.0$ para películas con contenidos del 30% de carga. En esa oportunidad, el oscurecimiento del material tras la incorporación del refuerzo en la matriz, y el desplazamiento hacia tonalidades rojas y amarillas, se tradujo en coloraciones amarronadas (Patwa *et al.*, 2019). Como puede observarse en la **Tabla 5.1**, los cambios de color de las películas están influenciados por la estrategia de incorporación de la carga. Las películas elaboradas a través de la técnica de *masterbatch*, más homogéneas, exhiben mayores diferencias de color (evidenciadas como mayores valores de ΔE) que las películas directas, sobre todo a elevadas concentraciones de carga.

Tabla 5.2. Parámetros de color de las películas de PLA y de las películas compuestas de PLA y nanocelulosas obtenidas por extrusión plana empleando las tres estrategias de incorporación de las nanocelulosas en el PLA.

Muestra	L^*	a^*	b^*	ΔE
PLA _E	86.1±0.3	-0.3±0.0	-4.6±0.1	-
PLA/BNC-D 0.5% _E	86.2±0.3	-0.3±0.1	-4.5±0.1	0.2
PLA/BNC-D 1% _E	86.6±0.4	-0.4±0.0	-4.3±0.1	0.6
PLA/BNC-D 1.5% _E	86.5±0.1	-0.4±0.0	-4.2±0.2	0.6
PLA/BNC-D 3% _E	86.1±0.3	-0.4±0.0	-3.9±0.2	0.7
PLA/BNC-D 5% _E	87.1±0.2	-0.4±0.1	-3.8±0.2	1.3
PLA/BNC-D 7% _E	87.3±0.1	-0.4±0.0	-4.5±0.1	1.2
PLA/BNC-MB 0.5% _E	87.8±0.1	-0.4±0.1	-4.2±0.1	1.7
PLA/BNC-MB 1% _E	87.2±0.1	-0.4±0.1	-4.2±0.1	1.2
PLA/BNC-MB 1.5% _E	87.8±0.1	-0.4±0.0	-4.5±0.0	1.7
PLA/BNC-MB 3% _E	87.3±0.3	-0.4±0.0	-4.2±0.0	1.3
PLA/BNC-MB 5% _E	87.1±0.2	-0.4±0.1	-3.9±0.2	1.2
PLA/BNC-MB 7% _E	87.3±0.3	-0.4±0.0	-3.8±0.2	1.4
PLA/AcBNC-MB 0.5% _E	87.8±0.1	-0.4±0.1	-4.5±0.1	1.7
PLA/AcBNC-MB 1% _E	87.2±0.1	-0.4±0.1	-4.2±0.1	1.2
PLA/AcBNC-MB 1.5% _E	87.8±0.1	-0.4±0.0	-4.5±0.0	1.7
PLA/AcBNC-MB 3% _E	86.8±0.2	-0.4±0.1	-3.7±0.2	1.1
PLA/AcBNC-MB 5% _E	86.0±0.1	-0.4±0.0	-3.3±0.3	1.3
PLA/AcBNC-MB 7% _E	86.1±0.2	-0.2±0.0	-3.0±1.0	1.6
PLA/VNC-D 0.5% _E	86.1±0.4	-0.3±0.0	-4.4±0.1	0.2
PLA/VNC-D 1% _E	85.6±1.2	-0.3±0.0	-4.4±0.1	0.5
PLA/VNC-D 1.5% _E	85.9±1.2	-0.3±0.0	-4.4±0.1	0.3

PLA/VNC-D 3% _E	86.0±0.4	-0.3±0.0	-4.0±0.1	0.6
PLA/VNC-D 5% _E	86.2±0.4	-0.3±0.0	-4.2±0.1	0.4
PLA/VNC-D 7% _E	85.7±0.5	-0.2±0.2	-3.6±0.1	1.1
PLA/VNC-MB 0.5% _E	86.3±0.3	-0.3±0.0	-4.6±0.0	0.2
PLA/VNC-MB 1% _E	86.9±0.8	-0.3±0.1	-4.5±0.1	0.8
PLA/VNC-MB 1.5% _E	86.7±0.3	-0.3±0.1	-4.5±0.1	0.6
PLA/VNC-MB 3% _E	86.6±0.3	-0.3±0.1	-4.3±0.1	0.6
PLA/VNC-MB 5% _E	86.9±0.2	-0.3±0.1	-4.1±0.0	0.9
PLA/VNC-MB 7% _E	87.2±0.1	-0.3±0.0	-3.7±0.1	1.4
PLA/AcVNC-MB 0.5% _E	86.6±0.2	-0.3±0.0	-4.6±0.0	0.5
PLA/AcVNC-MB 1% _E	86.7±0.3	-0.3±0.0	-4.6±0.1	0.6
PLA/AcVNC-MB 1.5% _E	86.8±0.2	-0.3±0.0	-4.5±0.0	0.7
PLA/AcVNC-MB 3% _E	87.3±0.4	-0.4±0.1	-4.4±0.1	1.2
PLA/AVBNC-MB 5% _E	87.3±0.2	-0.3±0.0	-4.3±0.1	1.2
PLA/AcVNC-MB 7% _E	87.3±0.1	-0.3±0.0	-4.3±0.1	1.2

En el caso de las películas extruidas, que poseen mucho menor espesor que las películas mezcladas y moldeadas, los valores de luminosidad son mayores. En cuanto al efecto de la incorporación de las nanocelulosas, en general no se observan cambios importantes en los valores de L^* , a^* y b^* respecto del PLA, lo que se traduce en valores de ΔE que no superan 1.7. Es decir, que los cambios de color pueden considerarse imperceptibles o perceptibles solamente bajo un examen muy minucioso (valores de ΔE menores a 2). Los valores de ΔE de la **Tabla 5.2**, muy inferiores a los de la **Tabla 5.1**, sugerirían un efecto del tipo de procesamiento y/o de la cantidad neta de nanocelulosa en películas de espesor muy diferente.

Una de las potenciales aplicaciones de los materiales basados en PLA es el envasado de alimentos, donde las propiedades visuales juegan un rol clave en las preferencias del consumidor. Para este uso, se suelen preferir materiales más ligeros y transparentes con colores menos saturados, a partir de lo cual se podría concluir que las películas extruidas y las moldeadas por compresión con bajos contenidos de carga podrían ser más adecuadas para este tipo de aplicaciones. En general, las películas elaboradas por *masterbatching* podrían ser integralmente más aceptadas debido a su apariencia mucho más homogénea que las directas.

5.2.2 Propiedades mecánicas

A continuación, se presentan y discuten las propiedades de tracción de las películas compuestas obtenidas.

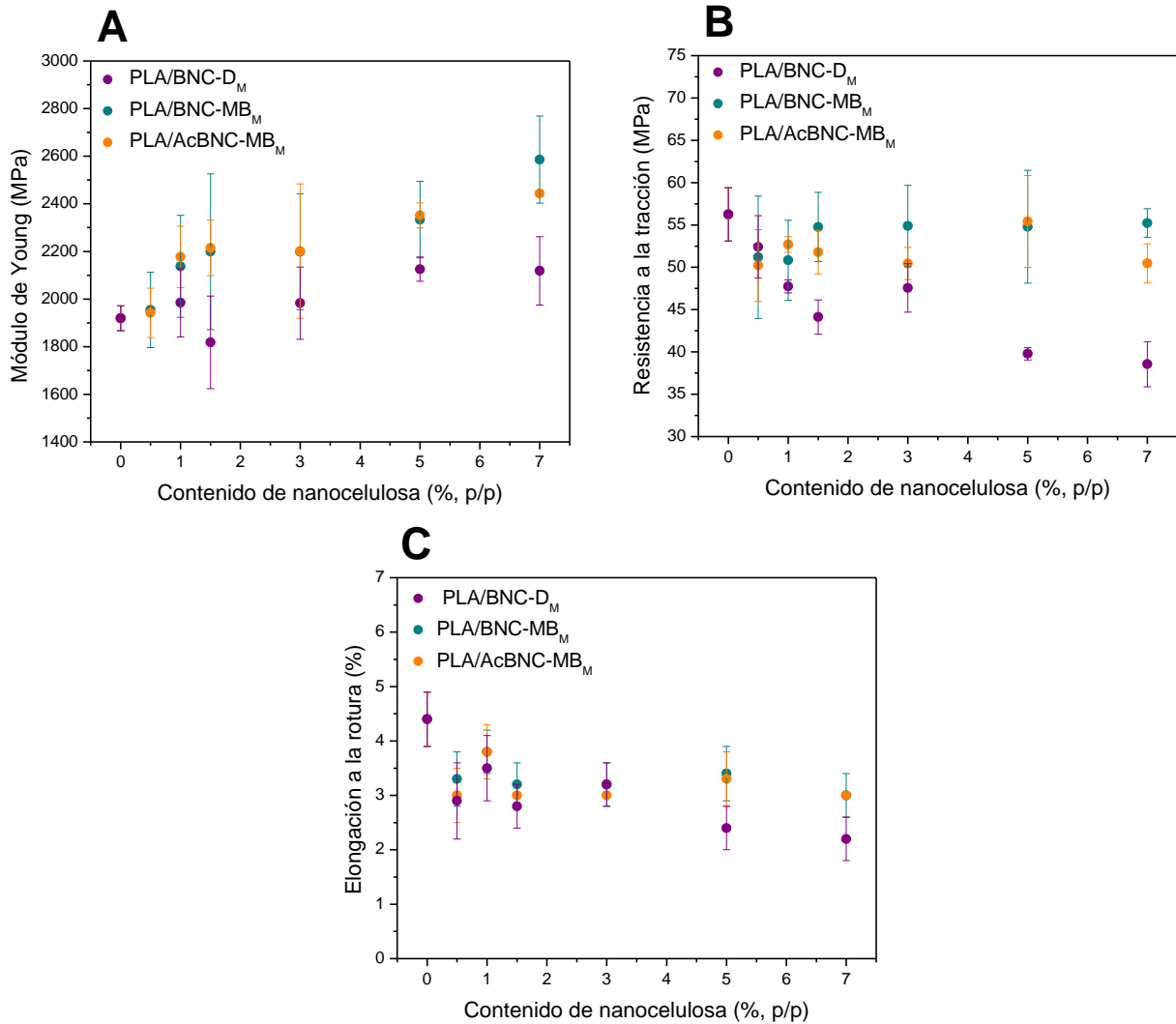


Figura 5.13. (A) Módulo de Young, (B) resistencia a la tracción y (C) elongación a la rotura de las películas de PLA y de las películas compuestas de PLA y nanocelulosa bacteriana obtenidas por mezclado intensivo y moldeo por compresión, empleando las tres estrategias de incorporación de las nanocelulosas en el PLA.

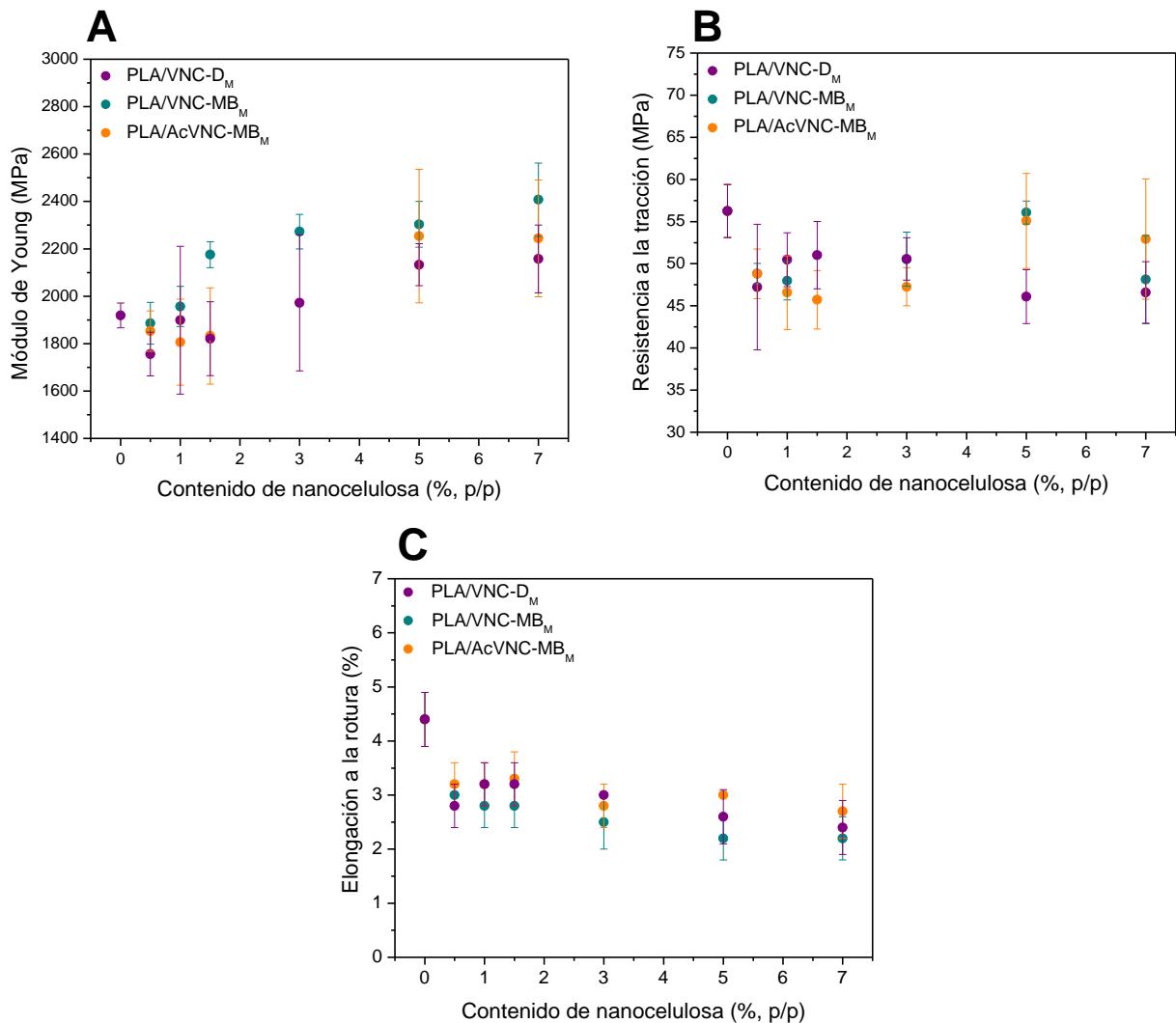


Figura 5.14. (A) Módulo de Young, (B) resistencia a la tracción y (C) elongación a la rotura de las películas de PLA y de las películas compuestas de PLA y nanocelulosa vegetal obtenidas por mezclado intensivo y moldeo por compresión, empleando las tres estrategias de incorporación de las nanocelulosas en el PLA.

Los valores de los parámetros de tracción de las películas con nanocelulosa bacteriana y nanocelulosa vegetal obtenidas por mezclado intensivo y moldeo por compresión, empleando las tres estrategias de incorporación de la carga se presentan en las **Figuras 5.13** y **5.14**, respectivamente. Independientemente del tipo de nanocelulosa empleada, la mayoría de las películas compuestas presentan mayor rigidez que la película de PLA, y se observa una tendencia creciente del módulo con el contenido de nanocelulosa como resultado de la introducción de cargas rígidas en una matriz más deformable (**Mokhena et al., 2018**).

Además, el efecto de la estrategia de incorporación de la carga también es evidente en los valores de módulo de Young, siendo mayores los valores de las películas compuestas obtenidas a través de *masterbatching*, sin un efecto significativo derivado de la acetilación de las nanocelulosas. La preparación previa de los *masterbatches* por evaporación de solvente mejora la dispersión de las nanocargas limitando su hornificación durante el secado a partir de un sistema diluido en presencia de cadenas de PLA. Este efecto es particularmente pronunciado en el caso de las películas compuestas que contienen BNC y AcBNC. El módulo de Young es un parámetro mecánico que se obtiene a niveles muy bajos de deformación, por lo que está mayormente determinado por la dispersión de la carga en la matriz y no debería verse afectado por la interacción interfacial (**Móczó & Pukánszky, 2008**). La mejor dispersión de las nanocelulosas en el PLA derivada de la estrategia de *masterbatching* justifica el aumento de rigidez observado. Por otro lado, la incorporación directa de las nanocelulosas en el PLA conduce a una reducción de la resistencia a la tracción de las películas. Este parámetro depende de la interacción entre los componentes, lo que determina la transferencia de esfuerzos de la matriz a la carga, así como de la dispersión de la carga en la matriz. Los resultados obtenidos en este trabajo de tesis revelan la incapacidad de la matriz polimérica hidrofóbica para transferir esfuerzos a las cargas hidrofílicas pobremente dispersas (**Arteaga-Ballesteros et al., 2021; Cunha et al., 2014**). También se observa una tendencia decreciente de la resistencia con el contenido de carga -especialmente en las películas compuestas con nanocelulosa bacteriana- lo que puede atribuirse al contenido creciente de la carga pobremente dispersa. Por otra parte, los valores de resistencia a la tracción de las películas compuestas con VNC preparadas por *masterbatching* que poseen los mayores contenidos de carga analizados (5% y 7% (p/p)) recuperan el valor de la película de PLA, mientras que la misma estrategia conduce a películas compuestas con BNC con valores de resistencia similares al PLA para todos los contenidos de nanocelulosa estudiados. En comparación con los compuestos obtenidos por incorporación directa de las nanocelulosas en el PLA, el *masterbatching* conduce a películas compuestas más resistentes como resultado de la mejor dispersión de la nanocarga debido a la reducción de los efectos de la hornificación antes mencionados. La acetilación superficial de las nanocelulosas realizada con el objetivo de aumentar la interacción entre las fases y mejorar aún más la dispersión de las cargas, no conduce a cambios significativos en la resistencia a la tracción, sugiriendo que la adhesión interfacial entre el PLA y las nanocelulosas acetiladas no mejora significativamente para el grado de sustitución conferido a las nanocargas ($GS=0.20$).

Finalmente, la ductilidad (**Figuras 5.13c y 5.14c**) de las películas se redujo significativamente en comparación con el PLA puro, con una tendencia levemente decreciente

a mayor contenido de nanocelulosa. Estos resultados son consistentes con los informados previamente para sistemas similares, y constituyen una tendencia comúnmente observada en compuestos termoplásticos. Se deben principalmente a la restricción impuesta por una carga más rígida a la deformación plástica de la matriz, creciente a mayores contenidos de carga (**Ávila Ramírez et al., 2018; Eyholzer et al., 2012; Ganß et al., 2012; Panaitescu et al., 2017**). Estos resultados son comparables con los obtenidos por Suryanegara *et al.* (2009), quienes prepararon láminas compuestas de PLA con celulosa microfibrilada a partir de la mezcla de ambos componentes en un solvente orgánico, seguido de secado y prensado en caliente. Contenidos de refuerzo del 20% (p/p) condujeron a aumentos en el módulo respecto del PLA puro y a caídas en la elongación a la rotura, que los autores relacionaron con el agregado de fibras rígidas a una matriz más dúctil (**Suryanegara et al., 2009**).

Las **Figuras 5.15 y 5.16** muestran, respectivamente, los valores de los parámetros de tracción de las películas con nanocelulosa bacteriana y nanocelulosa vegetal obtenidas por extrusión plana empleando las tres estrategias de incorporación de la carga. Globalmente, en estas películas no se observan mejoras notables derivadas de la incorporación de las nanocelulosas por ninguna de las tres estrategias implementadas con valores de módulo, resistencia a la tracción y elongación a la rotura similares o inferiores a los de la película extruida de PLA. Sin embargo, los valores registrados sí permiten confirmar cierto efecto positivo de la estrategia del *masterbatch* por sobre el mezclado directo del PLA con las nanocelulosas secas y molidas. Tal es el caso de los valores de módulo y resistencia a la tracción de las películas con BNC (principalmente a mayores contenidos de carga), y la elongación a la rotura en el caso de las películas con VNC. Por otro lado, análogamente a lo observado para las películas moldeadas por compresión, la resistencia a la tracción y la elongación a la rotura exhiben una tendencia decreciente con el contenido de las nanocelulosas, siendo este efecto más pronunciado en el caso de las películas compuestas con BNC.

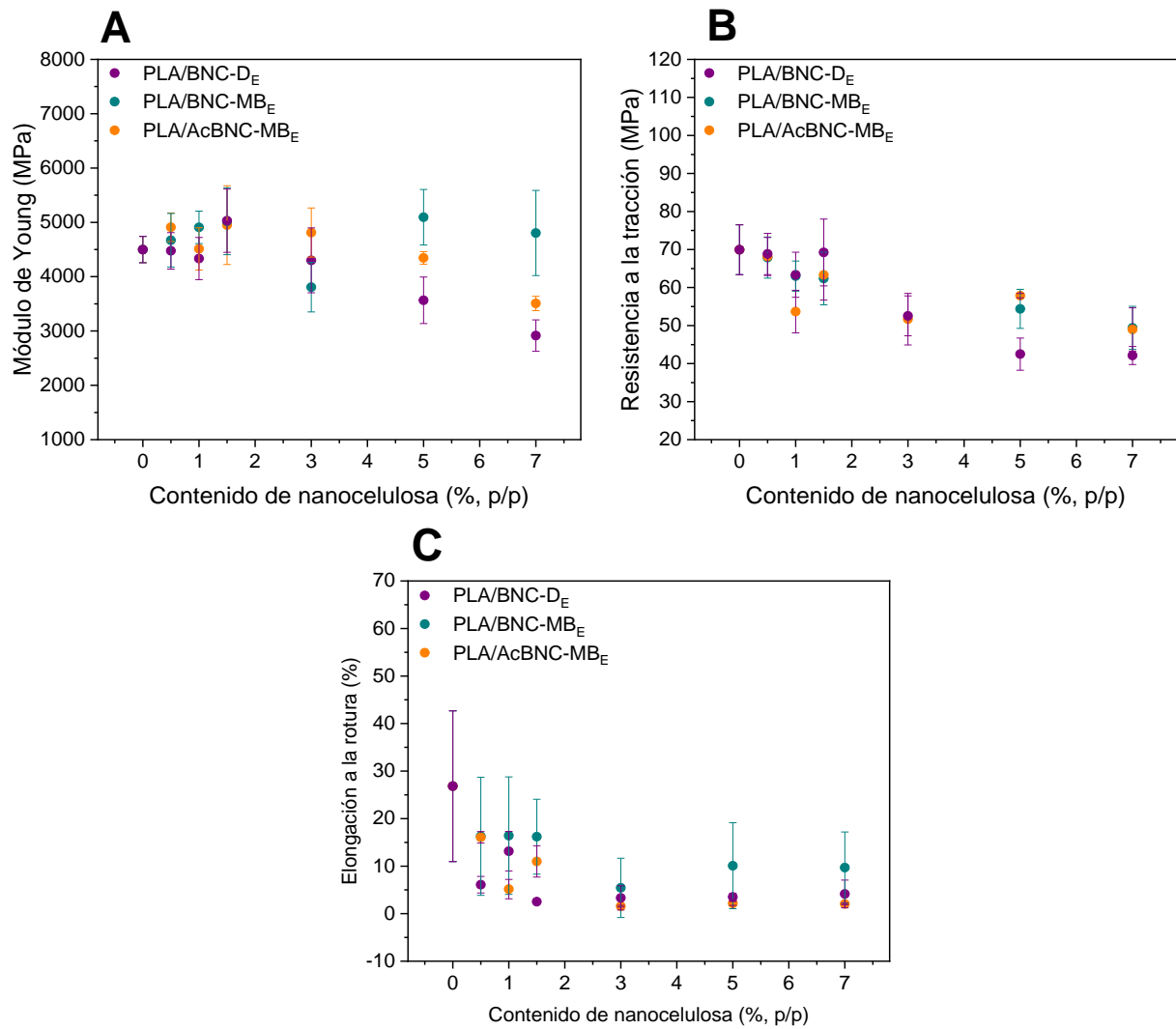


Figura 5.15. (A) Módulo de Young, B) resistencia a la tracción y C) elongación a la rotura de las películas de PLA y de las películas compuestas de PLA y nanocelulosa bacteriana obtenidas por extrusión plana, empleando las tres estrategias de incorporación de las nanocelulosas en el PLA.

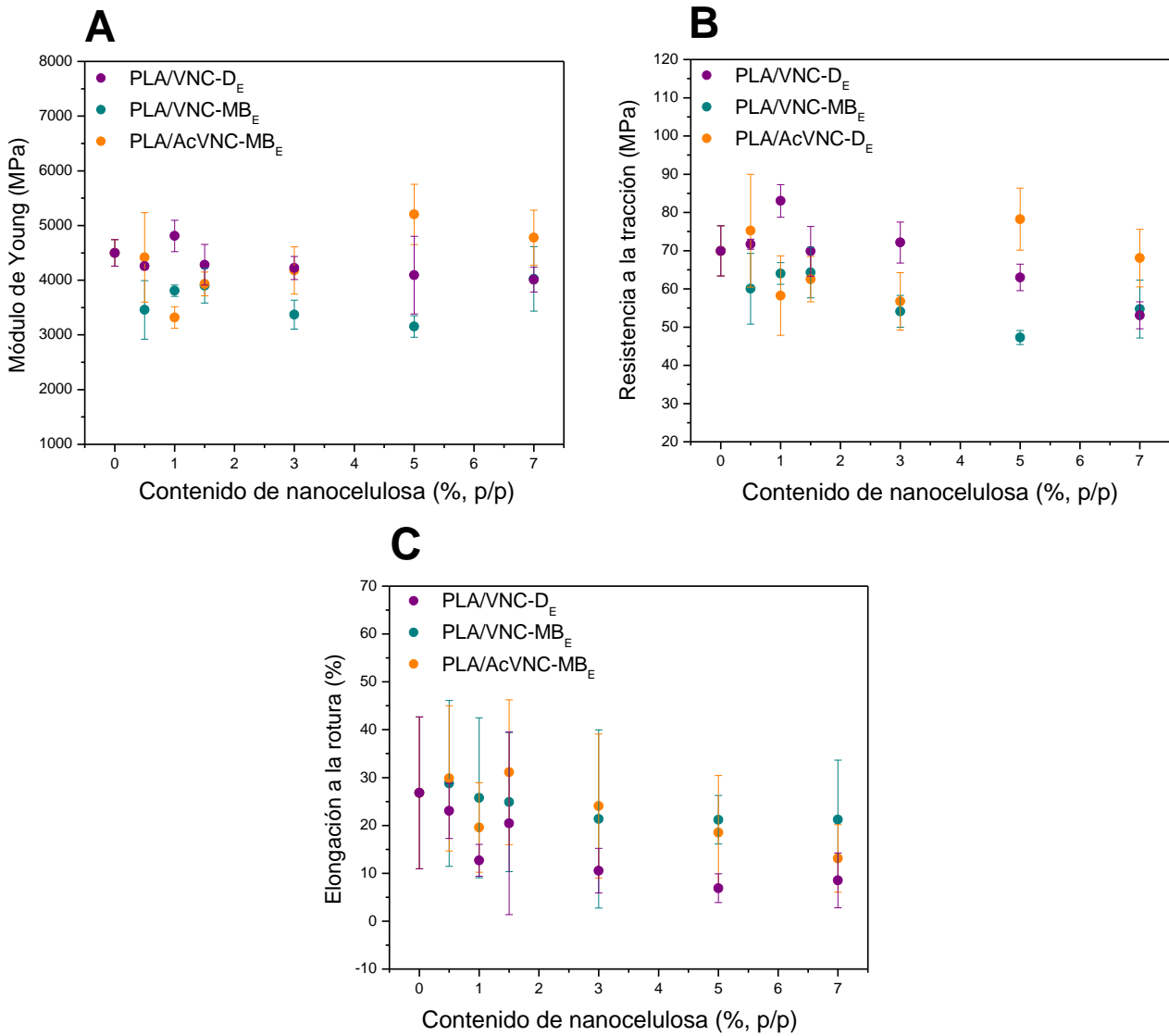


Figura 5.16. (A) Módulo de Young, (B) resistencia a la tracción y (C) elongación a la rotura de las películas de PLA y de las películas compuestas de PLA y nanocelulosa vegetal obtenidas por extrusión plana, empleando las tres estrategias de incorporación de las nanocelulosas en el PLA.

Por último, tampoco en las películas extruidas la acetilación se tradujo en cambios significativos en la resistencia a la tracción, sugiriendo que la adhesión interfacial entre el PLA y las nanocelulosas acetiladas no mejora significativamente para el grado de sustitución conferido a las nanocargas. Este grado de sustitución había resultado previamente en mejoras significativas en la dispersión de BNC en películas compuestas de PLA preparadas por evaporación de solvente, que se tradujeron en aumentos del módulo y la resistencia a la

tracción respecto de películas con BNC nativa, no habiéndose identificado incrementos adicionales a partir del uso de mayores grados de sustitución (GS hasta 0.6) (**Ávila Ramírez et al., 2019; Ávila Ramírez et al., 2020**). Tal resultado promovió el empleo del menor nivel de acetilación (GS= 0.2) en la presente tesis. Sin embargo, evidentemente los resultados del efecto de la acetilación de las nanocelulosas en el procesamiento por evaporación de solvente no son necesariamente extrapolables a otros métodos de procesamiento tales como el mezclado en fundido seguido de moldeo por compresión o la extrusión empleados en este trabajo. En este contexto, y ante la posibilidad de utilizar grados de sustitución superiores de las nanocelulosas en trabajos futuros, será importante restringir oportunamente la modificación química a niveles que no afecten la cristalinidad de las nanocelulosas y las propiedades derivadas.

Cabe destacar que, en general, todas las películas extruidas presentaron un desempeño mecánico superior respecto de sus equivalentes obtenidas por mezclado en fundido seguido de moldeo por compresión, con valores superiores de módulo de Young, resistencia a la tracción y elongación a la rotura. Esto podría atribuirse a que el paso forzado del material extruido por la boquilla plana acoplada al equipo de procesamiento y posteriormente por la calandra, favoreció la orientación molecular del polímero en la dirección de extrusión (longitudinal) con el consiguiente aumento de la rigidez y la resistencia en dicha dirección.

5.3 Conclusiones del Capítulo 5

La caracterización morfológica, óptica y mecánica de las películas desarrolladas reveló que la preparación previa de *masterbatches* mediante evaporación de solvente permite mejorar la dispersión de las cargas nanocelulósicas en la matriz de PLA en comparación con la mezcla directa de las nanocelulosas secas y molidas con el polímero. En el caso de las películas con nanofibrillas de celulosa procedentes de cáscara de arroz, sin embargo, la persistencia de silicatos de la materia prima favoreció la formación de agregados, aunque los mismos fueron de menor tamaño que los observados en las películas con VNC obtenidas mediante la estrategia directa. En cuanto a las propiedades mecánicas de las películas obtenidas, no se hallaron cambios adjudicables particularmente a la presencia de estos silicatos.

En cuanto a los efectos de la acetilación, la modificación química de las nanocelulosas impactó positivamente en las propiedades ópticas de las películas, probablemente debido a cambios en el índice de refracción del material. Sin embargo, esto no condujo a una mejora

importante en las propiedades mecánicas de las películas. En particular, con respecto a la resistencia a la tracción, es posible que el grado de sustitución conferido a las nanocelulosas no haya sido suficiente para promover la adhesión interfacial requerida para una transferencia efectiva de esfuerzos.

5.4 Bibliografía

Abdulkhani, A., Hosseinzadeh, J., Ashori, A., Dadashi, S., & Takzare, Z. (2014). Preparation and characterization of modified cellulose nanofibers reinforced polylactic acid nanocomposite. *Polymer testing*, 35, 73.

Ambrosio-Martín, J., Fabra, M. J., Lopez-Rubio, A., & Lagaron, J. M. (2015). Melt polycondensation to improve the dispersion of bacterial cellulose into polylactide via melt compounding: enhanced barrier and mechanical properties. *Cellulose*, 22, 1201.

Ávila Ramírez, J. A., Bovi, J., Bernal, C., Errea, M. I., & Foresti, M. L. (2020). Development of poly (lactic acid) nanocomposites reinforced with hydrophobized bacterial cellulose. *Journal of Polymers and the Environment*, 28, 61.

Ávila Ramírez, J. A., Cerrutti, P., Bernal, C., Errea, M. I., & Foresti, M. L. (2019). Nanocomposites based on poly (lactic acid) and bacterial cellulose acetylated by an α -hydroxyacid catalyzed route. *Journal of Polymers and the Environment*, 27, 510.

Bagheriasl, D., Safdari, F., Carreau, P. J., Dubois, C., & Riedl, B. (2019). Development of cellulose nanocrystal-reinforced polylactide: A comparative study on different preparation methods. *Polymer composites*, 40(S1), E342.

Bitinis, N., Verdejo, R., Bras, J., Fortunati, E., Kenny, J. M., Torre, L., & López-Manchado, M. A. (2013). Poly (lactic acid)/natural rubber/cellulose nanocrystal bionanocomposites Part I. Processing and morphology. *Carbohydrate polymers*, 96(2), 611.

Dogu, B., & Kaynak, C. (2016). Behavior of polylactide/microcrystalline cellulose biocomposites: effects of filler content and interfacial compatibilization. *Cellulose*, 23, 611.

Erbas Kiziltas, E., Kiziltas, A., & Lee, E. C. (2018). Structure and properties of compatibilized recycled polypropylene/recycled polyamide 12 blends with cellulose fibers addition. *Polymer Composites*, 39(10), 3556.

Eyholzer, C., Tingaut, P., Zimmermann, T., & Oksman, K. (2012). Dispersion and reinforcing potential of carboxymethylated nanofibrillated cellulose powders modified with 1-hexanol in extruded poly (lactic acid)(PLA) composites. *Journal of Polymers and the Environment*, 20, 1052.

Fortunati, E., Armentano, I., Zhou, Q., Iannoni, A., Saino, E., Visai, L., & Kenny, J. M. (2012). Multifunctional bionanocomposite films of poly (lactic acid), cellulose nanocrystals and silver nanoparticles. *Carbohydrate polymers*, 87(2), 1596.

Ganß, K., Nechwatal, A., Frankenfeld, K., & Schlufter, K. (2012). Difficulties in the use of ground bacterial cellulose (BC) as reinforcement of polylactid acid (PLA) using melt-mixing and extrusion technologies. *Open Journal of Composite Materials*, 2, 97.

He, W., Zhang, W., Zhang, J., Yu, P., Liu, P., Yang, G., & Lei, H. (2021). Mie resonant scattering-based refractive index sensor using a quantum dots-doped polylactic acid nanowire. *Applied Physics Letters*, 119(11), 1.

Herrera, N., Mathew, A. P., & Oksman, K. (2015). Plasticized polylactic acid/cellulose nanocomposites prepared using melt-extrusion and liquid feeding: Mechanical, thermal and optical properties. *Composites Science and Technology*, 106, 149.

Iwatake, A., Nogi, M., & Yano, H. (2008). Cellulose nanofiber-reinforced polylactic acid. *Composites Science and Technology*, 68(9), 2103.

Jacucci, G., Schertel, L., Zhang, Y., Yang, H., & Vignolini, S. (2021). Light management with natural materials: from whiteness to transparency. *Advanced Materials*, 33(28), 2001215.

Jamshidian, M., Tehrany, E. A., Imran, M., Jacquot, M., & Desobry, S. (2010). Poly-lactic acid: production, applications, nanocomposites, and release studies. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 9(5), 552.

Jonoobi, M., Harun, J., Mathew, A. P., & Oksman, K. (2010). Mechanical properties of cellulose nanofiber (CNF) reinforced polylactic acid (PLA) prepared by twin screw extrusion. *Composites Science and Technology*, 70(12), 1742.

Jonoobi, M., Mathew, A. P., Abdi, M. M., Makinejad, M. D., & Oksman, K. (2012). A comparison of modified and unmodified cellulose nanofiber reinforced polylactic acid (PLA) prepared by twin screw extrusion. *Journal of Polymers and the Environment*, 20, 991.

Karkhanis, S. S., Stark, N. M., Sabo, R. C., & Matuana, L. M. (2018). Performance of poly (lactic acid)/cellulose nanocrystal composite blown films processed by two different compounding approaches. *Polymer Engineering & Science*, 58(11), 1965.

Kiziltas, A. (2014). Carrier systems for cellulose nanofibers in hydrophobic polymer composites. University of Maine.

Kiziltas, A., Nazari, B., Kiziltas, E. E., Gardner, D. J., Han, Y., & Rushing, T. S. (2015). Cellulose NANOFIBER-polyethylene nanocomposites modified by polyvinyl alcohol. *Journal of Applied Polymer Science*, 133(6), 1.

Kiziltas, A., Nazari, B., Kiziltas, E. E., Gardner, D. J., Han, Y., & Rushing, T. S. (2016). Method to reinforce polylactic acid with cellulose nanofibers via a polyhydroxybutyrate carrier system. *Carbohydrate Polymers*, 140, 393.

Lee, K. Y., Blaker, J. J., & Bismarck, A. (2009). Surface functionalisation of bacterial cellulose as the route to produce green polylactide nanocomposites with improved properties. *Composites Science and Technology*, 69(15-16), 2724.

Lee, K. Y., Blaker, J. J., Bismarck, A., & Campus, S. K. (2014). Improving the properties of nanocellulose/polylactide composites by esterification of nanocellulose. Can it be done? En *ICCM International Conferences on Composite Materials* (p. 27).

Lee, K. Y., Quero, F., Blaker, J. J., Hill, C. A., Eichhorn, S. J., & Bismarck, A. (2011). Surface only modification of bacterial cellulose nanofibres with organic acids. *Cellulose*, 18, 595.

Lee, S. H., Teramoto, Y., & Endo, T. (2011). Cellulose nanofiber-reinforced polycaprolactone/polypropylene hybrid nanocomposite. *Composites Part A: Applied Science and Manufacturing*, 42(2), 151.

Mathew, A. P., Oksman, K., & Sain, M. (2005). Mechanical properties of biodegradable composites from poly lactic acid (PLA) and microcrystalline cellulose (MCC). *Journal of Applied Polymer Science*, 97(5), 2014.

Meng, X., Bocharova, V., Tekinalp, H., Cheng, S., Kisliuk, A., Sokolov, A. P., & Ozcan, S. (2018). Toughening of nanocellulose/PLA composites via bio-epoxy interaction: Mechanistic study. *Materials & Design*, 139, 188.

Nogi, M., Handa, K., Nakagaito, A. N., & Yano, H. (2005). Optically transparent bionanofiber composites with low sensitivity to refractive index of the polymer matrix. *Applied Physics Letters*, 87(24).

Panaiteescu, D. M., Frone, A. N., Chiulan, I., Gabor, R. A., Spataru, I. C., & Cășărică, A. (2017). Biocomposites from polylactic acid and bacterial cellulose nanofibers obtained by mechanical treatment. *BioResources*, 12(1), 662.

Patwa, R., Saha, N., Saha, P., & Katiyar, V. (2019). Biocomposites of poly (lactic acid) and lactic acid oligomer-grafted bacterial cellulose: It's preparation and characterization. *Journal of Applied Polymer Science*, 136(35), 47903.

Peng, Y., Gardner, D. J., & Han, Y. (2012). Drying cellulose nanofibrils: in search of a suitable method. *Cellulose*, 19, 91.

Petersson, L., Kvien, I., & Oksman, K. (2007). Structure and thermal properties of poly (lactic acid)/cellulose whiskers nanocomposite materials. *Composites Science and Technology*, 67(11-12), 2535.

Platnieks, O., Sereda, A., Gaidukovs, S., Thakur, V. K., Barkane, A., Gaidukova, G., & Fridrihsone, V. (2021). Adding value to poly (butylene succinate) and nanofibrillated cellulose-based sustainable nanocomposites by applying masterbatch process. *Industrial Crops and Products*, 169, 113669.

Quero, F., Nogi, M., Yano, H., Abdulsalami, K., Holmes, S. M., Sakakini, B. H., & Eichhorn, S. J. (2010). Optimization of the mechanical performance of bacterial cellulose/poly (L-lactic) acid composites. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 2(1), 321.

Sánchez-García, M. D., Gimenez, E., & Lagaron, J. M. (2008). Morphology and barrier properties of solvent cast composites of thermoplastic biopolymers and purified cellulose fibers. *Carbohydrate Polymers*, 71(2), 235.

Suryanegara, L., Nakagaito, A. N., & Yano, H. (2009). The effect of crystallization of PLA on the thermal and mechanical properties of microfibrillated cellulose-reinforced PLA composites. *Composites Science and Technology*, 69(7-8), 1187.

Suryanegara, L., & Yano, H. (2014, September). Manufacture of Nanocomposites Based On Microfibrillated Cellulose and Polylactic Acid. In *2014 International Conference on Physics and its Applications (ICOPIA-14)* (p. 103). Atlantis Press.

Tingaut, P., Zimmermann, T., & Lopez-Suevos, F. (2010). Synthesis and characterization of bionanocomposites with tunable properties from poly (lactic acid) and acetylated microfibrillated cellulose. *Biomacromolecules*, 11(2), 454.

Tomé, L. C., Pinto, R. J., Trovatti, E., Freire, C. S., Silvestre, A. J., Neto, C. P., & Gandini, A. (2011). Transparent bionanocomposites with improved properties prepared from acetylated bacterial cellulose and poly (lactic acid) through a simple approach. *Green Chemistry*, 13(2), 419.

Zhang, Y., Duvigneau, J., Sui, X., & Vancso, G. J. (2021). Foaming of polylactic acid/cellulose nanocrystal composites: pickering emulsion templating for high-homogeneity filler dispersions. *ACS Applied Polymer Materials*, 4(1), 111.

Enlaces visitados

Sensient Industrial Colors: <https://www.sensientindustrial.com/na/color-college/how-to-choose-color/how-do-we-calculate-a-perceptible-difference> (visitado el 13 de mayo de 2024).

CAPÍTULO 6:
ESTUDIO DEL COMPORTAMIENTO
TÉRMICO, DE BARRERA Y DE
DESINTEGRACIÓN DE LAS PELÍCULAS
COMPUESTAS EXTRUIDAS

RESUMEN

En el capítulo 5 se analizaron las propiedades ópticas, la morfología, y las propiedades mecánicas de películas compuestas de PLA conteniendo dos tipos de nanocelulosas (bacteriana y vegetal) obtenidas mediante tres estrategias de incorporación distintas, y a través de dos técnicas de procesamiento diferentes (mezclado intensivo seguido de moldeo por compresión y extrusión plana).

En este capítulo, se presentan los resultados de la caracterización térmica, la permeabilidad al vapor de agua y al oxígeno, y la desintegración en condiciones de compostaje simuladas en laboratorio de las películas compuestas obtenidas mediante extrusión por ser éste el método con mayor potencial de escalado. Para estos ensayos se seleccionaron los materiales con concentraciones de nanocelulosa (tanto bacteriana como vegetal) de 1.5% y 5% (p/p).

6.1 Introducción

En los próximos años, la participación de los bioplásticos en el mercado global de los plásticos como alternativa a los polímeros convencionales dependerá fuertemente de su competitividad en términos de costo y desempeño. En este sentido el desarrollo de materiales compuestos que involucren cargas biobasadas y/o biodegradables y que mejoren sus propiedades resulta una alternativa muy atractiva que ha merecido especial atención en las últimas décadas.

En este contexto, más allá del efecto de la incorporación de las cargas sobre las propiedades mecánicas y ópticas de los compuestos, resulta de interés conocer su efecto sobre las propiedades de barrera a los gases y sobre la biodegradabilidad de los materiales en diferentes ambientes. Esto es particularmente importante en el caso de los materiales basados en PLA que ya se utilizan principalmente en envases y vajilla de un solo uso, donde la permeabilidad al vapor de agua y al oxígeno condiciona el estado de los productos envasados, al tiempo que su biodegradabilidad determina su permanencia en el ambiente al final de su vida útil.

Se sabe que en los materiales compuestos la incorporación de una carga o relleno puede inducir cambios en la cristalinidad del polímero de la matriz y en su comportamiento térmico. Estos efectos en general se evalúan a través de estudios calorimétricos que dan cuenta de cambios en las temperaturas y entalpías características. En términos generales, la incorporación de nanofibrillas de celulosa tiende a mejorar las propiedades térmicas de los compuestos, con aumentos en su cristalinidad. La incorporación de nanocelulosas puede aumentar los sitios de nucleación en los dominios amorfos dando como resultado el aumento de la cristalinidad general de los compuestos. No obstante, una dispersión pobre y la agregación de la nanocelulosa en la matriz, especialmente a elevadas concentraciones, suelen afectar estas propiedades (**Gan et al., 2020**).

Como se evidencia en la literatura de compuestos de PLA y diferentes nanocelulosas la cristalinidad de la matriz afecta las propiedades de barrera de los materiales (**Fortunati et al., 2010; Karkhanis et al., 2018; Rhim et al., 2006; Sánchez-García et al., 2008**). La estructura molecular cristalina reduce la permeabilidad al vapor de agua y al oxígeno, mientras que los polímeros amorfos tienden a ser más permeables debido a su estructura altamente desordenada. Estas propiedades se ven afectadas además por otros factores como la naturaleza química del polímero y del refuerzo (en particular su polaridad), su concentración, su grado de dispersión en la matriz, la adhesión entre las fases, etc. (**Gårdebjer et al., 2016**;

Liu et al., 2010; Sánchez-García et al., 2008). Además, la presencia del refuerzo, sobre todo de dimensiones nanométricas, puede contribuir con el aumento del camino tortuoso para el permeante que deberá rodearlo en su paso a través de la matriz, como se ilustra en la bibliografía específica de películas de PLA y nanocelulosas (**Gårdebjer et al., 2015; Liu et al., 2019**). La permeabilidad también depende de la forma y relación de aspecto de la carga utilizada. Yu et al. (2016), por ejemplo, desarrollaron compuestos de PLA reforzados con nanoesferas, nanocristales y nanofibras de celulosa, y hallaron reducciones variables en los valores de permeabilidad al vapor de agua de las películas compuestas respecto del PLA puro. Una dispersión más eficiente de las nanoesferas y los nanocristales condujo a mejores propiedades de barrera que las nanofibras de mayor longitud, que mostraron mayor tendencia a formar grandes agregados en la matriz polimérica durante el mezclado (**Yu et al., 2016**).

Por otra parte, en cuanto a la biodegradabilidad del PLA, se sabe que se trata de un material que se degrada en compostaje industrial (58°C) y en condiciones de digestión anaeróbica (52°C) (www.bio-based.eu/graphics). Entre los microorganismos que poseen la capacidad de degradar el PLA se han encontrado algunos actinomicetos y bacterias termofílicas de la especie *Bacillus licheniformis*, *Bacillus brevis*, *Bacillus stearothermophilus*, *Geobacillus thermocatenulatus*, *Nonomureae terrinata*, *Micromonospora viridifaciens*, *Micromonospora echinospora*, *Laceyella sacchari*, *Thermoactinomyces vulgaris* y *Nonomureae fastidiosa* (**Sukkhum et al., 2012**). Se sabe que los microorganismos solo pueden asimilar oligómeros o productos de bajo peso molecular liberados de la matriz de polímero como consecuencia de la hidrólisis abiótica previa del PLA. Aunque los fenómenos involucrados son complejos, se puede simplificar la interpretación de la biodegradabilidad del PLA considerando que los oligómeros generados por la hidrólisis difunden desde el interior de la muestra hacia la superficie, con una difusión que disminuye a medida que aumenta el grado de cristalinidad. En la superficie, estos oligómeros son degradados por microorganismos, cuya presencia y naturaleza también dependen de la disponibilidad de agua y oxígeno (**Gorrasi & Pantani, 2018**).

En general, más allá de los estudios específicos de biodegradación de películas compuestas de PLA y nanocelulosas donde se debe seguir la evolución de los gases generados o consumidos por los microorganismos, la mayoría de los trabajos evalúan desintegración (rotura física de un material en fragmentos muy pequeños) en condiciones de compostaje simulado en laboratorio tal cual se llevó a cabo en este trabajo de tesis. En la literatura se pueden encontrar numerosos estudios con diversos resultados en los que se evaluó la desintegración de compuestos de PLA y nanocelulosa en condiciones de compostaje simulado en laboratorio para obtener información sobre su comportamiento post-

uso. En algunos casos, la adición de nanocelulosa hidrofílica aceleró la desintegración del PLA, mientras que en otros se demostró que la incorporación de cargas en el PLA (nanocelulosa y otros aditivos tales como surfactantes, agentes antimicrobianos, plastificantes, etc.) ralentizó este proceso (**Luzi et al., 2015; Wietecha et al., 2023**).

En este capítulo se presentan los resultados de la evaluación de las propiedades de barrera al vapor de agua y al oxígeno, el comportamiento térmico y la evolución de la desintegración en condiciones de compostaje simuladas en laboratorio de las películas compuestas extruidas, seleccionadas en función de sus propiedades superadoras respecto de las películas moldeadas por compresión (propiedades ópticas y propiedades mecánicas en términos absolutos). En particular, a modo representativo del intervalo de composición ensayado, se eligieron para completar la caracterización las películas extruidas con 1.5% y 5% (p/p) de BNC y VNC. En todos los casos se discute el efecto de las diferentes estrategias de incorporación de las nanocelulosas en el PLA sobre las propiedades mencionadas.

6.2 Resultados y discusión

6.2.1 Comportamiento térmico

La caracterización mediante calorimetría diferencial de barrido de las películas de PLA y las películas compuestas es esencial para comprender su comportamiento térmico en la fusión y la cristalización. Normalmente, el PLA muestra una temperatura de transición vítrea (T_g) entre 55 y 60°C y una temperatura de fusión (T_m) de 150-180°C, lo que lo convierte en un polímero versátil para diversas aplicaciones (**Jamshidian et al., 2010**). La adición de cargas o plastificantes puede alterar estas propiedades mejorando su estabilidad térmica o procesabilidad, por lo que comprender el modo en que esto sucede es crucial para diseñar compuestos de PLA con las propiedades adecuadas para aplicaciones específicas como el envasado, dispositivos médicos y otros productos (**Fukushima et al., 2010**).

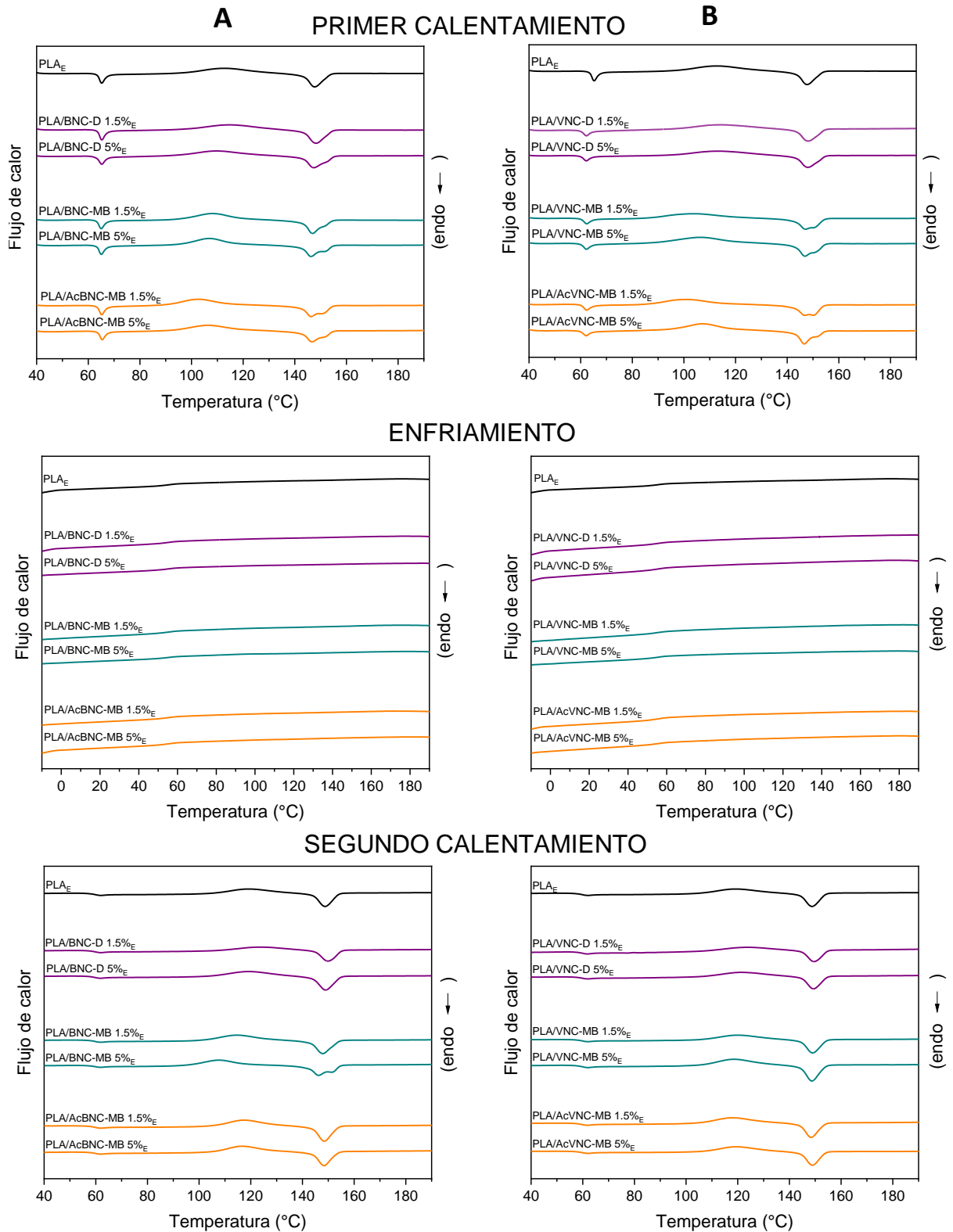


Figura 6.1. Termogramas correspondientes al primer calentamiento, enfriamiento y segundo calentamiento obtenidos por DSC para la película de PLA puro y (A) las películas compuestas PLA y nanocelulosa bacteriana y (B) PLA y nanocelulosa vegetal.

La **Figura 6.1** muestra las curvas correspondientes al primer calentamiento, enfriamiento y segundo calentamiento de la película de PLA puro y las películas compuestas extruidas con contenidos de nanocelulosa bacteriana (BNC, **Figura 6.1a**) y nanocelulosa vegetal (VNC, **Figura 6.1b**) de 1.5% y 5% (p/p), obtenidas a partir de las tres estrategias de incorporación empleadas. Por su parte, la **Tabla 6.1** lista los valores de las propiedades térmicas determinados a partir de dichas curvas.

Durante el primer calentamiento (**Figura 6.1**, fila superior) todas las películas exhiben un pico endotérmico en la región donde se conoce que ocurre la transición vítrea del PLA utilizado en esta tesis (55-60°C, según la hoja técnica del PLA 4043D de NatureWorks). Este pico sugiere que el material ha envejecido a una temperatura por debajo de la transición vítrea, por lo que se requiere una energía adicional para alcanzar dicha transición (**Santana et al., 2010**).

Además, en todas las curvas se evidencian picos exotérmicos que se atribuyen a la cristalización en frío del PLA. La presencia de estos picos se observa generalmente en materiales que fueron enfriados rápidamente desde el fundido, con tiempo insuficiente para agotar su capacidad de cristalización durante el enfriamiento luego del procesamiento. Es sabido que el PLA tiene una velocidad de cristalización muy lenta y, en consecuencia, se requieren velocidades de enfriamiento muy bajas para inducir su cristalización. En la película de PLA puro y en las películas compuestas obtenidas por la estrategia directa, dichos picos se ubican entre 90 y 125°C, con máximos (T_{cc}) entre 110 y 115°C (**Tabla 6.1**).

En las películas en las que las nanocelulosas nativas o acetiladas, tanto de origen bacteriano como vegetal, se introdujeron a través de la elaboración previa de *masterbatches*, la cristalización en frío comienza a menores temperaturas, desplazando los valores de T_{cc} hacia los 100-108°C. Esto sugiere que las nanocelulosas introducidas mediante esta estrategia actuaron como agentes de nucleación favoreciendo el proceso de cristalización del PLA. Este comportamiento que, en la mayoría de los casos, no se observó para las películas obtenidas con la estrategia directa, puede atribuirse a la mejor dispersión de la carga en la matriz, confirmada mediante el análisis de la morfología y las propiedades ópticas de las películas compuestas. Estos resultados coinciden con los reportados previamente por otros autores para sistemas similares (**Ambrosio-Martín et al., 2015; Lee et al., 2009; Mathew et al., 2005; Song et al., 2013; Yu et al., 2016**). Ambrosio-Martín et al. (2015), por ejemplo, desarrollaron compuestos de PLA y nanocristales de celulosa bacteriana por mezclado en fundido introduciendo la carga de dos formas distintas: liofilizada y parcialmente hidratada, encontrando que ambas cargas actuaron como agentes de nucleación reduciendo la temperatura de cristalización en frío del PLA. Sin embargo, los autores observaron que la

celulosa liofilizada conducía a una menor reducción de la Tcc en comparación con la celulosa parcialmente hidratada (reducción de 5°C y 17°C, respectivamente), lo que atribuyeron a una peor dispersión de la carga liofilizada en la matriz debido a una mayor agregación como resultado del secado (**Ambrosio-Martín et al., 2015**).

En las curvas del primer calentamiento también se observan picos endotérmicos correspondientes a la fusión del polímero. El PLA puro presenta un único pico endotérmico con una temperatura de fusión (T_m) de ~148°C, al igual que las películas compuestas obtenidas por el método directo con la menor concentración de BNC y VNC (1.5% (p/p)). En cambio, las curvas de la película directa con 5% (p/p) de BNC y de las películas compuestas obtenidas a partir de *masterbatches*, presentan dos picos de fusión: el primero de ellos alrededor de 147°C y el segundo próximo a 151°C. El comportamiento de doble pico de fusión ha sido previamente atribuido a la presencia de cristales pequeños e imperfectos que pueden evolucionar durante el calentamiento hacia cristales más estables a través de un mecanismo de fusión-recristalización (**Ambrosio-Martín et al., 2015; Fortunati et al., 2014**). En este trabajo de tesis, la presencia del doble pico de fusión se vio favorecida cuando las nanocelulosas se incorporaron mediante la estrategia del *masterbatch*, evidenciando una vez más los efectos derivados de una mejor dispersión de la carga.

La **Tabla 6.1** presenta también los valores de cristalinidad de la película de PLA y las diferentes películas compuestas desarrolladas. El porcentaje de cristalinidad determinado para la película de PLA (4±1%) se corresponde con los valores reportados en la literatura para la resina utilizada en esta tesis procesada por extrusión (**Butto et al., 2023, Luddee et al., 2014**). Se trata de un valor relativamente bajo relacionado con su porcentaje de isómero D relativamente alto (2-5% (p/p)) en comparación con otras resinas comerciales de PLA, lo que obstaculiza el proceso de cristalización (**Butto et al., 2023**). En todas las películas compuestas se observan aumentos en la fracción cristalina respecto de la película de PLA puro, indicando que la incorporación de las nanocelulosas favorece la nucleación y promueve el arreglo ordenado de las cadenas moleculares del polímero (**Fortunati et al., 2010**). Este efecto es, en general, más notorio en las películas con nanocelulosas de origen vegetal probablemente debido a la presencia de impurezas remanentes del proceso de obtención de la VNC que también podrían haber actuado como agentes de nucleación en el PLA (**dos Santos & Tavares, 2015; Myoung, Im & Kim, 2016**). Por otro lado, en las películas que contienen 5% (p/p) de nanocelulosa bacteriana obtenidas a partir de la estrategia del *masterbatch* se observan valores de cristalinidad mayores que los de las películas con BNC obtenidas en forma directa y similares a los registrados para las películas con nanocelulosa vegetal, producto de la mejor dispersión de la BNC alcanzada mediante esa estrategia. Resulta

evidente que las cargas mejor dispersas proporcionan un mayor número de puntos de nucleación para la cristalización del PLA. Sin embargo, en general, no se observa un efecto significativo de la acetilación sobre la cristalinidad de las películas, independientemente del tipo de nanocelulosa utilizado (BNC o VNC).

En las curvas de enfriamiento (**Figura 6.1**, fila central) solo se observa la transición vítrea, sin evidencia de eventos exotérmicos asociados a la cristalización del PLA. Esto sugiere que las condiciones de enfriamiento utilizadas (-10°C/min) inhibieron el proceso de cristalización independientemente de la estrategia de incorporación de las nanocelulosas o del tipo de nanocelulosa incorporado. El mismo comportamiento fue reportado previamente en la bibliografía para compuestos de PLA y nanocelulosas (**Quero et al., 2010**). La T_g del PLA empleado en esta tesis es de 59°C, mientras que la de los compuestos se encuentra en el rango de 59-63°C (**Tabla 6.1**). El hecho de que algunos compuestos presenten valores de T_g superiores a los del PLA sugiere que la presencia de las cargas retrasa la relajación del polímero debido a la restricción de su movilidad molecular. Resultados similares fueron reportados por Mathew *et al.* (2005), quienes observaron aumentos en la T_g respecto del PLA puro de 54.1°C a 56.6, 57.5 y 58.3°C a partir de la incorporación de celulosa microcristalina, fibras de celulosa con 2% de lignina y harina de madera, respectivamente (**Mathew et al., 2005**).

Por último, en las curvas correspondientes al segundo calentamiento (**Figura 6.1**, fila inferior) se observan los picos exotérmicos relacionados con la cristalización en frío del PLA. Las máximas temperaturas (T_{cc} en el rango 108-125°C) son superiores a las del primer calentamiento. Esto sugiere que las muestras luego de haber borrado su historial térmico requieren mayor energía para cristalizar, evidenciando el efecto favorable del procesamiento sobre la cristalización del material como consecuencia de la orientación molecular generada durante el conformado de las películas por extrusión plana. En concordancia con los resultados del primer calentamiento, en los compuestos obtenidos mediante la estrategia del *masterbatch* se observan menores valores de T_{cc} respecto de los compuestos directos y del PLA puro. En algunos casos este valor también se reduce con el aumento en el contenido de carga. Por otro lado, no se observa una tendencia clara en los valores de T_{cc} respecto de la modificación de las nanocelulosas independientemente del tipo de carga empleada (BNC o VNC). Por otra parte, la mayoría de las curvas correspondientes al segundo calentamiento exhiben un único pico de fusión, en contraste con el doble pico observado en la primera corrida de calentamiento y atribuido a la presencia de cristales pequeños e inestables que evolucionan a través de un proceso de fusión/recristalización. La ausencia del doble pico de fusión en las curvas del segundo calentamiento sugiere que dichos cristales fueron generados

durante el enfriamiento luego del procesamiento, promovidos por la orientación molecular impuesta en la extrusión plana. Por otro lado, las temperaturas de fusión obtenidas son comparables con las correspondientes al primer pico de fusión del primer calentamiento.

El compuesto PLA/BNC-MB 5%_E exhibe un comportamiento diferente al resto de los materiales en la segunda corrida de calentamiento (menor T_{cc} y doble pico de fusión), sugiriendo un efecto nucleante distintivo de la nanocelulosa bacteriana incorporada al 5% (p/p) a través de la elaboración previa del *masterbatch*. Lo anterior podría atribuirse a la existencia de un mayor número de puntos de nucleación como consecuencia de la dispersión adecuada del mayor contenido de nanocelulosa analizado. El hecho de que este efecto no se haya evidenciado en los compuestos con el mismo contenido de nanocelulosa, pero acetilada (PLA/AcBNC-MB 5%_E) podría asociarse a la restricción de la movilidad molecular inducida por una mayor compatibilidad entre el PLA y la AcBNC (Ávila Ramírez *et al.*, 2020). Se sabe que el PLA tiene la capacidad de recristalizar en presencia de una carga incompatible siempre que la misma no interfiera con la movilidad molecular del polímero (Cyras, D' Amico & Manfredi, 2018). Estos resultados no se observan para los compuestos con nanocelulosa vegetal.

6.2.2 Permeabilidad al vapor de agua

Los resultados de las mediciones de permeabilidad al vapor de agua de las películas de PLA puro y de las películas compuestas con 1.5 y 5% (p/p) de nanocelulosa bacteriana obtenidas en este trabajo se presentan en la **Figura 6.2a**, mientras que los valores correspondientes a las películas con nanocelulosas de origen vegetal se muestran en la **Figura 6.2b**.

El valor de la permeabilidad al vapor de agua de la película de PLA puro es de 2.5×10^{-14} Kg/msPa. En general, no se observan diferencias notables en esta propiedad tras la introducción de las nanocelulosas independientemente de la estrategia de incorporación utilizada, excepto en el caso de la película PLA/BNC-D 5%_E que presenta un valor de permeabilidad muy superior al resto de los materiales. En este material (que combina la mayor cantidad de nanocelulosa con un elevado nivel de hornificación) existen numerosos agregados de varios cientos de micrones producto del secado directo de la BNC. Dichos agregados están rodeados por cavidades como consecuencia de la incompatibilidad entre las fases y esto induce el crecimiento plástico de huecos durante la fabricación de las películas

(inserto en la **Figura 6.2a**). Así, la presencia de huecos favorece el pasaje del vapor de agua justificando el valor especialmente elevado de la permeabilidad observado para este sistema.

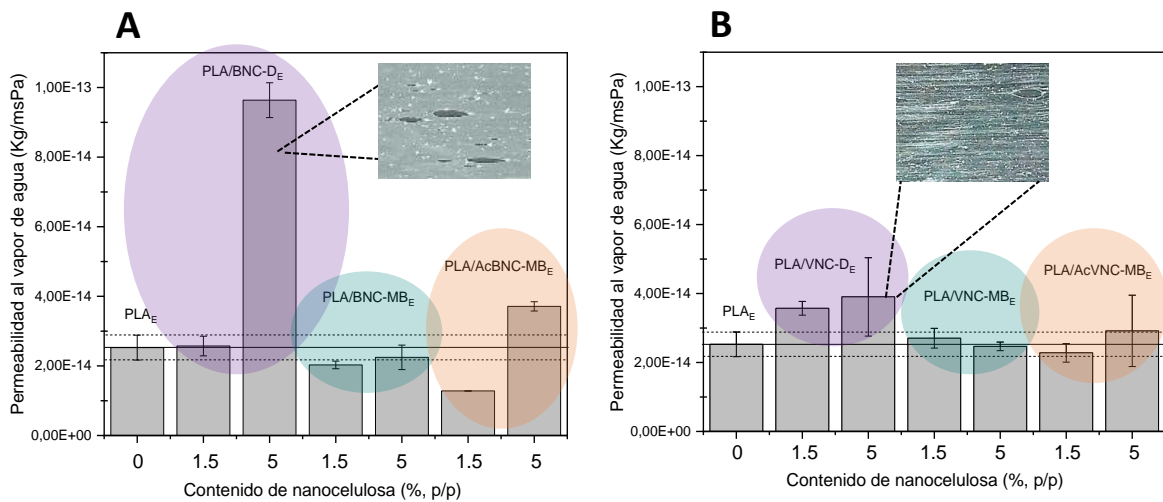


Figura 6.2. Permeabilidad al vapor de agua de la película de PLA y las películas compuestas de PLA y (A) nanocelulosa bacteriana y (B) nanocelulosa vegetal.

En las películas con nanocelulosa vegetal (**Figura 6.2b**) tampoco se observan mejoras notorias tras la introducción de las nanofibras de VNC respecto de la matriz de PLA. Por el contrario, y análogamente a lo observado en sus equivalentes con BNC, las películas con VNC obtenidas por la estrategia directa también se destacan por su mayor permeabilidad al vapor de agua como resultado de los huecos generados a la salida de la extrusora inducidos por la presencia de agregados de gran tamaño (inserto en **Figura 6.2b**).

Es conocido que en los materiales compuestos la presencia de una carga bien dispersa puede contribuir con el aumento del camino tortuoso que dificulte el paso de las moléculas de agua a través del material, que deberán rodearla en su paso a través de la matriz (**Gårdebjær et al., 2015**). Si bien en las películas compuestas obtenidas a partir de la estrategia del *masterbatch* se evidencia una dispersión de la carga en la matriz superior a la de las películas directas, especialmente en las películas con BNC, los resultados de la **Figura 6.2** indican que no existe una barrera adicional al vapor de agua respecto de la película de PLA puro.

Muchos autores han observado que la adición de nanofibrillas de celulosa en el PLA no mejora la permeabilidad al vapor de agua del material, incluso cuando éstas están bien dispersas en la matriz polimérica, debido a su naturaleza hidrofílica. En tales contribuciones

el efecto se explicó en términos de que las nanofibrillas de celulosa tienden a formar redes densas de enlaces de hidrógeno, lo que incrementa la sensibilidad a la humedad y, en consecuencia, aumenta la permeabilidad al vapor de agua en ambientes húmedos (**Abdulkhani et al., 2014; Almasi et al., 2015; Espino-Pérez et al., 2013; Gårdebjer et al., 2015; Song et al., 2013**). Para mitigar este efecto varios autores llevaron a cabo la acetilación del material nanocelulósico, logrando con éxito la reducción de la permeabilidad al vapor de agua de las películas obtenidas (**Ávila Ramírez et al., 2020; Trifol et al., 2020**). En este trabajo de tesis, sin embargo, la acetilación de las nanocelulosas no indujo diferencias notorias en la permeabilidad al vapor de agua de las películas compuestas con AcBNC y AcVNC, lo que podría relacionarse con un grado de sustitución insuficiente para mejorar en forma significativa la adhesión interfacial. Abdulkhani *et al.* (2014) obtuvieron resultados similares para compuestos de PLA con diversas concentraciones de nanofibras de celulosa acetiladas preparados por evaporación de solvente. Los autores observaron que la incorporación de bajas concentraciones de refuerzo no cambiaba los valores de permeabilidad al vapor de agua del PLA (1.87×10^{-14} Kg/msPa) (**Abdulkhani et al., 2014**).

Por otro lado, como se señaló antes, la incorporación de una carga a un material polimérico puede inducir cambios en la cristalinidad de la matriz alterando a su vez sus propiedades de barrera (**Rhim et al., 2006; Sánchez-García et al., 2008**). La estructura molecular cristalina reduce la permeabilidad al vapor de agua y al oxígeno, mientras que los polímeros amorfos tienden a ser más permeables debido a su estructura desordenada (**Gårdebjer et al., 2016; Liu et al., 2010; Sánchez-García et al., 2008**). Si bien en todos los compuestos obtenidos en este trabajo de tesis las nanocelulosas actuaron como agentes de nucleación y condujeron a aumentos en la cristalinidad de las películas (**Tabla 6.1**), esto no se tradujo en mejores propiedades de barrera al vapor de agua. Gårdebjer *et al.* (2016) observaron que la introducción de celulosa microcristalina en compuestos de PLA obtenidos por extrusión permitía aumentar la cristalinidad del polímero hasta un 8%, sin embargo, la permeabilidad al vapor de agua aumentaba. Los autores relacionaron estos resultados con la incompatibilidad entre las fases, y con la fuerte tendencia de la celulosa a agregarse en matrices hidrofóbicas. Además, observaron la presencia de huecos en la matriz a través de los cuales las moléculas de agua podían pasar con facilidad (**Gårdebjer et al., 2016**).

6.2.3 Permeabilidad al oxígeno

En las películas basadas en PLA, de gran relevancia en lo que respecta a su empleo como envases de alimentos, la permeabilidad al oxígeno condiciona su capacidad para prevenir la oxidación y el deterioro de los productos envasados. En los compuestos PLA/nanocelulosas, la barrera al oxígeno puede variar de acuerdo con distintos factores tales como la estructura interna y la cristalinidad del polímero matriz, su peso molecular, la tortuosidad del camino establecido por el refuerzo y las técnicas de procesamiento empleadas. Además, el transporte a través de la película está influenciado por la forma y la relación de aspecto de la carga, así como por otros factores como la dispersión, la adhesión a la matriz, la retención de solventes inducida por el relleno y la porosidad (**Gårdebjær et al., 2015; Liu et al., 2010**).

En este trabajo de tesis, inicialmente se realizaron ensayos preliminares con las películas extruidas de PLA con 1.5 y 5% (p/p) de nanocelulosa bacteriana y vegetal, obtenidas mediante las tres estrategias de incorporación empleadas. Las pruebas realizadas en los materiales con un 5% (p/p) de carga mostraron dificultades para alcanzar la estabilidad, posiblemente como consecuencia de la creación de caminos preferenciales que favorecieron el pasaje de oxígeno. Por este motivo en la **Figura 6.3** se presentan únicamente los resultados correspondientes a las películas con 1.5% (p/p) de ambas nanocelulosas.

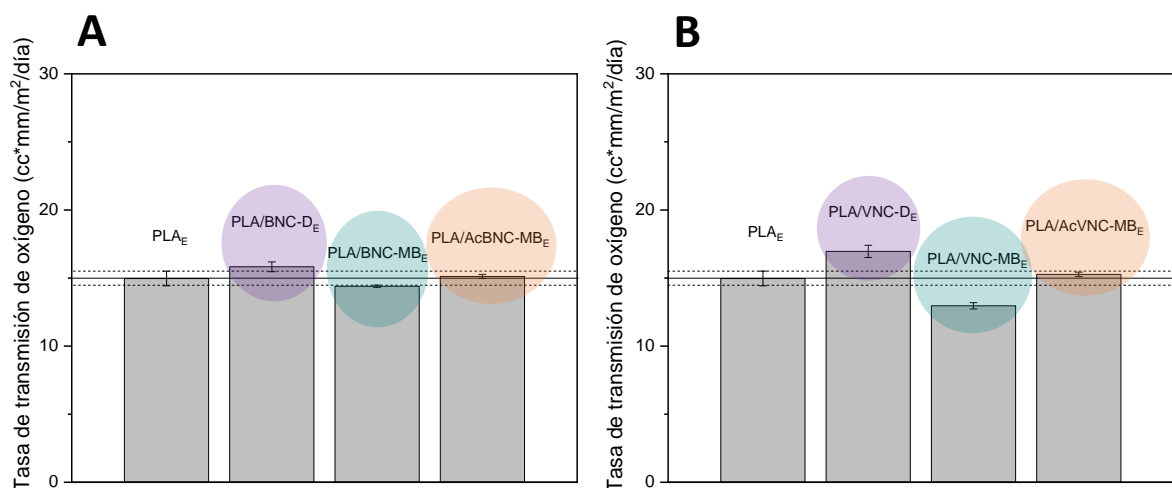


Figura 6.3. Tasa de transmisión de oxígeno de la película de PLA puro y las películas compuestas de PLA y (A) nanocelulosa bacteriana y (B) nanocelulosa vegetal al 1.5% (p/p).

Los valores de OTR obtenidos estuvieron en el rango de 13 a 17 cc*mm/m²/día (**Figura 6.3**). Estos valores, si bien superan ampliamente los valores propios de materiales que se distinguen por su elevada barrera al oxígeno (como por ejemplo EVOH y polietileno tereftalato metalizado, ambos con OTR entre 0.1 y 0.2 cc*mm/m²/día), son muy inferiores a los de otros polímeros usualmente empleados en la industria del *packaging* como polietileno de alta densidad (OTR = 2300-3100 cc*mm/m²/día), polietileno de baja densidad (OTR = 7000-8500 cc*mm/m²/día), poliestireno orientado (OTR = 4350-6200 cc*mm/m²/día), y tereftalato de polietileno (OTR = 70 cc*mm/m²/día) según los valores reportados en la literatura (norma *ASTM F 2622-cc08 "Standard Test Method for Oxygen Gas Transmission Rate Through Plastic Film and Sheeting Using Various Sensors"*; <https://www.polyprint.com/understanding-film-properties/flexographic-otr/>).

En cuanto al efecto de la incorporación de las nanocelulosas mediante las distintas estrategias no se observan grandes diferencias entre los valores de OTR de las diversas películas desarrolladas. Sin embargo, estrictamente el análisis estadístico de los resultados sugiere que las películas obtenidas por la estrategia directa son significativamente más permeables al oxígeno que el PLA, mientras que las películas preparadas a partir del *masterbatch* con BNC y VNC nativas presentarían una leve reducción en la tasa de transmisión al oxígeno respecto del PLA, lo que podría asociarse a la mejor dispersión de la carga en la matriz alcanzada mediante esa estrategia de incorporación. En este caso tampoco se observó un efecto positivo de la acetilación que pudiera asociarse con una mejor adhesión interfacial. Otros autores que desarrollaron compuestos basados en PLA y distintas nanocelulosas nativas o modificadas relacionaron los cambios observados en la OTR con la adhesión interfacial y la dispersión de las cargas (**Espino-Pérez et al., 2013; Jung et al., 2020; Petersson et al., 2007**).

6.2.4 Desintegración bajo condiciones de compostaje simuladas en laboratorio

A fin de evaluar cualitativamente el progreso de la desintegración de las películas se llevó a cabo el registro fotográfico de las muestras extraídas a distintos tiempos (**Figuras 6.4 y 6.5**). En todas las fotografías tomadas a partir del tercer día de haber sido enterradas las muestras se observan cambios notables en las películas, mostrando superficies deformadas y una tonalidad blanquecina. Estos cambios en la apariencia del PLA se han interpretado comúnmente en la literatura como signos de degradación hidrolítica, asociándolos con variaciones en el índice de refracción del material debido a la absorción de agua y/o la

formación de productos de degradación de bajo peso molecular (**Fukushima *et al.*, 2010**). Se sabe que la hidrólisis es el principal mecanismo de degradación del PLA (**Farah *et al.*, 2016**; **Gorrasi *et al.*, 2018**).

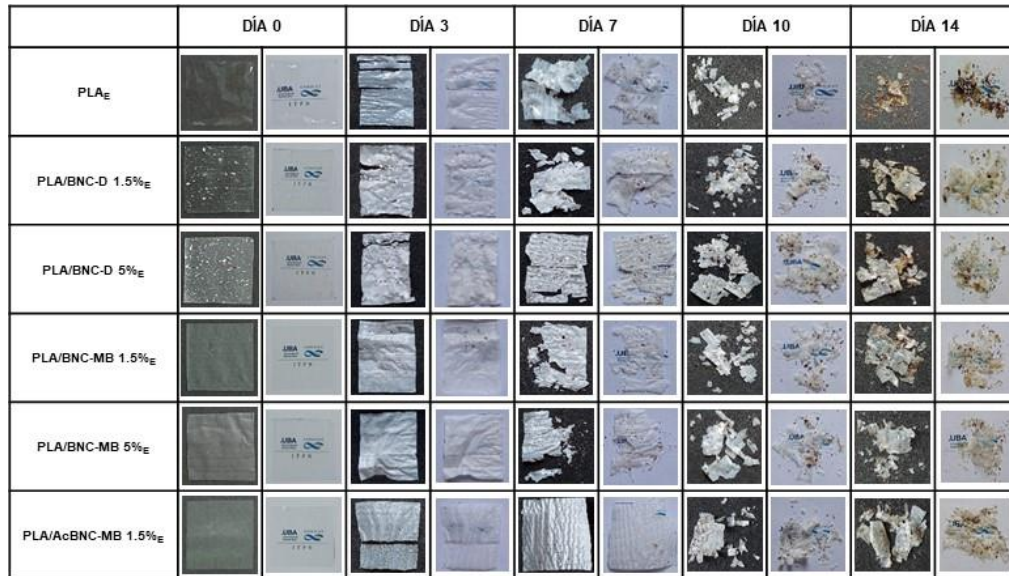


Figura 6.4. Desintegración en condiciones de compostaje simuladas en laboratorio de la película de PLA puro y las películas compuestas de PLA y nanocelulosa bacteriana. No se incluyen las imágenes correspondientes a la película PLA/AcBNC-MB 5%_E debido a dificultades experimentales con esa muestra.

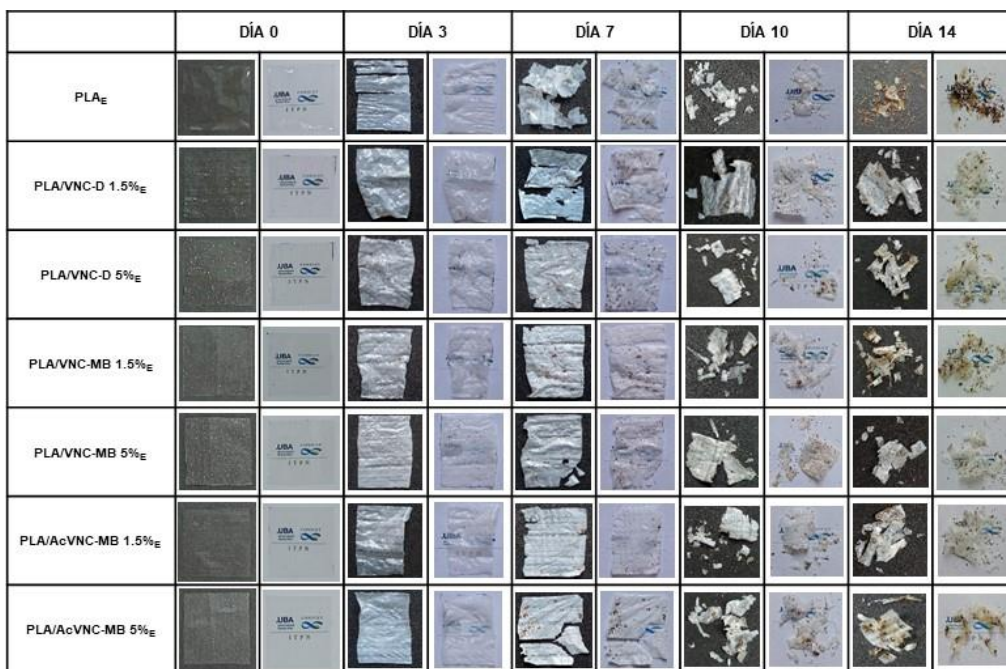


Figura 6.5. Desintegración en condiciones de compostaje simuladas en laboratorio de la película de PLA puro y las películas compuestas de PLA y nanocelulosa vegetal.

A partir del séptimo día, se observaron fracturas visibles en todas las películas, que continuaron fragmentándose durante los días subsiguientes. A los 17 días las películas se desintegraron prácticamente por completo, no pudiéndose recuperar material residual (por esta razón no hay registro fotográfico para ese tiempo en las **Figuras 6.4 y 6.5**). La **Figura 6.6** corresponde a las curvas de desintegración en función del tiempo para la película de PLA puro y las películas compuestas de PLA y nanocelulosas. Para obtener estas curvas, cada réplica fue lavada y pesada cuidadosamente. Sin embargo, este procedimiento presentó algunas dificultades experimentales, ya que el material quedaba parcialmente adherido a la malla de plástico utilizada como contención, dificultando su recuperación.

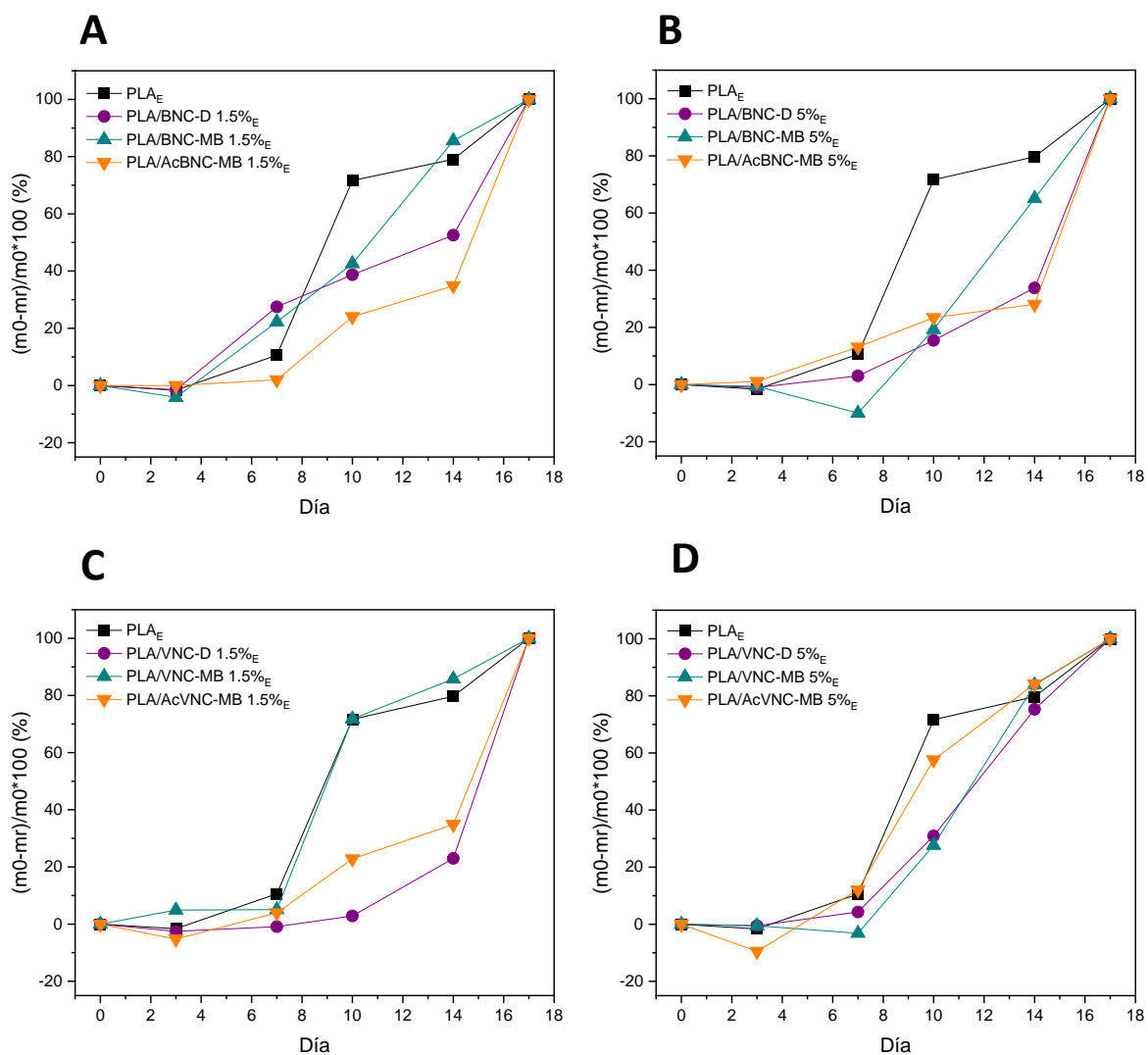


Figura 6.6. Desintegración en condiciones de compostaje simuladas en laboratorio en función del tiempo de la película de PLA puro y las películas compuestas con (A) 1.5% y (B) 5% (p/p) de nanocelulosa bacteriana y (C) 1.5% y (D) 5% (p/p) de nanocelulosa vegetal.

Globalmente, a partir de la **Figura 6.6** se puede confirmar que, en la mayoría de los casos, si bien la velocidad de desintegración de las películas compuestas resultó inferior a la de la película de PLA puro (sobre todo en la segunda mitad del ensayo), a los 17 días no quedó material retenido en la malla con dimensiones superiores a 2 mm x 2 mm en ninguno de los casos.

6.3 Conclusiones del Capítulo 6

En el presente capítulo se estudió el comportamiento térmico, de barrera y de desintegración de las películas extruidas seleccionadas. El análisis por calorimetría diferencial de barrido evidenció que la incorporación de 1.5% y 5% (p/p) de nanofibrillas de celulosa de origen bacteriano y vegetal indujo aumentos en la cristalinidad del PLA en todas las películas. Adicionalmente, los resultados sugieren que en las películas con nanocelulosa de origen vegetal, la presencia de silicatos remanentes del proceso de purificación de la nanocelulosa también habría contribuido a la nucleación del polímero. Por otro lado, el análisis general de los resultados del comportamiento térmico indicó que la estrategia de elaboración previa de un *masterbatch* por evaporación de solvente favoreció la cristalización del PLA, lo que se atribuyó a una mejor dispersión de la carga en la matriz respecto de la mezcla directa del PLA con las nanocelulosas secas y molidas.

En cuanto a las propiedades de barrera de las películas, en general, la incorporación de las nanofibrillas de celulosa no redundó en mejoras sustanciales respecto de las propiedades de la matriz. Sin embargo, los resultados obtenidos ilustraron una vez más el efecto de la dispersión de la carga, con propiedades de barrera especialmente empobrecidas cuando se utilizó la estrategia de incorporación directa caracterizada por la presencia de agregados de gran tamaño rodeados de cavidades derivadas de la mala adhesión entre las fases.

Con respecto a la desintegración de los materiales en condiciones de compostaje simulado en laboratorio, si bien en algunos intervalos de tiempo la incorporación de las cargas retrasó la evolución del proceso, a los 17 días de ensayo todos los materiales se habían reducido a partículas que no quedaron retenidas en la malla de 2 mm x 2 mm.

Respecto de los efectos de la acetilación, los resultados de este capítulo indican una vez más que, para los métodos de procesamiento en fundido utilizados en esta tesis, el nivel de modificación conferido a las nanocelulosas no habría sido suficiente para promover la

adhesión interfacial necesaria para mejorar las propiedades finales de las películas respecto de aquellas obtenidas con las nanocelulosas nativas.

6.4 Bibliografía

Abdulkhani, A., Hosseinzadeh, J., Ashori, A., Dadashi, S., & Takzare, Z. (2014). Preparation and characterization of modified cellulose nanofibers reinforced polylactic acid nanocomposite. *Polymer Testing*, 35, 73.

Ambrosio-Martín, J., Fabra, M. J., Lopez-Rubio, A., & Lagaron, J. M. (2015). Melt polycondensation to improve the dispersion of bacterial cellulose into polylactide via melt compounding: enhanced barrier and mechanical properties. *Cellulose*, 22, 1201.

Almasi, H., Ghanbarzadeh, B., Dehghannya, J., Entezami, A. A., & Asl, A. K. (2015). Novel nanocomposites based on fatty acid modified cellulose nanofibers/poly (lactic acid): Morphological and physical properties. *Food Packaging and Shelf Life*, 5, 21.

Ambrosio-Martín, J., Fabra, M. J., Lopez-Rubio, A., & Lagaron, J. M. (2015). Melt polycondensation to improve the dispersion of bacterial cellulose into polylactide via melt compounding: enhanced barrier and mechanical properties. *Cellulose*, 22, 1201.

Ávila Ramírez, J. A., Bovi, J., Bernal, C., Errea, M. I., & Foresti, M. L. (2020). Development of poly (lactic acid) nanocomposites reinforced with hydrophobized bacterial cellulose. *Journal of Polymers and the Environment*, 28, 61.

Butto, M., MasPOCH, M. L., & Bernal, C. (2023). Effect of post-drawing thermal treatment on the mechanical behavior of solid-state drawn poly (lactic acid)(PLA) filaments. *Textiles*, 3(3), 339.

Carvalho, R. A., Santos, T. A., de Azevedo, V. M., Felix, P. H. C., Dias, M. V., & Borges, S. V. (2018). Bio-nanocomposites for food packaging applications: Effect of cellulose nanofibers on morphological, mechanical, optical and barrier properties. *Polymer International*, 67(4), 386.

Cyras, V. P., D'amico, D. A., & Manfredi, L. B. (2018). Crystallization behavior of polymer nanocomposites. En *Crystallization in Multiphase Polymer Systems* (p. 269). Elsevier.

dos Santos, F. A., & Tavares, M. I. B. (2015). Development of biopolymer/cellulose/silica nanostructured hybrid materials and their characterization by NMR relaxometry. *Polymer Testing*, 47, 92.

Espino-Pérez, E., Bras, J., Ducruet, V., Guinault, A., Dufresne, A., & Domenek, S. (2013). Influence of chemical surface modification of cellulose nanowhiskers on thermal, mechanical, and barrier properties of poly (lactide) based bionanocomposites. *European Polymer Journal*, 49(10), 3144.

Farah, S., Anderson, D. G., & Langer, R. (2016). Physical and mechanical properties of PLA, and their functions in widespread applications—A comprehensive review. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 107, 367.

Fazeli, M., & Simão, R. A. (2018). The effect of cellulose nanofibers on the properties of starch biopolymer. En *Macromolecular Symposia* (Vol. 380, No. 1, p. 1800110).

Follain, N., Belbekhouche, S., Bras, J., Siqueira, G., Chappey, C., Marais, S., & Dufresne, A. (2018). Tunable gas barrier properties of filled-PCL film by forming percolating cellulose network. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 545, 26.

Fortunati, E., Armentano, I., Iannoni, A., & Kenny, J. M. (2010). Development and thermal behaviour of ternary PLA matrix composites. *Polymer Degradation and Stability*, 95(11), 2200.

Fortunati, E., Armentano, I., Zhou, Q., Iannoni, A., Saino, E., Visai, L., & Kenny, J. M. (2012). Multifunctional bionanocomposite films of poly (lactic acid), cellulose nanocrystals and silver nanoparticles. *Carbohydrate Polymers*, 87(2), 1596.

Fortunati, E., Rinaldi, S., Peltzer, M., Bloise, N., Visai, L., Armentano, I., & Kenny, J. M. (2014). Nano-biocomposite films with modified cellulose nanocrystals and synthesized silver nanoparticles. *Carbohydrate Polymers*, 101, 1122.

Fukushima, K., Tabuani, D., Abbate, C., Arena, M., & Ferreri, L. (2010). Effect of sepiolite on the biodegradation of poly (lactic acid) and polycaprolactone. *Polymer Degradation and Stability*, 95(10), 2049.

Gan, P. G., Sam, S. T., Abdullah, M. F. B., & Omar, M. F. (2020). Thermal properties of nanocellulose-reinforced composites: A review. *Journal of Applied Polymer Science*, 137(11), 48544.

Gårdebjer, S. (2016). *Mass transport through polymer films: the importance of interfaces and compatibility*. Chalmers Tekniska Hogskola.

Gårdebjer, S., Larsson, A., Löfgren, C., & Ström, A. (2015). Controlling water permeability of composite films of polylactide acid, cellulose, and xyloglucan. *Journal of Applied Polymer Science*, 132(1), 1.

Gorrasi, G., & Pantani, R. (2018). Hydrolysis and Biodegradation of Poly (lactic acid). *Synthesis, Structure and Properties of Poly (lactic acid)*, 119.

Jamshidian, M., Tehrany, E. A., Imran, M., Jacquot, M., & Desobry, S. (2010). Poly-lactic acid: production, applications, nanocomposites, and release studies. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 9(5), 552.

Jeremić, S., Milovanović, J., Mojicević, M., Škaro Bogojević, S., & Nikodinović-Runić, J. (2020). Understanding bioplastic materials-current state and trends. *Journal of the Serbian Chemical Society*, 85(12), 1507.

Jung, B. N., Jung, H. W., Kang, D. H., Kim, G. H., Lee, M., Shim, J. K., & Hwang, S. W. (2020). The fabrication of flexible and oxygen barrier cellulose nanofiber/polylactic acid nanocomposites using cosolvent system. *Journal of Applied Polymer Science*, 137(47), 49536.

Karkhanis, S. S., Stark, N. M., Sabo, R. C., & Matuana, L. M. (2018). Performance of poly (lactic acid)/cellulose nanocrystal composite blown films processed by two different compounding approaches. *Polymer Engineering & Science*, 58(11), 1965.

Lavoine, N., Desloges, I., Dufresne, A., & Bras, J. (2012). Microfibrillated cellulose—Its barrier properties and applications in cellulosic materials: A review. *Carbohydrate Polymers*, 90(2), 735.

Lee, K. Y., Blaker, J. J., Bismarck, A., & Campus, S. K. (2009). Improving the properties of nanocellulose/polylactide composites by esterification of nanocellulose. Can it be done? In *ICCM International Conferences on Composite Materials* (p. 27).

Liu, D. Y., Yuan, X. W., Bhattacharyya, D., & Easteal, A. J. (2010). Characterisation of solution cast cellulose nanofibre—reinforced poly (lactic acid). *Express Polymer Letters*, 4(1), 26.

Liu, Y., & Matuana, L. M. (2019). Surface texture and barrier performance of poly (lactic acid)–cellulose nanocrystal extruded-cast films. *Journal of Applied Polymer Science*, 136(22), 47594.

Long, L. Y., Weng, Y. X., & Wang, Y. Z. (2018). Cellulose aerogels: Synthesis, applications, and prospects. *Polymers*, 10(6), 623.

Luddee, M., Pivsa-Art, S., Sirisansaneeyakul, S., & Pechyen, C. (2014). Particle size of ground bacterial cellulose affecting mechanical, thermal, and moisture barrier properties of PLA/BC biocomposites. *Energy Procedia*, 56, 211.

Luzi, F., Fortunati, E., Puglia, D., Petrucci, R., Kenny, J. M., & Torre, L. (2015). Study of disintegrability in compost and enzymatic degradation of PLA and PLA nanocomposites reinforced with cellulose nanocrystals extracted from *Posidonia Oceanica*. *Polymer Degradation and Stability*, 121, 105.

Mathew, A. P., Oksman, K., & Sain, M. (2005). Mechanical properties of biodegradable composites from poly lactic acid (PLA) and microcrystalline cellulose (MCC). *Journal of Applied Polymer Science*, 97(5), 2014.

Myoung, S. H., Im, S. S., & Kim, S. H. (2016). Non-isothermal crystallization behavior of PLA/acetylated cellulose nanocrystal/silica nanocomposites. *Polymer International*, 65(1), 115.

Petersson, L., Kvien, I., & Oksman, K. (2007). Structure and thermal properties of poly (lactic acid)/cellulose whiskers nanocomposite materials. *Composites Science and Technology*, 67(11-12), 2535.

Quero, F., Nogi, M., Yano, H., Abdulsalami, K., Holmes, S. M., Sakakini, B. H., & Eichhorn, S. J. (2010). Optimization of the mechanical performance of bacterial cellulose/poly (L-lactic) acid composites. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 2(1), 321.

Rafieian, F., & Simonsen, J. (2014). Fabrication and characterization of carboxylated cellulose nanocrystals reinforced glutenin nanocomposite. *Cellulose*, 21, 4167.

Ramos, M., Fortunati, E., Peltzer, M., Jimenez, A., Kenny, J. M., & Garrigós, M. C. (2016). Characterization and disintegrability under composting conditions of PLA-based

nanocomposite films with thymol and silver nanoparticles. *Polymer Degradation and Stability*, 132, 2.

Rhim, J. W., Mohanty, A. K., Singh, S. P., & Ng, P. K. (2006). Effect of the processing methods on the performance of polylactide films: Thermocompression versus solvent casting. *Journal of Applied Polymer Science*, 101(6), 3736.

Rigotti, D., Checchetto, R., Tarter, S., Caretti, D., Rizzuto, M., Fambri, L., & Pegoretti, A. (2019). Polylactic acid-lauryl functionalized nanocellulose nanocomposites: Microstructural, thermo-mechanical and gas transport properties. *Express Polymer Letters*, 13(10), 858.

Sánchez-García, M. D., Gimenez, E., & Lagaron, J. M. (2008). Morphology and barrier properties of solvent cast composites of thermoplastic biopolymers and purified cellulose fibers. *Carbohydrate Polymers*, 71(2), 235.

Santana, O. O., Rodríguez, C., Belzunce, J., Gámez-Pérez, J., Carrasco, F., & Maspoch, M. L. (2010). Fracture behaviour of de-aged poly (lactic acid) assessed by essential work of fracture and J-Integral methods. *Polymer Testing*, 29(8), 984.

Shogren, R. (1997). Water vapor permeability of biodegradable polymers. *Journal of Environmental Polymer Degradation*, 5, 91.

Sirviö, J. A., Kolehmainen, A., Liimatainen, H., Niinimäki, J., & Hormi, O. E. (2014). Biocomposite cellulose-alginate films: Promising packaging materials. *Food Chemistry*, 151, 343.

Song, Y., Tashiro, K., Xu, D., Liu, J., & Bin, Y. (2013). Crystallization behavior of poly (lactic acid)/microfibrillated cellulose composite. *Polymer*, 54(13), 3417.

Sukkhum, S., Tokuyama, S., & Kitpreechavanich, V. (2012). Poly (L-lactide)-degrading enzyme production by *Actinomadura keratinilytica* T16-1 in 3 L airlift bioreactor and its degradation ability for biological recycle. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 22(1), 92.

Trifol, J., Plackett, D., Szabo, P., Daugaard, A. E., & Giacinti Baschetti, M. (2020). Effect of crystallinity on water vapor sorption, diffusion, and permeation of PLA-based nanocomposites. *ACS Omega*, 5(25), 15362.

Wietecha, J., Kazimierczak, J., & Jeziorna, A. (2023). Effect of the Surface modification of Cellulose nanofibers on the Mechanical Properties and Disintegrability of Specific PLA/Cellulose Composites. *Fibres & Textiles in Eastern Europe*, 31(6), 15.

Yu, H. Y., Yang, X. Y., Lu, F. F., Chen, G. Y., & Yao, J. M. (2016). Fabrication of multifunctional cellulose nanocrystals/poly (lactic acid) nanocomposites with silver nanoparticles by spraying method. *Carbohydrate Polymers*, 140, 209.

Hojas técnicas

NatureWorks IngeoTM Biopolymer 4043D Technical Data Sheet: 3D Printing Monofilament—General Purpose Grade: https://www.natureworkslc.com/~media/Files/NatureWorks/Technical-Documents/Technical-Data-Sheets/TechnicalDataSheet_4043D_3D-monofilament_pdf.pdf?la=en (visitado el 23 de mayo de 2024).

Enlaces visitados

Impact Consumer Products Group: <https://blog.icpg.co/understanding-otr-mvtr-specifications-for-barrier-food-packaging> (visitado el 17 de mayo de 2024).

Poly Print: <https://www.polyprint.com/understanding-film-properties/flexographic-otr/> (visitado el 20 de mayo de 2024).

Renewable Carbon: www.bio-based.eu/graphics (visitado el 14 de marzo de 2024).

CAPÍTULO 7:

CONCLUSIONES GENERALES

En la presente tesis se aislaron nanocelulosas bacterianas y vegetales a partir de dos descartes/subproductos de la agroindustrial nacional: la película flotante residual de la producción del té de Kombucha, y cáscara de arroz. La recuperación de nanocintas de nanocelulosa bacteriana (BNC) a partir del subproducto de la Kombucha resultó una alternativa atractiva de valorización que permitió obtener un material similar al producido con una cepa única de *Komagataeibacter xylinus* pero bajo condiciones mucho menos estrictas de cultivo. En el caso de la nanocelulosa vegetal (VNC), los tratamientos químicos y mecánicos de la cáscara de arroz fueron adecuados para obtener nanofibrillas de celulosa de longitudes variables. Si bien luego del proceso de purificación se identificó en la VNC la presencia de silicatos remanentes de la cáscara, no se modificó el protocolo de purificación debido a la reportada utilidad de estos compuestos para mejorar las propiedades térmicas y mecánicas de las películas de PLA.

Las nanocelulosas obtenidas fueron acetiladas usando protocolos sencillos y escalables sin cosolventes agregados. La caracterización de los productos confirmó la modificación química, revelando además que las nanofibrillas no experimentaron cambios significativos ni en su morfología ni en su cristalinidad. Los estudios de dispersión en distintos solventes mostraron que la acetilación permitió reducir la polaridad de la superficie de las nanofibrillas.

Las nanocelulosas nativas y acetiladas se utilizaron para la preparación de películas compuestas de matriz de PLA por mezclado intensivo seguido de moldeo por compresión, y por extrusión plana. Se implementaron tres estrategias distintas de incorporación de las nanocelulosas en el PLA. La caracterización morfológica, óptica y mecánica de las películas reveló que, independientemente del origen de la nanocelulosa y del método de procesamiento implementado, la preparación de *masterbatches* mediante evaporación de solvente resultó efectiva para mejorar sustancialmente la dispersión de las nanocelulosas en el PLA respecto de la mezcla directa del polímero con las nanocelulosas secas y molidas. Usando dicha estrategia se indujeron mejoras claras en la homogeneidad de las películas, en sus propiedades ópticas y, en algunos casos, también en sus propiedades mecánicas. Adicionalmente, la acetilación de las nanocelulosas redujo la opacidad de las películas, fenómeno al que habría contribuido un mejor “matcheo” de los índices de refracción de la matriz y las nanocelulosas. Sin embargo, la modificación superficial de las cargas no promovió mejoras significativas en el comportamiento mecánico de las películas.

En base a sus propiedades ópticas y mecánicas, las películas extruidas fueron las elegidas para extender los ensayos de caracterización, evaluándose su comportamiento de cristalización y fusión, las propiedades de barrera a al vapor de agua y a los gases, y la desintegración en condiciones de compostaje simulado. En particular se ensayaron las

películas con 1.5% y 5% (p/p) de todas las nanocelulosas. La incorporación de las nanofibrillas en el PLA indujo aumentos en la cristalinidad en todas las películas, al tiempo que en aquellas con nanocelulosa vegetal, los silicatos residuales de la cáscara de arroz también habrían favorecido la nucleación del polímero. En general el análisis del comportamiento térmico indicó que la mejor dispersión de la carga derivada de la estrategia del *masterbatch* promovió la cristalización del PLA. Con respecto a la permeabilidad al vapor de agua y al oxígeno de las películas, la incorporación de las nanofibrillas de celulosa no mejoró sustancialmente las propiedades de barrera respecto de las de la matriz; aunque sí se evidenció un efecto importante de la estrategia de incorporación de la carga. En cuanto a la desintegración de los materiales en condiciones de compostaje simulado, si bien la incorporación de las nanofibrillas alteró en cierta medida la evolución en el tiempo del proceso, a los 17 días de ensayo en ningún caso se pudo recuperar material residual. Finalmente, en lo que respecta a los efectos de la acetilación sobre la desintegración y las propiedades térmicas y de barrera de las películas extruidas, los resultados no evidenciaron mejoras sustanciales derivadas de la modificación química de la carga.

Globalmente, los resultados obtenidos en esta tesis indican que la preparación de *masterbatches* mediante evaporación de solvente seguida de procesamiento en fundido es una estrategia prometedora para desarrollar películas compuestas de PLA y nanocelulosas que combina una adecuada dispersión del refuerzo con la posibilidad de utilizar una técnica de procesamiento en fundido industrial como es la extrusión. Esta estrategia permitió limitar fuertemente la hornificación de las nanocelulosas, al promover su deshidratación en presencia de macromoléculas de PLA que evitaron su agregación irreversible. En cuanto a la acetilación de las cargas previo a la preparación de los *masterbatches*, globalmente los resultados sugieren que la modificación química implementada no condujo a mejoras destacables en las propiedades de las películas que justifiquen su utilización futura. Si bien trabajos previos del grupo sobre películas de PLA y nanocelulosa bacteriana desarrolladas por evaporación de solvente habían demostrado que la acetilación superficial de las nanofibrillas en los niveles implementados en esta tesis derivaba en propiedades ópticas y mecánicas significativamente mejoradas, los resultados aquí resumidos indican que en el procesamiento en fundido este nivel de acetilación no habría sido suficiente para traducirse en mejoras que ameriten su utilización.

En trabajos futuros será de interés modular el nivel de acetilación conferido a las nanocelulosas, al igual que evaluar otras estrategias de funcionalización de las cargas que puedan promover una mejor adhesión interfacial que complemente y amplíe los beneficios en la dispersión de las nanocelulosas derivadas de la estrategia del *masterbatch*.

NOMENCLATURA

AcBNC: nanocelulosa bacteriana acetilada

AcVNC: nanocelulosa vegetal acetilada

AFM: microscopía de fuerza atómica

AGU: unidad de anhidroglucosa

BNC: nanocelulosa bacteriana

CNC: nanocristales de celulosa

CNF: nanofibrillas de celulosa, celulosas nanofibrilares o nanofibriladas

CNW: *nanowhiskers* de celulosa

CP/MAS-¹³C RMN: resonancia magnética nuclear de ¹³C por polarización cruzada con rotación al ángulo mágico

CSL: macerado de maíz

DRX: difracción de rayos X

DSC: calorimetría diferencial de barrido

EDX: energía dispersiva de rayos X

FESEM: microscopía electrónica de barrido con emisión de campo

FTIR: espectroscopía infrarroja con transformada de Fourier

GS: grado de sustitución

HS: Hestrin & Schramm

OTR: tasa de transmisión de oxígeno

PLA: ácido poliláctico

SCOBY: cultivo simbiótico de bacterias y levaduras

TGA: análisis termogravimétrico

VNC: nanocelulosa vegetal

WVP: permeabilidad al vapor de agua

ANEXO A

Tabla A.1. Revisión de estrategias de acetilación de nanocelulosas.

Muestra	Pretratamiento	Agente acilante/ catalizador	Medio de reacción	Temperatura/ tiempo	GS	Referencia
CNC* sin secar	Lavados con ácido acético y anhídrido acético	Anhídrido acético /ácido perclórico	Ácido acético/tolueno	RT**/ distintos tiempos (no especificado)	0.14-2.81	Sassi & Chanzy, 1995
Película de BNC sin secar	Intercambio de solvente de agua a anhídrido acético y ácido acético	Anhídrido acético /ácido perclórico	Ácido acético/tolueno	RT/1 h	0.04-2.77	Kim <i>et al.</i> 2002
Película de BNC comprimida	Intercambio de solvente de agua a acetona	Anhídrido acético /ácido perclórico	Ácido acético/tolueno	RT/1h	0.00-1.76	Ifuku <i>et al.</i> , 2007
Película de BNC seca	-	Anhídrido acético /ácido perclórico	Ácido acético/tolueno	RT/0.25 h	n.a.	Goncalves <i>et al.</i> , 2015; Goncalves <i>et al.</i> , 2016
BNC y NFC*** secas	-	Anhídrido acético /ácido sulfúrico		30°C/6 h	0.02 (BNC)/ 0.06 (VNC)	Tomé <i>et al.</i> , 2011
Pulpa Kraft seca	-	Anhídrido acético /ácido sulfúrico	Anhídrido acético	30°C/1-24 h	0.20-1.20	Olaru <i>et al.</i> , 2011
Suspensión de NFC	Contacto con mezcla de ácido acético y ácido sulfúrico para activar las nanofibrillas	Anhídrido acético /ácido sulfúrico	Anhídrido acético/ácido acético	100°C/4 h	n.a.	Abdulkhani <i>et al.</i> , 2014
Películas de BNC y NFC secas	-	Anhídrido acético /ácido sulfúrico	Tolueno	RT-50°C/0.5 h	0.2-1.9	Cunha <i>et al.</i> , 2014

Suspensión de NFC	Extracción en acetona y metanol (Soxhlet)	Anhídrido acético /piridina	Anhídrido acético	100°C/4 h	1.07	Joonobi <i>et al.</i> , 2012
Suspensión de NFC	Extracción en acetona y metanol (Soxhlet)	Anhídrido acético /piridina	Ácido acético	100°C/ h	0.20-1.90	Ashori <i>et al.</i> , 2014
Suspensión de BNC	Intercambio de solvente de agua a acilante	Anhídrido acético /ácido tartárico, ácido láctico y ácido cítrico	Anhídrido acético	120°C/1-7 h	0.27-0.90	Ávila Ramírez <i>et al.</i> , 2016
Suspensión de NFC	Intercambio de solvente de agua a etanol y tolueno	Anhídrido acético /ninguno	Tolueno	105°C/0.25- 0.5 h	0.24 y 0.43	Bulota <i>et al.</i> , 2012
Suspensión de NFC	Intercambio de solvente de agua a acetona y tolueno	Anhídrido acético/ ninguno	Tolueno	70°C/0.5-4 h	0.56-0.91	Rodionova <i>et al.</i> , 2011
Película de BNC comprimida	-	Anhídrido acético/ ninguno	Anhídrido acético	120°C/1h	0.17	Nogi <i>et al.</i> , 2006
Fibras naturales secas	-	Anhídrido acético /ninguno	Anhídrido acético	120°C/0.5-3 h	0.01-0.13	Tserki <i>et al.</i> , 2005

*CNC: celulosa nanocristalina / **RT: temperatura ambiente / *** NFC: celulosa nanofibrilada.

ANEXO B

PLA/BNC-D 7%_M

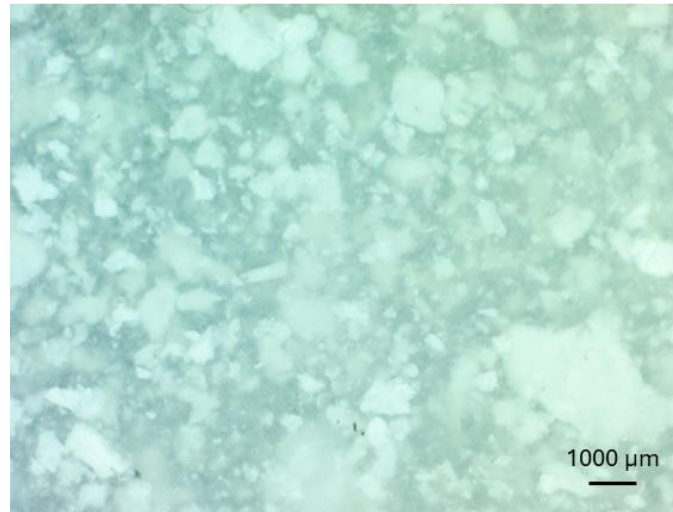


Figura B.1. Macrografía de la película compuesta de PLA con 7% (p/p) de nanocelulosa bacteriana obtenida por mezclado intensivo y moldeo por compresión empleando el secado de la BNC y mezclado directo.

PLA/VNC-D 7%_M

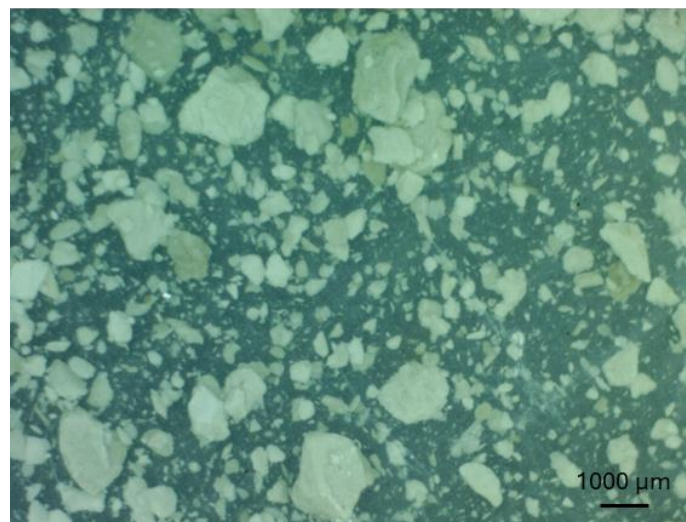


Figura B.2. Macrografía de la película compuesta de PLA con 7% (p/p) de nanocelulosa vegetal obtenida por mezclado intensivo y moldeo por compresión empleando el secado de la VNC y mezclado directo.

PLA/BNC-D 7%_E

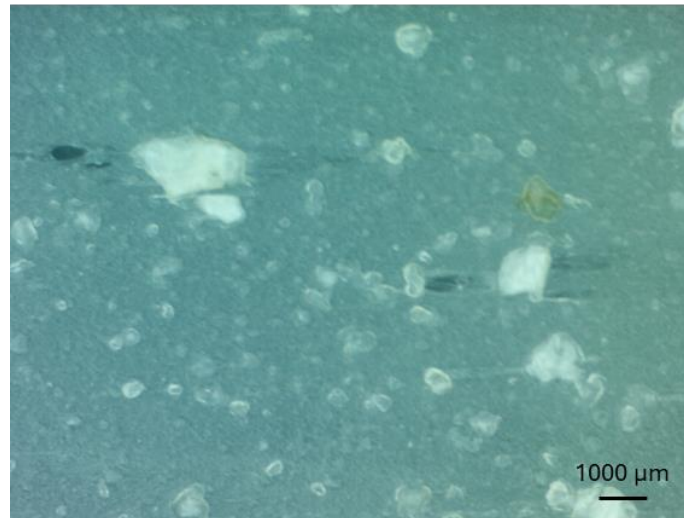


Figura B.3. Macrografía de la película compuesta de PLA con 7% (p/p) de nanocelulosa bacteriana obtenida por extrusión plana empleando el secado de la BNC y mezclado directo.

PLA/VNC-D 7%_E

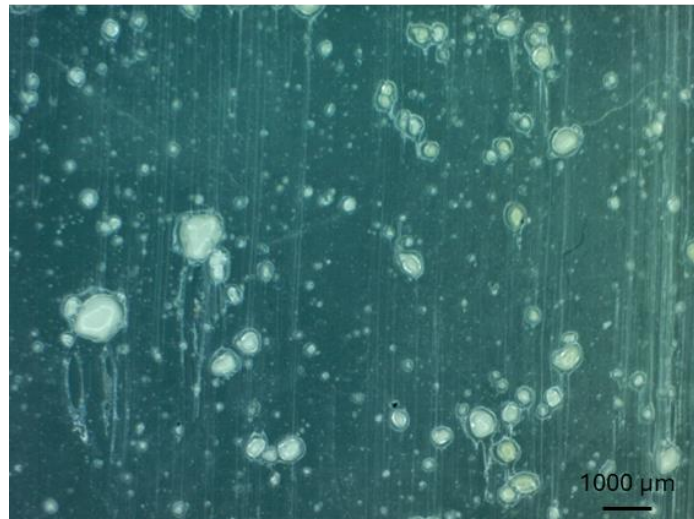


Figura B.4. Macrografía de la película compuesta de PLA con 7% (p/p) de nanocelulosa vegetal obtenida por extrusión plana empleando el secado de la VNC y mezclado directo.

ANEXO C

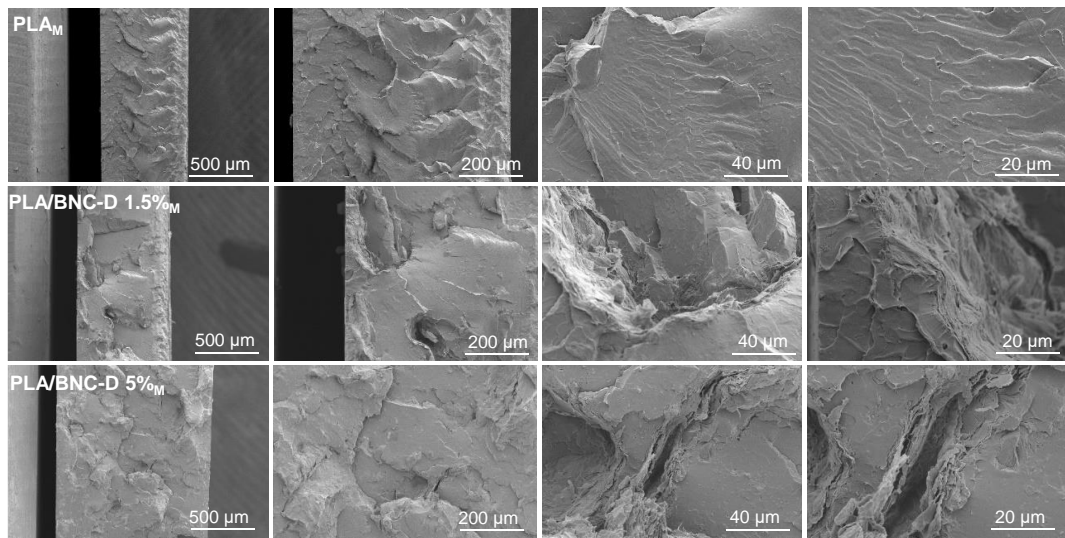


Figura C.1a. Micrografías SEM de las películas de PLA y PLA y nanocelulosa bacteriana obtenidas por mezclado intensivo y moldeo por compresión empleando la estrategia directa de secado de la BNC y mezclado con el PLA. Sistemas obtenidos para concentraciones de carga de 1.5% y 5% (p/p).

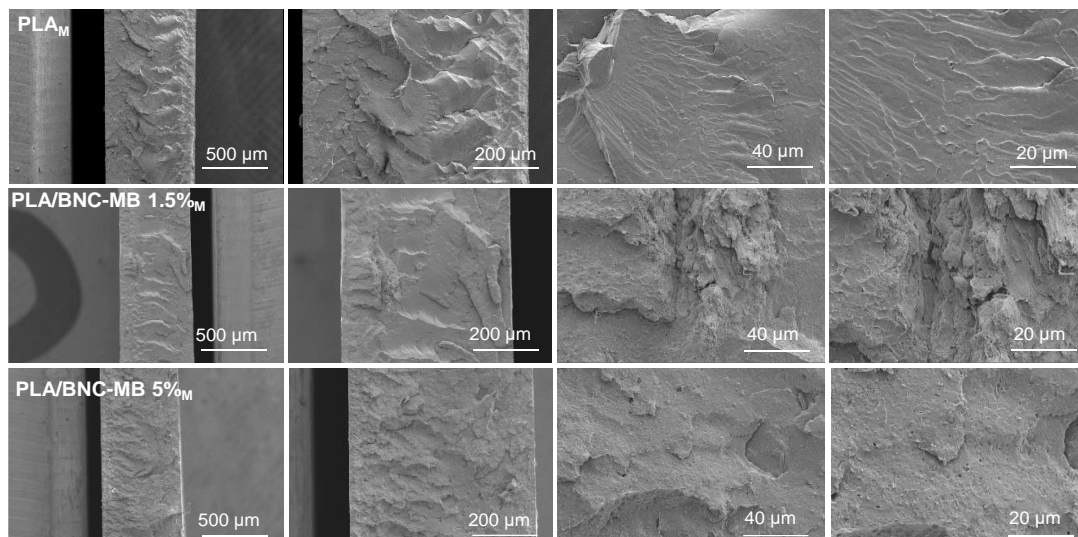


Figura C.1b. Micrografías SEM de las películas de PLA y PLA y nanocelulosa bacteriana obtenidas por mezclado intensivo y moldeo por compresión empleando la estrategia de elaboración del *masterbatch* por evaporación de solvente. Sistemas obtenidos para concentraciones de carga de 1.5% y 5% (p/p).

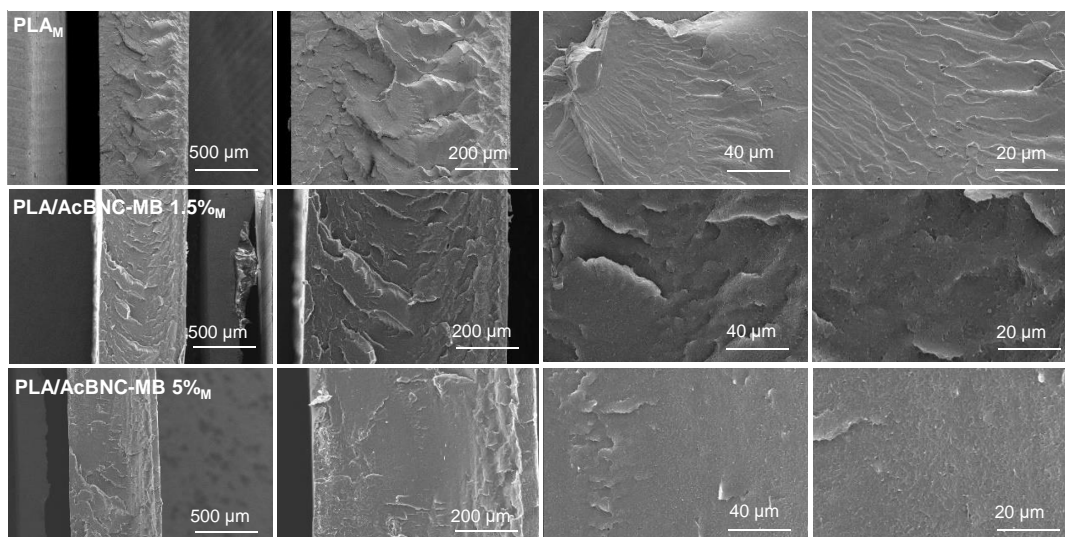


Figura C.1c. Micrografías SEM de las películas de PLA y PLA y nanocelulosa bacteriana acetilada obtenidas por mezclado intensivo y moldeo por compresión empleando la estrategia de elaboración del *masterbatch* por evaporación de solvente. Sistemas obtenidos para concentraciones de carga de 1.5% y 5% (p/p).

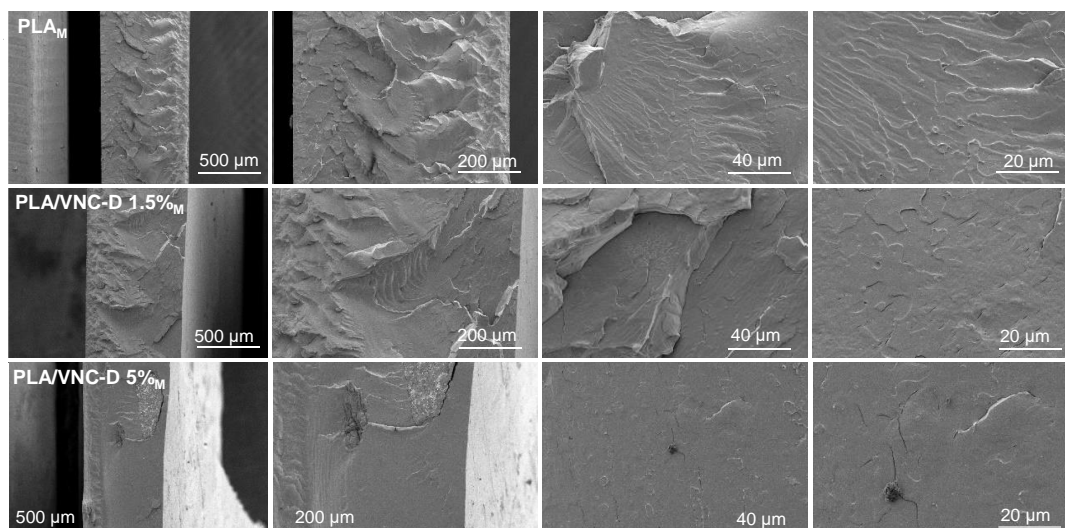


Figura C.2a. Micrografías SEM de las películas de PLA y PLA y nanocelulosa vegetal obtenidas por mezclado intensivo y moldeo por compresión empleando la estrategia directa de secado de la VNC y mezclado con el PLA. Sistemas obtenidos para concentraciones de carga de 1.5% y 5% (p/p).

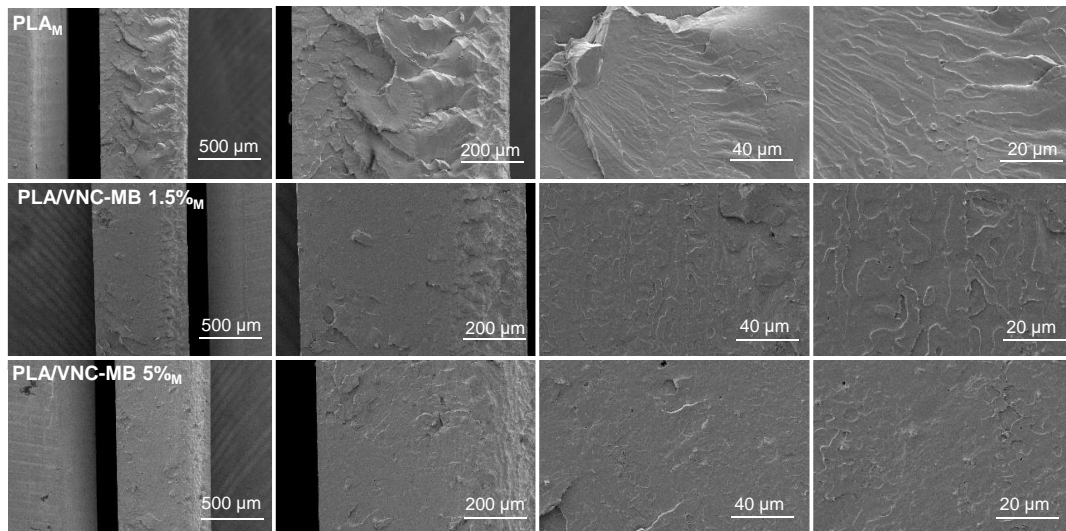


Figura C.2b. Micrografías SEM de las películas de PLA y PLA y nanocelulosa vegetal obtenidas por mezclado intensivo y moldeo por compresión empleando la estrategia de elaboración del *masterbatch* por evaporación de solvente. Sistemas obtenidos para concentraciones de carga de 1.5% y 5% (p/p).

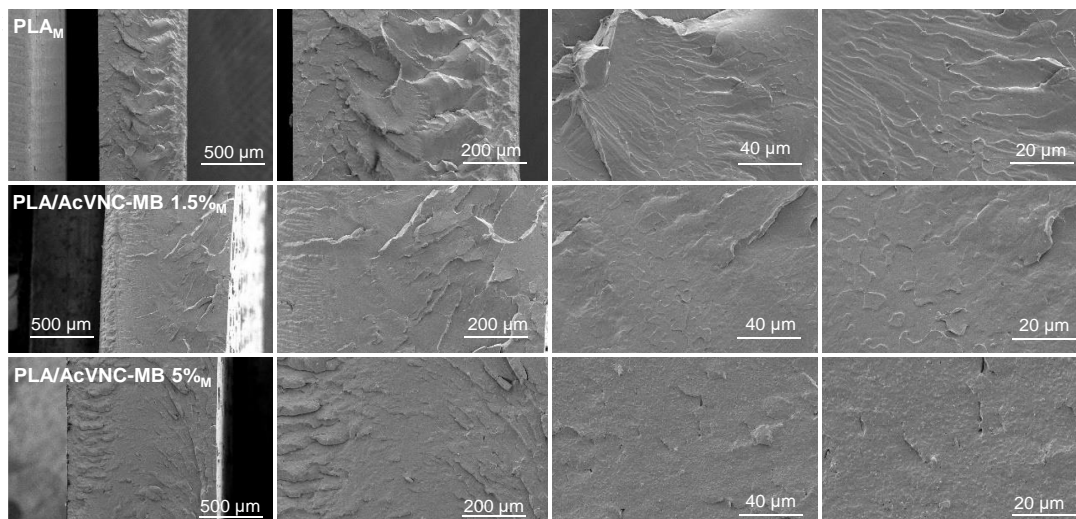


Figura C.2c. Micrografías SEM de las películas de PLA y PLA y nanocelulosa vegetal acetilada obtenidas por mezclado intensivo y moldeo por compresión empleando la estrategia de elaboración del *masterbatch* por evaporación de solvente. Sistemas obtenidos para concentraciones de carga de 1.5% y 5% (p/p).

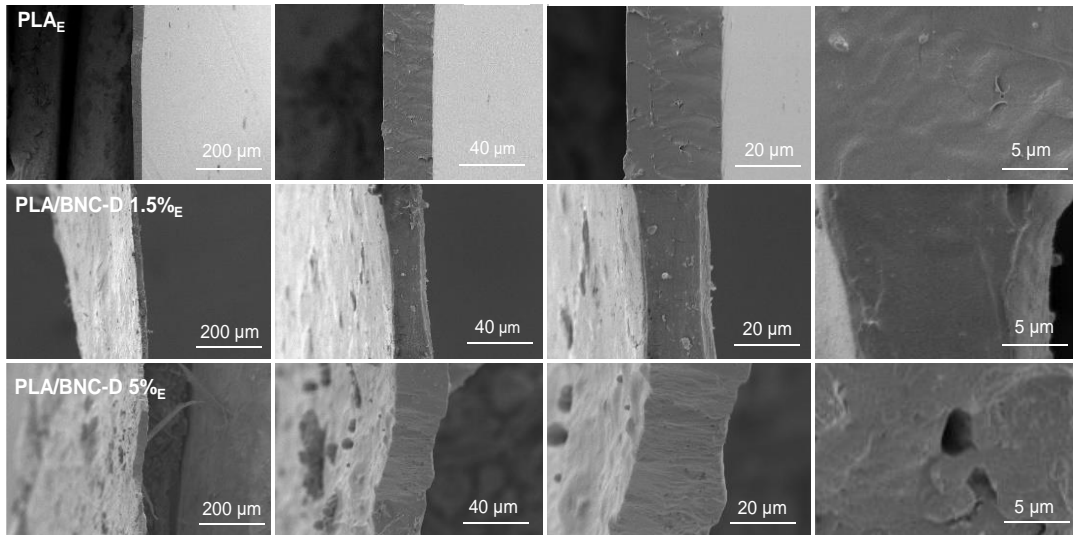


Figura C.3a. Micrografías SEM de las películas de PLA y PLA y nanocelulosa bacteriana desarrolladas por extrusión plana empleando la estrategia directa de secado de la BNC y mezclado con el PLA. Sistemas obtenidos para concentraciones de carga de 1.5% y 5% (p/p).

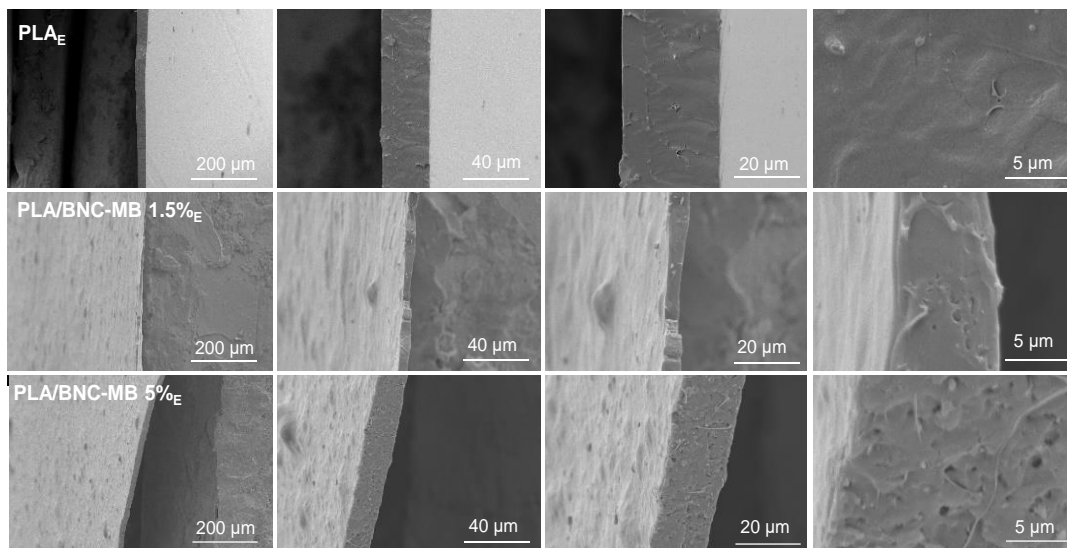


Figura C.3b. Micrografías SEM de las películas de PLA y PLA y nanocelulosa bacteriana desarrolladas por extrusión plana empleando la estrategia de elaboración del *masterbatch* por evaporación de solvente. Sistemas obtenidos para concentraciones de carga de 1.5% y 5% (p/p).

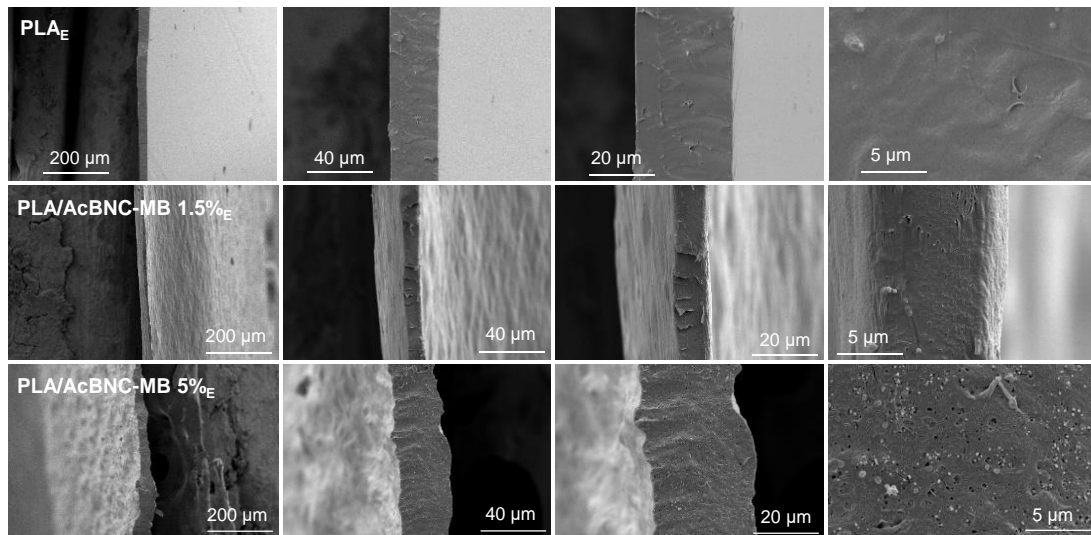


Figura C.3c. Micrografías SEM de las películas de PLA y PLA y nanocelulosa bacteriana acetilada desarrolladas por extrusión plana empleando la estrategia de elaboración del *masterbatch* por evaporación de solvente. Sistemas obtenidos para concentraciones de carga de 1.5% y 5% (p/p).

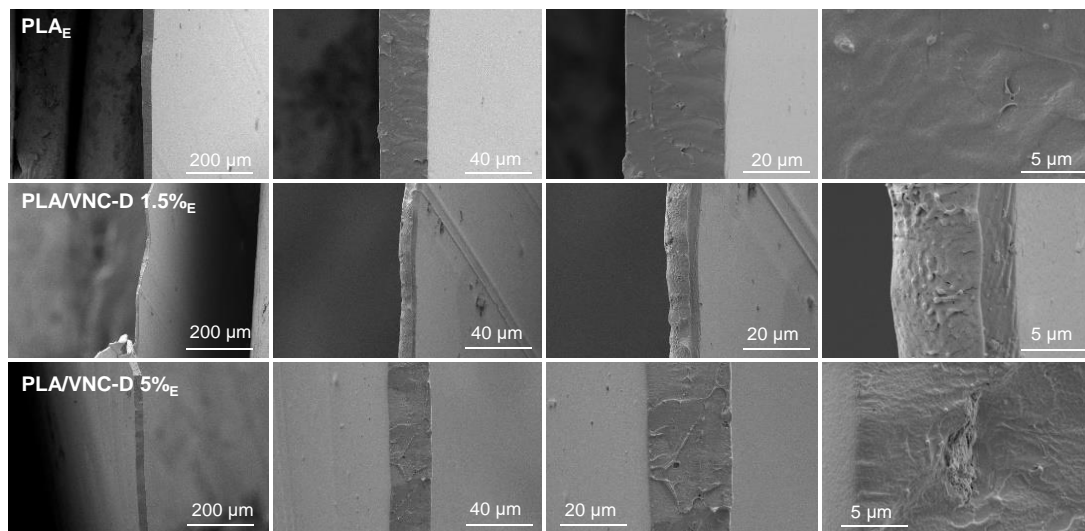


Figura C.4a. Micrografías SEM de las películas de PLA y PLA y nanocelulosa vegetal desarrolladas por extrusión plana empleando la estrategia directa de secado de la VNC y mezclado con el PLA. Sistemas obtenidos para concentraciones de carga de 1.5% y 5% (p/p).

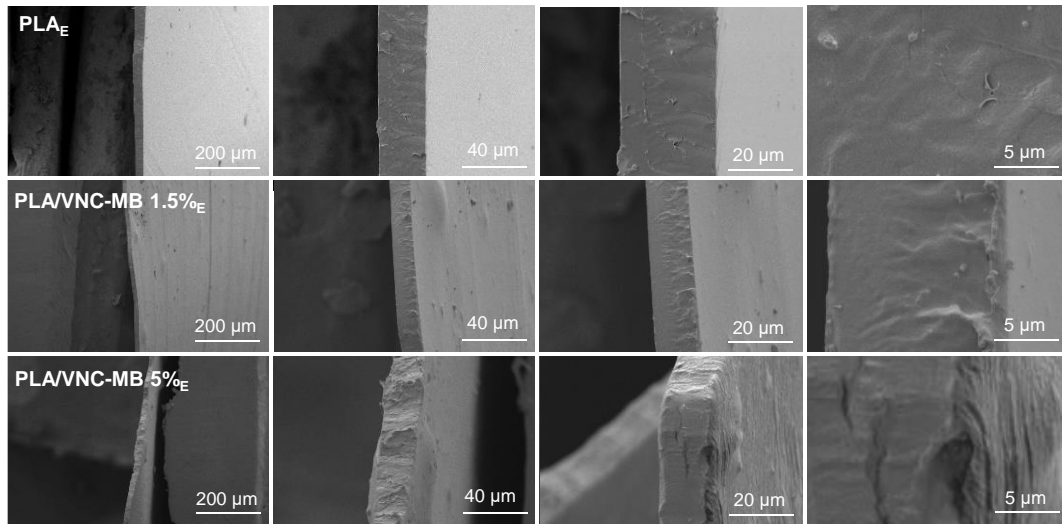


Figura C.4b. Micrografías SEM de las películas de PLA y PLA y nanocelulosa vegetal desarrolladas por extrusión plana empleando la estrategia de elaboración del *masterbatch* por evaporación de solvente. Sistemas obtenidos para concentraciones de carga de 1.5% y 5% (p/p).

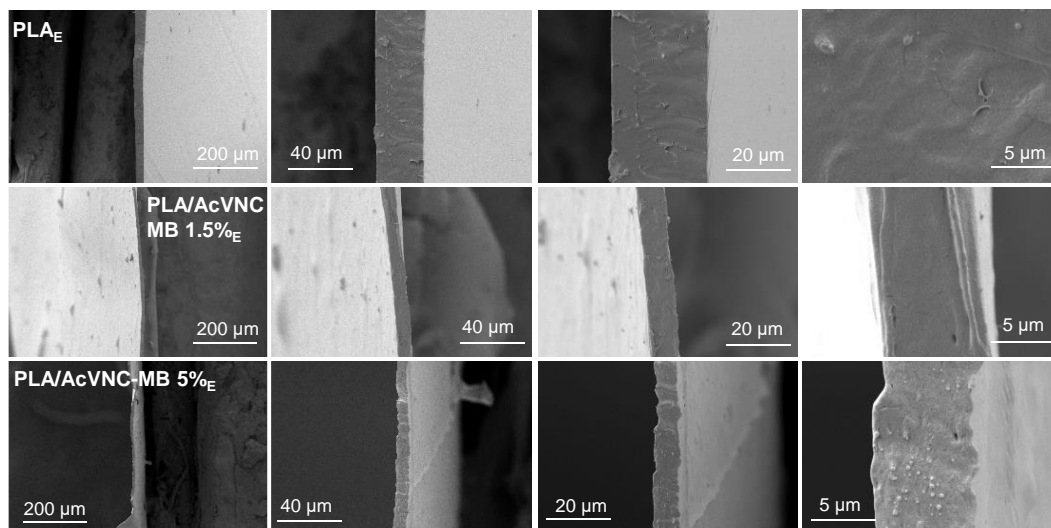


Figura C.4c. Micrografías SEM de las películas de PLA y PLA y nanocelulosa vegetal acetilada desarrolladas por extrusión plana empleando la estrategia de elaboración del *masterbatch* por evaporación de solvente. Sistemas obtenidos para concentraciones de carga de 1.5% y 5% (p/p).

LISTADO DE FIGURAS

CAPÍTULO 1

Figura 1.1. Clasificación de bioplásticos de acuerdo con su origen y con su biodegradabilidad. PE: polietileno; PET: polietileno tereftalato; PA: poliamida; PTT: politrimetileno tereftalato; PP: polipropileno; PLA: ácido poliláctico; PHA: polihidroxicanoatos; PBS: polibutileno succinato; TPS: almidón termoplástico; PBAT: polibutileno adipato tereftalato; PCL: policaprolactona (adaptado de *European Bioplastics-Nova-Institute, 2024*).

Figura 1.2. Capacidad de producción global de bioplásticos en 2023. PP: polipropileno; PTT: politrimetileno tereftalato; PET: polietileno tereftalato; PE: polietileno; PEF: polietileno furanoato; PA: poliamida; PLA: ácido poliláctico; PHA: polihidroxicanoatos; SCPC: compuestos poliméricos que contienen almidón; PBS: polibutileno succinato; PBAT: polibutileno adipato tereftalato (adaptado de *European Bioplastics-Nova-Institute, 2024*).

Figura 1.3. Estructura química de (A) enantiómeros del ácido láctico y (B) estereoisómeros de PLA.

Figura 1.4. Rutas de síntesis del PLA (adaptado de *Ashothaman et al., 2023*).

Figura 1.5. (A) Estructura de la celobiosa y (B) formación de enlaces puente de hidrógeno intramoleculares (línea punteada azul) e intermoleculares (línea punteada roja) en la celulosa (adaptada de *Jaffar et al., 2022*).

Figura 1.6. Esquema de (A) nanofibrillas de celulosa idealizadas, constituidas por dominios amorfos y cristalinos, y (B) nanocristales de celulosa (adaptado de *Moon et al., 2011*).

Figura 1.7. Micrografía electrónica de barrido de la superficie de una película de nanocelulosa bacteriana (adaptada de *Iguchi, Yamanaka & Budhiono, 2000*).

Figura 1.8. Ilustración esquemática de los procesos típicos de (A) homogeneización de alta presión, (B) microfluidización (C) molienda por fricción y (D) ultrasonificación de alta intensidad para producir nanofibrillas de celulosa (adaptado de *Ghasemlou et al., 2021*).

CAPÍTULO 3

Figura 3.1. Películas flotantes desarrolladas en la interfaz aire-líquido durante la producción de té de Kombucha a distintos días de fermentación.

Figura 3.2. Película flotante desarrollada en la interfaz aire-líquido durante la producción de té de Kombucha recuperada luego de 14 días de cultivo.

Figura 3.3. Fotografías y micrografías obtenidas por microscopía electrónica de barrido de la película flotante no purificada desarrollada durante la producción de Kombucha, muestras de BNC - Kombucha recuperadas de la purificación de la película mediante los tratamientos A, B y C; y BNC producida por *K. xylinus*.

Figura 3.4. Espectros infrarrojo de la película flotante no purificada, muestras de BNC - Kombucha recuperadas de los tratamientos A, B y C; y BNC producida por *K. xylinus*.

Figura 3.5. Difractogramas de rayos X de la película flotante no purificada, muestras de BNC - Kombucha recuperadas de los tratamientos A, B y C; y BNC producida por *K. xylinus*.

Figura 3.6. Difractogramas de rayos X de BNC producida por *K. xylinus* ilustrando los métodos más comunes para el cálculo del índice de cristalinidad de la muestra (ICr): (A) método de la altura del pico o método de Segal, (B) método de deconvolución y (C) método de sustracción amorfa o de las dos fases.

Figura 3.7. (A) Curvas TG y (B) curvas DTG de la película flotante no purificada, muestras de BNC - Kombucha recuperadas de los tratamientos A, B y C; y BNC producida por *K. xylinus*.

Figura 3.8. Espectros de resonancia magnética nuclear de carbono 13 en estado sólido (CP/MAS-¹³C RMN) de BNC - Kombucha recuperada del tratamiento C y BNC producida por *K. xylinus*.

Figura 3.9. Espectro de resonancia magnética nuclear de carbono 13 en estado sólido (CP/MAS-¹³C RMN) de BNC producida por *K. xylinus* ilustrando el método basado en esta técnica para el cálculo del índice de cristalinidad

Figura 3.10. Imágenes obtenidas por microscopía de fuerza atómica de BNC - Kombucha recuperada del tratamiento C.

Figura 3.11. Cáscara de arroz lavada y secada.

Figura 3.12. Imagen de la suspensión acuosa de VNC al 1% (p/p).

Figura 3.13. Fotografías y micrografías obtenidas por microscopía electrónica de barrido de la cáscara de arroz molida y tamizada y de VNC.

Figura 3.14. Imágenes obtenidas por microscopía de fuerza atómica de VNC.

Figura 3.15. Análisis elemental de las partículas presentes en la muestra de VNC.

Figura 3.16. Espectros infrarrojo de la cáscara de arroz molida y tamizada, de VNC y de MCC.

Figura 3.17. Espectro de resonancia magnética nuclear de carbono 13 en estado sólido (CP/MAS-¹³C RMN) de VNC y de MCC.

Figura 3.18. Difractogramas de rayos X de la cáscara de arroz molida y tamizada, de VNC y de MCC.

Figura 3.19. (A) Curvas TG y (B) curvas DTG de la cáscara de arroz molida y tamizada, de VNC y de MCC.

CAPÍTULO 4

Figura 4.1. Dispersabilidad de BNC y AcBNC en diferentes solventes (de izquierda a derecha: agua, acetona y cloroformo). Imágenes tomadas luego de 48 h en reposo.

Figura 4.2. Películas compuestas de PLA/nanocelulosa bacteriana nativa y acetilada, y PLA/nanocelulosa vegetal nativa y acetilada.

Figura 4.3. Micrografías de barrido electrónico de nanocelulosa bacteriana nativa y acetilada.

Figura 4.4. Micrografías de barrido electrónico de nanocelulosa vegetal nativa y acetilada.

Figura 4.5. Imágenes obtenidas por microscopía de fuerza atómica de la nanocelulosa bacteriana nativa y acetilada, y de la nanocelulosa vegetal nativa y acetilada.

Figura 4.6. Espectros infrarrojo de (A) nanocelulosa bacteriana nativa y acetilada y (B) nanocelulosa vegetal nativa y acetilada.

Figura 4.7. Espectros de resonancia magnética nuclear de carbono 13 en estado sólido (CP/MAS-¹³C RMN) de (A) nanocelulosa bacteriana nativa y acetilada y (B) nanocelulosa vegetal nativa y acetilada.

Figura 4.8. Difractogramas de rayos X de (A) nanocelulosa bacteriana nativa y acetilada, y (B) nanocelulosa vegetal nativa y acetilada.

Figura 4.9. (A) Curvas TG y (B) DTG de nanocelulosa bacteriana nativa y acetilada, y (C) curvas TG y (D) DTG de nanocelulosa vegetal nativa y acetilada.

CAPÍTULO 5

Figura 5.1. Sistemas obtenidos a partir de las distintas estrategias de incorporación de las nanocelulosas en el PLA mediante las dos técnicas de procesamiento en fundido utilizadas.

Figura 5.2. (A) Materiales que fueron incorporados a los equipos de procesamiento: *pellets* de PLA y, alternativamente, BNC seca y molida, *masterbatch* con BNC nativa y *masterbatch* con BNC acetilada. (B) Distribución de tamaño de las escamas de BNC y VNC secas y molidas.

Figura 5.3a. Imágenes fotográficas de las películas de PLA y PLA y nanocelulosa bacteriana desarrolladas por mezclado intensivo y moldeo por compresión. Sistemas obtenidos para seis concentraciones de carga empleando las tres estrategias de incorporación descriptas.

Figura 5.3b. Macrográficas de las películas de PLA y de las películas compuestas de PLA con 7% (p/p) de nanocelulosa bacteriana obtenidas por mezclado intensivo y moldeo por compresión empleando el secado de la BNC y mezclado directo, la preparación de un *masterbatch* con BNC nativa, y la preparación de un *masterbatch* con BNC acetilada como

estrategia de incorporación de la carga. Distribución de tamaño de los agregados observados en las películas directas (esquina superior derecha), basadas en las macrografías del anexo B.

Figura 5.4a. Imágenes fotográficas de las películas de PLA y PLA y nanocelulosa vegetal desarrolladas por mezclado intensivo y moldeo por compresión. Sistemas obtenidos para seis concentraciones de carga empleando las tres estrategias de incorporación descriptas.

Figura 5.4b. Macrografías de las películas de PLA y de las películas compuestas de PLA con 7% (p/p) de nanocelulosa vegetal obtenidas por mezclado intensivo y moldeo por compresión empleando el secado de la VNC y mezclado directo, la preparación de un *masterbatch* con VNC nativa, y la preparación de un *masterbatch* con VNC acetilada como estrategia de incorporación de la carga. Distribución de tamaño de los agregados observados en las películas directas (esquina superior derecha), basadas en las macrografías del anexo B.

Figura 5.5a. Imágenes fotográficas de las películas de PLA y PLA y nanocelulosa bacteriana desarrolladas por extrusión plana. Sistemas obtenidos para seis concentraciones de carga empleando las tres estrategias de incorporación descriptas.

Figura 5.5b. Macrografías de las películas de PLA y de las películas compuestas de PLA con 7% (p/p) de nanocelulosa bacteriana obtenidas por extrusión plana empleando el secado de la BNC y mezclado directo, la preparación de un *masterbatch* con BNC nativa, y la preparación de un *masterbatch* con BNC acetilada como estrategia de incorporación de la carga. Distribución de tamaño de los agregados observados en las películas directas (esquina superior derecha), basadas en las macrografías del anexo B.

Figura 5.6a. Imágenes fotográficas de las películas de PLA y PLA y nanocelulosa vegetal desarrolladas por extrusión plana. Sistemas obtenidos para seis concentraciones de carga empleando las tres estrategias de incorporación descriptas.

Figura 5.6b. Macrografías de las películas de PLA y de las películas compuestas de PLA con 7% (p/p) de nanocelulosa vegetal obtenidas por extrusión plana empleando el secado de la VNC y mezclado directo, la preparación de un *masterbatch* con VNC nativa, y la preparación de un *masterbatch* con VNC acetilada como estrategia de incorporación de la carga. Distribución de tamaño de los agregados observados en las películas directas (esquina superior derecha), basadas en las macrografías del anexo B.

Figura 5.7. Imágenes fotográficas de las películas compuestas de PLA con 7% (p/p) de (A) nanocelulosa bacteriana y (B) nanocelulosa vegetal, obtenidas por extrusión plana empleando las tres estrategias de incorporación de las nanocelulosas en el PLA.

Figura 5.8. Micrografías de barrido electrónico de las películas de PLA y de las películas compuestas de PLA con 7% (p/p) de nanocelulosa bacteriana desarrolladas por mezclado intensivo y moldeo por compresión empleando las tres estrategias de incorporación de las nanocelulosas en el PLA.

Figura 5.9. (A) Micrografías de barrido electrónico de las películas de PLA y de las películas compuestas de PLA con 7% (p/p) de nanocelulosa vegetal desarrolladas por mezclado intensivo y moldeo por compresión empleando las tres estrategias de incorporación de las nanocelulosas en el PLA. (B) Mapeos de análisis elemental de las superficies de fractura.

Figura 5.10. Micrografías de barrido electrónico de las películas de PLA y de las películas compuestas de PLA con 7% (p/p) de nanocelulosa bacteriana obtenidas por extrusión plana empleando las tres estrategias de incorporación de las nanocelulosas en el PLA.

Figura 5.11. Micrografías de barrido electrónico de las películas de PLA y de las películas compuestas de PLA con 7% (p/p) de nanocelulosa vegetal obtenidas por extrusión plana empleando las tres estrategias de incorporación de las nanocelulosas en el PLA.

Figura 5.12. Opacidad relativa de las películas de PLA y de las películas compuestas de PLA y (A) nanocelulosa bacteriana y (B) nanocelulosa vegetal obtenidas por mezclado intensivo y moldeo por compresión; y películas compuestas de PLA y (C) nanocelulosa bacteriana y (D) nanocelulosa vegetal obtenidas por extrusión plana, empleando las tres estrategias de incorporación de las nanocelulosas en el PLA.

Figura 5.13. (A) Módulo de Young, (B) resistencia a la tracción y (C) elongación a la rotura de las películas de PLA y de las películas compuestas de PLA y nanocelulosa bacteriana obtenidas por mezclado intensivo y moldeo por compresión, empleando las tres estrategias de incorporación de las nanocelulosas en el PLA.

Figura 5.14. (A) Módulo de Young, (B) resistencia a la tracción y (C) elongación a la rotura de las películas de PLA y de las películas compuestas de PLA y nanocelulosa vegetal obtenidas por mezclado intensivo y moldeo por compresión, empleando las tres estrategias de incorporación de las nanocelulosas en el PLA.

Figura 5.15. (A) Módulo de Young, (B) resistencia a la tracción y (C) elongación a la rotura de las películas de PLA y de las películas compuestas de PLA y nanocelulosa bacteriana obtenidas por extrusión plana, empleando las tres estrategias de incorporación de las nanocelulosas en el PLA.

Figura 5.16. (A) Módulo de Young, (B) resistencia a la tracción y (C) elongación a la rotura de las películas de PLA y de las películas compuestas de PLA y nanocelulosa vegetal obtenidas por extrusión plana, empleando las tres estrategias de incorporación de las nanocelulosas en el PLA.

CAPÍTULO 6

Figura 6.1. Termogramas correspondientes al primer calentamiento, enfriamiento y segundo calentamiento obtenidos por DSC para la película de PLA puro y (A) las películas compuestas PLA y nanocelulosa bacteriana y (B) PLA y nanocelulosa vegetal.

Figura 6.2. Permeabilidad al vapor de agua de la película de PLA y las películas compuestas de PLA y (A) nanocelulosa bacteriana y (B) nanocelulosa vegetal.

Figura 6.3. Tasa de transmisión de oxígeno de la película de PLA puro y las películas compuestas de PLA y (A) nanocelulosa bacteriana y (B) nanocelulosa vegetal al 1.5% (p/p).

Figura 6.4. Desintegración en condiciones de compostaje simuladas en laboratorio de la película de PLA puro y las películas compuestas de PLA y nanocelulosa bacteriana. No se incluyen las imágenes correspondientes a la película PLA/AcBNC-MB 5%_E debido a dificultades experimentales con esa muestra.

Figura 6.5. Desintegración en condiciones de compostaje simuladas en laboratorio de la película de PLA puro y las películas compuestas de PLA y nanocelulosa vegetal.

Figura 6.6. Desintegración en condiciones de compostaje simuladas en laboratorio en función del tiempo de la película de PLA puro y las películas compuestas con (A) 1.5% y (B) 5% (p/p) de nanocelulosa bacteriana y (C) 1.5% y (D) 5% (p/p) de nanocelulosa vegetal.

ANEXO B

Figura B.1. Macrografía de la película compuesta de PLA con 7% (p/p) de nanocelulosa bacteriana obtenida por mezclado intensivo y moldeo por compresión empleando el secado de la BNC y mezclado directo.

Figura B.2. Macrografía de la película compuesta de PLA con 7% (p/p) de nanocelulosa vegetal obtenida por mezclado intensivo y moldeo por compresión empleando el secado de la VNC y mezclado directo.

Figura B.3. Macrografía de la película compuesta de PLA con 7% (p/p) de nanocelulosa bacteriana obtenida por extrusión plana empleando el secado de la BNC y mezclado directo.

Figura B.4. Macrografía de la película compuesta de PLA con 7% (p/p) de nanocelulosa vegetal obtenida por extrusión plana empleando el secado de la VNC y mezclado directo.

ANEXO C

Figura C.1a. Micrografías SEM de las películas de PLA y PLA y nanocelulosa bacteriana obtenidas por mezclado intensivo y moldeo por compresión empleando la estrategia directa de secado de la BNC y mezclado con el PLA. Sistemas obtenidos para concentraciones de carga de 1.5% y 5% (p/p).

Figura C.1b. Micrografías SEM de las películas de PLA y PLA y nanocelulosa bacteriana obtenidas por mezclado intensivo y moldeo por compresión empleando la estrategia de elaboración del *masterbatch* por evaporación de solvente. Sistemas obtenidos para concentraciones de carga de 1.5% y 5% (p/p).

Figura C.1c. Micrografías SEM de las películas de PLA y PLA y nanocelulosa bacteriana acetilada obtenidas por mezclado intensivo y moldeo por compresión empleando la estrategia de elaboración del *masterbatch* por evaporación de solvente. Sistemas obtenidos para concentraciones de carga de 1.5% y 5% (p/p).

Figura C.2a. Micrografías SEM de las películas de PLA y PLA y nanocelulosa vegetal obtenidas por mezclado intensivo y moldeo por compresión empleando la estrategia directa de secado de la VNC y mezclado con el PLA. Sistemas obtenidos para concentraciones de carga de 1.5% y 5% (p/p).

Figura C.2b. Micrografías SEM de las películas de PLA y PLA y nanocelulosa vegetal obtenidas por mezclado intensivo y moldeo por compresión empleando la estrategia de elaboración del *masterbatch* por evaporación de solvente. Sistemas obtenidos para concentraciones de carga de 1.5% y 5% (p/p).

Figura C.2c. Micrografías SEM de las películas de PLA y PLA y nanocelulosa vegetal acetilada obtenidas por mezclado intensivo y moldeo por compresión empleando la estrategia de elaboración del *masterbatch* por evaporación de solvente. Sistemas obtenidos para concentraciones de carga de 1.5% y 5% (p/p).

Figura C.3a. Micrografías SEM de las películas de PLA y PLA y nanocelulosa bacteriana desarrolladas por extrusión plana empleando la estrategia directa de secado de la BNC y mezclado con el PLA. Sistemas obtenidos para concentraciones de carga de 1.5% y 5% (p/p).

Figura C.3b. Micrografías SEM de las películas de PLA y PLA y nanocelulosa bacteriana desarrolladas por extrusión plana empleando la estrategia de elaboración del *masterbatch* por evaporación de solvente. Sistemas obtenidos para concentraciones de carga de 1.5% y 5% (p/p).

Figura C.3c. Micrografías SEM de las películas de PLA y PLA y nanocelulosa bacteriana acetilada desarrolladas por extrusión plana empleando la estrategia de elaboración del *masterbatch* por evaporación de solvente. Sistemas obtenidos para concentraciones de carga de 1.5% y 5% (p/p).

Figura C.4a. Micrografías SEM de las películas de PLA y PLA y nanocelulosa vegetal desarrolladas por extrusión plana empleando la estrategia directa de secado de la VNC y mezclado con el PLA. Sistemas obtenidos para concentraciones de carga de 1.5% y 5% (p/p).

Figura C.4b. Micrografías SEM de las películas de PLA y PLA y nanocelulosa vegetal desarrolladas por extrusión plana empleando la estrategia de elaboración del *masterbatch* por evaporación de solvente. Sistemas obtenidos para concentraciones de carga de 1.5% y 5% (p/p).

Figura C.4c. Micrografías SEM de las películas de PLA y PLA y nanocelulosa vegetal acetilada desarrolladas por extrusión plana empleando la estrategia de elaboración del *masterbatch* por evaporación de solvente. Sistemas obtenidos para concentraciones de carga de 1.5% y 5% (p/p).

LISTADO DE TABLAS

CAPÍTULO 1

Tabla 1.1. Definición y características principales de las nanofibrillas y los nanocristales de celulosa de acuerdo a la norma *ISO/TS 20477: 2017 “Nanotechnologies - Standard terms and their definition for cellulose nanomaterial”*.

CAPÍTULO 3

Tabla 3.1. Protocolos de purificación de la película flotante y muestras de BNC - Kombucha recuperadas.

Tabla 3.2. Índices de cristalinidad (ICr) de las muestras de BNC - Kombucha recuperadas de los tratamientos A, B y C; y BNC producida por *K. xylinus*.

Tabla 3.3. Índice de cristalinidad (ICr) de la nanocelulosa vegetal.

CAPÍTULO 4

Tabla 4.1. Índices de cristalinidad (ICr) de nanocelulosa bacteriana nativa y acetilada, y de la nanocelulosa vegetal nativa y acetilada.

CAPÍTULO 5

Tabla 5.1. Parámetros de color de las películas de PLA y de las películas compuestas de PLA y nanocelulosas obtenidas por mezclado intensivo y moldeo por compresión empleando las tres estrategias de incorporación de las nanocelulosas en el PLA.

Tabla 5.2. Parámetros de color de las películas de PLA y de las películas compuestas de PLA y nanocelulosas obtenidas por extrusión plana empleando las tres estrategias de incorporación de las nanocelulosas en el PLA.

CAPÍTULO 6

Tabla 6.1. Propiedades térmicas de la película de PLA puro y las películas compuestas PLA y nanocelulosas bacteriana y vegetal.

ANEXO A

Tabla A.1. Revisión de estrategias de acetilación de nanocelulosas.