
Capítulo 12

Determinación de la Cristalinidad y de la Accesibilidad de las Fibras de Celulosa Mediante Diferentes Técnicas

RESUMEN

La fibra celulósica es un agregado policristalino, formado por regiones cristalinas y regiones amorfas, que podrían estar relacionadas con el comportamiento de la fibra frente a diferentes reactivos, y con las propiedades finales de la pasta. Mediante diferentes técnicas (sorción de yodo, XRD e IRA) se determinan la cristalinidad y la accesibilidad de las fibras blanqueadas con el fin de relacionar estas características con las propiedades de la pasta. El método de difracción de rayos-X (XRD) es útil para la determinación del grado de cristalinidad de las fibras celulósicas de pasta de papel. Con el blanqueo aumenta la cristalinidad de la pasta. El pretratamiento enzimático también tiene un efecto en la cristalinidad de las fibras celulósicas, así como los diferentes agentes de blanqueo.

INTRODUCCIÓN

Muy probablemente, algunos aspectos del comportamiento de las fibras celulósicas frente a diferentes reactivos podrían ser atribuidos a la estructura propia de la fibra, existiendo una relación de la misma con las propiedades finales de la pasta (HESSLER y POWER, 1954; OTT *et al.*, 1963; PANDEY y IYENGAR, 1968; AHTEE *et al.*, 1983; KATAOKA y KONDO, 1996; PEKAROVICOVA *et al.*, 1997).

La fibra celulósica es un agregado policristalino que contiene componentes cristalinos y no cristalinos o amorfos, es decir, está formado por regiones cristalinas separadas por regiones amorfas o menos cristalinas. Los principales componentes químicos de la fibra de madera son la celulosa (alrededor de un 40% en la fibra natural), las hemicelulosas y la lignina (aproximadamente un 20-30% cada una). Las hemicelulosas y la lignina son sustancias amorfas mientras que la celulosa posee regiones ordenadas (cristalinas). El contenido de

fibrillas ordenadas es una propiedad característica de las moléculas de celulosa. La unidad fibrilar más pequeña que ha sido detectada (llamada fibrilla elemental), tiene una sección transversal aproximada de 3,0-3,5 nm. Las fibrillas elementales, separadas por regiones menos ordenadas, están agrupadas formando microfibrillas con diámetros superiores a 25 nm (OTT *et al.*, 1963; STEWART, 1969; AHTEE *et al.*, 1983).

La celulosa (componente principal de todas las células vegetales) es un polímero completamente lineal cuya unidad básica es la D-glucosa que se enlaza sucesivamente a través de un enlace glucosídico en la configuración β (1-4), para formar moléculas de celobiosa. Cada unidad estructural (β -D-glucopiranososa) contiene tres grupos hidroxilo libres (uno primario y dos secundarios) (Ver Capítulo 1).

Las moléculas de celulosa tienen una fuerte tendencia a formar enlaces por puentes de hidrógeno intra e intermoleculares. Cada unidad de glucosa forma enlaces intramoleculares y intermoleculares. La existencia de estos enlaces tiene un efecto importante en la reactividad que presentan las cadenas celulósicas. Los enlaces hidrógeno intermoleculares permiten una estructura fibrilar terciaria de alta cristalinidad. Las zonas que presentan elevada cristalinidad son difíciles de penetrar por disolventes y reactivos. Por el contrario, las zonas relativamente más desordenadas (amorfas) son más accesibles y más susceptibles a todas las reacciones químicas (y favorecen el hinchamiento que se limita únicamente a la región amorfa de la fibra -hinchamiento intercrystalino- y no cambia su estructura cristalina) (OTT *et al.*, 1963; SCALLAN, 1971; GACÉN y MAILLO, 1987; GARCÍA HORTAL, 1994).

El alto grado de cristalinidad de la celulosa cristalina confiere protección a la célula y constituye un impedimento estérico al ataque de reactivos. No ocurre lo mismo con la celulosa amorfa, que es más fácil de ser atacada.

Las hemicelulosas son polisacáridos formados por una cadena lineal de azúcares unidos principalmente por enlaces α (1-4) -en algunos casos α (1-3)-, a la que se unen cadenas laterales cortas de azúcares distintos a los de la cadena principal. Constituyen polímeros fácilmente hidrolizables (al contrario que la celulosa) que nunca forman agregados, aunque pueden cocrystalizar con la celulosa.

La lignina es el segundo polímero más abundante en la superficie de la tierra después de la celulosa. Está considerado un heteropolímero amorfo ópticamente inactivo. Desde el punto de vista químico, la lignina exhibe un alto grado de variabilidad estructural, dependiendo de la especie y el tejido, y también del tipo de célula. La deposición de la lignina en las paredes celulares proporciona rigidez y dureza a los tejidos vegetales, a la vez que los impermeabiliza.

La denominación utilizada ha sido de zonas cristalinas (o altamente ordenadas) y de zonas no-cristalinas o amorfas (desordenadas). Otro concepto, basado en la reactividad con diferentes reactivos, distingue regiones accesibles y no-accesibles. Cualitativamente, la región cristalina y no-accesible, y la no-cristalina y accesible se consideran sinónimas

(BROWNING, 1967; ROBERTS, 1991). Los porcentajes de cada una de estas regiones hallados en la bibliografía por diferentes métodos, difieren bastante. Según MITRA y MUKHERJEE (1980), realmente no parece existir una clara diferenciación entre zonas cristalinas y no-cristalinas, o bien, entre zonas accesibles y no-accesibles, y en principio puede pensarse en una transición gradual de una región a otra (región paracristalina).

Basándose en la diferente reactividad o susceptibilidad a reacciones químicas que parece existir en las zonas cristalinas (no-accesibles) y las zonas no-cristalinas (accesibles), se supone que muy posiblemente se pueda relacionar la cristalinidad de las pastas con el hecho de que algunos reactivos de blanqueo sean más efectivos que otros, o con el efecto positivo de un pretratamiento enzimático y el ahorro de reactivos que supone su aplicación, o con las propiedades físicas que se obtienen en los papeles.

NICKERSON (1951) afirmó que las proporciones de celulosa cristalina y amorfa tienen gran influencia en sus propiedades y comportamiento. Incluso, BUSCHLE-DILLER *et al.* (1994) afirmaron que las características clave del sustrato de celulosa son la cristalinidad, el área superficial accesible y las dimensiones de los poros de las fibras, indicando que variaciones de alguno de estos factores, debidas a la utilización de diferentes tratamientos, puede influir en el transcurso del proceso de degradación de la celulosa. Por esta razón, los métodos que miden la cantidad de material cristalino y amorfo en la fibra pueden aportar gran información de lo que está sucediendo durante el proceso de blanqueo.

En la bibliografía estudiada se ha observado que existen diferentes métodos para determinar la cristalinidad y la accesibilidad de las fibras celulósicas (OTT *et al.*, 1963; BROWNING 1967; ROBERTS 1991):

I. Métodos Físicos

- A. Difracción Rayos-X (XRD)
- B. Espectroscopía IR
- C. Densidad

II. Métodos Químicos

- A. Hidrólisis Ácida
- B. Oxidación con Periodato
- C. Esterificación con ácido fórmico
- D. Intercambio de deuterio
- E. Oxidación con ácido crómico
- F. Reacción con formaldehído vaporizado

III. Métodos de Sorción

- A. Sorción de yodo
- B. Sorción de bromuro
- C. Sorción de humedad
- D. Sorción de nitrógeno

En general y según algunos autores (HESSLER y POWER, 1954; ROBERTS 1991), los métodos físicos determinan el porcentaje de cristalinidad mientras que los químicos y de sorción determinan la accesibilidad de la celulosa.

La mayoría de los trabajos de determinación de cristalinidad y de accesibilidad se han realizado con algodón, ya que es la fuente con mayor contenido en celulosa y porque se consigue purificar fácilmente. En el caso de la pasta de madera, los tratamientos del proceso pueden causar algunas modificaciones químicas, principalmente la formación de grupos carboxílicos (COOH), y también el incremento de fibrilación de la fibra. En principio, sería de esperar que los grupos COOH incrementaran el grado de hinchamiento de la fibra, a través de efectos osmóticos y de la afinidad de los grupos COOH por el agua. KLUG (1971) opinó que la presencia de grupos COOH puede interferir en el grado de hinchamiento. Sin embargo, NELSON *et al.* (1970) y ROBERTS (1991) manifestaron que aunque puede tener lugar alguna modificación química en las regiones accesibles de la fibra, el incremento de hinchamiento no se traduciría en un incremento del valor de accesibilidad; por tanto, aunque el incremento de grupos COOH aumentaría el carácter hidrofílico de la fibra, su presencia podría conducir a valores superiores de accesibilidad cuando ésta se determina por sorción de humedad, pero en el resto de métodos no parece tener influencia.

En el presente trabajo se pretende hallar una relación entre la cristalinidad y la accesibilidad de la pasta y los efectos de los diferentes reactivos utilizados en el proceso de blanqueo, y las propiedades finales de la pasta.

De las diferentes técnicas que teóricamente existen para determinar la cristalinidad y la accesibilidad, se optó en un primer lugar por la metódica de Sorción de yodo, ya que para fibras textiles es una técnica muy utilizada para determinar la accesibilidad y con la que se obtienen resultados bastante reproducibles.

Posteriormente, también se utilizó la técnica de difracción de rayos-X (XRD) puesto que según información bibliográfica (STEWART y FOSTER, 1976; EVANS *et al.*, 1995; FOCHER *et al.*, 1994; GOSWAMI *et al.*, 1996) es una técnica bastante fiable para la determinación de la cristalinidad en pasta para papel.

Además, desde el punto de vista papelerero existe un control que es el IRA (Índice de Retención de Agua) que consiste en determinar el agua retenida por las pastas, después de un centrifugado enérgico. WEISE (1998) indicó que existe una relación lineal entre el IRA y la cristalinidad de las fibras. Es por ello que la determinación del IRA puede aportar cierta información sobre la cristalinidad o accesibilidad de la pasta, ya que el agua que es retenida en la pasta estará bcalizada principalmente en las zonas amorfas (no cristalinas) de las fibras. Aunque debe tenerse en cuenta que el medio también puede influir en el valor de IRA.

MATERIALES Y MÉTODOS

Materia Prima

Las muestras utilizadas para el estudio del presente capítulo que ya han sido empleadas en anteriores capítulos, son las siguientes:

- Pasta de Eucalipto
 - Cruda, O, X, XO, XOAZ, XOAZR, XOAZRP, XOZP y OAZ₂RP (Capítulos 6 y 8)
 - XOZ a diferentes pH y dosis de ozono (Capítulo 9)
- Pasta de Paja
 - Cruda, X, XO, XOAZ, XOAZR y XOAZRP (Capítulo 7)

Método de sorción de yodo

El método de sorción de yodo que se detalla en el Capítulo 2 (Materiales y Métodos) está basado en el propuesto por SCHWERTASSEK con las modificaciones introducidas por NELSON *et al.* (1970). Existen dos procedimientos, el **directo** (valoración del yodo absorbido por las fibras) y el **indirecto** (valoración del yodo que no ha sido absorbido por las fibras). Se optó por el **indirecto** ya que la valoración del yodo es más fácil, y además NELSON (1970) no encontró diferencias de resultados entre ambos métodos.

La expresión utilizada para el cálculo del índice de sorción de yodo es la siguiente:

$$ISV = \frac{(T_c - T_m) \cdot N \cdot F \cdot M_Y}{P_{m,s}} \quad \text{Ec. 12-1}$$

donde:

ISV	Índice de sorción de yodo (Iodine Sorption Value), expresado en mg yodo/g celulosa
$T_c = T_b \cdot \frac{Y_m}{Y_b}$	Volumen Na ₂ S ₂ O ₃ equivalente al yodo inicial antes de la reacción y corregido con el peso de yodo en la muestra y en el blanco (mL)
T _b	Volumen Na ₂ S ₂ O ₃ de la alícuota del blanco (mL)
Y _m	Peso de la solución de yodo introducida en la muestra (g)
Y _b	Peso de la solución de yodo introducida en el blanco (g)
T _m	Volumen Na ₂ S ₂ O ₃ de la alícuota del sobrenadante de la muestra después de la reacción (mL)
N	Normalidad del Na ₂ S ₂ O ₃ = 0,01 N
F	Factor alícuota (tener en cuenta que el volumen total es de 102 mL)

M_Y	Peso molecular del yodo = 126,91 g/mol
$P_{m,s}$	Peso seco de la muestra (g)

Método de difracción de rayos-X (XRD)

Con las muestras a analizar se prepararon hojas de laboratorio según la norma ISO 5269-2, intentando conseguir que fueran lo más homogéneas posible (BROWNING, 1967).

Se utilizó un difractómetro de rayos-X de geometría BRAGG-BRENTANO $\theta/2\theta$ SIEMENS D-500. Radiación $K\alpha$ del Cu ($\lambda = 1,5418 \text{ \AA}$) a 40 KV y 30 mA. Monocromador secundario de grafito. Obertura de divergencia de $0,3^\circ$ y obertura de recepción de $0,05^\circ$. Se realizaron barridos de 5° a 50° 2θ con tamaño de paso de $0,05^\circ$ y tiempo de medida por paso de 10 s.

Los ensayos se llevaron a cabo en los "Servicios Científico-Técnicos" de la Universidad de Barcelona.

Método de índice de retención de agua (IRA)

El índice de retención de agua o IRA se determinó siguiendo la norma TAPPI UM 256 y Merkblatt IV/33/57, que consiste en determinar el agua contenida por las pastas después de un centrifugado enérgico.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Como se ha comentado anteriormente, en un primer lugar se optó por la metódica de sorción de yodo para la determinación de la accesibilidad de la muestra. Debido a los resultados obtenidos, se optó posteriormente por la técnica de XRD y también por la determinación del índice de retención de agua (IRA) de las muestra. A continuación se presentan los resultados obtenidos y la discusión de los mismos.

Determinación del grado de accesibilidad de pasta de eucalipto mediante el método de sorción de yodo.

El método de sorción de yodo originalmente propuesto por SCHWERTASSEK en 1931, es un método de determinación de la accesibilidad de materiales celulósicos. Debido a que, algunas veces, la técnica de SCHWERTASSEK daba resultados con poca reproducibilidad, fue posteriormente modificada por diferentes autores (HESSLER y POWER, 1954; JEFFRIES *et al.*, 1968; NELSON *et al.*, 1970), coincidiendo con que este método depende de diversas variables del proceso que deben ser cuidadosamente estandarizadas para obtener resultados reproducibles, pero también están de acuerdo en que esta técnica es una vía simple e interesante para comparar accesibilidades relativas de una serie de muestras de celulosa. HESSLER y POWER (1954) obtuvieron resultados por el método de sorción de yodo perfectamente comparables con otros métodos químicos. PANDEY y IYENGAR (1968), BAILEY *et al.* (1958) y JEFFRIES *et al.* (1968) utilizaron este método en fibras de algodón, y

únicamente se ha hallado en la bibliografía a BROWNING (1967) y ROBERTS (1991) que lo utilizaron para pasta de madera.

Con este método se obtiene el índice de sorción de yodo (ISV) que es la cantidad de yodo que ha sido absorbida por la muestra, por lo que indica el grado de accesibilidad de la misma. De manera que cuanto mayor es el valor de ISV de la muestra, mayor es la accesibilidad, lo que puede sugerir una menor cristalinidad de las pastas.

Las muestras que se utilizaron en el método de sorción de yodo fueron siempre de pasta de eucalipto, cruda o bien blanqueada (XO, XOZP y OAZ₂RP).

En los primeros ensayos realizados se siguió el procedimiento descrito en el Capítulo 2, pero los resultados obtenidos para una misma pasta diferían mucho, tenían una gran variabilidad y no eran reproducibles. Así, a modo de ejemplo, para la pasta cruda se obtuvieron resultados de ISV que iban desde 62 a 130 mg I₂/g pasta.

Se pensó que, tal vez, la causa podría deberse a una volatilización del yodo de la muestra a valorar por algún retraso en la operación, por lo que se guardaron los filtrados durante un día y se volvieron a valorar, observándose que los resultados eran prácticamente los mismos, por lo que se descartó la posibilidad de una volatilización del yodo.

Según NELSON *et al.* (1970) las mayores fuentes de variabilidad son: el grado de agitación, el tiempo de reacción con la solución de yodo y el tiempo de reacción con el sulfato sódico. Por ello, se realizaron ensayos controlando la agitación y procurando que fuera la misma en todas las muestras, y se variaron los tiempos de reacción de la solución de yodo y del sulfato sódico. Los resultados continuaron no siendo reproducibles y con gran variabilidad, por lo que se descartaron también estas posibles causas de variabilidad.

Únicamente quedaba pensar en una posible influencia del estado inicial de la muestra, por lo que se realizaron ensayos con pasta secada al aire con sequedad del orden de 31%, con pasta esponjada mecánicamente ("fluff"), con pasta totalmente seca (\cong 93%) y con pasta en forma de formeta u hoja. Los resultados obtenidos continuaban no siendo representativos y con grandes variaciones. Se concluyó que el método de sorción de yodo, en las condiciones estudiadas, no es del todo adecuado para medir la accesibilidad de pastas de madera, debido posiblemente a la gran influencia del estado inicial de la pasta o bien, a la interferencia del contenido de hemicelulosas y de lignina que existen en este tipo de muestras, basándose en la opinión de EVANS *et al.* (1995). En todo caso, queda abierto un tema de estudio para posteriores trabajos de investigación, basados en la mejora de este método para el caso de fibras celulósicas de pasta de papel.

Determinación del índice de cristalinidad mediante la técnica de XRD.

EVANS *et al.* (1995) consideran que aunque existe un gran número de métodos que han sido utilizados para la determinación de la cristalinidad y la accesibilidad de celulosas, son pocos los adecuados para determinar la cristalinidad de celulosas de madera y pasta. Según

bibliografía hallada, únicamente la difracción de rayos-X (STEWART y FOSTER, 1976; AHTEE *et al.*, 1983; HATTULA, 1986; MARTÍNEZ *et al.*, 1990; ZHAN *et al.*, 1991; FOCHER *et al.*, 1994; OLARU *et al.*, 1995; CANETTI *et al.*, 1996; GOSWAMI *et al.*, 1996), la espectroscopía infrarroja (MARTÍNEZ *et al.*, 1990; ZHAN *et al.*, 1991; FOCHER *et al.*, 1994; GOSWAMI *et al.*, 1996; KATAOKA y KONDO, 1996; MANSFIELD *et al.*, 1997) y la espectroscopía NMR (MARTÍNEZ *et al.*, 1990; ZHAN *et al.*, 1991; FOCHER *et al.*, 1994; LENNHOLM y IVERSEN, 1995; CANETTI *et al.*, 1996) han sido utilizados para la determinación de la cristalinidad en madera y pastas. Estos tres métodos son sensibles a diferentes aspectos de orden y desorden, pero no debe sorprender el hecho de que den lugar a valores diferentes de celulosa ordenada y no-ordenada para la misma muestra, ya que tienen sensibilidades distintas. Según EVANS *et al.* (1995), otros métodos que no sean estos, no son aptos para la medida de la cristalinidad debido a la interferencia de las hemicelulosas y de la lignina.

Las estructuras de celulosa presentan tres niveles o tres tipos de organización. Han sido propuestas dos conformaciones moleculares ordenadas y estables, lo que justifica la existencia de dos formas cristalinas, celulosa I y celulosa II. La forma predominante en la celulosa de madera y pasta es la celulosa I (ATALLA y VANDERHART, 1984; UHLIN *et al.*, 1995).

Un difractograma típico de una pasta de madera obtenido con la técnica XRD se muestra en la Figura 12-1. Los máximos que se observan son producidos por reflexiones específicas de las regiones cristalinas. Para determinar el porcentaje de cristalinidad de la muestra, han sido propuestos en la bibliografía diferentes métodos y aproximaciones. Una aproximación simple y utilizada por bastantes autores (BAILEY *et al.*, 1958; SEGAL *et al.*, 1959; BROWNING, 1967; ROBERTS, 1991; BUSCHLE-DILLER y ZERONIAN, 1992 y 1994) consiste en tomar del difractograma la intensidad de un máximo y de un mínimo apropiados para dar un "Índice de cristalinidad" (Crl) definido como:

$$Crl = \left[\frac{I_{002} - I_{am}}{I_{002}} \right] \times 100 = \left[1 - \frac{I_{am}}{I_{002}} \right] \times 100 \quad \text{Ec. 12-2}$$

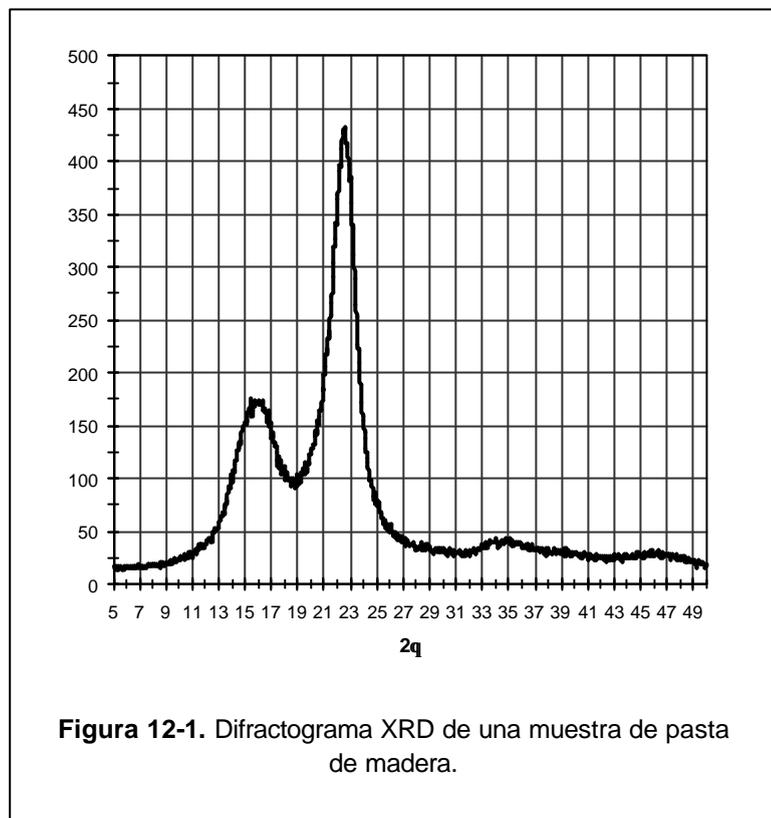
donde:

I_{002} es la intensidad del pico cristalino en el máximo a 2θ entre 22° y 23° para celulosa I (entre 18° y 22° para celulosa II).

I_{am} es la intensidad en el mínimo a 2θ entre 18° y 19° para celulosa I (entre 13° y 15° para celulosa II).

Los estudios de XRD realizados en fibras de madera y pasta hallados en la bibliografía se basan en analizar el efecto de las cocciones sobre la accesibilidad o cristalinidad de las fibras. Sin embargo, no se ha encontrado ningún estudio sobre como varía esta propiedad durante el blanqueo. Únicamente se ha hallado el estudio de ROY *et al.* (1994) sobre la

cristalinidad medida por XRD de fibras de yute, la cual aumenta a medida que las fibras son blanqueadas.



Los cambios en la cristalinidad de la celulosa durante procesos de cocción kraft y alcalinos muestran que la proporción de celulosa cristalina fue mayor en la pasta que en la madera inicial, debido a la eliminación de lignina y hemicelulosas durante la cocción y/o a la eliminación de celulosa menos ordenada (HATTULA, 1986; EVANS *et al.*, 1995). STEWART y FOSTER (1976) encontraron que había una pérdida de celulosa cristalina durante la cocción kraft, que atribuyeron a una disolución durante la cocción, de pequeños cristales de celulosa. Basándose en estudios adicionales, llegaron a la conclusión que durante la cocción tiene lugar una descristalización de cristales de celulosa y una cristalización de celulosa amorfa. También AHTEE *et al.* (1983) encontraron que el índice de cristalinidad es inferior en las paredes M+P+S₁ que en las paredes S₂+S₃ de la fibra.

Los estudios de XRD llevados a cabo en este trabajo se han realizado sobre pasta de eucalipto y de paja de trigo, y los resultados se muestran en las Tablas 12-I y 12-II. A continuación se realiza una discusión de los valores obtenidos.

Tabla 12-I

Índices de cristalinidad (Crl) medidos mediante XRD, de muestras de pasta de eucalipto y de paja de trigo.

	Crl (%)	
	EUCALIPTO	PAJA
Cruda	78,9	74,4
O	81,9	
X	81,8	75,5
XO	83,7	77,8
XOAZ	83,5	75,6
XOAZR	84,6	77,9
XOAZRP	83,2	75,8
XOZP	83,7	
OAZ ₂ RP	82,8	

Tabla 12-II

Índices de cristalinidad (Crl) medidos mediante XRD, de pasta de eucalipto XO blanqueada a diferentes pH y dosis de ozono.

pH	Dosis ozono (% s.p.s.)	Crl (%)	Viscosidad (mL/g)	Indice kappa
2,5	3	82,9	809	2,8
	8	81,0	726	1,3
	20	80,6	606	1,3
10	2	82,2	802	5,4
	8	81,9	667	2,4
	40	82,5	358	0,9

Efecto del pretratamiento enzimático y de la deslignificación con oxígeno en la cristalinidad

En la Figura 12-2 (a) se muestran los valores de índice de cristalinidad (Crl) de las primeras etapas de muestras de pasta de eucalipto (cruda, O, X y XO) y de pasta de paja de trigo (cruda, X y XO). Como puede observarse, en la pasta de eucalipto, el Crl aumenta casi un

4% con la deslignificación con oxígeno (O) respecto a la pasta cruda, lo que indica que se produce una variación en la relación de las zonas cristalinas y amorfas. Cuando además se aplica la enzima (pasta XO), el incremento de CrI es del 6%, indicando que el pretratamiento enzimático también aumenta la cristalinidad de la muestra. En el caso de la pasta de paja, igualmente se produce un incremento del CrI en la pasta XO, aunque del orden de 5%. Este aumento de la cristalinidad mediante un tratamiento enzimático es diferente a los resultados obtenidos por BUSCHLE-DILLER y ZERONIAN (1994) y BUSCHLE-DILLER *et al.* (1994), los cuales no hallaron variaciones en la cristalinidad después de la hidrólisis enzimática, es decir, que la relación de regiones cristalinas y regiones menos ordenadas no variaba con la degradación enzimática, aunque debe indicarse que la enzima utilizada por estos autores era una celulasa.

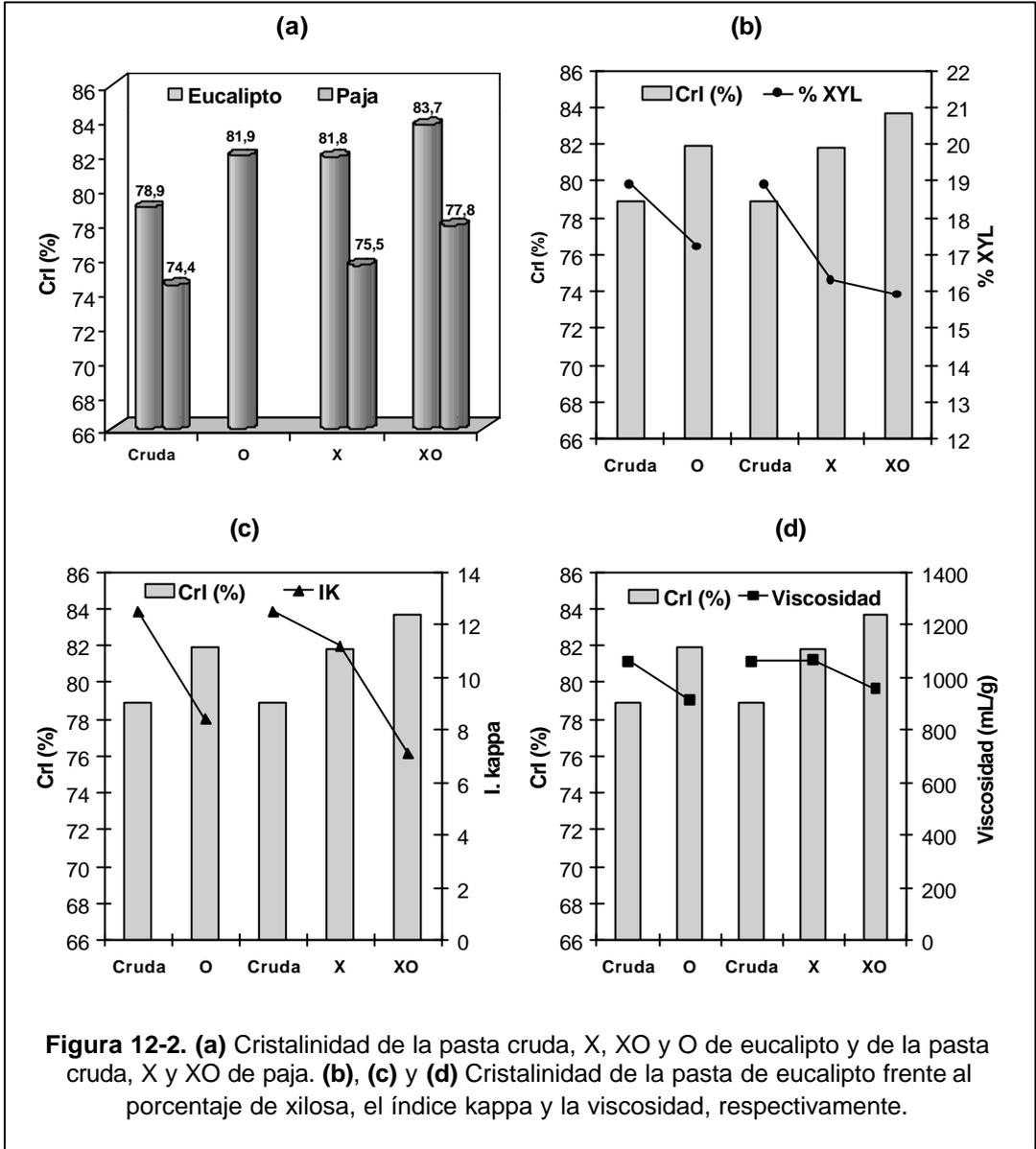
Así pues, en el presente estudio, tanto en pasta de eucalipto como de paja, la etapa de deslignificación con oxígeno y el tratamiento enzimático aumentan la cristalinidad. Pero, ¿a qué se debe este incremento de cristalinidad?. La duda está en si realmente durante estos dos estadios se produce una eliminación de celulosa amorfa, o bien las hemicelulosas y la lignina interfieren en la medida, como indicaba EVANS *et al.* (1995), ya que en estas primeras etapas el contenido en hemicelulosas y en lignina es elevado. Para intentar resolver la duda se han representado en la Figura 12-2 (b), (c) y (d), los valores de CrI de la pasta de eucalipto contrastados con los valores de contenido en xilosa (%XYL) obtenidos en el Capítulo 10 y los valores de índice kappa (IK) y viscosidad calculados en el Capítulo 8.

Comparación pastas cruda y O: La deslignificación con oxígeno (O) disminuye el IK de 12,5 a 8,4 (Fig. 12-2 (c)) y el %XYL de 18,9 a 17,2 (Fig. 12-2 (b)), lo que puede explicar el incremento de CrI de 78,9 a 81,9%, al eliminarse lignina y hemicelulosas que son material amorfo. La viscosidad también disminuye en la etapa O de 1062 a 912 mL/g (Fig. 12-2 (d)), lo que indica que se está produciendo una degradación de la celulosa, pero como al mismo tiempo aumenta el grado de cristalinidad, significa que la deslignificación con oxígeno seguramente degrada preferentemente la fracción amorfa de la celulosa.

Comparación pastas cruda y XO: Con el tratamiento XO ocurre lo mismo que con la etapa O, pero de forma más pronunciada, es decir, la disminución del IK (de 12,5 a 7,1) y del %XYL (de 18,9 a 15,9) es mayor, lo que se traduce en una mayor cristalinidad alcanzándose el valor de 83,7% para la pasta XO. En cuanto a la degradación de la celulosa, es ligeramente inferior al caso anterior, pasando la viscosidad de 1062 a 956 mL/g.

Comparación pastas cruda y X: Con el tratamiento enzimático, el IK disminuye ligeramente de 12,5 a 11,2, sin embargo el %XYL disminuye considerablemente de 18,9 a 16,3 indicando una reducción de xilanos relativa al contenido de glucosa. Por tanto se han eliminado hemicelulosas (material amorfo), lo que se traduce en un incremento de CrI pasando de 78,9% a 81,8%. Como además la viscosidad se mantiene prácticamente igual (1062 / 1066 mL/g), puede deducirse que el incremento de cristalinidad durante el

tratamiento enzimático es debido principalmente a una eliminación de xilanos como material amorfo.



Comparación X y O: La cristalinidad de las pastas X (81,8% Crl) y O (81,9% Crl) es muy similar, mientras que el contenido en XYL es menor en la pasta X (16,3%) que en la pasta O (17,2%), indicando una mayor eliminación de xilanos durante el tratamiento enzimático, y por tanto debería observarse un mayor valor de Crl. Lo que ocurre, muy probablemente, es que una parte de estos xilanos que se eliminan, son xilanos que se han reprecipitado y cristalizado en la superficie de la fibra durante la cocción kraft (BROWNING, 1967; PHAM *et al.*, 1995; VIKARI *et al.*, 1996; ALLISON *et al.*, 1997; SHAH *et al.*, 2000), por lo que al ser

eliminados por el tratamiento enzimático, también se está eliminando material cristalino, compensándose así el valor de Crl. De hecho, MARCHESSAULT *et al.* (1967) indicaron que los xilanos pueden cocrystalizar con la celulosa, y que en el caso de las frondosas, las cadenas de xilanos aparecen más lineales o ligeramente ramificadas, por lo que se puede esperar una mayor facilidad en que sean cristalizados. Pero esta no puede ser la única explicación, porque si no el Crl de la pasta X (81,8%) no sería superior a la de la pasta cruda (78%) como se ha visto en el apartado anterior. Además, el IK de la pasta O (8,4) es inferior al de la pasta X (11,2), lo que debería dar lugar a una mayor cristalinidad de la pasta O, lo cual no ocurre. Por tanto, lo más probable es que el incremento de Crl que se produce en ambas pastas X y O respecto a la pasta cruda, sea debido a causas diferentes. En el caso de la pasta X, el aumento de Crl se produce principalmente por la eliminación de xilanos más o menos amorfos, mientras que en la pasta O es debido a la eliminación de lignina y hemicelulosas, y probablemente a la degradación de la fracción amorfa de la celulosa, como ya se ha indicado anteriormente.

Comparación X y XO: La cristalinidad aumenta en la pasta XO (83,7% Crl) en relación con el tratamiento enzimático X (81,8% Crl) y como el %XYL sólo disminuye ligeramente pasando de 16,3 a 15,9%, este incremento en Crl no puede ser debido únicamente a una eliminación de xilosa o hemicelulosas amorfas. Sin embargo, el IK disminuye (de 11,2 a 7,1) y la viscosidad también (de 1066 a 956 mL/g) lo que indica que se está eliminando lignina y degradando posiblemente celulosa amorfa ya que el Crl aumenta. Así pues, de nuevo se corrobora que la degradación de celulosa que se produce durante la deslignificación con oxígeno, puede tener lugar preferentemente en la fracción amorfa.

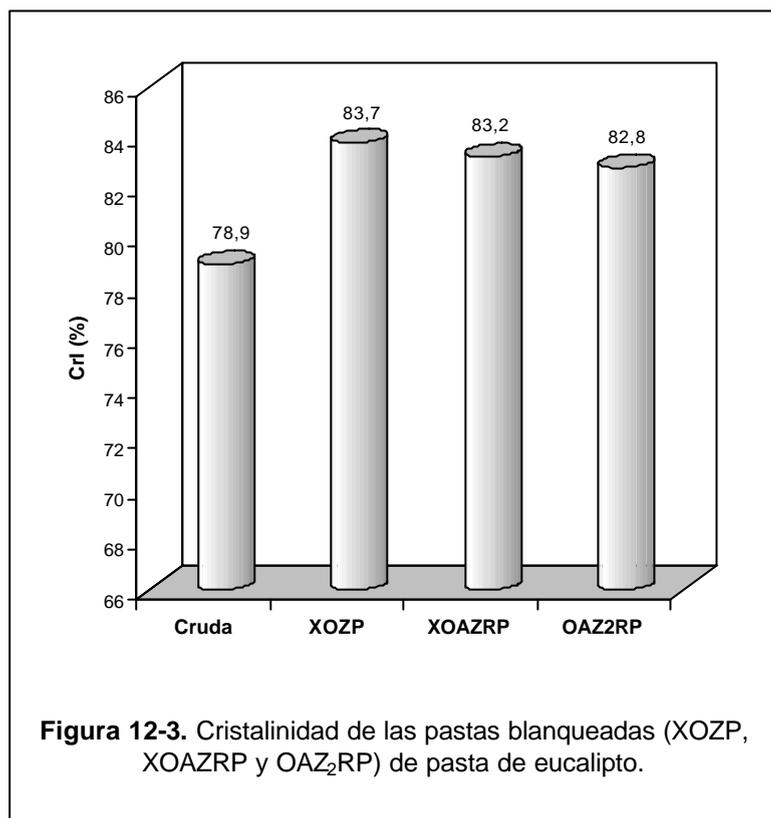
Comparación O y XO: El Crl es superior en la pasta XO (83,7%) en relación a la pasta O (81,9%). En este caso la viscosidad de ambas pastas es muy similar (912 / 956 mL/g), el IK es ligeramente inferior en la pasta XO (7,1) en comparación con la pasta O (8,4) y el %XYL es de 15,9 y 17,2 respectivamente. Así, el incremento de cristalinidad es debido básicamente a la eliminación de xilanos que ha tenido lugar durante el pretratamiento enzimático, pudiendo influir también el menor contenido en lignina en la pasta XO.

Puede concluirse que: a) la eliminación de hemicelulosas y lignina incrementan la cristalinidad de la fibras de celulosa, b) la aplicación de un tratamiento enzimático da lugar a una pasta con una mayor cristalinidad debido principalmente a una eliminación de xilanos (hemicelulosas más o menos amorfas); c) la degradación de celulosa que se produce durante la deslignificación con oxígeno, puede tener lugar preferentemente en la fracción amorfa.

Efecto de las secuencias de blanqueo XOZP, XOAZRP y OAZ₂RP en la cristalinidad final de la pasta

En la Figura 12-3 aparecen los valores de cristalinidad de las secuencias XOZP, XOAZRP y OAZ₂RP de pasta de eucalipto. Todas las secuencias muestran una cristalinidad final mayor

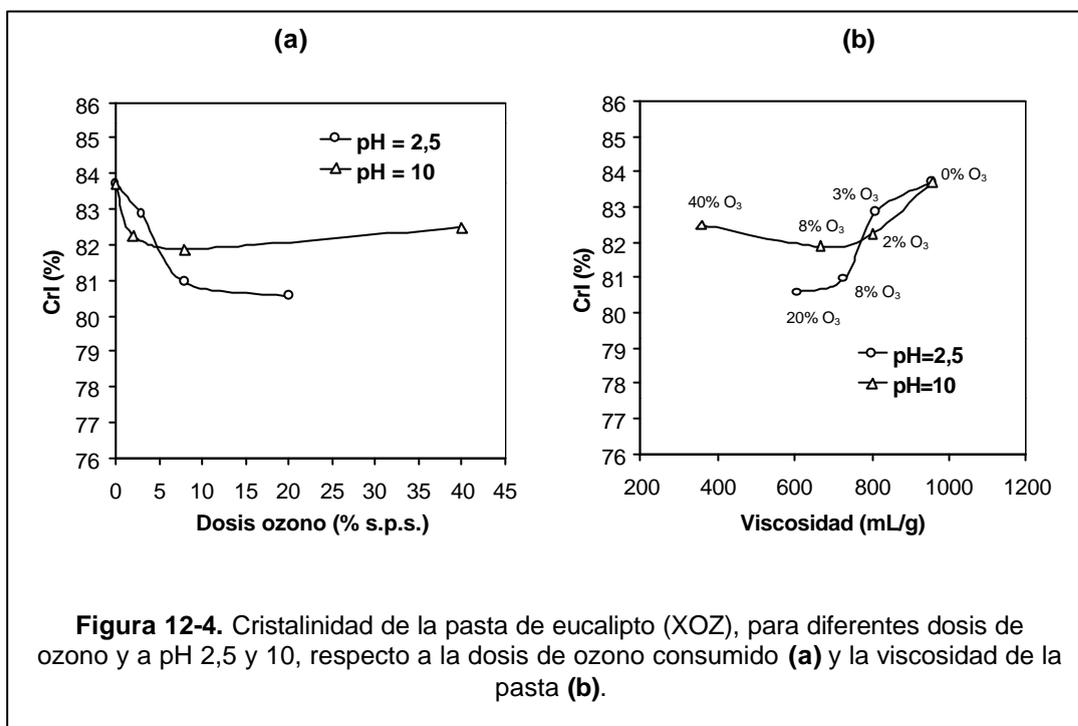
con respecto a la pasta cruda, por tanto, el blanqueo de la pasta elimina zonas amorfas de las fibras, por lo que la celulosa que permanece es más cristalina. Los tres valores de Crl de las pastas blanqueadas no son muy diferentes, pero parece observarse una ligera tendencia a disminuir en el caso de la pasta que no contiene tratamiento enzimático (OAZ₂RP). Esto podría estar relacionado con una mayor eliminación de xilanos debido a la acción de la xilanasa.



Efecto del blanqueo con ozono a diferentes pH y dosis de ozono, en la cristalinidad

Para poder observar el efecto del ozono sobre la cristalinidad de la pasta a diferentes pH, se tomaron muestras XOZ de pasta de eucalipto a diferentes dosis de ozono y a pH 2,5 (con ácido sulfúrico) y 10, del estudio cinético (Capítulo 9) (Tabla 12-II). Los resultados del grado de cristalinidad respecto a la dosis de ozono se muestran representados en la Figura 12-4 (a), donde puede observarse que al aplicar ozono la cristalinidad disminuye indicando que el ozono parece reaccionar en las partes cristalinas de la celulosa. A pH 10 y 2% de O₃ se produce una disminución inicial del Crl pasando de 83,7% a 82,2% pero luego prácticamente no varía al aumentar la dosis de ozono. No ocurre lo mismo a pH 2,5, donde la disminución del Crl es más pronunciada y no parece estabilizarse hasta dosis mayores del 10%, dando lugar finalmente a un Crl (80,6%) menor que a pH 10. Con relación a la

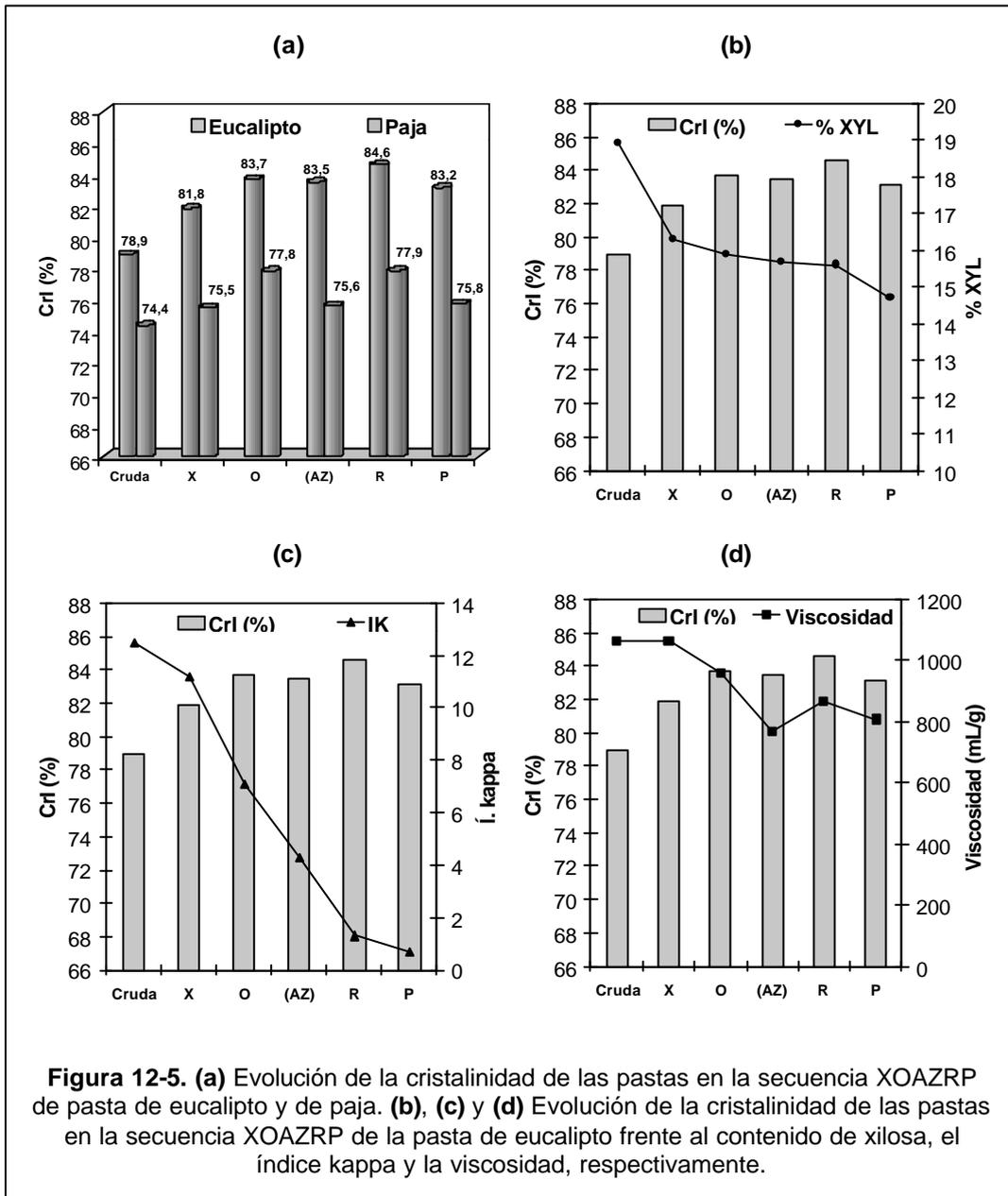
viscosidad, ésta disminuye tanto a pH 2,5 como a pH 10, obteniéndose en este último caso una viscosidad inferior (Figura 12-4 (b)). Así, si durante el blanqueo con ozono la cristalinidad y la viscosidad disminuyen, significa que al principio (bajas dosis de ozono) el ozono o sus especies radicales pueden degradar la fracción cristalina de la celulosa. El hecho de que a pH 10 al aumentar la dosis de ozono no se produzca prácticamente variación en el Crl y la viscosidad sí disminuye, indica que el ozono o sus especies radicales a este pH y altas dosis parece degradar indistintamente las fracciones amorfa y cristalina de la celulosa. A pH 2,5, se llega a valores inferiores de Crl que a pH 10, sin embargo la viscosidad es mayor. Esto indica que el ozono a pH 2,5 parece actuar preferentemente sobre las zonas cristalinas, lo que se contradice con GODSAY y PEARCE (1984), que indican que el ozono reacciona inicialmente en las regiones menos cristalinas lo cual se traduciría en un aumento de la cristalinidad.



Efecto de las etapas de blanqueo en la cristalinidad. Aplicación del ácido oxálico (A) y del borohidruro sódico (R)

En la Figura 12-5 (a) y Tabla 12-1 se muestran los valores de cristalinidad después de cada etapa de blanqueo de la secuencia XOAZRP de la pasta de eucalipto y la pasta de paja. Después del blanqueo con ozono (AZ) la cristalinidad se mantiene en el caso de la pasta de eucalipto, mientras que en la pasta de paja disminuye un 3% con respecto a la pasta deslignificada con oxígeno. En cuanto al borohidruro sódico (R), se observa que tanto en la pasta de eucalipto como en la de paja, la cristalinidad aumenta un 1,3% y 3%

respectivamente. La etapa de blanqueo con peróxido de hidrógeno (P) supone una disminución de la cristalinidad del 1,7% y del 2,7% en la pasta de eucalipto y de paja, respectivamente. Pero el valor final de cristalinidad es un 5,5% mayor en la pasta de eucalipto respecto a la cruda, y un 2% mayor en la pasta de paja. Por tanto, el blanqueo incrementa la cristalinidad de la pasta de eucalipto y de paja.



Los valores de Crl de la pasta de eucalipto son siempre mayores que los de la pasta de paja, siendo un 6% mayor en la pasta cruda y un 10% mayor en la pasta blanqueada

XOAZRP. Esto puede ser debido al mayor contenido de componentes no fibrosos de la pasta de paja.

Pero en general puede decirse que el efecto en la cristalinidad de las diferentes etapas de blanqueo sigue más o menos la misma tendencia en ambas pastas (eucalipto y paja). Pero, ¿a qué se debe la variación de cristalinidad que se produce en los diferentes estadios de blanqueo?. Para esclarecerlo se han tenido en cuenta los valores de porcentaje en xilosa (%XYL), de índice kappa (IK) y de viscosidad de la pasta de eucalipto, que se han representado respecto a los resultados de Crl en la Figura 12-5 (b), (c) y (d), respectivamente.

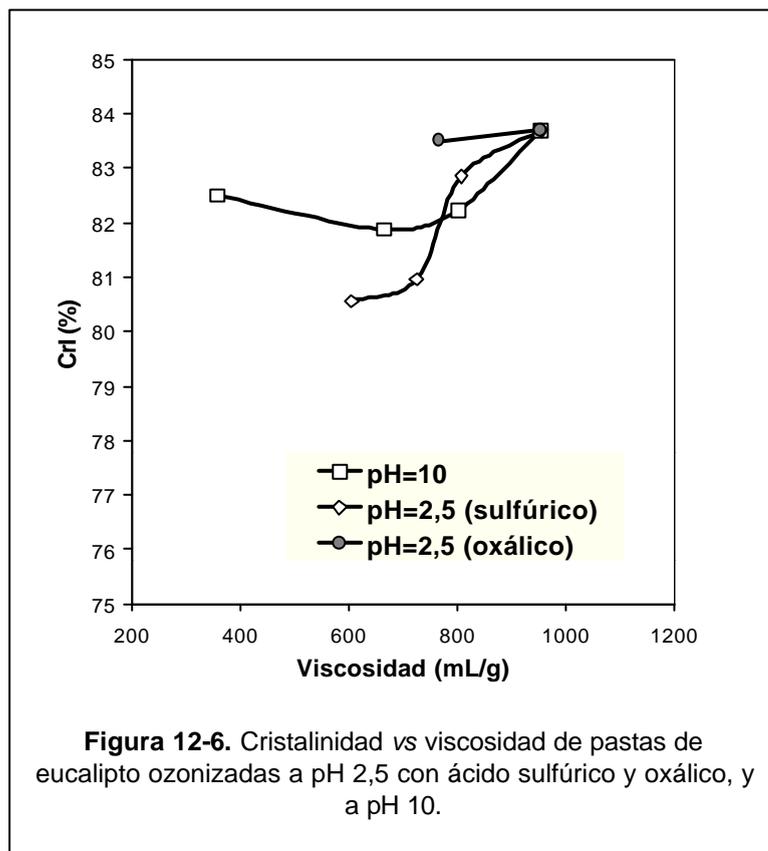
Etapa Z con ácido oxálico: Con el blanqueo Z con ozono (AZ) en pasta de eucalipto, el Crl no varía respecto a la anterior etapa de deslignificación con oxígeno. Tampoco varía el %XYL, por lo que no se está eliminando xilosa, de lo contrario podría incrementar el valor de Crl. Pero sí que disminuye el contenido en lignina (IK), lo que debería traducirse en un incremento de Crl. Esta deslignificación es incluso menor que la que se produce en el estudio del apartado anterior del efecto del blanqueo con ozono a diferentes pH y dosis de ozono (Tabla 12-II), y no obstante se ha hallado que la cristalinidad disminuye con el ozono, tanto a pH 10 como a pH 2,5 (alcanzado con ácido sulfúrico). En la pasta XOAZ de este apartado, el blanqueo con ozono se ha realizado también a pH 2,5 pero en presencia de ácido oxálico que se ha utilizado como aditivo en lugar de ácido sulfúrico. Por consiguiente, la única diferencia en los blanqueos con ozono a pH de 2,5 es el aditivo utilizado, por lo que, la causa probable de que la cristalinidad no disminuya durante el estadio con ozono sólo puede ser debida a la presencia de ácido oxálico. En la Figura 12-6 se muestran representados los valores de Crl y de viscosidad después del estadio Z, del estudio del apartado anterior (pH 10 y 2,5 con ácido sulfúrico) y del presente apartado (pH 2,5 con ácido oxálico). Como puede observarse, para una viscosidad de la pasta de aproximadamente 800 mL/g, la cristalinidad de la muestra con ácido oxálico (83,5% Crl) está ligeramente por encima de las muestras a pH 10 (82,2% Crl) e incluso de la muestra a pH 2,5 (82,9% Crl). Esto indica que aunque el ozono reacciona con la celulosa para altas viscosidades, si se disminuye el pH de 10 a 2,5 con ácido oxálico, se puede evitar la degradación excesiva de la fracción cristalina de la celulosa, es decir, el ácido oxálico parece actuar protegiendo principalmente la fracción ordenada de la celulosa o bien haciéndola menos accesible, en comparación a pH alcalinos, e incluso con el tratamiento al mismo pH pero con ácido sulfúrico.

Etapa R (borohidruro sódico): En esta etapa la cristalinidad aumenta ligeramente, de 83,5% a 84,6% en pasta de eucalipto y de 75,7% a 77,9% en pasta de paja, con relación a la etapa Z. Sin embargo el %XYL no varía, pero sí que disminuye el índice kappa por lo que podría explicar el aumento de cristalinidad (Figura 12-5). También se observa un incremento de la viscosidad. En los estudios de las lejías de esta etapa R (Capítulo 6) se obtenían valores de DQO en pasta de eucalipto bastante elevados (13,3 y 12,1 kg/t pasta),

que se atribuían a la posible eliminación de lignina e incluso de hidratos de carbono de bajo peso molecular. Observando los valores de cristalinidad y de viscosidad, se puede decir incluso que se trata de una fracción de celulosa menos ordenada o amorfa, puesto que tanto la cristalinidad como la viscosidad de esta etapa aumentan.

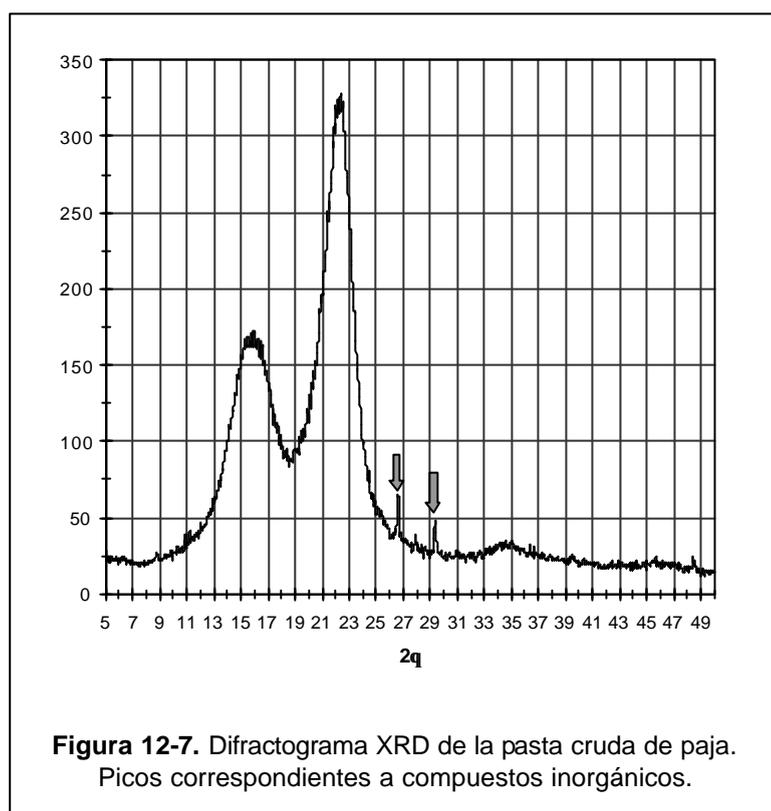
Etapa P. En este caso la cristalinidad disminuye ligeramente en relación a la etapa R, pasando de 84,6% a 83,2% Crl en pasta de eucalipto y de 77,9% a 75,8% Crl en pasta de paja. Sin embargo, en pasta de eucalipto el contenido en xilosa disminuye de 15,6% a 14,7% XYL y el índice kappa también, por lo que el Crl debería aumentar (Figura 12-5). Por tanto, puesto que la viscosidad también disminuye, de 865 a 807 mL/g, significa que la degradación de la celulosa que se produce durante el blanqueo con peróxido de hidrógeno parece tener lugar preferentemente en la fracción más ordenada, deduciéndose así que el peróxido de hidrógeno puede reaccionar en las partes más cristalinas de la celulosa.

Como puede observarse, los agentes de blanqueo actúan de diferente forma sobre la celulosa, afectando así la cristalinidad, es decir, la proporción de zonas amorfas y cristalinas de la pasta.



Aparición de picos correspondientes a compuestos inorgánicos en la pasta de paja

En los difractogramas de las diferentes muestras de pasta de paja, aparecieron ciertos picos que fueron analizados por XRD y que correspondían a compuestos inorgánicos. En la Figura 12-7 se muestra un ejemplo de difractograma de la pasta cruda de paja. El pico que aparece a $26,6 \ 2\theta$ corresponde a SiO_2 y el que aparece a $29,4$ corresponde a CaCO_3 . En este tipo de materia prima como es la paja, es muy común que existan contenidos en sílice que pueden dar problemas en el proceso de fabricación, ya que la sílice es abrasiva, pudiendo deteriorar ciertos componentes del proceso de fabricación del papel (telas, cuchillas, ...).



Relación del índice de retención de agua (IRA) e índice de cristalinidad (Crl) por XRD.

BUSCHLE-DILLER y ZERONIAN (1994), y INGLESBY y ZERONIAN (1996), determinaron el IRA de muestras de algodón ya que según ellos, es una manera de determinar la capacidad total de retención de agua de la pared secundaria de la fibra, y que por tanto podría dar información de si el tratamiento realizado a la fibra causaba cambios en las regiones no cristalinas o menos ordenadas.

El IRA mide el agua retenida por las fibras después de haber realizado un centrifugado enérgico, de manera que parte de esta agua puede estar retenida por zonas amorfas, y tal

como ya se ha indicado anteriormente, puede haber una relación lineal con el grado de cristalinidad de la pasta (WEISE, 1998).

En la Tabla 12-III se muestran los valores de IRA de las muestras analizadas, de pasta de eucalipto y de paja.

Tabla 12-III
Índices de retención de agua (IRA) de pasta de eucalipto y de paja después de diferentes tratamientos de blanqueo.

	% IRA	
	Eucalipto	Paja
Cruda	132,2	220,6
O	130,8	
X	136,4	207,2
XO	129,3	181,4
XOZP	126,5	
XOAZRP	125,4	
OAZ₂RP	127,2	

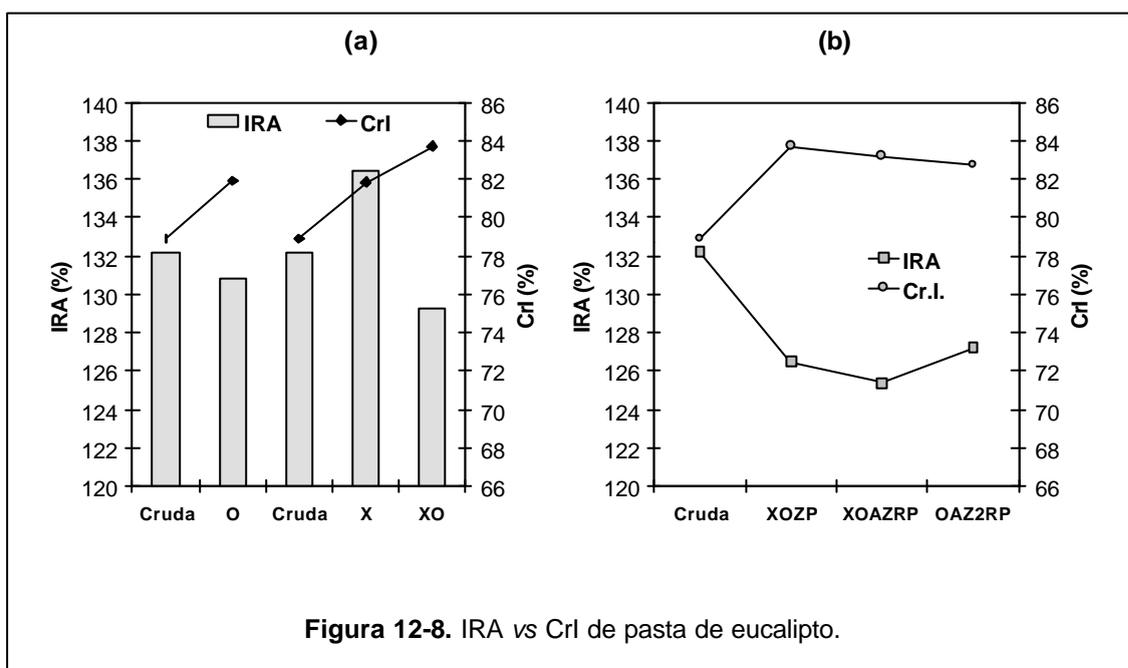
Analizando primeramente el efecto del tratamiento enzimático en la pasta de eucalipto (Figura 12-8 (a)), se observa como la etapa X da lugar a un valor de IRA mayor, mientras que la deslignificación con oxígeno disminuye el IRA. Una disminución del IRA, generalmente significaría un mayor grado de cristalinidad. Sin embargo, lo que discrepa son los valores de CrI y de IRA de la etapa X. Según el valor de CrI, el pretratamiento enzimático incrementa la cristalinidad, mientras que según el valor de IRA, aumenta la accesibilidad. BUSCHLE-DILLER *et al.* (1994) aplicaron celulasa a diferentes fibras celulósicas y obtuvieron un incremento del valor de IRA, mientras que el valor de CrI permanecía prácticamente invariable. Esta diferencia la atribuyeron a la fibrilación que tiene lugar durante el tratamiento enzimático. De hecho, en el estudio de microscopía (Capítulo 11) de las fibras tratadas enzimáticamente se observaba claramente un efecto de *peeling* con la consecuente aparición de más puntos o zonas accesibles, zonas que pueden facilitar la absorción de agua y por tanto dar lugar a un mayor valor de IRA.

En todo caso, el valor de IRA de la pasta XO es más de un 1% menor que la pasta O, por tanto, es menos accesible y también más cristalina, puesto que el CrI de la pasta XO (83,7%) es superior al de la pasta O (81,9%).

En cuanto a los valores de la pasta de paja (Tabla 12-III), se observa que igualmente el IRA es inferior después de la etapa O. Sin embargo difiere con la pasta de eucalipto en el valor

de la etapa X, ya que en la paja disminuye. Esto podría ser debido a que en la paja hay mucho contenido en material no fibroso o finos que se eliminan principalmente en las primeras etapas de blanqueo. O bien puede ser debido a un menor efecto de la enzima o a una actuación diferente de la misma. En pastas kraft hay xilanos depositados y cocrystalizados en la superficie de la fibra, que dificultan la accesibilidad de los reactivos. Entonces, al aplicar la xilanasas en la paja, esta actúa hidrolizando las hemicelulosas que halle, pero tampoco afecta a la accesibilidad de la fibra ya que éstas no estarán depositadas en la superficie de la fibra dificultando el acceso de reactivos.

En cuanto a los valores de las secuencias totalmente blanqueadas de la pasta de eucalipto (Figura 12-8 (b)), se observa que los valores de IRA son inferiores en las pastas blanqueadas con respecto a la pasta cruda y los valores de CrI superiores. E igualmente, la pasta sin tratamiento enzimático (OAZ₂RP) resulta tener menor CrI y un mayor IRA que la misma secuencia pero con tratamiento enzimático (XOAZRP).



CONCLUSIÓN

La fibra celulósica es un agregado policristalino, formado por regiones cristalinas y regiones amorfas, las cuales podrían estar relacionadas con el comportamiento de la fibra frente a diferentes reactivos, y con las propiedades finales de la pasta.

En este capítulo se han utilizado diferentes técnicas para la determinación del grado de cristalinidad y de accesibilidad de las fibras celulósicas de pasta de papel, con el fin de

relacionar estas propiedades y los efectos de los diferentes reactivos utilizados durante el proceso de blanqueo de las pastas. Para ello se han aplicado las técnicas de sorción de yodo, de difracción de rayos-X e índice de retención de agua.

Después de realizar diferentes ensayos según el método de sorción de yodo se concluye que esta técnica, en las condiciones estudiadas, no es adecuada para medir la accesibilidad de pastas de madera, debido posiblemente a la gran influencia del estado inicial de la pasta o bien, a la interferencia del contenido de hemicelulosas y de lignina que existen en este tipo de muestras. Aunque queda abierto un tema de estudio para posteriores trabajos de investigación.

Los índices de cristalinidad medidos según la técnica de difracción de rayos-X (XRD) muestran que, según las secuencias TCF estudiadas, el blanqueo aumenta el grado de cristalinidad de la pasta, disminuyendo las zonas amorfas por lo que la celulosa que permanece es más cristalina, tanto en pasta de eucalipto como de paja. Estos resultados se relacionan con los valores obtenidos de índice de retención de agua (IRA).

La cristalinidad de la pasta de paja sigue aproximadamente la misma evolución de la pasta de eucalipto, aunque siempre con valores inferiores, lo que puede ser debido al gran contenido de material no fibroso. En los difractogramas obtenidos de la pasta de paja se detectaron impurezas inorgánicas como el SiO_2 y el CaCO_3 .

Según los valores de CrI obtenidos por XRD, tanto el tratamiento enzimático como la deslignificación con oxígeno aumentan la cristalinidad, afectando a la relación de zonas cristalinas y amorfas, pero lo hacen de forma diferente, influyendo la eliminación de hemicelulosas y lignina. En la deslignificación con oxígeno, parte del aumento de la cristalinidad probablemente es debido a que el oxígeno puede degradar preferentemente a la celulosa de la fracción amorfa. El tratamiento enzimático aumenta el valor de CrI debido principalmente a una eliminación de xilanos. Contrariamente, los valores de IRA de la pasta X de eucalipto no se relacionan con el aumento del CrI, lo que puede ser debido a que durante este tratamiento se produce una fibrilación de la fibra que aumentaría las zonas accesibles, por tanto, los puntos de absorción de agua.

En cuanto al blanqueo con ozono se observa que el ozono disminuye ligeramente la cristalinidad tanto a pH 10 como pH 2,5 con ácido sulfúrico. A altas dosis de ozono y a pH 2,5 (con ácido sulfúrico), el ozono parece reaccionar preferentemente con las partes más cristalinas de la celulosa disminuyendo el CrI, mientras que a pH 10 parece reaccionar indistintamente con la celulosa amorfa y cristalina. Sin embargo, a pH 2,5 con ácido oxálico, se consigue mantener el grado de cristalinidad, lo que indica que el ácido oxálico actúa disminuyendo la accesibilidad a la celulosa cristalina y por tanto, evitando que el ozono degrade excesivamente fracción de celulosa más ordenada.

Con el tratamiento R (borohidruro sódico) se aumenta ligeramente la cristalinidad y la viscosidad, y también se obtiene una DQO elevada, lo que parece indicar que esta etapa

produce una eliminación de fracción de celulosa de bajo peso molecular y menos ordenada o amorfa.

En el blanqueo P, la cristalinidad disminuye ligeramente, así como el porcentaje en xilosa, el índice kappa y la viscosidad, por lo que se deduce que la degradación de la celulosa que se produce durante el blanqueo con peróxido de hidrógeno parece tener lugar preferentemente en las partes más cristalinas de la celulosa.

Como puede observarse, los agentes de blanqueo actúan de diferente forma sobre la celulosa, afectando así en la cristalinidad, es decir, en la proporción de zonas amorfas y cristalinas de la pasta.

REFERENCIAS

- AHTEE, M.; HATTULA, T.; MANGS, J.; PAAKKARI, T. (1983). An X-ray diffraction method for determination of crystallinity in wood pulp. *Paperi Ja Puu*, 65(8): 475-480.
- ALLISON, R.W.; MCGROUTHER, K.G.; ELLIS, M.J. (1997). Optimizing the effects of interstage peroxymonosulphate treatment on two-stage oxygen delignification. *Journal of Pulp and Paper Science*, 23(9): 433-438.
- ATALLA, R.H.; VANDERHART, D.L. (1984). Native cellulose: a composite of two distinct crystalline forms. *Science*, 223: 283-285.
- BAILEY, A.V.; HONOLD, E.; SKAU, E.L. (1958). Topochemical mechanisms involved in the preparation and deacetylation of partially acetylated cottons. *Textile Research Journal*, 28 (10): 861-873.
- BROWNING, B.L. (1967). Chapter 24: Crystallinity and accessibility. En: WILEY, J. (ed.). *Methods of Wood Chemistry*. U.S.A.: Interscience Publishers, p. 499-518.
- BUSCHLE-DILLER, G.; ZERONIAN, S.H. (1992). Enhancing the reactivity and strength of cotton fibers. *Journal of Applied Polymer Science*, 45: 967-979.
- BUSCHLE-DILLER, G.; ZERONIAN, S.H. (1994). Enzymatic and acid hydrolysis of cotton cellulose after slack and tension mercerization. *Textile Chemist and Colorist*, 26 (4): 17-24.
- BUSCHLE-DILLER, G.; ZERONIAN, S.H.; PAN, N.; YOON, M.Y. (1994). Enzymatic hydrolysis of cotton, linen, ramie, and viscose rayon fabrics. *Textile Research Journal*, 64 (5): 270-279.
- CANETTI, M.; COSENTINO, C.; BOCCHIO, L.; GASTALDI, G.; FOCHER, B. (1996). Characterization of non-wood plant cellulose by X-ray and solid-state ¹³C NMR. *Fourth European Workshop on Lignocellulosics and Pulp*. Stresa, Italy, p. 283-291.

- EVANS, R.; NEWMAN, R.H.; ROICK, U.C.; SUCKLING, I.D.; WALLIS, A.F.A. (1995). Changes in cellulose crystallinity during kraft pulping. Comparison of infrared, X-ray diffraction and solid state NMR results. *Holzforschung*, 49 (6): 498-504.
- FOCHER, B.; CAPRETTI, G.; MARZETTI, A.; KOTKA, B.V.; HUA, X.; KALIAGUINE, S. (1994). Sulfonated aspen pulps. Effect of vapor-phase cooking temperature on the fiber structure. *Cellulose Chemistry and Technology*, 28 (6): 629-648.
- GACÉN, J.; MAILLO, J. (1987). *Algodón y Celulosa. Estructura y propiedades*. Terrassa (España): Universidad Politécnica de Cataluña.
- GARCÍA HORTAL, J.A. (1994). *Constituyentes fibrosos de pastas y papeles*. Terrassa (España): Departamento de Ingeniería Textil y Papelera; Especialidad Papelera y Gráfica.
- GODSAY, M.P.; PEARCE, E.M. (1984). Physico-Chemical Properties of Ozone Oxidized Kraft Pulps. *Tappi Oxygen Delignification Symposium*. San Francisco, p. 55–70.
- GOSWAMI, T.; SAIKIA, C.N.; BARUAH, R.K.; SARMA, C.M. (1996). Characterization of pulp obtained from *Populus Deltoides* plants of different ages using IR, XRD and SEM. *Bioresource Technology*, 57 (2): 209-214.
- HATTULA, T. (1986). Effect of kraft cooking on the ultrastructure of wood cellulose. *Paperi Ja Puu*, 68: 926-931.
- HESSLER, L.E.; POWER, R.E. (1954). The use of iodine adsorption as a measure of cellulose fiber crystallinity. *Textile Research Journal*, 24 (9): 822-827.
- INGLESBY, M.K.; ZERONIAN, S.H. (1996). The accessibility of cellulose as determined by dye adsorption. *Cellulose*, 3: 165-181.
- JEFFRIES, R.; ROBERTS, J.G.; ROBINSON, R.N. (1968). Accessibility and reaction sites in cotton. *Textile Research Journal*, 38 (3): 234-244.
- KATAOKA, Y.; KONDO, T. (1996). Changing cellulose crystalline structure in forming wood cell walls. *Macromolecules*, 29 (19): 6356-6358.
- KLUG, E.D. (1971). Some properties of water-soluble hydroxy alkyl celluloses and their derivatives. *Journal Polymer Science*, part C (36): 491-508.
- LENNHOLM, H.; IVERSEN, T. (1995). The effects of laboratory beating on cellulose structure. *Nordic Pulp and Paper Research Journal*, 10 (2): 104-109.
- MANSFIELD, S.D.; DEJONG, E.; STEPHENS, R.S.; SADDLER, J.N. (1997). Physical characterization of enzymatically modified kraft pulp fibers. *Journal of biotechnology*, 57 (1-3): 205-216.
- MARCHESSAULT, R.H.; SETTINERI, W.; WINTER, W. (1967). Crystallization of xylan in the presence of cellulose. *Tappi*, 50 (2): 55-59.

- MARTÍNEZ, A.T.; BARRASA, J.M.; ALMENDROS, G.; GONZÁLEZ, A.E. (1990). Fungal transformation of lignocellulosics as revealed by chemical and ultrastructural analyses. En: Coughlam, M.P. y Amaral-Collaço, M.T. (eds). *Advances in Biological Treatment of Lignocellulosic Materials*. London: Elsevier Appl. Sci., p. 129-147.
- MITRA, G.B.; MUKHERJEE, P.S. (1980). X-ray diffraction study of fibrous polymers. I. Degree of paracrystallinity – a new parameter for characterizing fibrous polymers. *Polymer*, 21 (12): 1403-1409.
- NELSON, M.L.; ROUSSELLE, M.A.; CANGEMI, S.J.; TROUARD, P. (1970). The iodine sorption test. Factors affecting reproducibility and a semimicro adaptation. *Textile Research Journal*, 40 (10): 872-880.
- NICKERSON, R.F. (1951). Accessibility of cellulose by formic acid esterification. *Textile Research Journal*, 21 (4): 195-202.
- OLARU, N.; OLARU, L.; STOLERIU, A.; LEANCA, M. (1995). Kinetic study of cellulose carboxymethylation. Effect of cellulose accessibility and solvent system on reaction rate. *8th International Symposium on Wood and Pulping Chemistry*. Helsinki, Finland: Volume III, p. 361-366.
- OTT, E.; SPURLIN, H.M.; GRAFFLIN, M.W. (ed.). (1963). *Cellulose and Cellulose Derivatives*. Part I. 2^a ed. New York: Interscience Publishers.
- PANDEY, S.N.; IYENGAR, R.L.N. (1968). Intercrystalline and fine structural properties of chemically modified cottons by infrared spectroscopy. *Textile Research Journal*, 38 (6): 675-677.
- PEKAROVICOVA, A.; VENDITTI, R.A.; CAO, H.; LOU, Y.M.; JEAN, Y.C. (1997). Cellulose free volume characterization using positron annihilation lifetime spectroscopy. *Journal of Pulp and Paper Science*, 23 (3): J101-J107.
- PHAM, P.L.; ALRIC, I.; DELMAS, M. (1995). Incorporation of xylanase in total chlorine free bleach sequences using ozone and hydrogen peroxide. *Appita Journal*, 48(3): 213-217.
- ROBERTS, G.A.F. (1991). Accessibility of cellulose. En: Roberts, J.C. (ed.). *Paper Chemistry*. New York: Blackie & Son Ltd., p. 9-24.
- ROY, A.K.; JAIN, A.K.; SEN, S.K. (1994). X-ray diffraction studies of Jute stick treated with some pulping and bleaching agents. *Cellulose Chemistry and Technology*, 28 (2): 121-127.
- SCALLAN, A.M. (1971). A quantitative picture of the fringed micellar model of cellulose. *Textile Research Journal*, 41 (8): 647-653.
- SEGAL, L.; CREELY, J.J.; MARTIN, 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: 786-764.

- SHAH, A.K.; COOPER, D.; ADOLPHSON, R.; ERIKSSON, K.-E.L. (2000). Xylanase treatment of oxygen-bleached hardwood kraft pulp at high temperature and alkaline pH levels gives substantial savings in bleaching chemicals. *Journal of Pulp and Paper Science*, 26(1): 8-11.
- STEWART, C.M. (1969). The formation and chemical composition of hardwoods. *Appita*, 22 (4): xxxii-ix.
- STEWART, C.M.; FOSTER, R.C. (1976). X-ray diffraction studies related to forest products research. *Appita Journal*, 29: 440-448.
- UHLIN, K.I.; ATALLA, R.H.; THOMPSON, N.S. (1995). Influence of Hemicelluloses on the Aggregation Patterns of Bacterial Cellulose". *Cellulose*, 2 (2): 129 – 144.
- VIKARI, L.; SUURNÄKKI, A.; BUCHERT, J. (1996). Enzyme-aided bleaching of kraft pulps: fundamental mechanisms and practical applications. En: Jeffries, T.W. y Viikari, L. (eds.). *Enzymes for Pulp and Paper Processing*. Washington, DC: ACS Symposium Series 655, p. 15-24.
- WEISE, U. (1998). Hornification-mechanisms and terminology. *Paperi Ja Puu – Paper and Timber*, 80 (2): 110-115.
- ZHAN, H.Y.; CHEN, J.X.; KOKTA, B.V. (1991). Study of mechanism of aspen populus explosion high-yield pulping. *6th International Symposium on Wood and Pulping Chemistry*. Melbourne: Vol. 2, p. 103-107.