

UNIVERSIDAD PERUANA UNIÓN

FACULTAD DE INGENIERÍA Y ARQUITECTURA

INGENIERÍA DE INDUSTRIAS ALIMENTARIAS



Una Institución Adventista

Obtención de nanocelulosa de la cáscara de sandía (*Citrullus lanatus*) y sus imágenes de microscopía electrónico de barrido (S.E.M.)

Autor(a):

Diana Dianira García Olaya

Rosita Elvira Zegarra Quiroz

Asesora:

Silvia Pilco Quesada

Coasesor:

Córdova Ramos Javier

Ñaña, septiembre del 2020

DECLARACIÓN JURADA DE AUTORÍA DEL TRABAJO DE INVESTIGACIÓN

MSc. Silvia Pilco Quesada, de la Facultad de Ingeniería y Arquitectura, Escuela Profesional de Ingeniería de Industrias Alimentarias, de la Universidad Peruana Unión.

DECLARO:

Que la presente investigación titulada: “**Obtención de nanocelulosa de la cáscara de sandía (*Citrullus lanatus*) y sus imágenes de microscopía electrónico de barrido (S.E.M.)**” constituye la memoria que presenta las estudiantes Diana Dianira García Olaya y Rosita Elvira Zegarra Quiroz para aspirar al Grado Académico de Bachiller en Ingeniería de Industrias Alimentarias, cuyo trabajo de investigación ha sido realizado en la Universidad Peruana Unión bajo mi dirección.

Las opiniones y declaraciones en este informe son de entera responsabilidad del autor, sin comprometer a la institución.

Y estando de acuerdo, firmo la presente declaración en la ciudad de Lima, a los 23 días del mes de octubre del año 2020.



MSc. Silvia Pilco Quesada

ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TRABAJO DE INVESTIGACIÓN

En Lima, Ñaña, Villa Unión, a..... 11 día(s) del mes de setiembre del año 2020.. siendo las 13:00 ..horas,
se reunieron los miembros del jurado en la Universidad Peruana Unión campus Lima, bajo la dirección del (de la) presidente(a):

..... Ing. Joel Jerson Coaquira Quispe el(la) secretario(a):

..... PhD. Reynaldo Justino Silva Paz y los demás miembros:

..... Dr. Julio Florencio Paredes Guzmán Ms Sc. Daniel Sumire Qquenta

..... y el(la) asesor(a) Ms Sc. Silvia Pilco Quesada

Ms Sc Javier Saul Córdova Ramos con el propósito de administrar el acto académico de sustentación del trabajo de investigación titulado: Obtención de nanocelulosa de la cáscara de sandía (Citrullus lanatus) y sus imágenes de microscopía electrónico de barrido (S.E.M.)

..... de los (las) egresados (as): a) Diana Dianira Garcia Olaya

..... b) Rosita Elvira Zegarra Quiroz

..... conducente a la obtención del grado académico de Bachiller en

Ingeniería de Industrias Alimentarias

(Denominación del Grado Académico de Bachiller)

El Presidente inició el acto académico de sustentación invitando a las candidato(a)/s hacer uso del tiempo determinado para su exposición. Concluida la exposición, el Presidente invitó a los demás miembros del jurado a efectuar las preguntas, y aclaraciones pertinentes, las cuales fueron absueltas por las candidato(a)/s. Luego, se produjo un receso para las deliberaciones y la emisión del dictamen del jurado.

Posteriormente, el jurado procedió a dejar constancia escrita sobre la evaluación en la presente acta, con el dictamen siguiente:

Candidato/a (a): Diana Dianira Garcia Olaya

CALIFICACIÓN	ESCALAS			Mérito
	Vigesimal	Literal	Cualitativa	
APROBADO	19	A	Excelente	Excelencia

Candidato/a (b): Rosita Elvira Zegarra Quiroz

CALIFICACIÓN	ESCALAS			Mérito
	Vigesimal	Literal	Cualitativa	
APROBADO	19	A	Excelente	Excelencia

(*) Ver parte posterior

Finalmente, el Presidente del jurado invitó a las candidato(a)/s a ponerse de pie, para recibir la evaluación final y concluir el acto académico de sustentación procediéndose a registrar las firmas respectivas.



Presidente/a



Asesor/a



Candidato/a (a)



Miembro



Co asesor/a



Secretario/a



Miembro



Candidato/a (b)

OBTENCIÓN DE NANOCELULOSA DE LA CÁSCARA DE SANDÍA (*Citrullus lanatus*) Y SUS IMÁGENES DE MICROSCOPIA ELECTRÓNICO DE BARRIDO (S.E.M.)

García Olaya, Diana Dianira*; Zegarra Quiroz, Rosita Elvira*; Pilco Quesada Silvia; Córdova Ramos Javier; dianiragarcia@upeu.edu.pe rositazegarra@upeu.edu.pe
silviapilco@upeu.edu.pe saulcordova@upeu.edu.pe

E.P. Ingeniería de Industrias Alimentarias, de la Facultad de Ingeniería y Arquitectura.

Universidad Peruana Unión – carretera central km 19.5

RESUMEN

La cáscara de sandía (*Citrullus lanatus*) es un residuo agrícola abundante, disponible y muy poco utilizable. Los objetivos fueron aislar la nanocelulosa a partir de la corteza de sandía y obtener sus imágenes de morfología a través de microscopía electrónica de barrido (SEM, de sus siglas en inglés). Primero, se realizó un tratamiento alcalino con hidróxido de potasio (5%); segundo, las fibras fueron blanqueadas con tampón de acetato glacial y clorito de sodio a 80°C durante 4 horas; y finalmente se realizó la hidrólisis con ácido sulfúrico a diferentes concentraciones p/v (50, 60 y 70 %) y tiempos de hidrólisis (20, 30 y 40 minutos), a 45 °C en agitación constante. Por último, las nanocelulosas obtenidas fueron observadas a través del SEM. El contenido de lignina, celulosa, hemicelulosa, ceniza y humedad de la harina de cáscara de sandía fueron 10,00±0,48; 46,00±0,15; 23,00±0,85; 15,00±0,26 y 10,30±0,70, respectivamente. El máximo rendimiento obtenido de nanocelulosa fue 64,96%, a 60% de ácido sulfúrico y 30 minutos de hidrólisis. La morfología de las nanocelulosas se observó mejor a 200 μm que a 100 μm . Las fibras de nanocelulosa estuvieron más expuestas y mejor distribuidas a 200 μm .

Palabras clave: Nanocelulosa, celulosa, SEM, morfología, cáscara de sandía.

ABSTRACT

The watermelon peel (*Citrullus lanatus*) is an abundant agricultural residue, available and very little usable. The objectives were to isolate nanocellulose from watermelon peel and obtain its morphology's images through scanning electron microscopy (SEM). First, an alkaline treatment with KOH (5%) was realized; second, fibers were bleached with acetate and sodium chlorite at 80 °C for 4 hours; and finally, hydrolysis was subjected with sulfuric acid at different concentrations (50, 60 and 70%) and hydrolysis times (20, 30 and 40 minutes), at 45 °C with constant stirring. Finally, the nanocelluloses obtained were observed through the SEM. The content of lignin, cellulose, hemicellulose, ash and

moisture of the watermelon peel flour were 10.00 ± 0.48 , 46.00 ± 0.15 , 23.00 ± 0.85 , 15.00 ± 0.26 , and 10.30 ± 0.70 , respectively. The maximum yield obtained from nanocellulose was 64.96%, at 60% sulfuric acid and 30 minutes of hydrolysis. Morphology of the nanocelluloses was better observed at 200 μm than at 100 μm . Nanocellulose fibers were more exposed and better distributed at 200 μm .

Key words: Nanocellulose, cellulose, SEM, morphology, watermelon peel.

1. INTRODUCCIÓN

La biomasa de sandía se clasifica en tres componentes principales: pulpa, semillas y corteza, que representa aproximadamente el 30% del peso total de la fruta. Se utiliza en la producción de jugos, néctares y cócteles de frutas. La corteza de sandía posee una cantidad significativa de humedad, cenizas, grasas, proteínas y carbohidratos 10,61%; 13,09%; 2,44%; 11,17% y 56,00%, respectivamente (Olayinka y Etejere, 2018).

Actualmente la enorme cantidad del residuo de la corteza de esta fruta se dedica a la alimentación de animales o es eliminada a través de vertederos e incineración. De hecho, la gestión inadecuada del vertedero provoca la emisión de gases nocivos (metano y dióxido de carbono), el proceso de incineración implica la formación y liberación de contaminantes o desechos secundarios, como gases ácidos, dioxinas, furanos y partículas, estos causan problemas ambientales y serios riesgos a la salud (Sagar et al., 2018). El uso económico y fácilmente disponible del residuo de cáscara de sandía minimiza el impacto ambiental. Por esta razón, la investigación para la utilización de este residuo como fuente de nanocelulosa puede ser de considerables beneficios económicos y se ha vuelto cada vez más atractiva. Desde un punto de vista ambiental, la recuperación de valiosos productos de nanocelulosa a partir de residuos de cáscara de sandía es un área de investigación en constante crecimiento y se considera una de las soluciones más efectivas para el correcto manejo de los residuos en la industria de procesamiento de frutas (Kouadri y Satha, 2018).

Las nanocelulosas son estructuras de celulosa a escala nanométrica (1-100 nm), las de origen vegetal se ha convertido en una alternativa potencial a los nano rellenos nanométricos en comparación con las fibras comerciales (Saba y Jawaid, 2017) debido a su biodegradabilidad, excelentes propiedades mecánicas, dinámicas, eléctricas y térmicas. Estas son partículas altamente cristalinas con forma de aguja que miden entre 5 y 30 nm de diámetro, aunque sus características varían según el tipo de planta y el método de extracción. Existen estudios sobre producción de nanocelulosa de materiales orgánicos; como los desechos de alimentos: cáscara de tomate (Jiang y Hsieh, 2015),

orujo de uva (Coelho et al., 2018), cáscara de piña (Dai et al., 2018), bagazo de caña de azúcar (Kumar et al., 2014), cáscara de plátano (Tibolla et al., 2014) y cáscara de cítricos (Naz et al., 2016). Para aislar nanocelulosa se realiza en tres etapas, en primer lugar se realiza el acondicionamiento de la materia prima consiste en el lavado, secado y molienda de la materia a usar; el segundo paso se realiza el pre tratamiento y purificación, que consiste en tratamiento alcalino con hidróxido de potasio y el blanqueo con clorito de sodio para eliminar hemicelulosa y lignina de las paredes celulares y obtener celulosa de alta pureza, finalmente se extrae la nanocelulosa utilizando la técnica de hidrólisis ácida, para la estabilidad de las suspensiones obtenida donde las regiones amorfas se hidrolizan, y las regiones cristalinas muestran una resistencia más fuerte al ataque ácido; después se centrifuga y se coloca a ultrasonidos para obtener a una escala nanométrica (Bano y Negi 2017).

La nanocelulosa representa un nuevo conjunto de nanomateriales, que presenta una amplia gama de aplicaciones tecnológicas en los más variados contextos científicos (Abitbol et al., 2016). Se ha destacado como uno de los materiales más utilizados en la aplicación de envases biodegradables, han realizado varios estudios, que indican la efectividad del uso de este material como agente de refuerzo mecánico en películas biodegradables. Además, se ha demostrado que la nanocelulosa es eficiente al proporcionar una mayor propiedad de barrera de vapor, un aspecto importante para la calidad de los alimentos (Azeredo et al., 2017). Estudios más recientes investigan el uso de nanocelulosa en envases funcionalizados, también conocidos como bioactivos. Este aspecto investiga las interacciones proporcionadas, por ejemplo, por el recubrimiento de nanocelulosa en la superficie del material de empaque, y las interacciones que se intensifican o mitigan con los alimentos, de acuerdo con el interés del empaque (Lavoine y Bergström, 2017). Por las diversas aplicaciones que tiene la nanocelulosa, el objetivo de este artículo fue aislar la nanocelulosa a partir de la cáscara de sandía (*Citrullus lanatus*), y obtener sus imágenes de morfología a través de microscopía electrónica de barrido (SEM

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. Materiales

El presente trabajo se realizó en las instalaciones de la universidad Peruana Unión, laboratorio de Procesos, laboratorio de Ciencia y Tecnología de alimentos (CITAL), y en el Centro de Investigación en Ciencias de Alimentos (CICAL), finalmente las muestras fueron caracterizadas en el Laboratorio de la Facultad de Ciencias de la Universidad de Ingeniería.

Para la ejecución de la investigación se utilizó cáscara de sandía (*Citrullus lanatus*) de la variedad Charleston Gray como materia prima, fue obtenida en el mercado modelo de frutas en la ciudad de Lima. En la etapa de pretratamiento, los reactivos utilizados fueron: hidróxido de potasio (KOH) al 5%, en el blanqueamiento se utilizó clorito de sodio (NaClO_2 1,7%) y ácido acético glacial, finalmente para la hidrólisis se trabajó con ácido sulfúrico (H_2SO_4).

2.2. Obtención de harina de la cáscara de sandía

Se seleccionaron las cáscaras de sandía (*Citrullus lanatus*), con la mejor apariencia. Después de ser lavadas en agua corriente para la remoción de los residuos del suelo, fueron higienizadas con hipoclorito de sodio (250 ppm) por 10 min. A continuación, fueron dispuestas en bandejas de aluminio y sometidas a secado en un horno (Alfa-G030-250) de convección forzada a 50 °C durante 72 h. Después del secado, las cortezas fueron molidas (Retsch - DR100). La harina obtenida fue tamizada manualmente en un tamiz de 120 mesh para obtener micropartículas.

2.3. Aislamiento de celulosa a partir de la cáscara de sandía

La etapa del pretratamiento fue realizada según la metodología sugerida por Martins et al., (2015). En primer lugar, se realizó un tratamiento alcalino, utilizando una relación 1:18 (m/v: harina/solución de KOH 5%). La suspensión se mantuvo bajo agitación, a través de un agitador mecánico durante 14 horas, para solubilizar la pectina y la hemicelulosa. A continuación, la suspensión se separó por centrifugación (Labatec-H2050R) a 10 000 rpm/15 °C/15 min, el material insoluble obtenido fue sometido a sucesivos lavados con agua destilada, hasta que el color del sobrenadante no cambie más. Después las fibras se blanquearon con una solución compuesta de partes iguales (v:v) de tampón de acetato (27 g de NaOH y 75 ml de ácido acético glacial, diluido en 1 L de agua destilada) y clorito de sodio acuoso (NaCl_2 en 1,7% p/p agua), a temperatura de 80 °C durante 4 horas. Las fibras blanqueadas se filtraron, se lavaron con agua corriente y la solución alcanzó un pH de 7 aproximadamente y luego se secaron a 50°C durante 12 horas en un horno de circulación (Mettmert-UNB200).

2.4. Extracción de nanocelulosa de cáscara de sandía

En la etapa de hidrólisis ácida primero se seleccionó los experimentos T1, T2, T3, T4 y T5, luego se procedió a la extracción de nanocelulosa.

2.4.1. Selección de los tratamientos de hidrólisis (T1, T2, T3, T4 y T5) mediante la técnica de factorial completo 2² con puntos centrales

El diseño estadístico de experimentos contempla una amplia variedad de estrategias experimentales que son adecuadas para generar información que se desea encontrar, el diseño factorial completo 2^k es una de ellas. Este describe los experimentos más adecuados para conocer simultáneamente qué efecto tiene k factores sobre una respuesta y descubrir si interaccionan entre ellos.

En el presente trabajo se realizó un diseño factorial completo 2² con puntos centrales, que requiere cinco experimentos con el objetivo de determinar las mejores condiciones para obtener nanocelulosa usando las siguientes variables; concentración (%) de ácido sulfúrico y tiempo (min) de reacción de hidrólisis.

Las condiciones experimentales utilizadas se basaron en estudios realizados (Arantes, et al., 2018), (Khawas y Deka 2016) y preliminares. Todos los cálculos de matriz se llevaron a cabo utilizando el software minitab. Se presentó un nivel superior, un nivel inferior y un nivel medio o punto central (Montgomery y Runger, 2003) como (+), (-) y (0) respectivamente, para cada factor, como se muestra en la Tabla 1.

Tabla 1

Descripción de las variables de estudio, de estudio

Variable	Nivel bajo (-)	Punto central (0)	Nivel alto (+)
Concentración de ácido sulfúrico (%)	50	60	70
Tiempo (min)	20	30	40

En la tabla 2 se presenta los 5 tratamientos codificados respectivamente

Tabla 2.*Selección de tratamientos*

N° Tratamientos	Concentración de H₂SO₄ (%)	Tiempo (min)
T1	50	20
T2	70	20
T3	50	40
T4	70	40
T5	60	30

2.4.2. Procedimiento de extracción de nanocelulosa de cascara de sandia

Se siguió el procedimiento detallado por Madureira et al., (2018). Después de la purificación, la celulosa se trituró y se pasó a través de una malla de 14 mesh, luego se usó para extraer nanocelulosa por hidrólisis ácida.

La hidrólisis a la celulosa pura se realizó variando concentración (%) de ácido sulfúrico y tiempo de hidrólisis (min); los tratamientos se muestran en la tabla 2. Por cada gramo de celulosa de cáscara de sandía en base húmeda, se empleó 12 ml de H₂SO₄ (% p/v), las mezclas de cada tratamiento se hidrolizó a 45°C con agitación vigorosa y constante utilizando un termoagitador magnético (H.W.kessel- SP18420-20).

Para reducir la hidrólisis de cada tratamiento, las suspensiones se diluyeron inmediatamente 10 veces con agua fría ($\pm 5^{\circ}\text{C}$). Posteriormente, las suspensiones se centrifugaron durante 10 minutos a 7500 rpm para eliminar el sobrenadante. El precipitado se dializó luego con agua corriente a pH neutro, aproximadamente 4 días para separar el residuo ácido, los grupos sulfato sin reaccionar, las sales y los azúcares solubles. Luego se dispersaron las suspensiones usando un ultrasonido de tipo Ultraturrax durante 10 minutos a 20000 rpm, después se secaron en un horno a 105°C para tener nanocelulosa seca de cáscara de sandía, y posteriormente se procedió a moler manualmente y finalmente se almacenaron a 4 °C hasta su análisis por el SEM. En la figura 1 se muestra los pasos realizados para aislar la nanocelulosa.

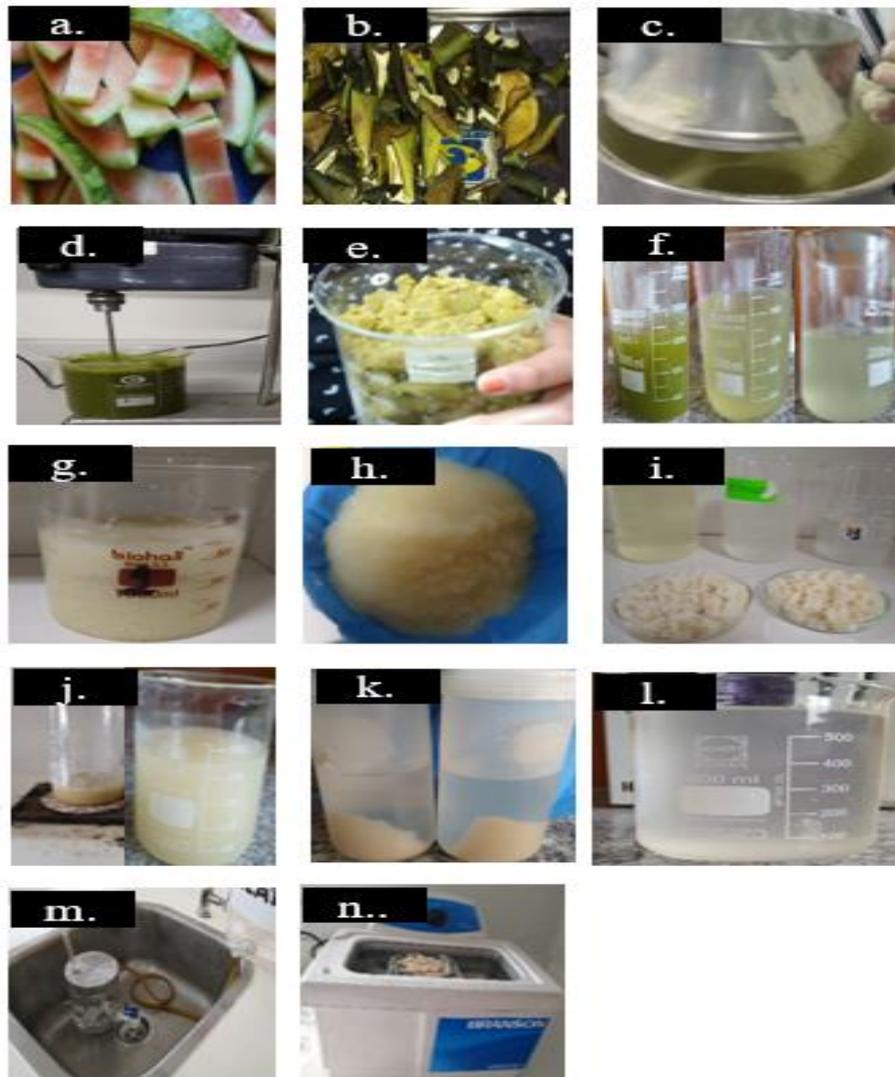


Figura 1. Imágenes de residuos de cáscara de sandía fresca (a), cáscara de sandía (b y c), cáscara seca y molida (d, e y f), tratamiento alcalino, residuo insoluble y sobrenadante (g, h y i), etapa de blanqueamiento (j, k y l), hidrólisis ácida (m), diálisis (n), ultrasonido (o).

2.5. Análisis

A continuación, se detallan los procedimientos para determinar la composición química (humedad, ceniza, celulosa, lignina y hemicelulosa) de la harina de cáscara de sandía. Todas las determinaciones se realizaron por triplicado para cada muestra.

2.5.1. Análisis de harina de cáscara de sandía

La caracterización química se realizó con harina de la cáscara de sandía, estos análisis tienen como objetivo cuantificar el contenido de humedad y ceniza con el método AOAC (23,003:2003); celulosa, hemicelulosa y lignina con la metodología de la Asociación Técnica de la Industria de Pulpa y Papel (TAPPI).

2.5.1.1. Contenido de lignina

La determinación de lignina se realizó de acuerdo a la norma estándar TAPPI 222 om-83. Para este análisis, se pesó 1 g de muestra (peso seco) y se colocó en bolsas hechas de papel de filtro. Las muestras se transfirieron a un vaso precipitado y se añadieron 15 ml de H₂SO₄ al 72% a una temperatura de 18-20 °C, durante 2 horas, homogeneizando periódicamente.

Después de esta etapa, la muestra se transfirió a un Erlenmeyer de 1 L, que contenía 560 ml de agua desionizada y se mantuvo en ebullición durante 4 horas, manteniendo el volumen constante. Después de dejar la lignina completamente sedimentada, se filtró a través de un crisol de vidrio con la ayuda de una bomba de vacío, luego el crisol se secó en un horno y se pesó. El cálculo se realizó de acuerdo con la ecuación (1).

$$\text{Lignina (\%)} = \left(\frac{\text{masa residuo}}{1} \right) * 100 \quad \text{Ec. (1)}$$

2.5.1.2. Contenido de celulosa

La determinación del contenido de celulosa se realizó utilizando el método clásico TAPPI 203 om-99. Para este análisis, se pesaron 1,0 g de holocelulosa seca (obtenido después de la deslignificación), se agregaron 15 ml de solución de NaOH diluida al 17,5% (p/v), después de 2 minutos el material se trituró y se agregó 40 ml de agua destilada. Este material se transfirió a un embudo y se filtró usando una bomba de vacío, después de lo cual el precipitado que quedó en el embudo se secó en un horno y se pesó. Para calcular el contenido de celulosa, se usó la ecuación (2)

$$\text{Celulosa (\%)} = \left(\frac{\text{masa de residuo}}{\text{masa de holocelulosa}} \right) x 100 \quad \text{Ec. (2)}$$

2.5.1.3. Contenido de hemicelulosa

El contenido de hemicelulosa se puede realizar de acuerdo con la ecuación (3).

$$\text{Hemilcelulosa (\%)} = (\text{masa holocelulosa} - \text{masa celulosa}) x 100 \quad \text{Ec. (3)}$$

2.5.2. Análisis a la nanocelulosa de cáscara de sandía

2.5.2.1. Rendimiento

Después de hidrólisis ácida se calculó el rendimiento a todos los experimentos seleccionados (T1, T2, T3, T4 y T5), tal como se muestra en la ecuación 4.

$$R (\%) = (Mf/Mi) x 100 \quad \text{Ec. (4)}$$

Donde:

M_f = Masa total de sólidos secos después de hidrólisis (base seca) (g)

M_i = masa total de sólidos seco inicial (base seca) (g)

2.5.2.2. Microscopía electrónica de barrido

La microscopía electrónica de barrido (SEM) de nanocelulosas de cáscara de sandía se ejecutó a través de Hitachi - SU 8230S.

La nanocelulosa fue colocada sobre la superficie superior de la cinta de carbón, la cual se encuentra adherida en la superficie inferior del portamuestras de aluminio. Se levantó el protector de la cinta de carbón, la muestra se colocó sobre la cinta de carbón. El portamuestras se colocó sobre otra base de aluminio y se colocó en el microscopio electrónico, se introdujo aire a la precámara, luego se abrió la precámara y se introdujo la muestra. Después se cerró la precámara y se encendió la bomba mecánica para el vacío en esa etapa.

Posteriormente se abrió la cámara y se introdujo la muestra mediante el sistema mecánico del microscopio, finalmente se encendió el cañón de electrones y se procedió a visualizar la muestra utilizando mezcla de señales de dos detectores (LM), detector superior e inferior (UL) al mismo tiempo. Se visualizó las cinco muestras a un voltaje de iluminación bajo de 1,0 kv, debido que las muestras no eran conductoras, la visualización de las microfotografías de las muestras, a escala de 100 μm , se trabajó en el rango de espesor: 8,1-8,5 mm, a una magnitud de x500. Para la escala de 200 μm , se trabajó en el rango de espesor: 8,1-8,6 mm y a una magnitud de x200.

2.6. Análisis estadístico

A las medias de los tratamientos seleccionados, se les realizó un análisis de varianza; si no hubiese diferencias significativas se hará una comparación de medias mediante la prueba de tukey con un nivel de significancia del 0,5%, utilizando el software de Minitab.

3. RESULTADOS Y DISCUSIONES

3.1. Contenido de celulosa, hemicelulosa, lignina

Los desechos de cáscara de sandía, siendo un residuo agrícola, se componen principalmente de lignocelulosa como componente básico según el género de la planta. La composición principal se enumera en la Tabla 3, la cáscara de sandía es una fibra fuerte, donde la celulosa y las cenizas representan más de la mitad de la composición. El enlace de hidrógeno entre grupos hidroxilo de componentes de glucosa de cada

cadena de celulosa proporciona una estructura intermolecular fuerte entre fibras, lo que confiere una estructura fuerte (red lignocelulósica compacta) dentro de la cáscara de sandía.

Tabla 3.

Composición química de la harina de la cáscara de sandía

Biomasa lignocelulosa	Composición química de la materia prima (%)				
	Lignina	Celulosa	Hemicelulosa	Ceniza	Humedad
Harina cascara de sandía	10 ± 0,48	46 ± 0,15	23 ± 0,85	15 ± 0,26	10,30± 0,7

La cáscara de sandía contiene 10±0,48 % de lignina, 46± 0,15% de celulosa y 23± 0,85 % de hemicelulosa, 15± 0,26 de ceniza y 10,30±0,7 de humedad; estos valores dependen de varios factores, como la ubicación geográfica, las condiciones de crecimiento, la madurez de la materia prima de biomasa, entre otros. Estos valores se encuentran dentro del rango reportado por (Fakayode et al., 2020; Ibrahim et al., 2016), y también están en el rango de valores establecidos reportados para la biomasa lignocelulósica de cáscara de sandía. 10-25% de lignina, 20-35% de hemicelulosa y 35-50% de celulosa (Isikgor y Becer, 2015).

Madureira et al., (2018) caracterizaron la cáscara de piña con respecto a lignina, celulosa y hemicelulosa obteniendo 29%, 17% y 16% respectivamente; de igual manera Widiarto et al., 2019 analizaron la composición química de cáscara de yuca los resultados fueron 40,5% de celulosa, 11,7 lignina y 21,4% de hemicelulosa.

3.2. Apariencia y rendimiento de la nanocelulosa

3.2.1. Apariencia

Se observa los diferentes estados de celulosa antes y después de hidrólisis; en la (figura 2a) se muestra la celulosa en estado sólido de la cáscara de sandía, que tiene una apariencia blanquecina, debido que pasó por un tratamiento con hidróxido de potasio y se ha realizado un blanqueamiento con clorito de sodio para obtener celulosa pura, libre de lignina, hemicelulosa. Asimismo, se observa la nanocelulosa húmeda de textura gelatinosa, tiene una apariencia opaca, después de ser centrifugada para eliminar el líquido sobrenadante, del residuo insoluble (nanocelulosa) (figura 2b) y

finalmente se muestra la nanocelulosa seca (figura 2c), que presenta un color crema, el secado se realizó en horno de convección forzada.



Figura 2. Apariencia de la nanocelulosa (a) celulosa (b) celulosa hidrolizada con ácido, es decir, nanocelulosa; (c) nanocelulosa seca.

Carvalho y Virgens (2018), mencionan que la celulosa con tratamiento alcalino NaOH es capaz de eliminar parcialmente la lignina, un componente amorfo de la matriz lignocelulósica, lo que la convierte en la muestra más cristalina.

La celulosa purificada se sometió a hidrólisis ácida con H_2SO_4 a diferentes concentraciones y a diferentes variaciones de tiempo, con el objetivo de romper los enlaces intermoleculares y aislar nanocelulosa. Entre los diversos métodos para la extracción de nanocelulosa, la hidrólisis ácida es la más conocida y utilizada, debido a que este proceso rompe las partes desordenadas y amorfas de la celulosa, liberando nanocelulosa bien definidos.

Arantes et al. (2018) aislaron nanocelulosa variando la concentración de ácido, temperatura y tiempo, dicha investigación menciona que este proceso se basa en la cinética de hidrólisis más rápida en regiones amorfas, en comparación con regiones cristalinas.

3.2.2. Rendimiento

En la tabla 4 se presentan las comparaciones múltiples del rendimiento de nanocelulosa extraída de la cáscara de sandía por hidrólisis ácida, el rendimiento varió en el rango de 58,35 a 64,76 %. Los tratamientos 2 y 4 son los que obtuvieron menores porcentajes de rendimiento. En la prueba de Tukey los tratamientos que tienen el mayor promedio de rendimiento de nanocelulosa son T5 y T1 (equivalentes en promedio), seguido del T3 (diferente al resto), el T4 también es diferente al resto y finalmente el T2 con el menor rendimiento de nanocelulosa.

Tabla 4.*Rendimiento de nanocelulosa de cascara de sandía*

Tratamientos	Rendimiento (%)
T5	64,76 ± 0,17 ^a
T1	64,34 ± 0,317 ^a
T3	63,31 ± 0,26 ^b
T4	59,22 ± 0,19 ^c
T2	58,35 ± 0,32 ^d

*a,b,c, d : Superíndices diferentes indican diferencias significativas (Turkey < 0,05)

El porcentaje de rendimiento de nanocelulosa extraída de cáscara de sandía se midió usando la ecuación 5, el cual varió de 58,35 a 64,76%, por la concentración de ácido utilizado. Estos valores son más altos que el trabajo de investigación realizado por (Kian et al., 2018), con 20,64% de rendimiento a 50% en peso de concentración de ácido sulfúrico y 45 minutos como tiempo de reacción de hidrólisis.

El rendimiento de la nanocelulosa con (60% de H₂SO₄ (v/v), utilizando una relación 1:12 de celulosa y ácido (p/v) y un tiempo de hidrólisis de 30 minutos a 45 °C) de las cáscaras de sandía resultó ser 64,76%. Los rendimientos de los nanocelulosa a través de hidrólisis ácida de celulosas derivadas de cáscaras de pepino, tomate, orujo de uva y cáscaras de maracuyá se informaron como 65,55%, 15,7%, 20,96% y 58,1%, respectivamente (Prasanna y Mitra, 2020; Jiang y Hsieh, 2015; Coelho et al., 2018; Wijaya et al., 2017). Dado que el rendimiento de la nanocelulosa depende en gran medida de la concentración de ácido, la proporción de celulosa a ácido y el tiempo de hidrólisis del proceso (Coelho et al., 2018), en este trabajo el mayor rendimiento de la nanocelulosa indicó que se usó la concentración de ácido (%) adecuada para la extracción de nanocelulosa de la cascara de sandía.

Martins et al. (2015) aislaron nanocristales de celulosa a partir de hojas de Hierba Mombasa, la hidrólisis se realizó a 40 °C durante 10 min, 20 min, 30 min y 40 min bajo agitación vigorosa y constante, obtuvieron como rendimiento 72,44% ,67,04%, 51,86% y 35,15%, respectivamente; así el aumento del tiempo de reacción produjo una disminución en los valores de rendimiento.

Widiarto et al. (2017) aislaron celulosa de la cáscara de yuca con ácido sulfúrico a 50°C durante 2 horas, el rendimiento fue de 10,32 % de la cáscara de yuca en base seca.

3.2.2.1. Análisis de Varianza

El análisis de varianza en la tabla 5 muestra que la variable concentración (%) de ácido existen diferencias significativas ($P < 0,05$).

Tabla 5.

Análisis de varianza de los tratamientos

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor P
Concentración de ácido (%)	1	73,35	73,35	26,85	0,00
Tiempo (min)	1	0,01	0,0010	0,00	0,98
Concentración de ácido (%) *Tiempo (min)	1	2,15	2,15	0,79	0,39
Error	11	30,04	2,73		
Total	14	105,56			

El modelo matemático del rendimiento de la nanocelulosa:

$$\text{Rendimiento (\%)} = 85,79 - 0,395 \text{ Concentración de ácido (\%)} - 0,289 \text{ Tiempo (min)} + 0,00474 \text{ Concentración de ácido (\%)} * \text{Tiempo (min)}$$

3.3. Microscopía electrónica de barrido de nanocelulosa

Un análisis visual de los cambios morfológicos en la nanocelulosa de la corteza de sandía se observa en la (figura 3), a 100 μm estructuras rugosas y compactas. En la (figura 4), a 200 μm se observa mejor la morfología de la nanocelulosa, se logran ver más dispersas, desglosadas, porque las fibras nanocelulósicas están más expuestas a diferencia de 100 μm .

En la figura 3 se observa imágenes de cada tratamiento de nanocelulosa, se muestra estructuras bien organizadas, rugosas y compactas en forma de bloque. La nanocelulosa del T4 es la más compacta, seguido del T5, T2, T3 y por último el T1. Estos tratamientos a pesar de una morfología general similar, las longitudes y anchuras de los bloques fueron diferentes para los cinco tratamientos. El diámetro del T3 es el más pequeño, seguido del T2, T1, T5 y T4. Además, en el T1(50%:20 min) se observa que la nanocelulosa se ha hidrolizado de manera homogénea, los tratamientos T2, T3, T4 y T5 presentaron un rompimiento de enlaces totalmente heterogéneo. El T3 es el que mejor se ha desdoblado, pues se muestran las fibras expuestas. En el tratamiento

T5 las fibras no están desglosadas y presenta poros. Se estableció así la diferencia microscópica macroestructural en la construcción natural de los tratamientos.

En la figura 4 los tratamientos a pesar de una morfología general similar en rugosidad. Las longitudes y anchuras de los bloques fueron diferentes para los cinco tratamientos. El diámetro de la nanocelulosa del T5 es más pequeño que el resto, seguido del T1, T2, T3 y T4. En el T5 se observó que las fibras son más homogéneas, esto significa que hubo una mayor hidrólisis, debido que dicho experimento es el punto central dando el mejor rendimiento de nanocelulosa. Respecto al desglose de la nanocelulosa el T1 presentó mayor desglose, seguido del T2, T3 y por último el T4.

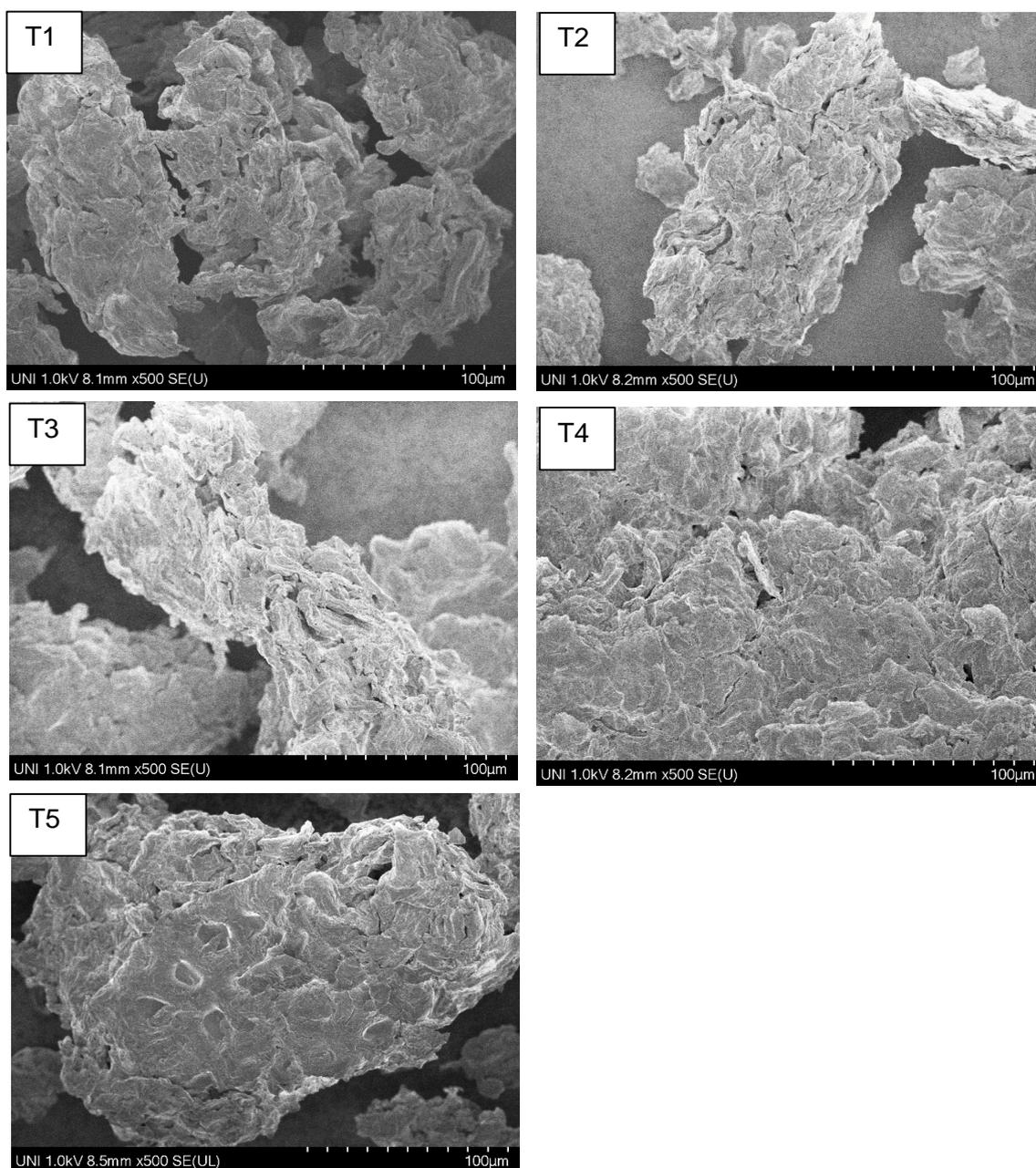


Figura 3. Imágenes SEM de nanocelulosa de la cáscara de sandía: T1 (50:20), T2 (70:20), T3 (50:40), T4 (70:40) y T5 (60:30)

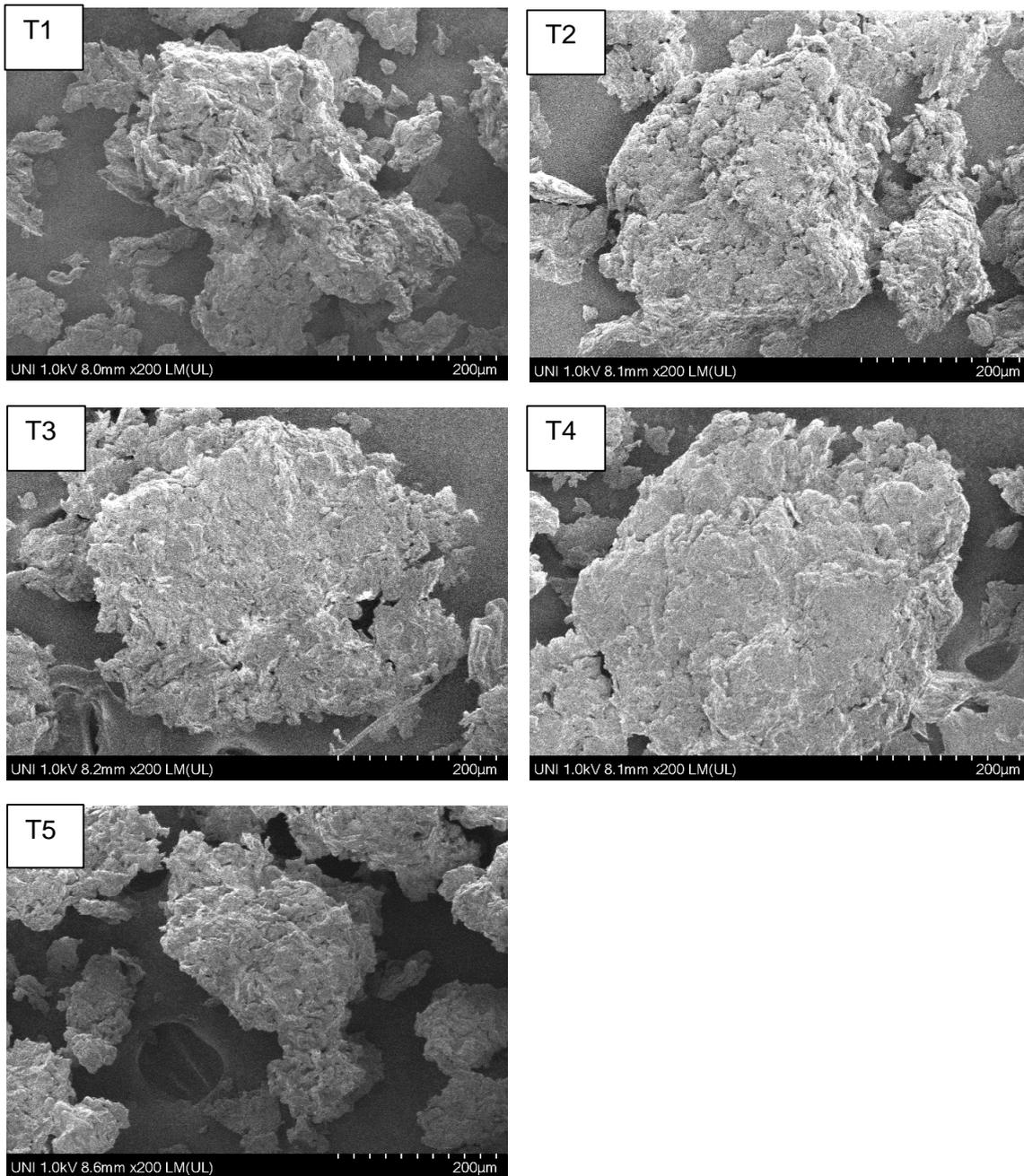


Figura 4. Imágenes SEM de nanocelulosa de la cáscara de sandía: T1 (50:20), T2 (70:20), T3 (50:40), T4 (70:40) y T5 (60:30).

En las figuras 3 y 4 se observa el estudio de la morfología de la cáscara de sandía, se muestra claramente la desfibrilación de fibras que ocurre durante la hidrólisis ácida, tratada con ácido sulfúrico, después de la molienda mecánica. La rugosidad de la superficie que se muestra, indica la eliminación de los compuestos de lignina y hemicelulosa durante la hidrólisis ácida, y se obtiene nanocelulosa en base húmeda (Ramesh y Radhakrishnan, 2019).

Imágenes similares reportan (George et al. 2016). Además, el rectificado mecánico aumenta el área de la superficie y facilita la facilidad el acceso libre del álcali y ácido a la parte interior de la fibra o celulosa. Esto contribuye a la desfibrilación efectiva que se demuestra claramente en los tratamientos.

Hong et al. (2020) observaron en 100 micras, a 2mm a x25 de amplitud, cómo la estructura de la fibra de la luffa se degradó parcialmente durante el tratamiento ácido. También observaron en la luffa partículas fibrosas cortas con una longitud típica de unos pocos milímetros, y cuando ampliaron más (x500), vieron que la superficie de la luffa tratada era más rugosa, y pudieron observar fibras separadas. Presumiblemente, estos cambios se atribuyen a la eliminación de hemicelulosa y lignina durante el tratamiento.

Reis et al. (2020) caracterizaron la morfología de la fibra de pergamino del café a partir de la microscopía electrónica de barrido (SEM) se verificó que las fibrillas de celulosa se expusieron más, con diámetros que alcanzaron tamaños micro y nanométricos a 100 μm , observaron la nanocelulosa microfibrilada (MFC), con la separación eventual en nanofibrillas.

Cerqueira, J et al. (2017), Extrajeron nanocelulosa de las fibras de coco, y observaron las micrográficas de la celulosa blanqueada a 100 μm , x100 de amplitud, estas revelaron la presencia de fibrillas de celulosa y proporcionaron evidencia de robustez desagregada, que se debió a la conversión de elementos celulósicos en fibrillas mediante la eliminación de la poliosis y la lignina durante el proceso de blanqueamiento. Las imágenes SEM muestran que el tratamiento químico eliminó parcialmente las impurezas como la hemicelulosa y la lignina, que son los componentes "compactadores" de las fibras, además la eliminación eficiente de la lignina mediante el blanqueamiento de las fibras es extremadamente importante para obtener nanocristales por hidrólisis

Deepa et al. (2015) mencionan que durante la hidrólisis se produce una reducción considerable del tamaño de partícula, junto con una pérdida de carácter fibroso, lo que indica el grabado de la superficie y la naturaleza erosiva del proceso de hidrólisis. Para el almacenamiento, el transporte y la generación de varias estructuras, el secado de las nanocelulosas es importante.

La agregación de nanocelulosas se puede observar en las figuras 3 y 4, que es un fenómeno común reportado por muchos autores (Naduparambath et al., 2012; Lu y Deepa et al., 2015). Las estructuras de la nanocelulosa de la cascara de sandía se observan rugosas, compactas a través del SEM.

4. CONCLUSIONES

Para extraer nanocelulosa es esencial realizar el proceso de purificación de la materia prima, en el cual se eliminarán pigmentos, ceras, hemicelulosa y lignina, de ese modo se obtendrá celulosa pura para la hidrólisis ácida. Se caracterizó la composición química de la corteza de sandía, respecto al contenido de lignina, celulosa, hemicelulosa, ceniza y humedad los resultados fueron $10\pm 0,48\%$; $46,00\pm 0,15\%$; $23,00\pm 0,85\%$; $15,00\pm 0,26\%$ y $10,30\pm 0,70\%$, respectivamente.

El análisis estadístico muestra que el factor concentración de ácido sulfúrico (%) presentó diferencias significativas ($P < 0,05$). En base a la prueba de Tukey, los tratamientos que tienen el mayor promedio de rendimiento de nanocelulosa son T5 y T1 (equivalentes en promedio). Por lo tanto, los mejores parámetros para extraer nanocelulosa de la cáscara de sandía son a 60% de concentración de ácido sulfúrico, con un tiempo de 30 minutos.

En el análisis de la morfología de la nanocelulosa, a escala de $100\ \mu m$: el T1 produjo una hidrólisis más homogénea. El T3 originó estructuras más pequeñas. La estructura de la nanocelulosa del T4 es más compacta. A escala de $200\ \mu m$, el T5 es el que presentó un desglosamiento homogéneo en comparación a los demás. Por lo tanto, las fibras nanocelulósicas se observaron mejor a escala de $200\ \mu m$, en esta escala se encontraron más expuestas, dispersas y desglosadas en comparación a $100\ \mu m$ las nanocelulosas se muestran rugosas, compactas y aglomeradas.

5. Referencias

- Abitbol, T., Rivkin, A., Cao, Y., Nevo, Y., Abraham, E., Lapidot, S., y Shoseyov, O. (2016). Nanocellulose, a tiny fiber with huge applications. Current opinion in biotechnology, 39, 76-88. doi: 10.1016/j.copbio.2016.01.002
- Arantes, T. M., Coimbra, L. M., Cristovan, F. H., Arantes, T. M., Rosa, G. M., y Lião, L. M. (2018). Synthesis and Optimization of Colloidal Hydroxyapatite Nanoparticles by Hydrothermal Processes. Journal of the Brazilian Chemical Society, 29(9), 1894-1903. doi:10.21577/0103-5053.20180065
- Azeredo, H., Rosaa, M. F., y Mattosoba, L. (2017). Nanocellulose in bio-based food packaging applications. Industrial Crops and Products, 97, 664-671. doi:10.1016/j.indcrop.2016.03.013

- Bano, S., y Negi, Y. S. (2017). Studies on cellulose nanocrystals isolated from groundnut shells. 157, 1041-1049. doi:10.1016/j.carbpol.2016.
- Carvalho y Virgens. (2018). Terpenoids isolated from *Azadirachta indica* roots and biological activities. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 29(1). doi:10.1016/j.bjp.2018.12.003
- Cerqueira, J. C., Penha, J. D. S., Oliveira, R. S., Guarieiro, L. L. N., Melo, P. D. S., Viana, J. D., y Machado, B. A. S. (2017). Production of biodegradable starch nanocomposites using cellulose nanocrystals extracted from coconut fibers. *Polímeros*, 27(4), 320-329. doi:10.1590/0104-1428.05316
- Chandra, J., George, N., y Narayanankutty, S. K. (2016). Isolation and characterization of cellulose nanofibrils from arecanut husk fibre. *Carbohydrate polymers*, 142, 158-166. doi:10.1016/j.carbpol.2016.01.015
- Coelho, C. C., Michelin, M., Cerqueira, M. A., Goncalves, C., Tonon, R. V., Pastrana, L. M., Teixeira, J. A. (2018). Cellulose nanocrystals from grape pomace: production, properties and cytotoxicity assessment. *Carbohydrate polymers*, 192, 327-336. doi:10.1016/j.carbpol.2018.03.023
- Dai, H., Ou, S., Huang, Y., y Huang, H. (2018). Utilization of pineapple peel for production of nanocellulose and film application. *Cellulose*, 25(3), 1743-1756. doi:10.1007/s10570-018-1671-0
- Deepa, B., Abraham, E., Cordeiro, N., Mozetic, M., Mathew, A. P., Oksman, K., y Pothan, L. A. (2015). Utilization of various lignocellulosic biomass for the production of nanocellulose: a comparative study. *Cellulose*, 22(2), 1075-1090. doi:10.1016/j.carbpol.2017.09.088
- Fakayode, O. A., Ahmed Aboagarib, E. A., Yan, D., Li, M., Wahia, H., Taiye Mustapha, A., Ma, H. (2020). Novel two-pot approach ultrasonication and deep eutectic solvent pretreatments for watermelon rind delignification: Parametric screening and optimization via response surface methodology. *Energy*, 203, 1-37. doi:10.1016/j.energy.2020.117872
- Jiang, F., y Hsieh, Y. L. (2015). Cellulose nanocrystal isolation from tomato peels and assembled nanofibers. *Carbohydrate Polymers*, 122, 60-68. doi:10.1016/j.carbpol.2014.12.064

- Hong, S., Song, Y., Yuan, Y., Lian, H., y Liimatainen, H. (2020). Production and characterization of lignin containing nanocellulose from luffa through an acidic deep eutectic solvent treatment and systematic fractionation. *Industrial Crops and Products*, 143, 111913. doi:10.1016/j.indcrop.2019.111913
- Ibrahim, A., Yusof, L., Beddu, N. S., Galasin, N., Lee, P. Y., Lee, R. N., y Zahrim, A. Y. (2016). Adsorption study of Ammonia Nitrogen by watermelon rind. *IOP Conf. Series: Earth and Environmental Science* 36 (2016) 012020, 36, 1-6. doi:10.1088/1755-1315/36/1/012020
- Isikgor, F. H., & Becer, C. R. (2015). Lignocellulosic Biomass: A Sustainable Platform for Production of Bio-Based Chemicals and Polymers. *Polymer Chemistry*, 6(25), 4497-4559. doi:10.1039/c0xx00000x
- Jiang, F., & Hsieh, Y. L. (2015). Cellulose nanocrystal isolation from tomato peels and assembled nanofibers. *Carbohydrate Polymers*, 122, 60-68. doi:10.1016/j.carbpol.2014.12.064
- Kian, L. K., Jawaid, M., Ariffin, H., & Karim, Z. (2018). Isolation and characterization of nanocrystalline cellulose from roselle-derived microcrystalline cellulose. *International Journal of Biological Macromolecules*, 114, 54–63. doi:10.1016/j.ijbiomac.2018.03.065
- Khawas, P., y Deka, C. (2016). Isolation and characterization of cellulose nanofibers from culinarybanana peel using high-intensity ultrasonication combined withchemical treatment. *Carbohydrate Polymers*, 137, 608–616. doi:10.1016/j.carbpol.2015.11.020
- Kouadri, I., y Satha, H. (2018). Extraction and characterization of cellulose and cellulose nanofibers from *Citrullus colocynthis* seeds. *Industrial Crops & Products*, 124, 787-796. doi:10.1016/j.indcrop.2018.08.051
- Kumar, A., Negi, Y. S., Choudhary, V., y Bhardwaj, N. K. (2014). Characterization of Cellulose Nanocrystals Produced by Acid-Hydrolysis from Sugarcane Bagasse as Agro-Waste. *Journal of Materials Physics and Chemistry*, 2(1), 1-8. doi:10.12691/jmpc-2-1-1
- Lavoine, N., y Bergström, L. (2017). Nanocellulose-based foams and aerogels: processing, properties, and applications. *Journal of Materials Chemistry A*, 5(31), 16105-16117. doi:10.1039/x0xx00000x

- Madureira, A. R., Atatoprak, T., Çabuk, D., Sousa, F., Pullar, R. C., & Pintado, M. E. (2018). Extraction and characterisation of cellulose nanocrystals from pineapple peel. *International Journal of Food Studies*. doi: 10.7455/ijfs/7.1.2018.a3
- Martins, D. F., de Souza, A. B., Henrique, M. A., Silvério, H. A., Neto, W. P. F., y Pasquini, D. (2015). The influence of the cellulose hydrolysis process on the structure of cellulose nanocrystals extracted from capim mombaça (*Panicum maximum*). *Industrial Crops and Products*, 65, 496-505. doi: 10.1016/j.indcrop.2014.10.035
- Montgomery, D., & Runger, G. (2003). *Probabilidad y Estadística Aplicada a La Ingeniería*. México: LIMUSA WILEY.
- Naduparambath, S., Jinitha, T. V., Shaniba, V., Sreejith, M. P., Balan, A. K., y Purushothaman, E. (2018). Isolation and characterisation of cellulose nanocrystals from sago seed shells. *Carbohydrate polymers*, 180, 13-20. doi: 10.1016/j.carbpol.2017.09.088
- Naz, S., Ahmad, N., Akhtar, J., Ahmad, N. M., Ali, A., y Zia, M. (2016). Management of Citrus Waste by Switching in the Production of Nanocellulose. *IET nanobiotechnology*, 10(6), 395-399. doi:10.1049/iet-nbt.2015.0116.
- Olayinka, B. U., y Etejere, E. O. (2018). Proximate and Chemical Compositions of Watermelon (*Citrullus lanatus* (Thunb.) Matsum and Nakai cv Red and Cucumber (*Cucumis sativus* L. cv Pipino). *International Food Research Journal*, 25(3), 1060-1066.
- Phanthong, P., Reubroycharoen, P., Hao, X., Xu, G., Abudula, A., y Guan, G. (2018). Nanocellulose: Extraction and application. *Carbon Resources Conversion*, 1(1), 32-43. doi:10.1016/j.crcon.2018.05.004
- Prasanna, N., & Mitra, J. (2020). Isolation and characterization of cellulose nanocrystals from *Cucumis sativus* peels. *Carbohydrate Polymers*, 116706. doi:10.1016/j.carbpol.2020.116706
- Ramesh, S., y Radhakrishnan, P. (2019). Cellulose nanoparticles from agro-industrial waste for the development of active packaging. *Applied Surface Science*, 484, 1274-1281. Doi: 10.1016/j.apsusc.2019.04.003
- Reis, R. S., Tienne, L. G., de HS Souza, D., Maria de Fátima, V. M., y Monteiro, S. N. (2020). Characterization of coffee parchment and innovative steam explosion

treatment to obtain microfibrillated cellulose as potential composite reinforcement. *Journal of Materials Research and Technology*. doi: 10.1016/j.jmrt.2020.05.099

Saba, N., y Jawaid, M. (2017). Recent advances in nanocellulose-based polymer nanocomposites. In *Cellulose-Reinforced Nanofibre Composites*. Woodhead Publishing, 89-112. doi: 10.1016/B978-0-08-100957-4.00004-8

Sagar, N. A., Pareek, S., Sharma, S., Yahia, E. M., y Lobo, M. G. (2018). Fruit and Vegetable Waste: Bioactive Compounds, Their Extraction, and Possible Utilization. *Comprehensive reviews in food science and food safety*, 17, 512-531. doi:10.1111/1541-4337.12330

Tibolla, H., Pelissari, F. M., y Menegalli, F. C. (2014). Cellulose nanofibers produced from banana peel by chemical and enzymatic treatment. *LWT-Food Science and Technology*, 59(2), 1311-1318. doi:10.1016/j.lwt.2014.04.011

Widiarto, S., Yuwono, S. D., Rochliadi, A., y Arcana, I. M. (2017, March). Preparation and characterization of cellulose and nanocellulose from agro-industrial waste-cassava peel. In *IOP Conference Series Material Science and Engineering*, 176. doi: 10.1088/1757-899X/176/1/012052

Wijaya, C. J., Saputra, S. N., Soetaredjo, F. E., Putro, J. N., Lin, C. X., Kurniawan, A., Ismadji, S. (2017). Cellulose nanocrystals from passion fruit peels waste as antibiotic drug carrier. *Carbohydrate Polymers*, 175, 370–376. doi:10.1016/j.carbpol. 2017.08.004