

Cationización de celulosa bacteriana usando sales de amonio cuaternarias

Angélica Stefany Sandoval Miranda

Trabajo de Investigación para optar al título de Magíster en Química

Directora:

Marianny Yajaira Combariza Montañez

Ph. D. en Química Analítica Ambiental

Co-director

Julio Roberto Pinzón Joya

Ph. D. en Química

Universidad Industrial de Santander

Facultad de Ciencias

Maestría en Química

Escuela de Química

Bucaramanga

2021

Dedicatoria

Primeramente, a Dios por guiarme y cuidarme siempre ante cualquier adversidad. A mis padres por haberme formado como persona, ya que muchos de mis logros se los debo a ustedes. A mi familia por ser la motivación que me impulsa cada día a superarme y alcanzar mis sueños y a mis amigos por su compañía y apoyo incondicional.

Agradecimientos

A Dios por brindarme la oportunidad de realizar y culminar este proyecto.

A mi directora Marianny Combariza, por sus consejos y guía durante el desarrollo de esta investigación.

A los profesores Cristian Blanco y Julio Roberto Pinzón por su codirección y asesoría.

A los compañeros y amigos que conocí durante esta experiencia, en especial a Sergio por su amistad y colaboración.

Al Grupo de Investigación en Fisicoquímica Teórica y Experimental (GIFTEX) y al Centro de Estudios e Investigaciones Ambientales (CEIAM).

Al Laboratorio de Difracción de Rayos X y el Laboratorio de Ciencias de Superficies del Parque Tecnológico Guatiguará adscritos a la Vicerrectoría de Investigación y Extensión por los servicios prestados.

Al proyecto de regalías “Desarrollo de procesos y productos para la valorización de mucílago y granos de cacao en el departamento de Santander” y la Universidad Industrial de Santander.

A mi familia y amigos por ser mi apoyo y compañía en cada aventura.

Tabla de Contenido

Introducción	12
1. Objetivos	16
1.1. Objetivo General	16
1.2. Objetivos Específicos.....	16
2. Marco referencial	17
2.1. Celulosa.....	17
2.2. Tratamientos de modificación superficial.....	18
2.3. Aplicaciones cosméticas de la celulosa	21
2.4. Estructura de la piel y cabello	22
2.5. Antecedentes.....	25
3. Materiales y métodos	29
3.1. Materiales y reactivos	29
3.2. Modificación de celulosa	30
3.2.1. Oxidación	30
3.2.2. Amidación de nanofibras de celulosa	31
3.2.3. Cationización	32
3.2.4. Caracterización de las fibras de celulosa	33

3.2.5. Evaluación de la actividad antifrizz de celulosa modificada sobre el cabello	38
4. Resultados	39
4.1. Obtención y modificación de nanocelulosa	39
4.1.1. Reacciones de formación de nanocelulosa oxidada	40
4.1.2. Reacciones de formación de nanocelulosa amidada	44
4.1.3. Reacciones de formación de nanocelulosa catiónica	45
4.2. Caracterización de la nanocelulosa	47
4.2.1. Grado de oxidación	47
4.2.2. Grado de sustitución	50
4.2.3. Estabilidad coloidal y análisis morfológico	52
4.2.4. Análisis estructural de nanocelulosa por medio de FT-IR y DRX	55
4.2.5. Análisis superficial de nanocelulosa por XPS	64
4.2.6. Análisis térmico de nanocelulosas	71
4.3. Balance hidrofílico/lipofílico de nanocelulosas	75
4.4. Evaluación de la actividad antifrizz de celulosa modificada sobre el cabello	77
5. Conclusiones	78
Referencias	82
Apéndices	110

Lista de Tablas

Tabla 1. DO, DS y σ para CB, TOBN, POBN, TOBN-EDEA, POBN-EDEA, TOBN-EDEA-Q y POBN-EDEA-Q.....	48
Tabla 2. Composición elemental CHNS expresado en porcentaje de masa para CB, TOBN, POBN, TOBN-EDEA, POBN-EDEA, TOBN-EDEA-Q y POBN-EDEA-Q.	50
Tabla 3. Porcentaje de la fase cristalina I_{α} , índice de cristalinidad y tamaño del cristalito y para CB, TOBN, POBN, TOBN-EDEA, POBN-EDEA, TOBN-EDEA-Q, POBN-EDEA-Q.	59
Tabla 4. Composición elemental de la superficie de CB, TOBN, POBN, TOBN-EDEA, POBN-EDEA, TOBN-EDEA-Q y POBN-EDEA-Q analizada por XPS.	66
Tabla 5. Cantidad de grupos oxidados en C6, HLB teórico y experimental, y % CF de TOBN, POBN, TOBN-EDEA, POBN-EDEA, TOBN-EDEA-Q y POBN-EDEA-Q	76

Lista de Figuras

Figura 1. Estructura química de la celulosa.....	17
Figura 2. Esquema general de las principales modificaciones superficiales de la celulosa.	19
Figura 3. Representación esquemática de la anatomía del cabello.....	24
Figura 4. Formación de grupos carboxilos en CB por medio de la oxidación mediada por TEMPO.....	41
Figura 5. Ácido peracético. a) Mecanismo de síntesis. b) Descomposición vía radicalaria y no radicalaria. c) Formación de radicales alquilo por oxidación de compuestos..	43
Figura 6. Mecanismo propuesto de amidación one-pot para la nanocelulosa oxidada.....	45
Figura 7. Posibles mecanismos de a) N-metilación y b) O-metilación en celulosa.....	46
Figura 8. Micrografías FESEM, diámetro promedio (D_{fibra}) y potencial ζ de a) CB, b) TOBN, c) POBN, d) TOBN-EDEA, e) POBN-EDEA, f) TOBN-EDEA-Q, y g) POBN-EDEA-Q.....	53
Figura 9. Espectros IR de CB, a) TOBN, TOBN-EDEA y TOBN-EDEA-Q b) POBN, POBN-EDEA y POBN-EDEA-Q.....	57
Figura 10. Perfiles de difracción de rayos X de CB, a) TOBN, TOBN-EDEA, TOBN-EDEA-Q y b) POBN, POBN-EDEA, POBN-EDEA-Q.....	62
Figura 11. Espectros de XPS para CB, TOBN, POBN, TOBN-EDEA, POBN-EDEA, TOBN-EDEA-Q, POBN-EDEA-Q.....	65
Figura 12. Esquema general con las posibles estructuras de celulosa modificada.	70
Figura 13. TGA (a y b) y curvas DTG (c y d) para CB, TOBN, POBN, TOBN-EDEA, POBN-EDEA, TOBN-EDEA-Q y POBN-EDEA-Q.....	72

Lista de Apéndices

Apéndice A. Cuantificación potenciométrica	110
Apéndice B. Apariencia física de a) las películas de CB. b) CB en agua homogenizada a 11 000 rpm por 10 min.....	111
Apéndice C. Cuantificación conductimétrica	112
Apéndice D. Espectros EDS	113
Apéndice E. Estructura química de a) CB. b-e) Representación de los cambios estructurales sufridos durante la oxidación.	114
Apéndice F. Espectros XPS deconvolucionados de C1s para CB, TOBN, POBN, TOBN-EDEA, POBN-EDEA, TOBN-EDEA-Q y POBN-EDEA-Q.....	115
Apéndice G. Espectros XPS deconvolucionados de O1s para CB, TOBN, POBN, TOBN-EDEA, POBN-EDEA, TOBN-EDEA-Q y POBN-EDEA-Q.....	116
Apéndice H. Espectros XPS deconvolucionados de N1s para CB, TOBN, TOBN-EDEA, POBN-EDEA, TOBN-EDEA-Q y POBN-EDEA-Q.....	117
Apéndice I. Porcentaje atómico para las asignaciones de todos los componentes en las regiones C 1s, O 1s y N 1s, dadas por XPS.	118
Apéndice J. Cuantificación de HLB	119
Apéndice K. Resultados de la actividad antifrizz realizada sobre una muestra de cabello caucásico (control), usando celulosa modificada TOBN, POBN, TOBN-EDEA, POBN-EDEA, TOBN-EDEA-Q y POBN-EDEA-Q. Adicionalmente, se evaluó la actividad antifrizz de un tratamiento comercial (TC).....	120

Glosario

AGU	Unidad de anhidroglucosa (<i>anhydroglucose unit</i>)
AGU _{ox}	Unidad de anhidroglucosa oxidada
APA	Ácido peracético
CB	Celulosa bacteriana
CHPTAC	Cloruro de N-(3-cloro-2-hidroxipropil) trimetilamonio
DO	Grado de oxidación (<i>degree of oxidation</i>)
DMF	Dimetilformamida
DRX	Difracción de rayos X
DVS	Sorción dinámica de vapor (<i>dynamic vapor sorption</i>)
EDEA	2,2'-(Etilendioxi)bis(etilamina)
EDS	Espectrometría de dispersión de energía de rayos X (<i>energy-dispersive X-ray spectroscopy</i>)
EPTAC	Cloruro de glicidíltrimetilamonio
FESEM	Microscopía electrónica de barrido de emisión de campo (<i>field emission scanning electron microscopy</i>)
FT-IR-ATR	Espectroscopia de infrarrojo por transformada de Fourier con reflectancia total atenuada (<i>Fourier transform infrared spectroscopy – attenuated total reflectance</i>)
HLB	Balance hidrofílico-lipofílico (<i>hydrophilic–lipophilic balance</i>)
O/W	Aceite en agua (<i>oil in water</i>)

POBN	Nanofibras de celulosa oxidada por ácido peracético (<i>peracetic acid-oxidized bacterial cellulose nanofibers</i>)
POBN-EDEA	POBN amidadas con EDEA
POBN-EDEA-Q	POBN-EDEA cuaternizadas
RMN ¹ H	Resonancia magnética nuclear de protón
RMN ¹³ C	Resonancia magnética nuclear de carbono 13
SDS	Dodecilsulfato sódico (<i>sodium dodecyl sulfate</i>)
TBTU	2-(1H-Benzotriazol-1-yl)-1,1,3,3-tetrametilamimio tetrafluoroborato
TEMPO	2,2,6,6-tetrametil-piperidin-1-oxilo
TGA	Análisis termogravimétrico (<i>thermogravimetric analysis</i>)
TOBN	Nanofibras de celulosa oxidadas con TEMPO (<i>TEMPO-oxidized bacterial cellulose nanofibers</i>)
TOBN-EDEA	TOBN amidadas con EDEA
TOBN-EDEA-Q	TOBN-EDEA cuaternizadas
XPS	Espectroscopía fotoelectrónica de rayos X (<i>X-ray photoelectron spectroscopy</i>)

Resumen

Título: Cationización de celulosa bacteriana usando sales de amonio cuaternarias*

Autor: Angélica Stefany Sandoval Miranda**

Palabras Clave: celulosa bacteriana, nanocelulosa, oxidación, amidación, metilación.

Descripción:

En esta investigación se sintetizaron materiales funcionalizados a partir de celulosa bacteriana mediante reacciones de oxidación mediadas por el radical TEMPO o por ácido peracético, seguida de una amidación “*one-pot*” con una diamina y metilación con CH₃I.

El contenido de grupos carboxilato obtenido luego de la oxidación estuvo en el rango de 0,88 - 1,39 mmol COOH/g celulosa. La nanocelulosa carboxilada presentó una morfología de nanofibrillas en forma de cinta con un diámetro de 22,3 - 25,9 nm.

La funcionalización de la nanocelulosa con grupos amino fue facilitada por la reacción de amidación usando TBTU como agente de acoplamiento y una diamina, sustituyendo los grupos carboxilatos (26,7 – 68,8%). Los resultados de espectroscopía FT-IR y XPS demostraron la presencia del enlace covalente luego del acoplamiento con la diamina. Las imágenes FESEM muestra una morfología casi intacta con respecto a las muestras oxidadas y diámetros entre 24,4 – 26,7 nm.

La metilación logró modificar la celulosa amidada. Sin embargo, en las estructuras finales se observaron principalmente grupos amino y grupos oxidados de nitrógeno, lo que implica que la reacción esencialmente transcurre por una vía alterna a la N-metilación. No obstante, los resultados de XPS también muestran una señal en 403,6 eV que puede indicar posibles interacciones entre los grupos oxidados de nitrógeno y los iones amonio. Las micrográficas FESEM permitieron observar que luego de los tratamientos de modificación superficial se obtuvo nanocelulosa modificada sin alterar significativamente su estructura de red tridimensional con diámetro entre 27,5 a 29,5 nm.

Los valores de HLB (experimental y teórico) clasificaron la celulosa modificada como un agente emulsificante O/W o solubilizante, según corresponda, lo cual indica que son muy afines con fases polares. Se hicieron también pruebas para el control de frizz en cabello. Sin embargo, la mayoría de los materiales funcionalizados no presentaron actividad antifrizz.

* Proyecto de Grado

** Facultad de Ciencias. Escuela de Química. Directora: Marianny Y. Combariza, Química, Ph. D.
Co-director: Julio Roberto Pinzón, Químico, Ph. D.

Abstract

Title: Cationization of bacterial cellulose using quaternary ammonium salts *

Author: Angelica Stefany Sandoval Miranda **

Key Words: bacterial cellulose, nanocellulose, oxidation, amidation, methylation.

Description:

In this study, we synthesized functionalized materials from bacterial cellulose through oxidation reactions mediated by the TEMPO radical or by peracetic acid, followed by "*one-pot*" amidation with a diamine and methylation with CH₃I.

Carboxylated nanocellulose had a carboxyl content ranging between 0.88 - 1.39 mmol COOH/g cellulose and a morphology of ribbon-shaped nanofiber with diameters of 22.3 - 25.9 nm.

Nanocellulose was functionalized with amino groups via an amidation reaction using TBTU as coupling agent and a diamine, replacing the carboxyl groups (26.7 - 68.8%). FT-IR and XPS spectroscopy showed the covalent bond after coupling with diamine. FESEM images revealed an almost intact morphology relating to the oxidized samples and diameters between 24.4 - 26.7 nm.

Methylation reaction resulted in the modification of the amidated nanocellulose. However, in the final structures, mainly amino groups and oxidized nitrogen groups were observed, implying that the reaction took place by an alternate route to N-methylation. Nevertheless, XPS results also showed a signal at 403.6 eV that may indicate possible interactions between oxidized nitrogen groups and ammonium ions. FESEM micrographs indicated that after the surface modification treatments, the three-dimensional net structure was unaltered and had diameters between 27.5 and 29.5 nm.

HLB values (experimental and theoretical) classified the modified cellulose as an O/W emulsifying or solubilizing agent, suggesting that they are similar to polar phases. Frizz control in hair samples was performed using the materials synthesized. However, tests showed that most of the functionalized materials did not exhibit antifrizz activity.

Introducción

* Final Project

** Science Faculty, Chemistry School, Director: Marianny Y. Combariza, Chemist, Ph. D.
Co-director: Julio Roberto Pinzón, Chemist, Ph. D.

En 2019 la producción de cacao a nivel nacional registró un crecimiento de 5,1% respecto al año anterior, reportando un total de 59 740 toneladas de cacao cosechado, de las cuales aproximadamente el 42% corresponde a la producción en Santander (Fedecacao, 2020). Sin embargo, solo el 8% del total del fruto cosechado es usado en la cadena de valor, generando grandes cantidades de desechos de biomasa, constituidos principalmente por mucílago, cáscara y cascarilla del fruto. La acumulación de esta biomasa residual posteriormente genera problemas fitosanitarios debido a la proliferación de hongos y patógenos que pueden afectar las cosechas cercanas a sus sitios de disposición, generando pérdidas significativas en la cadena de producción del cacao. Por lo tanto, es indispensable evaluar la sostenibilidad agrícola del cultivo y buscar aplicaciones innovadoras que sean escalables en la industria promoviendo así un sistema de agricultura sostenible (Ramírez Sulvarán et al., 2014).

Recientemente, se ha propuesto usar los desechos de mucílago para generar nuevos materiales con aplicaciones en diferentes sectores industriales como alimentos, construcción, fertilizantes, biogás, espumas, fármacos y cosméticos (Crescente et al., 1999; Berra et al., 2015; Fortunati et al., 2015; Motghare et al., 2016; Tahir et al., 2017; L. Jiang et al., 2018). Entre las aplicaciones, se destaca su uso como fuente de carbono debido a que se encuentra compuesto principalmente por fructosa, glucosa y sacarosa, compuestos útiles en la biosíntesis de elementos biotecnológicos a partir de celulosa como polímero base (Billmeyer, 2004; Romero & Zambrano, 2012; Afoakwa, 2016)

La celulosa obtenida a partir de microorganismos, también llamada celulosa bacteriana, se caracteriza por ser altamente pura, cristalina, moldeable y con propiedades físicas, térmicas y mecánicas particulares, las cuales le permiten ser considerada en diferentes aplicaciones como

textiles, electrónica, membranas de separación, suplementos dietarios, apósitos, tejidos artificiales, aditivos en neumáticos y en formulaciones cosméticas, entre otras (Garibay et al., 2004; Romeo, 2008; Carreño Pineda et al., 2012; Jaramillo et al., 2013; S.-P. Lin et al., 2013; W.-C. Lin et al., 2013; Esa et al., 2014). En el área cosmética, la celulosa bacteriana está siendo estudiada principalmente como agente estabilizante en formulaciones, matrices de soporte en mascarillas faciales con ingredientes activos y en tratamientos para quemaduras en vista de sus propiedades hidratantes (Ullah et al., 2016). Sin embargo, la producción de cosméticos capilares basados en celulosa bacteriana aún no ha sido explotada.

Por esta razón, en el presente proyecto de tesis buscamos desarrollar un material de celulosa con propiedades emulsificantes, surfactantes y antiestáticas, con el fin de proponerlo como posible principio activo para su uso en formulaciones de cuidado capilar. Con este propósito se propone usar una secuencia de tres tratamientos químicos (oxidación, amidación y metilación) que permitan modificar la superficie de la celulosa bacteriana, obtenida a partir de procesos biotecnológicos de aprovechamiento de residuos de la fruta del cacao.

En el proceso de oxidación reportamos un tratamiento alternativo basado en el poder oxidante del ácido peracético, normalmente usado como agente desinfectante o de blanqueamiento en productos de limpieza y en la industria textil (Du et al., 2018; Sun et al., 2000; Wang et al., 2020; K. Zhang et al., 2017). Así como, la oxidación mediada por TEMPO como método de comparación para obtener nanocelulosa carboxilada. La nanocelulosa oxidada por cada tratamiento fue posteriormente funcionalizada con una diamina a partir de una reacción de amidación “*one-pot*”, usando como agente de acoplamiento una sal de uronio. Finalmente, sobre este último material se realizó una metilación con yoduro de metilo en medio básico, para metilar los grupos amino libres en la celulosa amidada hasta producir una sal de amonio en su estructura.

Sin embargo, este último paso no ocurrió de acuerdo con lo planeado debido a que este tratamiento puede presentar otras rutas de reacción que no se consideraron.

Los materiales de celulosa modificados fueron caracterizados mediante conductimetría, análisis elemental, estabilidad coloidal para el potencial ζ , microscopía electrónica de barrido de emisión de campo (FESEM), espectroscopía infrarroja de reflectancia total atenuada (ATR-IR), difracción de rayos X (XRD), espectroscopia de fotoelectrones emitidos por rayos X (XPS), análisis termogravimétricos (TGA) y balance hidrófilo-lipófilo (HLB). Los materiales obtenidos presentan HLB alto, lo que los cataloga como surfactantes estabilizantes de emulsiones de aceite en agua (O/W). Por último, la nanocelulosa modificada a partir de tratamientos propuestos no presentó actividad antifriz, al ser evaluada en muestras de cabello sin tratar de origen caucásico mediante pruebas de hidratación capilar.

1. Objetivos

1.1. Objetivo General

Estudiar el efecto de la cationización de la celulosa bacteriana con sales de amonio cuaternario sobre las propiedades emulsificantes, surfactantes y antiestáticas del material

1.2. Objetivos Específicos

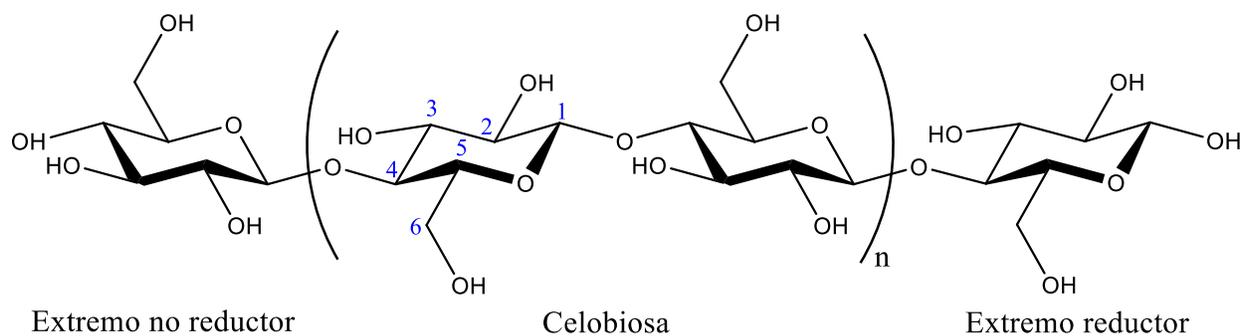
- Modificar químicamente la superficie de la celulosa con sales de amonio.
- Evaluar los cambios fisicoquímicos generados en la celulosa modificada mediante la caracterización por técnicas analíticas y morfológicas.
- Determinar las posibles interacciones entre el cabello humano y la celulosa cationizada.

2. Marco referencial

2.1. Celulosa

La celulosa es un homopolisacárido con estructura lineal formado por dímeros de celobiosa que se repiten a lo largo de toda la cadena de celulosa, la cual se encuentra conformada por monómeros de D-glucopiranososa denominados anhidroglucosa, unidos a través de enlaces glucosídicos β (1 \rightarrow 4) en conformaciones tipo silla (Angiolani, 1960; Hubbard et al., 2007). Cada monómero de anhidroglucosa posee tres grupos hidroxilos libres en la posición ecuatorial que pueden formar puentes de hidrógeno intramoleculares e intermoleculares con otras cadenas, lo que resulta en una estructura tridimensional, independiente de su fuente de extracción (Figura 1) (Turrado et al., 2008).

Figura 1. Estructura química de la celulosa.



La celulosa puede obtenerse a partir de diversas fuentes como vegetal, sintética y bacteriana. La celulosa bacteriana (CB) es un producto extracelular biosintetizado principalmente por el género *Komagataeibacter* (antes conocido como *Acetobacter* y *Gluconacetobacter*). A diferencia de la celulosa vegetal, la CB es una estructura de red tridimensional ultrafina

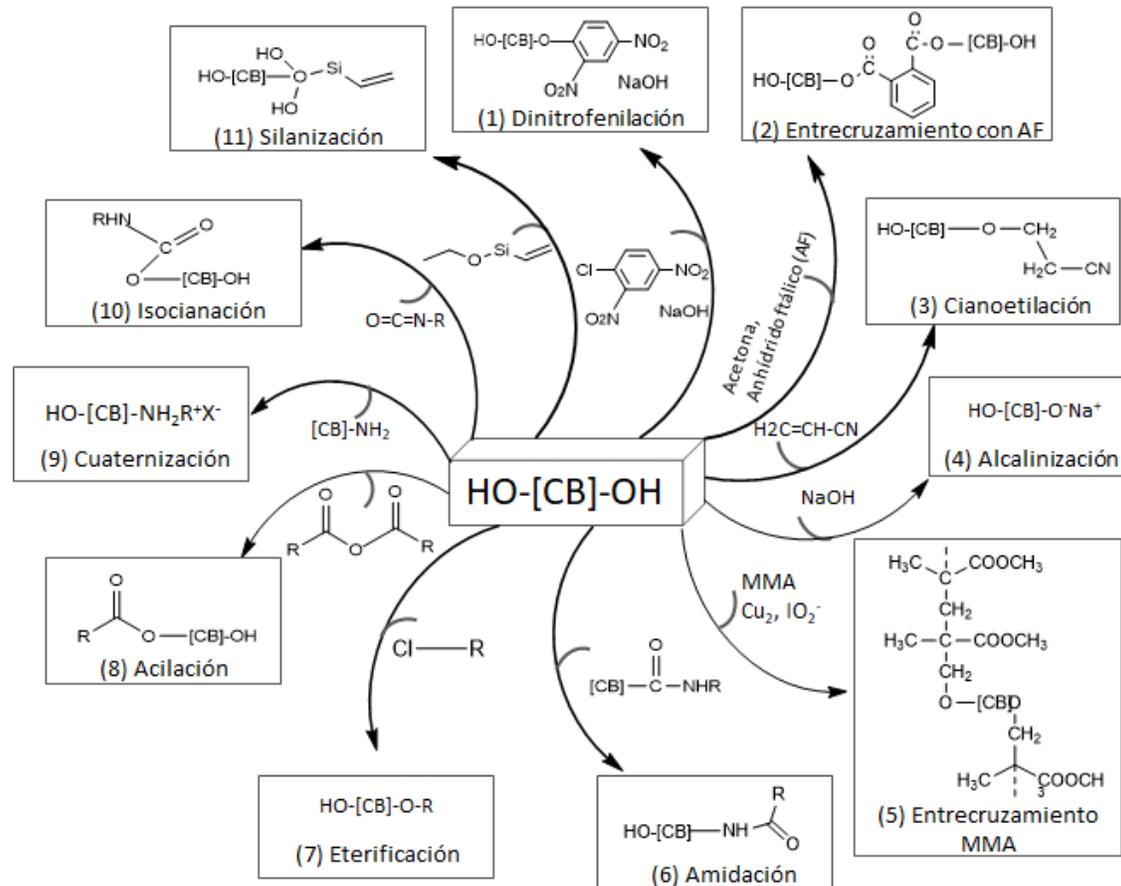
químicamente pura con alta cristalinidad. Además, es un polisacárido biocompatible que cuenta con bajo potencial inmunogénico, alta permeabilidad a líquidos y gases, alta absorción de agua (>90%) y gran área superficial. Por lo anterior, el estudio de las propiedades, modificaciones, y aplicaciones del material son temas de activa investigación en las áreas de alimentos, biomedicina, farmacéutica, sensores, y cosméticos, entre otros (Qiu & Netravali, 2014; Picheth et al., 2017; J. Tang et al., 2017; Pinho & Soares, 2018). Por ejemplo, la CB puede ser usada como modificador reológico en alimentos, fibra dietética, laxante, apósito para heridas, injerto de vasos sanguíneos, vehículo de administración controlada de medicamentos, implante médico (córneas, huesos y válvulas para el corazón), mascarilla facial y estabilizador de formulaciones cosméticas (Ullah et al., 2016).

2.2. Tratamientos de modificación superficial

Los tratamientos químicos de modificación superficial de la celulosa se basan en la reactividad y el ataque de los grupos hidroxilos ubicados en C2, C3 y C6, con el fin de producir materiales funcionales (Gurunathan et al., 2015). Entre las modificaciones químicas encontramos alcalinización, silanización, acetilación, cianoetilación, benzoilación, tratamiento con isocianatos, esterificación, eterificación, copolimerización por injerto, oxidación, nitración, amidación y cuaternización con sales de amonio, entre otras (Gurunathan et al., 2015). En la Figura 2 se presentan algunos de los procedimientos para modificar de manera superficial la estructura de un polisacárido como la celulosa.

Figura 2. Esquema general de las principales modificaciones superficiales de la celulosa.

Adaptado de (Gurunathan et al., 2015).



Los procesos de oxidación también permiten modificar la composición química (transformación de grupos hidroxilo a grupos carbonilo y carboxilo), la cristalinidad y la estructura de la celulosa a partir de la reacción con diversos agentes oxidantes (periodato, ozono, hipoclorito, peróxidos, perácidos y compuestos nitrogenados, entre otros) (Jaschinski et al., 2004). Por ejemplo, la oxidación catalizada por TEMPO convierte regioselectivamente el grupo hidroxilo primario ubicado en el C6 a grupos aldehídos y carboxilos en medio acuoso alcalino. El proceso ocurre a temperatura ambiente usando hipoclorito de sodio y bromuro de sodio como agente

oxidante primario y co-oxidante, respectivamente. La oxidación mediada con TEMPO se produce principalmente en la superficie de las regiones cristalina y amorfa de la celulosa, alterando ligeramente la cristalinidad del material. Además, la introducción de grupos carboxilato facilita la desfibrilación de la celulosa y su dispersión en agua debido a repulsiones electrostáticas entre las fibras modificadas (Tahiri & Vignon, 2000; T. Saito et al., 2006).

Los derivados de celulosa oxidada, a su vez, pueden hidrofobizarse mediante la unión covalente de grupos hidrofóbicos a la superficie de la celulosa a través de reacciones de amidación, acilación, silación y esterificación, entre otras (Lasseguette, 2008; Hemraz et al., 2013). La celulosa hidrofobizada puede usarse como refuerzo en matrices poliméricas no polares debido a su baja o media polaridad, dependiendo del grupo insertado en la celulosa. La amidación, como se mencionó anteriormente, es un proceso de modificación hidrofóbico superficial que permite la formación de un enlace amida en el biopolímero mediante la reacción entre un grupo amina y un ácido carboxílico. Normalmente, esta reacción requiere de varias etapas e implica, por ejemplo, el uso de carbodiimidas solubles en agua como agentes de acoplamiento, altas temperaturas y condiciones de pH específicas, lo que la convierte en un proceso lento, costoso y tedioso. Por estas razones se han desarrollado métodos de síntesis más eficientes, del tipo *one-pot*, adaptadas de la síntesis de proteínas y péptidos. Por ejemplo, es posible hidrofobizar la superficie de la celulosa usando una sal de uronio como agente acilante y una amina primaria, que reaccionan con la celulosa oxidada formando inicialmente un éster activo y finalmente una amida (Gómez et al., 2017; Calderón-Vergara et al., 2020; Gómez-Jaimes et al., 2020).

Por otra parte, la cationización de polisacáridos, que consiste en la introducción de sales de amonio cuaternarias en la superficie de la fibra celulósica, les confiere nuevas propiedades como actividad antibacteriana, alta adsorción de tintes aniónicos y buena capacidad de floculación

(Ru et al., 2018). Estos grupos amonio pueden ser incluidos por adición nucleofílica de EPTAC con previa apertura del anillo en la estructura epóxica, eterificación de grupos hidroxilos y agentes catiónicos a pH alcalino y reacciones click catalizadas por cobre, entre otras (Zhu et al., 2015; Hou et al., 2019, p. 2). Sin embargo, para la cationización de biopolímeros que ya contienen en su estructura un grupo amino libre, la ruta más usada es la metilación con yoduro de metilo e hidróxido de sodio como catalizador. No obstante, esta reacción no es selectiva hacia nitrógeno, ya que puede presentarse reacciones secundarias como *O*-metilación (Rúnarsson et al., 2007; Rúnarsson et al., 2008; Rosilo et al., 2014).

2.3. Aplicaciones cosméticas de la celulosa

Un producto cosmético se conoce como un artículo diseñado para ser aplicado en el cuerpo humano con el fin de limpiar, embellecer, promover el atractivo o alterar la apariencia física. Por lo tanto, el diseño de una formulación para el cuidado de la piel y/o cabello debe garantizar principalmente hidratación y humectación, ya que diversos factores como la edad y el género de una persona, así como el ambiente al cual se encuentra expuesta, pueden generar pérdida de agua, elasticidad y suavidad, ocasionando resequedad y enfermedades relacionadas (Wilkinson & Moore, 1990).

Sin embargo, un producto que permita hidratar y prevenir el envejecimiento realmente no se encuentra bajo la definición de un cosmético, ya que son características propias de un fármaco. Aun así, estos productos continúan teniendo características cosméticas, por lo cual, hace algunos años ha venido creciendo la aceptación a nivel mundial del término cosmeceútico o cosmético activo, propuesto por el dermatólogo Albert Kligman, quien lo define como un híbrido entre un cosmético y un fármaco, el cual promueve cambios en la epidermis debido a sus propiedades

farmacológicas (Martins et al., 2014; Corinaldesi et al., 2017). Por consiguiente, todos los productos de cuidado cutáneo y capilar diferentes a los decorativos, desmaquillantes y de limpieza se denominan cosmeceúticos.

El uso de la celulosa bacteriana (CB) en el área de la cosmética va en aumento. Por ejemplo, la CB se puede usar como agente estabilizante en formulaciones de emulsiones O/W en productos de limpieza y acondicionamiento capilar. La adición de CB a este tipo de productos disminuye la cantidad de surfactantes sintéticos en las formulaciones, y al mismo tiempo reduce problemas de irritación y alergias en la piel y los ojos durante y después del uso sin alterar las propiedades del cosmético (Ougiya et al., 1997; Cheng et al., 2012; Draelos et al., 2013).

Adicionalmente, la CB ayuda a estabilizar partículas sólidas de compuestos activos en matrices líquidas, mejorando la textura y las propiedades sensoriales del cosmético (Gilbert et al., 2013). Por esta razón, actualmente se usa CB en productos cosméticos como máscaras faciales hidratantes y antiarrugas, exfoliantes, tratamientos capilares y productos para el cuidado de uñas, entre otros (Gama et al., 2012).

2.4. Estructura de la piel y cabello

La piel es el órgano más grande en nuestro cuerpo. Se encuentra conformada por tres capas, denominadas hipodermis, dermis y epidermis. La formación de estas capas permite crear una estructura en la piel que funciona como barrera de protección activa contra golpes y daños ambientales. Igualmente, controla la pérdida de humedad, evita el ingreso de sustancias extrañas, regula la pérdida de calor y transmite los estímulos percibidos (Wilkinson & Moore, 1990).

La hipodermis se encuentra compuesta principalmente de adipocitos que proporcionan una barrera térmica al cuerpo. Sobre esta capa se encuentra la dermis, un tejido resistente y elástico

que actúa como almohadilla del cuerpo frente a lesiones mecánicas y proporciona nutrientes a la epidermis y a los apéndices cutáneos. Encima de ellas se encuentra la capa más externa, la epidermis, compuesta de un epitelio escamoso estratificado queratinizado que a su vez se divide en cinco subcapas celulares: estrato basal, espinoso, granuloso, lúcido y córneo (Wilkinson & Moore, 1990; Mitsui, 1997; Krause, 2005; Sonnevile-Aubrun et al., 2018; Lopez-Ojeda et al., 2020).

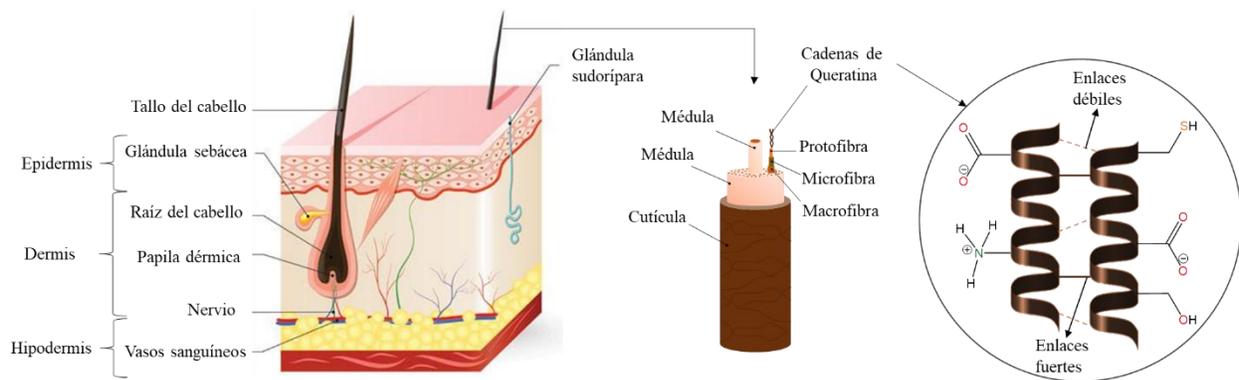
Las conformaciones de células epidérmicas modificadas, como el cabello, contienen queratina con alto contenido en cistina (11-16%), un aminoácido importante en su estructura debido a sus enlaces disulfuro que le confiere rigidez e insolubilidad a las fibras capilares, generando resistencia ante golpes o ataques químicos (McKittrick et al., 2012). Además, casi el 50% en peso de esta proteína se encuentra constituida por cadenas laterales de aminoácidos, permitiendo interacciones adicionales presentes en la queratina, la cual le permite formar una estructura organizada (Mitsui, 1997; D. Zhang, 2013). Algunas de estas interacciones son:

- Enlaces de hidrógeno entre cadenas polipeptídicas paralelas.
- Interacciones Coulómbicas entre grupos de cadenas laterales con carácter catiónico ($-\text{NHR}_2^+$ en arginina, lisina e histidina) y aniónico ($-\text{COO}^-$ en ácido aspártico y glutámico).
- Enlaces covalentes de disulfuro, intermolecular o intramolecular.

En la Figura 3 se observa en un corte longitudinal la formación de pelo mediante invaginación de la epidermis en la dermis, formando una bolsita que engloba una pequeña papila de la dermis que contiene el folículo piloso. Las células epidérmicas que envuelven la papila dérmica proliferan expulsando hacia la superficie capilar una columna de células queratinizadas, la cual se conoce como tallo del pelo. Durante este proceso se genera un canal piloso, junto al cual

se encuentra una glándula sebácea que se abre hacia la parte superior del folículo, segregando sebo para lubricar y proteger el cuero cabelludo y el cabello (Wilkinson & Moore, 1990).

Figura 3. Representación esquemática de la anatomía del cabello. Adaptado de (Donato & Mija, 2020; Dandu, 2020).



La matriz de cabello posee una cutícula que funciona como capa externa protectora que recubre la corteza (componente principal del cabello). La corteza consiste en filamentos de queratina altamente organizados llamados microfibras, que se empaquetan en unidades más grandes (macrofibras), unidas por el complejo de membrana celular que actúa como un cemento entre las células (F.-C. Yang et al., 2014; Sonnevile-Aubrun et al., 2018).

Sin embargo, los tratamientos capilares a los cuales se somete el cabello pueden generar serios problemas en su estructura, ocasionando cambios en la distribución de aminoácidos. El alisado, la ondulación permanente, la aplicación de tintes, las tensiones ambientales e incluso los lavados con champú pueden generar daños en la cutícula del tallo capilar como la desaparición de partes de la cutícula y descamación. Los cabellos con este daño no presentan brillo debido a la dispersión de la luz reflejada y pierden suavidad. A medida que el daño progresa, la corteza se ve

más expuesta, rompiéndose fácilmente, ocasionando un cabello seco, quebradizo y opaco, volviéndose difícil de estilizar (Sonneville-Aubrun et al., 2018).

Un problema muy común en el estilizado de cabello es el frizz, que afecta comúnmente a mujeres y es generado por una gran difusión de humedad hacia el cabello, generando cambios y reorganización entre los puentes de hidrógeno y las interacciones de las cadenas laterales en la queratina, ocasionando el incremento en el diámetro de la fibra y, por consiguiente, un aumento en el volumen del cabello (Marsh et al., 2015). En algunas ocasiones el frizz puede venir acompañado de la pérdida de brillo y suavidad en el cabello, dando a entender que éste no goza de buena salud (Punyani et al., 2016).

2.5. Antecedentes

La investigación y desarrollo de materiales funcionales a partir de biomasa ha ido creciendo en los últimos años debido a la gran cantidad de residuos de biomasa proveniente de actividades agroindustriales y la posibilidad de su aplicación en diferentes campos industriales (Klemm et al., 2005; Klemm et al., 2006; Gea, 2011). En residuos vegetales, el acceso a la celulosa y su posterior modificación inicia con pretratamientos de aislamiento y purificación. Por ejemplo, el blanqueamiento de la celulosa puede realizarse con ácido peracético (APA). El APA ha sido evaluado como agente de blanqueamiento en fibras de yute y algodón. El APA permite eliminar materiales no celulósicos de las pulpas y obtener fibras con características similares producidas con otros métodos de blanqueamiento (Nada et al., 1999; Prabakaran et al., 2000). No obstante, este proceso también causa la oxidación de la celulosa, pues se ha demostrado la aparición de grupos aldehído y carboxílico y la variación en la cristalinidad del material. Consecuentemente, el

APA puede considerarse como un agente de blanqueamiento con actividad oxidante (Nada et al., 1999; Prabaharan et al., 2000; Abdel-Halim & Al-Deyab, 2011; Duan et al., 2017).

Por otra parte, una vez purificada, es posible oxidar la superficie de la celulosa para producir nanofibras de celulosa. El método de oxidación más utilizado involucra la reacción de la celulosa en medio alcalino ($\text{NaClO}_3/\text{NaBr}$) utilizando el radical TEMPO como catalizador. Este proceso se conoce como oxidación TEMPO y da como resultado nanofibras de celulosa con grupos carboxilo y aldehído en su superficie. La oxidación de la celulosa mediante la reacción TEMPO permite aumentar la retención de agua del material, mejorar su dispersibilidad en agua, y aumentar su hidrofiliidad y relación de aspecto (longitud/ancho) (T. Saito & Isogai, 2004)

Los procesos de pretratamiento, aislamiento, purificación de la celulosa son fundamentales para la generación de derivados funcionales del material. Estos procesos son menos complejos cuando se considera la celulosa bacteriana (CB) que, debido a su proceso de biosíntesis, existe como una sustancia pura, compuesta 100% por celulosa, a diferencia de la celulosa proveniente de plantas superiores. Una vez aislada y purificada, la celulosa puede ser modificada mediante introducción de grupos funcionales que le otorguen características como hidrofobicidad, dispersabilidad, carga superficial (aniónica o catiónica), etc. Por ejemplo, en 2013, Hemraz et al., prepararon derivados de celulosa nanocristalina funcionalizada con aminas terminales sin grupos protectores. Inicialmente, fue necesario oxidar la celulosa nanocristalina a través de TEMPO. Luego, se llevó a cabo la reacción de amidación con aminas bifuncionales de cadena alquílica corta por acoplamiento mediado con EDC/NHS. La funcionalización le otorgó a la celulosa estabilidad térmica debida a la amida y versatilidad para conjugarse con otras biomoléculas debido a los grupos amina terminales (Hemraz et al., 2013).

La celulosa a escala nano, sola o en combinaciones con otros polímeros, puede ser utilizada para construir enrejados tridimensionales, como por ejemplo los hidrogeles. Materiales compuestos de CB-acrilamida sensibles al pH, con baja toxicidad y alta biocompatibilidad, pueden ser usados como vehículos para la administración de fármacos vía oral. Estos hidrogeles son hemocompatibles, no citotóxico y no tóxico por vía oral hasta 2000 mg/kg, lo que demuestra su potencial en la administración de fármacos (Pandey et al., 2014).

En el desarrollo de materiales celulósicos catiónicos, en particular, se encuentra el trabajo de síntesis de polisacáridos catiónicos con amonio cuaternario realizado mediante una reacción *one-pot* con polisacáridos neutros, epíclorhidrina y una amina terciaria en proporciones equimolares. Debido a su carácter anfifílico, estos materiales pueden usarse potencialmente como aditivos en fármacos, como floculantes o agentes antibacterianos (Nichifor et al., 2010). También se ha reportado la influencia de la cuaternización e hidroxipropilsulfonación en las propiedades fisicoquímicas del almidón de tapioca oxidado (OTS). Las muestras de OTS se prepararon mediante cuaternización simultánea e hidroxipropilsulfonación con CHPTAC. Los resultados demostraron que la cuaternización e hidroxipropilsulfonación mejoraron la estabilidad, adherencia y disminución de la fragilidad de las fibras (Salajková et al., 2012).

Adicionalmente, el Grupo de Investigación en Fisicoquímica Teórica y Experimental (GIFTEX) ha desarrollado en los últimos años diferentes métodos de modificación de fibras celulósicas, desde la síntesis de nanopartículas metálicas y de óxidos metálicos sobre fibras de fique y sus diferentes aplicaciones, hasta el desarrollo de materiales avanzados a partir de nanocelulosa de fique (Chacón, 2011; Garcia Villamizar, 2015; Sarmiento Mendez, 2018; Ovalle Serrano, 2018). Con relación a la producción y modificación de nanocelulosas, el grupo ha trabajado en procesos de oxidación TEMPO/NaClO/NaBr para introducir grupos aldehído y

carboxilo sobre el hidroxilo primario de las unidades anhidroglucosa de la celulosa (Ovalle-Serrano et al., 2018). Adicionalmente, en el grupo se desarrollan materiales funcionales a partir de estas nanocelulosas como hidrogeles y materiales hidrofóbicos. Los hidrogeles se producen mediante la funcionalización de celulosa oxidada con nanopartículas de plata (Ovalle-Serrano et al., 2020). Por su parte, la celulosa hidrofóbica se obtiene mediante reacción *one-pot* de amidación superficial mediada por TBTU, previamente reportada en el grupo de investigación (Gómez et al., 2017). A partir de esta reacción, se logró intercambiar los grupos carboxilatos por grupos amidas, generando un material hidrofóbico con posibles propiedades surfactantes (Calderón-Vergara et al., 2020).

Los tratamientos de modificación previamente reportados por el grupo de investigación permiten obtener materiales multifunciones que pueden ser interesantes en la industria cosmética. Actualmente, existe un gran número de patentes de formulaciones cosméticas que ilustran la efectividad de los ingredientes usados en una preparación para tratamiento capilar y cómo hay amplio espacio para el uso de la nanocelulosa modificada en esta área. En el 2003, un estudio evaluó la composición de un aerosol con grupos amino o amonio cuaternario para el cuidado del cabello (Keller & Kischka, 2003). En otro estudio, se presentó un tratamiento acondicionador compuesto de una mezcla de copolímeros derivados de ácido acrílico y acrilatos junto a copolios de dimeticona y polietilenglicol como controlador de frizz. (Snyder & Someya, 2006). Luego, Nguyen et. al, publicaron una formulación capaz de reducir el frizz, sellando la humedad dentro de las fibras del cabello usando polímeros catiónicos (0,1-5%), y silicona aniónica (Nguyen et al., 2008). En otra patente, proponen una formulación de larga duración para reducir el contenido de agua (0,2-5%) a partir de compuestos aromáticos sustituidos y un controlador de humedad (Marsh et al., 2015). Incluso, este año, Nguyen et al., presentaron una formulación con un polímero

funcionalizado con oxazolina y un compuesto de aminosilicona que permite controlar el frizz y proteger del daño causado por el ambiente y tratamientos capilares fuertes (Nguyen et al., 2020).

Sin embargo, algunos de los ingredientes en estas formulaciones han sido criticados por sus posibles efectos en la salud (Panico et al., 2019). Por lo tanto, la industria de cosméticos busca materiales innovadores que mejoren no solo la actividad y el desempeño, sino también la inocuidad (para seres vivos y el medio ambiente) de los productos finales. Como ejemplo esta la propuesta de formular tratamientos que permitan proteger y reparar las fibras de queratina maltratadas usando como base mezclas de monosacáridos y polisacáridos sustituidos con grupos amina y ácidos (Greaves et al., 2019).

3. Materiales y métodos

3.1. Materiales y reactivos

La celulosa bacteriana (CB) fue suministrada por el Laboratorio de Bacterias del Parque Tecnológico de Guatiguará de la Universidad Industrial de Santander. El material se biosintetizó utilizando mucílago de cacao suplementado como fuente de carbono y un inóculo de *Gluconoacetobacter xyllinum*, de acuerdo con condiciones reportadas anteriormente (Saavedra Sanabria et al., 2019). La CB fue lavada repetidamente con agua y luego esterilizada a 121 °C durante 15 min para remover el medio de cultivo. Posteriormente, la CB fue secada en un horno a 50 °C durante 24 h. Posteriormente, se prepararon suspensiones acuosas de CB al 1% p/V usando un ultra-turrax (T 25 digital IKA, 120 V) durante 10 min a 8000 rpm.

El radical 2,2,6,6-tetrametil-piperidin-1-oxilo (TEMPO), 2,2'-(etilendioxi)bis(etilamina) (EDEA, 98%), Span® 80 (monooleato de sorbitan) y Tween 80 (polisorbato 80) se adquirieron de Sigma Aldrich (Saint Louis, MO, EE.UU.). El hipoclorito de sodio (NaClO, 15%) fue comprado

a Carlo Erba Reagents (Milán, Italia). El bromuro de sodio (NaBr), hidróxido de sodio (NaOH), ácido clorhídrico (HCl, 37%), etanol (CH₃OH), ácido acético (glacial), ácido sulfúrico (H₂SO₄, 98%), peróxido de hidrógeno (H₂O₂, 32%), N,N-dimetilformamida (DMF), cloroformo (CHCl₃), yodometano (CH₃I), acetona (C₃H₆O) y cloruro de sodio (NaCl) fueron obtenidos de Merck (Darmstadt, Alemania). El 2-(1H-benzotriazol-1-il)-1,1,3,3-tetrametilamina tetrafluoroborato (TBTU, 97%) fue comprado en Chempep (Wellington, FL, EUA) y el sodio dodecilo sulfato (SDS, 99%) fue adquirido con PanReac AppliChem (Barcelona, España). Todos los reactivos químicos se usaron sin purificación adicional. Las soluciones y suspensiones acuosas fueron preparadas con agua MiliQ (18 MΩ·cm @ 25 °C).

El ácido peracético (APA) se preparó previamente con ácido acético (AA) y peróxido de hidrógeno (relación molar 1:1,6). La mezcla fue catalizada con ácido sulfúrico, bajo agitación constante a 60 °C durante 2 h.

3.2. Modificación de celulosa

3.2.1. Oxidación

3.2.1.1 Oxidación de celulosa mediada por el radical TEMPO. La CB fue oxidada de acuerdo con la metodología propuesta por Saito & Isogai con algunas modificaciones (T. Saito & Isogai, 2004; do Nascimento et al., 2019). Se adicionaron 0,384 mmol de TEMPO y 5,80 mmol de NaBr a 100 mL de la suspensión acuosa al 1% de CB previamente preparada. La reacción inició mediante la adición gota a gota del oxidante primario (relación molar celulosa:NaClO 1:6) a temperatura ambiente con agitación constante. En seguida, se colocó la mezcla en un baño ultrasónico (Branson CPX3800, 40 kHz, 130 W), manteniendo el pH en 10,5 usando una solución 0,5 M de NaOH.

La oxidación culminó después de 4 h de reacción con la adición de 60 mL de etanol. Posteriormente, el producto de nanocelulosa se separó en una centrífuga (6500 rpm, 12 min). El sobrenadante fue descartado, la oxixelulosa precipitada fue lavada varias veces con agua y dializada (membranas de 12-14 kD) hasta pH neutro, para remover las impurezas. Finalmente, se aplicó ultrasonido (Sonics Vibra-cell VC750, 20 kHz, 750 W, A 45%) por 10 min (1:1 pulsos), para obtener una dispersión uniforme (al 1%) de oxixelulosa. El material resultante de este proceso se identifica en el documento con las siglas TOBN (*TEMPO-oxidized bacterial cellulose nanofibers*).

3.2.1.2 Oxidación de celulosa con ácido peracético (APA). Se disolvieron 100 mL de la suspensión al 1% de CB en una solución de APA, de modo que la concentración final del APA fuera de 7% p/v. La mezcla se calentó a 85 °C bajo agitación constante durante 4 h. Para eliminar las especies químicas sin reaccionar, la mezcla se centrifugó (6500 rpm, 12 min), y se lavó repetidamente con agua destilada. Posteriormente, la suspensión de celulosa oxidada (oxixelulosa) se dializó hasta pH neutro para eliminar las impurezas y el agente oxidante remanente. Finalmente, una suspensión acuosa de oxixelulosa al 1% se desintegró mecánicamente por ultrasonido (Sonics Vibra-cell VC750, 20 kHz, 750 W) durante 10 min (pulso 1:1) a una amplitud de 45%, para obtener nanofibras dispersas de CB oxidadas con ácido peracético. El material se identifica en el documento con las siglas POBN (*peracetic acid-oxidized bacterial cellulose nanofibers*).

3.2.2. Amidación de nanofibras de celulosa

Los grupos carboxilo de la nanocelulosa oxidada (TOCN y POBN) se modificaron mediante una reacción de amidación *one-pot* utilizando como agente de acoplamiento sal de uronio

TBTU y una diamina (EDEA), de acuerdo con el procedimiento descrito por Gómez et al. (2017). Uno de los grupos terminales amina en la EDEA se utilizó para formar el enlace amida con la nanocelulosa y el grupo amino libre para realizar un proceso de metilación exhaustiva hasta generar la sal de amonio.

Inicialmente se agregó TBTU en DMF a una suspensión acuosa de nanocelulosa oxidada al 1% p/p, con relación molar TBTU:COOH 2:1. La mezcla se agitó constantemente durante 30 min a temperatura ambiente y posteriormente se agregó una solución de EDEA disuelta en DMF (relación molar grupo amina:COOH 4:1). La reacción se dejó avanzar a temperatura ambiente durante 3 horas; después de este periodo de tiempo el producto se separó mediante filtración al vacío y se lavó con cloroformo, DMF y agua, en ese orden, para eliminar la amina residual y subproductos de la reacción. La nanocelulosa amidada producto de esta etapa se identifica en el documento con las siglas TOBN-EDEA (TOBN amidadas con EDEA) y POBN-EDEA (POBN amidadas con EDEA).

3.2.3. Cationización

La cationización de celulosa o cuaternización se realizó siguiendo la metodología de metilación exhaustiva con CH_3I reportada por Rúnarsson et al. (2007 y 2008), con algunas modificaciones (Rúnarsson et al., 2007; Rúnarsson et al., 2008). Los productos amidados del proceso anterior (TOBN-EDEA y POBN-EDEA) se disolvieron en DMF/agua (relación volumen 1:1). A la mezcla anterior se adicionó lentamente NaOH disuelto en agua (relación molar NaOH:celulosa 3:1), CH_3I gota a gota (relación molar CH_3I :TOCN/POBN-EDEA 6:1) bajo agitación vigorosa. La reacción se dejó avanzar durante 48 horas. El producto de la reacción de metilación se lavó bajo filtración a vacío con etanol frío (96%) y acetona. Inmediatamente el

material se redispersó en una solución de NaCl 5 % p/V con la finalidad de intercambiar los iones yoduro por cloruro. Para eliminar los iones yoduro y el exceso de la sal de sodio, se la nanocelulosa modificada se precipitó con etanol frío (96%) y se lavó con agua bajo filtración a vacío. La nanocelulosa cationizada producto de esta etapa se identifica en el documento con las siglas TOBN-EDEA-Q (TOBN-EDEA cuaternizadas) y POBN-EDEA-Q (POBN-EDEA cuaternizadas).

3.2.4. Caracterización de las fibras de celulosa

3.2.4.1 Conductimetría. El contenido de carboxilato (σ , mmol de COOH/g de celulosa) y el grado de oxidación (DO, *degree of oxidation*) de las muestras de celulosa se determinaron mediante valoración conductimétrica. Para esta determinación se disolvieron 50 mg de muestra de celulosa en peso seco en HCl 0,01 M hasta pH 2. Después de 10 min de agitación, la suspensión se tituló con una solución de NaOH 0,01 M (Habibi et al., 2006).

A partir de la correlación entre la conductividad y el volumen de NaOH usado se calcularon σ y DO, que están dados por la región en la curva con conductividad constante debido a la neutralización de los ácidos débiles (Ovalle-Serrano et al., 2018), de acuerdo con las ecuaciones 1 y 2, respectivamente.

$$DO = \frac{162 c \Delta V}{[m - (36 c \Delta V)]} \quad (1)$$

$$\sigma = \frac{c \Delta V}{m} \quad (2)$$

Donde c es la concentración de la solución de NaOH (mol/L), ΔV es la diferencia del volumen (L) usado en la neutralización del ácido débil y m es la masa de la muestra (g).

3.2.4.2 Análisis elemental (CHNS). El análisis elemental utilizó para determinar el contenido total de carbono, hidrógeno, nitrógeno y azufre en las muestras de celulosa. Entre 5 y 8

mg de muestras de celulosa seca se sometieron a degradación controlada en un instrumento Elementar vario EL cube (Elementar Analysensysteme GmbH, Alemania) equipado con detector de conductividad térmica (TDC, *thermal conductivity detector*). La degradación se realizó en atmósfera oxidante con He como gas de transporte. El grado de sustitución (DS, *degree of substitution*) de los grupos carboxilo en TOCN y POBN por EDEA en TOCN-EDEA y POBN-EDEA fue calculado a partir de la siguiente ecuación:

$$DS = \frac{162 * \%N}{2800 - \%N * 186,2} \quad (3)$$

donde %N es el porcentaje de nitrógeno en la muestra obtenido por análisis elemental, 162 es el peso molecular de una unidad de anhidroglucosa (AGU), 2800 corresponde a la masa molar de N-átomos por 100 y 186,2 es el peso molecular de la amina utilizada en la reacción de amidación (EDEA) (Akhlaghi et al., 2015).

3.2.4.3 Estabilidad coloidal. La carga superficial y la estabilidad coloidal de suspensiones acuosas de las muestras de celulosa al 0,1% p/v se estudiaron mediante la medida de potencial ζ en un instrumento Malvern Zetasizer Nano ZS90 (Worcestershire, Reino Unido) usando una celda 1070.

3.2.4.4 Microscopía electrónica de barrido de emisión de campo (FESEM). La morfología de la superficie de las muestras de celulosa en disolución acuosa (0,004% p/v) fue observada utilizando un instrumento FEI QUANTA FEG 650 (Oregón, USA) operado a alto vacío, con un voltaje de aceleración de 15 a 20 kV y equipado con un detector de campo amplio. Las muestras se recubrieron con una capa de oro usando un sistema Quorum 150T ES (Oregón, EE. UU). El análisis elemental semicuantitativo EDS (*energy-dispersive X-ray spectroscopy*) se realizó usando el detector EDAX APOLO X con una resolución de 126,1 eV. Las micrografías de

las fibras fueron analizadas mediante el software ImageJ, con la finalidad de determinar la distribución del diámetro promedio de las nanofibras de celulosa modificada.

3.2.4.5 Espectroscopia de infrarrojo por transformada de Fourier con reflectancia total atenuada (FT-IR-ATR). Los espectros IR-ATR fueron obtenidos en el rango de 4000-400 cm^{-1} con una resolución de 2 cm^{-1} y 32 escaneos utilizando un espectrómetro IR-ATR Bruker Tensor 27, equipado con una unidad de platino Diamante ATR A225/Q (Billerica, MA). Las muestras analizadas fueron previamente secadas a 50 °C durante 24 h para obtener una película delgada de celulosa, que facilitara su análisis. La determinación de la proporción de los dimorfos de celulosa I se calculó a partir de la relación de áreas entre los picos 710 y 750 cm^{-1} , correspondientes a I_{β} y I_{α} , respectivamente. La proporción entre ambas fases cristalinas fue calculada usando la ecuación 4:

$$\%I_{\alpha} = \frac{A_{750}}{A_{710} + A_{750}} \times 100 \quad (4)$$

donde A_{710} y A_{750} son las áreas bajo la curva de las señales en 710 y 750 cm^{-1} , respectivamente. Todos los espectros en esta sección fueron ajustados bajo la función Gaussiana, con previa corrección de la línea base, para posteriormente calcular el área bajo las señales de celulosa usando el software OriginPro 2019b.

3.2.4.6 Difracción de rayos X (DRX). La estructura cristalina de las muestras de celulosa fue analizada a partir de los patrones de difracción medidos por espectroscopia de difracción de rayos X (DRX), usando un difractor Bruker D8 DISCOVER (Billerica, MA) con una geometría DaVinci de haz paralelo ($\lambda=1,5406 \text{ \AA}$, radiación $\text{CuK}\alpha 1$; 40 kv y 40 mA) y un detector de área VANTEC-500. Las muestras fueron colocadas sobre una lámina de cobreobjetos y después se montaron en un portamuestra de PMMA para arcillas. Los datos de difracción se obtuvieron

desde 10° a 30° (2Θ) con un tamaño de paso de $0,02035^\circ$ (2Θ) y una velocidad de exploración de $0,6 \text{ s}^{-1}$. El cálculo de la cristalinidad para cada muestra se determinó mediante la ecuación 5 (Segal et al., 1959).

$$CrI = \frac{(I_{110} - I_{AM})}{I_{110}} \times 100 \quad (5)$$

donde I_{110} es la señal con mayor intensidad entre $22\text{-}23^\circ$ del plano 110 y I_{AM} es la intensidad de la contribución amorfa entre $18\text{-}19^\circ$ para celulosa I.

Adicionalmente, se determinó el tamaño de cristalito a partir de la señal característica del polimorfo de celulosa I en la dirección perpendicular al plano (110) de crecimiento del cristal (Uvarov & Popov, 2007; Burton et al., 2009). El cálculo se realizó usando la ecuación de Scherrer (ecuación 6):

$$D_{hkl} = \frac{k\lambda}{\beta \cos\theta} \quad (6)$$

donde D_{110} es el tamaño del cristalito, λ es la longitud de onda de los rayos X, β es el FWHM (ancho total a la mitad del máximo, en radianes), θ es el ángulo de Bragg en radianes y k es la constante de proporcionalidad de Scherrer que depende de la forma del cristal y para este caso tiene un valor de 0,9 (Kim et al., 2010).

3.2.4.7 Espectroscopía fotoelectrónica de rayos X (XPS). La composición superficial de las diferentes películas de celulosa fue determinada por medio de la técnica analítica de XPS usando una plataforma de caracterización de superficies XPS/ISS/UPS SPECS (Alemania), equipada con un analizador de energía PHOIBOS 150 2D-DLD y una fuente de rayos X Al $K\alpha$ monocromatizada (FOCUS 500) operada a 100 W.

3.2.4.8 Análisis termogravimétrico. La estabilidad térmica de las muestras de celulosa se analizó a partir de las curvas de descomposición térmica de 8-10 mg de celulosa seca, obtenidas

por un instrumento STA 449 F5 Jupiter (São Paulo, Brasil) en atmósfera de nitrógeno (50 mL/min) y rampa de temperatura de 10 °C/min desde 25 a 500 °C.

3.2.4.9 Balance hidrófilo-lipófilo (HLB). El sistema HLB básicamente permite asignar un valor determinado a un compuesto de acuerdo con la cantidad de residuos hidrofóbicos e hidrofílicos en su estructura. La escala de HLB normalmente oscila entre 0 a 20 según la estructura de la molécula de surfactante. La determinación de este parámetro se realizó mediante el cálculo teórico de la ecuación de Griffin y el método convencional adaptado del procedimiento experimental desarrollado por Griffin (Robbers & Bhatia, 1961; Pasquali & Bregni, 2006; Calderón-Vergara et al., 2020).

La determinación del HLB experimental se realizó partiendo de dos sistemas stock de emulsión O/W usando como surfactante una mezcla de Span 80 (HLB 4,3) y Tween 80 (HLB 15). Para este ensayo se usó aceite de girasol como fase oleosa en una proporción 1 a 9 con respecto a la fase acuosa. Inicialmente, se prepararon las emulsiones stock mezclando el aceite de girasol con el surfactante y luego la fase acuosa. Seguidamente, se agitó la mezcla con ayuda de un ultra-turrax IKA T25 digital (11 000 rpm por 10 min) para permitir la homogenización de las fases. En seguida, se preparó una serie de emulsiones con diferentes proporciones de ambos surfactantes, partiendo de la mezcla de las emulsiones stock. Las emulsiones fueron homogenizadas mediante agitación (900 rpm por 15 min). Luego de 24 h se midió el volumen de agua separado de la emulsión para evaluar experimentalmente el HLB requerido de la mezcla de surfactantes que minimice la separación de agua en una emulsión con un volumen final de 10 mL y con un contenido total de 0,5% de surfactante.

Una vez obtenido el HLB del aceite de girasol se determinó el HLB para TOBN, TOBN-EDEA y TOBN-EDEA-Q. Similar al paso anterior, se realizaron mezclas de surfactante, pero

sustituyendo el Tween 80 por alguna de las muestras de celulosa (TOBN, TOBN-EDEA y TOBN-EDEA-Q). Las mezclas de surfactantes en las emulsiones contenían entre 50-90 % de la fracción en masa de Span 80. La estabilidad de la emulsión fue determinada midiendo nuevamente el volumen de agua separado, que a su vez permitió calcular el HLB de la celulosa evaluada a partir de la ecuación 8.

$$HLB_{celulosa} = \frac{HLB_{aceite} - m_{span\ 80} HLB_{span\ 80}}{1 - m_{span\ 80}} \quad (7)$$

donde, HLB_{aceite} es el valor de HLB requerido para estabilizar el aceite de girasol en la emulsión, $m_{span\ 80}$ es la fracción en masa de Span 80 en cada emulsión y $HLB_{span\ 80}$ es el valor de HLB para el Span 80.

3.2.5. Evaluación de la actividad antifrizz de celulosa modificada sobre el cabello

Los ensayos para evaluar el efecto antifrizz de las muestras de celulosa sobre muestras de cabello humano fueron realizados de acuerdo con la metodología reportada por Nguyen et. al (2008) y Krzysik & Griffiths (2019). Se lavaron 0,35 g de una muestra de cabello caucásico negro, ondulado y natural con una longitud de 5 cm en una solución de dodecilsulfato sódico (SDS, 15%), masajeando suavemente la muestra de cabello durante 30 segundos. Seguidamente, la muestra se enjuagó varias veces con agua tibia, para remover el SDS (Nguyen et al., 2008; Krzysik & Griffiths, 2019).

A continuación, se aplicó con ayuda de pincel una solución acuosa al 1,5% de la muestra de celulosa sobre la muestra de cabello y se secó en un horno a 50 °C durante 1 h. Posteriormente, cada muestra de cabello se dejó expuesta al ambiente durante una noche para permitir equilibrar las fibras con las condiciones ambientales. Al siguiente día, se llevaron las muestras de cabello a

una cámara de humedad relativa ajustada a 27 °C durante 1 h, con un rango de humedad de 60-80%. Después se retiraron las muestras de cabello tratadas con la celulosa modificada de la cámara de humedad y se midió el diámetro de la muestra de cabello mediante un microscopio óptico Olympus BX53 (Tokio, Japón). El cálculo del porcentaje de control de frizz (%CF) se realizó a partir de la siguiente ecuación:

$$\% CF = \frac{m_1 - m_0}{m_0} \times 100 \quad (8)$$

donde, m_0 es la muestra de cabello sin tratamiento y m_1 con aplicación de celulosa modificada.

4. Resultados

4.1. Obtención y modificación de nanocelulosa

La obtención de nanofibras de celulosa a partir de celulosa bacteriana (CB) producida a partir de residuos del procesamiento de la fruta del cacao se realizó mediante dos métodos. Inicialmente, se usó la oxidación con el radical TEMPO para producir nanofibras de celulosa (TOBN). El método TEMPO se utilizó como estándar de comparación para establecer el desempeño de segundo método. La oxidación con ácido peroxiacético (APA) se postuló como una vía alternativa al TEMPO (segundo método) para la producción de nanofibras de celulosa (POBN). Esta estrategia no ha sido reportada anteriormente en la literatura científica para obtención de nanofibras de celulosa. A continuación, se describen los procesos de síntesis de los materiales.

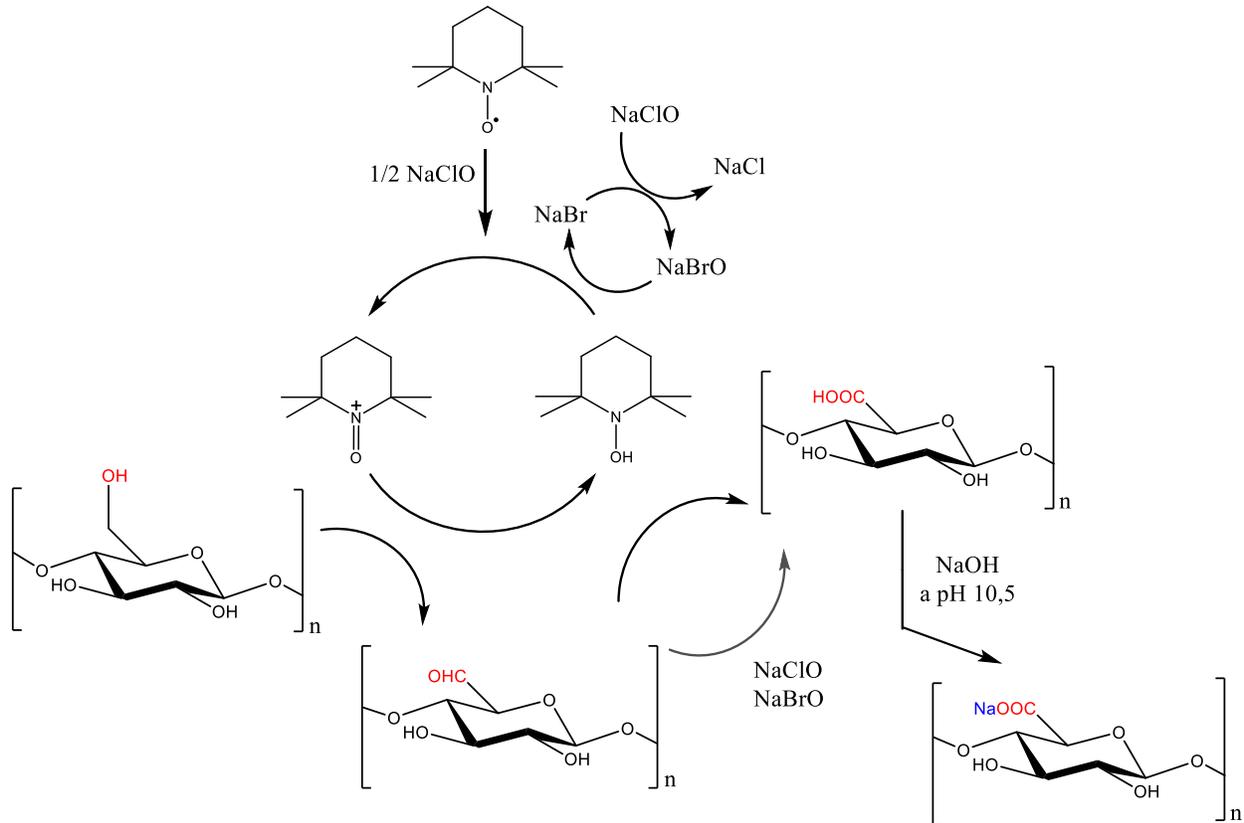
4.1.1. Reacciones de formación de nanocelulosa oxidada

Los procesos de oxidación de celulosa, con varios agentes oxidantes, permiten la introducción de grupos aldehído, carbonilo o carboxilo en las posiciones C6, C2 y C3 del anillo de anhidroglucosa (AGU). El tipo de grupo funcional que se forma, y la extensión de la reacción, dependen de factores, como la posición del carbono en la unidad AGU y condiciones de reacción como el pH, temperatura, tiempo de reacción, tipo y concentración de agente oxidante (Toshikj et al. 2019).

En el caso particular de la reacción TEMPO el ciclo catalítico que se establece permite la oxidación selectiva de los grupos hidroxilo primarios de la celulosa presentes en el C6 a grupos aldehído, carbonilo y carboxilo (Figura 4). Durante el ciclo catalítico el radical TEMPO, por reacción con el oxidante primario (NaClO), se transforma en el catión nitrosonio (TEMPO⁺) con potencial de oxidación suficiente para transformar el grupo hidroxilo primario (C6) a carboxilo, pasando por un grupo aldehído como intermedio (Figura 4). La cantidad de grupos carboxilo/carboxilato que se introducen en la oxidación dependen principalmente de la cantidad de hipoclorito usado, ya que de acuerdo con el mecanismo de reacción se requiere mínimo de dos equivalentes molares de NaClO para oxidar un grupo hidroxilo. Los grupos oxidados se encuentran en las regiones amorfas y cristalinas de la celulosa, y durante la reacción se afecta ligeramente la cristalinidad y el grado de polimerización (DP) del material debido a procesos secundarios de hidrólisis (Fujisawa et al., 2011; Isogai et al., 2011; Gehmayr et al., 2012; Isogai et al., 2018).

Figura 4. Formación de grupos carboxilos en CB por medio de la oxidación mediada por TEMPO.

Adaptado de (Isogai et al., 2011, 2018).



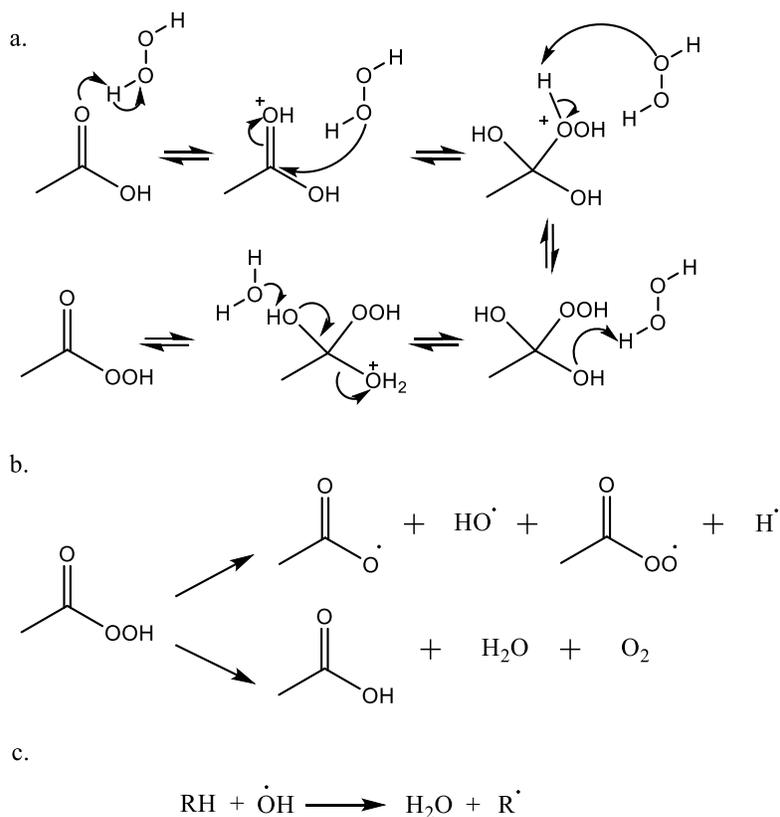
Aunque la oxidación TEMPO es el procedimiento más utilizado para producir nanofibras de celulosa oxidada, existe mucho interés en la exploración de estrategias alternativas que no requieran el uso de radicales altamente reactivos. Por esta razón, en esta investigación se explora un proceso alternativo para la oxidación y producción de nanocelulosa que no se ha reportado previamente en la literatura. Nuestra hipótesis se basa en el hecho de que es posible producir nanocelulosa utilizando el ácido peracético (APA), un agente blanqueador ampliamente utilizado en la desinfección de alimentos debido a su inocuidad y baja persistencia en el ambiente, con capacidad de oxidar compuestos orgánicos. El ácido peracético (APA) es un perácido comúnmente usado en productos de limpieza como agente de blanqueamiento y desinfectante libre de cloro para

fibras textiles, superficies y alimentos (Malchesky, 1993; Kurschner & Diken, 1997; Prabakaran et al., 2000; Kitis, 2004; Abdel-Halim & Al-Deyab, 2011; K. Zhang et al., 2017). El APA se prepara por oxidación del ácido acético (AA) con peróxido de hidrógeno en presencia de un catalizador ácido, típicamente ácido sulfúrico, tal y como se presenta en la Figura 5. La concentración del APA, y su diferenciación del AA, se realiza por titulación ácido-base de acuerdo con el procedimiento reportado por Sode (2014) (ver Apéndice A). El método de titulación potenciométrica se basa en la diferencia entre los pK_{as} de AA (4,75) y APA (8,2) (Yuan et al., 1997; Sode, 2014).

Los perácidos pueden formarse a partir de dos rutas (Rubio et al., 2005). La primera consiste en la adición del peróxido de hidrógeno al carbono carbonílico del AA para formar un compuesto tetraédrico (estado de transición), con posterior pérdida de una molécula de agua. La segunda procede por activación del carbono carbonílico en medio ácido seguida por adición del peróxido de hidrógeno y pérdida de agua. Sin embargo, la ruta dos está favorecida incluso en ausencia de catalizador debido al ácido acético (Zhao et al., 2007).

El APA se usa frecuentemente en procesos de deslignificación de biomasa pues oxida fácilmente la lignina (compuesto polifenólico) produciendo ácidos dicarboxílicos y sus correspondientes lactonas (Zhao et al., 2010; Esmail et al., 2019; Kassim et al., 2019; Debiagi et al., 2020). Sin embargo, en los tratamientos de blanqueamiento de celulosa vegetal con APA se observa una disminución en la resistencia a la tracción del material, debido a la disminución del grado de polimerización de la celulosa por hidrólisis y la oxidación superficial del material (Prabakaran et al., 2000; Zervos, 2010).

Figura 5. Ácido peracético. a) Mecanismo de síntesis. b) Descomposición vía radicalaria y no radicalaria. c) Formación de radicales alquilo por oxidación de compuestos. Adaptado de (Kerkaert et al., 2011; Zhao et al., 2007).

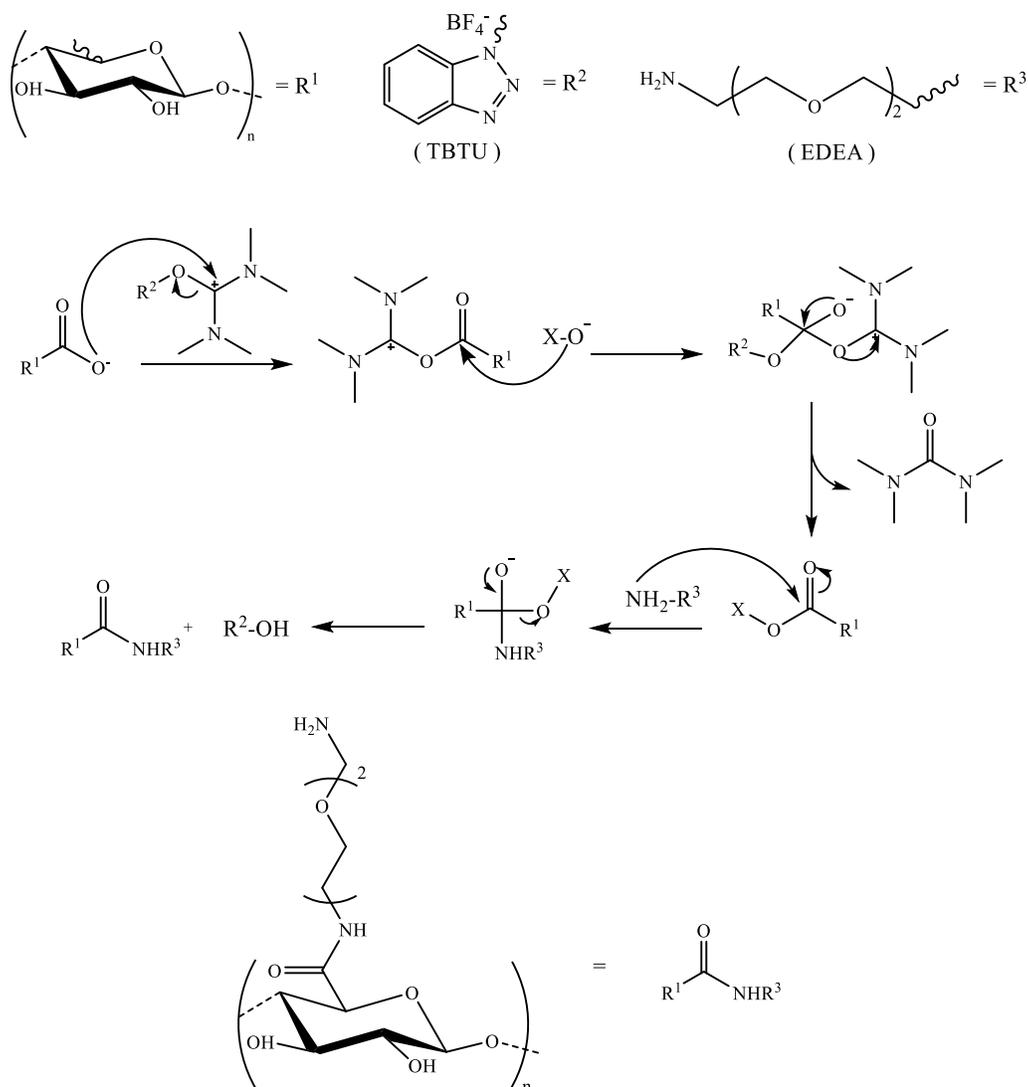


En reportes a escala macro, la formación de grupos carboxilo durante la oxidación de celulosa con APA depende de las condiciones del proceso, ya que las especies formadas pueden variar de acuerdo con el pH, la temperatura, la concentración de APA, el contenido de celulosa y el tiempo de reacción (El Shafie et al., 2009; Abdel-Halim & Al-Deyab, 2011). En el tratamiento pueden ocurrir reacciones de homólisis del ácido, generando especies altamente reactivas de oxígeno como las que se observan en la Figura 5b y 5c. Nuestra hipótesis postula que es posible utilizar APA para oxidar celulosa y producir nanocelulosa, pues la generación de radicales activos de tipo $\cdot\text{OH}$, $\text{CH}_3\text{CO}\cdot$, y $\text{CH}_3\text{COOO}\cdot$ permitiría la modificación superficial de la CB.

Adicionalmente, el tratamiento con APA también puede causar depolimerización de la CB por escisión de enlaces glicosídicos y la oxidación de los monómeros de AGU, mediada por hidrólisis ácida (Jääskeläinen et al., 2000; Kerkaert et al., 2011), ocasionando algunos cambios en su estructura macromolecular, aunque menores a los causados cuando se usa hipoclorito como agente oxidante (Križman et al., 2005; Duan et al., 2017) Finalmente, aunque se ha reportado que los perácidos no poseen gran reactividad frente a polisacáridos como la celulosa (Zhao et al., 2010), algunos artículos sugieren que el tratamiento con APA también puede ocasionar reacciones de solvólisis y acetilación en la celulosa (Nada et al., 1999; Sato et al., 2003; Kuznetsova et al., 2003).

4.1.2. Reacciones de formación de nanocelulosa amidada

La modificación superficial de las nanofibras TOBN y POBN se realizó mediante la reacción de amidación *one-pot* previamente reportada por Gómez et al (Gómez et al., 2017). En la reacción de amidación, que se muestra en la Figura 6, el anión carboxilato de la nanocelulosa oxidada reacciona con TBTU, una sal de uronio electrónicamente deficiente (agente de acoplamiento), causando la eliminación de una especie aniónica, la cual a su vez actúa como nucleófilo atacando el carbono carbonílico electrodeficiente generado y así formar un éster activo de N-oxima. Este intermediario activo reacciona fácilmente con las aminas primarias como EDEA para formar el enlace amida por adición nucleofílica. Los productos derivados de esta reacción, TOBN-EDEA y POBN-EDEA, se diferencian del material de partida (TOBN - gel acuoso translúcido) porque forman un gel opaco de color crema parcialmente insoluble en agua.

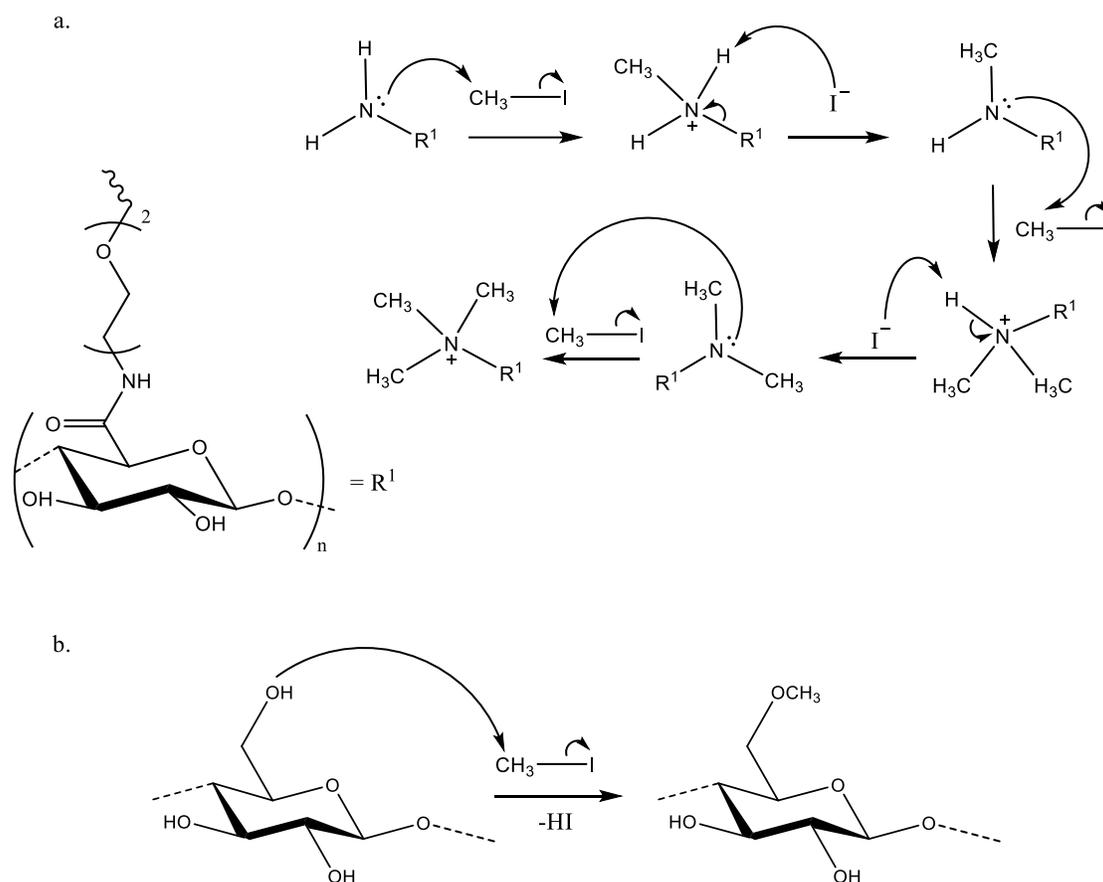
Figura 6. Mecanismo propuesto de amidación one-pot para la nanocelulosa oxidada.

4.1.3. Reacciones de formación de nanocelulosa catiónica

La alquilación de aminas es la ruta más común y directa para la formación de aminas sustituidas. La reacción, que recibe el nombre de N-alquilación de Hoffman, transcurre mediante una sustitución nucleofílica entre un haluro de alquilo y la amina de interés. El resultado es la producción de una amina con un grado de sustitución mayor al del precursor. Este tratamiento de

sobrealquilación de aminas resulta en una mezcla de compuestos N-alquilados con diferentes grados de sustitución (Figura 7a) (Salvatore et al., 2001; Bhattacharyya et al., 2014; Xu et al., 2016).

Figura 7. Posibles mecanismos de a) N-metilación y b) O-metilación en celulosa



La N-alquilación de Hoffman se utiliza para la modificación del quitosano, como lo reporta Domard et al., usando yoduro de metilo como agente metilante, yoduro de potasio como catalizador e hidróxido de sodio como base en un medio aprótico polar (N-metilpirrolidona) (Domard et al., 1986). Adicionalmente, se han reportado variantes de este método para reducir

reacciones secundarias que normalmente ocurren por la naturaleza del sistema de reacción (Rúnarsson et al., 2007; Rúnarsson et al., 2008; Sajomsang et al., 2008; Rosilo et al., 2014). Dentro de las posibles reacciones secundarias en la N-alkilación de Hoffman está la *O*-metilación, conocida como metilación de Irvine-Purdie. En esta reacción, los grupos hidroxilo de la celulosa se someten a una metilación para producir éteres (Figura 7b). El proceso ocurre bajo condiciones suaves de reacción en disolventes neutro para evitar reacciones secundarias (Mansour et al., 1994; Sasaki et al., 2005; Zerong Wang, 2010).

4.2. Caracterización de la nanocelulosa

4.2.1. Grado de oxidación

En la Tabla 1 se observan el grado de oxidación (DO) y contenido de carboxilato (σ) para las muestras de celulosa original (CB) y oxidada mediante TEMPO (TOBN) y APA (POBN). El σ de 0,311 mmol/g en CB indica la presencia de grupos carboxílicos en baja concentración en el material de partida, provenientes posiblemente del medio de cultivo. La CB empleada en las reacciones de oxidación fue tomada directamente del medio de cultivo, y aún después de ser lavada repetidamente con agua presentaba la coloración típica del medio, tal y como se muestra en el Apéndice B (Barshan et al., 2019). Para eliminar estas impurezas es común purificar las películas de CB mediante lavados con soluciones causticas u oxidantes de H_2O_2 , NaOH o NaClO (C.-N. Wu & Cheng, 2017; H. Wu et al., 2018; Lv et al., 2018). Sin embargo, en esta investigación no se sometió la película de CB a pretratamientos agresivos para evitar modificaciones *a priori* del material (Apéndice CApéndice).

Tabla 1. DO, DS y σ para CB, TOBN, POBN, TOBN-EDEA, POBN-EDEA, TOBN-EDEA-Q y POBN-EDEA-Q.

Muestra	DO ^a	DS ^b	σ^c (mmol COOH/g celulosa)
CB ^d	0,054	-	0,311
TOBN ^e	0,24	-	1,39
POBN ^f	0,15	-	0,88
TOBN-EDEA ^g	0,075	0,129	-
POBN-EDEA ^h	0,11	0,071	-
TOBN-EDEA-Q ⁱ	-	0,006	-
POBN-EDEA-Q ^j	-	0,008	-

Nota: ^aGrado de oxidación. ^bGrado de sustitución, el cálculo fue realizado a partir de los resultados obtenidos por Análisis Elemental (ecuación 3). ^cContenido de grupos carboxilato. ^dCelulosa bacteriana. ^eNanofibras de celulosa bacteriana oxidada mediante TEMPO. ^fNanofibras de celulosa bacteriana oxidada por ácido peracético. ^gTOBN amidadas. ^hPOBN amidadas. TOBN-EDEA cationizada mediante metilación. POBN-EDEA cationizada mediante metilación.

Por otra parte, el grado de oxidación (DO) de las muestras de nanofibras de celulosa (TOBN, POBN) corresponde a 0,24 y 0,15, respectivamente, equivalente a un σ de 1,39 mmol/g para TOBN y 0,88 mmol/g para POBN. Esto significa que después de la reacción de oxidación mediada por TEMPO se oxidaron 1,39 mmol de grupos hidroxilos por gramo de celulosa a grupos carboxilato. Mientras que el tratamiento con APA permite oxidar 0,88 mmol de grupos hidroxilo a carboxilato. Lo anterior indica que ambos tratamientos permitieron superar el valor mínimo de σ recomendado para una fibrilación y funcionalización eficiente de la celulosa (0,80 mmol COOH/g celulosa) (Isogai et al., 2011). Para TOBN y POBN se observó un incremento en σ , debido a la oxidación de grupos hidroxilo a carboxilato lo que aumenta la conductividad del

material en suspensión. Con la oxidación TEMPO se obtuvo mayor contenido de carboxilato sobre la superficie del material (1.39 mmol COOH/g celulosa) en contraste con la oxidación con APA (0.88 mmol COOH/g celulosa). La oxidación de la CB con TEMPO y APA permitió la dispersión del material en agua debido a las fuerzas de repulsión entre las fibras cargadas negativamente (Fujisawa et al., 2011).

Al comparar los σ de TOBN y POBN con los valores reportados por Okita et al. para nanofibras de celulosa obtenidas por TEMPO (1,05 mmol COOH/g celulosa) puede observarse que los resultados son similares (Okita et al., 2010). Así mismo, los resultados evidencian un mayor σ para TOBN, sugiriendo que el método de oxidación mediado por TEMPO es más eficiente y selectivo hacia la formación de grupos carboxilato, en comparación con el proceso de oxidación con APA. Hasta el momento, de acuerdo con la información de que disponemos, este es el primer reporte sobre la producción de nanocelulosa oxidada utilizando APA como agente oxidante.

Usualmente, en cualquier tratamiento de oxidación reportado en la literatura es común realizar un procedimiento de purificación previo del material de partida, de tal forma que la superficie de la celulosa pueda reaccionar mejor con el agente oxidante, lo que implica un incremento al valor final de σ (Chang & Chen, 2016; C.-N. Wu et al., 2018; Toshikj et al., 2019; Jia et al., 2019; Calderón-Vergara et al., 2020). Sin embargo, en este estudio se eliminó este paso previo debido a que se observó que el tratamiento de la CB con agentes limpiadores (ácidos y bases) modifica la superficie del material (Apéndice CApéndice). Por esta razón, es factible que en cada proceso de oxidación el agente oxidante contribuya inicialmente a eliminar las impurezas remanentes del medio de cultivo en la CB para luego oxidar su superficie, lo que puede reducir el σ en las nanofibras de TOBN y POBN.

4.2.2. Grado de sustitución

El análisis elemental también se utilizó para analizar la composición de las muestras de celulosa (Tabla 2). El contenido de carbono, hidrógeno, nitrógeno y azufre para CB corresponde a 38,1 %, 7,1%, 2,2% y 0,21%, respectivamente. Esta composición difiere un poco de la celulosa pura y de otros reportes previos en la literatura (42-44% C y 6,1-6,8% H). La diferencia en la composición elemental del material precursor (CB) con los reportes en la literatura se atribuye a la presencia de impurezas, proveniente de los compuestos remanentes del medio de cultivo y aminoácidos de células bacterianas residuales que quedaron atrapadas dentro de la estructura de la celulosa (Castro et al., 2012; Klemm et al., 2001; Yoon et al., 2006). En contraste, las muestras de TOBN y POBN presentaron un bajo contenido de nitrógeno (0,2%) y de azufre (0,04% y 0,05%), respectivamente. Por otra parte, en TOBN-EDEA y POBN-EDEA hay un aumento en el contenido de nitrógeno, 2,2% y 0,7%, respectivamente, con respecto a los contenidos del mismo elemento en TOBN y POBN, 0,2% en ambos casos. Este aumento es el resultado del proceso de formación de grupos amida en las nanocelulosas. También se observa una reducción en el contenido de grupos carboxilato, en términos del DO, en TOBN-EDEA (68,8%) y POBN-EDEA (26,7%) en comparación con TOBN y POBN como se muestra en la Tabla 1.

Tabla 2. Composición elemental CHNS expresado en porcentaje de masa para CB, TOBN, POBN, TOBN-EDEA, POBN-EDEA, TOBN-EDEA-Q y POBN-EDEA-Q.

Muestra	C [%]	H [%]	N [%]	S [%]
CB	38,1	7,1	2,2	0,21
TOBN	35,8	6,9	0,2	0,04

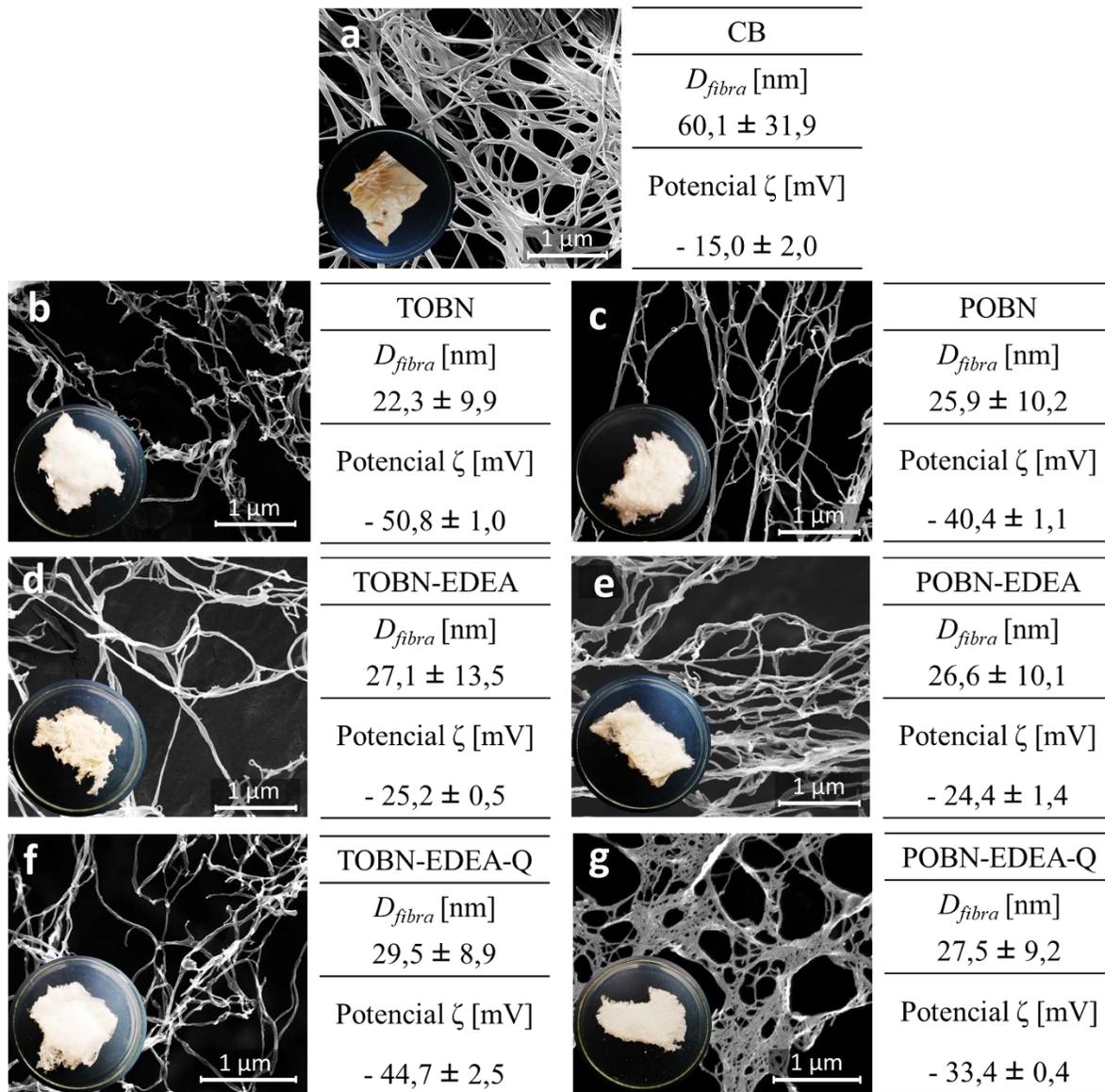
POBN	40,9	7,2	0,2	0,05
TOBN-EDEA	39,5	7,8	2,2	0
POBN-EDEA	40,7	7,3	0,7	0,01
TOBN-EDEA-Q	37,9	6,9	0,1	0
POBN-EDEA-Q	38,2	7,0	0,1	0

El grado de sustitución (DS) de los materiales amidados calculado de acuerdo con la ecuación (3) -a partir de la información de análisis elemental- se muestra en la Tabla 1. El DS está relacionado con el acoplamiento de la diamina con la celulosa para formar las amidas. El TOBN-EDEA y POBN-EDEA presentan DS de 0,129 y 0,07, respectivamente lo que corresponde una sustitución del 68 y 27 % (respectivamente) de grupos carboxilato en el TOBN y POBN por unidades amida. Valores similares de DS han sido reportados anteriormente por el grupo de investigación para nanocelulosas derivadas de Fique (Gómez et al. 2017; Calderón-Vergara et al. 2020). El bajo DS de POBN-EDEA (27 %) es una consecuencia a su vez del bajo nivel de oxidación (DO) de la CB oxidada con APA (Tabla 2). Análogamente, los bajos DS registrados para los derivados de la metilación exhaustiva de los grupos amino libres en la nanocelulosa amidada, 0,006 y 0,008 para TOBN-EDEA-Q y POBN-EDEA-Q, respectivamente, así como la reducción significativa en la cantidad de N en estos materiales (0.1%), sugiere que la reacción de metilación exhaustiva no sucedió tal y como se planeó y en su lugar ocurrieron reacciones secundarias no deseadas entre la celulosa y el agente metilante. En las secciones siguientes se discutirá más sobre este hecho en particular.

4.2.3. Estabilidad coloidal y análisis morfológico

La estabilidad coloidal de suspensiones al 0,01% de nanocelulosa a pH 7 fue evaluada mediante la determinación del potencial ζ . La presencia de grupos carboxilato en forma disociada en la superficie de la celulosa genera repulsión electrostática entre las fibras que puede ser medida por dispersión de radiación. El potencial ζ de la CB fue de $-15,0 \pm 2,0$ mV (Figura 8), lo que indica que la suspensión no es estable. Este valor es similar al reportado por Nascimento et al., $-12,0 \pm 2,0$ mV, para dispersiones de celulosa bacteriana (do Nascimento et al., 2019). El TOBN y POBN presentan potenciales ζ de $-50,8 \pm 1,0$ y $-40,4 \pm 1,1$ mV, respectivamente. Estos valores sugieren que la oxidación con APA produce nanofibras de celulosa carboxiladas que forman una suspensión homogénea y estable de la misma forma que las provenientes del proceso TEMPO (do Nascimento et al., 2019). Las fibras de TOBN presentan una mayor estabilidad coloidal, pues las cargas negativas de los grupos carboxilato disociados (fuerza de repulsión electrostática) es mayor. El POBN, posee un valor de potencial ζ intermedio, entre ± 20 y ± 40 , que sugiere una buena estabilidad coloidal (Wicaksono et al., 2013; Andrade et al., 2019). Sin embargo, con el tiempo las POBN pueden agregarse y precipitarse, debido a un menor DO durante la reacción con APA.

Figura 8. Micrografías FESEM, diámetro promedio (D_{fibra}) y potencial ζ de a) CB, b) TOBN, c) POBN, d) TOBN-EDEA, e) POBN-EDEA, f) TOBN-EDEA-Q, y g) POBN-EDEA-Q.



La Figura 8 muestra una disminución del potencial ζ de 50,4% y 39,6% para las muestras amidadas TOBN-EDEA y POBN-EDEA, respectivamente, con respecto a TOBN y POBN, indicando una baja estabilidad en las suspensiones debido a la amina insertada. Por otro lado, el

potencial ζ de los productos de las reacciones de metilación TOBN-EDEA-Q y POBN-EDEA-Q corresponde a $-44,7 \pm 2,5$ mV y $-33,4 \pm 0,4$ mV, respectivamente. Estos valores son inesperados, pues sugieren la presencia de grupos aniónicos sobre la superficie del material. Los valores de potencial ζ para la celulosa catiónica oscilan entre 30 – 40 mV (Rosilo et al., 2014; Morantes et al., 2019). Estos resultados sugieren que la reacción de metilación para generar la celulosa cationizada no ocurre de acuerdo con el mecanismo esperado Figura 7a, y en su lugar están ocurriendo reacciones secundarias que aumentan el contenido de cargas negativas en la estructura de la celulosa. Este resultado, concuerda con los datos obtenidos mediante análisis elemental, donde se observa una disminución en el %N en TOBN-EDEA-Q y POBN-EDEA-Q en comparación con las muestras amidadas.

En la Figura 8 las micrografías FESEM muestran la morfología de los materiales modificados y de la celulosa bacteriana de partida. La CB presenta una estructura de red tridimensional altamente porosa, compuesta por nanofibras largas y enredadas con un diámetro promedio (D_{fibra}) ~ 60 nm, estabilizadas por múltiples enlaces de hidrógeno (Bäckdahl et al., 2006; Petersen & Gatenholm, 2011; Kingkaew et al., 2014; Gallegos et al., 2016; Vasconcelos et al., 2017; Dórame-Miranda et al., 2019; C. Huang et al., 2020). D_{fibra} similares (70 nm) fueron reportados por Vasconcelos et al. en muestras de CB (Vasconcelos et al., 2017; Andrade et al., 2019). Después de las reacciones de oxidación, amidación y metilación se observa que la morfología de las fibras se conserva y es similar a las de CB, con diámetros promedio menores entre 22-30 nm causados por los procesos de defibrilación del material inherentes a su modificación. Esto demuestra que los procesos de oxidación no solo cambian la composición de la superficie de las fibras, sino que también contribuyen a separarlas fibras lo que se observa como una disminución del diámetro y aumento del área superficial de la red tridimensional de celulosa

(Andrade et al., 2019; T. Saito & Isogai, 2004). Por tanto, se puede inferir que los tratamientos de modificación superficial permitieron obtener nanofibras de celulosa modificada sin alterar significativamente su estructura de red tridimensional.

La composición elemental de las muestras fue determinada por análisis semicuantitativos de FESEM-EDS (Apéndice DApéndice). Los resultados permitieron confirmar las impurezas en CB por la presencia de Na, Cl, K y N debidas al medio de cultivo y a los residuos de proteínas y aminoácidos de células bacterianas residuales que permanecieron adheridas a la membrana de la celulosa, lo cual concuerda con los resultados obtenidos por análisis elemental (Duran Riveros et al., 2019; Saavedra Sanabria et al., 2019). En TOBN y POBN no se observaron dichas impurezas, lo cual sugiere que una fracción de los agentes oxidantes se consume en la eliminación de los remanentes del medio de cultivo para luego oxidar las fibras purificadas. La detección de nitrógeno en TOBN-EDEA y POBN-EDEA se atribuye al proceso de amidación realizado. En cuanto a TOBN-EDEA-Q y POBN-EDEA-Q, la composición elemental no revela nitrógeno en su composición. Sin embargo, puede suceder que el %N sea muy bajo y no se detecte por esta técnica.

4.2.4. Análisis estructural de nanocelulosa por medio de FT-IR y DRX

En la Figura 9 los espectros IR de las muestras de celulosa exhiben las señales típicas de vibración de celulosa. Por ejemplo, se observa la banda ancha centrada en 3341 cm^{-1} (ν O-H), bandas en 2893 cm^{-1} (ν C-H), 1427 cm^{-1} (τ C-H), 1367 cm^{-1} (ω C-H), 1161 cm^{-1} (ν C-O-C de enlaces glucosídicos), 1107 cm^{-1} (ν C-OH de alcoholes secundarios presentes el anillo de piranosa), 1055 cm^{-1} (ν C-C-OH de alcoholes primarios) y 897 cm^{-1} (enlace carbono anomérico) (Fackler et al., 2011; Vasconcelos et al., 2017; W. Chen et al., 2018; Andrade et al., 2019; Dórame-Miranda et al., 2019; C. Huang et al., 2020). La señal en 1640 cm^{-1} puede atribuirse a la

vibración de flexión del agua adsorbida por el material (Fukuzumi et al., 2010; Kingkaew et al., 2014; Tran et al., 2016). Sin embargo, esta señal también puede tener una contribución tipo amida (I y II) de algunas proteínas remanentes en la CB, debido a que la limpieza con agua no remueve completamente el material celular y el medio de cultivo, como lo demuestran los resultados por análisis elemental y EDS (Bäckdahl et al., 2006; Picheth et al., 2017).

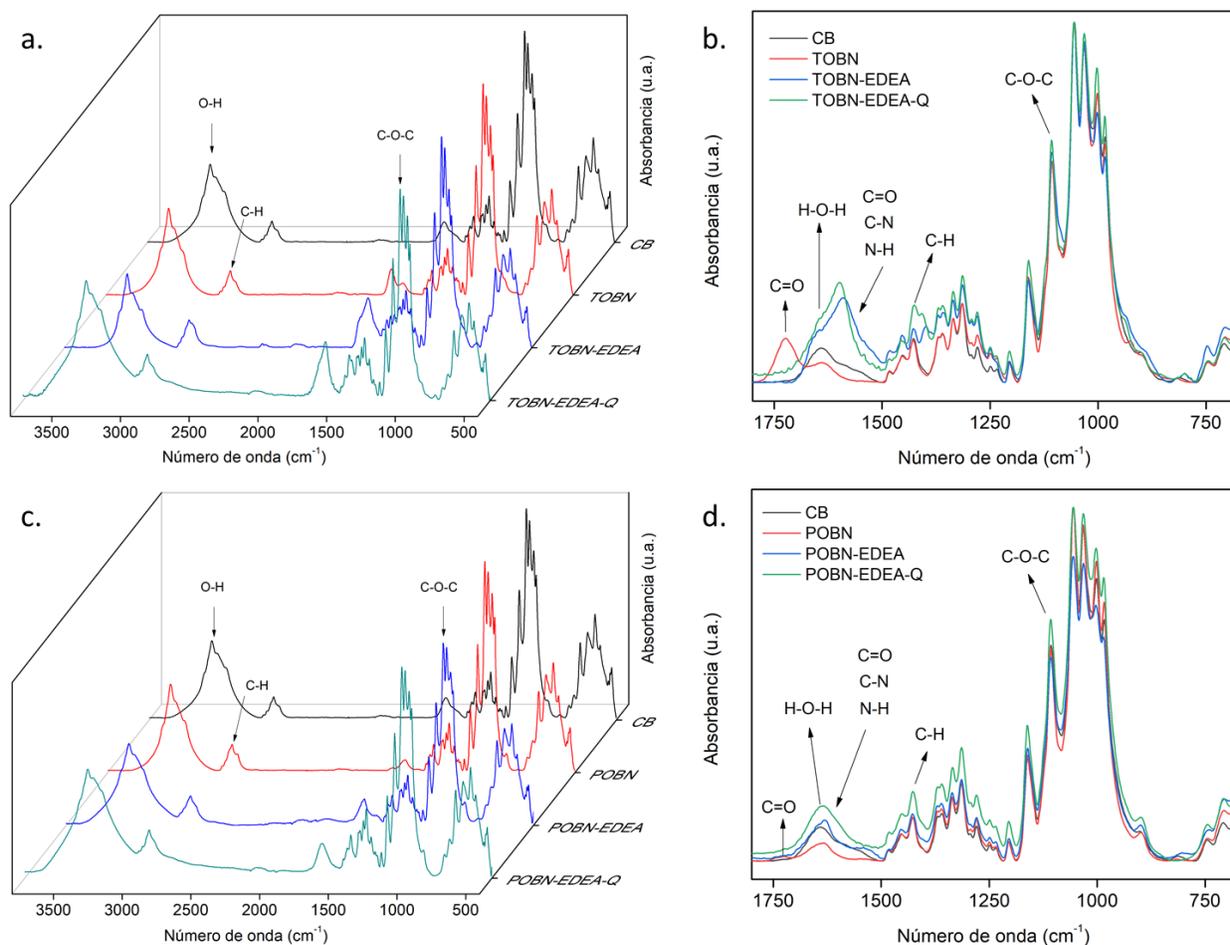
Los espectros IR para TOBN y POBN muestran cambios cuando se comparan con el espectro de la CB. El espectro IR de la

Figura 9b para TOBN presenta una señal centrada en 1722 cm^{-1} , característica de la vibración C=O, asignada a grupos aldehídos y carboxilos de la celulosa oxidada (Z. Tang et al., 2017). En el caso de POBN (

Figura 9d) se puede ver en el espectro IR una banda muy pequeña en comparación con la señal en TOBN, con dos hombros en 1743 y 1724, los cuales pueden atribuirse a grupos aldehído y carboxilos (Shi et al., 2012; Chang & Chen, 2016). La oxidación de la celulosa con APA puede iniciar con la formación de radicales hidroxilo, seguidos por la generación de radicales alquílicos ($R\cdot$) de acuerdo con la reacción de la Figura 5c. El radical orgánico formado también puede reaccionar con otros compuestos, causando fragmentación de la molécula orgánica (Appels et al., 2011; Kerkaert et al., 2011; M. Hicks et al., 2015; Du et al., 2018). Por lo tanto, con APA es posible fracturar el anillo de piranosa por escisión de los enlaces glucosídicos C2 y C3, generando grupos hemiacetal (Apéndice EApéndice). También es posible formar nuevos extremos reductores en la celulosa, los cuales pueden formar grupos adicionales de hemiacetal en la estructura, lo que a su vez genera la compactación de las cadenas de celulosa, debido al incremento de enlaces intramoleculares (Potthast et al., 2007; Li et al., 2009; Chang & Chen, 2016; Toshikj et al., 2019). Esta afirmación podría confirmarse al observar en el espectro IR de POBN los picos

aparentes en 2853 y 896 cm^{-1} , que podrían atribuirse al grupo acetal y hemiacetal formado (Apéndice EApéndice), respectivamente, y principalmente en 896 cm^{-1} donde la señal es más evidente para POBN con respecto a TOBN (Chang & Chen, 2016).

Figura 9. Espectros IR de CB, a) TOBN, TOBN-EDEA y TOBN-EDEA-Q b) POBN, POBN-EDEA y POBN-EDEA-Q.



Después de la reacción de amidación de TOBN y POBN aparece en el espectro IR una banda ancha, atribuida al solapamiento de dos señales características del grupo amida: amida I y amida

II. Para TOBN-EDEA las señales I y II aparecen en 1650 y 1589 cm^{-1} , respectivamente, mientras para POBN-EDEA se registran en 1630 y 1546 cm^{-1} , respectivamente. Estas señales confirman la presencia de grupos amida en la superficie de las nanofibras de celulosa (Lasseguette, 2008; Gómez et al., 2017). La señal de la amida I corresponde al estiramiento del grupo $\text{C}=\text{O}$ que se superpone parcialmente con la señal de estiramiento del grupo $\text{C}=\text{O}$ de los aldehídos y carboxilos residuales. La señal amida II representa el estiramiento del enlace $\text{C}-\text{N}$ y flexión de $\text{N}-\text{H}$ (Kong & Yu, 2007; Lasseguette et al. 2008; Gomez et al. 2017). Así mismo, se observó un ligero cambio en las señales de estiramiento del CH_2 comprendidas entre $2870 - 2850\text{ cm}^{-1}$, atribuidas a las estructuras alquílicas en la cadena de EDEA y una nueva señal en 1400 cm^{-1} para el TOBN-EDEA, correspondiente a la vibración de deformación tipo tijera para los grupos CH_2 . En el caso de POBN-EDEA esta señal es de baja intensidad; sin embargo, al igual que en TOBN-EDEA, la señal en 1454 cm^{-1} (estiramiento $\text{C}-\text{H}$) presenta un incremento, lo cual corrobora el acoplamiento entre POBN y EDEA.

En los espectros IR correspondientes al proceso de cationización de la celulosa (TOBN-EDEA-Q y POBN-EDEA-Q) no fue posible diferenciar las vibraciones de estiramiento de los grupos CH_3 perteneciente a $\text{N}^+(\text{CH}_3)$ en 1480 cm^{-1} o la señal en 1100 cm^{-1} de estiramiento $\text{C}-\text{N}$, típicas de las estructuras de amonio cuaternario, debido a que esta región se encuentra dominada por señales amplias e intensas características de la celulosa, que pueden ocultar las bandas menos intensas del grupo funcional sustituido (Pigorsch, 2009; Rosilo et al., 2014; Hou et al., 2019).

Adicionalmente, a partir de los espectros IR es posible determinar los porcentajes de celulosa nativa de tipo I_α y I_β presentes en las muestras, y el efecto de las modificaciones sobre estas configuraciones. El valor de $\% I_\alpha$ se calcula por la relación del área bajo la curva de las bandas de vibración en los enlaces de hidrógeno para las distintas fases cristalinas. La señal en 750 cm^{-1} es

característica del alomorfo triclinico I_{α} y la señal en 710 cm^{-1} corresponde al sistema monoclinico I_{β} . Normalmente, la fracción I_{α} varía entre 55 y 80%, dependiendo de la fuente de la celulosa. La configuración I_{α} es más abundante en la celulosa producida por organismos inferiores (como la CB) y I_{β} es producida preferiblemente por plantas superiores (Pecoraro et al., 2007; Szymańska-Chargot et al., 2011; Andrade et al., 2019; (Kafle et al., 2015; Singhsa et al., 2018). Sin embargo, el alomorfo I_{β} es más estable termodinámicamente, por consiguiente, tiene sentido observar en la Tabla 3 que I_{α} disminuya, a medida que se modifica la celulosa.

Tabla 3. Porcentaje de la fase cristalina I_{α} , índice de cristalinidad y tamaño del cristalito para CB, TOBN, POBN, TOBN-EDEA, POBN-EDEA, TOBN-EDEA-Q, POBN-EDEA-Q.

Muestra	% I_{α} ^a	CrI (%) ^b	Tamaño cristalito (nm) ^c
CB	54,5	84,0	6,03
TOBN	47,5	81,0	5,64
POBN	42,8	74,1	5,33
TOBN-EDEA	48,6	73,3	5,70
POBN-EDEA	44,8	71,1	5,71
TOBN-EDEA-Q	43,7	84,7	5,37
POBN-EDEA-Q	45,4	78,9	5,85

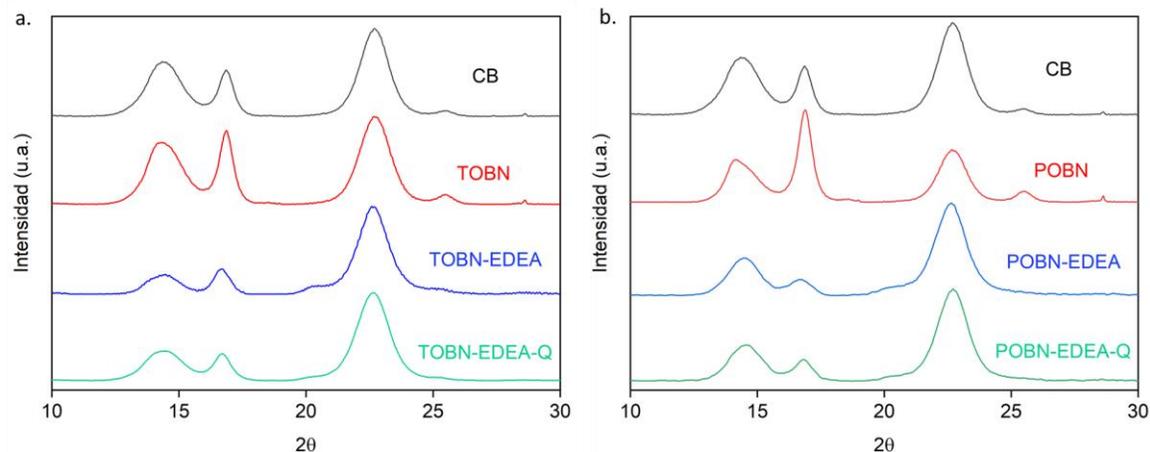
Nota: ^aEl porcentaje de I_{α} se calculó a partir de la ecuación 4, usando las señales en infrarrojo de los dimorfos de celulosa I. ^bEl índice de cristalinidad se determinó mediante los datos de difracción, empleando la ecuación 5. ^cEl tamaño de cristalito se obtuvo a través de la ecuación 6, utilizando la información de difracción de rayos X.

El contenido de I_α para cada muestra de celulosa se presenta en la Tabla 3. La existencia de ambos alomorfos para CB y las muestras de celulosa modificada concuerda con los reportes de literatura. En un estudio realizado por Andrade et. al (2019), se encontró que la celulosa tipo I en CB era conformada por 43,0% de I_β y 57,0% de I_α (Andrade et al., 2019), valores muy similares a los reportados en este trabajo donde se determinó un valor de 45,5% para I_β y 54,5% para I_α en el material de partida. La deconvolución de las señales en 750 cm^{-1} (I_α) y 710 cm^{-1} (I_β) para los espectros IR de las muestras de celulosa indican que la relación entre I_α y I_β disminuyó después de cada modificación. Por lo tanto, cada tratamiento en la celulosa fue seguido por un cambio en la distribución entre ambos dimorfos, con valores de 47,5 y 42,8% para TOBN y POBN, 48,6 y 44,8% para TOBN-EDEA y POBN-EDEA y 43,7 y 45,4% para TOBN-EDEA-Q y POBN-EDEA-Q, respectivamente. Esto podría sugerir que el proceso de modificación de la celulosa bacteriana causa una transformación del alomorfo I_α en I_β , lo que altera el tamaño del cristalito, principalmente en el caso de procesos termoquímicos como el tratamiento con APA, generando una estructura más estable y con un menor tamaño de cristalito, pues la celulosa I_β está más sólidamente empaquetada que la I_α tal y como se observa en la Tabla 3 (Andrade et al., 2019; Matthews et al., 2012; Wada et al., 2010). Este cambio entre los dimorfos de celulosa I, se debe a que la fase monoclinica (I_β) es termodinámicamente más estable que la fase triclinica (I_α) por $-8,7\text{ kJ mol}^{-1}$ (Heiner et al., 1995). La transformación de I_α a I_β puede ocurrir durante cambios de solvente o de temperatura de las reacciones de modificación de la CB (Imai & Sugiyama, 1998; Matthews et al., 2012) .

La Figura 10 muestra los patrones de difracción de rayos X para las muestras de celulosa con sus respectivas regiones cristalinas y amorfas. Los perfiles de DRX para cada muestra presentan tres picos de difracción en 2θ de $14,4^\circ$, $16,7^\circ$ y $22,7^\circ$ característicos de la celulosa.

Debido a la superposición de las reflexiones de las fases de celulosa cristalina I_{α} (triclínica) y I_{β} (monoclínica), es difícil separar la contribución de cada una de ellas en los picos $14,4^{\circ}$ y $22,7^{\circ}$. El pico indexado a $14,4^{\circ}$ corresponde al plano cristalográfico del alomorfo I_{α} (100) y al I_{β} (1-10). De igual forma sucede con el pico en $22,7^{\circ}$, que presenta una superposición entre las reflexiones de los planos (110) y (200) para I_{α} y I_{β} , respectivamente (Uhlen et al., 1995; Feng et al., 2012; Tonoli et al., 2012; French, 2014; F. Jiang & Hsieh, 2015; J. Yang et al., 2016; Z. Tang et al., 2017; Vasconcelos et al., 2017; Yao, Xiong, et al., 2017). Los patrones de DRX de celulosa I_{α} suelen presentar un pico más intenso en 14° en comparación al pico en 17° (Kafle et al., 2015), pero a medida que I_{α} cambia a I_{β} , debido a los tratamientos de modificación superficial, la intensidad de las señales cambia. Sin embargo, el cambio en la intensidad del pico también puede atribuirse en cierta medida a las pequeñas diferencias generadas en la orientación de las cadenas de celulosa (Castro et al., 2011). En los patrones de DRX después de los tratamientos de modificación no se observan cambios significativos en las señales característica de la celulosa nativa lo que indica que la estructura del material se mantiene a pesar de las modificaciones superficiales (Wu & Cheng, 2017; Tang et al., 2017).

Figura 10. Perfiles de difracción de rayos X de CB, a) TOBN, TOBN-EDEA, TOBN-EDEA-Q y b) POBN, POBN-EDEA, POBN-EDEA-Q.



La cristalinidad es un parámetro que influye en las propiedades mecánicas de las nanofibras de celulosa y relaciona la contribución de la fase amorfa sobre las reflexiones de las fases cristalinas. Por esta razón, las reflexiones generadas en cada patrón de difracción fueron usadas para calcular el índice de cristalinidad (CrI). El CrI para CB fue 84,0%, lo que coincide con el CrI (80-90%) reportado en la literatura para la celulosa bacteriana (Luo et al., 2013; Wu & Cheng, 2017). Este valor disminuyó luego de la oxidación mediada por TEMPO (81,0%) o por APA (74,1%), debido a la inserción de grupos carboxilos y carbonilos en la superficie del material, principalmente en la región amorfa que es mucho más reactiva (Saito & Isogai, 2004; Tang et al., 2017; Calderón-Vergara et al., 2020; C. Huang et al., 2020). De acuerdo, con el CrI calculado para TOBN, puede afirmarse que la reacción mediada por TEMPO es un proceso menos agresivo con la CB, que permite la inserción de nuevos grupos con un menor efecto sobre la estructura cristalina de la celulosa, comparado con la oxidación por APA (Tang et al., 2017; C. Huang et al., 2020). La tendencia decreciente en la cristalinidad puede atribuirse también a la separación y apertura de las cadenas del monómero de glucosa por la oxidación, generando la destrucción parcial de regiones

cristalinas y un cambio en la orientación de las cadenas de CB (Tonoli et al., 2012; X. Huang et al., 2020; Vasconcelos et al., 2017). Por otra parte, luego de la amidación de nanofibras de celulosa, se observó una disminución del CrI a 73,3% y 71,1% para TOBN-EDEA y POBN-EDEA, respectivamente. Esta reducción en el CrI puede atribuirse a la inserción de la estructura de EDEA en la celulosa. No obstante, luego de la metilación el valor de CrI aumenta a 84,7% (TOBN-EDEA-Q) y 78,9% (POBN-EDEA-Q), posiblemente debido a la eliminación de regiones amorfas durante los ciclos de la reacción de metilación como posible consecuencia de la depolimerización de la celulosa por procesos oxidativos en medio alcalino (Aspinall, 1977; Sajomsang et al., 2010; G. Zhu et al., 2016).

La Tabla 3 también muestra la variación en el tamaño del cristalito para el plano (002). Los resultados indican una reducción del tamaño del cristalito en las muestras de nanocelulosa entre 3,0 a 11,6% con los tratamientos de modificación con respecto al valor del cristalito de CB. El tratamiento de oxidación mediado por TEMPO mostró una reducción de 6,5% del tamaño del cristalito con respecto al valor original, por lo que podría decirse que la oxidación ocurre principalmente en las regiones amorfas y en la superficie cristalina de la CB. Por su parte, el tratamiento con APA presenta una reducción de 11,6%, lo que implica que la muestra POBN probablemente pudo estar expuesta a la ruptura aleatoria de enlaces glucosídicos, generando depolimerización por hidrólisis, y por consiguiente, la oxidación de monómeros AGU en el interior del cristalito, lo que a su vez produce una reducción en la cristalinidad del material (Duan et al., 2017).

El tamaño del cristalito para el plano (002) de TOBN-EDEA y POBN-EDEA mostraron una variación de 5,5% y 5,3%, respectivamente. Sin embargo, al comparar el tamaño del cristalito con los productos oxidados, se observa un incremento en su tamaño, como resultado de la

introducción de EDEA en la nanocelulosa carboxilada, tal como lo reporta un estudio previo (Y. Wu et al., 2018).

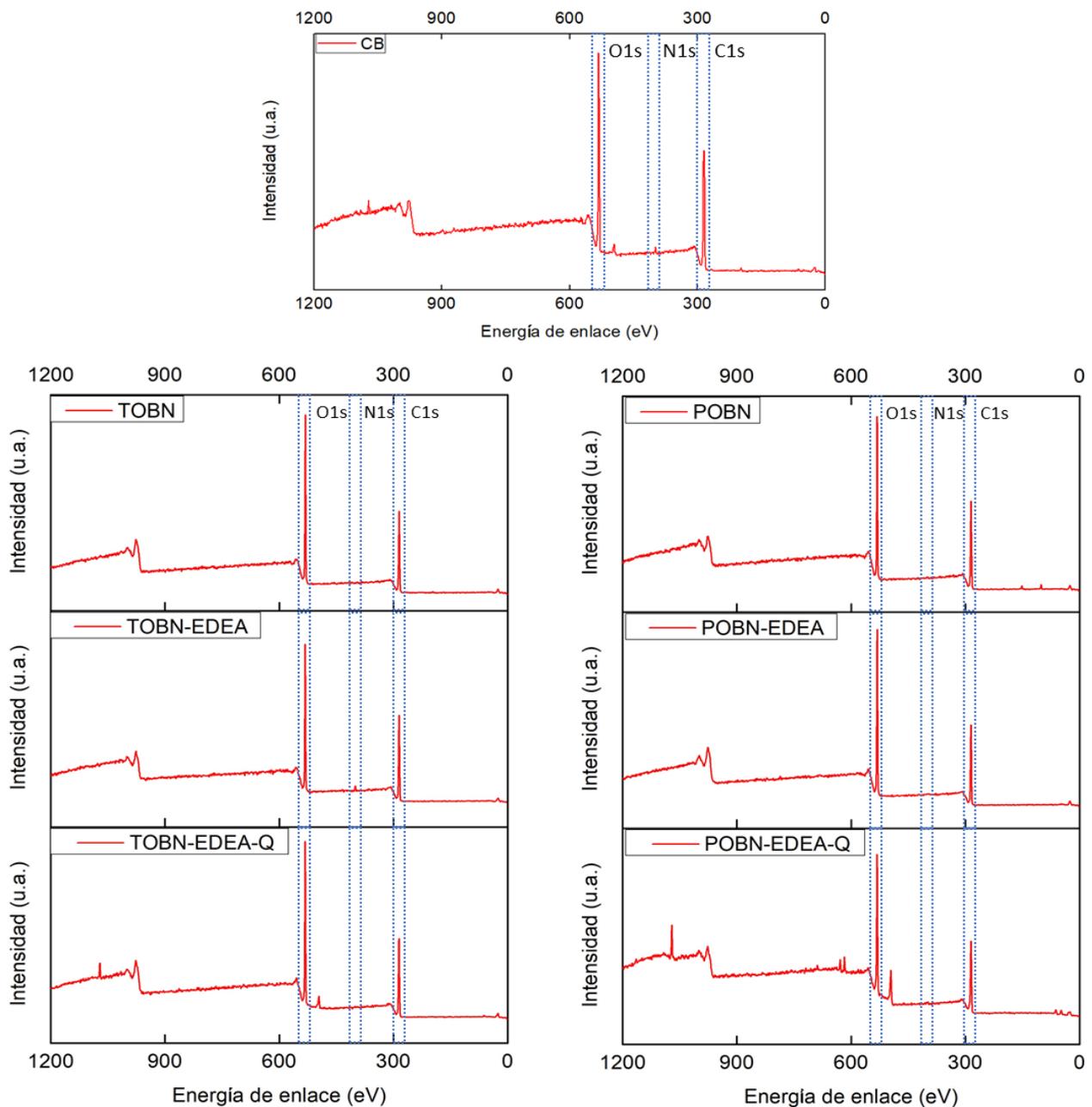
La reducción en el tamaño del cristalito para TOBN-EDEA-Q y POBN-EDEA-Q fue 10,9% y 3,0%, respectivamente con respecto al material de partida. Adicionalmente, al comparar el tamaño del cristal de la celulosa amidada y metilada se observa una reducción para TOBN-EDEA-Q y un incremento para POBN-EDEA-Q con respecto a sus precursores. Esto puede indicar dos posibles vías de reacción durante la metilación. La primera ruta, posiblemente presenta reacciones de metilación de los grupos hidroxilo y depolimerización de la estructura, pues el producto metilado (TOBN-EDEA-Q) muestra una reducción del tamaño del cristalito superior al 10%, posiblemente originada por disolución de los cristales de celulosa, lo que dio lugar a un aumento del contenido amorfo (Ghaderi et al., 2014; D. Han & Yan, 2010). En la segunda ruta, puede ocurrir principalmente la oxidación del extremo libre de EDEA, generando estructuras de celulosa con grupos de nitrógeno oxidado. Lo anterior, se propone debido al incremento del tamaño del cristalito con respecto POBN-EDEA (Worley et al., 1987). En la sección de análisis por XPS se presenta evidencia adicional acerca las posibles rutas de modificación por metilación.

4.2.5. Análisis superficial de nanocelulosa por XPS

Los análisis XPS se realizaron para confirmar y establecer los estados químicos de los átomos superficiales de las muestras de celulosa. La Figura 11 muestra los espectros XPS de CB, TOBN, POBN, TOBN-EDEA, POBN-EDEA, TOBN-EDEA-Q y POBN-EDEA-Q con señales características del biopolímero para carbono C 1s y oxígeno O 1s, centradas en 284,8 eV y 531,7 eV, respectivamente (Yao, Xiong, et al., 2017; C. Huang et al., 2020). Los espectros de alta resolución para C 1s, O 1s y N 1s fueron deconvolucionados en varias señales como se muestra en

el Apéndice FApéndice , para extraer información más detallada sobre los cambios en los tipos de enlaces. Las señales de los diferentes elementos y grupos funcionales en cada muestra fueron calibradas con la señal de carbono adventicio.

Figura 11. Espectros de XPS para CB, TOBN, POBN, TOBN-EDEA, POBN-EDEA, TOBN-EDEA-Q, POBN-EDEA-Q.



Las relaciones O/C calculadas para las muestras de celulosa se presentan en la Tabla 4. La relación de O/C de celulosa pura es 0,83 (Ly et al., 2008). Sin embargo, en la CB se encontró que esta relación corresponde a 0,52. Esto corrobora que la CB contenía impurezas provenientes del medio de cultivo, como se mencionó en secciones anteriores. Las señales en 398,7 eV, atribuida a nitrógeno, y en 1071,8 eV, correspondiente a Na, ambas de baja intensidad también soportan esta idea (Kafle et al., 2015; Frone et al., 2018). Después del aislamiento de las nanofibras de celulosa mediante los métodos TEMPO y APA, se observa un aumento en la relación O/C para TOBN (0,73) y POBN (0,65), lo que indica la eliminación de impurezas durante el proceso de oxidación en las muestras (Fras et al., 2005).

Tabla 4. *Composición elemental de la superficie de CB, TOBN, POBN, TOBN-EDEA, POBN-EDEA, TOBN-EDEA-Q y POBN-EDEA-Q analizada por XPS.*

Muestra	Composición superficial (% atómico)					
	C	O	N	Na	I	O/C
CB	63,0	35,1	1,94	1,18	-	0,52
TOBN	54,4	44,2	1,45	-	-	0,73
POBN	55,4	44,6	-	-	-	0,65
TOBN-EDEA	53,7	41,3	4,94	-	-	0,58
POBN-EDEA	55,98	43,44	0,57	-	-	0,79
TOBN-EDEA-Q	57,69	39,17	0,39	2,68	0,07	0,68
POBN-EDEA-Q	55,93	36,81	0,89	5,78	0,59	0,70

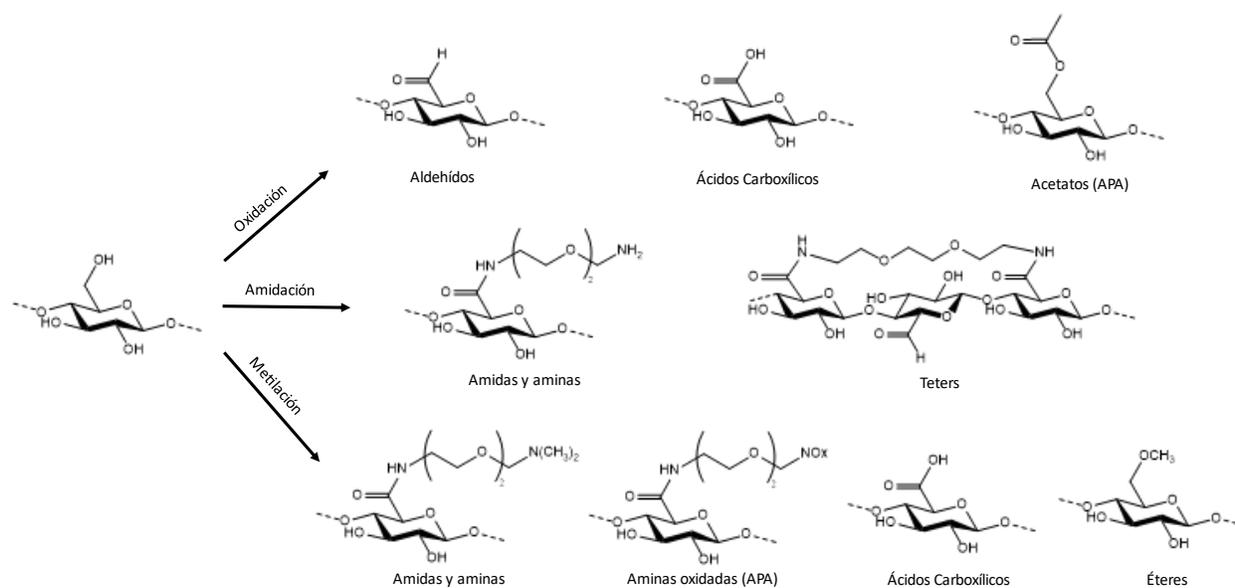
En los espectros XPS de alta resolución para el carbono (Apéndice FApéndice) se observa que la región de C 1s está compuesta por cuatro o cinco tipos de enlaces de carbono. El pico en 284,8 eV se atribuye a C-C o C-H. La señal en $286,2 \pm 0,3$ eV corresponde al carbono unido a un solo oxígeno (C-O). El pico a $287,6 \pm 0,3$ eV se asigna a los posibles enlaces O-C-O/C=O/CO-NH₂. La energía de enlace más alta a $288,9 \pm 0,25$ eV representa el grupo de carboxilato (O-C = O). De acuerdo con este análisis, la CB contiene unidades de anhidroglucosa junto con algunas impurezas representadas por las señales de grupos amida y carboxilo (Pertile et al., 2010; Han et al., 2013; Tran et al., 2016; W. Chen et al., 2018). Los procesos de oxidación de la CB para producir TOBN y POBN indujeron cambios en los enlaces de C-O y eliminaron la señal correspondiente al grupo amida observada en la CB (Apéndice FApéndice). Los grupos carboxilato en TOBN y POBN aumentaron la contribución de la señal en 288,9 eV (O-C = O) (Lai et al., 2013). En TOBN y POBN también se pudo observar una drástica disminución de la contribución C-C en relación con la CB (Apéndice FApéndice), lo que puede indicar oxidación en posiciones C2, C3 y C4 (Isogai et al., 2011; Lai et al., 2013). Dado que el C4 está unido al grupo vecino de AGU mediante el enlace β 1 \rightarrow 4 y no a grupos hidroxilo, la posible reacción en esta posición no contribuye al contenido de grupos carboxilo pero si puede ocasionar procesos de degradación y cambios de conformación en los enlaces glucosídicos de la celulosa (Lai et al., 2013), la fracción soluble podría ser eliminada por centrifugación. Esto puede ser corroborado por el estudio de Saito et al., que muestra que los rendimientos de la celulosa oxidada disminuyen en presencia de un gran exceso de NaClO (Saito et al., 2009; Lai et al., 2013).

En el caso de las muestras TOBN-EDEA y POBN-EDEA se observa una señal en 287,8 eV y 287,7, respectivamente, que puede deberse a la formación del enlace tipo amida entre la celulosa y EDEA (Apéndice F) (Hemraz et al., 2013). No obstante, esta señal puede solaparse con

señales asociadas con la estructura de la celulosa (C=O/O-C-O) que aparecen en la misma región (Rouxhet & Genet, 2011). Por esta razón, para corroborar la presencia del enlace amida en la celulosa fue necesario analizar la región N 1s, tal y como se discute más adelante (Apéndice HApéndice). Por otro lado, las muestras TOBN-EDEA-Q y POBN-EDEA-Q presentaron una señal en $291,0 \pm 0,3$ eV propia de las señales satélite para las transiciones π - π^* (Apéndice FApéndice). Esto puede indicar la presencia de grupos funcionales con exceso o deficiencia de electrones, tales como grupos acetato, éter, nitro, imida o amonio cuaternario obtenidos luego de cada funcionalización. Sin embargo, la señal también podría corresponder a un artefacto experimental durante el montaje de la muestra en el equipo (Russat, 1988; Hsieh et al., 2017).

El análisis de la región de O 1s muestra cinco interacciones entre el oxígeno, carbono y nitrógeno (Apéndice GApéndice). La señal en $531,2 \pm 0,2$ eV (O1) se asocia con la presencia de grupos carboxilato producidos por el proceso de oxidación de CB o por los enlaces amida formados por la funcionalización de TOBN y POBN con EDEA (Rouxhet & Genet, 2011; W. Chen et al., 2018; X. Yang et al., 2019). En $532,8 \pm 0,2$ eV (O2) se encuentra la señal correspondiente a los enlaces C-O de los grupos hidroxilo y éteres (C. Huang et al., 2020). La señal en $534,0 \pm 0,4$ eV (O3) se asocia con el anillo de anhidroglucosa, con los oxígenos que participan en el enlace glucosídico β -1,4, o con los grupos ésteres presumibles luego de la modificación con APA (V. Ferreira et al., 2019). El pico en $535,0 \pm 0,3$ eV (O4) se relaciona con la presencia de agua en la estructura del polímero (Schulze et al., 1983). La señal de mayor energía, ubicada en 536,8 eV (O) (Apéndice GApéndice), posiblemente corresponda a los grupos oxidados de la amina libre en TOBN-EDEA y POBN-EDEA como grupos nitro, nitroso o nitrito (Figura 12) (Hendrickson et al., 1969; Worley et al., 1987) .

Por su parte, en la región de N 1s se observan cuatro señales después de deconvolución (Apéndice HApéndice). La señal en 402,3 eV (N3) en la muestra TOBN se debe exclusivamente a residuos del radical TEMPO, pues corresponde con reportes previos relacionados con el catión oxiamonio del radical TEMPO (Beamson & Briggs, 1993; Rouxhet & Genet, 2011). Los picos centrados en $399,9 \pm 0,4$ eV (N1) y $401,5 \pm 0,4$ eV (N2) se atribuyen al enlace amida resultante de la reacción de acoplamiento entre el ácido carboxílico de TOBN y POBN y EDEA (amina primaria), y a la amina primaria libre protonada, ubicada al otro extremo de la cadena de EDEA (Apéndice HApéndice). Esta observación confirma la efectividad de la reacción de amidación en las muestras TOBN-EDEA y POBN-EDEA (Hemraz et al., 2013; Gauche & Felisberti, 2019). Adicionalmente, es muy probable que durante la funcionalización de la celulosa con la amina ocurriera la formación de estructuras tetra creando sistemas entrecruzados inter e intracadena. Debido a que la amina funcionalizada posee una diamina de estructura simétrica donde ambos extremos no se encuentran protegidos y pueden reaccionar con los grupos carboxílicos de la celulosa (Figura 12).

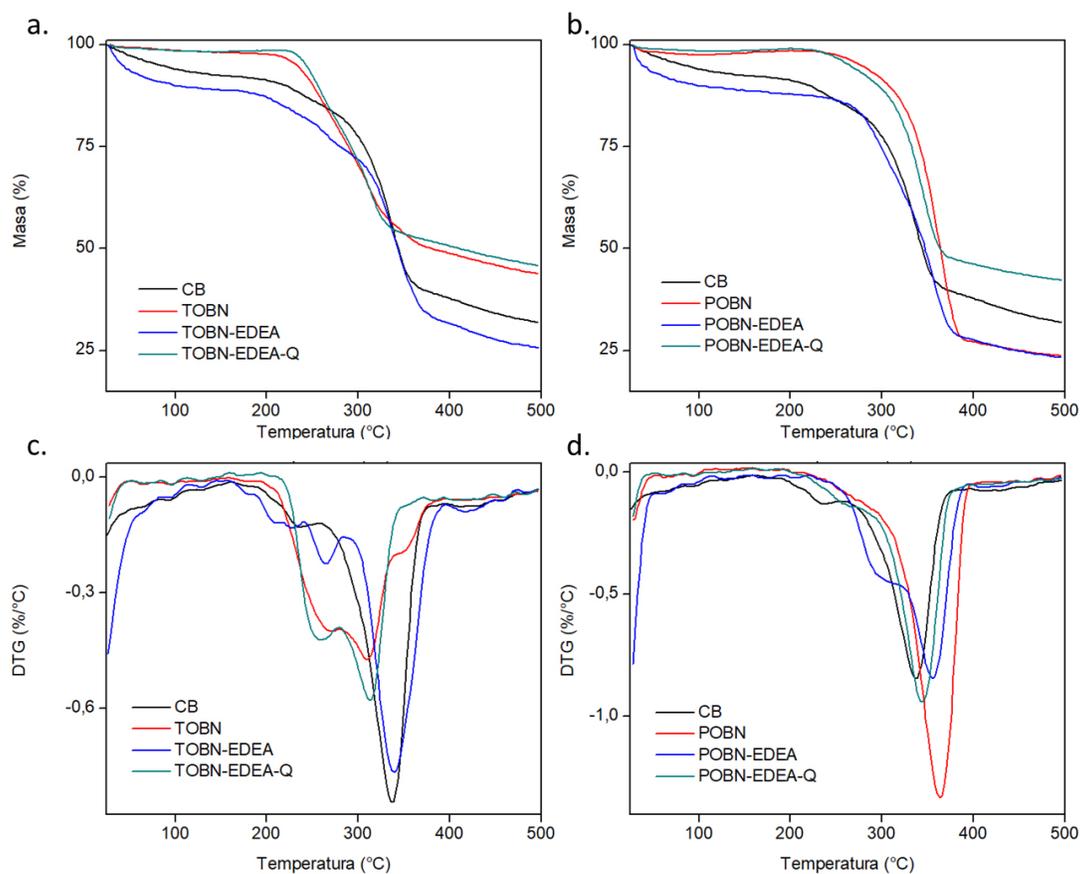
Figura 12. Esquema general con las posibles estructuras de celulosa modificada.

El espectro XPS de alta resolución para TOBN-EDEA-Q presenta una sola señal en $399,9 \pm 0,4$ eV (N1) característica de grupos amida, mientras que POBN-EDEA-Q exhibe dos señales centradas en 400,7 (N1) y 403,6 eV (N4) (Apéndice H, Apéndice IApéndice), correspondientes a grupos amida y nitro o aminóxidos, respectivamente (Y. Chen et al., 2016). Estos resultados sugieren que la reacción de cuaternización de la celulosa, mediante metilación de aminas primarias, no ocurrió como se esperaba. Dado que los datos extraídos de los espectros en XPS y los resultados del tamaño del cristalito indican que las posibles reacciones que se llevaron a cabo durante esta etapa de modificación fueron los procesos de *O*-metilación y oxidación de grupos amino (Figura 12).

4.2.6. Análisis térmico de nanocelulosas

La Figura 13; **Error! No se encuentra el origen de la referencia.** muestra la degradación térmica de las muestras de celulosa. El proceso de degradación térmica involucra una serie de reacciones endotérmicas que implican la deshidratación de las cadenas de celulosa para formar anhidrocelulosa y la despolimerización de la estructura para generar levoglucosan, que posteriormente produce alquitrán a temperaturas superiores a 400 °C (Tran et al., 2016; Vasconcelos et al., 2017). Las curvas termogravimétricas y las gráficas de su correspondiente derivada (DTG) para los materiales de celulosa modificada muestran una pérdida de peso entre 50 a 150° C, debido a la evaporación del agua adsorbida (Vasconcelos et al., 2017). Las pérdidas de masa para los materiales en esta región correspondieron a 7,7 % (CB), 2,0% (TOBN), 2,1 % (POBN), 11,1% (TOBN-EDEA), 11,3% (POBN-EDEA), 1,8% (TOBN-EDEA-Q) y 1,6% (POBN-EDEA-Q). En esta etapa de descomposición se observó que TOBN-EDEA y POBN-EDEA contienen más agua que las estructuras TOBN y POBN, lo que en principio contradice las observaciones reportadas anteriormente por Gómez et al. (2017) y Calderón-Vergara et al. (2020), que mencionan una reducción de su capacidad de hidratación debido al incremento de las interacciones hidrofóbicas en la superficie de la celulosa por la inserción de la estructura carbonada de la amina (Calderón-Vergara et al., 2020). Sin embargo, la amina EDEA, usada en esta investigación, tienen un carácter más polar que las aminas usadas en los reportes anteriores. Por lo tanto, el aumento en el contenido de agua absorbida en las estructuras amidadas se debe exclusivamente a la naturaleza de la amina (Gómez et al., 2017).

Figura 13. TGA (a y b) y curvas DTG (c y d) para CB, TOBN, POBN, TOBN-EDEA, POBN-EDEA, TOBN-EDEA-Q y POBN-EDEA-Q.



Después de la deshidratación de las muestras de nanocelulosa se observó la descarboxilación de las unidades glucosídicas, que contribuye a la formación de compuestos carbonílicos y el inicio de un proceso de aromatización en las cadenas de celulosa entre 220 – 280 °C para las muestras con una pérdida de peso de 17,6% (CB), 21,3% (TOBN), 18,8% (POBN), seguido del colapso de las estructuras glucosídicas entre 280 – 360 °C por la despolimerización de unidades glucosídicas en las regiones amorfas y cristalinas (Yao, Fan, et al., 2017; Vasconcelos et al., 2017; Andrade et al., 2019).

Las curvas DTG muestran la temperatura de descomposición (T_d) para CB, TOBN y POBN en 338 °C, 310 °C y 363 °C, respectivamente, reflejando una menor estabilidad térmica para TOCN (310 °C) en comparación con CB (338 °C) y POBN (363 °C). La curva DTG para TOCN exhibe dos señales, alrededor de 270 y 310 °C. La señal en 270°C se atribuye a la T_d de las unidades carboxílicas de TOCN superficiales, mientras que la segunda señal corresponde a la descomposición del esqueleto de celulosa (Fukuzumi et al., 2010; Ovalle-Serrano et al., 2018; do Nascimento et al., 2019; Saavedra Sanabria et al., 2019; Andrade et al., 2019). Por otro lado, la curva DTG para POBN revela un desplazamiento en T_d hacia 363 °C lo que implica una estabilidad térmica aumentada posiblemente por una reacción de transesterificación e hidrólisis ácida, obteniendo un producto más resistente a la descomposición térmica (Sato et al., 2003; Paschoal et al., 2015; Dungani et al., 2017; Wen et al., 2017; Z. Jiang et al., 2017).

A temperaturas superiores a T_d el grado de depolimerización crece y la pérdida de masa aumenta a 22,5% (CB), 16,9% (TOBN) y 25,1% (POBN) debido al rompimiento de enlaces glicosídicos en las unidades de anhidroglucosa y anhidroglucuronato, que conduce a la producción de alquitrán y compuestos volátiles debido a la oxidación del carbón remanente a CO_2 , CO y agua (Ovalle-Serrano et al., 2018).

La degradación térmica de las muestras amidadas en la segunda etapa presenta una pérdida de peso de 36,6% y 45,8 para TOBN-EDEA y POBN-EDEA, respectivamente, posiblemente atribuida a la presencia de unidades de anhidroglucosa, anhidroglucuronato no amidado y volatilización de la cadena carbonada de EDEA en el rango de temperatura dado entre 220-290 °C, similar al reporte realizado por Calderón-Vergara et al. (2020). A temperaturas por encima de 300 °C, la descomposición térmica corresponde a la despolimerización y degradación completa de los materiales a CO_2 , CO y agua (Hemraz et al., 2013; Gómez-Jaimes et al., 2020).

Adicionalmente, las curvas DTG permiten observar que la estabilidad térmica de TOBN-EDEA incrementa 31 °C en comparación con TOBN, mientras POBN-EDEA disminuye en 7 °C con respecto a POBN. Esto indica una mejora en las propiedades térmicas de TOCN después de la funcionalización con EDEA y una ligera desestabilización térmica para POBN-EDEA debido principalmente a la posible reducción de grupos acetato.

Por otra parte, las curvas DTG para la celulosa modificada muestran dos señales de descomposición máxima a 258 °C y 313 °C para TOBN-EDEA-Q y 260 °C y 343 °C para POBN-EDEA-Q. Los valores de T_d podrían estar relacionados con la diversidad estructural que presenta la celulosa modificada. El primer evento podría atribuirse a la descomposición de unidades anhidroglucuronato, volatilización de los injertos de EDEA y las estructuras de metiladas por *N*-metilación y *O*-metilación, mientras que el segundo evento se relaciona con la descomposición de la celulosa (Sehaqui et al., 2016; Udoetok et al., 2016; Ru et al., 2018).

Los perfiles de las curvas DTG también revelan que la intensidad del evento térmico debido a la descomposición de los grupos alquilo introducidos mediante la metilación, reduce la temperatura de degradación de las fibrillas de celulosa. Lo anterior proporciona una evidencia para sugerir que la celulosa fue modificada mediante las reacciones descritas anteriormente formando estructuras entrecruzadas y metiladas (Udoetok et al., 2016). Adicionalmente, los resultados para TOBN-EDEA-Q y POBN-EDEA-Q sugieren que la estabilidad térmica es menor que TOBN-EDEA y POBN-EDEA. Este fenómeno podría atribuirse a las reacciones secundarias en la celulosa durante el proceso de metilación, ocasionando una estructura con mayor inestabilidad térmica en comparación con los materiales precursores.

4.3. Balance hidrofílico/lipofílico de nanocelulosas

La estructura molecular de la nanocelulosa oxidada y modificada es característica de un surfactante, donde la cabeza hidrofílica corresponde a los grupos OH, CHO, COOH, NH₂ y N⁺(CH₃)₃ presentes en las unidades de AGU y la cola hidrofóbica está formada por la cadena carbonada del esqueleto de la celulosa y EDEA. El comportamiento interfacial de estos materiales puede determinarse calculando su balance hidrofílico/lipofílico (*Hydrophilic/Lipophilic Balance*, HLB). El valor de HLB indica la afinidad de un surfactante por un solvente, un HLB alto se traduce en afinidad por solventes acuosos (soluble en agua) y un HLB bajo por solventes orgánicos (soluble en aceite). La escala HLB varía de 0 a 20, donde 0 corresponde a una estructura netamente hidrofóbica y 20 indica una molécula completamente hidrofílica. El HLB puede hallarse de manera experimental o teórica. El cálculo teórico se puede realizar a partir del método matemático de Griffin (Griffin, 1949), de acuerdo con la ecuación (10)

$$HLB = 20 \times \frac{M_h}{M_m} \quad (10)$$

donde M_h representa la suma de los pesos moleculares de las fracciones hidrofílicas y M_m el peso molecular de cada unidad AGU no tratada o modificada. Sin embargo, al aplicar la ecuación (10) sobre la celulosa oxidada, amidada y cuaternizada, ésta se transforma en:

$$HLB = \frac{(\sum M_{hi} * n_i) + (\sum M_{hj} * n_j) + (\sum M_{hk} * n_k) + \dots + (\sum M_{hr} * n_r)}{(\sum M_{mi} * n_i) + (\sum M_{mj} * n_j) + (\sum M_{mk} * n_k) + \dots + (\sum M_{mr} * n_r)} \quad (11)$$

donde M_{hi} , M_{hj} , M_{hk} , M_{hl} , M_{hm} , M_{hn} , M_{ho} , M_{hp} y M_{hq} representan la suma de los pesos moleculares de las fracciones de grupos hidrofílicos por unidad de AGU. Por tanto, (i) corresponde a las fracciones de C6-OH, (j) representa la oxidación incompleta o unidades -CHO, (k) indica la oxidación completa o los grupos -COOH, (l) corresponde a los grupos -O- de la celulosa, (m) a grupos C2-OH/C3-OH, (o) representa los grupos amida en CONH[(CH₂)₂O]₂(CH₂)₂NH₂, (p)

indica los grupos amina en $-\text{CONH}[(\text{CH}_2)_2\text{O}]_2(\text{CH}_2)_2\text{NH}_2$, (q) grupos $-\text{O}-$ presentes en la amina insertada y (r) son los grupos $\text{N}^+(\text{CH}_3)_3$ metilados luego de la amidación de la celulosa. n representa el número de cada especie hidrofílica por unidad de AGU, por ejemplo, n puede calcularse a partir de la distribución entre el número de C6 en $\text{AGU}_{\text{ox}}/1000 \text{ AGU}$.

Tabla 5. Cantidad de grupos oxidados en C6, HLB teórico y experimental, y % CF de TOBN, POBN, TOBN-EDEA, POBN-EDEA, TOBN-EDEA-Q y POBN-EDEA-Q

Muestra	C6 $\text{AGU}_{\text{ox}}/1000 \text{ AGU}$	$\text{HLB}_{\text{teórico}}$	$\text{HLB}_{\text{exp}}^{\text{a}}$	% CF ^{bc}
TOBN	192	11,1	13,6	-6,7
POBN	152	10,8	-	4,9
TOBN-EDEA	71	10,7	11,8	9,0
POBN-EDEA	94	10,6	-	5,6
TOBN-EDEA-Q	187	11,5	20,2	12,8
POBN-EDEA-Q	187	11,3	-	6,1

Nota: ^aEl cálculo de HLB_{exp} se realizó usando la ecuación 8, de forma similar al HLB calculado para el aceite de girasol. ^bControl de frizz, el cálculo se realizó a partir de ecuación 9. ^cEl %CF para TC fue 20,4%.

La Tabla 5 resume los valores teóricos y experimentales del HLB. Los materiales sintetizados presentan valores de HLB teóricos que oscilan entre 10 y 11, lo que indica que pueden actuar como surfactantes hidrofílicos o agentes capaces de estabilizar emulsiones de aceite en agua (O/W) (Miller, 2016). Al comparar los valores teóricos de HLB con las mediciones experimentales hechas mediante el análisis de la estabilidad de emulsiones (el HLB_{exp} se determinó de forma similar al HLB requerido para el aceite de girasol, usando la ecuación 9, como se describe

en la sección experimental 3.2.4.9), se observa coincidencia entre los valores de HLB para TOBN y TOBN-EDEA (Apéndice J). Sin embargo, no sucede igual con los valores de HLB para TOBN-EDEA-Q. De hecho, se observa una diferencia significativa entre ambos valores, donde los cálculos para el $HLB_{teórico}$ lo definen como un agente emulsificante O/W, mientras el HLB_{exp} lo clasifica como agente solubilizante. Esta diferencia podría atribuirse a la formación de especies diferentes a las plateadas en esta tesis para el tratamiento de metilación, produciendo diversos grupos polares disponibles de carácter iónicos y no iónicos formados durante las reacciones secundarias de la metilación, los cuales generan interacciones electrostáticas y estéricas de mayor alcance con respecto a TOBN y TOBN-EDEA (Liu et al., 2014; Fitzgerald et al., 2015; Matusiak & Grządka, 2017; Ng & Rogers, 2019; Sarkar & Pal, 2019).

4.4. Evaluación de la actividad antifrizz de celulosa modificada sobre el cabello

La prueba *anti frizz* en cabello humano, utilizando todos los derivados (oxidados y modificados) de la CB y un producto comercial (TC), se realizó como se muestra en el Apéndice KApéndice . Como control se usó una muestra de cabello caucásico negro, ondulado y natural con una longitud de 5 cm.

La medida de control de *frizz* (CF) está relacionada con los cambios en el contenido de agua en el cabello antes y después del tratamiento cosmético. Cuando CF es positivo para las muestras de cabello tratadas, ajustadas a 27 °C y humedad relativa (HR) variable (60-80%), se observa un aumento en el diámetro de la fibra por hidratación (Gao, 2007). Por consiguiente, el material evaluado no presenta actividad anti frizz.

De acuerdo con lo anterior, los resultados de CF en la Tabla 5 señalan que todas las muestras de celulosa (excepto TOBN) y el TC (20,4 %) no presentan actividad anti frizz en el

cabello, debido a que facilitaron la penetración de humedad en las fibras capilares (Velasco et al., 2009; Bianchi et al., 2020).

Comparando los valores de CF, se puede decir que la mayoría de las muestras de celulosa, a excepción de TOBN, e incluso el TC, aparentemente no mostraron actividad anti frizz. Sin embargo, al observar las fotografías adjuntadas en el Apéndice KApéndice , se muestra que macroscópicamente todos los productos de nanocelulosa pueden presentar control de frizz sobre las muestras de cabello. Por consiguiente, sería aconsejable repetir este ensayo, usando un solo mechón de cabello para cada tratamiento.

5. Conclusiones

Se obtuvieron nanofibras de CB funcionalizadas principalmente con grupos carboxilatos con un valor 1,39 mmol COOH/g celulosa para la oxidación con el radical TEMPO (TOBN) y 0,88 mmol COOH/g celulosa para la oxidación con ácido peracético (POBN). Los resultados indicaron que el proceso de oxidación, en conjunto con la desintegración mecánica, permitieron oxidar la CB a partir de las dos metodologías evaluadas. Los resultados demostraron que el proceso de oxidación mediado por TEMPO es más eficiente que el tratamiento con ácido peracético, permitiendo mejorar la dispersión de la fibra en agua, debido al incremento de grupos carboxilato y, por consiguiente, las fuerzas de repulsión entre las fibras cargadas negativamente.

Los análisis elementales por CHNS y EDS permitieron confirmar la presencia de residuos del medio de cultivo y proteínas asociadas con las bacterias que permanecieron adheridas a la CB

luego de los lavados con agua, lo cual también se corroboró en los resultados obtenidos mediante DRX y XPS.

El análisis elemental permitió calcular el DS para las muestras modificadas mediante amidación y metilación, mostrando una sustitución de los grupos carboxilato durante la reacción de amidación en 68,8% (TOBN-EDEA) Y 26,7% (POBN-EDEA), indicando un acoplamiento entre la amina y ácido carboxílico para formar un enlace amida. Respecto a las muestras catiónicas se observó una reducción significativa de los grupos nitrogenados lo que infiere que la reacción de N-metilación no fue dominante o posiblemente ocurrió en las cadenas más cortas de celulosa que se eliminaron durante los lavados.

La caracterización morfológica de las nanofibras funcionalizadas mostró una estructura de red tridimensional altamente porosa, muy similar a la estructura de CB, con un diámetro promedio inferior a $60,1 \pm 31,9$ nm. Los tratamientos de modificación superficial no alteraron significativamente la morfología de las nanofibras.

El análisis realizado a partir de espectroscopía infrarroja permitió seguir la transición de los grupos funcionales entre las modificaciones realizadas. En el caso de la oxidación se observó la presencia de grupos C=O provenientes de grupos aldehídos para TOBN y POBN, pero además se evidenció la formación de grupos hemiacetal entre grupos aldehídos formados durante las reacciones de fragmentación, y grupos hidroxilo de estructuras vecinas. Los materiales amidados TOBN-EDEA y POBN-EDEA presentaron una banda ancha característica de las señales amida I y II, confirmando el acoplamiento de la amina en la celulosa. Con respecto, a las muestras catiónicas no se observaron señales posiblemente debido a que la reacción no ocurrió como se esperaba.

Los cambios en los índices de cristalinidad en la celulosa modificada con respecto a CB se deben probablemente a la modificación de la red tridimensional de la celulosa cristalina, principalmente por debilitamiento de los enlaces intermoleculares de hidrógeno debido a los tratamientos mecánicos y químicos durante la reacción.

La relación O/C y las cantidades relativas de las diferentes interacciones entre carbono-oxígeno, carbono-nitrógeno y oxígeno-nitrógeno se determinaron por medio de espectroscopía XPS. Los análisis demostraron que la contribución de grupos hidroxilo disminuyó después de la oxidación. La asignación de las señales de los productos obtenidos luego de la amidación verifica la funcionalización a partir del enlace covalente entre un grupo amino terminal de EDEA con un grupo carboxilato en la celulosa. En cuanto a las señales dadas para el espectro de las muestras catiónicas aparentemente no se observaron regiones de grupos catiónicos, lo que corrobora la conclusión de que la reacción de cationización no ocurrió.

Los análisis termogravimétricos mostraron que la estabilidad térmica de la celulosa oxidada (TOBN) es menor que la de la celulosa original (CB). Por otra parte, en el derivado POBN se observó un aumento en la temperatura de degradación, presumiblemente por reacciones secundarias que lograron introducir grupos acetilo en la superficie de la CB durante el tratamiento oxidativo con APA. Por su parte, las muestras amidadas mostraron un cambio positivo para TOBN-EDEA y negativo en POBN-EDEA, lo cual, indica una mejora en la estabilidad térmica de TOBN como resultado de la hidrofobización de las nanofibras después de la reacción de amidación “*one-pot*” y una ligera desestabilización térmica para POBN-EDEA debido a la posible reducción de grupos acetato durante la funcionalización. En cuanto a los derivados catiónicos se observó una reducción en T_d , tal vez como consecuencia de la diversidad de grupos funcionales que se

obtuvieron en esta etapa del proceso, entre los cuales pueden encontrarse estructuras N-metiladas y O-metiladas.

Las nanocelulosas modificadas presentan actividad superficial y pueden formar dispersiones estables en un sistema emulsionante de O/W con $HLB_{teórico}$ que varía entre 10,6 a 11,5 y HLB_{exp} entre 11,8 a 20,2 dependiendo de la modificación realizada. Lo anterior, indica la capacidad de la celulosa para actuar como agente emulsionante y detergente con buena dispersabilidad en agua.

Finalmente, la determinación de CF mostró que la mayoría de los materiales sintetizados no mostraron actividad anti frizz (excepto en TOBN). Esto se atribuye al hecho de que se observó un incremento en el diámetro de la fibra causado por la hidratación del cabello luego de aplicar la celulosa.

Referencias

- Abdel-Halim, E. S., & Al-Deyab, S. S. (2011). Low temperature bleaching of cotton cellulose using peracetic acid. *Carbohydrate Polymers*, 86(2), 988-994.
- Afoakwa, E. O. (2016). *Chocolate Science and Technology* (2.^a ed.). Wiley Blackwell.
<https://books.google.com.co/books?id=rZstCwAAQBAJ>
- Akhlaghi, S. P., Zaman, M., Mohammed, N., Brinatti, C., Batmaz, R., Berry, R., Loh, W., & Tam, K. C. (2015). Synthesis of amine functionalized cellulose nanocrystals: Optimization and characterization. *Carbohydrate Research*, 409, 48-55.
- Andrade, F. K., Morais, J. P. S., Muniz, C. R., Nascimento, J. H. O., Vieira, R. S., Gama, F. M. P., & Rosa, M. F. (2019). Stable microfluidized bacterial cellulose suspension. *Cellulose*, 26(10), 5851-5864.
- Angiolani, A. (1960). *Introducción a la química industrial: Fundamentos químicos y tecnológicos*. Andres Bello.
- Appels, L., Assche, A. V., Willems, K., Degreè, J., Impe, J. V., & Dewil, R. (2011). Peracetic acid oxidation as an alternative pre-treatment for the anaerobic digestion of waste activated sludge. *Bioresource Technology*, 102(5), 4124-4130.
- Aspinall, G. O. (1977). The selective degradation of carbohydrate polymers. En K. Onodera (Ed.), *Carbohydrate Chemistry—8* (pp. 1105-1134). Pergamon.
- Bäckdahl, H., Helenius, G., Bodin, A., Nannmark, U., Johansson, B. R., Risberg, B., & Gatenholm, P. (2006). Mechanical properties of bacterial cellulose and interactions with smooth muscle cells. *Biomaterials*, 27(9), 2141-2149.

- Barshan, S., Rezazadeh-Bari, M., Almasi, H., & Amiri, S. (2019). Optimization and characterization of bacterial cellulose produced by *Komagatacibacter xylinus* PTCC 1734 using vinasse as a cheap cultivation medium. *International Journal of Biological Macromolecules*, *136*, 1188-1195.
- Beamson, G., & Briggs, D. (1993). High Resolution XPS of Organic Polymers: The Scienta ESCA300 Database. *Journal of Chemical Education*, *70*(1), 295.
- Berra, M., Mangialardi, T., & Paolini, A. E. (2015). Reuse of woody biomass fly ash in cement-based materials. *Construction and Building Materials*, *76*, 286-296.
- Bhattacharyya, S., Pathak, U., Mathur, S., Vishnoi, S., & Jain, R. (2014). Selective N-alkylation of primary amines with R-NH₂· HBr and alkyl bromides using a competitive deprotonation/protonation strategy. *RSC Advances*, *4*(35), 18229–18233.
- Bianchi, S., Bernardi, S., Continenza, M. A., Vincenti, E., Antonouli, S., Torge, D., Macchiarelli, G., Bianchi, S., Bernardi, S., Continenza, M. A., Vincenti, E., Antonouli, S., Torge, D., & Macchiarelli, G. (2020). Método de Microscopía Electrónica de Barrido para la Evaluación de Cabello Teñido con Extracto de *Lawsonia inermis*: Estudio in vitro. *International Journal of Morphology*, *38*(1), 96-100.
- Billmeyer, F. W. (2004). *Ciencia de los polímeros*. Reverte.
- Burton, A. W., Ong, K., Rea, T., & Chan, I. Y. (2009). On the estimation of average crystallite size of zeolites from the Scherrer equation: A critical evaluation of its application to zeolites with one-dimensional pore systems. *Microporous and Mesoporous Materials*, *117*(1), 75-90.

- Calderón-Vergara, L. A., Ovalle-Serrano, S. A., Blanco-Tirado, C., & Combariza, M. Y. (2020). Influence of post-oxidation reactions on the physicochemical properties of TEMPO-oxidized cellulose nanofibers before and after amidation. *Cellulose*, 27(3), 1273-1288.
- Carreño Pineda, L. D., Caicedo Mesa, L. A., & Martínez Riascos, C. A. (2012). Fermentation Techniques and Applications of Bacterial Cellulose: A Review. *Ingeniería y Ciencia*, 8(16), 307-335.
- Castro, C., Zuluaga, R., Álvarez, C., Putaux, J.-L., Caro, G., Rojas, O. J., Mondragon, I., & Gañán, P. (2012). Bacterial cellulose produced by a new acid-resistant strain of *Gluconacetobacter* genus. *Carbohydrate Polymers*, 89(4), 1033-1037.
- Castro, C., Zuluaga, R., Putaux, J.-L., Caro, G., Mondragon, I., & Gañán, P. (2011). Structural characterization of bacterial cellulose produced by *Gluconacetobacter swingsii* sp. From Colombian agroindustrial wastes. *Carbohydrate Polymers*, 84(1), 96-102.
- Chacón, M. L. (2011). *Síntesis in situ y caracterización de nanopartículas de óxidos de manganeso en fibras de fique y su aplicación en el tratamiento de agua contaminada con colorantes*.
- Chang, W.-S., & Chen, H.-H. (2016). Physical properties of bacterial cellulose composites for wound dressings. *Food Hydrocolloids*, 53, 75-83.
- Chen, W., He, H., Zhu, H., Cheng, M., Li, Y., & Wang, S. (2018). Thermo-Responsive Cellulose-Based Material with Switchable Wettability for Controllable Oil/Water Separation. *Polymers*, 10(6), 592.
- Chen, Y., Yan, Q., Zhang, S., Lu, L., Xie, B., Xie, T., Zhang, Y., Wu, Y., Zhang, Y., & Liu, D. (2016). Buffering agents-assisted synthesis of nitrogen-doped graphene with oxygen-rich functional groups for enhanced electrochemical performance. *Journal of Power Sources*, 333, 125-133.

- Cheng, T., Gebelein, C. G., & Yang, V. C. (2012). *Cosmetic and Pharmaceutical Applications of Polymers*. Springer Science & Business Media.
- Corinaldesi, C., Barone, G., Marcellini, F., Dell'Anno, A., & Danovaro, R. (2017). Marine Microbial-Derived Molecules and Their Potential Use in Cosmeceutical and Cosmetic Products. *Marine Drugs*, 15(4), 118.
- Crescente, O., Acosta, M., Guevara, M., & Estaba, A. (1999). *Aprovechamiento de los desechos de cacao (Theobroma cacao L.)*.
- Dandu, H. (2020). *Hair Rebonding: Products Used, Benefits, Side Effects & Procedure*. Vedix. <https://vedix.com/blogs/articles/hair-rebonding>
- Debiagi, F., Faria-Tischer, P. C., & Mali, S. (2020). A Green Approach Based on Reactive Extrusion to Produce Nanofibrillated Cellulose from Oat Hull. *Waste and Biomass Valorization*, 1–10.
- do Nascimento, E. S., Pereira, A. L. S., Barros, M. de O., Barroso, M. K. de A., Lima, H. L. S., Borges, M. de F., Feitosa, J. P. de A., de Azeredo, H. M. C., & Rosa, M. de F. (2019). TEMPO oxidation and high-speed blending as a combined approach to disassemble bacterial cellulose. *Cellulose*, 26(4), 2291-2302.
- Domard, A., Rinaudo, M., & Terrassin, C. (1986). New method for the quaternization of chitosan. *International Journal of Biological Macromolecules*, 8(2), 105-107.
- Donato, R. K., & Mija, A. (2020). Keratin Associations with Synthetic, Biosynthetic and Natural Polymers: An Extensive Review. *Polymers*, 12(1), 32.
- Dórame-Miranda, R. F., Gámez-Meza, N., Medina-Juárez, L. Á., Ezquerria-Brauer, J. M., Ovando-Martínez, M., & Lizardi-Mendoza, J. (2019). Bacterial cellulose production by

- Gluconacetobacter entanii using pecan nutshell as carbon source and its chemical functionalization. *Carbohydrate Polymers*, 207, 91-99.
- Draelos, Z., Hornby, S., Walters, R. M., & Appa, Y. (2013). Hydrophobically modified polymers can minimize skin irritation potential caused by surfactant-based cleansers. *Journal of Cosmetic Dermatology*, 12(4), 314-321.
- Du, P., Liu, W., Cao, H., Zhao, H., & Huang, C.-H. (2018). Oxidation of amino acids by peracetic acid: Reaction kinetics, pathways and theoretical calculations. *Water Research X*, 1, 100002.
- Duan, L., Yu, W., & Li, Z. (2017). Analysis of Structural Changes in Jute Fibers after Peracetic Acid Treatment. *Journal of Engineered Fibers and Fabrics*, 12(1), 155892501701200100.
- Dungani, R., Owolabi, A. F., Saurabh, C. K., Abdul Khalil, H. P. S., Tahir, P. M., Hazwan, C. I. C. M., Ajijolakewu, K. A., Masri, M. M., Rosamah, E., & Aditiawati, P. (2017). Preparation and Fundamental Characterization of Cellulose Nanocrystal from Oil Palm Fronds Biomass. *Journal of Polymers and the Environment*, 25(3), 692-700.
- Duran Riveros, D., Cabezas Calderon, J., Saavedra Sanabria, O., Hernandez Celi, I., Blanco-Tirado, C., & Combariza, M. (2019). *Evaluación del mucílago de cacao como fuente de carbono para producción de celulosa bacteriana*. Universidad Industrial de Santander.
- El Shafie, A., Fouda, M. M. G., & Hashem, M. (2009). One-step process for bio-scouring and peracetic acid bleaching of cotton fabric. *Carbohydrate Polymers*, 78(2), 302-308.
- Esa, F., Tasirin, S. M., & Rahman, N. A. (2014). Overview of Bacterial Cellulose Production and Application. *Agriculture and Agricultural Science Procedia*, 2, 113-119.

- Esmaeil, M. H. K., Talaeipour, M., Bazyar, B., Mirshokraei, S. A., & Eslam, H. K. (2019). Two-step Delignification of Peracetic Acid and Alkali from Sugar Cane Bagasse. *BioResources*, *14*(4), 9994-10003.
- Fackler, K., Stevanic, J. S., Ters, T., Hinterstoisser, B., Schwanninger, M., & Salmén, L. (2011). FT-IR imaging microscopy to localise and characterise simultaneous and selective white-rot decay within spruce wood cells. *Holzforschung*, *65*(3), 411-420.
- Fedecacao, F. N. de C. (2020). *Economía Nacional e Internacional*. Colombia Cacaotera. <http://www.fedecacao.com.co/portal/index.php/es/2015-04-23-20-00-33/colombia-cacaotera>
- Feng, Y., Zhang, X., Shen, Y., Yoshino, K., & Feng, W. (2012). A mechanically strong, flexible and conductive film based on bacterial cellulose/graphene nanocomposite. *Carbohydrate Polymers*, *87*(1), 644-649.
- Fitzgerald, G., DeJoannis, J., & Meunier, M. (2015). 1 - Multiscale modeling of nanomaterials: Recent developments and future prospects. En V. K. Tewary & Y. Zhang (Eds.), *Modeling, Characterization, and Production of Nanomaterials* (pp. 3-53). Woodhead Publishing.
- Fortunati, E., Luzi, F., Puglia, D., Petrucci, R., Kenny, J. M., & Torre, L. (2015). Processing of PLA nanocomposites with cellulose nanocrystals extracted from *Posidonia oceanica* waste: Innovative reuse of coastal plant. *Industrial Crops and Products*, *67*, 439-447.
- Fras, L., Johansson, L.-S., Stenius, P., Laine, J., Stana-Kleinschek, K., & Ribitsch, V. (2005). Analysis of the oxidation of cellulose fibres by titration and XPS. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, *260*(1), 101-108.
- French, A. D. (2014). Idealized powder diffraction patterns for cellulose polymorphs. *Cellulose*, *21*(2), 885-896.

- Frone, A. N., Panaitescu, D. M., Chiulan, I., Nicolae, C. A., Casarica, A., Gabor, A. R., Trusca, R., Damian, C. M., Purcar, V., Alexandrescu, E., & Stanescu, P. O. (2018). Surface Treatment of Bacterial Cellulose in Mild, Eco-Friendly Conditions. *Coatings*, 8(6), 221.
- Fujisawa, S., Okita, Y., Fukuzumi, H., Saito, T., & Isogai, A. (2011). Preparation and characterization of TEMPO-oxidized cellulose nanofibril films with free carboxyl groups. *Carbohydrate Polymers*, 84(1), 579-583.
- Fukuzumi, H., Saito, T., Okita, Y., & Isogai, A. (2010). Thermal stabilization of TEMPO-oxidized cellulose. *Polymer Degradation and Stability*, 95(9), 1502-1508.
- Gallegos, A. M. A., Carrera, S. H., Parra, R., Keshavarz, T., & Iqbal, H. M. N. (2016). Bacterial Cellulose: A Sustainable Source to Develop Value-Added Products – A Review. *BioResources*, 11(2), 5641-5655.
- Gama, M., Gatenholm, P., & Klemm, D. (2012). *Bacterial NanoCellulose: A Sophisticated Multifunctional Material*. CRC Press.
- Gao, T. (2007). Evaluation of hair humidity resistance/moisturization from hair elasticity. *Journal of Cosmetic Science*, 58(4), 393-404.
- Garcia Villamizar, C. P. (2015). *Obtencion Por Hidrolisis Acida Y Caracterizacion De Nanofibras De Celulosa A Partir Del Bagazo Y La Estopa De Fique*. [PhD Thesis]. Universidad Industrial de Santander, Escuela De Quimica.
- Garibay, M. G., Ramírez, R. Q., & Canales, A. L.-M. (2004). *Biotecnología alimetaria*. Editorial Limusa.
- Gauche, C., & Felisberti, M. I. (2019). Colloidal Behavior of Cellulose Nanocrystals Grafted with Poly(2-alkyl-2-oxazoline)s. *ACS Omega*, 4(7), 11893-11905.

- Gea, S. (2011). *Innovative bio-nanocomposites based on bacterial cellulose* [Ph.D., Queen Mary, University of London]. <http://qmro.qmul.ac.uk/xmlui/handle/123456789/2343>
- Gehmayr, V., Potthast, A., & Sixta, H. (2012). Reactivity of dissolving pulps modified by TEMPO-mediated oxidation. *Cellulose*, *19*(4), 1125-1134.
- Ghaderi, M., Mousavi, M., Yousefi, H., & Labbafi, M. (2014). All-cellulose nanocomposite film made from bagasse cellulose nanofibers for food packaging application. *Carbohydrate Polymers*, *104*, 59-65.
- Gilbert, L., Picard, C., Savary, G., & Grisel, M. (2013). Rheological and textural characterization of cosmetic emulsions containing natural and synthetic polymers: Relationships between both data. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, *421*, 150-163.
- Gómez, F., Combariza, M., & Blanco-Tirado, C. (2017). Facile cellulose nanofibrils amidation using a 'one-pot' approach. *Cellulose*, *24*(2), 717-730.
- Gómez-Jaimes, F. N., Blanco-Tirado, C., & Combariza, M. Y. (2020). Amidated Cellulose Nanofibrils as Demulsifying Agents for a Natural Water-in-Heavy-Crude-Oil Emulsion. *Energy & Fuels*, *34*(11), 14012-14022.
- Greaves, A., Baghdadli, N., Baril, B., & Bildstein, L. (2019). *Process for treating keratin fibers using a monosaccharide with amine group, a polysaccharide with amine group and a step of heat treatment* (World Intellectual Property Organization Patent N.º WO2019043032A1).
<https://patents.google.com/patent/WO2019043032A1/en?q=WO2019043032A1>
- Griffin, W. C. (1949). Classification of surface-active agents by "HLB". *J. Soc. Cosmet. Chem.*, *1*, 311-326.

- Gurunathan, T., Mohanty, S., & Nayak, S. K. (2015). A review of the recent developments in biocomposites based on natural fibres and their application perspectives. *Composites Part A: Applied Science and Manufacturing*, 77, 1-25.
- Habibi, Y., Chanzy, H., & Vignon, M. R. (2006). TEMPO-mediated surface oxidation of cellulose whiskers. *Cellulose*, 13(6), 679-687.
- Han, D., & Yan, L. (2010). Preparation of all-cellulose composite by selective dissolving of cellulose surface in PEG/NaOH aqueous solution. *Carbohydrate Polymers*, 79(3), 614-619.
- Han, J., Zhou, C., Wu, Y., Liu, F., & Wu, Q. (2013). Self-Assembling Behavior of Cellulose Nanoparticles during Freeze-Drying: Effect of Suspension Concentration, Particle Size, Crystal Structure, and Surface Charge. *Biomacromolecules*, 14(5), 1529-1540.
- Heiner, A. P., Sugiyama, J., & Teleman, O. (1995). Crystalline cellulose I α and I β studied by molecular dynamics simulation. *Carbohydrate Research*, 273(2), 207-223.
- Hemraz, U. D., Boluk, Y., & Sunasee, R. (2013). Amine-decorated nanocrystalline cellulose surfaces: Synthesis, characterization, and surface properties. *Canadian Journal of Chemistry*, 91(10), 974-981.
- Hendrickson, D. N., Hollander, J. M., & Jolly, W. L. (1969). Nitrogen 1s electron binding energies. Correlations with molecular orbital calculated nitrogen charges. *Inorganic Chemistry*, 8(12), 2642-2647.
- Hicks, T., Verbeek, C., Lay, M., & Manley-Harris, M. (2015). Changes to amino acid composition of bloodmeal after chemical oxidation. *RSC advances*, 5(81), 66451-66463.

- Hou, C., Wu, Y., Wang, T., Wang, X., & Gao, X. (2019). Preparation of Quaternized Bamboo Cellulose and Its Implication in Direct Air Capture of CO₂. *Energy & Fuels*, 33(3), 1745-1752.
- Hsieh, C.-T., Tzou, D.-Y., Hsieh, K.-Y., & Yin, K.-M. (2017). Photoluminescence from amino functionalized graphene quantum dots prepared by electrochemical exfoliation method in the presence of ammonium ions. *RSC Advances*, 7(30), 18340-18346.
- Huang, C., Ji, H., Yang, Y., Guo, B., Luo, L., Meng, Z., Fan, L., & Xu, J. (2020). TEMPO-oxidized bacterial cellulose nanofiber membranes as high-performance separators for lithium-ion batteries. *Carbohydrate Polymers*, 230, 115570.
- Huang, X., Dognani, G., Hadi, P., Yang, M., Job, A. E., & Hsiao, B. S. (2020). Cationic Dialdehyde Nanocellulose from Sugarcane Bagasse for Efficient Chromium(VI) Removal. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*, 8(12), 4734-4744.
- Hubbard, W., Biles, L., Mayfield, C., & Ashton, S. (2007). Sustainable forestry for bioenergy and bio-based products: Trainers curriculum notebook. Southern Forest Research Partnership. *Inc., Athens, Georgia.*
- Imai, T., & Sugiyama, J. (1998). Nanodomains of I α and I β Cellulose in Algal Microfibrils. *Macromolecules*, 31(18), 6275-6279.
- Isogai, A., Hänninen, T., Fujisawa, S., & Saito, T. (2018). Review: Catalytic oxidation of cellulose with nitroxyl radicals under aqueous conditions. *Progress in Polymer Science*, 86, 122-148.
- Isogai, A., Saito, T., & Fukuzumi, H. (2011). TEMPO-oxidized cellulose nanofibers. *Nanoscale*, 3(1), 71-85.

- Jääskeläinen, A.-S., Tapanila, T., & Poppius-Levlin, K. (2000). Carbohydrate Reactions in Peroxyacetic Acid Bleaching. *Journal of Wood Chemistry and Technology*, 20(1), 43-59.
- Jaramillo, R., Perna, O., Revollo, A. B., Arrieta, C., & Escamilla, E. (2013). Efecto De Diferentes Concentraciones De Fructosa Sobre La Producción De Celulosa Bacteriana En Cultivo Estático. *Revista Colombiana de Ciencia Animal - RECIA*, 5(1), 116-130.
- Jaschinski, T., Gunnars, S., Besemer, A. C., Bragd, P., Jetten, J. M., Dool, R. V. D., & Hartingsveldt, W. V. (2004). *Oxidized cellulose-containing fibrous materials and products made therefrom* (United States Patent N.º US6824645B2). <https://patents.google.com/patent/US6824645B2/en>
- Jia, Y., Zheng, M., Xu, Q., & Zhong, C. (2019). Rheological behaviors of Pickering emulsions stabilized by TEMPO-oxidized bacterial cellulose. *Carbohydrate Polymers*, 215, 263-271.
- Jiang, F., & Hsieh, Y.-L. (2015). Cellulose nanocrystal isolation from tomato peels and assembled nanofibers. *Carbohydrate Polymers*, 122, 60-68.
- Jiang, L., Zhang, J., Wang, H. H., Zhang, L., & He, K. (2018). The impact of psychological factors on farmers' intentions to reuse agricultural biomass waste for carbon emission abatement. *Journal of Cleaner Production*, 189, 797-804.
- Jiang, Z., Chen, D., Yu, Y., Miao, J., Liu, Y., & Zhang, L. (2017). Composite fibers prepared from multi-walled carbon nanotubes/cellulose dispersed/dissolved in ammonium/dimethyl sulfoxide mixed solvent. *RSC Advances*, 7(4), 2186-2192.
- Kafle, K., Shin, H., Lee, C. M., Park, S., & Kim, S. H. (2015). Progressive structural changes of Avicel, bleached softwood and bacterial cellulose during enzymatic hydrolysis. *Scientific Reports*, 5(1), 15102.

- Kassim, N. A., Mohamed, A. Z., Zainudin, E. S., Zakaria, S., Azman, S. K. Z., & Abdullah, H. H. (2019). Isolation and Characterization of Macerated Cellulose from Pineapple Leaf. *BioResources*, *14*(1), 1198-1209.
- Keller, W., & Kischka, K.-H. (2003). *Clear, two-phase, foam-forming aerosol hair care product* (United States Patent N.º US6589509B2). <https://patents.google.com/patent/US6589509B2/en?q=6%2c589%2c509>
- Kerkaert, B., Mestdagh, F., Cucu, T., Aedo, P. R., Ling, S. Y., & De Meulenaer, B. (2011). Hypochlorous and Peracetic Acid Induced Oxidation of Dairy Proteins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *59*(3), 907-914.
- Kim, U.-J., Eom, S. H., & Wada, M. (2010). Thermal decomposition of native cellulose: Influence on crystallite size. *Polymer Degradation and Stability*, *95*(5), 778-781.
- Kingkaew, J., Kirdponpattara, S., Sanchavanakit, N., Pavasant, P., & Phisalaphong, M. (2014). Effect of molecular weight of chitosan on antimicrobial properties and tissue compatibility of chitosan-impregnated bacterial cellulose films. *Biotechnology and Bioprocess Engineering*, *19*(3), 534-544.
- Kitis, M. (2004). Disinfection of wastewater with peracetic acid: A review. *Environment International*, *30*(1), 47-55.
- Klemm, D., Schumann, D., Udhardt, U., & Marsch, S. (2001). Bacterial synthesized cellulose—Artificial blood vessels for microsurgery. *Progress in Polymer Science*, *26*(9), 1561-1603.
- Klemm, D., Heublein, B., Fink, H.-P., & Bohn, A. (2005). Cellulose: Fascinating Biopolymer and Sustainable Raw Material. *Angewandte Chemie International Edition*, *44*(22), 3358-3393.

- Klemm, D., Schumann, D., Kramer, F., Heßler, N., Hornung, M., Schmauder, H.-P., & Marsch, S. (2006). Nanocelluloses as Innovative Polymers in Research and Application. En D. Klemm (Ed.), *Polysaccharides II* (pp. 49-96). Springer.
- Kong, J., & Yu, S. (2007). Fourier Transform Infrared Spectroscopic Analysis of Protein Secondary Structures. *Acta Biochimica et Biophysica Sinica*, 39(8), 549-559.
- Krause, W. J. (2005). *Krause's Essential Human Histology for Medical Students*. Universal-Publishers.
- Križman, P., Kovač, F., & Tavčer, P. F. (2005). Bleaching of cotton fabric with peracetic acid in the presence of different activators. *Coloration Technology*, 121(6), 304-309.
- Krzysik, D., & Griffiths, R. (2019). *Hair care compositions and methods* (World Intellectual Property Organization Patent N.º WO2019060089A1). <https://patents.google.com/patent/WO2019060089A1/en?q=WO+2019%2f060089+A1>
- Kurschner, L. M., & Diken, G. M. (1997). *Use of peracetic acid to sanitize processed fowl* (United States Patent N.º US5632676A). <https://patents.google.com/patent/US5632676A/en>
- Kuznetsova, S., Danilov, V., Kuznetsov, B., Yatsenkova, O., Alexandrova, N., Shambasov, V., & Pavlenko, N. (2003). Environmentally friendly catalytic production of cellulose by abies wood delignification in «acetic acid–hydrogen peroxide–water» media. *Chemistry for Sustainable Development*, 11, 141–147.
- Lai, C., Sheng, L., Liao, S., Xi, T., & Zhang, Z. (2013). Surface characterization of TEMPO-oxidized bacterial cellulose. *Surface and Interface Analysis*, 45(11-12), 1673-1679.
- Lasseguette, E. (2008). Grafting onto microfibrils of native cellulose. *Cellulose*, 15(4), 571-580.

- Li, J., Wan, Y., Li, L., Liang, H., & Wang, J. (2009). Preparation and characterization of 2,3-dialdehyde bacterial cellulose for potential biodegradable tissue engineering scaffolds. *Materials Science and Engineering: C*, 29(5), 1635-1642.
- Lin, S.-P., Loira Calvar, I., Catchmark, J. M., Liu, J.-R., Demirci, A., & Cheng, K.-C. (2013). Biosynthesis, production and applications of bacterial cellulose. *Cellulose*, 20(5), 2191-2219.
- Lin, W.-C., Lien, C.-C., Yeh, H.-J., Yu, C.-M., & Hsu, S. (2013). Bacterial cellulose and bacterial cellulose–chitosan membranes for wound dressing applications. *Carbohydrate Polymers*, 94(1), 603-611.
- Liu, Y., Zhang, Y., & Wang, J. (2014). Mesocrystals as a class of multifunctional materials. *CrystEngComm*, 16(27), 5948-5967.
- Lopez-Ojeda, W., Pandey, A., Alhajj, M., & Oakley, A. M. (2020). Anatomy, Skin (Integument). *En StatPearls*. StatPearls Publishing. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK441980/>
- Luo, H., Xiong, G., Hu, D., Ren, K., Yao, F., Zhu, Y., Gao, C., & Wan, Y. (2013). Characterization of TEMPO-oxidized bacterial cellulose scaffolds for tissue engineering applications. *Materials Chemistry and Physics*, 143(1), 373-379.
- Lv, P., Zhou, H., Zhao, M., Li, D., Lu, K., Wang, D., Huang, J., Cai, Y., Lucia, L. A., & Wei, Q. (2018). Highly flexible, transparent, and conductive silver nanowire-attached bacterial cellulose conductors. *Cellulose*, 25(6), 3189-3196.
- Ly, B., Thielemans, W., Dufresne, A., Chaussy, D., & Belgacem, M. N. (2008). Surface functionalization of cellulose fibres and their incorporation in renewable polymeric matrices. *Composites Science and Technology*, 68(15), 3193-3201.

- Malchesky, P. S. (1993). Peracetic Acid and Its Application to Medical Instrument Sterilization. *Artificial Organs*, 17(3), 147-152.
- Mansour, O. Y., Nagaty, A., & El-Zawawy, W. K. (1994). Variables affecting the methylation reactions of cellulose. *Journal of Applied Polymer Science*, 54(5), 519-524.
- Marsh, J. M., Punyani, S., Jones, S. D., & Vatter, M. L. (2015). *Composition for hair frizz reduction* (United States Patent N.º US20150359716A1). <https://patents.google.com/patent/US20150359716A1/en?q=US+2015%2f0359716+A1>
- Martins, A., Vieira, H., Gaspar, H., & Santos, S. (2014). Marketed Marine Natural Products in the Pharmaceutical and Cosmeceutical Industries: Tips for Success. *Marine Drugs*, 12(2), 1066-1101.
- Matthews, J. F., Himmel, M. E., & Crowley, M. F. (2012). Conversion of cellulose I α to I β via a high temperature intermediate (I-HT) and other cellulose phase transformations. *Cellulose*, 19(1), 297-306.
- Matusiak, J., & Grządka, E. (2017). Stability of colloidal systems—A review of the stability measurements methods. *Annales Universitatis Mariae Curie-Sklodowska, Sectio AA – Chemia*, 72(1), 33.
- McKittrick, J., Chen, P.-Y., Bodde, S. G., Yang, W., Novitskaya, E. E., & Meyers, M. A. (2012). The Structure, Functions, and Mechanical Properties of Keratin. *JOM*, 64(4), 449-468.
- Miller, R. (2016). Emulsifiers: Types and Uses. En B. Caballero, P. M. Finglas, & F. Toldrá (Eds.), *Encyclopedia of Food and Health* (pp. 498-502). Academic Press.
- Mitsui, T. (1997). *New Cosmetic Science*. Elsevier.
- Morantes, D., Muñoz, E., Kam, D., & Shoseyov, O. (2019). Highly Charged Cellulose Nanocrystals Applied as A Water Treatment Flocculant. *Nanomaterials*, 9(2), 272.

- Motghare, K. A., Rathod, A. P., Wasewar, K. L., & Labhsetwar, N. K. (2016). Comparative study of different waste biomass for energy application. *Waste Management*, *47*, 40-45.
- Nada, A.-A. M. A., Ibrahim, A. A., Fahmy, Y., & Abo-Yousef, H. E. (1999). Peroxyacetic Acid Pulping of Bagasse and Characterization of the Lignin and Pulp. *JSIR Vol.58(08) [August 1999]*.
- Ng, N., & Rogers, M. A. (2019). Surfactants. En L. Melton, F. Shahidi, & P. Varelis (Eds.), *Encyclopedia of Food Chemistry* (pp. 276-282). Academic Press.
- Nguyen, N. V., Hashimoto, S., & Cannell, D. W. (2008). *Aqueous polyamine-containing anti-frizz composition for hair* (United States Patent N.º US20080085253A1). <https://patents.google.com/patent/US20080085253A1/en?q=US20080085253A1>
- Nguyen, N. V., SINGER, J., Zhou, X., Haghpanah, J., & Shaw, C. (2020). *Cosmetic compositions containing oxazoline functionalized polymers and amino silicone compounds* (United States Patent N.º US20200069556A1). <https://patents.google.com/patent/US20200069556A1/en?q=US20200069556A1>
- Nichifor, M., Stanciu, M. C., & Simionescu, B. C. (2010). New cationic hydrophilic and amphiphilic polysaccharides synthesized by one pot procedure. *Carbohydrate Polymers*, *82*(3), 965–975.
- Okita, Y., Saito, T., & Isogai, A. (2010). Entire Surface Oxidation of Various Cellulose Microfibrils by TEMPO-Mediated Oxidation. *Biomacromolecules*, *11*(6), 1696-1700.
- Ougiya, H., Watanabe, K., Morinaga, Y., & Yoshinaga, F. (1997). Emulsion-stabilizing Effect of Bacterial Cellulose. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, *61*(9), 1541-1545.
- Ovalle Serrano, S. A. (2018). *Desarrollo De Materiales Avanzados A Partir De Nanocelulosa De Figue*. [PhD Thesis]. Universidad Industrial de Santander, Escuela De Quimica.

- Ovalle-Serrano, S. A., Díaz-Serrano, L. A., Hong, C., Hinestroza, J. P., Blanco-Tirado, C., & Combariza, M. Y. (2020). Synthesis of cellulose nanofiber hydrogels from fique tow and Ag nanoparticles. *Cellulose*.
- Ovalle-Serrano, S. A., Gómez, F. N., Blanco-Tirado, C., & Combariza, M. Y. (2018). Isolation and characterization of cellulose nanofibrils from Colombian Fique decortication by-products. *Carbohydrate Polymers*, *189*, 169-177.
- Pandey, M., Mohamad, N., & Amin, M. C. I. M. (2014). Bacterial Cellulose/Acrylamide pH-Sensitive Smart Hydrogel: Development, Characterization, and Toxicity Studies in ICR Mice Model. *Molecular Pharmaceutics*, *11*(10), 3596-3608.
- Panico, A., Serio, F., Bagordo, F., Grassi, T., Idolo, A., De Giorgi, M., Guido, M., Congedo, M., & De Donno, A. (2019). Skin safety and health prevention: An overview of chemicals in cosmetic products. *Journal of Preventive Medicine and Hygiene*, *60*(1), E50-E57.
- Paschoal, G. B., Muller, C. M. O., Carvalho, G. M., Tischer, C. A., Mali, S., Paschoal, G. B., Muller, C. M. O., Carvalho, G. M., Tischer, C. A., & Mali, S. (2015). Isolation and characterization of nanofibrillated cellulose from oat hulls. *Química Nova*, *38*(4), 478-482.
- Pasquali, R. C., & Bregni, C. (2006). Balance hidrofílico-lipofílico (HLB) del colesterol y sus aplicaciones en emulsiones del tipo aceite en agua. *Acta Farmaceutica Bonaerense*, *25*(2), 239.
- Pecoraro, É., Manzani, D., Messaddeq, Y., & Ribeiro, S. J. L. (2007). Chapter 17 - Bacterial Cellulose from *Glucanacetobacter xylinus*: Preparation, Properties and Applications. En M. N. Belgacem & A. Gandini (Eds.), *Monomers, Polymers and Composites from Renewable Resources* (pp. 369-383). Elsevier.

- Pertile, R. A. N., Andrade, F. K., Alves, C., & Gama, M. (2010). Surface modification of bacterial cellulose by nitrogen-containing plasma for improved interaction with cells. *Carbohydrate Polymers*, 82(3), 692-698.
- Petersen, N., & Gatenholm, P. (2011). Bacterial cellulose-based materials and medical devices: Current state and perspectives. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 91(5), 1277-1286.
- Picheth, G. F., Pirich, C. L., Sierakowski, M. R., Woehl, M. A., Sakakibara, C. N., Souza, C. F. de, Martin, A. A., Silva, R. da, & Freitas, R. A. de. (2017). Bacterial cellulose in biomedical applications: A review. *International Journal of Biological Macromolecules*, 104, 97-106.
- Pigorsch, E. (2009). Spectroscopic Characterisation of Cationic Quaternary Ammonium Starches. *Starch - Stärke*, 61(3-4), 129-138.
- Pinho, E., & Soares, G. (2018). Functionalization of cotton cellulose for improved wound healing. *J. Mater. Chem. B*, 6(13), 1887-1898.
- Potthast, A., Kostic, M., Schiehser, S., Kosma, P., & Rosenau, T. (2007). Studies on oxidative modifications of cellulose in the periodate system: Molecular weight distribution and carbonyl group profiles. *Holzforschung*, 61(6), 662-667.
- Prabaharan, M., Nayar, R. C., & Rao, J. V. (2000). Process Optimization in Peracetic Acid Bleaching of Cotton. *Textile Research Journal*, 70(8), 657-661.
- Punyani, S., Marsh, J. M., Dunbar, J. C., Motley, C. B., Bartz, L. J., & Buckner, E. V. (2016). *Method for Hair Frizz Reduction* (United States Patent N.º US20160287494A1). <https://patents.google.com/patent/US20160287494A1/en?q=US20160287494A1>
- Qiu, K., & Netravali, A. N. (2014). A Review of Fabrication and Applications of Bacterial Cellulose Based Nanocomposites. *Polymer Reviews*, 54(4), 598-626.

- Ramírez Sulvarán, J. A., Sigarroa Rieche, A. K., & Del Valle Vargas, R. A. (2014). Characterization of Cocoa (*Theobroma cacao* L.) Farming Systems in the Norte de Santander Department and Assessment of Their Sustainability. *Revista Facultad Nacional de Agronomía Medellín*, 67(1), 7177-7187.
- Robbers, J. E., & Bhatia, V. N. (1961). Technique for the Rapid Determination of HLB and Required-HLB Values. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 50(8), 708-709.
- Romeo, T. (2008). *Bacterial Biofilms* (Vol. 322). Springer Science & Business Media.
- Romero, C., & Zambrano, A. (2012). Análisis de azúcares en pulpa de cacao por colorimetría y electroforesis capilar. *Revista Científica UDO Agrícola*, 12(4), 906-913.
- Rosilo, H., McKee, J. R., Kontturi, E., Koho, T., Hytönen, V. P., Ikkala, O., & Kostianen, M. A. (2014). Cationic polymer brush-modified cellulose nanocrystals for high-affinity virus binding. *Nanoscale*, 6(20), 11871-11881.
- Rouxhet, P. G., & Genet, M. J. (2011). XPS analysis of bio-organic systems. *Surface and Interface Analysis*, 43(12), 1453-1470.
- Ru, J., Tong, C., Chen, N., Shan, P., Zhao, X., Liu, X., Chen, J., Li, Q., Liu, X., Liu, H., & Zhao, Y. (2018). Morphological and property characteristics of surface-quaternized nanofibrillated cellulose derived from bamboo pulp. *Cellulose*.
- Rubio, M., Ramírez-Galicia, G., & López-Nava, L. J. (2005). Mechanism formation of peracids. *Journal of Molecular Structure: Theochem*, 726(1), 261-269.
- Rúnarsson, Ö. V., Holappa, J., Jónsdóttir, S., Steinsson, H., & Másson, M. (2008). N-selective 'one pot' synthesis of highly N-substituted trimethyl chitosan (TMC). *Carbohydrate Polymers*, 74(3), 740-744.

- Rúnarsson, Ö. V., Holappa, J., Nevalainen, T., Hjálmsdóttir, M., Järvinen, T., Loftsson, T., Einarsson, J. M., Jónsdóttir, S., Valdimarsdóttir, M., & Másson, M. (2007). Antibacterial activity of methylated chitosan and chitooligomer derivatives: Synthesis and structure activity relationships. *European Polymer Journal*, 43(6), 2660-2671.
- Russat, J. (1988). Characterization of polyamic acid/polyimide films in the nanometric thickness range from spin-deposited polyamic acid. *Surface and Interface Analysis*, 11(8), 414-420.
- Saavedra Sanabria, O., Hernandez Celi, I., & Combariza, M. (2019). *Evaluacion del exudado de mucilago de cacao como sustrato para la produccion de celulosa por fermentacion estatica de Gluconacetobacter Xylinus ATCC®23768TM*. Universidad Industrial de Santander.
- Saito, T., & Isogai, A. (2004). TEMPO-Mediated Oxidation of Native Cellulose. The Effect of Oxidation Conditions on Chemical and Crystal Structures of the Water-Insoluble Fractions. *Biomacromolecules*, 5(5), 1983-1989.
- Saito, T., Okita, Y., Nge, T. T., Sugiyama, J., & Isogai, A. (2006). TEMPO-mediated oxidation of native cellulose: Microscopic analysis of fibrous fractions in the oxidized products. *Carbohydrate Polymers*, 65(4), 435-440.
- Saito, Tsuguyuki, Hirota, M., Tamura, N., Kimura, S., Fukuzumi, H., Heux, L., & Isogai, A. (2009). Individualization of Nano-Sized Plant Cellulose Fibrils by Direct Surface Carboxylation Using TEMPO Catalyst under Neutral Conditions. *Biomacromolecules*, 10(7), 1992-1996.
- Sajomsang, W., Ruktanonchai, U. R., Gonil, P., & Warin, C. (2010). Quaternization of N-(3-pyridylmethyl) chitosan derivatives: Effects of the degree of quaternization, molecular weight and ratio of N-methylpyridinium and N,N,N-trimethyl ammonium moieties on bactericidal activity. *Carbohydrate Polymers*, 82(4), 1143-1152.

- Sajomsang, W., Tantayanon, S., Tangpasuthadol, V., & Daly, W. H. (2008). Synthesis of methylated chitosan containing aromatic moieties: Chemoselectivity and effect on molecular weight. *Carbohydrate Polymers*, 72(4), 740-750.
- Salajková, M., Berglund, L. A., & Zhou, Q. (2012). Hydrophobic cellulose nanocrystals modified with quaternary ammonium salts. *Journal of Materials Chemistry*, 22(37), 19798–19805.
- Salvatore, R. N., Yoon, C. H., & Jung, K. W. (2001). *Synthesis of secondary amines*. 27.
- Sarkar, S., & Pal, T. (2019). Chapter 2—Theoretical Aspects of Synthesis for Controlled Morphological Nanostructures. En S. Mohapatra, T. A. Nguyen, & P. Nguyen-Tri (Eds.), *Noble Metal-Metal Oxide Hybrid Nanoparticles* (pp. 7-50). Woodhead Publishing.
- Sarmiento Mendez, M. (2018). *Obtencion De Nuevos Materiales Captadores De Luz Basados En Nanocelulosa Bacteriana Para Sensibilizacion De Cultivos De Microalgas (Chlorella Vulgaris)*. [PhD Thesis]. Universidad Industrial de Santander, Escuela De Quimica.
- Sasaki, G. L., Gorin, P. A. J., Souza, L. M., Czelusniak, P. A., & Iacomini, M. (2005). Rapid synthesis of partially O-methylated alditol acetate standards for GC–MS: Some relative activities of hydroxyl groups of methyl glycopyranosides on Purdie methylation. *Carbohydrate Research*, 340(4), 731-739.
- Sato, H., Uraki, Y., Kishimoto, T., & Sano, Y. (2003). New process for producing cellulose acetate from wood in concentrated acetic acid. *Cellulose*, 10(4), 397-404.
- Schulze, P. D., Shaffer, S. L., Hance, R. L., & Utley, D. L. (1983). Adsorption of water on rhenium studied by XPS. *Journal of Vacuum Science & Technology A*, 1(1), 97-99.
- 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(10), 786-794.

- Sehaqui, H., Mautner, A., Perez de Larraya, U., Pfenninger, N., Tingaut, P., & Zimmermann, T. (2016). Cationic cellulose nanofibers from waste pulp residues and their nitrate, fluoride, sulphate and phosphate adsorption properties. *Carbohydrate Polymers*, *135*, 334-340.
- Shi, J., Xing, D., & Lia, J. (2012). FTIR Studies of the Changes in Wood Chemistry from Wood Forming Tissue under Inclined Treatment. *Energy Procedia*, *16*, 758-762.
- Singhsa, P., Narain, R., & Manuspiya, H. (2018). Physical structure variations of bacterial cellulose produced by different *Komagataeibacter xylinus* strains and carbon sources in static and agitated conditions. *Cellulose*, *25*(3), 1571-1581.
- Snyder, M. A., & Someya, K. (2006). *Hair conditioning composition comprising a frizz control agent* (European Union Patent N.º EP1286645B1). <https://patents.google.com/patent/EP1286645B1/de?q=EP1286645B>
- Sode, F. (2014). Simultaneous determination of peracetic acid and acetic acid by titration with NaOH. *Analytical Methods*, *6*(7), 2406-2409.
- Sonneville-Aubrun, O., Yukuyama, M. N., & Pizzino, A. (2018). Chapter 14—Application of Nanoemulsions in Cosmetics. En S. M. Jafari & D. J. McClements (Eds.), *Nanoemulsions* (pp. 435-475). Academic Press.
- Sun, Tomkinson, J., Zhu, W., & Wang, S. Q. (2000). Delignification of Maize Stems by Peroxymonosulfuric Acid, Peroxyformic Acid, Peracetic Acid, and Hydrogen Peroxide. 1. Physicochemical and Structural Characterization of the Solubilized Lignins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *48*(4), 1253-1262.
- Szymańska-Chargot, M., Cybulska, J., & Zdunek, A. (2011). Sensing the Structural Differences in Cellulose from Apple and Bacterial Cell Wall Materials by Raman and FT-IR Spectroscopy. *Sensors*, *11*(6), 5543-5560.

- Tahir, N., Bhatti, H. N., Iqbal, M., & Noreen, S. (2017). Biopolymers composites with peanut hull waste biomass and application for Crystal Violet adsorption. *International Journal of Biological Macromolecules*, 94, 210-220.
- Tahiri, C., & Vignon, M. R. (2000). TEMPO-oxidation of cellulose: Synthesis and characterisation of polyglucuronans. *Cellulose*, 7(2), 177-188.
- Tang, J., Sisler, J., Grishkewich, N., & Tam, K. C. (2017). Functionalization of cellulose nanocrystals for advanced applications. *Journal of Colloid and Interface Science*, 494, 397-409.
- Tang, Z., Li, W., Lin, X., Xiao, H., Miao, Q., Huang, L., Chen, L., & Wu, H. (2017). TEMPO-Oxidized Cellulose with High Degree of Oxidation. *Polymers*, 9(9), 421.
- Tonoli, G. H. D., Teixeira, E. M., Corrêa, A. C., Marconcini, J. M., Caixeta, L. A., Pereira-da-Silva, M. A., & Mattoso, L. H. C. (2012). Cellulose micro/nanofibres from Eucalyptus kraft pulp: Preparation and properties. *Carbohydrate Polymers*, 89(1), 80-88.
- Toshikj, E., Tarbuk, A., Grgić, K., Mangovska, B., & Jordanov, I. (2019). Influence of different oxidizing systems on cellulose oxidation level: Introduced groups versus degradation model. *Cellulose*, 26(2), 777-794. <https://doi.org/10.1007/s10570-018-2133-4>
- Tran, T. N., Paul, U., Heredia-Guerrero, J. A., Liakos, I., Marras, S., Scarpellini, A., Ayadi, F., Athanassiou, A., & Bayer, I. S. (2016). Transparent and flexible amorphous cellulose-acrylic hybrids. *Chemical Engineering Journal*, 287, 196-204.
- Turrado, J., Saucedo, A. R., Ramos, J., & Reynoso, M. L. (2008). Comportamiento de la Fibra de Celulosa Reciclada en el Proceso de Hidratación. *Información tecnológica*, 19(5), 129-136.
- Udoetok, I. A., Wilson, L. D., & Headley, J. V. (2016). Quaternized Cellulose Hydrogels as Sorbent Materials and Pickering Emulsion Stabilizing Agents. *Materials*, 9(8), 645.

- 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.
- Ullah, H., Santos, H. A., & Khan, T. (2016). Applications of bacterial cellulose in food, cosmetics and drug delivery. *Cellulose*, 23(4), 2291–2314.
- Uvarov, V., & Popov, I. (2007). Metrological characterization of X-ray diffraction methods for determination of crystallite size in nano-scale materials. *Materials Characterization*, 58(10), 883-891.
- Vasconcelos, N. F., Feitosa, J. P. A., da Gama, F. M. P., Morais, J. P. S., Andrade, F. K., de Souza Filho, M. de S. M., & Rosa, M. de F. (2017). Bacterial cellulose nanocrystals produced under different hydrolysis conditions: Properties and morphological features. *Carbohydrate Polymers*, 155, 425-431.
- Velasco, M. V. R., Dias, T. C. de S., Freitas, A. Z. de, Júnior, N. D. V., Pinto, C. A. S. de O., Kaneko, T. M., & Baby, A. R. (2009). Hair fiber characteristics and methods to evaluate hair physical and mechanical properties. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 45(1), 153-162.
- V. Ferreira, F., P. Souza, L., M. Martins, T. M., H. Lopes, J., D. Mattos, B., Mariano, M., F. Pinheiro, I., M. Valverde, T., Livi, S., A. Camilli, J., M. Goes, A., F. Gouveia, R., F. Lona, L. M., & J. Rojas, O. (2019). Nanocellulose/bioactive glass cryogels as scaffolds for bone regeneration. *Nanoscale*, 11(42), 19842-19849.
- Wada, M., Hori, R., Kim, U.-J., & Sasaki, S. (2010). X-ray diffraction study on the thermal expansion behavior of cellulose I β and its high-temperature phase. *Polymer Degradation and Stability*, 95(8), 1330-1334.

- Wang, J., Wan, Y., Ding, J., Wang, Z., Ma, J., Xie, P., & Wiesner, M. R. (2020). Thermal Activation of Peracetic Acid in Aquatic Solution: The Mechanism and Application to Degrade Sulfamethoxazole. *Environmental Science & Technology*, *54*(22), 14635-14645.
- Wen, X., Wang, H., Wei, Y., Wang, X., & Liu, C. (2017). Preparation and characterization of cellulose laurate ester by catalyzed transesterification. *Carbohydrate Polymers*, *168*, 247-254.
- Wicaksono, R., Syamsu, K., Yuliasih, I., Nasir, M., & Street, K. (2013). Cellulose nanofibers from cassava bagasse: Characterization and application on tapioca-film. *Cellulose*, *3*(13), 79–87.
- Wilkinson, J. B., & Moore, R. J. (1990). *Cosmetología de Harry*. Ediciones Díaz de Santos.
- Worley, C. M., Vannet, M. D., Ball, G. L., & Moddeman, W. E. (1987). Surface chemistry of a microcoated energetic material, pentaerythritoltetranitrate (PETN). *Surface and Interface Analysis*, *10*(6), 273-279.
- Wu, C.-N., & Cheng, K.-C. (2017). Strong, thermal-stable, flexible, and transparent films by self-assembled TEMPO-oxidized bacterial cellulose nanofibers. *Cellulose*, *24*(1), 269-283.
- Wu, C.-N., Fuh, S.-C., Lin, S.-P., Lin, Y.-Y., Chen, H.-Y., Liu, J.-M., & Cheng, K.-C. (2018). TEMPO-Oxidized Bacterial Cellulose Pellicle with Silver Nanoparticles for Wound Dressing. *Biomacromolecules*, *19*(2), 544-554.
- Wu, H., Williams, G. R., Wu, J., Wu, J., Niu, S., Li, H., Wang, H., & Zhu, L. (2018). Regenerated chitin fibers reinforced with bacterial cellulose nanocrystals as suture biomaterials. *Carbohydrate Polymers*, *180*, 304-313.

- Wu, Y., Zhang, Y., Chen, N., Dai, S., Jiang, H., & Wang, S. (2018). Effects of amine loading on the properties of cellulose nanofibrils aerogel and its CO₂ capturing performance. *Carbohydrate Polymers*, *194*, 252-259.
- Xu, Q., Xie, H., Zhang, E.-L., Ma, X., Chen, J., Yu, X.-C., & Li, H. (2016). Selective catalytic Hofmann N-alkylation of poor nucleophilic amines and amides with catalytic amounts of alkyl halides. *Green Chemistry*, *18*(14), 3940-3944.
- Yang, F.-C., Zhang, Y., & Rheinstädter, M. C. (2014). The structure of people's hair. *PeerJ*, *2*.
- Yang, J., Duan, J., Zhang, L., Lindman, B., Edlund, H., & Norgren, M. (2016). Spherical nanocomposite particles prepared from mixed cellulose–chitosan solutions. *Cellulose*, *23*(5), 3105-3115.
- Yang, X., Niu, X., Mo, Z., Guo, R., Liu, N., Zhao, P., & Liu, Z. (2019). Perylene-functionalized graphene sheets modified with chitosan for voltammetric discrimination of tryptophan enantiomers. *Microchimica Acta*, *186*(6), 333.
- Yao, Q., Fan, B., Xiong, Y., Jin, C., Sun, Q., & Sheng, C. (2017). 3D assembly based on 2D structure of Cellulose Nanofibril/Graphene Oxide Hybrid Aerogel for Adsorptive Removal of Antibiotics in Water. *Scientific Reports*, *7*(1), 45914.
- Yao, Q., Xiong, Y., Wang, H., Wang, C., & Sun, Q. (2017). MnO₂ nanoflakes/cellulose nanofibre aerogel fabricated via ultrasonication for high-performance water desalination. *Journal of Materials Chemistry A*, *5*(20), 9580-9590.
- Yoon, S. H., Jin, H.-J., Kook, M.-C., & Pyun, Y. R. (2006). Electrically Conductive Bacterial Cellulose by Incorporation of Carbon Nanotubes. *Biomacromolecules*, *7*(4), 1280-1284.

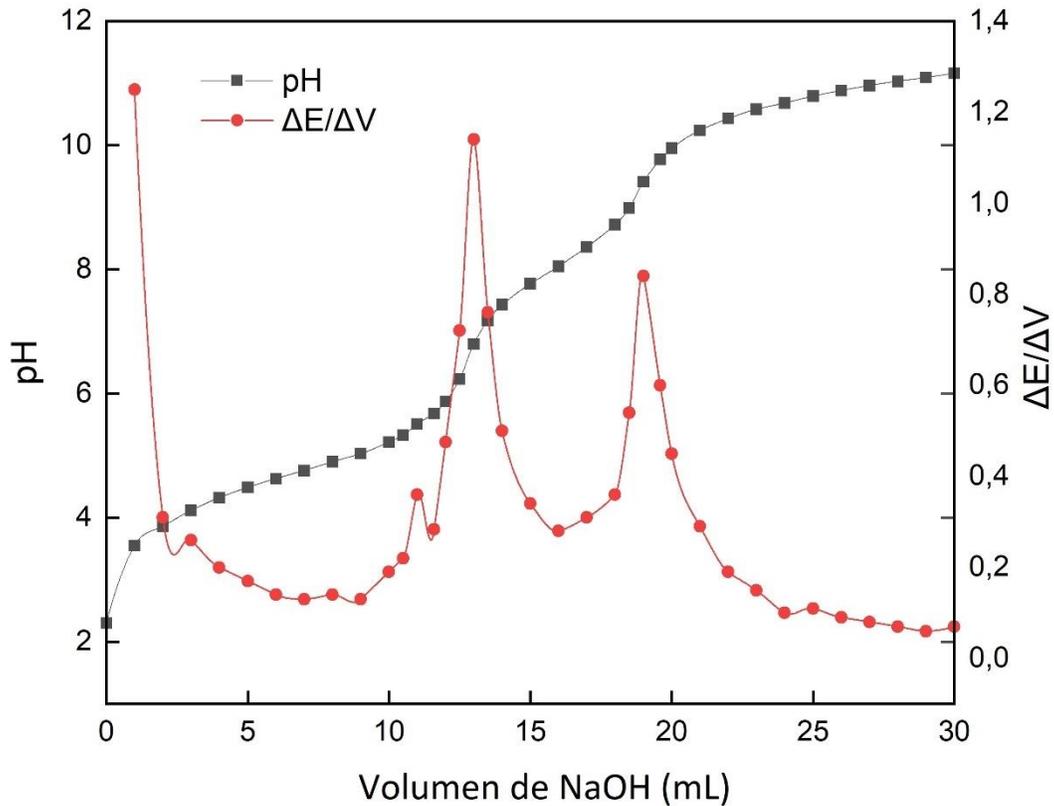
- Yuan, Z., Ni, Y., & Heiningen, A. R. P. V. (1997). Kinetics of peracetic acid decomposition: Part I: Spontaneous decomposition at typical pulp bleaching conditions. *The Canadian Journal of Chemical Engineering*, 75(1), 37-41.
- Zerong Wang. (2010). Irvine-Purdie Methylation. En *Comprehensive Organic Name Reactions and Reagents* (Vol. 49, pp. 1526-1529). American Cancer Society.
- Zervos, S. (2010). Natural and accelerated ageing of cellulose and paper: A literature review. *Cellulose: Structure and properties, derivatives and industrial uses*, 155–203.
- Zhang, D. (2013). *Physical, Morphological and Chemical Structure & Property Relationships for α -Keratins in Bleached Human Hair*. The University of Manchester (United Kingdom).
- Zhang, K., Zhou, X., Du, P., Zhang, T., Cai, M., Sun, P., & Huang, C.-H. (2017). Oxidation of β -lactam antibiotics by peracetic acid: Reaction kinetics, product and pathway evaluation. *Water Research*, 123, 153-161.
- Zhao, X., Heide, E. van der, Zhang, T., & Liu, D. (2010). Delignification of sugarcane bagasse with alkali and peracetic acid and characterization of the pulp. *BioResources*, 5(3), 1565-1580.
- Zhao, X., Zhang, T., Zhou, Y., & Liu, D. (2007). Preparation of peracetic acid from hydrogen peroxide: Part I: Kinetics for peracetic acid synthesis and hydrolysis. *Journal of Molecular Catalysis A: Chemical*, 271(1), 246-252.
- Zhu, G., Qiu, X., Zhao, Y., Qian, Y., Pang, Y., & Ouyang, X. (2016). Depolymerization of lignin by microwave-assisted methylation of benzylic alcohols. *Bioresource Technology*, 218, 718-722.

Zhu, X., Wen, Y., Cheng, D., Li, C., An, X., & Ni, Y. (2015). Cationic amphiphilic microfibrillated cellulose (MFC) for potential use for bile acid sorption. *Carbohydrate Polymers*, *132*, 598-605.

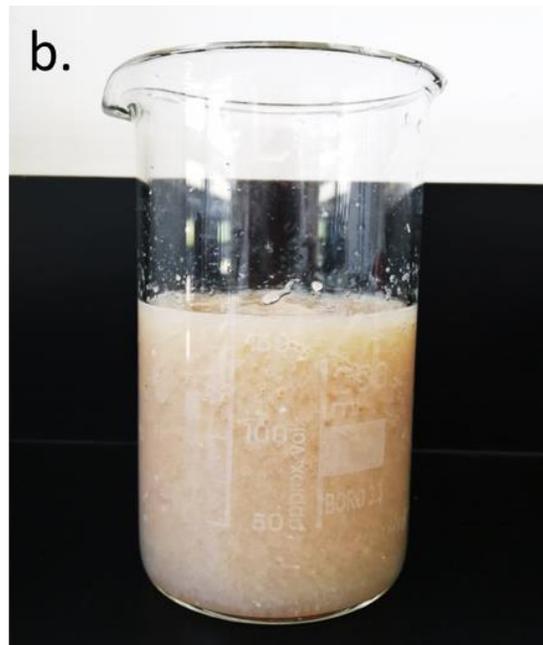
Apéndices

Apéndice A. Cuantificación potenciométrica

Curva de titulación potenciométrica para determinar la concentración de APA. Condiciones experimentales: Se preparó una solución acuosa de 40 mL usando 2 mL APA preparado. Posteriormente, se tituló la muestra con una solución de NaOH 0,5 M previamente elaborada.

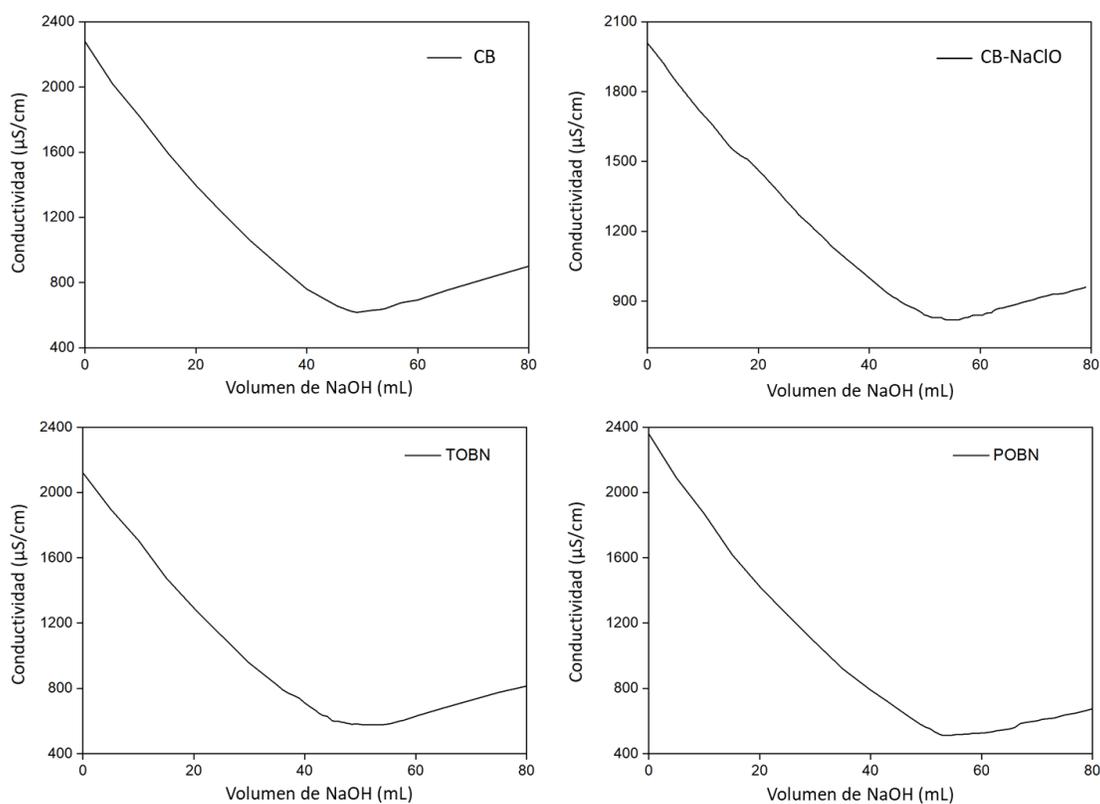


Apéndice B. Apariencia física de a) las películas de CB. b) CB en agua homogenizada a 11 000 rpm por 10 min.



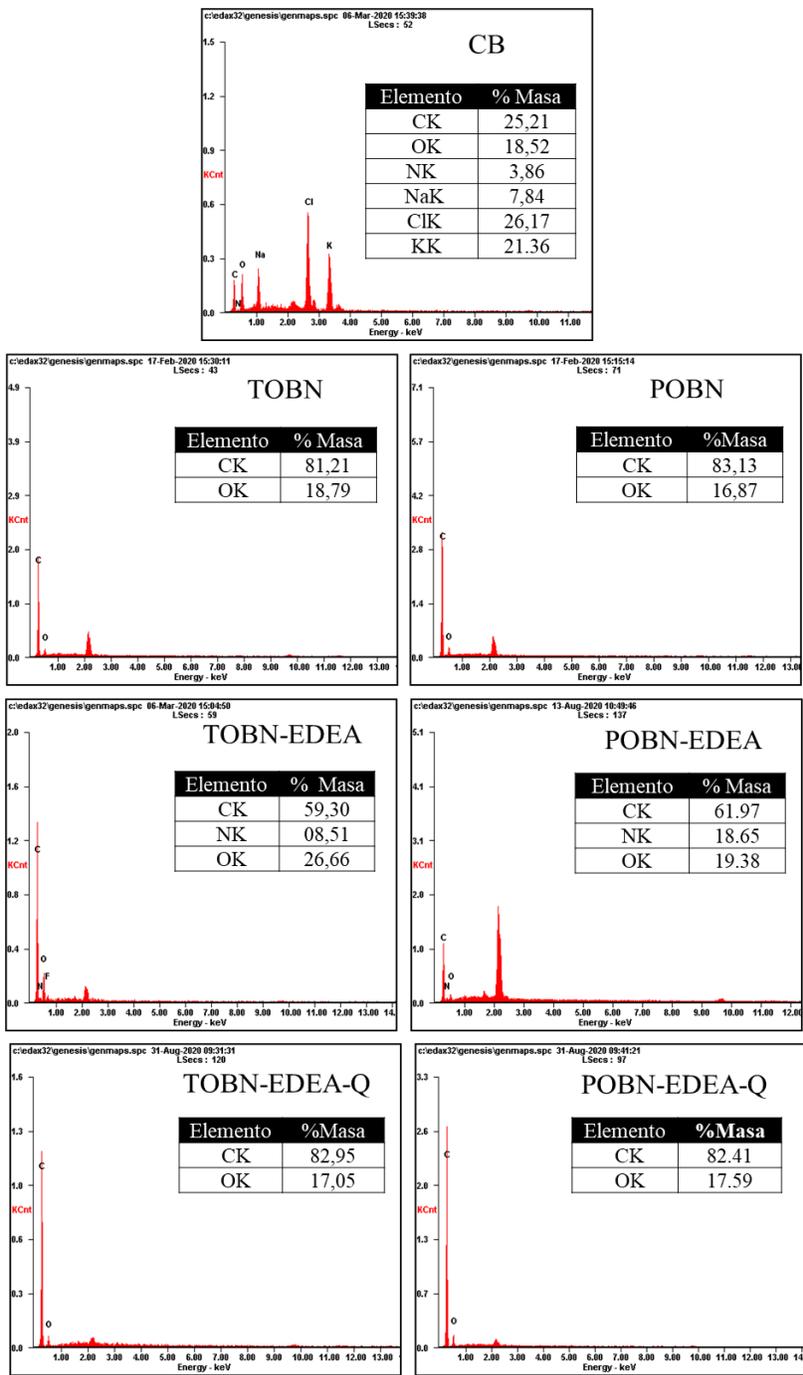
Apéndice C. Cuantificación conductimétrica

Curva de titulación conductimétrica para CB, CB limpiada con una solución de NaClO 0,05 M, TOBN y POBN usando como agente titulante NaOH 0,01 M. Condiciones experimentales: 50 mg de muestra de celulosa en suspensión y pH inicial ≤ 2 .



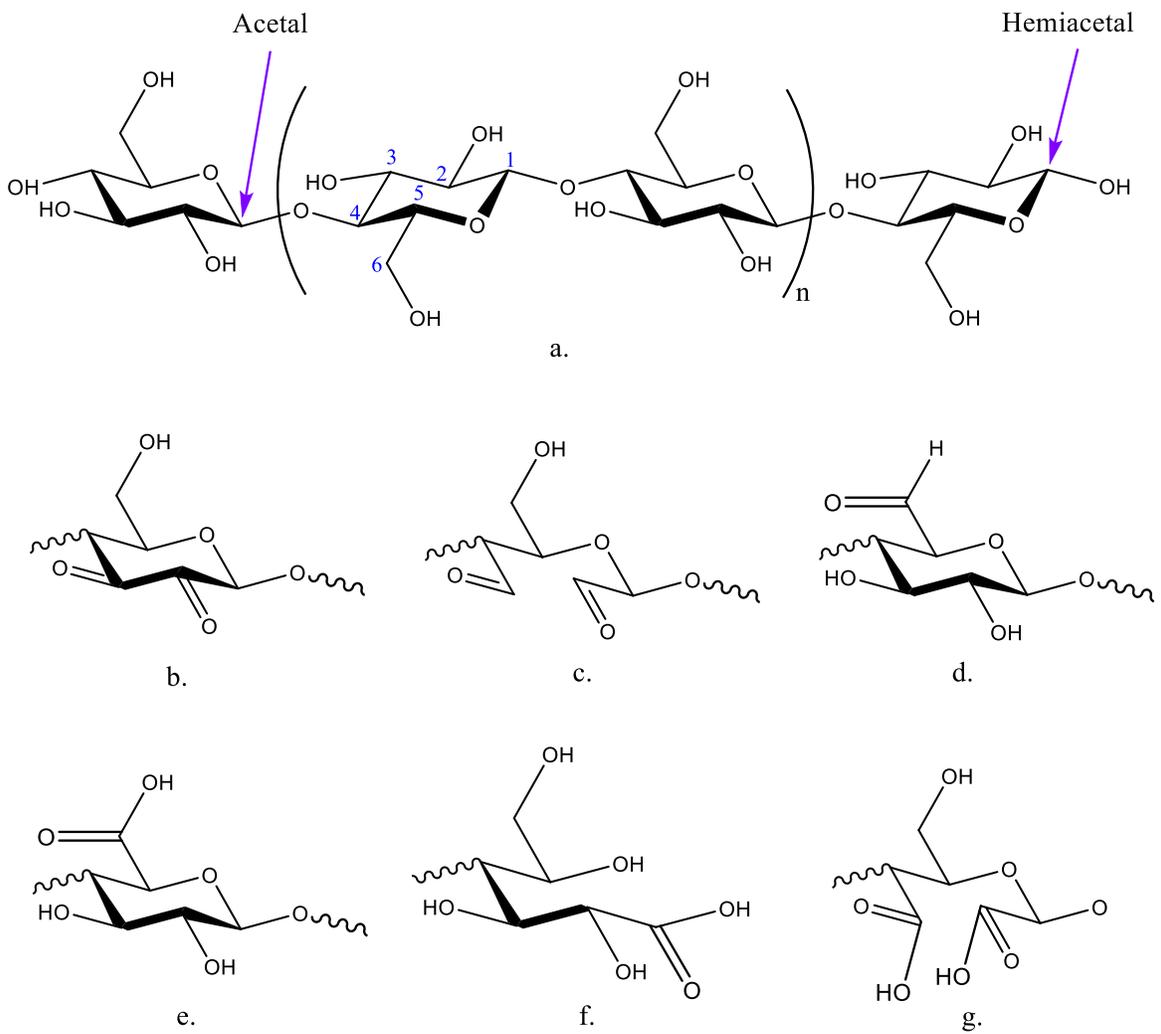
Apéndice D. Espectros EDS

Composición elemental (SEM-EDS) de CB, TOBN, POBN, TOBN-EDEA, POBN-EDEA, TOBN-EDEA-Q y POBN-EDEA-Q.

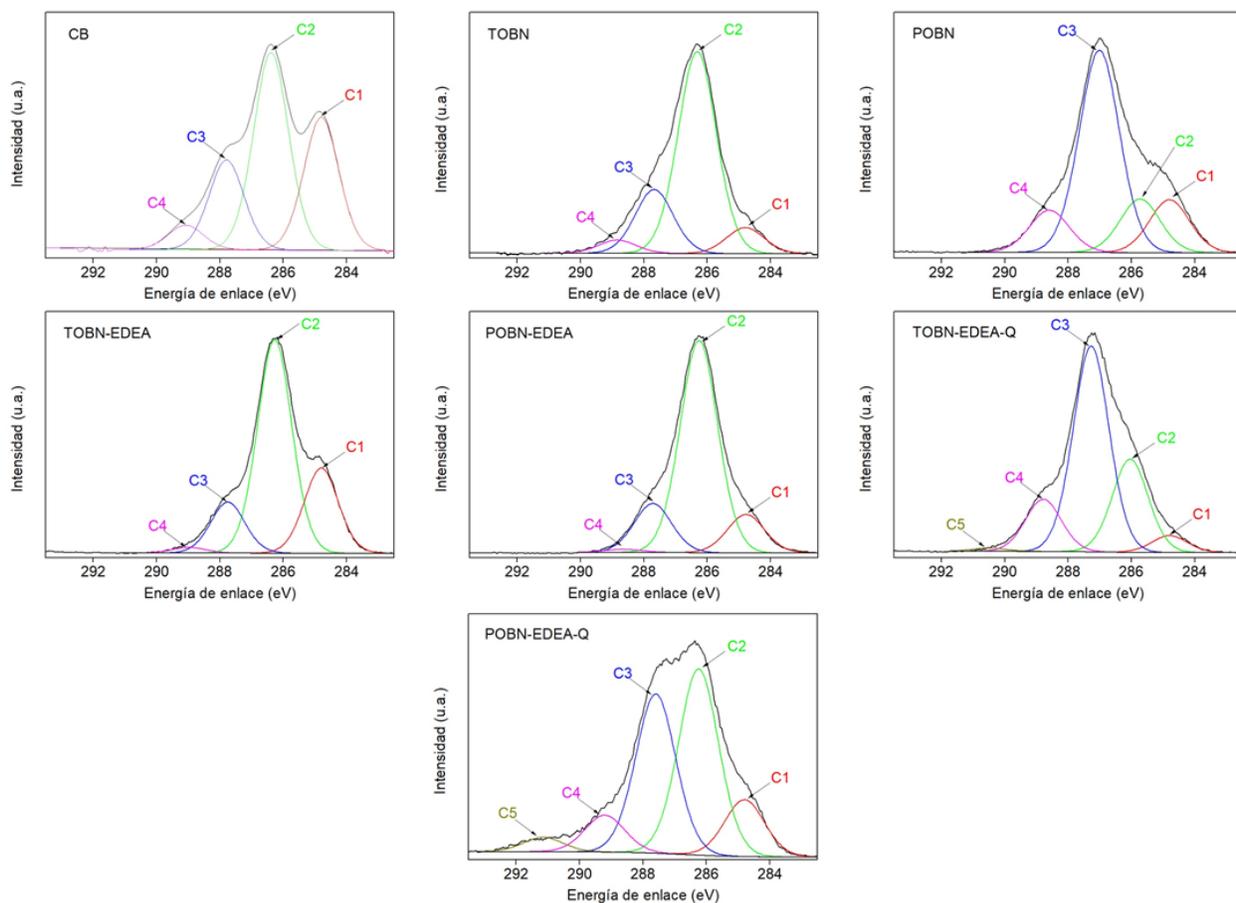


Apéndice E. Estructura química de a) CB. b-e) Representación de los cambios estructurales sufridos durante la oxidación.

Los grupos hidroxilo en C2, C3 y C6 fueron sustituidos por b) Cetonas en C2 y C3, c) aldehídos en C2 y C3, d) aldehído en C6, e) ácido carboxílico en C6, f) ácido carboxílico en C1 y g) ácidos en C2 y C3.

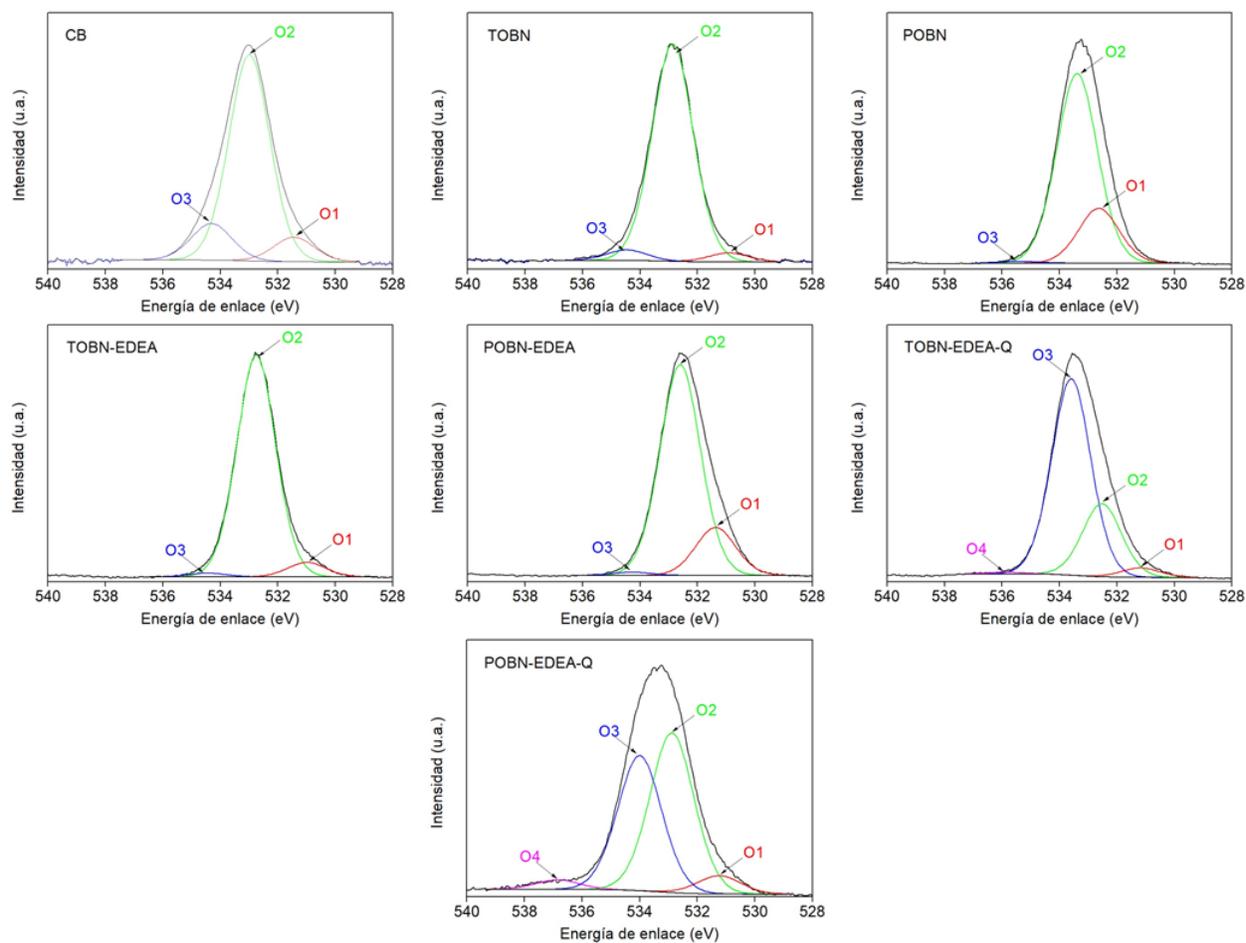


Apéndice F. Espectros XPS deconvolucionados de C1s para CB, TOBN, POBN, TOBN-EDEA, POBN-EDEA, TOBN-EDEA-Q y POBN-EDEA-Q.



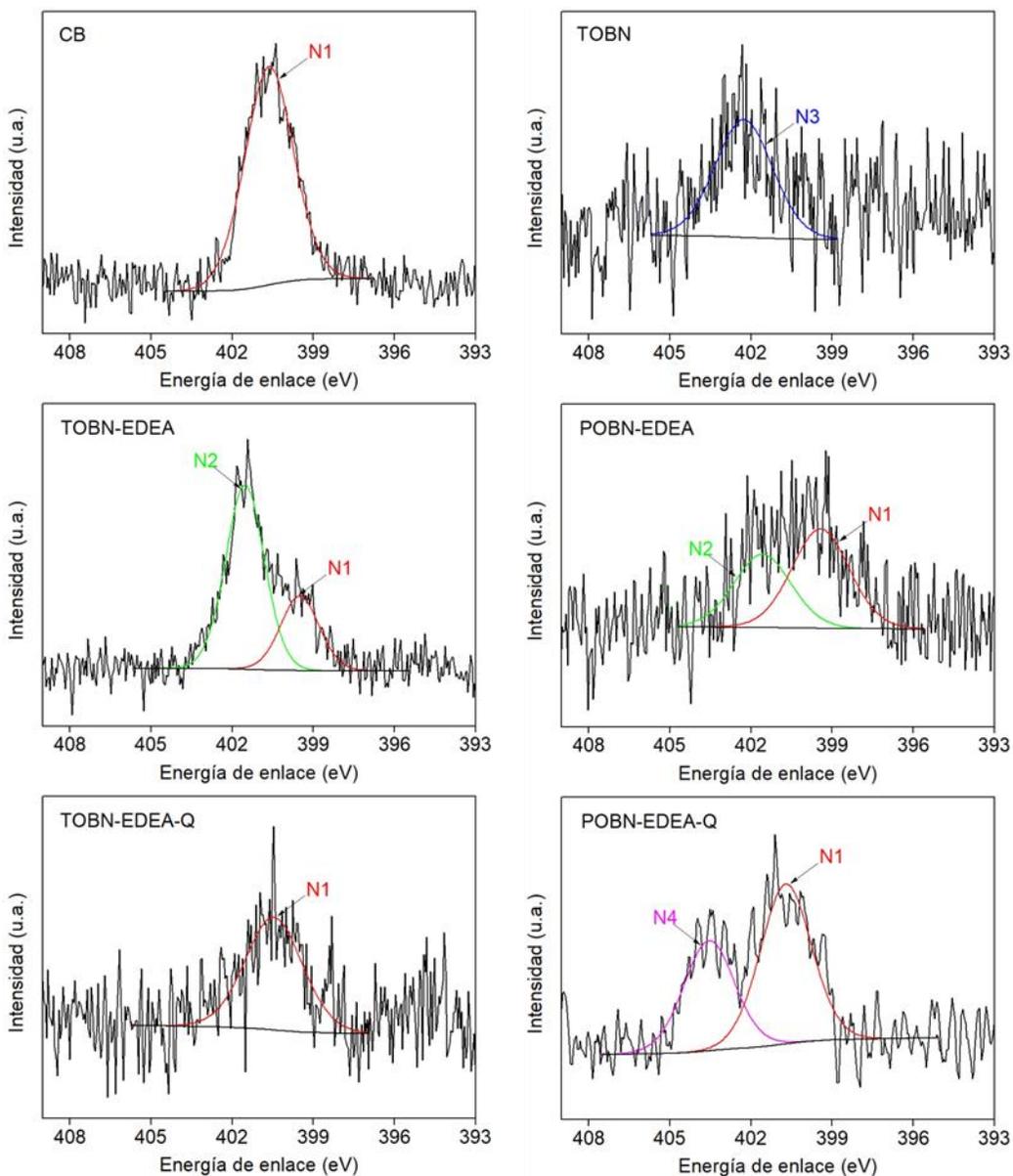
Los desplazamientos para cada especie química fueron C1 (C-C, C-H) 284,8 eV, C2 (C-O) 286,2 \pm 0,3 eV, C3 (O-C-O/C=O/CO-NH₂) 287,6 \pm 0,3 eV, C4 (O-C=O) 288,9 \pm 0,3 eV y C5 (π - π^*) 291,0 \pm 0,3 eV.

Apéndice G. Espectros XPS deconvolucionados de O1s para CB, TOBN, POBN, TOBN-EDEA, POBN-EDEA, TOBN-EDEA-Q y POBN-EDEA-Q.



Los desplazamientos para cada especie química fueron O1 (O=C-O⁻/CO-NH₂) 531,2 ± 0,1 eV, O2 (C-O) 532,8 ± 0,2 eV, O3 (O-C-O) 534,0 ± 0,4 eV, O4 (H₂O) 535,0 ± 0,3 eV y O5 (NO) 536,2 eV.

Apéndice H. Espectros XPS deconvolucionados de N1s para CB, TOBN, TOBN-EDEA, POBN-EDEA, TOBN-EDEA-Q y POBN-EDEA-Q.



Los desplazamientos para cada especie química fueron N1 (CO-NH₂) $399,9 \pm 0,5$ eV, N2 (C-NH₂) $401,5 \pm 0,4$ eV, N3 (N⁺R₄) 402,3 eV y N4 (NO) 403,6 eV.

Apéndice I. Porcentaje atómico para las asignaciones de todos los componentes en las regiones C 1s, O 1s y N 1s, dadas por XPS.

Muestra	C1	C2	C3	C4	C5	N1	N2	N3	N4	O1	O2	O3	O4	O5
CB	8,3	24,3	26,8	6,3		1,5				0,8	10,8	21,1		
TOBN	1,8	9,6	35,7	8,6				0,3		6,5	34,9	0,9		
POBN	9,3	9,4	35,3	7,4							8,5	29,4	0,3	
TOBN-EDEA	14,9	37,3	8,9	1,0		0,5	1,1			2,2	33,6	0,5		
POBN-EDEA	7,2	39,3	9,1	0,6		0,3	0,2			8,0	34,9	0,5		
TOBN-EDEA-Q	2,7	14,5	32,0	8,1	0,5	0,4				1,3	10,2	27,5	0,2	
POBN-EDEA-Q	7,0	23,0	19,6	4,6	1,8	0,5			0,4	2,1	18,2	15,4		1,1

Los desplazamientos para cada especie química fueron C1 (C-C, C-H) 284,8 eV, C2 (C-O) $286,2 \pm 0,3$ eV, C3 (O-C-O/C=O/CO-NH₂) $287,6 \pm 0,3$ eV, C4 (O-C=O) $288,9 \pm 0,3$ eV y C5 (π - π^*) $291,0 \pm 0,3$ eV. Las contribuciones de región O 1s son: O1 (CO-NH₂) $531,2 \pm 0,1$ eV, O2 (C-O) $532,8 \pm 0,2$ eV, O3 (O-C-O) $534,0 \pm 0,4$ eV, O4 (H₂O) $535,0 \pm 0,3$ eV y O5 (NO) 536,2 eV. La región N 1s esta conformada por N1 (CO-NH₂) $399,5 \pm 0,1$ eV, N2 (C-NH₂) $400,5 \pm 0,2$ eV, N3 (N⁺R₄) $401,7 \pm 0,1$ eV y N4 (NO) 403,6 eV.

Apéndice J. Cuantificación de HLB

Emulsiones con diferentes proporciones de Span 80 y Tween 80 para determinar el número de HLB requerido para el aceite de girasol.

Emulsiones serie 1	a	b	c	d	e	f	g
% Span 80	100	80	60	50	40	20	0
% Tween 80	0	20	40	50	60	80	100

Emulsiones con diferentes proporciones de Span 80 y TOBN para determinar el valor de HLB para TOBN. Este mismo procedimiento se reprodujo para TOBN-EDEA y TOBN-EDEA-Q.

Emulsiones serie 2	h	i	j	k	l
% Span 80	90	80	70	60	50
% TOBN	10	20	30	40	50

Apéndice K. Resultados de la actividad antifrizz realizada sobre una muestra de cabello caucásico (control), usando celulosa modificada TOBN, POBN, TOBN-EDEA, POBN-EDEA, TOBN-EDEA-Q y POBN-EDEA-Q. Adicionalmente, se evaluó la actividad antifrizz de un tratamiento comercial (TC).

