

**SÍNTESIS DE UN BIOCOMPOSITO DE MICROFIBRILLAS DE CELULOSA,
PROVENIENTES DE BAGAZO/ESTOPA DE FIQUE, Y NANOPARTÍCULAS DE
ÓXIDO DE ZINC Y ESTUDIO DE SUS PROPIEDADES ANTIBACTERIALES**

LINA FERNANDA JAIMES COTE

UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER

FACULTAD DE CIENCIAS

ESCUELA DE QUÍMICA

MAESTRÍA EN QUÍMICA AMBIENTAL

BUCARAMANGA

2015

**SÍNTESIS DE UN BIOCOMPOSITO DE MICROFIBRILLAS DE CELULOSA,
PROVENIENTES DE BAGAZO/ESTOPA DE FIQUE, Y NANOPARTÍCULAS DE
ÓXIDO DE ZINC Y ESTUDIO DE SUS PROPIEDADES ANTIBACTERIALES**

LINA FERNANDA JAIMES COTE

**Trabajo de grado presentado para optar por el título de
Magister en Química Ambiental**

Director:

MARIANNY YAJAIRA COMBARIZA MONTAÑEZ, Ph.D.

Codirector:

LUZ YOLANDA VARGAS FIALLO, MSc.

UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER

FACULTAD DE CIENCIAS

ESCUELA DE QUÍMICA

MAESTRÍA EN QUÍMICA AMBIENTAL

BUCARAMANGA

2015

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a Dios y a la Santísima Virgen por la oportunidad que me brinda de crecer profesionalmente en esta etapa de mi vida; y a todas aquellas personas que amo y son significativas en mi existencia: mis padres Alirio Jaimes y Aura María Cote porque gracias a sus esfuerzos y dedicación se preocuparon porque llegara a ser una persona con valores, principios, calidad humana y valiosa para la sociedad. En segundo lugar, a mis hermanas, Marcela, Mónica y Silvia quienes han sido mis amigas en la distancia y en la cercanía siempre brindándome su apoyo y ayudan incondicionalmente. A mi esposo Hernando Sierra Rueda, que a través del caminar de la vida en pareja me ha enseñado a ver la vida con una mirada de crecimiento y emprendimiento para salir adelante como persona.

En especial dedico este trabajo a mis dos hijos: Rafael Hernando y Daniela Fernanda quienes son mi prolongación en esta vida y han sido un estímulo permanente para crecer a su lado como madre y amiga y a todas aquellas personas que de alguna manera han tenido que ver en mi formación académica y profesional Dra. Ángela Montaña, Dra. Marianny Yajaira Combariza, y demás docentes y compañeros de carrera.

Muchas gracias

CONTENIDO

	Pág.
INTRODUCCIÓN	19
1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	21
2. JUSTIFICACIÓN	23
3. OBJETIVOS	25
3.1 OBJETIVO GENERAL	25
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	25
4. MARCO TEORICO	26
4.1. EL FIQUE	26
4.1.1 Caracterización de la planta de fique.	26
4.1.2 Clasificación taxonómica del fique.	27
4.1.3 Estudio histo-anatómico del fique.	28
4.1.4 Composición estructural y química de la hoja de fique.	29
4.2 MICROFIBRILLAS DE CELULOSA (MFC)	31
4.3 NANOPARTÍCULAS Y BIOCOMPOSITOS	33
4.4. NANOPARTÍCULAS DE ÓXIDO DE ZINC (ZnO NPs)	34
4.4.1 Síntesis <i>In situ</i> de ZnO NPs.	34
4.4.2 Propiedades antibacteriales de las ZnO NPs.	35
4.5. MÉTODOS DE ANALISIS INSTRUMENTAL	36
4.5.1 Microscopía electrónica de barrido (FESEM).	36
4.5.2 Espectroscopía Infrarroja con Transformada de Fourier (FTIR-ATR).	37
4.5.3 Difracción de Rayos X (DRX).	37
4.5.4 Espectrofotometría Ultravioleta-Visible (UV-VIS).	37
4.5.5 Dispersión de Luz Dinámica (DLS).	38
5. DISEÑO METODOLÓGICO	39
5.1 REACTIVOS Y MATERIALES	40

	Pág.
5.2. COMPONENTE BIOLÓGICO	40
5.2.1 Clasificación taxonómica del fique (<i>Furcraea sp.</i>).	40
5.2.2 Estudio histo-anatómico del fique (<i>Furcraea sp.</i>).	41
5.2.3 Reconocimiento de fibras en la hoja.	41
5.2.4 Caracterización.	42
5.3. COMPONENTE QUÍMICO	43
5.3.1. Limpieza y pre-tratamiento de bagazo/estopa de fique.	43
5.3.1.1 Limpieza y purificación de la estopa.	43
5.3.1.2 Pre-tratamiento con Irradiación ultrasonido.	43
5.3.2 Eliminación de lignina y hemicelulosa.	43
5.3.3 Obtención de MFC a partir de estopa mediante oxidación TEMPO.	44
5.3.4. Síntesis <i>In situ</i> DE ZnO NPs sobre las MFC para obtención del biocomposito.	44
5.3.4.1 Síntesis.	45
5.3.5 Determinación de propiedades antibacteriales del biocomposito.	46
5.3.6. Caracterización.	47
5.3.6.1 Microscopia de Barrido Electrónico (SEM).	47
5.3.6.2 Espectroscopía de Energía Dispersiva (EDX).	48
5.3.6.3 Espectroscopia infrarrojo de transformada de Fourier con reflectancia total atenuada (FTIR-ATR).	48
5.3.6.4 Difracción de Rayos X (DRX).	48
5.3.6.5 Dispersión Dinámica de Luz (<i>Dynamic light scattering</i> DLS).	49
5.3.6.6 Análisis termogravimétrico TGA y DSC.	49
5.3.6.7 Titulación conductimétrica.	49
5.3.6.8 Espectrofotometría ultravioleta-visible (UV-VIS).	50
6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	51

	Pág.
6.1. COMPONENTE BIOLÓGICO	51
6.1.1 Clasificación taxonómica del fique (<i>Furcraea sp.</i>).	51
6.1.2 Estudio histo-anatómico del fique (<i>Furcraea sp.</i>).	53
6.1.3 Reconocimiento de fibras de la hoja.	56
6.2. COMPONENTE QUÍMICO	58
6.2.1. Limpieza y pre-tratamiento de bagazo/estopa de fique.	58
6.2.1.1 Limpieza y purificación de la estopa.	58
6.2.1.2 Caracterización del bagazo y estopa cruda.	59
6.2.2. Eliminación de lignina y hemicelulosa.	66
6.2.2.1 Caracterización.	67
6.2.3. Obtención de MFC a partir de estopa de fique mediante oxidación TEMPO.	69
6.2.3.1 Síntesis.	69
6.2.3.2 Caracterización.	69
6.2.4. Síntesis <i>In situ</i> de ZnO NPs sobre las MFC para obtención del biocomposito.	79
6.2.4.1 Síntesis.	79
6.2.4.2 Caracterización.	80
6.2.5. Propiedades antibacteriales del biocomposito.	90
6.2.5.1 Resultados.	90
7. CONCLUSIONES	94
8. RECOMENDACIONES	95
REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS	96
BIBLIOGRAFÍA	107
ANEXOS	120

LISTA DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1. Especies de fique cultivadas en Santander. (A) Y (B) Uña de gato (<i>Furcraea macrophylla</i> Baker). (C) y (D) fique perolero (<i>Furcraea cabuya</i> Trel.)	27
Figura 2. Organización estructural de la celulosa en las fibras (26, 29)	30
Figura 3. (A) Esquema de los complejos enzimáticos TCs donde se realiza la síntesis de la celulosa (15). (B) Micrografías tomadas por microscopia SEM de MFC provenientes de tunicados obtenida mediante oxidación TEMPO (34). (C) Tipos de ZnO NPs (55)	32
Figura 4. Diseño metodológico usado en el desarrollo del proyecto	39
Figura 5. Esquema de la obtención de MFC a partir de estopa mediante oxidación TEMPO	44
Figura 6. Fotografías de las fichas taxonómicas (A, B) Fique perolero (<i>Furcraea cabuya</i> Trel.) y (C, D) uña de gato (<i>Furcraea macrophylla</i> Baker)	53
Figura 7. Micrografías vistas en corte transversal de los tejidos y fibras presentes en la hoja de fique (<i>Furcraea</i> sp.) tomada con microscopio óptico en aumento 5X y 10X. (A) Tejido epitelial de la superficie abaxial, mesófilo y colénquima angular. (B) Tejido epitelial abaxial. (C) Haces vasculares. (D) Fibras xilares propias del xilema (tejido esclerenquimático). (E-F) Presencia de cristales de oxalato de calcio. (G) Haz vascular colateral cerrado en medio de tejido colénquimático. (H) Fibra con presencia de rafidios	54
Figura 8. Micrografías de reconocimiento de fibras en hoja de fique tomadas con microscopio óptico en aumento 5X, 10X, 40X (A) Corte transversal de hoja - fibras del xilema (esclerenquima).	57

Tinción: fluroglucina alcohólica + HCl. (B) Corte longitudinal-fibras del xilema y floema. Tinción: fluroglucina alcohólica + HCl. (C) Corte transversal – haz vascular colateral cerrado. Tinción: cloruro de zinc yodado. (D) Corte transversal–Parénquima de reserva. Tinción: tionina. (E) Corte transversal-fibras xilema lignificadas y paredes celulósicas del tejido colénquima angular. Tinción: cloruro de zinc yodado. (F) Corte transversal-epidermis superficie abaxial-cutícula. Tinción: sudan III. (G, H) Corte longitudinal-fibras de xilema tomadas en microscopio óptico en modo paralelo (MP) y en contraste (MC)

Figura 9. Limpieza y pre-tratamiento de bagazo/estopa de fique. (A) 59
Recolección del material vegetal. (B) Lavado, cepillado y separación. (C) Bagazo crudo (D) Estopa cruda

Figura 10. Micrografías FE-SEM. (A, B) Bagazo crudo. (C, D)Fibras 60
de estopa cruda

Figura 11. Espectros EDX tomados (A) bagazo crudo (B) Estopa 61
cruda

Figura 12. Espectro FT-IR (ATR) del bagazo y las fibras de estopa 62
crudas de fique

Figura 13. Difractograma de rayos X del bagazo y la estopa cruda 65
del fique

Figura 14. (A) Fotografía de la estopa antes del tratamiento. (B) 66
estopa obtenida después de la deslignificación

Figura 15. Espectro comparativo de FT-IR (ATR) entre la fibra de 67
estopa cruda y la blanqueada de fique

Figura 16. Difractograma de rayos X de la estopa blanqueada 68

Figura 17. Micrografías electrónicas de las fibras de estopa 69
deslignificadas

Figura 18. Esquema de la reacción de oxidación TEMPO (13) 70

	Pág.
Figura 19. Espectro comparativo de FT-IR (ATR) de las MFC obtenidas a diferentes relaciones molares de celulosa: NaClO	71
Figura 20. (A). Análisis XRD de las MFC. (B). Análisis de calorimetría diferencial de barrido DSC de MFC. (C) Análisis termogravimétrico TGA de MFC. (D). Análisis termogravimétrico TGA y análisis térmico diferencial DTA comparativo	72
Figura 21. Espectro EDX de las MFC	74
Figura 22. Micrografías tomadas en microscopio de barrido electrónico FESEM de MFC a partir de estopa	75
Figura 23. (A) Datos del potencial Z para la MFC G. (B) Análisis por DLS de la MFC G	76
Figura 24. Análisis de titulación conductimétrica realizado a las MFC	78
Figura 25. Reacción de síntesis por ruta básica de las NPs ZnO sobre las MFC de estopa de fique (54)	80
Figura 26. Espectros de FT-IR de los biocompositos de ZnO sintetizadas por US y C. (A-B) biocomposito y residuo relación molar $\text{ZnSO}_4\text{:NaOH}$ 1:4. (C-D) biocomposito y residuo relación molar $\text{ZnSO}_4\text{:NaOH}$ 1:20	81
Figura 27. Difractogramas de biocompositos sintetizados en relación molar $\text{ZnSO}_4\text{:NaOH}$ 1:4 y 1:20 por US y C. (A-B) Análisis DRX del biocomposito y residuo de relación molar $\text{ZnSO}_4\text{:NaOH}$ 1:4. (C-D) Análisis DRX del biocomposito y residuo de relación molar $\text{ZnSO}_4\text{:NaOH}$ 1:20	83
Figura 28. Micrografías de los biocompositos sintetizados en relación molar $\text{ZnSO}_4\text{:NaOH}$ 1:4 y 1:20 por US y por C. (A) biocomposito relación molar 1:4 US (B) biocomposito relación molar 1:4 C (C) biocomposito relación molar 1:20 US (D) biocomposito relación molar 1:20 C	84

Figura 29. Análisis EDS de los biocompositos. (A) biocomposito relación molar ZnSO_4 : NaOH 1:4 US (B) biocomposito relación molar ZnSO_4 : NaOH 1:4 C (C) biocomposito relación molar ZnSO_4 : NaOH 1:20 US (D) biocomposito relación molar ZnSO_4 : NaOH 1:20 C	Pág. 86
Figura 30. Fotografías tomadas durante la síntesis in situ de las NPs ZnO sobre las MFC de estopa de fique. (A) Solución de color blancuzca al agregarse ZnSO_4 (B) Terminada la reacción se ve la formación del precipitado. (C) Biocomposito	87
Figura 31. Análisis UV-vis biocomposito de NPs ZnO y residuos tratados por US y C. (A) biocomposito obtenido con relación molar ZnSO_4 : NaOH 1:4. (B) residuo obtenido con relación molar ZnSO_4 : NaOH 1:4. (C) biocomposito obtenido con relación molar ZnSO_4 : NaOH 1:20 (D) residuo obtenido por relación molar ZnSO_4 : NaOH 1:20	88
Figura 32. Análisis por DLS de los diferentes biocompositos y residuos de NPs ZnO sintetizados en relación molar ZnSO_4 : NaOH 1:4 y 1:20	90
Figura 33. Fotografías de inhibición de las muestras de biocompositos de NPs ZnO MFC. (A) microfibrillas en agua desionizada. (B) biocomposito y residuo relación molar 1:4 y 1:20 en agua desionizada. (C) biocomposito y residuo en relación molar 1:4 y 1:20 en DMSO	92

LISTA DE TABLAS

	Pág.
Tabla 1. Taxonomía del fique (<i>Furcraea sp.</i>)	27
Tabla 2. Derivados de la hoja de fique [18]	30
Tabla 3. Condiciones experimentales para la oxidación con TEMPO	45
Tabla 4. Condiciones experimentales durante la síntesis de NPs ZnO en MFC de estopa. C (calentamiento) y US (irradiación por ultrasonido)	46
Tabla 5. Descripción de las muestras de biocomposito utilizadas en la evaluación antibacterial por el método antibiograma	47
Tabla 6. Estudio botánico de las especies de fique (<i>Furcraea sp.</i>)	51
Tabla 7. Principales bandas de absorción y modos vibracionales del bagazo y la estopa cruda de fique (64)	63
Tabla 8. Índices de cristalinidad (CrI) de algunas fibras naturales reportadas en la literatura [71-74]	65
Tabla 9. Distribución de tamaño de partícula DLS (nm) para la MFC G	77
Tabla 10. Datos experimentales del cálculo del DO de las MFC	78
Tabla 11. Grado de oxidación (DO) de algunas MFC reportadas en la literatura [34,84]	79
Tabla 12. Análisis Espectrometría Infrarroja con Transformada de Fourier FT-IR de los bionanocompositos y sus respectivos residuos	82
Tabla 13. Análisis de SEM de las NPs de ZnO depositas sobre las MFC durante la síntesis de los biocompositos por US y C	85
Tabla 14. Análisis de UV-Vis de los biocompositos y residuos	89
Tabla 15. Distribución de tamaños de partícula por DLS (nm) para los biocompositos	89

	Pág.
Tabla 16. Muestras de biocompositos utilizados en la prueba antibacterial	91
Tabla 17. Resultados bacteriológicos de la prueba antibacterial	92

LISTA DE ANEXOS

	Pág.
ANEXO A. TEJIDOS DEL FIQUE (<i>Furcraea sp.</i>)	121
ANEXO B. MATERIALES, REACTIVOS Y EQUIPOS	122
ANEXO C. PROCEDIMIENTO DE CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA DEL FIQUE (<i>Furcraea sp.</i>)	124
ANEXO D. SÍNTESIS <i>In situ</i> DE ZnO NPs SOBRE LAS MFC PARA OBTENCIÓN DEL BIOCOMPOSITO	125

TERMINOLOGÍA

MFC: Microfibrillas de celulosa

NPs: Nanopartículas

ZnO: Óxido de zinc

NPs ZnO: Nanopartículas de óxido de zinc

N.C: Modo de contraste

N.P. Modo de paralelos

US: Síntesis por ultrasonido

C: Síntesis por calentamiento

RESUMEN

TÍTULO: SÍNTESIS DE UN BIOCOMPOSITO DE MICROFIBRILLAS DE CELULOSA, PROVENIENTES DE BAGAZO/ESTOPA DE FIQUE, Y NANOPARTÍCULAS DE ÓXIDO DE ZINC Y ESTUDIO DE SUS PROPIEDADES ANTIBACTERIALES *

AUTOR: JAIMES COTE, Lina Fernanda **

PALABRAS CLAVE: BOTÁNICA DEL FIQUE (*Furcraea sp.*), MICROFIBRILLA DE CELULOSA (MFCs), NANOPARTÍCULAS DE ÓXIDO DE ZINC (NPs ZnO), BIOCOMPOSITO (NPs ZnO MFCs), EVALUACIÓN DE PROPIEDADES ANTIBACTERIALES

DESCRIPCIÓN:

En este trabajo se realizó la síntesis de un biocomposito de microfibrillas de celulosa, extraída de la estopa de fique, y nanopartículas de óxido de zinc; y su posterior caracterización y evaluación de sus propiedades antibacteriales. Se inició con el desarrollo de un componente biológico que incluyó por primera vez el estudio taxonómico e histológico de la planta de Fique (*Furcraea sp.*). A continuación se desarrolló un componente químico, el cual comprendió el seguimiento del proceso de extracción de las MFCs mediante oxidación TEMPO, luego la síntesis *In situ* de las NPs ZnO para la obtención del biocomposito.

Finalmente, se obtuvieron biocompositos de MFCs y NPs de ZnO que fueron caracterizados por los métodos FT-IR, DRX, SEM, UV-Vis y DLS permitiendo evidenciar la presencia de óxido de zinc sobre la superficie de las MFCs y se evaluó sus propiedades antibacteriales.

Los resultados obtenidos sugieren mejorar el método de síntesis de NPs ZnO en las MFCs de estopa de fique con el objeto de que soporte mayor cantidad de óxido de zinc nanoparticulado para la obtención de pruebas positivas frente a la evaluación antibacterial de microorganismos patógenos, para permitir así la obtención de un material promisorio en la aplicación en el campo ambiental y la salud.

* Trabajo de grado

** Facultad de Ciencias. Escuela de Química. Maestría en Química Ambiental.

Director: Dra. Marianny Yajaira Combariza Montañez.

ABSTRACT

TITLE: SYNTHESIS OF A BIOCOMPOSITE OF CELLULOSE MICROFIBRILS THAT COME FROM BAGASSE/ TOW OF FIQUE, AND ZINC OXIDE NANOPARTICLES AND THE STUDY OF ITS ANTIBACTERIAL PROPERTIES *

AUTHOR: JAIMES COTE, Lina Fernanda **

KEY WORDS: BOTANIC OF FIQUE (*Furcraea sp.*), CELLULOSE MICROFIBRILS (MFCs), ZINC OXIDE NANOPARTICLES, BIOCOMPOSITE (NPs ZnO MFCs), EVALUATION OF ANTIBACTERIAL PROPERTIES.

DESCRIPTION:

The synthesis of a biocomposite of cellulose microfibrils was done in this work. It was extracted from the tow of fique, and Zinc Oxide nanoparticles. It is seen the subsequent characterization and evaluation of its antibacterial properties. This work started with the development of a biologic component that included, for the first time, the taxonomic and histologic study of the fique plant (*Furcraea sp.*). Then, a chemical component was developed. It comprised the monitoring of the extraction process of the MFCs by oxidation MSO (Mediated Surface Oxidation), later the synthesis *In situ* of the NPs ZnO for the obtaining of the biocomposito.

Finally, it was obtained the biocomposite of MFCs and NPs of ZnO which were characterized by the methods FT-IR, DRX, SEM, UV-Vis and DLS allowing the evidence of the presence of Zinc Oxide over the surface of the MFCs. Its antibacterial properties were tested.

The results obtained suggest improving the synthesis method of NPs ZnO in the MFCs of tow of fique with the purpose of supporting a larger quantity of Zinc Oxide nanoparticled for the obtaining of positive proofs in relation to the antibacterial evaluation of pathogenic microorganisms, to allow the obtaining of an expected material in the application of it in the environmental field and the health.

* Degree Project

** Industrial University of Santander. Science Faculty. Chemistry School. Master of Environmental Chemistry. Director: Marianny Yajaira Combariza Montañez, Ph. D.

INTRODUCCIÓN

La celulosa, el biopolímero más abundante en la tierra, se biosintetiza por algunos microorganismos, animales y plantas que lo utilizan, como material de soporte y refuerzo debido sus excelentes propiedades mecánicas. El uso de la celulosa por los humanos se remonta a los albores de la civilización; en la actualidad la celulosa es fundamental en las industrias de papel, textiles, farmacéutica y médica, entre otras.

La celulosa presenta ventajas, cuando se compara con polímeros sintéticos, como la biodegradabilidad, biocompatibilidad y renovabilidad. Muchas de sus aplicaciones son posibles debido a la relativa facilidad con la que se puede modificar químicamente su superficie; adicionalmente a partir de la celulosa se pueden obtener fibras, microfibras y nanocristales. De particular interés para nuestro grupo de investigación está la síntesis nanopartículas en la superficie de materiales celulósicos, como el caso del óxido de zinc (ZnO), para producir materiales funcionales.

En Colombia la caña de azúcar es una de las fuentes principales para la obtención de pulpa de celulosa para la industria papelera; sin embargo, en nuestro país existen fuentes alternativas para su extracción y transformación. Un ejemplo lo constituye la, planta de Fique oriunda de la región Andina colombiana, que desde tiempos ancestrales ha sido usada en Colombia. Durante el proceso de producción y beneficio de la planta de fique no sólo se producen fibras a partir de sus hojas, sino también otros subproductos como son el bagazo (17%), la estopa (8%) y el jugo (70%). Los dos primeros se usan en la producción de pulpa de papel; los jugos obtenidos son considerados material de desecho, que finalmente terminan en los ríos generando contaminación. Actualmente, y debido a la crisis por la cual atraviesa este subsector agrícola en Colombia, se buscan alternativas que den valor agregado a los productos derivados del fique. Por ejemplo, las fibras

y la estopa del fique presentan propiedades interesantes como su bajo costo, disponibilidad, renovabilidad, excelente capacidad de absorción de agua, flexibilidad, durabilidad además de una morfología única a escala nanométrica. Por otra parte, su alto contenido de celulosa las convierte en un material interesante para la extracción de Microfibras (CMFs) y nanocristales (NCCs). Debido a su dimensión nanométrica estos materiales, poseen gran área superficial, capacidad de absorción, alta resistencia mecánica y pueden ser usados para la síntesis de biocompositos.

Los biocompositos son materiales híbridos funcionales en los que una matriz biopolimérica, como por ejemplo la celulosa, se combina con materiales activos catalíticamente como las nanopartículas de metales noble y metales de transición. Estos biocompositos han sido estudiados como materiales eficientes en la descomposición de contaminantes persistentes como colorantes y fenoles (celulosa y óxidos de hierro y manganeso), en la adsorción selectiva de compuestos azufrados de gasolina y combustible diesel (celulosa y NPs de oro) y en la eliminación de coliformes en aguas naturales (celulosa y NPs de plata) [1, 2, 3]. En esta investigación se plantea la síntesis de un biocomposito de MFCs, provenientes de la estopa del fique mediante la oxidación TEMPO, y NPs de ZnO Finalmente el biocomposito obtenido se caracterizó y se evaluaron sus propiedades antibacteriales.

1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

En la actualidad los combustibles fósiles son los principales responsables de la producción de emisiones contaminantes que deterioran el planeta [4]. Esta situación crea la necesidad de desarrollar políticas internacionales de sostenibilidad ambiental que busquen promover el uso de otras fuentes de energía alternativas, menos contaminantes, biodegradables y amigables con el ambiente, que permitan reducir su utilización en la elaboración de productos. Las fibras naturales tienen estas características y son consideradas como materia prima fundamental a nivel industrial [5]. Las fibras naturales se extraen de diferentes órganos de las plantas y por tradición se usan para elaborar materiales de uso textil, de almacenamiento, soporte y protección. En Colombia las fibras más comunes son las de fique, que se utilizan desde la época precolombina para la elaboración de sogas, cuerdas, y empaques debido a sus propiedades mecánicas de alta resistencia y flexibilidad [6,7].

Al comienzo del siglo XIX en nuestro país la producción de fique aumentó con el inicio de las exportaciones de café y a mediados del siglo XX esta demanda llegó a su máximo [10]. Sin embargo, a finales de 1970 comenzó una crisis debido a la superproducción de la fibra y cambios en los sistemas de empaque de productos agrícolas que desembocaron en el reemplazo, de la fibra natural por sintética de bajo costo [8]. Esto trajo gran impacto negativo para los departamentos productores de fique en el país y para la cadena productiva del fique: productores, industriales y comercializadores [9].

El ineficiente aprovechamiento integral de la planta donde solo se aprovecha el 4% de la hoja en forma de fibra y el 96 % restante que corresponde a los subproductos de desecho como el bagazo, la estopa y el jugo, traen consigo al ser arrojados al suelo muerte a la biota que lo habita y contaminación a las fuentes de agua, por lo que se deben buscar mecanismos de integración en las cadenas

productivas, que corrijan estos aspectos y que mejoren la competitividad del sector y su fortalecimiento [10].

Hoy día Santander ocupa una importante posición en la producción de fique a nivel nacional, a pesar de la disminución gradual que año tras año se viene registrando, según lo confirman las Unidades Regionales de Planificación Agropecuaria (URPA's) y Municipales de Asistencia Técnica (UMATAS) [11,12].

En la actualidad las fibras naturales de fique están lentamente adquiriendo importancia en el país lo que permite pensar en un aprovechamiento integral de la planta de fique. Por ejemplo, existen productos atractivos a nivel industrial que se pueden extraer de los desechos del fique (estopa y bagazo) como las MFCs y los NCCs, que no han sido previamente explotados, caracterizados o reportados en la literatura. Las MFC han adquirido gran atención en la comunidad de nuevos materiales no sólo por sus propiedades físicas y químicas, sino por su inherente renovabilidad, sostenibilidad y abundancia. Estos nanomateriales presentan características comunes, tales como su morfología única a escala nanométrica, alto grado de resistencia mecánica, excelente capacidad de absorción de agua, flexibilidad, peso liviano y bajo costo entre otras, independientemente de la fuente de la cual provengan [13].

Como se puede concluir de lo anterior, existe un gran potencial para utilizar la estopa y el bagazo del fique para la producción de materiales novedosos, que pueden apalancar el desarrollo y aumentar la competitividad de la industria figuera.

2. JUSTIFICACIÓN

La celulosa es el material orgánico renovable más abundante en la biosfera, con una producción anual estimada por encima de 7.5×10^{10} toneladas [11]. Es sintetizada en las paredes celulares por plantas superiores, algunos animales (por ejemplo, tunicados) y en menor grado por algas, hongos, invertebrados e incluso en amebas (protozoos) como *Dictyostelium discoideum* [15]. En la actualidad, es considerado el material del futuro y existen numerosos grupos de investigación trabajando en el desarrollo de materiales funcionales avanzados con infinidad de aplicaciones novedosas, entre las que se destacan las fibras modificadas superficialmente, membranas, materiales inteligentes, composites, celdas fotoeléctricas y usos médicos. Cuando las macrofibras de celulosa se someten a tratamientos de desintegración mecánica o química, es posible separar el material en subelementos lignocelulósicos denominados microfibrillas (MFC) con diámetros en el orden de 20 a 150 nm que pueden alcanzar varios micrómetros de longitud [13,33].

Las MFCs son estructuras cristalinas derivadas de fibras naturales de celulosa, largas, flexibles, ligeras, resistentes, con alta rigidez y propiedades interesantes reforzamientos [13]. Adicionalmente, su potencialidad en el campo nanotecnológico reside en su capacidad de absorción, ligereza, biodegradabilidad además de su gran área superficial y volumen [13]. Los procesos de modificación superficial de fibras celulósicas se pueden perfectamente aplicar a las MFCs para producir materiales funcionales nanocompuestos. Por ejemplo la deposición de nanopartículas de óxido de zinc le puede conferir propiedades antibacteriales y de filtro UV a las MFCs. Las aplicaciones de este tipo de nanocompuestos son variadas, sin embargo son muy prometedores en el área de la salud para la fabricación de apósitos para heridas. Los nanocompuestos de MFCs-ZnO superan con gran ventaja materiales fabricados actualmente, y son más económicos de

producir a través de rutas sintéticas verdes [16,17]. Países como Estados Unidos, Canadá y Brasil están a la vanguardia de la investigación en extracción y uso de MFCs a partir de múltiples fuentes de celulosa. En Colombia la investigación sobre estos materiales es muy limitada, con algunos reportes relacionados con caña de azúcar y vástago de plátano, pero ninguno sobre el fique. Es importante resaltar que con este trabajo se aprovecha por primera vez la estopa de fique para la obtención de MFCs, que posteriormente se modifican con ZnO NPs. Finalmente se investiga la actividad antibacterial de estos materiales [8]. Adicionalmente, el proyecto persigue incrementar el conocimiento sobre el fique, en relación a su clasificación taxonómica y, caracterización histo-anatómica.

3. OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GENERAL

Extraer y caracterizar microfibrillas de celulosa (*Microfibrillated cellulose*, MFC) a partir de bagazo y estopa de Fique (*Furcraea sp.*) y sintetizar un biocomposito de MFC y nanopartículas de óxido de zinc (MFC-ZnO).

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Diseñar un protocolo de extracción de MFC a partir de bagazo y estopa de Fique (*Furcraea sp.*).
- Sintetizar *in situ* nanopartículas de óxido de zinc (ZnO NPs) sobre la superficie de los MFC.
- Caracterizar espectroscópicamente las MFC y las MFC-ZnO resultantes.
- Evaluar las propiedades antibacteriales del MFC-ZnO.

4. MARCO TEORICO

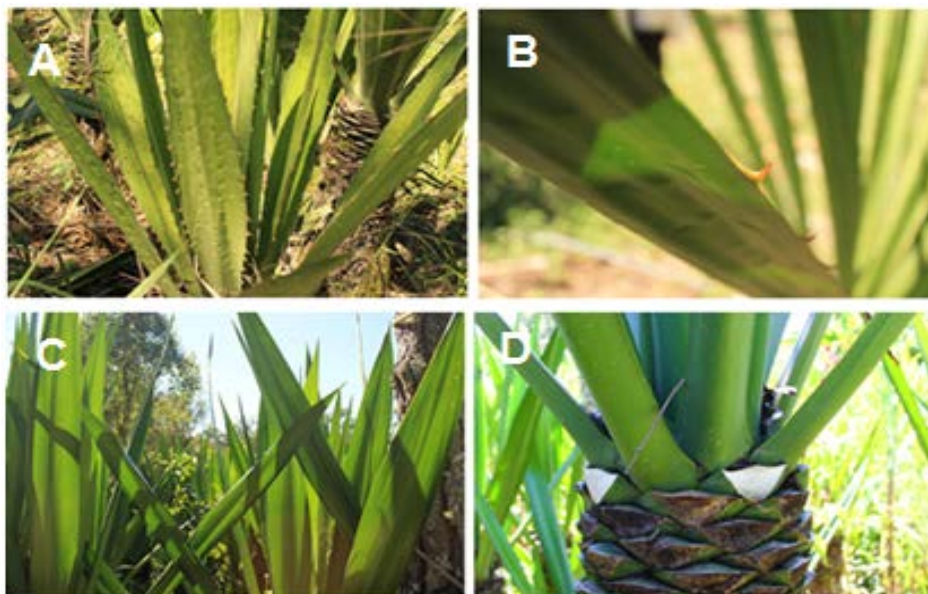
4.1. EL FIQUE

4.1.1 Caracterización de la planta de fique. El fique se extiende sobre gran parte de centro y sur América. En Colombia se cultivan principalmente cinco (5) especies: tunosa común (*Furcraea gigantea*), uña de gato (*Furcraea macrophylla*), ceniza o perolero (*Furcraea cabuya*), bordón de oro (*Furcraea castilla*) y rabo de chucha (*Furcraea andina*) [19]. Científicamente el género se conoce como *Furcraea sp*, mientras coloquialmente se denomina cabuya [20,19]. La planta posee un tallo erguido, con una altura promedio entre 2-7 m según su edad; con presencia de hojas basales, radiales, acanaladas, verdes carnosos y lanceolados terminadas en punta débil o espinosa, con bordes lisos o espinosos según la especie y dispuestas en rosetas.

La especie *macrophylla Baker* se distingue por la presencia de espinas encorvadas en los bordes de las hojas y un aguijón pequeño terminal a diferencia de la especie *Cabuya Trel.* La planta adulta posee un pseudotallo corto que puede llevar entre 75 a 100 hojas cuya longitud varía de 150 a 200 cm y su anchura de 15 a 20 cm en su parte central que es la más ancha y angostándose a 10 cm en la base; sus flores son monocárpicas, numerosas con pétalos libres y péndulas de color blanco verdoso dispuestas en una inflorescencia paniculada o espigada denominada magüey. Las semillas germinan en la misma planta y sus propágulos (bulbillos) caen ya formados al suelo y su vida útil depende de las condiciones ambientales [19].

En Santander el fique se cultiva en los municipios de Onzaga, San Joaquín, Mogotes, Curití y Aratoca; algunas de las especies cultivadas se aprecian en la figura 1.

Figura 1. Especies de fique cultivadas en Santander. (A) Y (B) Uña de gato (*Furcraea macrophylla* Baker). (C) y (D) fique perolero (*Furcraea cabuya* Trel.)



4.1.2 Clasificación taxonómica del fique. La tabla 1 muestra la clasificación de las especies de fique cultivadas en Santander [56,57].

Tabla 1. Taxonomía del fique (*Furcraea* sp.)

Categorías taxonómicas	Fique Perolero	Fique Uña de Gato
Reino:	<i>Plantae</i>	<i>Plantae</i>
División:	<i>Magnoliophyta</i>	<i>Magnoliophyta</i>
Phylum:	<i>Spermatophyta</i>	<i>Spermatophyta</i>
Clase:	<i>Angiospermae</i>	<i>Angiospermae</i>
Sub-Clase:	<i>Monocotyledonae</i>	<i>Monocotyledonae</i>
Orden:	<i>Asparagales</i>	<i>Asparagales</i>
Familia:	<i>Asparagaceae</i>	<i>Asparagaceae</i>
Género:	<i>Furcraea</i>	<i>Furcraea</i>
Especie:	<i>cabuya</i> Trel.	<i>macrophylla</i> Baker

4.1.3 Estudio histo-anatómico del fique. El Fique, como planta terrestre, ha desarrollado evolutivamente un cuerpo vegetal con suficiente rigidez y resistencia gracias a la presencia de abundantes fibras duras en sus hojas y la gran variedad de tejidos especializados que se organizan en sistemas bien definidos; como se puede ver en el anexo A (Figura 1).

Frente a un medio ambiente variable y seco, la planta desarrolló un sistema protector externo conformado por la epidermis; cuyas células evitan la pérdida de agua y le proporcionan protección frente a la radiación solar, además de ejercer el control de la transpiración y el intercambio gaseoso [21,22]. El fique posee además, un segundo sistema fundamental conformado por el parénquima, el cual está especializado en la fotosíntesis y almacenamiento de nutrientes, con capacidad de “desdiferenciación”, es decir, puede comenzar una actividad meristemática, para reparar células o reproducirse en un momento dado [21,22]. Por otra parte, las fibras de los tejidos colénquima y esclerénquima constituyen el sistema de sostén mecánico encargado de mantener las hojas erguidas y de proteger las partes blandas y vulnerables de la planta sometidas a tracción mecánica [8, 21, 22].

Se sabe que la lignificación y la diferenciación de estas fibras en los tejidos vasculares están controladas por hormonas vegetales como las auxinas y las giberilinas, encargadas de regular la deposición de la lignina en la pared celular [21]. Las fibras se compactan por lo general formando hebras denominadas fibras comerciales. Al igual que cualquier vegetal, el fique desarrolla un tejido meristemático, localizado en sus órganos de crecimiento como la raíz, el tallo y las hojas. Finalmente, su sistema conductor constituido por el xilema y el floema, se dispone formando haces vasculares colaterales cerrados y concéntricos que conducen agua, sales minerales y sustancias orgánicas en solución.

Se han reportado variados estudios sobre anatomía de hojas, tallos, raíces de plantas monocotiledones y dicotiledoneas [23,24,25], pero no se han encontrado

aun reportes de la planta de fique, por lo que en esta investigación se hizo necesario caracterizar la hoja de fique y realizar, su diferenciación en relación con otras especies de su género.

4.1.4 Composición estructural y química de la hoja de fique. Las fibras de fique pertenecen al grupo de las fibras duras, junto con el sisal, el abacá y el henequén. La extracción de las fibras de estas plantas requiere de procedimientos mecánicos de Decorticación. Durante el beneficio del fique, y una vez extraídas las fibras largas, se produce un residuo compuesto por jugo, bagazo y estopa. El bagazo corresponde a secciones de la epidermis y del parénquima estructural de las hojas, mientras la estopa está compuesta de fibras cortas. En el proceso tradicional de beneficio del fique en Colombia solo se aprovecha entre el 4-6 % en peso de la hoja, que corresponde a las fibras largas tal y como se indica en la tabla 2. En términos botánicos, la fibra se compone principalmente por las paredes de células que pertenecen a los tejidos del esclerénquima, colénquima, floema y xilema en la planta, constituidos principalmente por celulosa, lignina, hemicelulosa y pigmentos [19].

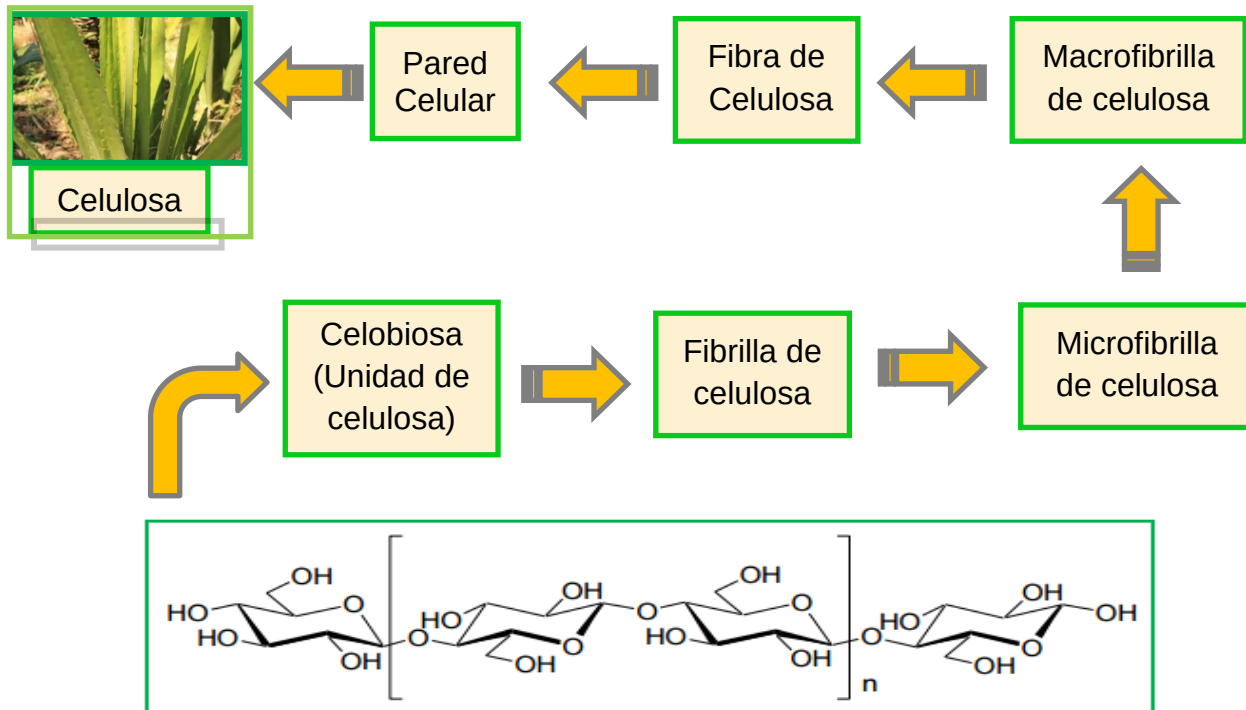
Las paredes celulares están constituidas por dos componentes: uno cristalino o fibroso (esqueleto) y otro amorfo o matriz no fibroso. El primer componente cristalino de la pared celular está representado por las cadenas celulósicas, que son lineales de enlaces covalentes de unidades de β -1,4-D-glucosa, organizadas mediante puentes de hidrógeno, por lo cual presenta propiedades cristalinas, rigidez, resistencia mecánica, haciendo que la celulosa sea muy difícil de hidrolizar (inaccesible al ataque enzimático). La estructura química de la celulosa se observa en la Figura 2.

Tabla 2. Derivados de la hoja de fique [18]

Componente	Porcentaje en la hoja	Porcentaje Útil	Usos
Fibra	5	4	En la industria textil, empaques
Jugo	70	40	Extracción de esteroides
Estopa	8	3	Pulpa de papel
Bagazo	17	10	Material de construcción, abonos

En la naturaleza, la celulosa no se encuentra como una molécula individual, sino ensamblada desde unidades individuales llamadas fibrillas hasta llegar a formar conjuntos compactos de fibras [27,28]. La figura 2 muestra la organización estructural de la celulosa.

Figura 2. Organización estructural de la celulosa en las fibras (26, 29)



La biopolimerización o síntesis de celulosa que se da por enrollamiento y cristalización entre la membrana y la pared celular, ocurre dentro de un complejo enzimático en forma de roseta denominado TCs que actúa como hilaturas biológicas (Figura 3A) [15]. Se cree que los TCs son complejos de celulosa sintasa pertenecientes a la gran familia de las glicosiltransferasas (GTA); sin embargo, el mecanismo de reacción involucrado en la síntesis de la celulosa y el montaje es todavía una suposición. Las enzimas se disponen a lo largo de la membrana celular y se van desplazando a medida que las microfibrillas crecen, gracias a su mecanismo de mosaico fluido. Las enzimas de celulosa-sintetasa van uniendo moléculas de glucosa para formar la celulosa, la cual es depositada en forma lineal y cristalizada en microfibrillas en el exterior de la pared celular de las células vegetales. Las microfibrillas se depositan al azar, y quedan entrelazadas. La fase fibrilar se deposita únicamente por aposición (adcrustación), es decir por deposición de nuevo material sobre el anterior y la fase amorfa se deposita por intususcepción (incrustación), es decir por intercalación de moléculas en la estructura existente [15, 28].

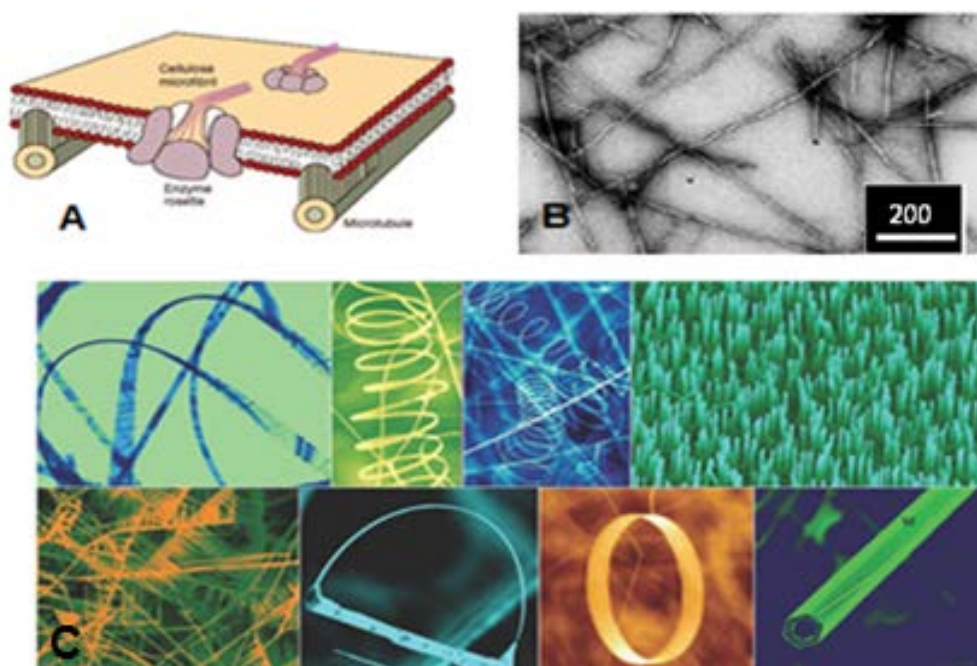
El segundo componente de la pared celular en las fibras es la matriz, compuesta por hemicelulosas, pectinas y glicoproteínas estructurales que pueden sufrir procesos de lignificación. Estos compuestos son sintetizados en los dictiosomas, se encargan de revestir a las fibrillas, microfibrillas, macrofibrillas y finalmente a las fibras de celulosa, entrelazándolas entre sí y cristalizándolas, impidiendo el contacto directo entre ellas, dando un aspecto de concreto reforzado [28].

4.2 MICROFIBRILLAS DE CELULOSA (MFC)

El nombre MFC, patentado por Turbak et al. en 1985 [3, 31], es un término ampliamente utilizado en la literatura científica y comercial. Las MFCs se producen generalmente por la delaminación de pulpa de madera por presión mecánica antes o después de tratamientos químicos o enzimáticos [17]. Este material, de tamaño

nanométrico, es altamente cristalino, con diámetros que puede variar entre 20-150 nm y con varios micrómetros de longitud, dependiendo de las fuentes y métodos de síntesis utilizados [29]. A diferencia de los nanocristales de celulosa (CNC), las MFC exhiben dominios amorfos y cristalinos alternos y presentan una estructura similar a una red muy flexible [30,32].

Figura 3. (A) Esquema de los complejos enzimáticos TCs donde se realiza la síntesis de la celulosa (15). (B) Micrografías tomadas por microscopía SEM de MFC provenientes de tunicados obtenida mediante oxidación TEMPO (34). (C) Tipos de ZnO NPs (55)



Los métodos de obtención de las MFCs son variados e incluyen, tratamientos mecánicos (homogeneización, microfluidización, procesos de molienda, *cryocrushing* y *electrospinning*), pre-tratamientos (enzimáticos, de oxidación mediados por *TEMPO*, Carboximetilación y acetilación) y finalmente post-tratamientos [29].

La figura 3B presenta MFC obtenidas por oxidación mediada con TEMPO utilizando fibras de celulosa de tunicados [33]; también el método ha sido aplicado

a pulpas blanqueadas de madera blanda [34]. Durante la reacción mediada por TEMPO se produce la oxidación de grupos hidroxilo de la superficie de la celulosa a carbonilos y después a carboxilatos. Las MFC obtenidas mediante oxidación TEMPO poseen carga negativa superficial siendo de gran utilidad para el diseño de nuevos materiales híbridos [33, 34].

La presencia de los grupos hidroxilo en la superficie de las MFC les otorga mejor reactividad química y permite usarlas en un amplio campo de aplicaciones como la elaboración de películas transparentes, nanocompositos, aerosoles, mejoramiento de envases y conservación de productos alimenticios, entre otros. La capacidad de renovación de las MFC las convierte un material alternativo en la actual crisis del petróleo y su biodegradabilidad es una respuesta a la legislación ambiental y los problemas de gestión de residuos.

4.3 NANOPARTÍCULAS Y BIOCOSPOSITOS

La nanotecnología se ocupa del estudio, desarrollo, manipulación de la materia y su control a escala nanométrica, es decir, en rangos de tamaño de 1-100 nm. Incluye instrumentos y procesos de síntesis que permiten la elaboración a nanoescala de materiales como las nanopartículas y bionanocompositos. Las NPs son materiales conformados por la unión de varios átomos en rangos de 1-100 nm de tamaño, utilizados para el desarrollo de compuestos multifuncionales de alto rendimiento, con óxidos de metales como el cobre y el zinc, entre otros. Las nanopartículas de óxido de zinc, despiertan interés por sus propiedades fotocatalíticas, antibacteriales, y de filtro Uv. Estudios reportados demuestran su gran efectividad antibacterial, al ser utilizado como material de recubrimiento en pañales de bebe y en la superficie de telas de algodón, frente a microorganismos como *Lactobacillus plantarum*, *Klebsiella sp.*, *Candida sp.*, *Escherichia coli* (Gram negativa) y *Staphylococcus aureus* (Gram positiva) [32,35].

La mezcla de un biopolímero, como la celulosa, con un sólido inorgánico u orgánico, da origen a una nueva generación de materiales híbridos denominados bionanocompositos. En este trabajo de investigación se tiene interés en la combinación de MFC, como un biopolímero con un sólido inorgánico nanométrico como son las nanopartículas de óxido de zinc. La MFC actúa como soporte sobre el cual se realiza la síntesis *in situ* de las ZnO NPs, el material resultante puede tener funcionalidad y eventualmente se puede aplicar en el campo ambiental y de la salud.

4.4. NANOPARTÍCULAS DE ÓXIDO DE ZINC (ZnO NPs)

El óxido de zinc es un material que exhibe múltiples propiedades, como semiconductor, piezoeléctrico y piroeléctrico [36]. Presenta una estructura cristalina estable en su forma de wurtzita hexagonal [37]; posee una banda prohibida directa de 3,37 eV (gap) y una energía de excitón libre de 60 meV. Estas propiedades permiten su uso en una amplia gama de aplicaciones tecnológicas incluyendo celdas solares, pantallas planas, dispositivos acústicos de superficie, láseres UV, sensores químicos y biológicos, transductores y en la ciencia biomédica dada su gran disponibilidad y seguridad [38,19]. Existen diferentes técnicas reportadas en la literatura para su síntesis bajo condiciones de crecimiento específico, con formas nanométricas variadas, como nanocables, nanohelices, nanoresortes, entre otras, siendo la familia más rica de nanoestructuras entre todos los materiales [36]. La figura 3C muestra algunas de las nanoestructuras de ZnO sintetizadas experimentalmente por Wang *et al.* [36].

4.4.1 Síntesis *In situ* de ZnO NPs. Actualmente, existen varios métodos de síntesis de las NPs ZnO tales como la evaporación térmica [40], el proceso hidrotérmico [36], la deposición química de vapor [41] y la irradiación por ultrasónica [42], entre otros [43,44]. La síntesis asistida por ultrasonido es una tecnología con un gran potencial, dada sus ventajas por su bajo impacto

económico y ambiental, su alta eficiencia en los procesos de síntesis, su uso con soluciones alcalinas, y su bajo consumo de energía durante los procesos de síntesis [42]. Esta técnica consiste en la precipitación de nanopartículas sobre una matriz sólida biopolimérica, como la celulosa, que en presencia de la cavitación acústica durante la reacción, produce especies químicas altamente reactivas, causantes de altas y bajas presiones, que contribuyen a que la reacción química entre los materiales sea más eficiente y permite una dispersión uniforme de las nanopartículas sobre la matriz de celulosa [42, 45, 46].

4.4.2 Propiedades antibacteriales de las ZnO NPs. El ZnO, ha sido usado como material seguro en aplicaciones médicas para el tratamiento de enfermedades de la piel y la elaboración de productos para su cuidado [35,47]. Ahora, su presentación en forma de nanopartículas despierta interés como lo demuestran reportes científicos en el campo biomédico como revestimientos de telas de algodón y de pañales desechables para bebe [48,49]; dadas su gran área superficial, alta actividad fotocatalítica y propiedad antimicrobiana. La urgente necesidad de crear nuevos agentes antimicrobianos posibilita el uso de las NPs de ZnO, pues en la actualidad el uso indiscriminado de antibióticos ha dado lugar a la aparición de cepas resistentes a uno o varios agentes anti-microbianos (antibióticos) convencionales. Para evaluar las propiedades antibacteriales de las NPs ZnO se usa el método de difusión en medio sólido con antibiogramas de disco, donde se realizan pruebas de sensibilidad frente a microorganismos estándares como *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Pseudomonas aeruginosa* (ATTCC 27853), entre otras. Este método se basa en colocar un disco impregnado con determinada cantidad de agente antimicrobiano (antibiótico), sobre un medio sólido (Agar Mueller Hinton) inoculado con bacterias. El agente antimicrobiano se difunde formándose un gradiente de concentración, el cual inhibe o permite el crecimiento de la bacteria en estudio [50,51]. Esta metodología permite clasificar las cepas bacterianas en resistentes

(R), intermedias (I) y susceptibles (S), para determinar así la efectividad del antibiótico [49,50].

La literatura reporta el uso de las NPs ZnO como un nuevo agente antimicrobiano, particularmente para microorganismos aerobios o facultativos de crecimiento rápido [50]. Por ejemplo, la actividad antimicrobiana de las NPs de ZnO presentes en tela de pañal de bebe se ha evaluado contra patógenos comunes de la piel y el tracto urinario como la *Klebsiella sp* [49,52].

4.5. MÉTODOS DE ANALISIS INSTRUMENTAL

Existe una amplia gama de publicaciones relacionadas con las metodologías utilizadas para la síntesis *in situ* de NPs, producción de biocompositos, control minucioso de su tamaño y las diferentes técnicas utilizadas para su caracterización microscópica y espectroscópica [53]. El proceso de extracción de las MFC y la posterior síntesis *in situ* de las nanopartículas de ZnO para la conformación del biocomposito requieren de un seguimiento que garantice la uniformidad estructural del material. Para alcanzar este objetivo en esta investigación se realizaron mediciones usando técnicas analíticas como FESEM, IR-ATR, DRX, UV-VIS y DLS.

4.5.1 Microscopía electrónica de barrido (FESEM). La técnica FESEM (*Field Emission Scanning Electron Microscopy*) usa un cátodo de emisión por campo que provee un rayo de electrones, que permite producir imágenes más claras y menos distorsionadas que las de SEM, con resolución espacial menor a 1 o 0.5 nm. Esta técnica se utilizó para observar la textura, forma y tamaño, de las fibras cortas de estopa, las MFC, las NPs ZnO y el bionanocomposito sintetizado.

La técnica de espectroscopia de dispersión de energía de rayos X (EDX) se emplea acoplada a microscopios electrónicos de transmisión o de barrido, proporcionando información acerca de la composición química de las partículas

analizadas. La muestra es irradiada con un haz de electrones, con lo que se generan rayos X que pueden ser detectados. El espectro de EDX se obtiene tras recoger los fotones emitidos por la muestra durante un determinado periodo y permite identificar y cuantificar los diferentes elementos presentes en el material [55]. La técnica se utilizó para el análisis cualitativo y cuantitativo de la composición superficial de las fibras de estopa crudas, las MFC, y el bionanocomposito obtenido.

4.5.2 Espectroscopía Infrarroja con Transformada de Fourier (FTIR-ATR). La espectrometría IR es sensible a la presencia de grupos funcionales; su característica principal es permitir la identificación de especies químicas a través de la determinación de la frecuencia (número de onda) a la que los distintos grupos funcionales presentan bandas de absorción en el espectro IR. Este método utiliza el principio del interferómetro de *Michelson*, el cual se fundamenta en el fenómeno de reflexión total interna y la transmisión de la luz a través de un cristal con un elevado índice de refracción [54,55]. Esta técnica permite determinar la composición química de la celulosa presente en las fibras cortas de estopa del fique y corroborar la síntesis de las NPs ZnO en las MFC.

4.5.3 Difracción de Rayos X (DRX). La técnica de difracción de rayos X (DRX) en una muestra policristalina permite abordar la identificación de sus fases cristalinas (puesto que todos los sólidos cristalinos poseen un difractograma característico) tanto en su aspecto cualitativo como cuantitativo. Los estudios de polimorfismo, transiciones de fase y soluciones sólidas, medida del tamaño del cristal, determinación de diagramas de fase, etc., se realizan habitualmente por difracción de rayos X [55]. Con DRX se logró identificar la presencia de las fases cristalinas presentes en la celulosa de las fibras de estopa, las MFC y la presencia del ZnO sobre su superficie.

4.5.4 Espectrofotometría Ultravioleta-Visible (UV-VIS). Técnica de espectroscopia en la cual un material transparente es irradiada con una radiación

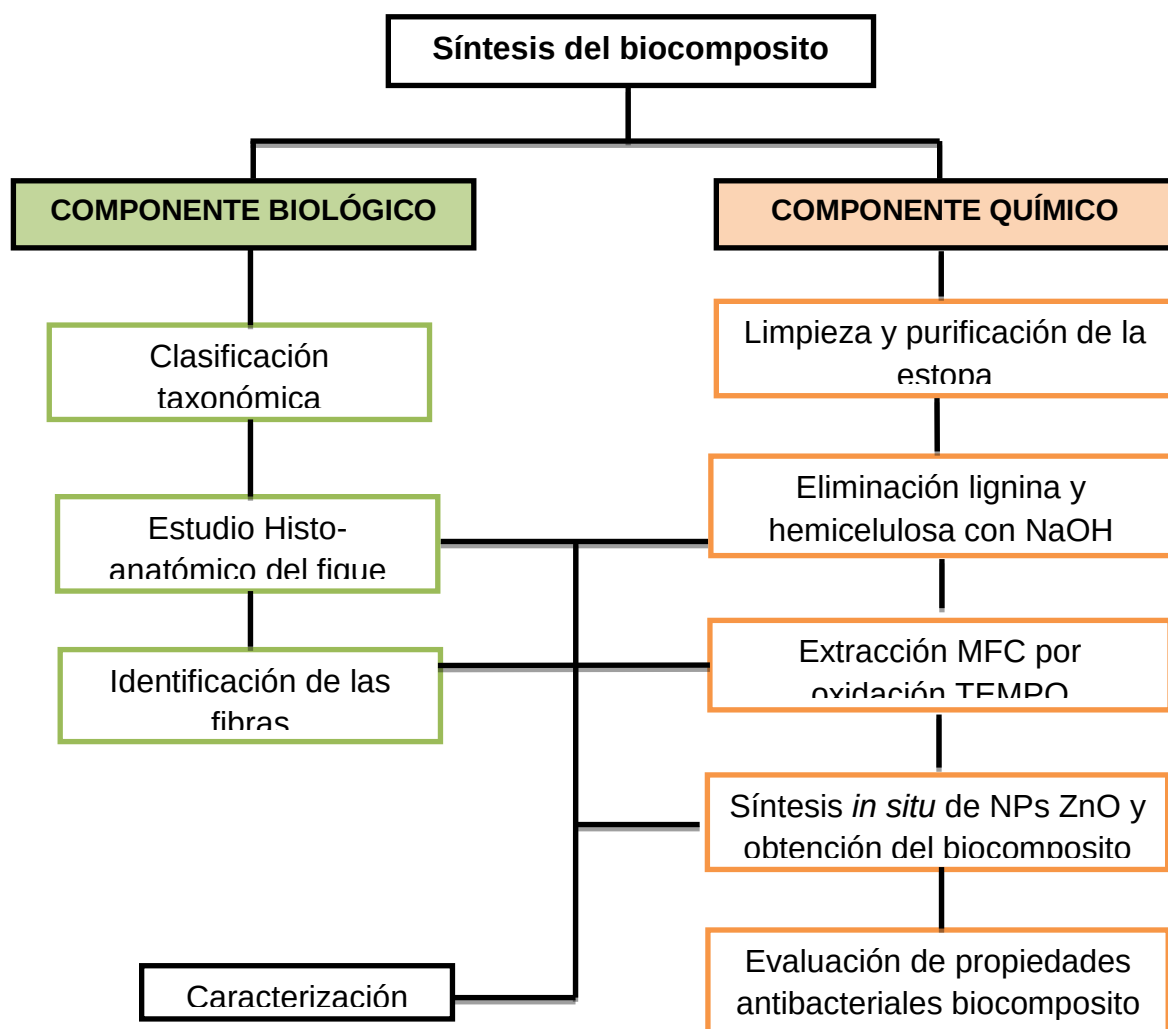
electromagnética. Parte de la energía es absorbida por los átomos y moléculas del material, que como consecuencia pasan de un estado de más baja energía o fundamental a un estado de mayor energía o excitado [54]. La técnica proporciona información sobre el entorno de las especies metálicas y orgánicas presentes en el material de interés. Mediante la técnica se determinó la absorción de las NPs de ZnO a su respectiva longitud de onda.

4.5.5 Dispersión de Luz Dinámica (DLS). La dispersión dinámica de luz (*Dynamic light scattering*), es una técnica físico-química empleada para la determinación de la distribución de tamaños de partículas en suspensión, o macromoléculas en solución, tales como proteínas o polímeros como la celulosa y la medición de potencial zeta que da información de la estabilidad de las dispersiones [55]. Por medio de la técnica se puede estimar los tamaños de las MFC y biocompositos de ZnO y el potencial Z en la determinación de la carga superficial de las MFC.

5. DISEÑO METODOLÓGICO

La figura 4 muestra el esquema general del trabajo experimental realizado durante el proyecto, el cual comprendió el desarrollo de un componente biológico que incluyó por primera vez el estudio taxonómico e histológico de la planta del fique (*Furcraea sp.*) y el componente químico, el cual comprendió el seguimiento del proceso de extracción de las MFCs y de la síntesis de las NPs de ZnO. Es importante mencionar que no se pudo obtener celulosa pura a partir del bagazo, probablemente debido a su complejidad estructural. Por esta razón el trabajo experimental se desarrolló únicamente con estopa.

Figura 4. Diseño metodológico usado en el desarrollo del proyecto



5.1 REACTIVOS Y MATERIALES

La estopa y el bagazo de fique fueron suministradas por la empresa ECOFIBRAS “Empresa Cooperativa de Fibras Naturales de Santander”. Las muestras de inflorescencias y hojas de la planta fueron facilitadas por la señora Amparo Vargas, propietaria de la finca, “Tienda el Profe”, localizada en el municipio de Curití. Las fichas taxonómicas reposan en el Herbario de la Escuela de Biología de La Universidad Industrial de Santander, bajo No. de colección 2. Se utilizaron reactivos de Merck y Carlo Erba, Aldrich, Riedel de Haen, Fluka chemika que se listan en el Anexo B (Tabla 1 y 2) junto con los equipos utilizados. La escuela de Biología, el laboratorio de óptica GOTS de la escuela de Geología en el Parque Tecnológico Guatiguará y la escuela de Bacteriología de la Universidad Industrial de Santander prestaron laboratorios, equipos y reactivos para la caracterización histológica y morfológica de los tejidos y fibras de la hoja de fique y el estudio antibacterial del biocomposito obtenido.

5.2. COMPONENTE BIOLÓGICO

5.2.1 Clasificación taxonómica del fique (*Furcraea sp.*). El registro fotográfico y las muestras vegetales de cada especie: hojas e inflorescencias florales se tomaron durante una salida de campo a los municipios de Mogotes y Curití. Una vez transportadas al Herbario UIS, se seleccionó el mejor material teniendo en cuenta la calidad de hojas y flores colectadas. Las muestras seleccionadas se sometieron a prensado y secado en horno por 36 horas a una temperatura de 70 °C. Una vez seco el material, se elaboró su ficha taxonómica utilizando cartulinas Profalcote de 40 x 30 cm. A cada especie se le asignó un número de inventario para su conservación y registro dentro de la base de datos del Herbario UIS. Para la clasificación taxonómica se utilizaron claves dicotómicas y páginas de búsqueda de clasificación de flora internacionales [56,57]. El anexo C (Figura 2 y 3) muestra

algunas de las fotografías tomadas durante el desarrollo del trabajo de clasificación.

5.2.2 Estudio histo-anatómico del fique (*Furcraea sp.*). Para el estudio histo-anatómico se siguió un protocolo de cinco pasos. Durante el primer paso se realizaron, a mano alzada, cortes longitudinales y transversales en distintas zonas de la lámina de la hoja, utilizando cuchilla de afeitar común. Las muestras vegetales fueron posteriormente sumergidas en agua destilada dentro de cajas de Petri. En el segundo paso, se emplearon diferentes técnicas de tinción [58,59] para la caracterización anatómica de la hoja, siguiendo procedimientos de tinción establecidos por Álvarez, *et al.* en 1975. [59] y Cañas, en 1983 [58].

El tercer paso incluye el montaje de cada muestra sin o con post-tinción al microscopio óptico, y su posterior observación microscópica. En el cuarto paso se consideró el análisis para la determinación morfológica e histológica de los tejidos y las fibras presentes en la hoja del fique. Finalmente, los análisis se registraron en imágenes digitales capturadas por un microscopio óptico de luz (*Nikon*) acoplado a una cámara digital (*Cannon*) y con un microscopio (*Leica*), acoplado a cámara digital (*Leica*) para observaciones de estructuras en modo paralelo y contraste.

5.2.3 Reconocimiento de fibras en la hoja. La caracterización histológica permitió la observación de los tejidos presentes en la hoja y también las fibras. El reconocimiento de las fibras se realizó especialmente con la tinción de fluroglucina alcohólica en solución de HCl al 37% y tinción de cloruro de zinc yodado descritas por Álvarez, *et al.* en 1975. Estas técnicas de reconocimiento y su aplicación específica se describen a continuación:

La fluoroglucina alcohólica en solución de HCl al 37% fue usada para reconocer la presencia de lignina en las fibras localizadas en los tejidos de sostén y de

conducción. La fluoroglucina reacciona con los coniferaldehidos presentes en la lignina para dar el color fucsia característico de esta tinción. La muestra, montada sobre una lámina portaobjetos fue secada ligeramente con papel filtro, se le agregó una gota de fluroglucina alcohólica al 1%, y se dejó secar ligeramente. Enseguida se agregó 1 gota de HCl concentrado y se cubrió con una laminilla de cubreobjetos para su observación microscópica. La tinción con el cloruro de zinc yodado permitió reconocer la presencia de celulosa en las paredes de las células; para ello se adicionó 1 gota de cloruro de zinc yodado a la muestra, se cubrió y se observó al microscopio

Además de las fibras, también, se realizó la caracterización de los tejidos propios de la hoja, trabajo que por reporte de literatura aún no se ha realizado. Estos tejidos fueron reconocidos y tratados con las tinciones ya descritas y con las siguientes: solución de etanol al 70%, sudan III, eosina y tionina. La solución de etanol al 70% y Sudan III permitió el reconocimiento de grasas en la epidermis (cutina) y suberina en el tejido protector de la epidermis. Los cortes fueron sumergidos en alcohol al 70% durante 3 minutos y luego en una solución de Sudan III durante 20 minutos; luego, secados, lavados varias veces con agua destilada y colocados en una lámina portaobjetos y cubiertos, para su observación microscópica. La solución de eosina se usó para la observación de los tejidos conductores o haces vasculares y la solución de tionina para el reconocimiento de estructuras celulares como presencia de cristales, engrosamientos, cloroplastos, gránulos de reserva, entre otros; presentes en los tejidos fundamentales.

5.2.4 Caracterización. La caracterización fue realizada con microscopía óptica. Las secciones fueron observadas con microscopio óptico *Nikon Eclipse 55i* de luz con acople de cámara digital (*Cannon*) para la obtención de micrografías tomadas con objetivos a resoluciones de magnificación de 4X, 10X y 40X de alta resolución en la escala micrométrica. De igual forma, para la observación de estructuras orgánicas e inorgánicas en dimensiones de, 40 μm y 60 μm se utilizó el

microscopio *Leica MC120HD*, acoplado a una cámara digital (*Leica*) en modo de operación en paralelo y contraste.

5.3. COMPONENTE QUÍMICO

5.3.1. Limpieza y pre-tratamiento de bagazo/estopa de fique.

5.3.1.1 Limpieza y purificación de la estopa. Las fibras crudas de la estopa de Fique fueron manualmente separadas del bagazo con un cepillo metálico y lavadas con abundante agua destilada varios veces hasta obtener un material limpio y homogéneo.

5.3.1.2 Pre-tratamiento con Irradiación ultrasonido. Las fibras fueron limpiadas a profundidad en el baño de ultrasonido (Branson Ultrasonics, 40 kHz, 130 W) durante 60 minutos a temperatura ambiente, para lograr la eliminación de residuos; seguidamente se sometieron a un proceso de secado a 60 °C durante 12 horas y finalmente fueron seccionadas en cortes de tamaño milimétrico.

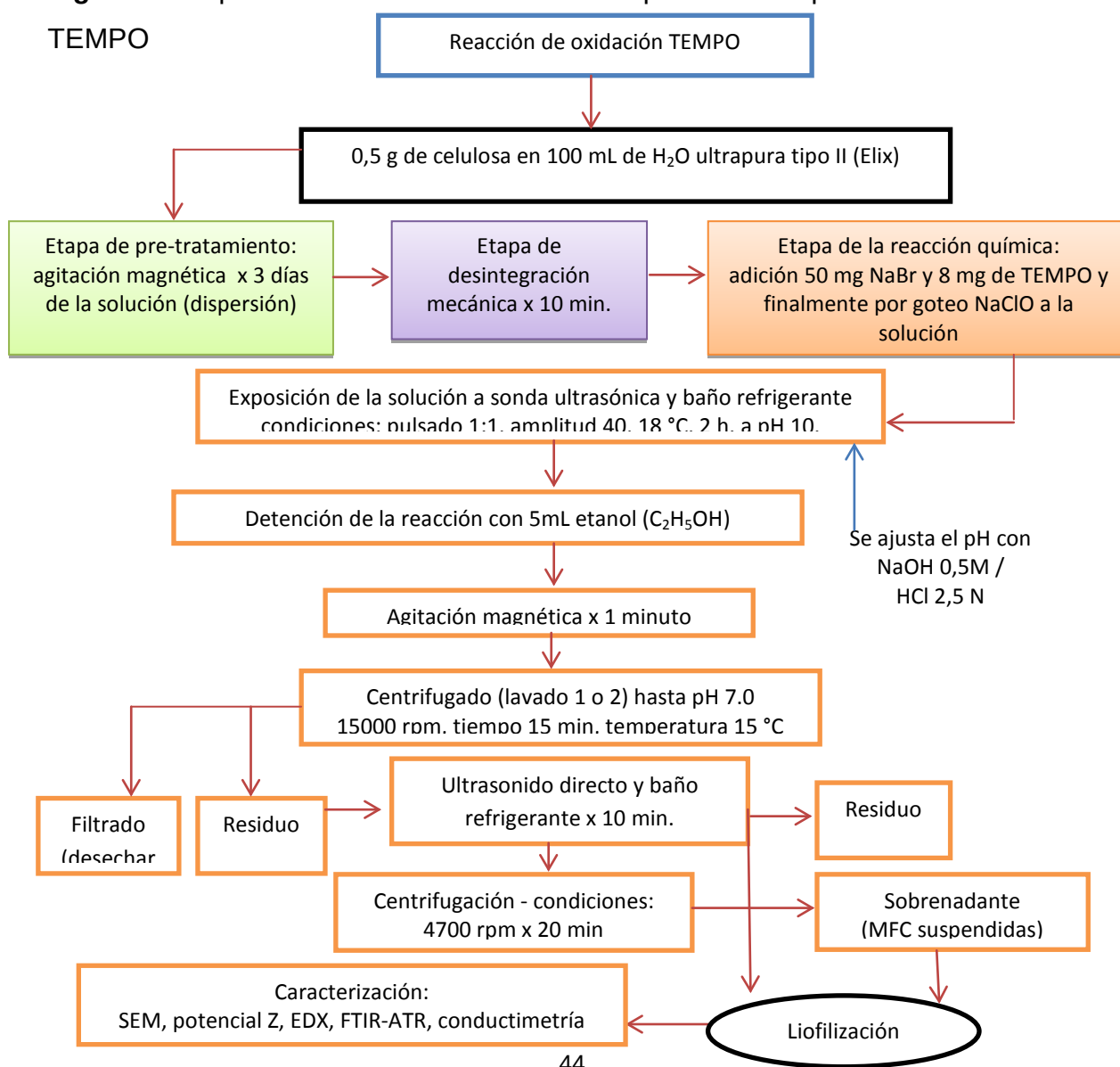
5.3.2 Eliminación de lignina y hemicelulosa. Caracterizado el material objeto de estudio, se seleccionó la estopa cruda, limpia, seca, y se realizaron cortes 0.5 cm de longitud, para darle un tratamiento de blanqueamiento con peróxido alcalino, y así lograr la obtención de la celulosa.

En un vaso de precipitados se mezclaron 1 g de estopa y una solución de 5% de H_2O_2 , ajustando el pH a 11.5, agregando una solución de NaOH. La mezcla fue colocada en el baño de ultrasonido a 25 °C por 30 minutos. A continuación, se realizó una primera filtración en la cual el filtrado se almacena para su posterior análisis (Parte B) y el residuo de celulosa obtenido fue lavado con abundante agua destilada y llevado al generador de ultrasonido por 30 minutos (frecuencia 20 kHz, potencia 750 W, amplitud 40% y pulsado 1:1); se realizó una segunda filtración para eliminar el filtrado y obtener la celulosa, que es almacenada y secada en horno por 12 horas a 50 °C.

5.3.3 Obtención de MFC a partir de estopa mediante oxidación TEMPO. Las MFC se obtuvieron a partir de estopa de fique deslignificada sometida a oxidación TEMPO (2,2,6,6-tetrametilpiperidin-1-oxilo) en presencia de NaOH/NaOCl como se muestra en el esquema de la figura 5. Para la obtención de las mejores condiciones en el proceso se realizaron 7 experimentos (tabla 3), variando el volumen de NaClO durante la reacción [34,33].

5.3.4. Síntesis *In situ* DE ZnO NPs sobre las MFC para obtención del biocomposito.

Figura 5. Esquema de la obtención de MFC a partir de estopa mediante oxidación TEMPO



5.3.4.1 Síntesis. Para la síntesis de NPs ZnO, se seleccionaron las MFC obtenidas a una mayor relación molar, ya que a una mayor relación molar se apreció una mayor repulsión electrostática entre las microfibrillas.

Tabla 3. Condiciones experimentales para la oxidación con TEMPO

Experimento	Muestras	Relación Molar Celulosa:NaClO.	Celulosa (g)	NaClO (mL)
1	A	1:1	0.5	2.7
2	B	1:1	0.5	2.7
3	C	1:1.5	0.5	4.0
4	D	1: 2	0.5	5.4
5	E	1: 2.5	0.5	6.5
6	F	1: 2.5	0.5	6.5
7	G	1:2.5	0.5	6.5

Se pesó una cantidad de 50 mg de MFC liofilizada y se preparó una solución precursora de 0.1 M de ZnSO_4 . Seguidamente, se prepararon soluciones de NaOH a concentraciones de 2 M, 1 M y 0.4 M estableciendo las relaciones molares experimentales 1:20, 1:10 y 1:4, entre celulosa:NaClO para definir las mejores condiciones de síntesis. En un vaso se mezclaron 50 mL de agua destilada y 25 mL de solución de NaOH, de acuerdo a cada relación molar, como se muestra en la tabla 4 y se sumergieron las MFC previamente pesadas, adicionando por goteo la solución precursora de ZnSO_4 . Se establecieron dos tipos de tratamiento: uno por irradiación por ultrasonido (US) y otro por calentamiento. Los tratamientos por irradiación por ultrasonido son llevados a la sonda generadora de ultrasonido, pulsado 1:1 por 20 minutos a temperatura ambiente y los tratamientos sometidos a calentamiento fueron llevados a 60 °C por 60 minutos en plancha térmica. El lavado del material obtenido se realizó por centrifugación utilizando el equipo *Sigma 4-16KS* a 3000 rpm por 5 minutos hasta

obtener el bionanocomposito en un pH neutro. Los sobrenadantes y residuos obtenidos en cada tratamiento fueron liofilizados en el equipo *Labconco* a temperatura de -88 °C por 72 horas a una presión de vacío de 0.180 mBar. El esquema de la síntesis se encuentra en el anexo D (Figura 4).

Tabla 4. Condiciones experimentales durante la síntesis de NPs ZnO en MFC de estopa. C (calentamiento) y US (irradiación por ultrasonido)

Exp. N0.	Relación molar ZnSO ₄ :NaOH	Condición experimental	Peso MFC (mg)
1	1: 4	C	50
2	1: 4	US	
3	1:10	C	
4	1:10	US	
5	1:20	C	
6	1:20	US	

5.3.5 Determinación de propiedades antibacteriales del biocomposito. Para la evaluación de las propiedades antibacteriales de los biocompositos se utilizó el método de ensayo de inhibición, tomando como parámetro bacteriológico estándar el *Staphylococcus aureus* (ATCC 29213); el cual fue incubado a 37 °C durante 16 horas.

Las muestras analizadas se describen en la tabla 5 y fueron diluidas en agua desionizada y en DMSO a 1000 ppm. La Unidad de medida en la prueba fue la presencia/ausencia de halo de inhibición.

Tabla 5. Descripción de las muestras de biocomposito utilizadas en la evaluación antibacterial por el método antibiograma

Muestra No.	Nombre de la muestra	Cantidad de MFC disuelta (mg)	Cantidad del solvente (mL.)
Blanco	MFC en H ₂ O desionizada	10 mg	10 mL
I	Biocomposito 1:4 US en H ₂ O desionizada	5 mg.	5 mL
II	Residuo 1:4 US en H ₂ O desionizada	5 mg.	5 mL
III	Biocomposito 1:20 US en H ₂ O desionizada	5 mg.	5 mL
Blanco	MFC en DMSO	10 mg	10 mL
I	Biocomposito 1:4 US en DMSO	5 mg.	5 mL
II	Residuo 1:4 US en DMSO	5 mg.	5 mL
III	Biocomposito 1:20 US en DMSO	5 mg.	5 mL

5.3.6. Caracterización.

5.3.6.1 Microscopia de Barrido Electrónico (SEM). Las microscopias electrónicas de barrido de emisión de campo (FESEM, *Field Emission Scanning Electron Microscopy*) se tomaron usando un equipo *QUANTA FEG 650 (FEI)* con detector LFD (*Large Field Detector*), a 7 kV. La superficie de las fibras analizadas de la estopa cruda y de la celulosa fue recubierta con una delgada capa de carbono, para lograr una óptima resolución en las imágenes y para el análisis las MFC y las NPs de ZnO se dispersaron en agua destilada (0.5 mL de muestra en 2.5 mL de agua destilada), y luego recubiertas con una película fina de oro para mejorar la conductividad de la muestra.

5.3.6.2 Espectroscopía de Energía Dispersiva (EDX). Se realizó análisis elemental mediante espectroscopia de rayos X de energía dispersa (EDX) a 20 kV, herramienta adjunta al microscopio, para la determinación de la composición química de muestras de estopa cruda, las MFC y los biocompositos.

5.3.6.3 Espectroscopia infrarrojo de transformada de Fourier con reflectancia total atenuada (FTIR-ATR). Para la toma de los espectros infrarrojos de reflectancia total atenuada de las fibras crudas de estopa, bagazo y de la celulosa, se utilizó un espectrofotómetro infrarrojo de transformada de Fourier con reflectancia total atenuada, marca Bruker-Tensor 27, con cristal de diamante de índice de refracción 2. Los parámetros usados fueron: velocidad 2.2 kHz, resolución 2 cm^{-1} , 32 scan y barrido de $4000\text{--}400\text{ cm}^{-1}$. Las muestras de MFC y de NPs ZnO para su análisis fueron liofilizadas y los parámetros usados fueron: velocidad de scan 10 kHz, resolución de 4 cm^{-1} , 16 scan, apertura 12 mm y barrido de $4000\text{--}400\text{ cm}^{-1}$.

5.3.6.4 Difracción de Rayos X (DRX). Para el análisis de DRX se utilizó un difractómetro marca Bruker modelo D8 DISCOVER con geometría DaVinci de haz paralelo, radiación $\text{CuK}\alpha_1$ y un detector de área VANTEC-500. Cada una de las muestras fue depositada en un portamuestra de polimetilmetracrilato (PMMA) mediante la técnica de llenado frontal, usando fibras trituradas. La identificación de las fases cristalinas se realizó usando la base de datos del software Crystallographic Search-Match. Las condiciones empleadas en la toma de datos fueron voltaje 40 kV, corriente 30 mA, micro rendija de divergencia 1 mm, colimador 0.5 mm, rango de medición $25\text{--}55^\circ$ Theta en tres intervalos, incremento de intervalo 15° 2Theta, detector bidimensional (Vantec-500), tipo de barrido a pasos y tiempo de medición 1800 segundos.

Las Muestras de MFC y NPs ZnO fueron pulverizadas y las condiciones empleadas en la toma de datos fueron: voltaje 40 kV, corriente 40 mA, rendija de divergencia 0.6 mm, rendijas Soller Primario 2.5° muestreo 0.01526° 2theta, rango

de medición 3.5-70° 2theta, radiación CuK α 1, filtro níquel, detector lineal lynxEye, tipo de barrido a pasos y tiempo de muestreo 1 segundo. Se calculó el grado de cristalinidad de las muestras MFC, utilizando la fórmula de la ecuación 1 (Segal et al., 1959) [60,61].

$$CrI = \frac{I_{002} - I_{am}}{I_{002}} \times 100 \quad (\text{Ecuación 1})$$

En la que, I_{002} es la intensidad de la porción cristalina de la celulosa y I_{am} es la intensidad de la parte amorfa.

5.3.6.5 Dispersión Dinámica de Luz (*Dynamic light scattering DLS*). En las MFC se determinó la distribución de tamaño medio de partícula y su potencial Z. Se dispersó 1.5 mL de cada muestra en una celda introducida en el equipo Zeta sizer Nano ZS90, marca Malvern con láser rojo de HeNe ($\lambda = 632.8$ nm); proporcionándole al software del fabricante algunas características del medio dispersante para el posterior procedimiento de la luz dispersada, la estimación del tamaño de partícula y el valor del potencial Z. Estos parámetros fueron $\lambda = 190$ nm del agua e índice de refracción (~ 1.33). Para determinar el tamaño de partícula se utilizó la técnica dynamic light scattering (90°) con celdas desechables DTS0012 de poliestireno y para determinar potencial z se usó la técnica M3-PALS® y celdas DTS1060/1061 de policarbonato transparente. Las soluciones dispersas resultantes de los biocompositos de NPs ZnO, se caracterizaron para determinar el tamaño de partícula, siguiendo los mismos parámetros en el equipo.

5.3.6.6 Análisis termogravimétrico TGA y DSC. Este análisis fue realizado a las muestras de MFC en el equipo Discovery TGA 1-0207, utilizando como gas de arrastre flujo de nitrógeno (50 mL/min) y una rampa de temperatura desde 10.00 °C/min hasta 400.00 °C. Se tomaron 50 mg de las muestras secas y se colocaron en una bandeja de platino para su análisis.

5.3.6.7 Titulación conductimétrica. El contenido de carboxilo de las muestras de celulosa oxidada se determinó por valoración conductimétrica. Las muestras de

MFC (50 mg) se suspendieron en 15 mL de soluciones de HCl 0.01 M. Después de 10 min de agitación, las suspensiones se titularon con NaOH 0.01 M. Las curvas de valoración permitieron calcular la cantidad de grupos carboxilo y por lo tanto el grado de oxidación de la superficie de las MFCs (DO), que viene dada por la siguiente ecuación 2 (Habibi *et al.* 2006) [33].

$$DO = \frac{162 \times C \times (V_2 - V_1)}{W - 36 \times C \times (V_2 - V_1)} \quad (\text{Ecuación 2})$$

En donde C es la concentración de NaOH (mol / L), V1 y V2 son la cantidad de NaOH (en L), W (g) el peso de la muestra secada en el horno; el valor de 36 corresponde a la diferencia entre el peso molecular de 3.15 mmol de una unidad de anhidroglucosa (AGU) y la de la sal de sodio de la fracción del ácido glucurónico. La titulación conductimétrica se realizó con un Conductímetro marca Orion 4STAR Thermo Scientific [62].

5.3.6.8 Espectrofotometría ultravioleta-visible (UV-VIS). Se utilizó un espectrómetro marca Thermo Scientific Genesys 10S para el análisis de los biocompositos obtenidos; los cuales fueron medidos en una escala de barrido desde 200-800 nm, con una velocidad de escaneo medio. Los espectros se tomaron utilizando como referencia el agua desionizada.

6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

6.1. COMPONENTE BIOLÓGICO

6.1.1 Clasificación taxonómica del fique (*Furcraea* sp.). Algunas especies autóctonas de fique, cultivadas en Santander, fueron caracterizadas y estudiadas en el presente proyecto. La clasificación taxonómica de las plantas se presenta en la tabla 1 y su clasificación botánica se presenta en la tabla 6 [56,57]

Tabla 6. Estudio botánico de las especies de fique (*Furcraea* sp.)

Especie	Fique perolero <i>Furcraea cabuya</i> Trel.	Uña de gato <i>Furcraea macrophylla</i> Baker
Caracteres botánicos comunes	Raíces primarias ramificadas. Pseudotallo cilíndrico y erguido. Hojas verdes, verticiladas, sencillas, simples, lineales dispuestas helicoidalmente y paralelinervias. Limbo carnoso. Inflorescencia plurifloral, compuesta y paniculada. Flores hermafroditas, actinomorfas, con simetría radial, entomófilas y anemófilas rodeadas por 2 o más brácteas membranosas. Presencia de tres sépalos de color verde claro, corola blanca verdosa, dialipétala con periantio inserto encima del ovario. Presencia de 6 estambres, opuestos al periantio y polen amarillo. Presencia de hijuelos para su reproducción.	
Caracteres taxonómicos diferencian	Hojas con borde inerme y ápice con presencia de espina herbácea.	Hojas dentadas aserradas y presencia de aguijón pequeño lignificado distal.

La especie *Furcraea cabuya* Trel, llamado fique perolero, cabuya o fique liso, se caracteriza botánicamente por ser un arbusto carnoso de una altura promedio de 15 a 30 m. de altura (incluyendo la planta y la longitud de su maguey cuando está en floración), con presencia de inflorescencia floral paniculada, cuyas flores se disponen en un escapo con presencia de cáliz floral verde, corola verde-amarillenta, anteras amarillas y filamentos verdes.

Las hojas poseen bordes inermes con espinas terminales de color verde, con dimensiones de 1.50 m de longitud y 10 a 15 cm de ancho dispuestas helicoidalmente alrededor de su corto tallo. La especie *Furcraea macrophylla* Baker., conocida comúnmente como uña de gato o fique macho, se destaca por la presencia en sus hojas de espinas encorvadas en sus bordes y presencia de un pequeño aguijón, fino y terminal [56,57].

El trabajo realizado contribuye al fortalecimiento del Herbario UIS como centro de documentación de las especies autóctonas del departamento e incentiva la investigación en torno a la creación de líneas temáticas de investigación para un mejor aprovechamiento de la planta.

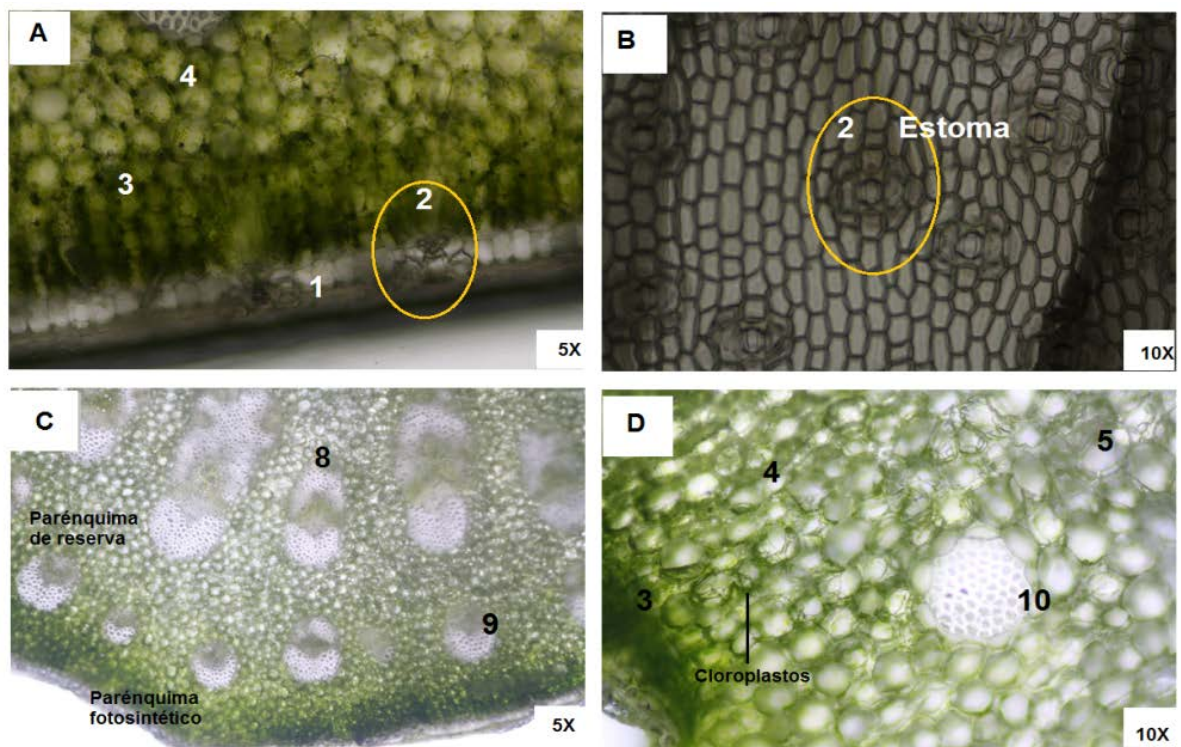
La figura 6 registra las fichas taxonómicas de las 2 especies conservadas en el Herbario de la Escuela de Biología de la Universidad Industrial de Santander.

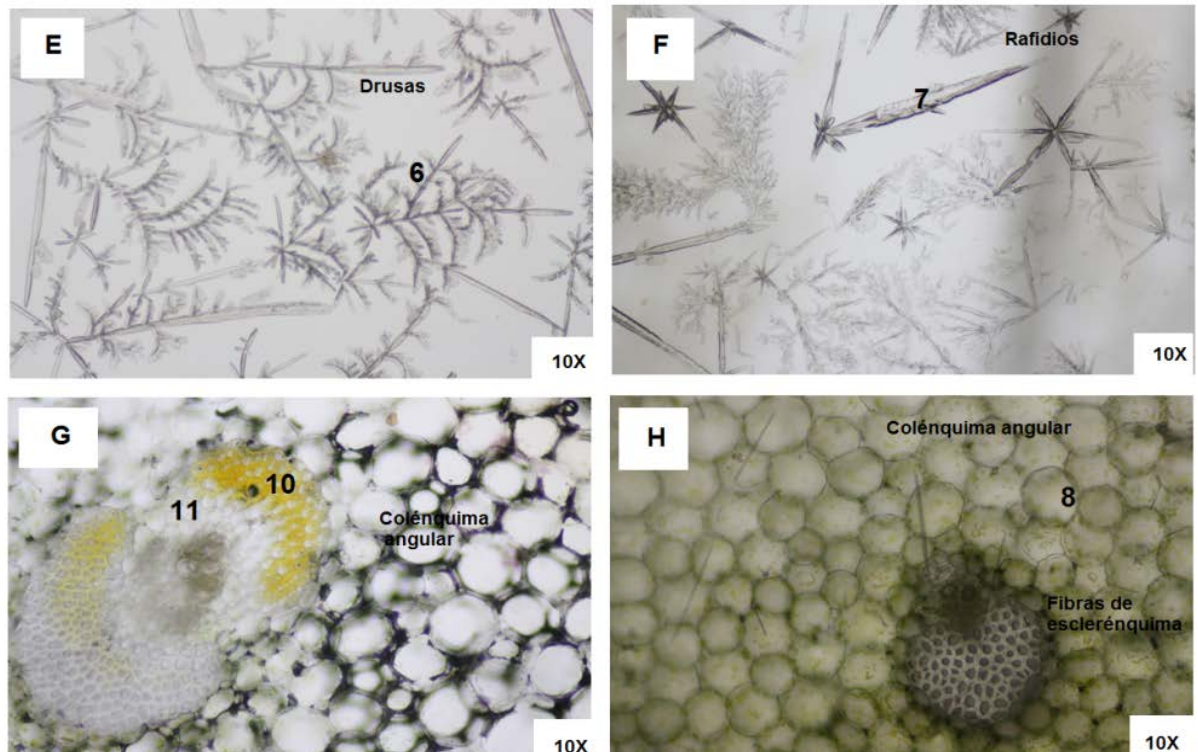
Figura 6. Fotografías de las fichas taxonómicas (A, B) Figue perolero (*Furcraea cabuya* Trel.) y (C, D) uña de gato (*Furcraea macrophylla* Baker)



6.1.2 Estudio histo-anatómico del figue (*Furcraea* sp.). En vista de corte transversal de la hoja adulta, a lo largo de la superficie abaxial (Fig. 7A-1 y 7B-2) se encuentra una epidermis formada por una monocapa de células dispuestas de manera ordenada, sin cloroplastos, con presencia en su interior de una gran vacuola; de forma rectangular muy unidas, sin dejar espacios intercelulares y gran presencia de estomas tetracíticos (Fig. 7A-2 y 7B-2) ubicados al mismo nivel de sus células acompañantes. Esta epidermis se encuentra cubierta por una capa gruesa de cutícula, debajo de la epidermis se encuentra el parénquima clorófilico o mesófilo que se caracteriza por la presencia de células alargadas que se ubica perpendicular a la epidermis, con gran abundancia de cloroplastos lo que le da una coloración verde intensa (Fig. 7A-3 y 7D-3).

Figura 7. Micrografías vistas en corte transversal de los tejidos y fibras presentes en la hoja de fique (*Furcraea sp.*) tomada con microscopio óptico en aumento 5X y 10X. (A) Tejido epitelial de la superficie abaxial, mesófilo y colénquima angular. (B) Tejido epitelial abaxial. (C) Haces vasculares. (D) Fibras xilares propias del xilema (tejido esclerenquimático). (E-F) Presencia de cristales de oxalato de calcio. (G) Haz vascular colateral cerrado en medio de tejido colénquimático. (H) Fibra con presencia de rafidios





Género: *Furcraea macrophylla* Baker (fique uña de gato)
 Técnica: Corte a mano alzada sin ninguna técnica de tinción

Debajo del mesófilo se encuentra el tejido colénquima angular conformado por 5-6 capas de células pentagonales o hexagonales, con poca presencia de cloroplastos de paredes engrosadas uniformemente en sus vértices (Fig. 7A-4 y 7D-4). Entre las paredes queda un espacio libre, que permite un fácil traslado de material de célula a célula; pero ocasionalmente se engruesa toda la pared. La región medular de la hoja se encuentra conformada por células de parénquima de reserva (Fig. 7D-5) cuyas células son isodimétricas, con presencia de cloroplastos en menor cantidad, pero gran predominio de plastos de almacenamiento y vacuolas, en cuyo interior se almacenan sustancias, como granos de almidón, que pueden ser grandes, pequeños, excéntricos y concéntricos (Fig. 7H-8) y cristales de oxalato de calcio en forma de drusas y rafidios, llamadas así por su parecido a flores y a agujas (Fig. 7E-6 y 7F-7) [58].

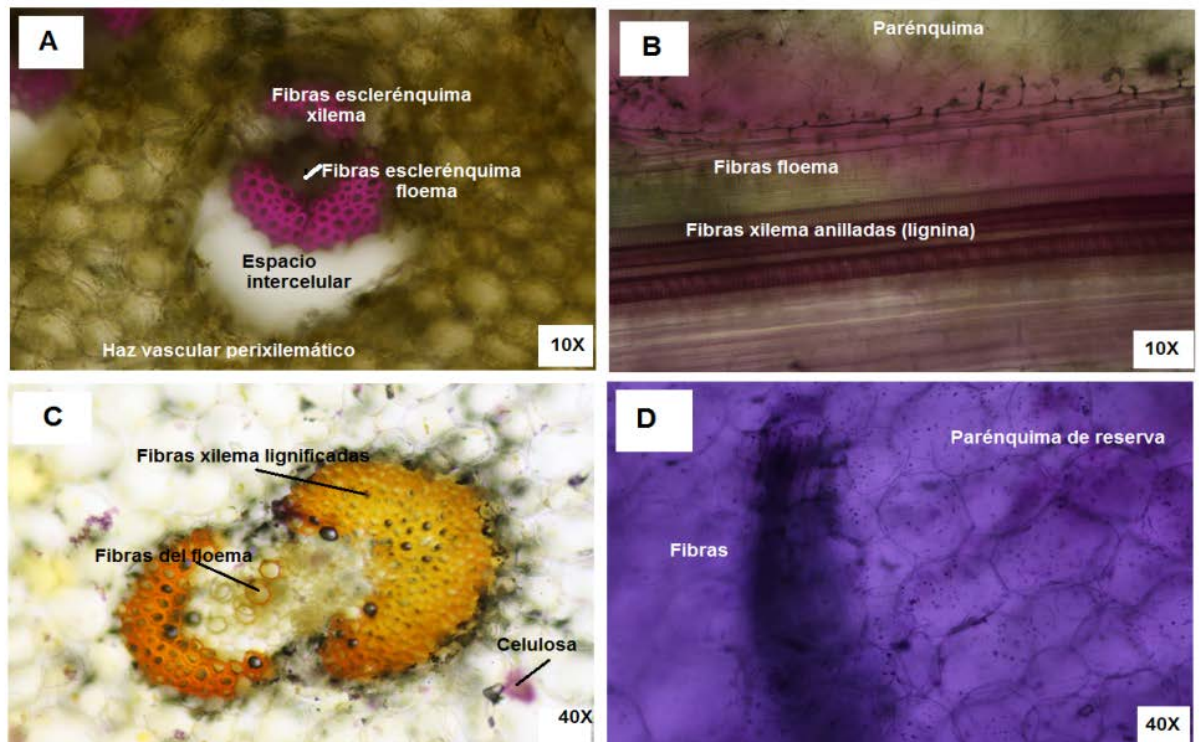
Es típico encontrar los paquetes de fibras en forma de haces vasculares y los tejidos de sostén intercalados entre el colénquima (Fig. 7C-8 y 7C-9). El fique por ser una planta monocotiledónea posee haces vasculares colaterales cerrados, en donde las fibras del xilema tienen forma de U o herradura, rodeando parcialmente a las fibras del floema (Fig. 7C-8) y también posee haces vasculares concéntricos peri- xilemáticos, en que las fibras del xilema encierran a las del floema (Fig. 7C-9).

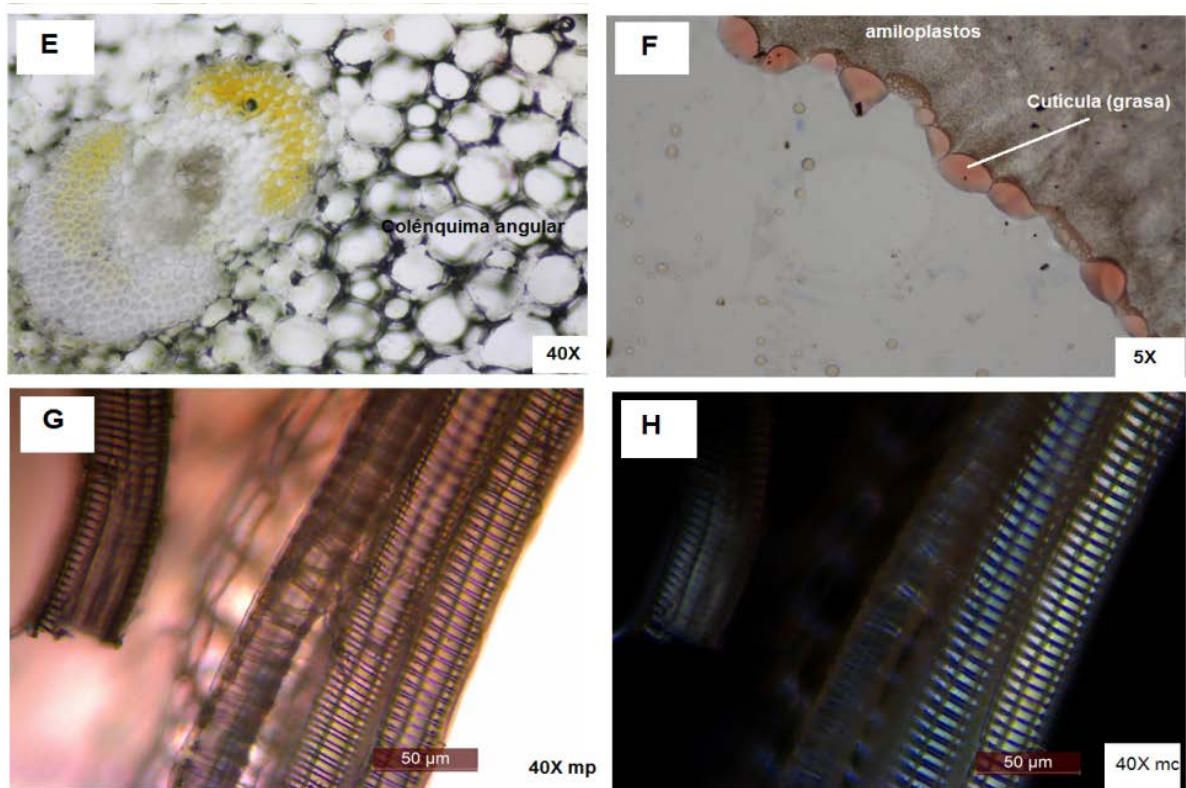
Las fibras del xilema se observan como células redondeadas, de pared gruesa para brindar sostén mecánico a la hoja (Fig. 7G-10, 7H-10 y 7D-10). Las fibras del floema se observan como un tejido complejo de células en alto relieve, debido a sus vasos de diámetros muy finos y paredes celulares engrosadas sin lignificar, los cuales se ubican en medio de las células del xilema (Fig. 7G-11) [21, 23,24].

6.1.3 Reconocimiento de fibras de la hoja. La figura 8 presenta algunas de las micrografías tomadas con aumento de 10X, en donde sobresalen las fibras propias de la planta de fique, observadas con las diferentes técnicas de tinción utilizadas e identificando la presencia de la celulosa y la lignina [59]. El reconocimiento de celulosa se realizó con cloruro de zinc yodado, dándoles a las fibras una coloración fucsia (Figuras 8A y 8B) y violáceo a las paredes celulares en los tejidos del parénquima de reserva y el colénquima angular (Fig. 8D y 8E).

De igual forma, el reconocimiento de la presencia de la lignina, dando una coloración amarilla-naranja en las fibras del xilema (Fig. 8C). Por microscopía de modo en paralelo y en modo contraste se pudo evidenciar a escala de 100 μm la presencia de la lignina, la cual se dispone en espiral alrededor de las paredes de los vasos del xilema, dando una coloración plateada (Fig. 8G y 8H).

Figura 8. Micrografías de reconocimiento de fibras en hoja de fique tomadas con microscopio óptico en aumento 5X, 10X, 40X (A) Corte transversal de hoja - fibras del xilema (esclerénquima). Tinción: fluroglucina alcohólica + HCl. (B) Corte longitudinal-fibras del xilema y floema. Tinción: fluroglucina alcohólica + HCl. (C) Corte transversal – haz vascular colateral cerrado. Tinción: cloruro de zinc yodado. (D) Corte transversal–Parénquima de reserva. Tinción: tionina. (E) Corte transversal-fibras xilema lignificadas y paredes celulósicas del tejido colénquima angular. Tinción: cloruro de zinc yodado. (F) Corte transversal-epidermis superficie abaxial-cutícula. Tinción: sudan III. (G, H) Corte longitudinal-fibras de xilema tomadas en microscopio óptico en modo paralelo (MP) y en contraste (MC)





Género: *Furcraea macrophylla* Baker (fique uña de gato)

Técnica: Corte a mano alzada con fluroglucina alcohólica + HCl, cloruro de zinc yodado, sudan III, eosina y tionina.

6.2. COMPONENTE QUÍMICO

6.2.1. Limpieza y pre-tratamiento de bagazo/estopa de fique.

6.2.1.1 Limpieza y purificación de la estopa. La figura 9 ilustra el procedimiento de limpieza y pre-tratamiento dado a las fibras de estopa y el bagazo desde su recolección en el campo, lavado, cepillado, tratamiento con ultrasonido y secado. El cepillado permitió la separación de la estopa del bagazo y la eliminación de residuos orgánicos presentes en las fibras; de igual forma, el tratamiento por ultrasonido facilitó la limpieza profunda de ceras, lignina, y otras sustancias adheridas al material [42].

Figura 9. Limpieza y pre-tratamiento de bagazo/estopa de fique. (A) Recolección del material vegetal. (B) Lavado, cepillado y separación. (C) Bagazo crudo (D) Estopa cruda

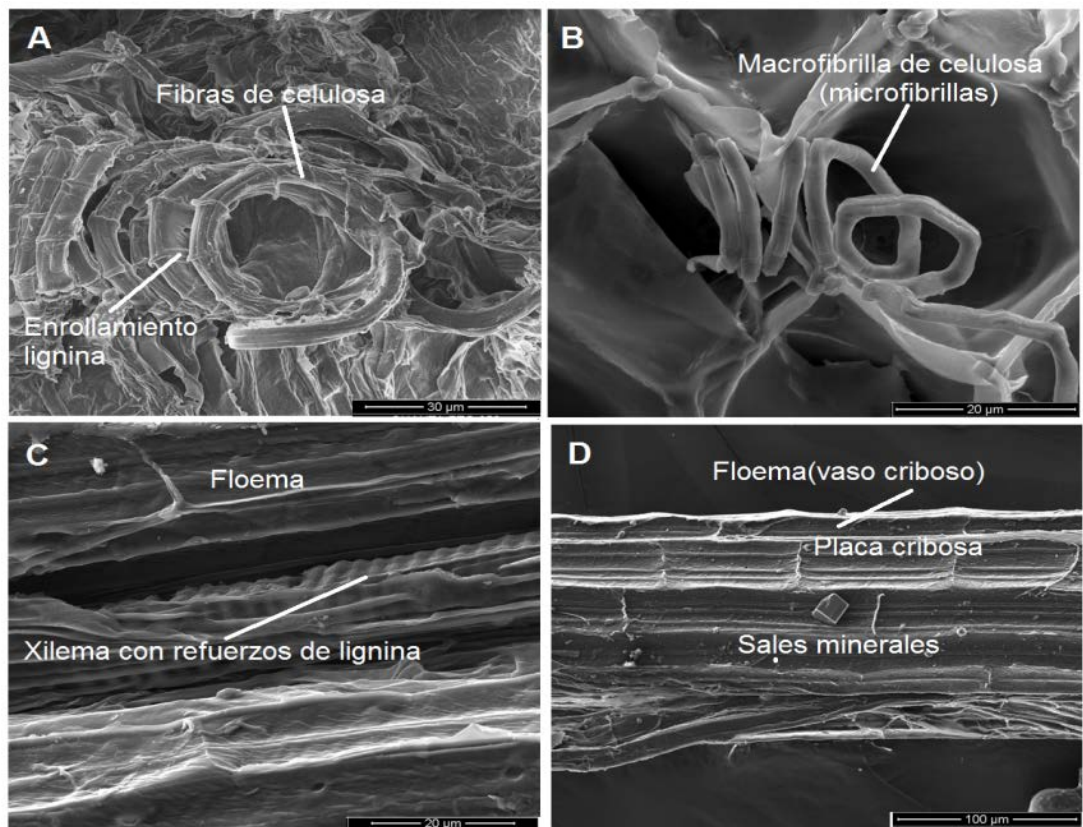


6.2.1.2 Caracterización del bagazo y estopa cruda. Se vio una reducción significativa del peso de la estopa y el bagazo después de la limpieza y secado; su peso húmedo se toma después de su separación y lavado y se concluye que el porcentaje de humedad en la estopa y el bagazo fue de 82% y 67%, respectivamente.

1. Microscopia de Barrido Electrónico (SEM): la figura 10 muestra el análisis por microscopia de cuatro muestras correspondientes al bagazo y la estopa cruda. Se evidenció el enrollamiento helicoidal dado por la celulosa al empaquetarse y cristalizarse, formando finas hebras dentro de las paredes celulares y, a su vez, se aprecia cómo son adheridas entre sí por la lignina y la hemicelulosa (Fig. 10A). De igual forma, las microfibrillas de celulosa se organizan internamente formando microfibrillas empacadas adquiriendo su forma de espiral (Fig. 10B), al fondo de

la imagen, se observan cavidades hexagonales huecas que corresponden a las paredes celulares, las cuales se comunican entre sí por plasmodesmos [21]. En la estopa se observó la disposición de las fibras gruesas del xilema con presencia de refuerzos de lignina y los vasos cribosos delgados de las fibras del floema sin reforzamientos de lignina (Fig. 10C). La fibras del floema están formadas por celdas cortas que se unen entre sí por placas cribosas, en cuyo interior se encuentran cristales de sales minerales que son transportados (Fig. 10D) durante los procesos digestivos de la planta.

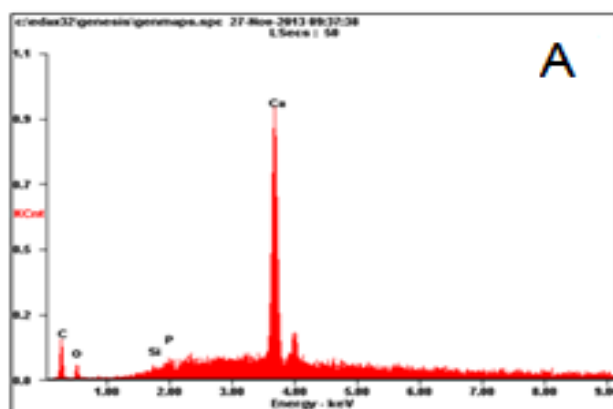
Figura 10. Micrografías FE-SEM. (A, B) Bagazo crudo. (C, D)Fibras de estopa cruda



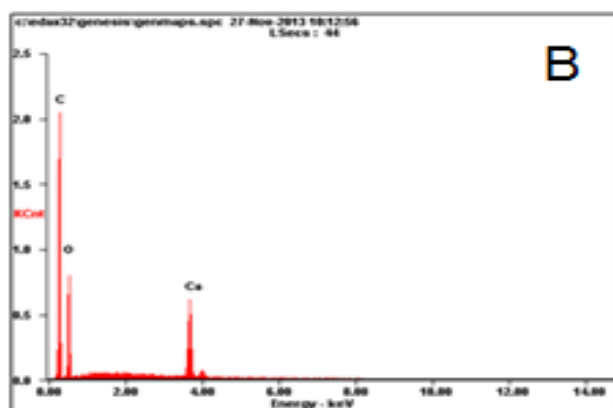
El análisis por EDX (Fig. 11A y 11B) permitió determinar la composición química de las fibras; se encontró una mayor proporción de carbono, oxígeno y calcio, y en menor proporción el silicio y fósforo. La presencia de calcio está asociada con la

necesidad de sostén mecánico en las plantas y por eso forma parte estructural de las células [21, 63]. El calcio es depositado en forma de cristales de oxalato, formando drusas y rafidios [58].

Figura 11. Espectros EDX tomados (A) bagazo crudo (B) Estopa cruda



Element	Wt %	At %
CK	14.22	30.50
OK	14.46	23.29
SiK	00.29	00.27
PK	01.46	01.21
CaK	69.57	44.73
Matriz	Correction	ZAF



Element	Wt %	At %
CK	31.45	48.57
OK	28.29	32.80
CaK	40.25	18.63
Matriz	Correction	ZAF

2. Espectroscopia infrarrojo de transformada de Fourier con reflectancia total atenuada (FTIR-ATR): en la figura 12 se observa que todos los materiales presentan bandas de absorción comunes que son características de la celulosa, hemicelulosa y lignina, como se resume en la tabla 7. Por otra parte, la figura 12 muestra que cuando se comparan la estopa y el bagazo, se evidencian dos bandas importantes. La primera a 1242 cm^{-1} que corresponde a la vibración del enlace C-O del anillo en el grupo guayacilo de la lignina y la segunda a 1730 cm^{-1} que corresponde a la tensión de los grupos carbonilo (C=O) presentes en la

hemicelulosa y la lignina. La presencia de la vibración 1161 cm^{-1} corresponde a la tensión asimétrica del enlace glucosídico β -(1-4) de la celulosa [64]. Es importante resaltar que las bandas de absorción son más intensas en las fibras de la estopa que en el bagazo.

Figura 12. Espectro FT-IR (ATR) del bagazo y las fibras de estopa crudas de fique

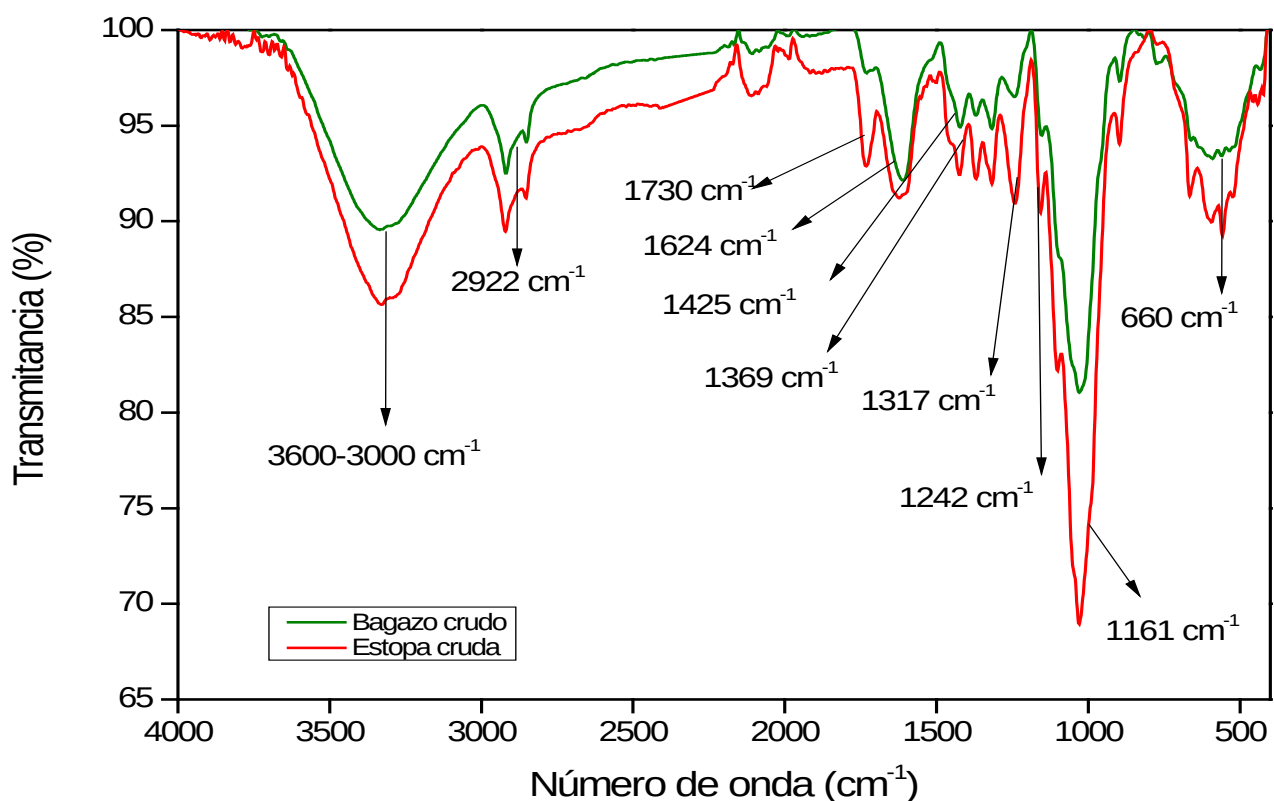


Tabla 7. Principales bandas de absorción y modos vibracionales del bagazo y la estopa cruda de fique (64)

CELULOSA			
Estopa cruda		Bagazo crudo	
No. onda [cm⁻¹]	Modo vibracional	No. onda [cm⁻¹]	Modo vibracional
3600-3000	OH (Tensión)	3316-3320	OH (Tensión)
1730	C=O (Tensión) hemicelulosa, lignina.	1733	C=O (Tensión) hemicelulosa, lignina.
1624	OH (agua absorbida, Tensión)	1616	OH (agua absorbida, Tensión)
1425	HCH, OCH (Flexión en el plano)	1424	HCH, OCH (Flexión en el plano)
1369	CH (Flexión en el plano)	1336	CH (Flexión en el plano)
1317	CH ₂ en el C ₁ (Balanceo)	1314	CH ₂ en el C ₁ (Balanceo)
1242	C-C, C-O, C=O lignina	1241	C-C, C-O, C=O lignina
1161	C-O-C enlace glucosídico β-(1→4)(Tensión asimétrica)	1164	C-O-C enlace glucosídico β-(1→4)(Tensión asimétrica)
1024	C-C, C-OH, C-H (Vibraciones de grupo)	1023	C-C, C-OH, C-H (Vibraciones de grupo)
897	Vibración de grupo del carbono anomérico, C ₁ -H	897	Vibración de grupo del carbono anomérico, C ₁ -H
660	C-OH (Flexión fuera del plano)	558	C-OH (Flexión fuera del plano)

3. Difracción de rayos X (DRX): la figura 13 presenta los difractogramas de rayos X del bagazo y la estopa cruda, en los cuales se evidencia los principales planos cristalinos característicos de la celulosa tipo I, la celulosa más abundante en la naturaleza [65]. Los difractogramas de las muestras de partida difieren en la distribución de los picos, en donde se observan tres señales para el difractograma de la estopa: una de mayor intensidad a $2\theta = 22.48^\circ$ (002), otras de menor intensidad a $2\theta = 34.59^\circ$ (004) y a $2\theta = 16.53^\circ$ (100).

Estos resultados son análogos a los reportados en la literatura [60,70], donde se refieren como los principales planos cristalinos para la celulosa tipo I. En ambos materiales se evidencia la presencia de numerosos tipos de sustancias presentes, reconociéndose por la gran variedad de intensidades pequeñas que corresponden a fases cristalinas que aún no se han podido determinar.

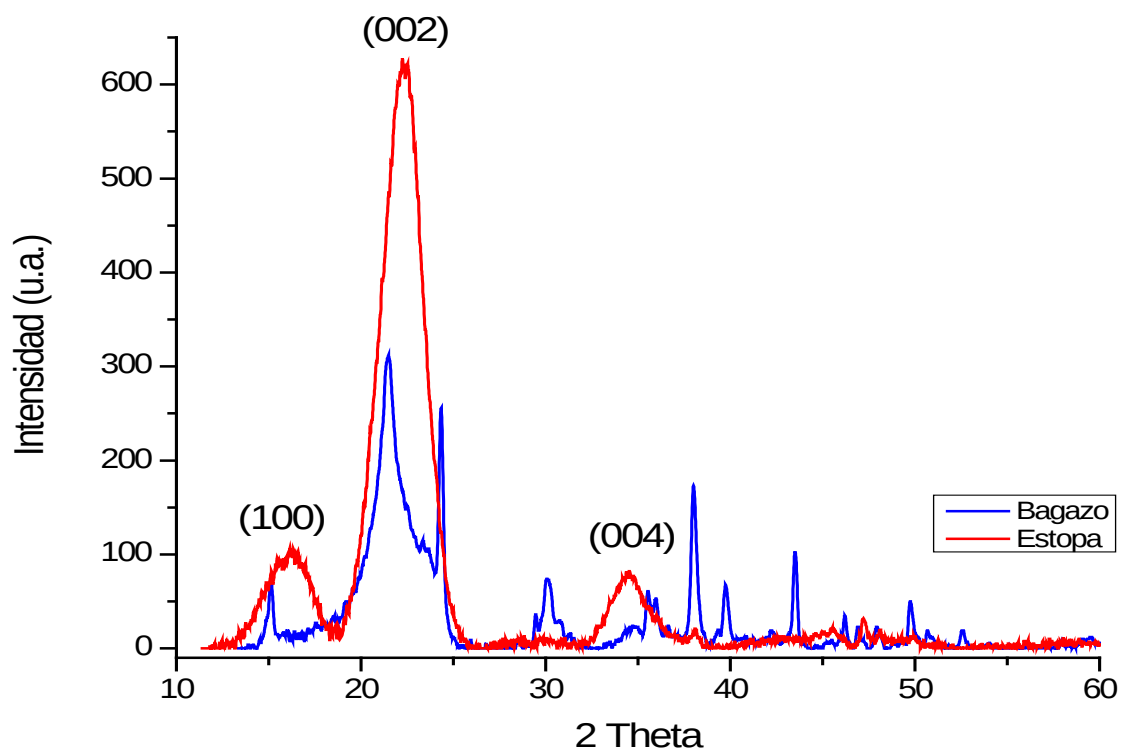
El índice de cristalinidad (Crl) se determinó mediante la ecuación 1; en donde I_{002} corresponde a la intensidad de la señal en 22.48° , la cual se relaciona con las regiones cristalinas y comprendida para valores de 2θ entre 22° y 23° . I_{am} ó la intensidad mínima se encontró en 17.88° , representa las regiones amorfas, y está comprendida para valores de 2θ entre 22.48° y 16.53° .

De esta forma, el Crl para la estopa fue de 57.12%. Este valor al ser comparado con el de otras fibras reportadas en la literatura es superior a las fibras de paja de arroz, coco y plátano; y es casi similar al de otras fibras como el trigo, piña y el kapok; pero comparando el Crl de la estopa de fique con el de las fibras de eucalipto, algodón, resulta ser inferior como se puede observar en la tabla 8 [71,72,73 y 74].

Tabla 8. Índices de cristalinidad (CrI) de algunas fibras naturales reportadas en la literatura [71-74]

Fibra	(CrI%)	Fibra	(CrI%)
Paja de arroz	40	Paja de trigo	55-65
Coco	27-33	Piña	44-60
Plátano	45	Kapok	35-50%
Eucalipto	78.9	Algodón	65

Figura 13. Difractograma de rayos X del bagazo y la estopa cruda del fique

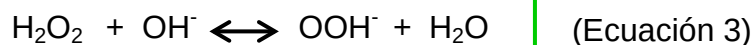


6.2.2. Eliminación de lignina y hemicelulosa. La celulosa obtenida a partir de la estopa cruda después de su deslignificación se muestra en la figura 14. Después de la reacción con el H_2O_2 se observó un cambio de coloración de beige a blanco indicando una eliminación significativa de la lignina y hemicelulosa en la superficie de las fibras de estopa.

Figura 14. (A) Fotografía de la estopa antes del tratamiento. (B) estopa obtenida después de la deslignificación



Teniendo en cuenta el cambio de coloración (de beige a blanco) en la celulosa deslignificada y su mayor cristalinidad se procedió a determinar las mejores condiciones experimentales para la separación de la hemicelulosa y lignina en la estopa, estas condiciones fueron: pH 11,5; 1% (p/v) de carga; 5% H_2O_2 ; Temp. 60°C ; tiempo de exposición 30 min y reacción llevada a cabo utilizando el baño de ultrasonido. Las mejores condiciones Se han reportado artículos sobre la deslignificación de pulpa de madera [66], y se puede apreciar que un pH alto estimula la aparición del ion activo en el proceso. La ecuación 3 representa la reacción [66].

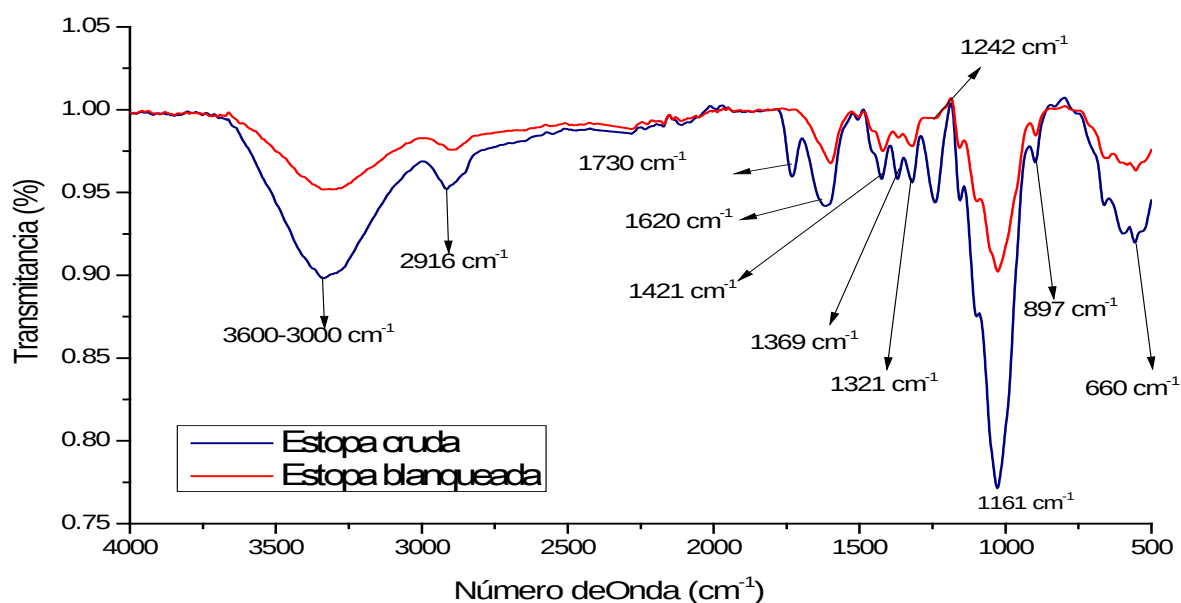


Durante la reacción inicialmente se da la formación del ion hidroperóxido en el medio alcalino, seguidamente este ión por ser un fuerte nucleófilo, durante el blanqueo, ataca preferentemente al grupo carbonilo y etilénico presentes en la lignina convirtiéndolos en especies no cromóforas durante el tratamiento [66]. En general, la reacción de deslignificación incluye la escisión de los enlaces fenólicos α -O-4, la escisión de enlaces no fenólico β -O-4, y eliminación de las fracciones de lignina residual, ya sea por escisión de los enlaces carbono-carbono o por la degradación de los hidratos de carbono, liberando fracciones de lignina en hidratos de carbono, que se oxidan principalmente en ácidos carboxílicos alifáticos. [66].

6.2.2.1 Caracterización.

1. Espectroscopia infrarrojo de transformada de Fourier con reflectancia total atenuada (FTIR-ATR):

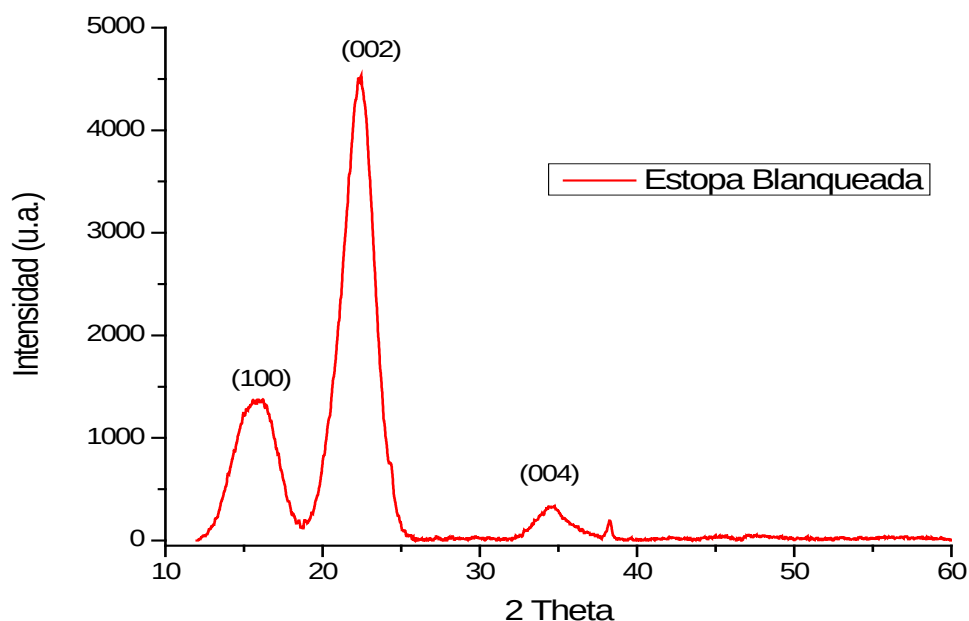
Figura 15. Espectro comparativo de FT-IR (ATR) entre la fibra de estopa cruda y la blanqueada de fique



El espectro de la figura 15 muestra la estopa tratada, comparada con la estopa cruda. Las bandas relacionadas con la hemicelulosa y la lignina en 1730 cm^{-1} y 1242 cm^{-1} desaparecieron, lo cual indica la remoción de estos componentes de la matriz lignocelulósica.

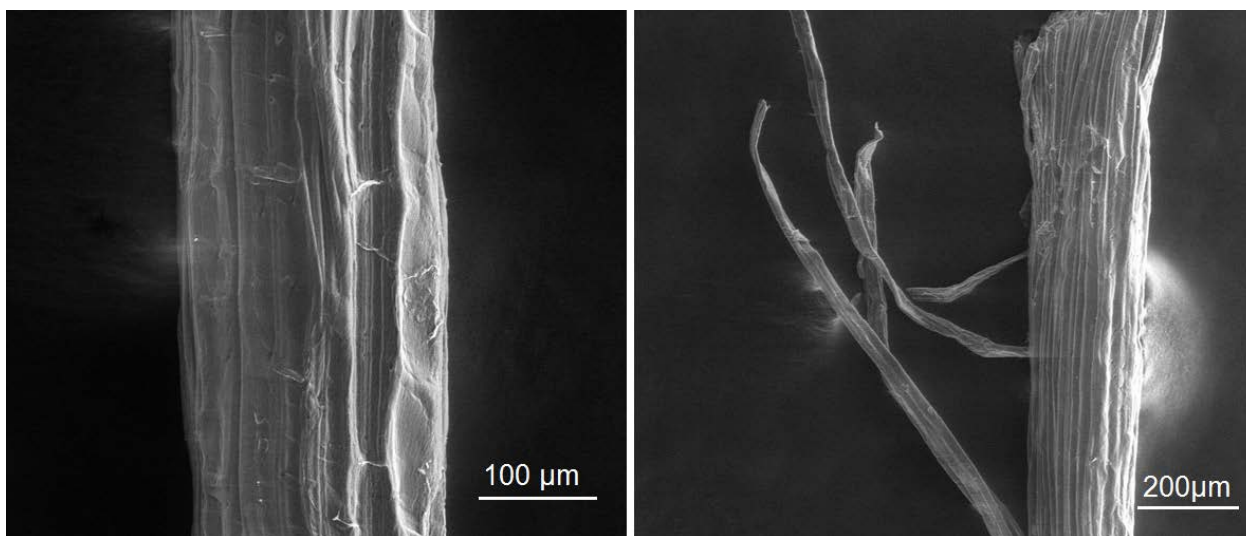
2. Difracción de rayos X (DRX): la figura 16 presenta el difractograma de rayos X de la estopa blanqueada, en el cual se evidencian los 3 planos cristalinos característicos de la celulosa tipo I. En el difractograma se observan una señal de mayor intensidad a $2\theta=22.36^\circ$ (002), y dos señales a menor intensidad a 18.75° (100) y $34,60^\circ$ (004) El índice de cristalinidad (CrI) se determinó mediante la ecuación 1; en donde I_{002} corresponde a la intensidad de la señal en 22.36° , la cual se relaciona con las regiones cristalinas y I_{am} se encontró en 18.75° , representa las regiones amorfas, De esta forma, el CrI para la estopa blanqueada fue de 61.74%; aumentando con respecto al CrI de la estopa de partida, indicando un aumento en la cristalinidad del material.

Figura 16. Difractograma de rayos X de la estopa blanqueada



3. Microscopia De Barrido Electrónico (SEM): las micrografías de la figura 17 muestran las fibras de estopa después del tratamiento de delignificación. Las fibras se observan disgregadas debido a la ausencia total de tejidos como el parénquima y el colénquima entre ellas; se evidencia la eliminación de la lignina y la hemicelulosa, compuestos orgánicos que las mantenían unidas.

Figura 17. Micrografías electrónicas de las fibras de estopa deslignificadas

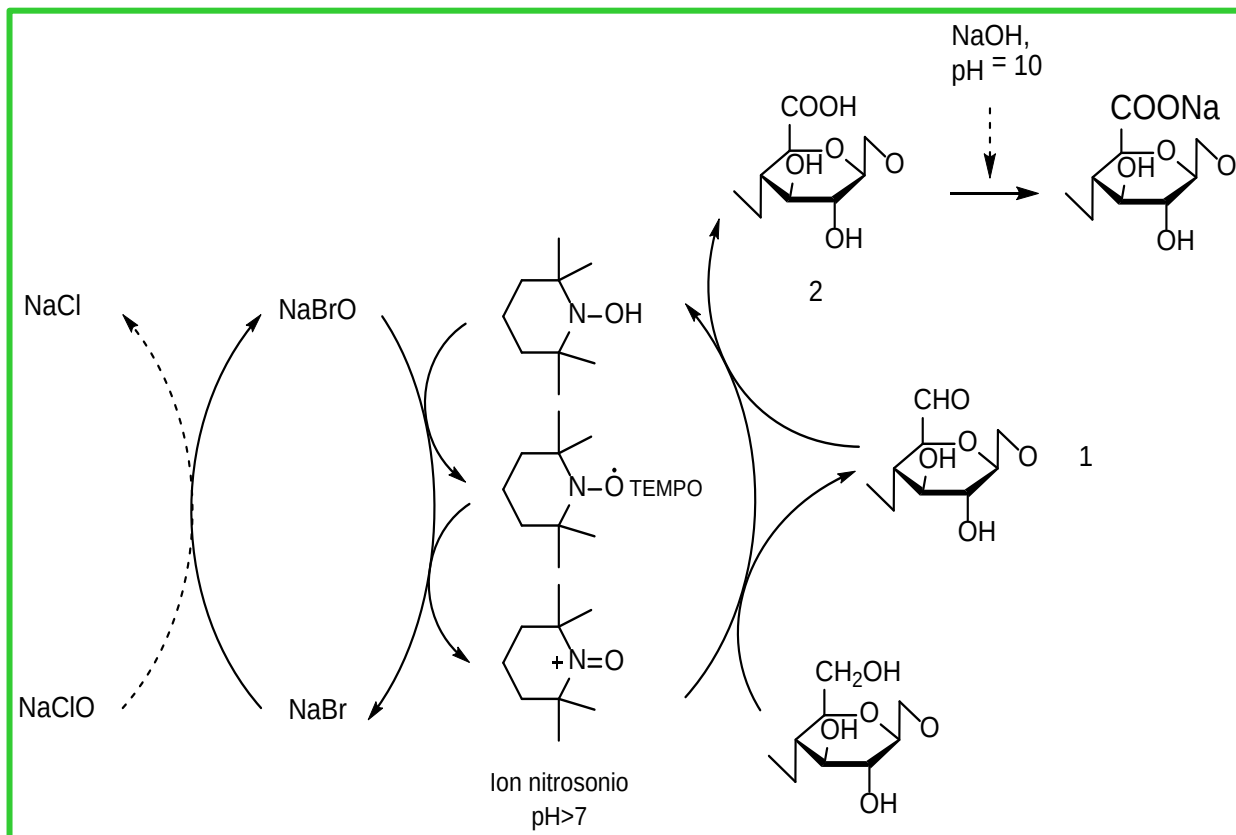


6.2.3. Obtención de MFC a partir de estopa de fique mediante oxidación TEMPO.

6.2.3.1 Síntesis. Las microfibrillas se obtuvieron a partir de estopa de fique deslignificada, sometida a oxidación usando el reactivo TEMPO (2,2,6,6-tetrametilpiperidine-1-oxil) en presencia de NaBr y NaClO.

La reacción TEMPO produce oxidación de los grupos OH de la celulosa a carbonilo, y la formación de grupos COO^-Na^+ sobre la superficie de las fibras lo que causa repulsión electrostática y previene su agregación, como se observa en la figura 18 [67,68].

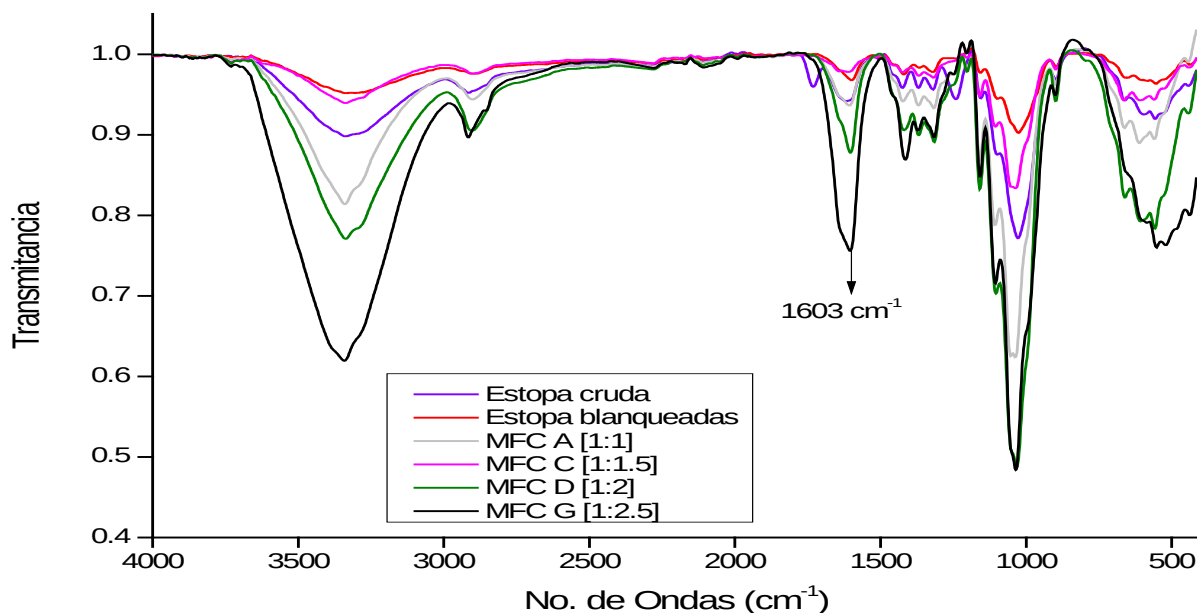
Figura 18. Esquema de la reacción de oxidación TEMPO (13)



6.2.3.2 Caracterización.

1. Espectroscopia infrarrojo de transformada de Fourier con reflectancia total atenuada (FTIR-ATR): en la figura 19 se observa en el espectro FT-IR (ATR) comparativo de las MFC obtenidas a diferentes relaciones molares de celulosa:NaClO, una banda de absorción en 1603 cm^{-1} que está relacionada con la vibración de estiramiento C=O, perteneciente a los grupos carboxilato de sodio presentes en las MFC; de igual forma se observa que esta banda se intensifica a una mayor relación molar de celulosa: NaClO, indicando así la formación de los grupos carboxilato en las MFC por la oxidación mediada con TEMPO.

Figura 19. Espectro comparativo de FT-IR (ATR) de las MFC obtenidas a diferentes relaciones molares de celulosa: NaClO

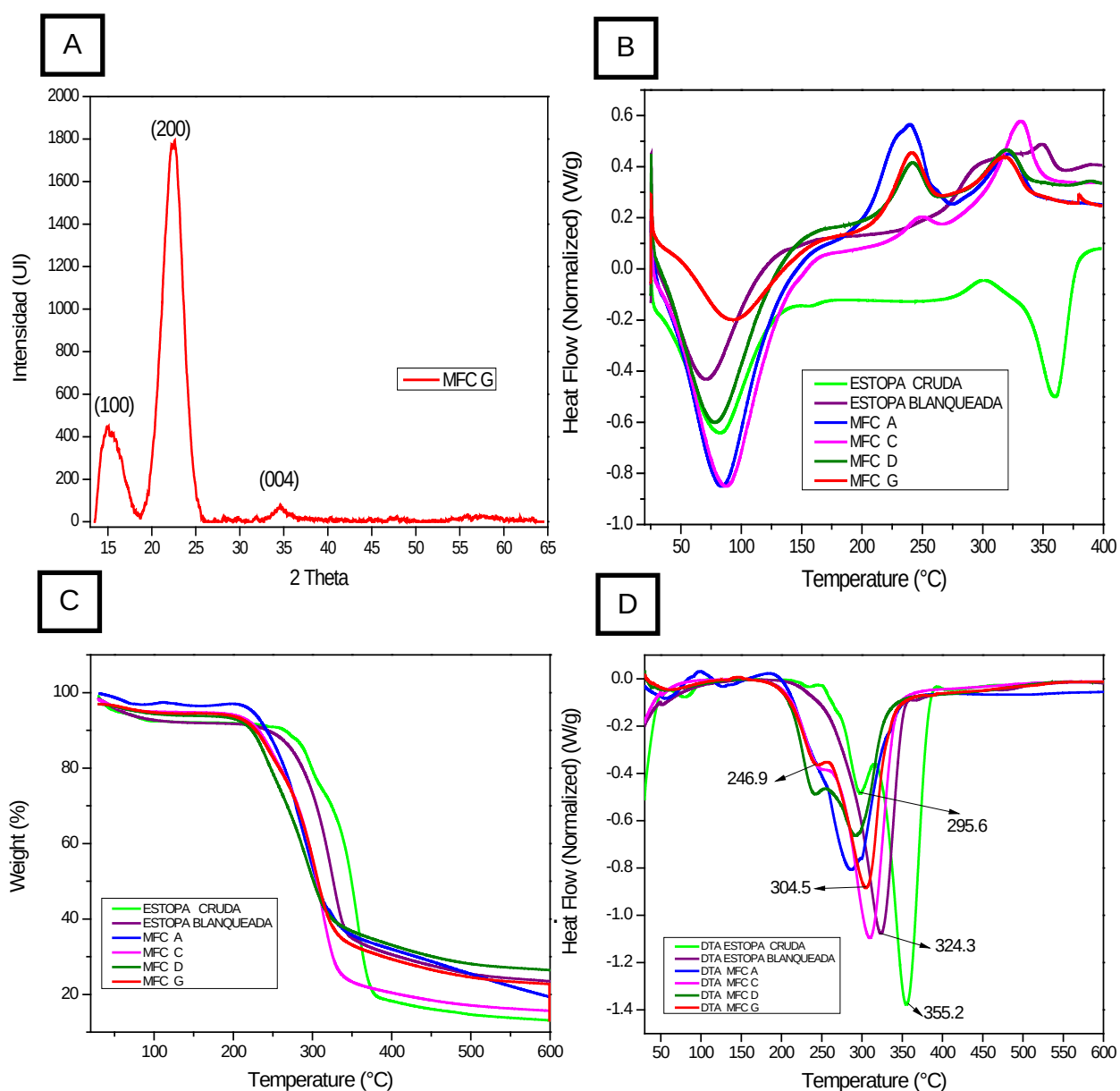


2. Difracción de rayos X (XRD): de igual forma, el difractograma de las MFC que se muestra en la figura 20 (A); confirma que la estructura cristalina de la celulosa tipo I inicial se mantuvo después de la reacción TEMPO. Los patrones de rayos X de la MFC oxidada son similares a la muestra de celulosa no tratada (estopa cruda). Se evaluó el impacto del tratamiento en el índice de cristalinidad de las MFC cuyos valores fueron calculados según la ecuación 1. El análisis de difracción de rayos X indica que la relación molar de celulosa:NaClO utilizada no afecta la estructura cristalina.

En la estopa blanqueada se observa un incremento en el CrI con respecto a la estopa cruda de 57.12 a 67.33, debido a que durante el tratamiento de blanqueamiento se eliminan los componentes amorfos (lignina y hemicelulosa) lo cual se traduce en un incremento del CrI [13]. Sin embargo en la MFC de mayor relación molar celulosa:NaClO se reduce el índice de cristalinidad, debido al aumento en el grado de oxidación y la formación selectiva de los grupos C6-

carboxilato a partir de los grupos C6-OH hidroxilo superficiales de las MFC [77], y la desfibrilación ultrasónica a la cual fueron sometidas afectó de alguna manera las regiones amorfas y los dominios cristalinos provocando la disminución de su CrI [78]. Observaciones similares han sido reportadas en la literatura [77]. En la figura 22 se observa el valor del CrI para cada muestra.

Figura 20. (A). Análisis XRD de las MFC. (B). Análisis de calorimetría diferencial de barrido DSC de MFC. (C) Análisis termogravimétrico TGA de MFC. (D). Análisis termogravimétrico TGA y análisis térmico diferencial DTA comparativo.

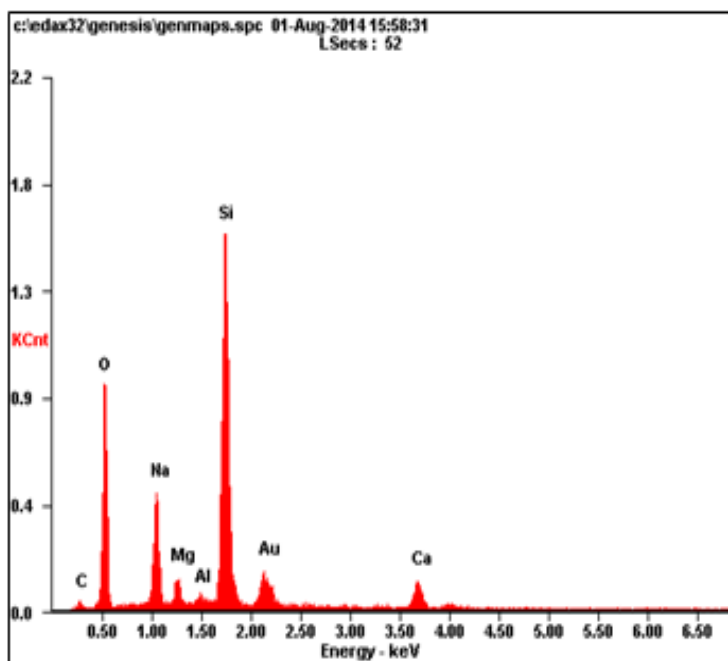


3. Análisis Termogravimétrico (TGA y DSC): el análisis termogravimétrico permitió estudiar el comportamiento térmico de las MFCs obtenidas. A modo de referencia se utilizó la fibra de estopa cruda y la deslignificada, como puede observarse en la figura 20-B, 20-C y 20-D. En todos los casos se encontró una pequeña pérdida de masa en el rango entre 32 °C – 120 °C que corresponde a la evaporación del agua presente en los materiales así como la descomposición de compuestos de bajo peso molecular remanentes de los procesos de extracción. La descomposición térmica de la celulosa se produce entre los 200 °C – 400 °C y la mayor pérdida de masa se da alrededor de los 380 °C (fig. 20-C). Se pudo concluir que la MFC de mayor relación molar de celulosa:NaClO 1:2.5 en comparación con las demás MFC obtenidas experimentalmente, es térmicamente más estable que las demás debido a la presencia mayor cantidad de grupos carboxilato de sodio a partir de los hidroxilos primarios superficiales de las MFC por la oxidación TEMPO, disminuyendo significativamente la temperatura de degradación térmica. En la figura 20-B el DSC indica que los picos obtenidos son anchos y no agudos, comportamiento propios de cadenas carbonatadas de H y C (compuestos orgánicos). Por otra parte, es evidente que el punto de descomposición térmica (T_d) alcanzado por la estopa cruda es de 275 °C mientras que el de las MFCs oscila entre 200 y 350 °C. La MFC de mayor relación molar tuvo un incremento mayor en su T_d (300 – 350 °C). En la banda de descomposición de la MFC G de la figura 20D se observa la presencia de dos picos, el primero es más pequeño y corresponde al punto de descomposición de los grupos carboxilatos de sodio COONa formados en la superficie de las MFCs durante la reacción de oxidación TEMPO y un segundo pico claramente inferior a la celulosa original lo que indica que las cadenas de celulosa cristalina disminuyeron por el efecto de los grupos carboxilatos de sodio que son térmicamente inestables en la MFC.

La disminución del T_d en las demás MFC se debe a la cantidad de los grupos de carboxilato de sodio.

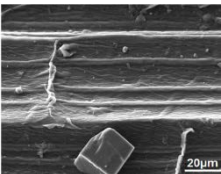
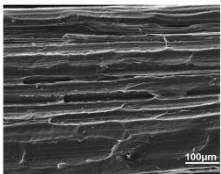
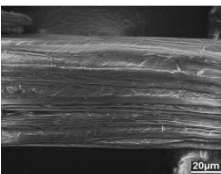
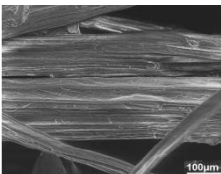
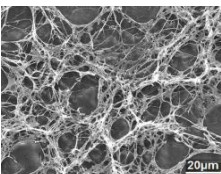
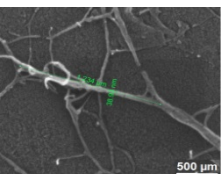
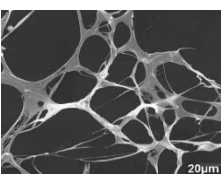
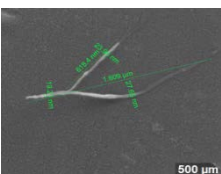
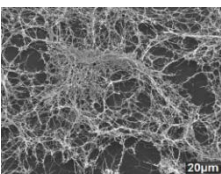
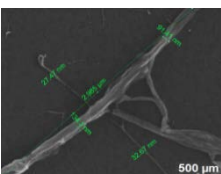
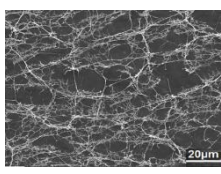
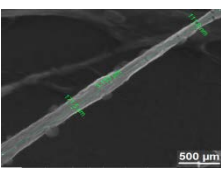
4. Microscopia de barrido electrónico (SEM): las MFC obtenidas utilizando relación molar de celulosa:NaClO 1:2.5, presentan diámetros que oscilan entre 20 nm y 150 μm con longitudes entre 1000 μm y 2000 μm y un CrI entre 53% y 57%. Las micrografías de las MFC se presentan en la figura 22. Estos materiales se caracterizan por dar dispersiones transparentes en solución acuosa. Las MFC muestran una alta relación de aspecto y se encontró que a mayor relación molar de celulosa:NaClO se encuentran más separadas. Así mismo, los perfiles de EDX que se muestran en la figura 21 evidencian la presencia del sodio en la superficie del material, dando lugar a la separación de las microfibrillas por repulsión electrostática.

Figura 21. Espectro EDX de las MFC



Elemento	Wt%	At%
CK	02.46	04.91
OK	31.47	47.09
NaK	10.30	10.72
MgK	02.41	02.37
AlK	00.70	00.63
SiK	34.45	29.36
AuM	12.52	01.52
CaK	05.68	03.39
Matrix	Correction	ZAF

Figura 22. Micrografías tomadas en microscopio de barrido electrónico FESEM de MFC a partir de estopa

Muestra	Relación Molar Cel:NaClO	SEM 20 μ m	SEM 100 μ m/ 500 nm	% CrI	ζ en agua (mV)
Estopa cruda	0			57.12	----
Estopa Blanqueada	0			67.33	----
MFC A	1:1			53.02	- 33
MFC C	1:1.5			54.25	-33
MFC D	1:2			56.26	-36.3
MFC G	1:2.5			54.92	-28.7

5. Dispersión dinámica de luz (DLS): los valores de potencial z de las muestras de las MFC obtenidos se registran en la figura 23A, se evidencia que a una mayor relación molar de celulosa:NaClO se forman suspensiones acuosas estables ($\zeta = < -30$ mV). Con este valor se confirma que las MFCs presentan la carga superficial negativa.

La distribución de tamaños por DLS para estas MFC se presenta en la tabla 9, encontrándose una distribución de tamaños de partícula distribuida en tres rangos comprendidos entre 130 nm a 5600 nm. como se observa en la figura 23B.

Figura 23. (A) Datos del potencial Z para la MFC G. (B) Análisis por DLS de la MFC G

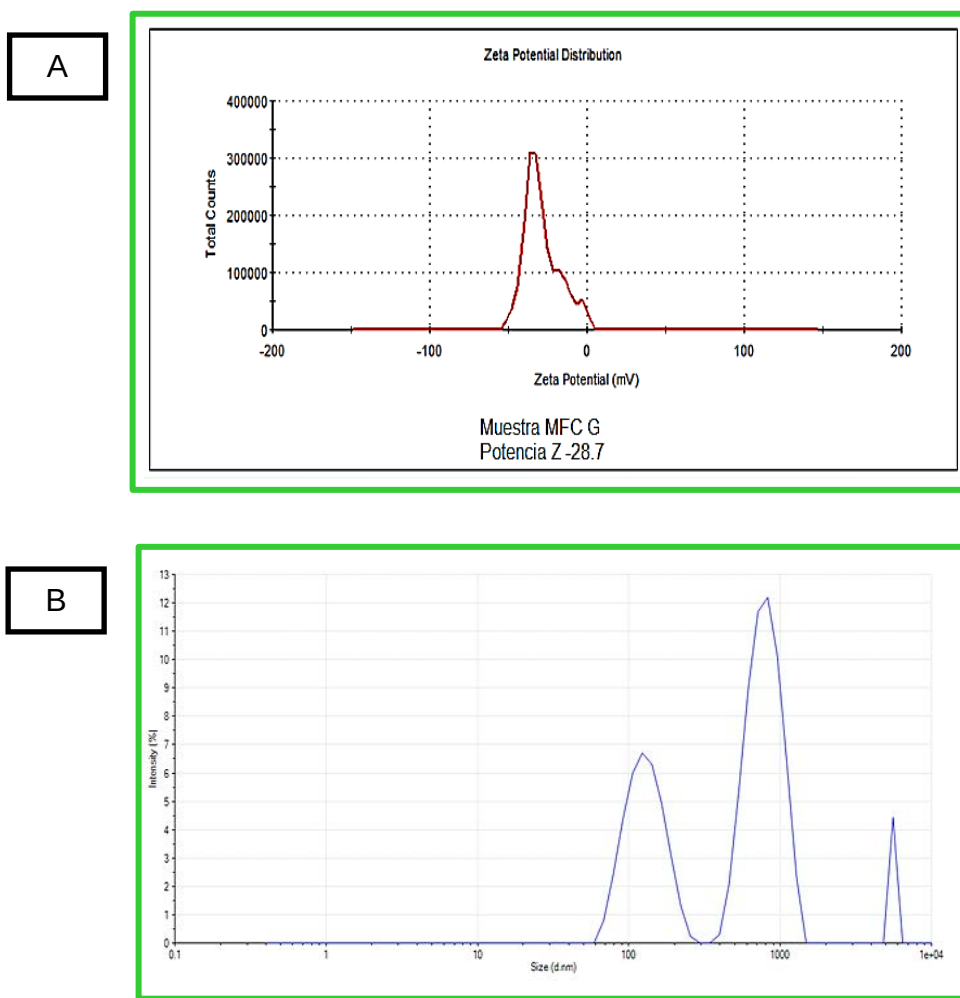


Tabla 9. Distribución de tamaño de partícula DLS (nm) para la MFC G

Distribución de tamaños de partículas (nm)	Intensidad (%)	Promedio de tamaño de partícula (nm)
131	36.2	511.6
799.6	59.4	
5560	44	

6. Conductimetría: el contenido de grupos carboxilato de las muestras de celulosa oxidada (MFC) fue determinada por titulación conductimétrica. La figura 24 presenta las curvas típicas obtenidas de la titulación realizada. Las curvas de titulación muestran la presencia de un ácido fuerte (V_1) correspondiente al exceso de HCl y un ácido débil (V_2) correspondiente al contenido de carboxilato, permitiendo calcular la cantidad de grupos carboxilos y por lo tanto el grado de oxidación (DO) que viene dada por la ecuación 2 (Habibi *et al.* 2006) [33], cuyos datos se muestra en la tabla 10.

A partir de estas mediciones se concluye que el valor de DO por conductimetría aumenta al incrementar la cantidad de NaClO. La MFC G de mayor relación molar de celulosa:NaClO 1:2.5 alcanzó el valor máximo de 0,6. Estos valores son significativos ya que indican la oxidación de la superficie estequiométrica de las MFC. Según la caracterización realizada a las MFC se puede concluir que la de mayor relación molar evidencia el mayor grado de oxidación indicando que la reacción TEMPO fue más eficiente.

Figura 24. Análisis de titulación conductimétrica realizado a las MFC

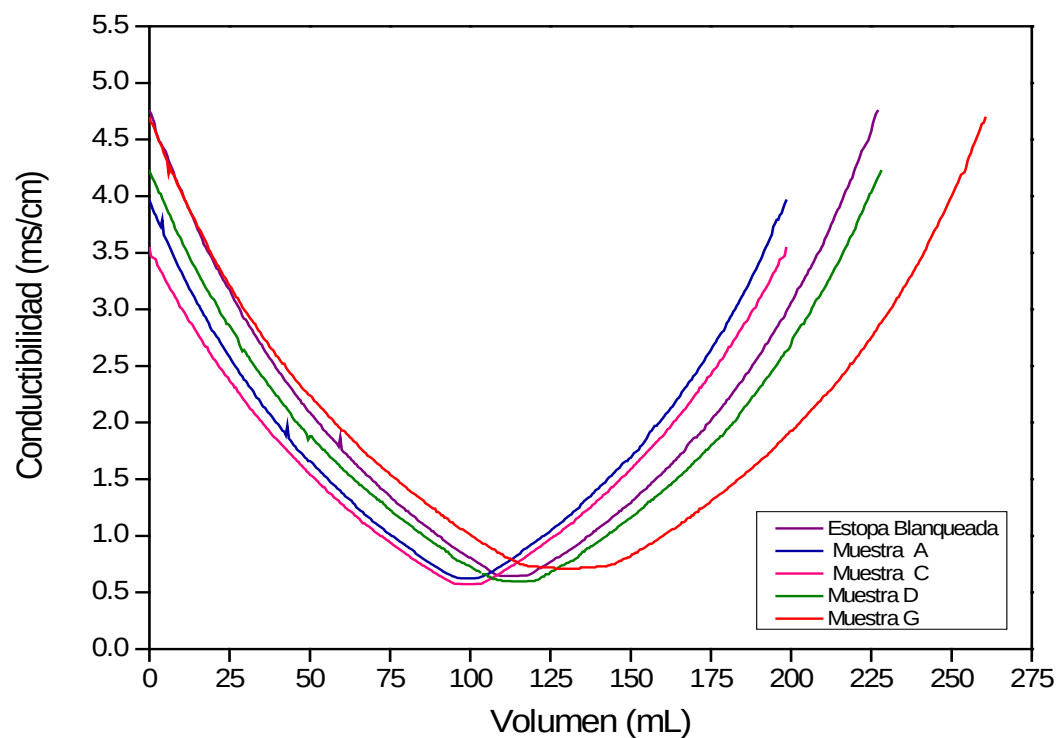


Tabla 10. Datos experimentales del cálculo del DO de las MFC

Muestra	Concentración NaOH, N(C)	Vol. NaOH agregado, L (ΔV)	Peso MFC (w), g	Grado de oxidación DO	mmol COOH/kg	mmol COOH /g
Estopa blanqueada	0.01000	9.50E-03	0.0500	0.330	1900	1.900
MFC A	0.01080	8.00E-03	0.0458	0.328	1886	1.886
MFC C	0.01080	7.50E-03	0.0403	0.351	2010	2.010
MFC D	0.00900	8.50E-03	0.0400	0.333	1913	1.913
MFC G	0.00990	1.50E-02	0.0446	0.613	3330	3.330

Se han reportado en la literatura el grado de oxidación por titulación conductimétrica para MFC obtenidas a partir de diferentes muestras como se muestra en la tabla 11 [34, 84]. Estos valores son inferiores al ser comparados con los obtenidos para las MFC de estopa de fique. De igual forma se observa que este valor aumenta a medida que se aumenta la relación molar cel:NaClO indicando que en todas las muestras los grupos hidroximetil presentes en la superficie de las MFCs han sido oxidados selectivamente en grupos carboxilos.

Tabla 11. Grado de oxidación (DO) de algunas MFC reportadas en la literatura [34,84]

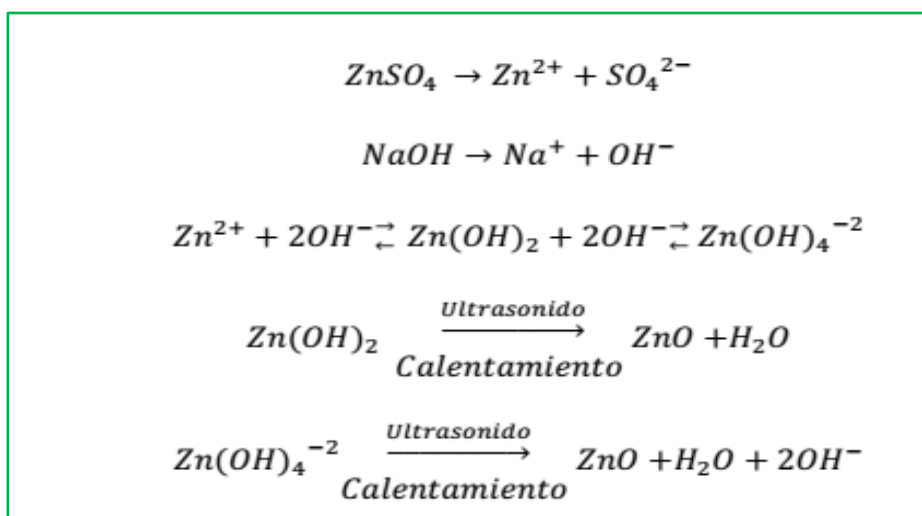
MFCs	Relación molar Celulosa:NaClO	DO	Referencia
Tunicado	0.2	0.1	Habibi, et al. 2006
Tunicado	0.5	0.1	Habibi, et al. 2006
Celulosa microcristalina	1.3	0.20	Da Silva,et al. 2003
Algodón	1.3	0.20	Da Silva,et al. 2003
Algodón	2.1	0.23	Da Silva,et al. 2003
Bacterial	1.4	0.25	Da Silva,et al. 2003

6.2.4. Síntesis *In situ* de ZnO NPs sobre las MFC para obtención del biocomposito.

6.2.4.1 Síntesis. Según el reporte de Kawano *et al.* [70] existen dos rutas principales para la síntesis de NPs ZnO: una ácida y una básica. El procedimiento que se siguió para la síntesis básica de este biocomposito consistió en sumergir las MFC de estopa de fique en una solución de NaOH y adicionar por goteo una solución precursora de ZnSO₄. En los ensayos realizados por los tratamientos con ultrasonido y por calentamiento, se buscó determinar las mejores condiciones para la síntesis de las NPs ZnO con menor tamaño de partícula y distribución uniforme sobre la superficie de las MFC. Las MFC absorben el Zn²⁺, ion que interactúa con

los iones OH presentes en la solución básica generando diferentes hidróxidos, como el $Zn(OH)_2$ y $Zn(OH)_4^{2-}$; quienes en presencia de agua son hidrolizados por medios térmicos o mecánicos para formar el ZnO [54]. La modificación superficial que se da sobre la MFC se describe en la siguiente reacción:

Figura 25. Reacción de síntesis por ruta básica de las NPs ZnO sobre las MFC de estopa de fique (54)



6.2.4.2 Caracterización.

1. Espectroscopia infrarrojo de transformada de Fourier con reflectancia total atenuada (FTIR-ATR): las figuras 26A y 26C corresponde a los espectros de FT-IR de los bionanocompositos obtenidos en relación molar $ZnSO_4$: NaOH 1.4 y 1:20 en la síntesis por ultrasonido y calentamiento, donde se observan las bandas 462.90cm^{-1} y 418.54 cm^{-1} , las cuales están relacionadas con la presencia del ZnO [75]. Los espectros poseen bandas características de la presencia de celulosa en el modo vibracional del grupo O-H y la vibración de estiramiento del grupo C=O, como se muestran en la tabla 12.

En las figuras 26B y 26D se muestran los espectros de los residuos obtenidos de estos biocompositos en los cuales se evidencian las bandas 422.40 cm^{-1} y 416.78 cm^{-1} correspondientes al ZnO, reportados en la literatura [75]. Estas bandas

presentan una mayor intensidad que las presentadas en los biocompositos indicando que el ZnO quedo presente en los residuos.

Figura 26. Espectros de FT-IR de los biocompositos de ZnO sintetizadas por US y C. (A-B) biocomposito y residuo relación molar $\text{ZnSO}_4\text{:NaOH}$ 1:4. (C-D) biocomposito y residuo relación molar relación molar $\text{ZnSO}_4\text{:NaOH}$ 1:20

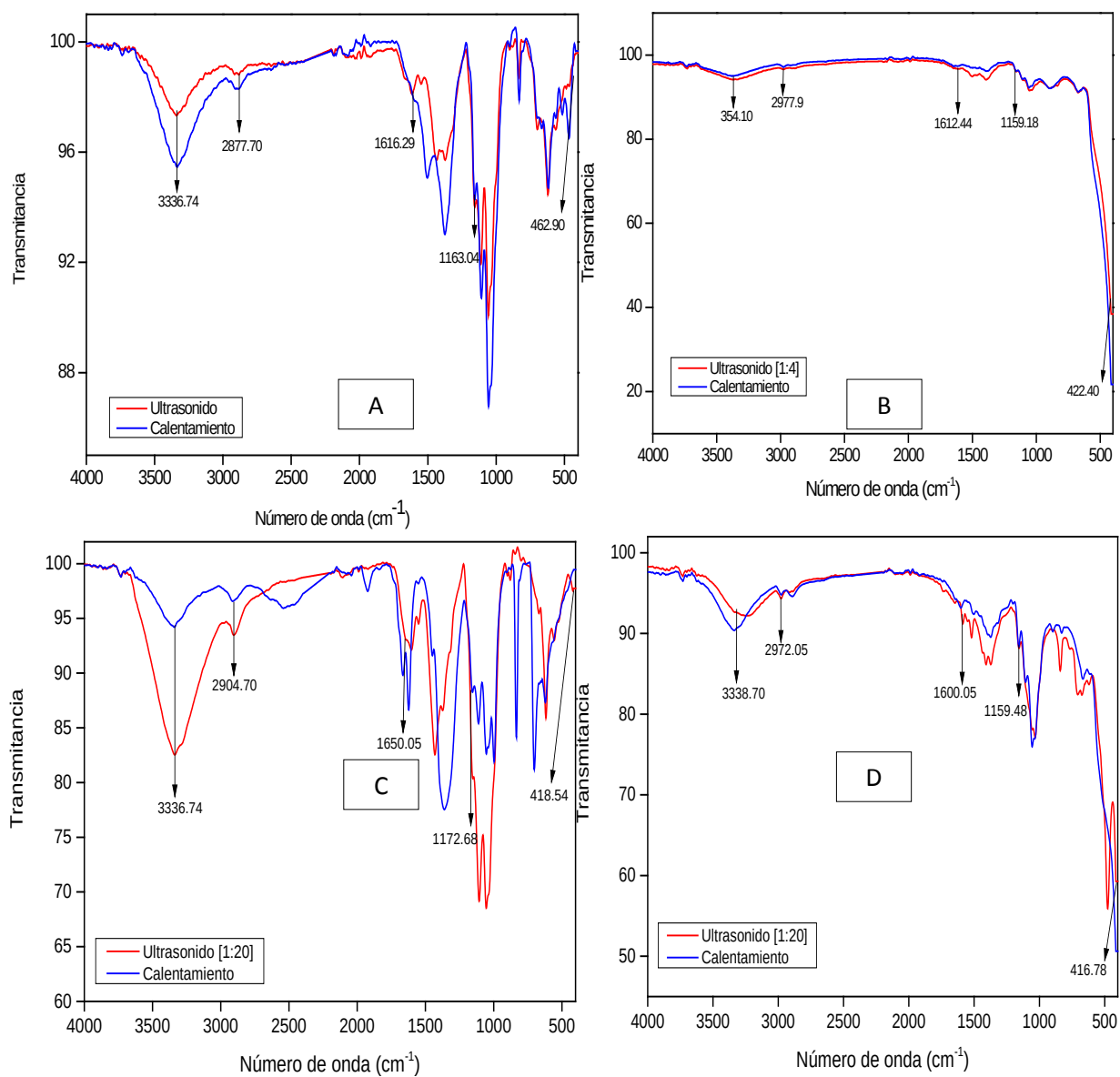


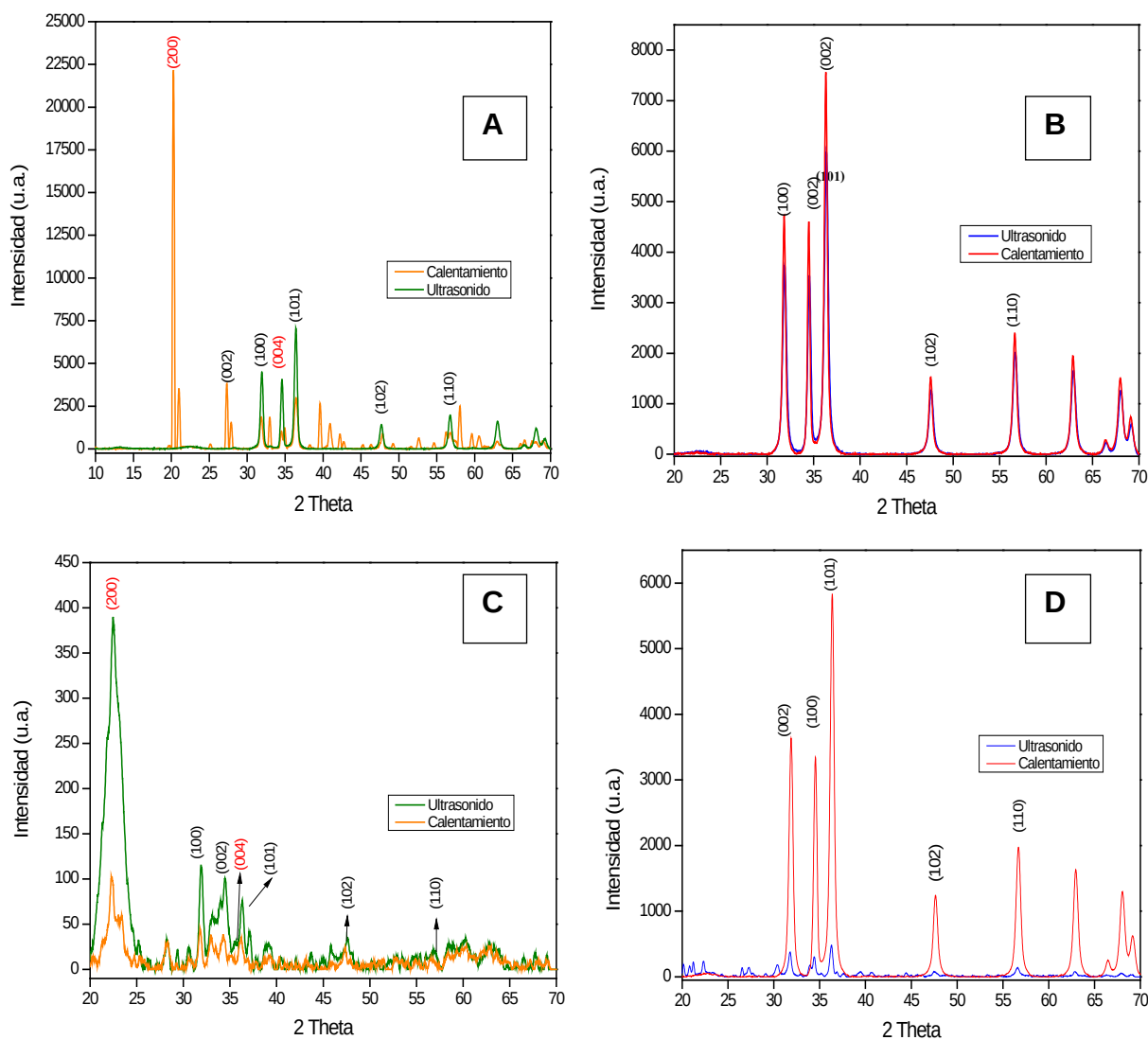
Tabla 12. Análisis Espectrometría Infrarroja con Transformada de Fourier FT-IR de los bionanocompositos y sus respectivos residuos

Biocompositos						Residuos
Relación molar	Síntesis	Bandas vibracionales				Banda vibracional
		ZnO (cm ⁻¹)	(OH) (cm ⁻¹)	(C=O) (cm ⁻¹)	(C-O) (cm ⁻¹)	ZnO (cm ⁻¹)
[1:4]	US	462.90	3336.74	1616.29	1163.04	422.40
	C					
[1:20]	US	418.54	3336.74	1650.05	1172.68	416.78
	C					

2. Difracción de rayos X (XRD): las figuras 27A y 27C presenta los difractogramas de los biocompositos obtenidos en relación molar 1:4 y 1:20 por US y por C. Se observa la presencia de 5 planos de cristalización (100), (002), (101), (102) y (110) que corresponden a la estructura cristalina de la fase hexagonal de ZnO tipo Wurtzita y además se evidencian los planos (200) y (004) correspondientes a la estructura cristalina de la celulosa Tipo I. presente en las MFC.

En la figura 27A, donde se analiza el resultado de la síntesis con relación molar ZnSO₄:NaOH 1:4 se ve que las señales son claras y agudas; mientras que en la figura 27C, con relación molar mayor ZnSO₄:NaOH 1:20 muestra una celulosa con señales anchas y de muy baja intensidad probablemente por la descomposición alcalina del biopolímero. Se concluye que el biocomposito formado presenta señales características tanto de la presencia del ZnO como de la celulosa. Los planos cristalográficos coinciden con los reportados en la literatura [39]. Se observan fases adicionales, lo que indica que el producto obtenido no es totalmente puro.

Figura 27. Difractogramas de biocompositos sintetizados en relación molar ZnSO_4 : NaOH 1:4 y 1:20 por US y C. (A-B) Análisis DRX del biocomposito y residuo de relación molar ZnSO_4 :NaOH 1:4. (C-D) Análisis DRX del biocomposito y residuo de relación molar ZnSO_4 :NaOH 1:20



3. Microscopia de barrido electrónico (SEM): la figura 28 muestra algunas de las micrografías que por FE-SEM se realizaron a los biocompositos de NPs ZnO sintetizadas por exposición a la sonda de ultrasonido y por calentamiento en relación molar: ZnSO_4 :NaOH 1:4 y 1:20. Las imágenes revelan con claridad la

disposición y forma que toman las NPs ZnO sobre las MFC durante la síntesis, cuyos diámetros, longitudes y formas son resumidos en la tabla 13.

Figura 28. Micrografías de los biocompositos sintetizados en relación molar ZnSO_4 : NaOH 1:4 y 1:20 por US y por C. (A) biocomposito relación molar 1:4 US (B) biocomposito relación molar 1:4 C (C) biocomposito relación molar 1:20 US (D) biocomposito relación molar 1:20 C

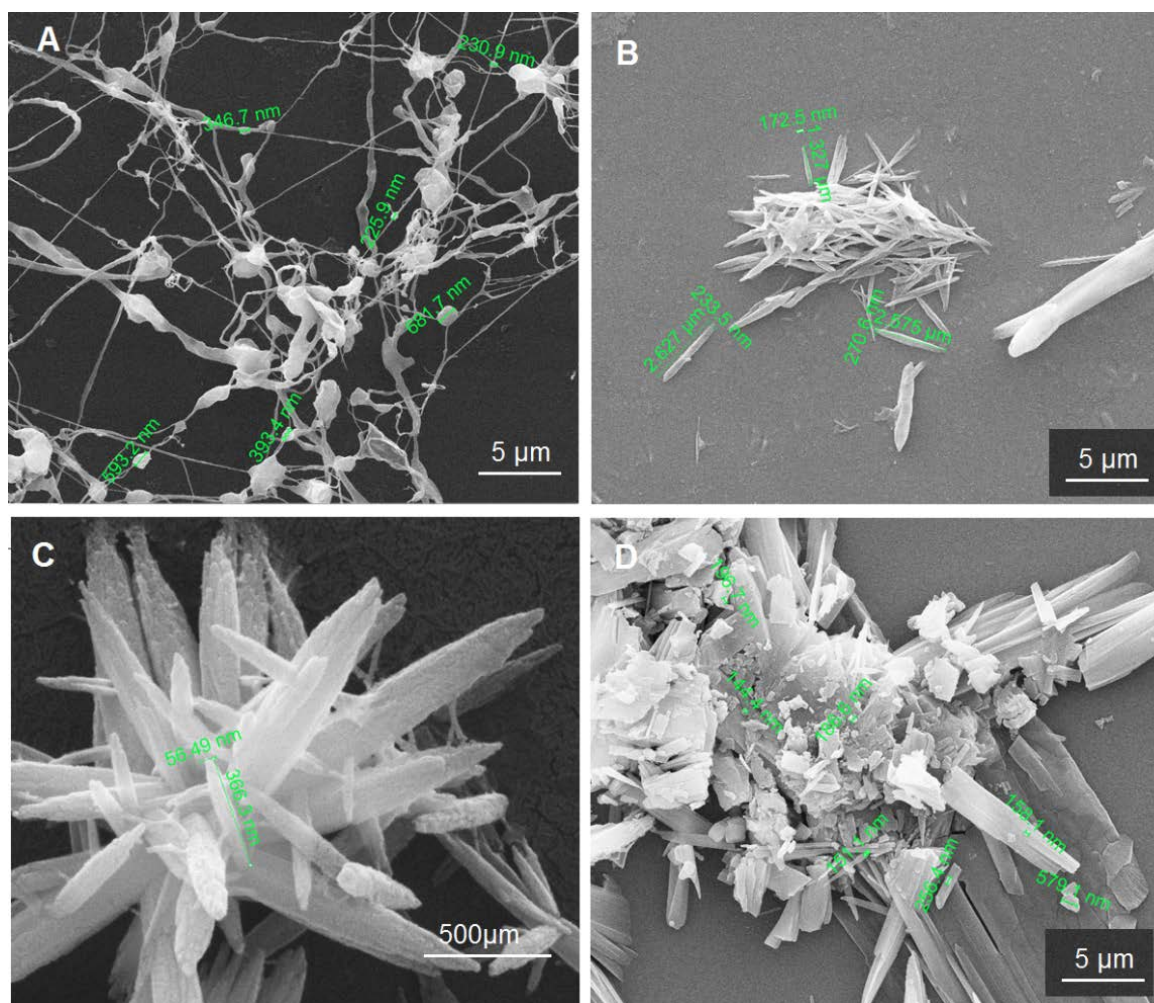
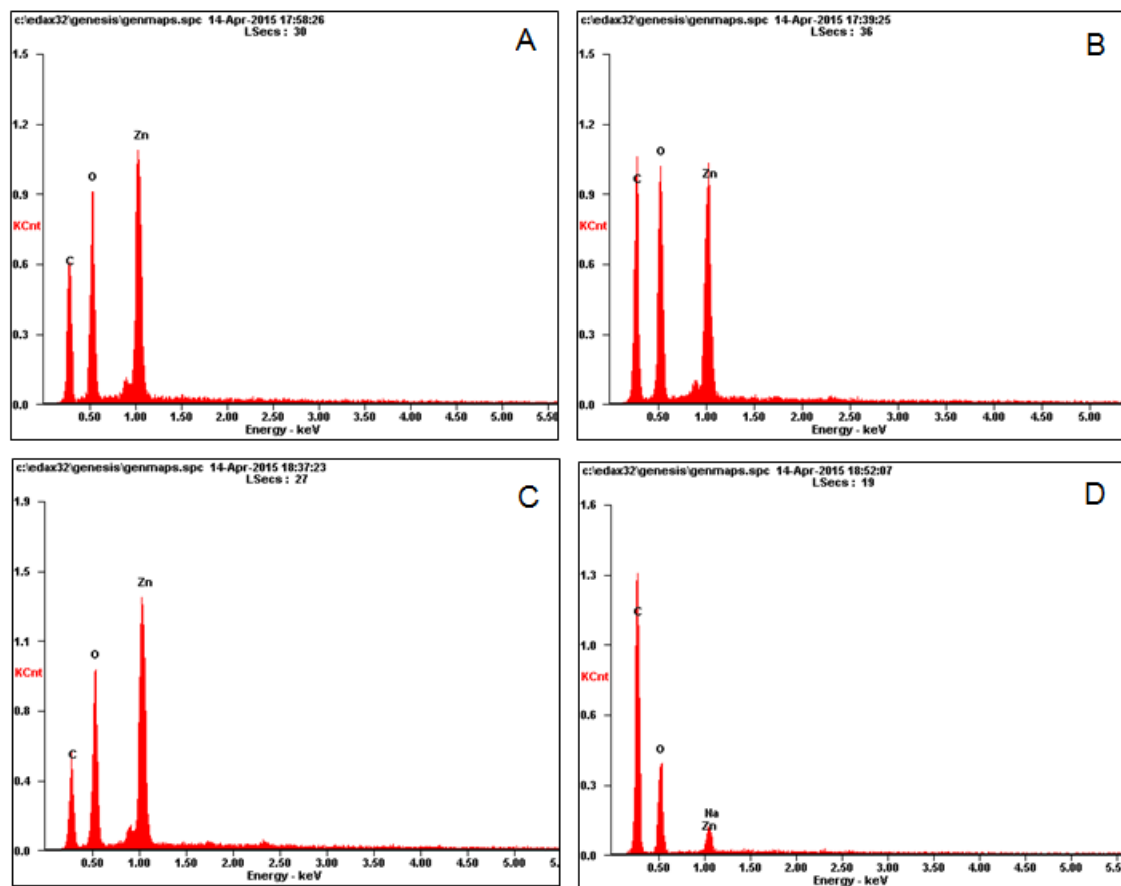


Tabla 13. Análisis de SEM de las NPs de ZnO depositas sobre las MFC durante la síntesis de los biocompositos por US y C

Relación Molar ZnSO ₄ :NaOH	Condición experimental	Dimensiones	Forma
1:4	US	Diámetros: 50-600 nm	Esferas
1:4	C	Diámetros :100-300 nm Longitudes: 1000-2000 µm	Nanovarillas
1:20	US	Diámetros: 100-300 nm Longitudes: 1000-2000 µm	Flores
1:20	C	Diámetros: 40-200 nm Longitud: 300-500 nm	Nanovarillas

De acuerdo con los resultados experimentales las condiciones de síntesis Zn⁺²: NaOH permiten obtener biocompositos más homogéneos, de mejor dispersión y con una deposición uniforme de las NPs ZnO sobre las microfibrillas tal y como se observa en la figura 28A. Bajo estas condiciones es posible obtener NPs de ZnO esféricas y con diámetros en el intervalo de 50-600 nm sobre las MFCs. A una mayor relación molar ZnSO₄: NaOH las NPs de ZnO se agregan formando microestructuras en forma de flores que impiden observar las MFCs [75]. Aunque en las figuras 28B, 28C, 28D no se observan MFCs, los análisis realizados por espectroscopía de energía dispersiva de rayos X (EDS) confirman la presencia del ZnO en estas muestras junto con la presencia de oxígeno y carbono provenientes de las MFCs. Figura 29.

Figura 29. Análisis EDS de los biocompositos. (A) biocomposito relación molar ZnSO_4 : NaOH 1:4 US (B) biocomposito relación molar ZnSO_4 : NaOH 1:4 C (C) biocomposito relación molar ZnSO_4 : NaOH 1:20 US (D) biocomposito relación molar ZnSO_4 : NaOH 1:20 C

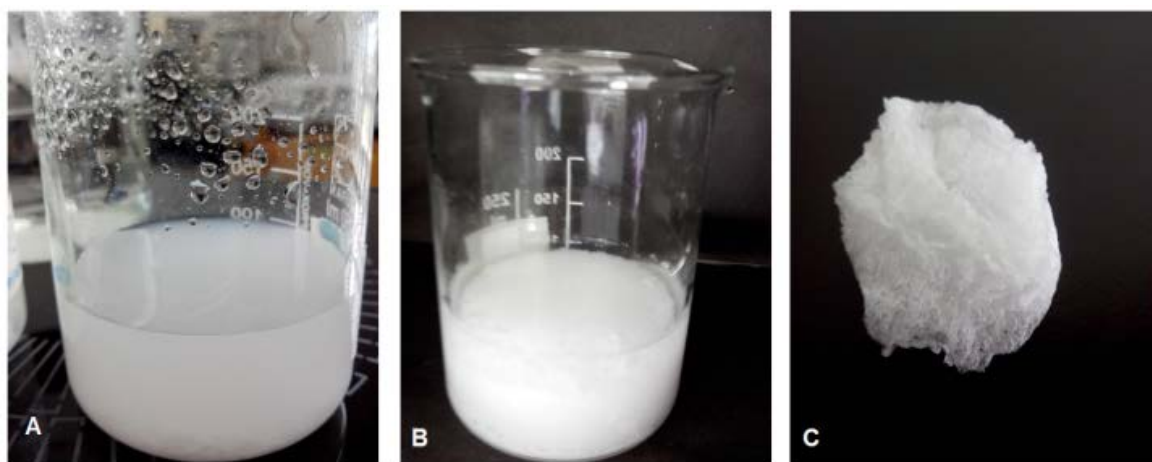


A		
Element	Wt%	At%
CK	26.73	48.70
OK	25.91	35.44
ZnL	47.36	15.86
Matrix	Correction	ZAF
C		
Element	Wt%	At%
CK	21.73	43.17
OK	25.08	37.42
ZnL	53.19	19.42
Matrix	Correction	ZAF

B		
Element	Wt%	At%
CK	34.64	56.18
OK	26.46	32.22
ZnL	38.90	11.59
Matrix	Correction	ZAF
D		
Element	Wt%	At%
CK	59.42	67.70
OK	33.12	28.32
ZnL	01.19	00.25
NaK	06.27	03.73
Matrix	Correction	ZAF

4. Espectroscopía de absorción UV-VIS: la formación del ZnO, mediante la ruta básica, se observa con facilidad al agregarse el ZnSO_4 a la mezcla de reacción (MFC y NaOH). La formación de ZnO se caracteriza por un enturbiamiento de la solución y la aparición de un precipitado blanco característico, como se observa en las fotografías de la figura 30. Ver anexo D (Figura 5) las fotografías que corresponden a cada biocomposito sintetizado.

Figura 30. Fotografías tomadas durante la síntesis in situ de las NPs ZnO sobre las MFC de estopa de fique. (A) Solución de color blancuzca al agregarse ZnSO_4 (B) Terminada la reacción se ve la formación del precipitado. (C) Biocomposito



En la figura 31 presenta los espectros UV-vis correspondientes a los biocompositos obtenidos en las relaciones molares ZnSO_4 : NaOH 1:4 y 1:20 por US y C, en donde se evidencia la presencia de una banda característica para el ZnO comprendida en un rango entre 356 nm y 362 nm en todas las muestras (ver tabla 14). De igual forma se observa la presencia de una segunda banda de absorción en el biocomposito de relación molar ZnSO_4 :NaOH 1:4 en un rango del espectro entre 262 nm y 348 nm, que corresponden al efecto cuántico de recombinación de excitones libres, características de las nanopartículas del ZnO. En numerosos trabajos de investigación se ha reportado, que estas bandas son atribuidas a la producción de mayores niveles de especies reactivas de oxígeno (ROS) tales como los radicales hidroxilo y oxígeno singlete en las NPs ZnO. La

liberación de ROS en soluciones acuosas es desencadenada por la luz (tanto ultravioleta como visible) que genera pares electrón–hueco en la superficie de las ZnO NPs (especies reactivas de oxígeno en su superficie con el oxígeno disuelto en el medio) [79]. Lipovsky *et al.* [79] notaron que estos huecos en la capa de valencia de los átomos superficiales ocasionan la formación de radicales hidroxilo, oxígeno singlete o anión superóxido e incluso peróxido de hidrógeno.

Figura 31. Análisis UV-vis biocomposito de NPs ZnO y residuos tratados por US y C. (A) biocomposito obtenido con relación molar ZnSO_4 : NaOH 1:4. (B) residuo obtenido con relación molar ZnSO_4 : NaOH 1:4. (C) biocomposito obtenido con relación molar ZnSO_4 : NaOH 1:20 (D) residuo obtenido por relación molar ZnSO_4 : NaOH 1:20

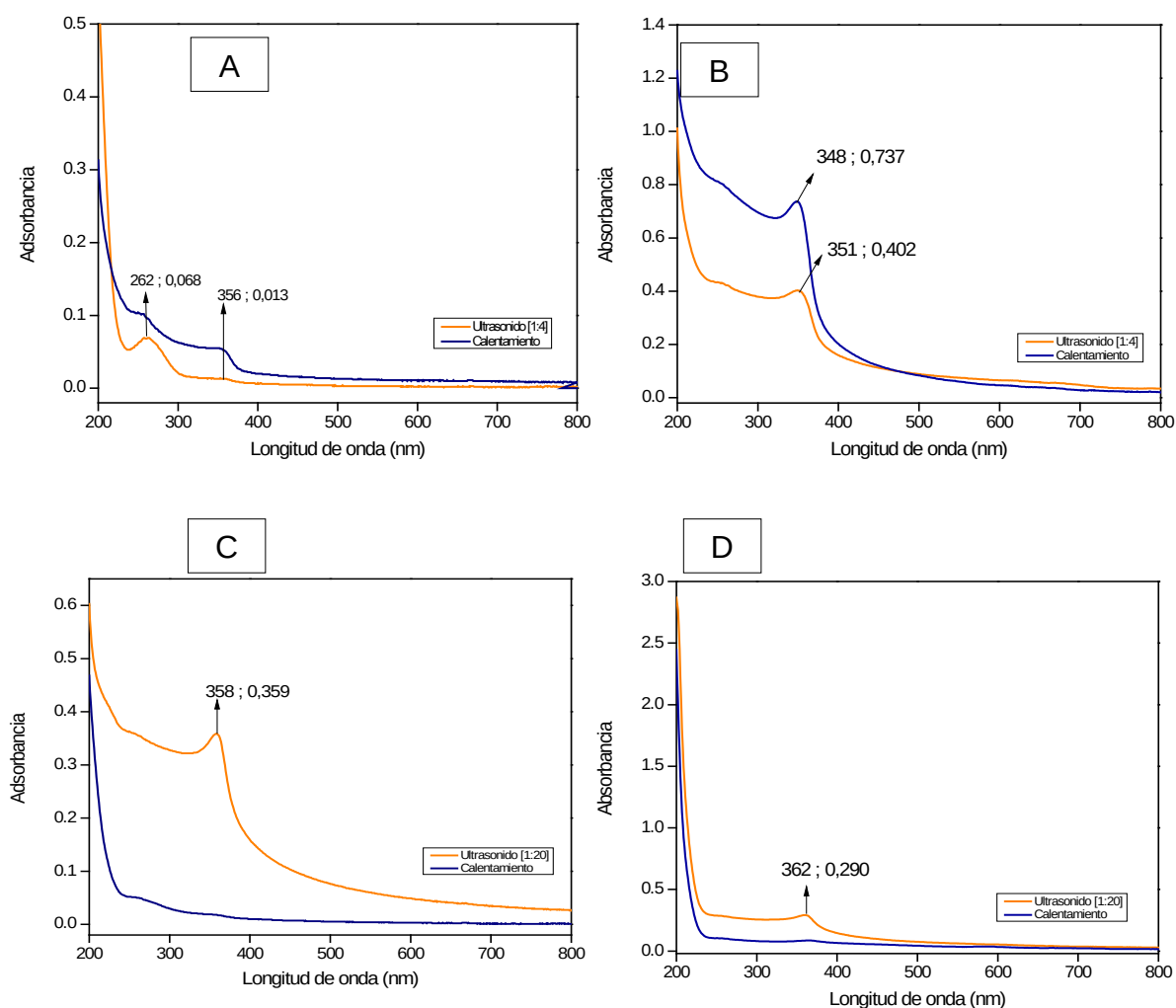


Tabla 14. Análisis de UV-Vis de los biocompositos y residuos

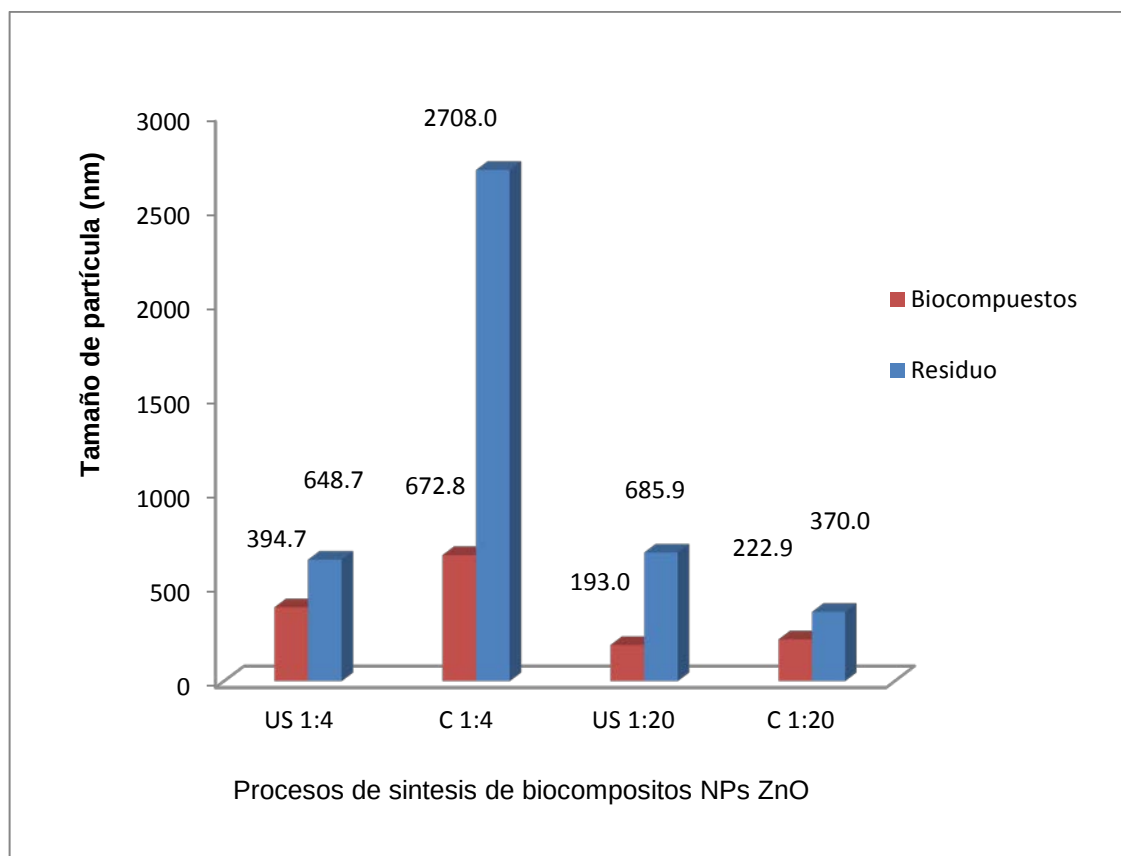
Biocompositos				Residuos	
Relación molar	Tratamiento	λ (nm)	A	λ (nm)	A
1:4	US	262	0.068	348	0.737
	C	356	0.013	351	0.402
1:20	US	358	0.359	362	0.290
	C				

5. Dispersión dinámica de Luz (DLS): los análisis de DLS se realizaron para establecer el tamaño de las NPs de ZnO. La tabla 15 presenta la descripción de los tamaños de partículas de cada uno de los biocompositos obtenidos y sus residuos en los rangos de 193 nm a 2708 nm. Se observa una gran variabilidad de tamaños de partícula que pueden corresponder a aglomerados de NPs ZnO como indican las señales de 193 nm a 700 nm y tamaños superiores a 700 nm corresponden a las MFC presentes. Ver grafica 32.

Tabla 15. Distribución de tamaños de partícula por DLS (nm) para los biocompositos

Métodos de síntesis NPs de ZnO relación molar ZnSO ₄ : NaOH	Tamaño de partícula de biocompositos (nm)	promedio	Tamaño de partícula de residuos (nm)	promedio
US 1:4	394.7	435.9	648.7	740.6
			161.7	
C 1:4	672.8	992.2	2703.0	998.3
	130.0		339.6	
US 1:20	193.0	455.4	685.9	1068
	1133.0		142.1	
C 1:20	222.9	564.3	370.0	1080
			84.8	
			5590.0	

Figura 32. Análisis por DLS de los diferentes biocompositos y residuos de NPs ZnO sintetizados en relación molar ZnSO₄:NaOH 1:4 y 1:20



6.2.5. Propiedades antibacteriales del biocomposito.

6.2.5.1 Resultados. La prueba antibacterial se realizó como se muestra en la figura 33, utilizando algunos de los biocompositos sintetizados. Como muestras de control se usaron soluciones de biocomposito en agua y en DMSO, igualmente también se examinó la actividad antibacterial de los residuos de síntesis. El parámetro bacteriológico que se tuvo en cuenta para la respuesta fue la presencia/ausencia de colonias de *S. aureus* ATCC 29213. El ***Staphylococcus aureus*** es un microorganismo anaerobio facultativo Gram positivo, agente etiológico de diversas patologías como infecciones cutáneas, infecciones nosocomiales y afecciones al sistema gastrointestinal, entre otras. El método

utilizado de ensayo de inhibición en siembra masiva del microorganismo fue incubado a 37 °C durante 16 h y la unidad de medida fue la presencia o ausencia del halo de inhibición La tabla 16 presenta las muestras analizadas y en la tabla 17 los resultados obtenidos.

Tabla 16. Muestras de biocompositos utilizados en la prueba antibacterial

Muestra No.	Nombre de la muestra	Cantidad de MFC disuelta (mg)	Cantidad del solvente (mL.)
Blanco	MFC + H ₂ O desionizada (Microfibrilla en agua desionizada)	10 mg	10 mL
I	Biocomposito 1:4 US en agua desionizada	5 mg	5 mL
II	Residuo 1:4 US en agua desionizada	5 mg.	5 mL
III	Biocomposito 1:20 US en agua desionizada	5 mg.	5 mL
Blanco	MFC + DMSO (Microfibrilla en dimetilsulfóxido)	10 mg	10 mL
I	Biocomposito 1:4 US en DMSO	5 mg.	5 mL
II	Residuo 1:4 US en DMSO	5 mg.	5 mL
III	Biocomposito 1:20 US en DMSO	5 mg.	5 mL

Figura 33. Fotografías de inhibición de las muestras de biocompositos de NPs ZnO MFC. (A) microfibrillas en agua desionizada. (B) biocomposito y residuo relación molar 1:4 y 1:20 en agua desionizada. (C) biocomposito y residuo en relación molar 1:4 y 1:20 en DMSO

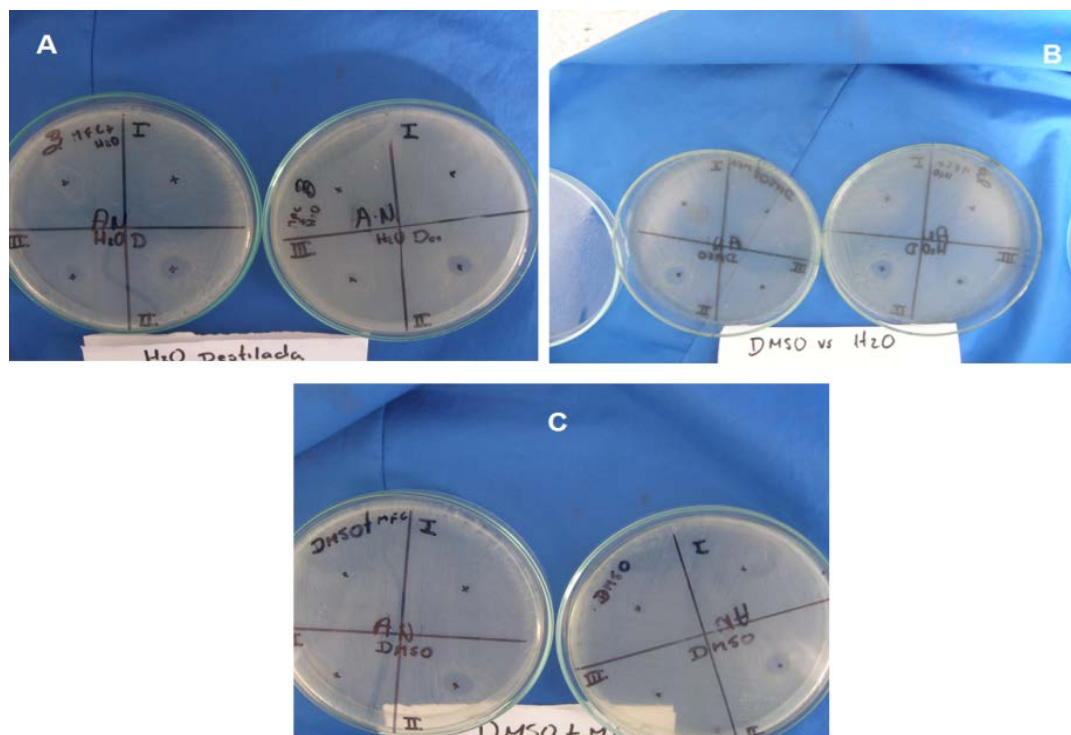


Tabla 17. Resultados bacteriológicos de la prueba antibacterial

Muestra	Nombre de la muestra	Presencia/ausencia de halo de inhibición
Blanco	MFC + H2O desionizada	Ausencia
I	Biocomposito 1:4 en agua desionizada	Ausencia
II	Residuo 1:4 en agua desionizada	Presencia
III	Biocomposito 1:20 en agua desionizada	Ausencia
Blanco	MFC + DMSO	Ausencia
I	Biocomposito 1:4 en DMSO	Ausencia
II	Residuo 1:4 en DMSO	Presencia
III	Biocomposito 1:20 en DMSO	Ausencia

La actividad bactericida de las NPs ZnO se deben a tres propiedades que son la generación de especies reactivas de oxígeno, liberaciones de iones Zn^{2+} y acumulación de ZnO-NPs en la membrana celular de los microorganismos.

Las especies reactivas de oxígeno generadas ocasionan una fuga de contenido intracelular debido al daño oxidativo de la membrana celular bacteriana, que ocasiona una eventual muerte celular [80]. La cantidad de iones Zn^{2+} liberada y su toxicidad no es significativa debido a que las nanopartículas no liberan gran cantidad de los mismos al medio y es confirmado por múltiples estudios realizados [81-83], Asimismo se considera los iones Zn^{2+} como agentes bacteriostáticos al unirse a la membrana bacteriana y a elevadas concentraciones, sin embargo a bajas concentraciones son metabolizados como un ion metálico esencial por todo organismo. Se puede afirmar que los biocompositos obtenidos con relación molar $\text{ZnSO}_4\text{:NaOH}$ 1:4 y 1:20 no contienen cantidades suficientes de NPs ZnO por lo cual no se observa inhibición. Sin embargo los residuos de la síntesis del biocomposito de relación molar $\text{ZnSO}_4\text{:NaOH}$ 1:4, exhiben halo de inhibición del crecimiento celular del microorganismo.

7. CONCLUSIONES

Se clasificaron taxonómicamente por primera vez, en colaboración con la escuela de Biología de la Universidad Industrial de Santander, dos especies del fique cultivadas en el departamento de Santander.

Se realizó la caracterización Histo-anatómica de los tejidos y fibras propios de la planta de fique (*Furcraea sp.*) determinándose que las fibras de la planta de fique se disponen en forma de haces vasculares parecidas a otras plantas reportadas en la literatura.

Se obtuvieron MFCs mediante oxidación TEMPO usando la relación molar 1:2.5, térmicamente estables, con potencial Z de -28.7, índice de cristalinidad de 54.92 %, con DO 0.6 y con diámetros que oscilan entre 20 - 180 nm y longitudes entre 1000 μm y 2000 μm .

Se obtuvieron biocompositos de MFC- y NPs de ZnO que fueron caracterizados por los métodos FT-IR, DRX, SEM, UV-Vis y DLS permitiendo evidenciar la presencia de óxido de zinc sobre la superficie de las MFCs.

En el análisis antibacterial de los biocompositos de NPs ZnO solo presentó inhibición la muestra con mayor presencia de NPs ZnO que correspondió al residuo de la obtención de biocompositos con relación molar $\text{ZnSO}_4\text{:NaOH}$ 1:4 US, indicando que la cantidad de NPs ZnO soportado sobre las MCFs es inferior al requerido para obtener un resultado positivo en los análisis de tipo antibacterial frente a los microorganismos patógenos.

8. RECOMENDACIONES

Se sugiere mejorar el método de la síntesis de NPs ZnO en las MFC de estopa de fique con el objetivo de que soporte mayor cantidad de óxido de zinc nanoparticulado para obtener pruebas positivas frente a evaluación antibacterial de microorganismos patógenos.

Se hace necesario profundizar el estudio de los mecanismos de soporte de las nanopartículas sobre diferentes materiales lignocelulósicos para las aplicaciones en química verde.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. RAVELO, E. Tesis de pregrado: Síntesis y caracterización de Bionanocompositos con base en fibras de fique y óxidos de hierro (Fe_3O_4) y evaluación de su actividad en la degradación de colorantes. Universidad Industrial de Santander. Bucaramanga. 2013, p. 30-34.
2. RODAS, M.C. *et al.* Adsorción de azufrados del petróleo utilizando nanopartículas de oro soportadas en fique. *Petrotecnia*. 2012, p. 24-38.
3. PEÑA, D.P.; TARAZONA, R.A. Estudio de la remoción de coliformes en aguas naturales utilizando un filtro tipo cartucho empacado con nanocompositos de fibra de fique con nanopartículas de plata. Universidad Industrial de Santander. Bucaramanga. 2013.
4. SEED CIENCIA. Energía y cambio climático mundial: alternativas para los combustibles fósiles {En línea}. {23 de enero de 2015}. Disponible es: <http://www.planetseed.com/es/relatedarticle/alternativas-para-los-combustibles-fosiles>
5. JIMÉNEZ, J. Uso de materiales alternativos para mejorar las propiedades mecánicas del concreto (fibra de fique). Trabajo de grado Químico. Bogotá, Colombia. Universidad La Gran Colombia. Escuela de Química. 2011.
6. Cultura Guane. Origen de los Guanes. {En línea}. {10 de septiembre de 2013}. Disponible en: <http://ciudadguane.blogspot.com/>
7. Cultura Guane. Manera de vestir de los Guanes. {En línea}. {10 de septiembre de 2013}. Disponible en: <http://ciudadguane.blogspot.com/>

8. CASTELLANOS O. F.; TORRES, L. M.; y ROJAS, J C. Agenda prospectiva de Investigación y desarrollo tecnológico para la cadena productiva del fique en Colombia. Bogotá D.C. 2009, p. 9-22.
9. MORALES, M.R. PELAEZ, N.S. El estudio de la cadena productiva del fique. En: INNOVER, revista de ciencias administrativas y sociales. No.20. 2012, p. 121-134.
10. MOJICA, A.; PAREDES, J. El cultivo del fique en el departamento de Santander. Bucaramanga: Centro regional de estudios Económicos. Julio, 2004
11. Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural. Anuario Estadístico del sector Agropecuario 2004. {En línea}. {20 de agosto de 2013}. Disponible en: <http://www.fenalce.org/archivos/Anuario2004.pdf>
12. Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural. Anuario Estadístico del Sector Agropecuario 2011. {En línea}. {20 de agosto de 2013}. Disponible en: <http://www.agronet.gov.co/www/htm3b/public/Anuario/AnuarioEstadistico2011.pdf>
13. DUFRESNE, A. Nanocellulose: from nature to high performance tailored materials. Walter de Gruyter. PTP Berlin. 2012. 59 p.
14. Red Turística de pueblos Patrimonio. Tradición textil de los Guane perdura en el tiempo. {En línea}. {20 de agosto de 2013}. Disponible en: <http://www.pueblospatrimoniodecolombia.travel/barichara-santander/tradicion-textil-de-los-guane-perdura-en-el-tiempo>

- 15.** HABIBI, Y.; LUCIA, L.A.; ROJAS, O.J. Cellulose Nanocrystals: Chemistry, Self-Assembly, and Applications. En: Chemical Reviews. Vol.110, No.6. 2010, p. 3479-3500.
- 16.** EDMOND, L.; KEITH, B. M.; JONATHAN, H. C.; ALFRED, C. W.; LEUNG H. T.; Applications of functionalized and nanoparticle - modified nanocrystalline cellulose. *Cell Press*. 30, 2012, p. 283-290.
- 17.** BRINCHI, L.; COTANA, F.; FORTUNATI, E.; KENNY, J. M. (2013). Production of nanocrystalline cellulose from lignocellulosic biomass: technology and applications. *Carbohydrate Polymers*. Vol.94, No.1. 2013, p. 154-169.
- 18.** MOJICA, A.; PAREDES, J. El cultivo del fique en el departamento de Santander. Centro Regional de estudios Económicos Bucaramanga. {En línea}. {20 de octubre 2013}. Disponible en: http://www.banrep.gov.co/docum/Lectura_finanzas/pdf/2004_julio.pdf
- 19.** GUIA AMBIENTAL DEL SUBSECTOR FIQUERO. Ministerio de Ambiente, Vivienda y Desarrollo Territorial. Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural. Departamento Nacional de Planeación. Segunda Edición. Bogotá D.C. 2006.
- 20.** PÉREZ, J. El Fique, su taxonomía, cultivo y tecnología. 2 ed. Medellín: Editorial Compañía de Empaques S.A. 1974, p. 20-24.
- 21.** ESAU, K. Anatomía Vegetal. Segunda edición. Editorial Omega. Barcelona ES. 1972, p. 17-763.
- 22.** MOLIST, P.; POMBAL, M.; MEGÍAS, M. Atlas de Histología Vegetal y Animal. Universidad de Vigo. Facultad de Biología. Departamento de Biología Funcional y Ciencias de la Salud. 2008.

- 23.**DA SILVA, M. Anatomy of leaf and Stem of *Erythrina velutina*. Rev. Bras. Farmacogn. Vol.23, No.2, 2013, p. 200-206.
- 24.**LUX, A.; MORITA, S.; ABE, J.; ITO, K. An improved method for clearing and staining free-hand sections and whole-mount samples. Annals of Botany. 96. 2005, p. 989-996.
- 25.**ESPINOSA, J.M. *et al.* Morfología y anatomía de radículas múltiples en plántulas de maíz derivadas de cariopsis con poliembrionía. Polibotánica. 33. 2012, p. 207-221.
- 26.**SIQUEIRA, G.; BRAS, J.; & DUFRESNE, A. Cellulosic bionanocomposites: a review of preparation, properties and applications. Polymers. Vol.2, No.4. 2010, p. 728-765.
- 27.**MOORE, R.; DENNIS, W.; CLARK & K.R. Stern. Botany. Wm. C. Brown Publishers. 1995.
- 28.**Pared celular. {En línea}. {26 de abril de 2014}. Disponible en: <http://www.agro.unlpam.edu.ar/catedras-pdf/PARED%20CELULAR.pdf>
- 29.**LAVOINE, N.; DESLOGES, I.; DUFRESNE, A.; & BRAS, J. Microfibrillated cellulose—Its barrier properties and applications in cellulosic materials: A review. Carbohydrate Polymers. Vol.90, No.2. 2012, p. 735-764.
- 30.**TURBAK, A.F.; SNYDER, F.W.; SANDBERG, K.R. Cellulose fibres, nanofibrils and microfibrils: The morphological sequence of MFC components from a plant physiology and fibre technology point of view. *J. Appl. Polym. Sci. Appl. Polym. Symp.* 37. 1983, p. 797-813.

- 31.** MOHANTY, A. K.; Misra, M.; Arulpandi, I. Natural Fibers, biopolymers, and biocomposites. Taylor & Francis Group, LLC, USA. 2005.
- 32.** JEMIMAH, V. H.; & Arulpandi, I. Evaluation of Antimicrobial Property of Biosynthesized Zinc Oxide Nanoparticles (ZnO NPs) and its Application on Baby Diapers. Drug Invention Today. Vol.6, No.2. 2014, p. 113-119.
- 33.** HABIBI, Y.; CHANZY, H.; & VIGNON, M. R. TEMPO-mediated surface oxidation of cellulose whiskers. Cellulose. Vol.13, No.6. 2006, p. 679-687.
- 34.** FUKUZUMI, H. *et al.* Thermal stabilization of TEMPO-oxidized cellulose. Polymer Degradation and Stability. Vol.95, No.9. 2010, p. 1502-1508.
- 35.** FUKUZUMI, H., SAITO, T., OKITA, Y., & ISOGAI, A. Thermal stabilization of TEMPO-oxidized cellulose. Polymer Degradation and Stability. Vol.95, No.9. 2010, p. 1502-1508.
- 36.** Wang, Z. L. Nanostructures of zinc oxide. Materials today. Vol.7, No.6. 2004, p. 26-33.
- 37.** SATTLER, KD (Ed.) Manual de Nanofísica: Nanopartículas y Quantum Dots. CRC Press. 2010.
- 38.** ZU, P.; TANG, Z.K.; WONG, G.K.; KAWASAKI, M.; OHTOMO, A.; H., KOINUMA Y. Segawa, Solid State Commun. 103. 1997, p. 459.
- 39.** OMICHI, K.; KAIYA, K.; TAKAHASHI, N.; NAKAMURA, T.; OKAMOTO, S.; & YAMAMOTO, H. Growth of ZnO thin films exhibiting room-temperature ultraviolet emission by means of atmospheric pressure vapor-phase epitaxy. J. Mater. Chem. Vol.11, No.2. 2001, p. 262-263.

- 40.**HUANG, M. H. *et al.* Catalytic growth of zinc oxide nanowires by vapor transport. *Advanced Materials*. Vol.13, No.2. 2001, p. 113-116.
- 41.**UMAR, A.; LEE, S.; Lee, Y. S., NAHM, K. S.; & Hahn, Y. B. Star-shaped ZnO nanostructures on silicon by cyclic feeding chemical vapor deposition. *Journal of crystal growth*. Vol.277, No.1. 2005, p. 479-484.
- 42.**BUSSEMAKER, M. J., & ZHANG, D. Effect of ultrasound on lignocellulosic biomass as a pretreatment for biorefinery and biofuel applications. *Industrial & Engineering Chemistry Research*. Vol.52, No.10. 2013, p. 3563-3580.
- 43.**KOCH, U. *et al.* Photochemistry of semiconductor colloids. Preparation of extremely small ZnO particles, fluorescence phenomena and size quantization effects. *Chem. Phys. Lett.* 122. 1985, p. 507-510.
- 44.**MOHANTA, A. *et al.* Photoluminescence from ZnO nanoparticles in vapor phase. *J. Appl. Phys.* Vol.104. 2008, p. 064903-1-064903-6.
- 45.**ALIVISATOS, A.P. Semiconductor Clusters, nanocrystals, and Quantum Dots. *Science, New Series*. Vol.271, No.5251. 1996, p. 933-937.
- 46.**SINGH, J. *et al.* Synthesis, band-gap tuning, structural and optical investigations of Mg doped ZnO nanowires. *CrystEngComm*. Vol.14, No.18. 2012, p. 5898-5904.
- 47.**GARCÍA, R. M. *et al.* Identificación y caracterización de nanocristales de celulosa obtenidos mediante emulsión inversa y ultrasonificación. X Congreso Nacional de Microscopía. México: 2010. {En línea}. {18 febrero de 2015}. Disponible es: http://www.amemi.org/memorias_2010/Sistemas_nanoestructurados_y_pelicul

- 48.** BECHERI, A. *et al.* Synthesis and characterization of zinc oxide nanoparticles: application to textiles as UV-absorbers. En: Journal of Nanoparticles Research. No.10. 2008, p. 679–689.
- 49.** JEMIMAH, V. H., & ARULPANDI, I. Evaluation of Antimicrobial Property of Biosynthesized Zinc Oxide Nanoparticles (ZnO NPs) and its Application on Baby Diapers. Drug Invention Today. Vol.6, No.2. 2014, p. 113-119.
- 50.** SOCOMAN, S.A. Discos antibiogramas. Sociedad commercial Andina S.A. La Paz- Bolivia: 49-52. {En línea}. {8 de diciembre de 2014}. Disponible en: <http://www.ops.org.bo/textocompleto/rnbiofa92010108.pdf>
- 51.** Agar, MH, y No, C. agar Mueller-Hinton. {En línea}. {1 de febrero de 2015}. Disponible en: <file:///E:/FICHA%20TECNICA%20DEL%20AGAR%20MUELLER%20HINTON.pdf>
- 52.** SÁNCHEZ, J.; & FERIS, J. Antibiogramas: utilidad y limitaciones. Arch Dom Ped. Vol.34, No.3. 1998, p. 82-87.
- 53.** SHELAMI, R. M. *et al.* Extraction of cellulose nanocrystals from mengkuang leaves (Pandanus tectorius). En: Carbohydrate Polymers. No.88. 2012, p. 772-779.
- 54.** CARRILLO, V. Síntesis in situ sobre fibras de fique y su aplicación en la degradación de contaminantes en agua. Trabajo de grado. Bucaramanga. Universidad Industrial de Santander. Facultad de Ciencias. 2014, p. 36-58.

- 55.** FARALDOS, M.; GOBERNA, C. Técnicas de análisis y caracterización de materiales. CSIC. DiScript Preimpresion S.L. 2011, p.1024.
- 56.** Tropicos.org. Jardín Botánico de Missouri. {En línea}. {20 junio de 2014}. Disponible en: < [http:// www.tropicos.org](http://www.tropicos.org).
- 57.** Missouri Botanical Garden. {En línea}. {6 de junio de 2014}. Disponible en: [www.tropicos.org.http://www.tropicos.org/Project/Berberis](http://www.tropicos.org/http://www.tropicos.org/Project/Berberis)
- 58.** Blanca Margarita Cañas Cañas. Manual de Laboratorio de Biología Vegetal. Bucaramanga; Universidad Industrial de Santander, Departamento de Biología. 1983. 126 ps.
- 59.** Ramiro Álvarez Sierra y Enrique Rentería Arriaga. Manual de laboratorio de Biología Vegetal. Universidad Industrial de Santander. Santander, Departamento de Biología; Bucaramanga; ediciones UIS. 1975. 66 p.
- 60.** SEGAL, L.; *et al.* "An empirical method for estimating the degree of crystallinity of native cellulose using the X-ray diffractometer, Textile Res. J. 29. 1959, p. 786-794.
- 61.** LI, C. *et al.* Comparison of dilute acid and ionic liquid pretreatment of switchgrass: biomass recalcitrance, delignification and enzymatic saccharification. Bioresource technology. Vol.101, No.13. 2010, p. 4900-4906.
- 62.** HAYACA, F. *et al.* Polymer Degradation and stability. Vol.95, No.9. 2010, p. 1502-1508.

- 63.** SMART Fertilización Inteligente. El calcio en las plantas. {En línea}. {13 de febrero 2014}. Disponible en: <http://www.smart-fertilizer.com/articulos/calcio-en-plantas>.
- 64.** FAN, M., DAI, D., & HUANG, B. Fourier transform infrared spectroscopy for natural fibres. *Fourier Transform–Materials Analysis*. In tech. 2012, p. 45-69.
- 65.** Muran y otros. Extracción de celulosa y obtención de nanocelulosa a partir de fibra de sisal-caracterización. Segundo encuentro de jóvenes investigadores en ciencia y tecnología de materiales-posadas. 16 y 17 de octubre de 2008.
- 66.** SUN, R. C.; FANG, J. M.; & TOMKINSON, J. Delignification of rye straw using hydrogen peroxide. *Industrial crops and products*. Vol.12, No.2. 2000, p. 71-83.
- 67.** TSUGUYUK, S. *et al.* *Biomacromolecules*. 2007, p. 8,2485-2491.
- 68.** HAYAKA, F. *et al.* *Polimer Degradation and stability*. 95. 2010, p.1502-1508.
- 69.** HABIBI, Y. *et al.* TEMPO-mediated surface oxidation of cellulose whiskers. *Cellulose*. Vol.13, No.6. 2006, p. 679-687.
- 70.** KAWANO, T.; & IMAI, H. Fabrication of ZnO nanoparticles with various aspect ratios through acidic and basic routes. *Crystal growth & design*. Vol.6, No.4. 2006, p. 1054-1056.
- 71.** MORAN, J. *et al.* Extracción de celulosa y obtención de nanocelulosa partir de fibra de sisal. Asociación Argentina de materiales. 2008, p. 1-6.
- 72.** Capítulo 12. Determinación de la cristalinidad y de la accesibilidad de las fibras de celulosa mediante diferentes técnicas. {En línea}. {25 de marzo 2015}.

Disponible

en:

<http://www.tdx.cat/bitstream/handle/10803/6489/16Brv16de20.pdf?sequence=16>

- 73.** LUDUEÑA, N. L. et al. Compuestos basados en policaprolactona y fibras naturales: efecto del tamaño y contenido de refuerzo. Asociación Argentina de materiales. Vol.7, No.2. 2010, p. 38-42.
- 74.** SMOLE, M.S. et al. Plant fibres for textile and technical applications. Intech. 2013, p. 269-398.
- 75.** WAHAB, R. et al. Low temperature solution synthesis and characterization of ZnO nano-flowers. *Materials Research Bulletin*. Vol. 42, No.9. 2007, p. 1640-1648.
- 76.** ISOGAI, T. et al. Degrees of polymerization (DP) and DP distribution of cellouronic acids prepared from alkali-treated celluloses and ball-milled native celluloses by TEMPO-mediated oxidation. *Cellulose*. 16. 2009, p. 117-127.
- 77.** Buapan Puangsin • Shuji Fujisawa • Ryota Kuramae • Tsuguyuki Saito • Akira Isogai. TEMPO-Mediated Oxidation of Hemp Bast Holocellulose to Prepare Cellulose Nanofibrils Dispersed in Water. *J Polym Environ*. 21. 2013, p. 555-563.
- 78.** Cintas, P., and Luche, J.L. (1999). "Green chemistry. The sonochemical approach," *Green Chemistry* 1(3), 115-125. DOI: 10.1039/A900593E.
- 79.** Lipovsky A, Tzitrinovich Z, Friedmann H, Applerot G, Gedanken A, Lubart R "EPR Study of Visible Light-Induced ROS Generation by Nanoparticles of ZnO", *J. Phys. Chem. C.*, 113(36), 15997 (2009).

- 80.**Huh AJ, Kwon YJ "Nanoantibiotics": a new paradigm for treating infectious diseases using nanomaterials in the antibiotics resistant era", *J. Control Release*. 156(2), 128 (2011).
- 81.**Raghupathi KR, Koodali RT, Manna AC "Size-dependent bacterial growth inhibition and mechanism of antibacterial activity of zinc oxide nanoparticles". *Langmuir*, 27(7), 4020 (2011).
- 82.**Reddy KM, Feris K, Bell J, Wingett DG, Hanley C, Punnoose A "Selective toxicity of zinc oxide nanoparticles to prokaryotic and eukaryotic systems", *Appl. Phys Lett.*, 90(213902), 2139021 (2007).
- 83.**Wang Y, Zhang Q, Zhang CL, Li P "Characterisation and cooperative antimicrobial properties of chitosan/nano-ZnO composite nanofibrous membranes". *Food Chemistry*, 132(1), 419 (2012).
- 84.**Da Silva Perez, D., Montanari, S., & Vignon, M. R. (2003). TEMPO-mediated oxidation of cellulose III. *Biomacromolecules*, 4(5), 1417-1425.

BIBLIOGRAFÍA

AGAR, M.H., NO, C. Agar Mueller-Hinton. {En línea}. {1 de febrero de 2015}.
Disponible en:
<file:///E:/FICHA%20TECNICA%20DEL%20AGAR%20MUELLER%20HINTON.pdf>

ALIVISATOS, A.P. Semiconductor Clusters, nanocrystals, and Quantum Dots. Science, New Series. Vol. 271, No.5251. 1996.

ÁLVAREZ SIERRA, Ramiro; RENTERÍA ARRIAGA, Enrique. Manual de laboratorio de Biología Vegetal. Universidad Industrial de Santander. Santander, Departamento de Biología; Bucaramanga; ediciones UIS. 1975.

BECHERI, A. *et al.* Synthesis and characterization of zinc oxide nanoparticles: application to textiles as UV-absorbers. En: Journal of Nanoparticles Research. No.10. 2008.

BRINCHI, L.; COTANA, F.; FORTUNATI, E.; KENNY, J. M. (2013). Production of nanocrystalline cellulose from lignocellulosic biomass: technology and applications. *Carbohydrate Polymers*. Vol.94, No.1. 2013.

BUSSEMAKER, M. J., & ZHANG, D. Effect of ultrasound on lignocellulosic biomass as a pretreatment for biorefinery and biofuel applications. *Industrial & Engineering Chemistry Research*. Vol.52, No.10. 2013.

CAÑAS CAÑAS, Blanca Margarita. Manual de Laboratorio de Biología Vegetal. Bucaramanga; Universidad Industrial de Santander, Departamento de Biología. 1983.

Capítulo 12. Determinación de la cristalinidad y de la accesibilidad de las fibras de celulosa mediante diferentes técnicas. {En línea}. {25 de marzo 2015}. Disponible en:

<http://www.tdx.cat/bitstream/handle/10803/6489/16Brv16de20.pdf?sequence=16>

CARRILLO, V. Síntesis in situ sobre fibras de fique y su aplicación en la degradación de contaminantes en agua. Trabajo de grado. Bucaramanga. Universidad Industrial de Santander. Facultad de Ciencias. 2014, p. 36-58.

CASTELLANOS O. F.; TORRES, L. M.; y ROJAS, J C. Agenda prospectiva de Investigación y desarrollo tecnológico para la cadena productiva del fique en Colombia. Bogotá D.C. 2009.

CINTAS, P.; LUCHE, J.L. "Green chemistry. The sonochemical approach," Green Chemistry 1(3), 115-125. DOI: 10.1039/A900593E. 1999.

Cultura Guane. Origen de los Guanes. {En línea}. {10 de septiembre de 2013}. Disponible en: <http://ciudadguane.blogspot.com/>

Cultura Guane. Manera de vestir de los Guanes. {En línea}. {10 de septiembre de 2013}. Disponible en: <http://ciudadguane.blogspot.com/>

DA SILVA, M. Anatomy of leaf and Stem of *Erythrina velutina*. Rev. Bras. Farmacogn. Vol.23, No.2. 2013.

DA SILVA PEREZ, D., MONTANARI, S., VIGNON, M.R. TEMPO-mediated oxidation of cellulose III. *Biomacromolecules*, 4(5). 2003.

DUFRESNE, A. Nanocellulose: from nature to high performance tailored materials. Walter de Gruyter. PTP Berlin. 2012p.

EDMOND, L.; KEITH, B. M.; JONATHAN, H. C.; ALFRED, C. W.; LEUNG H. T.; Applications of functionalized and nanoparticle - modified nanocrystalline cellulose. *Cell Press*. 30. 2010.

ESAU, K. Anatomía Vegetal. Segunda edición. Editorial Omega. Barcelona ES. 1972.

ESPINOSA, J.M. *et al.* Morfología y anatomía de radículas múltiples en plántulas de maíz derivadas de cariópsis con poliembrionía. *Polibotánica*. 33. 2012.

FAN, M., DAI, D., HUANG, B. Fourier transform infrared spectroscopy for natural fibres. *Fourier Transform–Materials Analysis*. In tech. 2012.

FARALDOS, M.; GOBERNA, C. Técnicas de análisis y caracterización de materiales. CSIC. DiScript Preimpresión S.L. 2011.

FUKUZUMI, H., SAITO, T., OKITA, Y., ISOGAI, A. Thermal stabilization of TEMPO-oxidized cellulose. *Polymer Degradation and Stability*. Vol.95, No.9. 2010.

FUKUZUMI, H. *et al.* Thermal stabilization of TEMPO-oxidized cellulose. *Polymer Degradation and Stability*. Vol.95, No.9, 2010.

GARCÍA, R.M. *et al.* Identificación y caracterización de nanocristales de celulosa obtenidos mediante emulsión inversa y ultrasonificación. X Congreso Nacional de Microscopía. México: 2010. {En línea}. {18 febrero de 2015}. Disponible es: http://www.amemi.org/memorias_2010/Sistemas_nanoestructurados_y_películas_delgadas/POSTERS/IDENTIFICACION_Y_CARACTERIZACION_DE_NANOCRISTALES.pdf

GUÍA AMBIENTAL DEL SUBSECTOR FIQUERO. Ministerio de Ambiente, Vivienda y Desarrollo Territorial. Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural. Departamento Nacional de Planeación. Segunda Edición. Bogotá D.C. 2006.

HABIBI, Y.; CHANZY, H.; VIGNON, M. R. TEMPO-mediated surface oxidation of cellulose whiskers. *Cellulose*. Vol.13, No.6. 2006.

HABIBI, Y.; LUCIA, L.A.; ROJAS, O.J. Cellulose Nanocrystals: Chemistry, Self-Assembly, and Applications. En: Chemical Reviews. Vol.110, No.6. 2010.

HAYACA, F. *et al.* Polymer Degradation and stability. Vol.95, No.9. 2010.

HUANG, M.H. *et al.* Catalytic growth of zinc oxide nanowires by vapor transport. Advanced Materials. Vol.13, No.2. 2001.

HUH A.J., KWON Y.J. "Nanoantibiotics": A new paradigm for treating infectious diseases using nanomaterials in the antibiotics resistant era", *J. Control Release*. 156(2), 128. 2011.

ISOGAI, T. *et al.* Degrees of polymerization (DP) and DP distribution of cellouronic acids prepared from alkali-treated celluloses and ball-milled native celluloses by TEMPO-mediated oxidation. Cellulose. 16. 2009.

JEMIMAH, V.H., ARULPANDI, I. Evaluation of Antimicrobial Property of Biosynthesized Zinc Oxide Nanoparticles (ZnO NPs) and its Application on Baby Diapers. Drug Invention Today. Vol.6, No.2. 2014.

JIMÉNEZ, J. Uso de materiales alternativos para mejorar las propiedades mecánicas del concreto (fibra de fique). Trabajo de grado Químico. Bogotá, Colombia. Universidad La Gran Colombia. Escuela de Química. 2011.

KAWANO, T.; IMAI, H. Fabrication of ZnO nanoparticles with various aspect ratios through acidic and basic routes. *Crystal growth & design*. Vol.6, No.4. 2006.

KOCH, U. *et al.* Photochemistry of semiconductor colloids. Preparation of extremely small ZnO particles, fluorescence phenomena and size quantization effects. *Chem. Phys. Lett.* 122. 1985.

LAVOINE, N.; DESLOGES, I.; DUFRESNE, A.; BRAS, J. Microfibrillated cellulose—Its barrier properties and applications in cellulosic materials: A review. *Carbohydrate Polymers*. Vol.90, No.2. 2012.

LI, C. *et al.* Comparison of dilute acid and ionic liquid pretreatment of switchgrass: biomass recalcitrance, delignification and enzymatic saccharification. *Bioresource technology*. Vol.101, No.13. 2010.

LIPOVSKY, A.; TZITRINOVICH, Z.; FRIEDMANN, H.; APPLEROT, G.; GEDANKEN, A.; LUBART, R. "EPR Study of Visible Light-Induced ROS Generation by Nanoparticles of ZnO", *J. Phys. Chem. C.*, 113(36), 15997. 2009.

LUDUEÑA, N.L. *et al.* Compuestos basados en policaprolactona y fibras naturales: efecto del tamaño y contenido de refuerzo. *Asociación Argentina de materiales*. Vol.7, No.2. 2010.

LUX, A.; MORITA, S.; ABE, J.; ITO, K. An improved method for clearing and staining free-hand sections and whole-mount samples. *Annals of Botany*. 96. 2005.

Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural. Anuario Estadístico del sector Agropecuario 2004. {En línea}. {20 de agosto de 2013}. Disponible en: <http://www.fenalce.org/archivos/Anuario2004.pdf>

Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural. Anuario Estadístico del Sector Agropecuario 2011. {En línea}. {20 de agosto de 2013}. Disponible en: <http://www.agronet.gov.co/www/htm3b/public/Anuario/AnuarioEstadistico2011.pdf>

Missouri Botanical Garden. {En línea}. {6 de junio de 2014}. Disponible en: [www.tropicos.org.http://www.tropicos.org/Project/Berberis](http://www.tropicos.org/http://www.tropicos.org/Project/Berberis)

MOHANTA, A. *et al*. Photoluminescence from ZnO nanoparticles in vapor phase. *J. Appl. Phys.* Vol.104. 2008.

MOHANTY, A.K.; MISRA, M.; ARULPANDI, I. Natural Fibers, biopolymers, and biocomposites. Taylor & Francis Group, LLC, USA. 2005.

MOJICA, A.; PAREDES, J. El cultivo del fique en el departamento de Santander. Bucaramanga: Centro regional de estudios Económicos. Julio, 2004.

MOJICA, A.; PAREDES, J. El cultivo del fique en el departamento de Santander. Centro Regional de estudios Económicos Bucaramanga. {En línea}. {20 de octubre 2013}. Disponible en: http://www.banrep.gov.co/docum/Lectura_finanzas/pdf/2004_julio.pdf

MOLIST, P.; POMBAL, M.; MEGÍAS, M. Atlas de Histología Vegetal y Animal. Universidad de Vigo. Facultad de Biología. Departamento de Biología Funcional y Ciencias de la Salud. 2008.

MORALES, M.R. PELAEZ, N.S. El estudio de la cadena productiva del fique. En: INNOVER, revista de ciencias administrativas y sociales. No.20. 2012.

MOORE, R.; DENNIS, W.; CLARK & K.R. Stern. Botany. Wm. C. Brown Publishers. 1995.

MORAN, J. *et al.* Extracción de celulosa y obtención de nanocelulosa partir de fibra de sisal. Asociación Argentina de materiales. 2008.

MURAN y otros. Extracción de celulosa y obtención de nanocelulosa a partir de fibra de sisal-caracterización. Segundo encuentro de jóvenes investigadores en ciencia y tecnología de materiales-posadas.16 y 17 de octubre de 2008.

OMICHI, K.; KAIYA, K.; TAKAHASHI, N.; NAKAMURA, T.; OKAMOTO, S.; & YAMAMOTO, H. Growth of ZnO thin films exhibiting room-temperature ultraviolet emission by means of atmospheric pressure vapor-phase epitaxy. J. Mater. Chem. Vol.11, No.2. 2001.

Pared celular. {En línea}. {26 de abril de 2014}. Disponible en: <http://www.agro.unlpam.edu.ar/catedras-pdf/PARED%20CELULAR.pdf>

PEÑA, D.P.; TARAZONA, R.A. Estudio de la remoción de coliformes en aguas naturales utilizando un filtro tipo cartucho empacado con nanocompositos de fibra de fique con nanopartículas de plata. Universidad Industrial de Santander. Bucaramanga. 2013.

PÉREZ, J. El Fique, su taxonomía, cultivo y tecnología. 2 ed. Medellín: Editorial Compañía de Empaques S.A. 1974.

PUANGSIN, Buapan; FUJISAWA, Shuji; KURAMAE, Ryota; SAITO, Tsuguyuki; ISOGAI, Akira. TEMPO-Mediated Oxidation of Hemp Bast Holocellulose to Prepare Cellulose Nanofibrils Dispersed in Water. J Polym Environ. 21. 2013.

RAGHUPATHI, K.R.; KOODALI, R.T.; MANNA, A.C. "Size-dependent bacterial growth inhibition and mechanism of antibacterial activity of zinc oxide nanoparticles". *Langmuir*, 27(7), 4020. 2011.

RAVELO, E. Tesis de pregrado: Síntesis y caracterización de Bionanocompositos con base en fibras de fique y óxidos de hierro (Fe_3O_4) y evaluación de su actividad en la degradación de colorantes. Universidad Industrial de Santander. Bucaramanga. 2013.

Red Turística de pueblos Patrimonio. Tradición textil de los Guane perdura en el tiempo. {En línea}. {20 de agosto de 2013}. Disponible en: <http://www.pueblospatrimoniodecolombia.travel/barichara-santander/tradicion-textil-de-los-guane-perdura-en-el-tiempo>

REDDY, K.M.; FERIS, K.; BELL, J.; WINGETT, D.G.; HANLEY, C.; PUNNOOSE, A. "Selective toxicity of zinc oxide nanoparticles to prokaryotic and eukaryotic systems", *Appl. Phys Lett.*, 90(213902), 2139021 (2007).

RODAS, M.C. *et al.* Adsorción de azufrados del petróleo utilizando nanopartículas de oro soportadas en fique. *Petrotecnia*. 2012.

SÁNCHEZ, J., FERIS, J. Antibiógramas: utilidad y limitaciones. *Arch Dom Ped.* Vol.34, No.3. 1998.

SATTLER, KD (Ed.) Manual de Nanofísica: Nanopartículas y Quantum Dots. CRC Press. 2010.

SEED CIENCIA. Energía y cambio climático mundial: alternativas para los combustibles fósiles {En línea}. {23 de enero de 2015}. Disponible es: <http://www.planetseed.com/es/relatedarticle/alternativas-para-los-combustibles-fosiles>

SEGAL, L.; *et al.* "An empirical method for estimating the degree of crystallinity of native cellulose using the X-ray diffractometer, Textile Res. J. 29. 1959.

SHELTAMI, R.M. *et al.* Extraction of cellulose nanocrystals from mengkuang leaves (*Pandanus tectorius*). En: Carbohydrate Polymers. No.88. 2012.

SINGH, J. *et al.* Synthesis, band-gap tuning, structural and optical investigations of Mg doped ZnO nanowires. CrystEngComm. Vol.14, No.18. 2012.

SIQUEIRA, G.; BRAS, J.; & DUFRESNE, A. Cellulosic bionanocomposites: a review of preparation, properties and applications. Polymers. Vol. 2, No.4. 2010.

SMART Fertilización Inteligente. El calcio en las plantas. {En línea}. {13 de febrero 2014}. Disponible en: <http://www.smart-fertilizer.com/articulos/calcio-en-plantas>.

SMOLE, M.S.; *et al.* Plant fibres for textile and technical applications. Intech. 2013.

SOCOMAN, S.A. Discos antibiogramas. Sociedad Comercial Andina S.A. La Paz-Bolivia. {En línea}. {8 de diciembre de 2014}. Disponible en: <http://www.ops.org.bo/textocompleto/rnbiofa92010108.pdf>

SUN, R.C.; FANG, J.M.; TOMKINSON, J. Delignification of rye straw using hydrogen peroxide. *Industrial crops and products*. Vol.12, No.2. 2002.

Tropicos.org. Jardín Botánico de Missouri. {En línea}. {20 junio de 2014}. Disponible en: < [http:// www.tropicos.org](http://www.tropicos.org).

TSUGUYUK, S. *et al.* *Biomacromolecules*. 2007.

TURBAK, A.F.; SNYDER, F.W.; SANDBERG, K.R. Cellulose fibres, nanofibrils and microfibrils: The morphological sequence of MFC components from a plant physiology and fibre technology point of view. *J. Appl. Polym. Sci. Appl. Polym. Symp*, 37. 1983.

UMAR, A.; LEE, S.; Lee, Y. S., NAHM, K. S.; & Hahn, Y. B. Star-shaped ZnO nanostructures on silicon by cyclic feeding chemical vapor deposition. *Journal of crystal growth*. Vol. 277, No.1. 2005.

WAHAB, R. *et al.* Low temperature solution synthesis and characterization of ZnO nano-flowers. *Materials Research Bulletin*. Vol.42, No.9. 2007.

WANG, Y.; ZHANG, Q.; ZHANG, C.L.; LI, P. "Characterisation and cooperative antimicrobial properties of chitosan/nano-ZnO composite nanofibrous membranes". *Food Chemistry*, 132(1), 419. 2012.

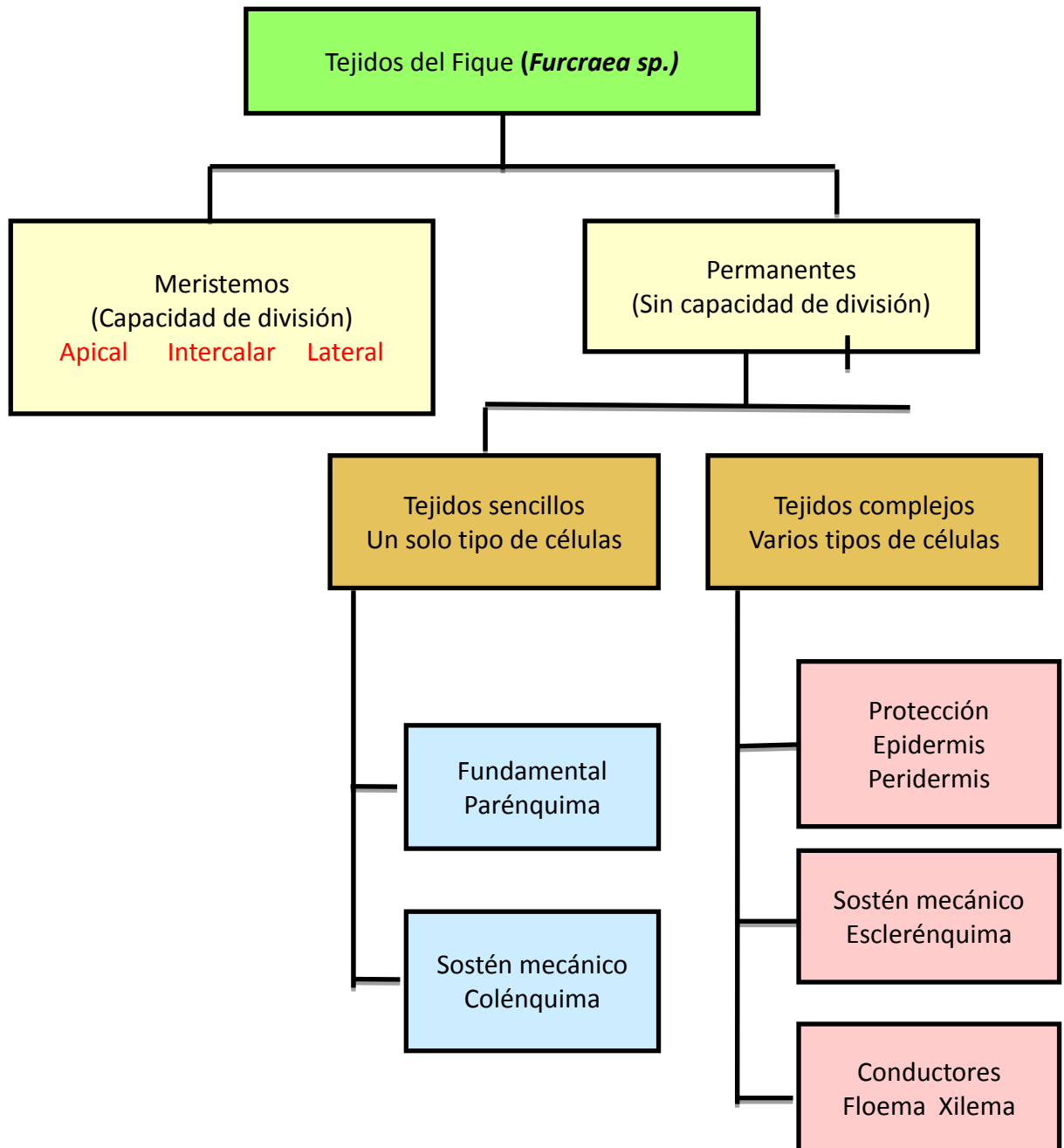
WANG, Z.L. Nanostructures of zinc oxide. *Materials today*. Vol.7, No.6. 2004.

ZU, P.; TANG, Z.K.; WONG, G.K.; KAWASAKI, M.; OHTOMO, A.; H., KOINUMA Y. Segawa, *Solid State Commun.* 103. 1997.

ANEXOS

ANEXO A. TEJIDOS DEL FIQUE (*Furcraea sp.*)

Figura 1. Tejidos presentes en la hoja de la planta de Fique (*Furcraea sp.*)



ANEXO B. MATERIALES, REACTIVOS Y EQUIPOS

Tabla 1. Reactivos utilizados durante el proyecto de investigación

Reactivo	Pureza [%]	Fuente
H ₂ O ₂	Peróxido de hidrogeno 30%. EMSURE ISO.	Merck
Etanol	Etanol, Lichrosolv 99.9%	Merck
HCl	Ácido Clorhídrico, EMSURE ACS, ISO Reag. 37%	Merck
NaOH	Lentejas de Hidróxido de Sodio, Extra Pure 98-100.5%	Honeywell Burdick y Jackson
NaBr	Bromuro de sodio, Suprapur. 99.99	Merck KGaA
TEMPO	TEMPO Free Radical 98.9%	Alfa Aesar
NaOCl	Hipoclorito de Sodio solución en agua, 5-9% Cl	Carlos Erba
ZnSO ₄ . 7H ₂ O	Sulfato de zinc heptahidratado, EMSURE ACS, ISO. 99.5-103.0%	Merck
Agua destilada	Destilada, Desionizada	
Fluoroglucina alcohólica	90%	Riedel de haen
Cloruro de Zinc Yodado	90-95 Mezcla	Lab. Qco. UIS
Etanol	100	Merck
Reactivo SUDAN III	87	Aldrich
Eosina	100	Fluka chemika
Tionina	70	Riedel de haen
Alcohol etílico	96	Merck

Tabla 2. Equipos de laboratorio utilizados durante el proyecto de investigación

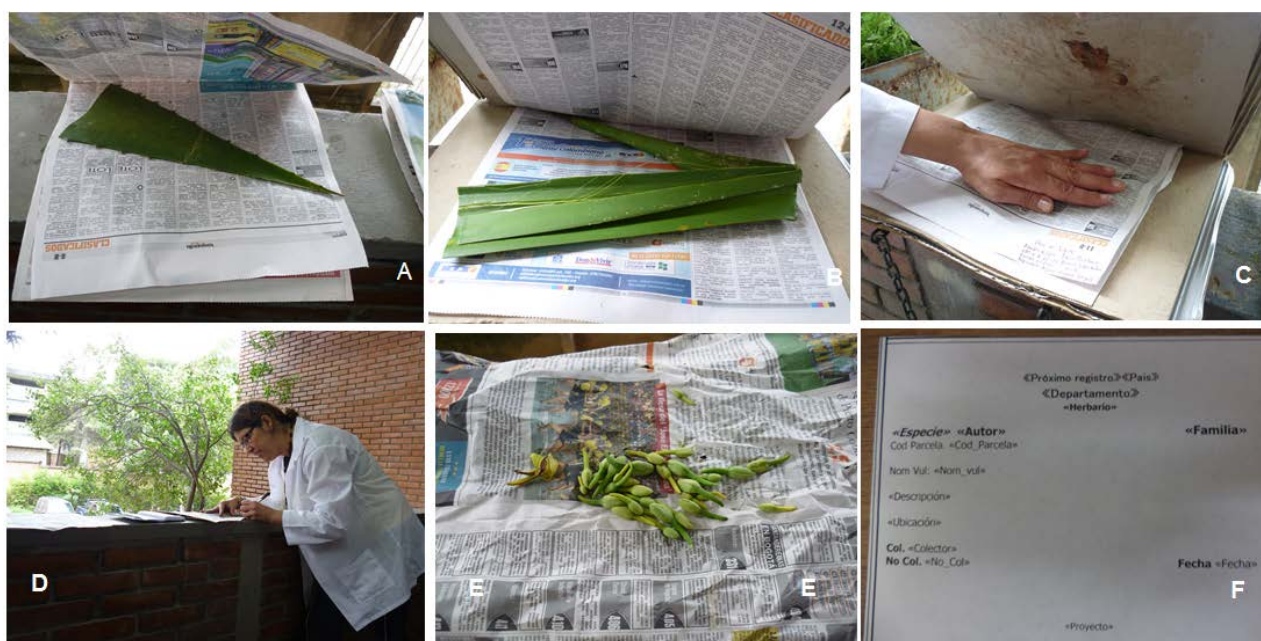
Equipo	Marca
Agitador Multi-tube	Vortexer DV1010
Balanza analítica	Ohaus A214C
Baño Termostatado	VWR
Baño de ultrasonido	Branso 1800
Centrifugadora	Sigma 4-16 KS
Conductímetro	Orion 4STAR Thermo Scientific
Difractómetro	Bruker Modelo D8 ADVANCE
Espectrofotómetro IR con aditamiento de reflectancia atenuada	Bruker modelo Tensor 27
Espectrofotómetro UV-Vis con aditamiento de reflectancia difusa	Shimadzu modelo 2401 PC
Generador de Ultrasonido	VC 750
Horno	E&Q HDN-64
Horno de secado Herbario	SIM MAQUIGRAF
Liofilizador	LAB CONCO
Microscopio electrónico de emisión de campo (FESEM)	QUANTA FE 6655 (FEI)
Microscopio óptico de luz	Modelo Nikon Eclipse 55i
Microscopio óptico de luz	Eclipse E200-LED
Microscopio óptico de luz	Leica DM 750 P
Micrótomo	Leica CM1850 UV
PH-metro	Schott CG-842
Plancha de agitación magnética y calentamiento	Marca Thermo Scientific
Ultra-turrax	IKA 125

ANEXO C. PROCEDIMIENTO DE CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA DEL FIQUE (*Furcraea* sp.)

Figura 2. Fotos tomadas durante salida de campo. (A) Planta adulta con inflorescencia floral (B) Flores de la planta de fique perolero



Figura 3. Fotografías de etapas del trabajo de clasificación taxonómico de la planta de fique (A) selección, (B) prensado, (C) secado (D-E) clasificación y (F) elaboración descriptiva de la ficha taxonómica.



ANEXO D. SÍNTESIS *In situ* DE ZnO NPs SOBRE LAS MFC PARA OBTENCIÓN DEL BIOCOMPOSITO

Figura 4. Esquema de la síntesis de NPs de ZnO sobre MFC obtenida a partir de la estopa del fique

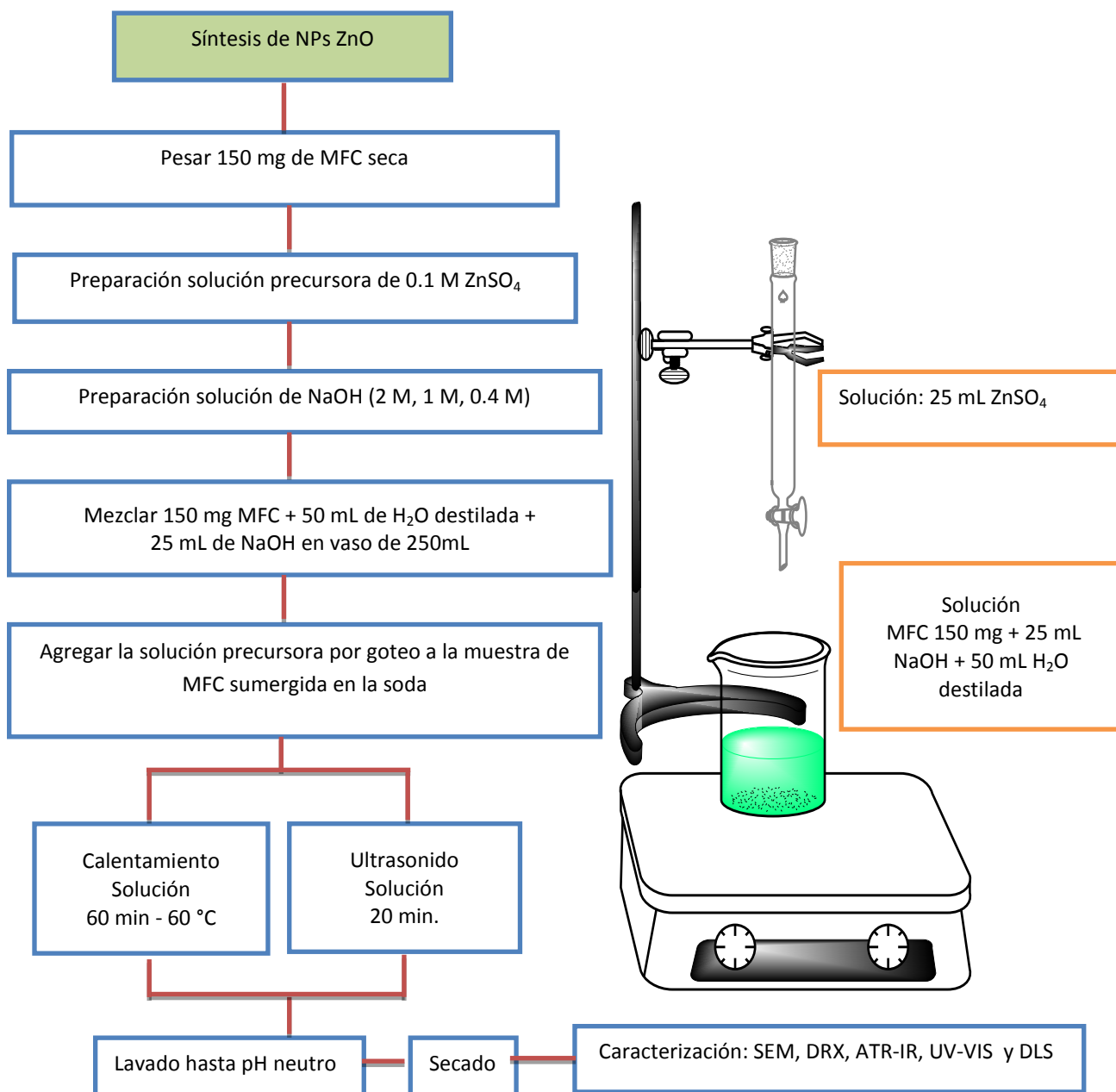


Figura 5. Fotografías de los bionanocompositos obtenidos durante la síntesis *in situ* de NPs de ZnO en las MFC. (A) sobrenadante US 1:4 (B) residuo US 1:4 (C) sobrenadante calentamiento 1:4 (D) residuo calentamiento 1:4 (E) sobrenandante US 1:10 (F) residuo US 1:10 (G) sobrenadante Calentamiento 1:10 (H) residuo calentamiento 1:10 (I) sobrenadante US 1:20 (J) residuo US 1:20 (K) sobrenadante calentamiento 1:20 y (L) residuo calentamiento 1:20

