

Modificación estructural de celulosa bacteriana y celulosa vegetal para su funcionalización con nanopartículas de plata.

Juliet Thalia Trigos Rodríguez

Trabajo de grado para optar el título de química

Marianny Yajaira Combariza Montañez

Química, Ph. D.

Director

Andrea Paola Martinez R.

Química, Ph. D

Codirector

Universidad Industrial de Santander

Facultad de Ciencias

Escuela de Química

Bucaramanga

2026

Dedicatoria

A mi familia, por su apoyo constante. Especialmente a mi madre y a mis hermanos Laura y David, por ser mi mayor impulso en la vida. A mi madre, por su esfuerzo incansable, por trabajar día y noche para darnos estudio y construir nuestro futuro con total dedicación. A mi hermana Laura, a quien amo profundamente y por quien deseo salir adelante, para poder ser un ejemplo en su vida. A mi hermano David, cuya vida es un milagro, y con quien atravesé esta etapa entre visitas a la clínica y luego al laboratorio, acompañándonos mutuamente en cada proceso. And to Luke, for being a constant source of inspiration, for teaching me new life lessons, and for reminding me that “the map is not the territory” thank you for always motivating me to keep pursuing this dream.

Agradecimientos

A la Universidad Industrial de Santander y al Parque Tecnológico Guatiguará, por brindar los espacios académicos y de investigación que hicieron posible el desarrollo de este trabajo, así como por fomentar un entorno propicio para el aprendizaje, el crecimiento personal y profesional. De igual manera, agradezco al equipo del Laboratorio de Rayos X por su apoyo y por los servicios de caracterización prestados durante la realización de esta investigación.

Agradezco especialmente a la profesora Marianny Yajaira Combariza, a Andrea por guiarme durante todo el proceso y siempre darme su mano cuando tenía preguntas, y a Julián por motivarme a no rendirme, por darme consejos y ayuda, porque de principio a fin siempre estuvo ahí, trabajando en las mismas dudas y en los mismos problemas, al final siempre me brindó su apoyo. Gracias por crear una amistad que va más allá del laboratorio.

Tabla de Contenido

	Pág.
Introducción	12
1 OBJETIVOS	15
1.1 Objetivo general	15
1.2 Objetivos específicos	15
2 MARCO REFERENCIAL	16
2.1 Raquis de palma de aceite	16
2.2 Celulosa	17
2.3 Mucílago de cacao	19
2.4 Celulosa bacteriana	20
2.5 Oxidación con radical TEMPO y sonoquímica	21
2.6 Cuantificación de aldehídos en celulosa oxidada.....	24
2.7 Hidrogeles.....	25
2.8 Nanopartículas de plata.....	26
3 ANTECEDENTES	27
4 METODOLOGÍA	33
4.1 Limpieza y pretratamiento	33
4.1.1 Celulosa bacteriana	33
4.1.2 Celulosa vegetal	33
4.2 Reacción de oxidación con tempo	34
4.3 Desintegración mecánica.....	35
4.4 Post-oxidación	35
4.5 Síntesis de hidrogeles híbridos.	36
4.6 Caracterización	37
4.6.1 Titulación conductimétrica.....	37
4.6.2 Dispersión dinámica de luz (DLS) y potencial z	38
4.6.3 Microscopía electrónica de barrido (SEM)	39
4.6.4 FTIR-ATR Espectroscopía de infrarrojo transformada de fourier con reflectancia total atenuada.....	39
4.6.5 Difracción de rayos X (DRX)	40
4.6.6 Fluorescencia de rayos X (FRX)	40

5	RESULTADOS	41
5.1	Caracterización de la celulosa modificada	41
5.1.1	Titulación conductimétrica.....	41
5.1.2	Potencial Z.....	45
5.1.3	Microscopía electrónica de barrido (SEM)	47
5.1.4	Espectroscopia infrarroja (FTIR)	49
5.1.5	Difracción de rayos X (DRX)	53
5.2	Caracterización de los hidrogeles.	54
5.2.1	Fluorescencia de rayos X (FRX)	54
6	CONCLUSIONES	58
7	RECOMENDACIONES Y TRABAJO FUTURO	59
8	REFERENCIAS	61
	Apéndices.....	73

Lista de Figuras

	Pág.
Figura 1 <i>Estructura Base de la Celulosa</i>	18
Figura 2 <i>Mecanismo oxidación con radical TEMPO</i>	23
Figura 3 <i>Reacción de oxidación con aldehídos</i>	25
Figura 4 <i>Mecanismo oxidación de aldehídos utilizando el reactivo de Tollens</i>	27
Figura 5 <i>Representación general de la reacción redox en la oxidación de aldehídos utilizando el ion Ag^+ como agente oxidante</i>	32
Figura 6 <i>Procedimiento de deslignificación de fibra de Raquis de palma de aceite</i>	34
Figura 7 <i>Potencial Z de las muestras de celulosa oxidadas mediante radical TEMPO</i>	46
Figura 8 <i>Micrografías SEM de celulosa oxidada con TEMPO</i>	48
Figura 9 <i>Micrografías SEM de celulosa oxidada con TEMPO y AgNPs</i>	49
Figura 10 <i>Espectros FT.IR</i>	51
Figura 11 <i>Espectros DRX</i>	54
Figura 12 <i>Preparación de hidrogeles TOBCN/AgNPs</i>	57
Figura 13 <i>Preparación de hidrogeles TOCN/AgNPs a partir de raquis</i>	57

Lista de Tablas

	Pág.
Tabla 1 <i>Propiedades físicas de celulosa vegetal y celulosa bacteriana</i>	21
Tabla 2 <i>Grado de oxidación y cantidad de carboxilato medido para diferentes tipos de celulosa vegetal y bacteriana</i>	43
Tabla 3 <i>Caracterización FT-IR</i>	52
Tabla 4 <i>Porcentaje cuantitativo de óxidos y elementos obtenidos mediante análisis FRX de las muestras TOCN, TOBCN, TOCN/AgNO₃ y TOBCN/AgNO₃</i>	56

Lista de Apéndices

	pág.
Apéndice A. Conductividad Vs pH para la determinación del grado de oxidación	73
Apéndice B. Difractograma caracterizado con el programa DIFRACC.EVA	74

Glosario

CB: Celulosa bacteriana

CV: Celulosa vegetal

NFC: Nanofibras de celulosa

NPs: Nanopartículas

TEMPO: 2,2, 6,6-tetrametildipepiridina-1-oxilo

TOBCN: Nanofibras de celulosa bacteriana oxidadas por TEMPO (TEMPO-Oxidized Bacterial Cellulose Nanofibers)

TOCN: Nanofibras de celulosa oxidada por TEMPO (TEMPO-Oxidized Cellulose Nanofibers)

Resumen

Título: Modificación Estructural de Celulosa Bacteriana y Celulosa Vegetal para su Funcionalización con Nanopartículas de Plata ^{1*}

Autor: Juliet Thalia Trigos Rodriguez^{2*3*}

Palabras Clave: Celulosa, Oxidación, Hidrogel, Nanopartículas, Plata

Descripción: Los nanomateriales han revolucionado diversos campos científicos y tecnológicos gracias a sus propiedades excepcionales. Entre ellos, las nanopartículas de plata (AgNPs) destacan por su eficacia antimicrobiana y antifúngica. No obstante, su síntesis convencional suele implicar el uso de agentes químicos tóxicos, generando preocupación ambiental. Este estudio propone una alternativa sostenible mediante el aprovechamiento de celulosa oxidada, obtenida a partir de residuos agroindustriales, para desarrollar hidrogeles híbridos funcionalizados con AgNPs. La celulosa vegetal (CV) y la celulosa bacteriana (CB) fueron oxidadas utilizando el radical TEMPO, alcanzando grados de oxidación de 0,210 y 0,140, respectivamente. Tras una etapa de post-oxidación, estos valores aumentaron a 0,261 y 0,218, relacionados con la presencia de grupos aldehídos. Estos grupos, con capacidad reductora, se aprovecharon como sitios de nucleación para la formación de AgNPs dentro de los hidrogeles. La caracterización de los materiales se realizó mediante SEM, FT-IR, DRX y FRX, confirmando la incorporación exitosa de la sal precursora de plata. Los análisis revelaron señales y morfologías consistentes con la formación de puntos de nucleación, lo que sugiere el potencial de estos biomateriales como sistemas funcionales sostenibles y con aplicaciones antifúngicas.

^{1*} Trabajo de Grado

^{2**} Facultad de ciencias. Escuela de Química. Química. Directora: Marianny Yajaira Combariza Montañez. Química, Ph.D. Codirector: Andrea Paola Martínez R. Ph.D en química.

Abstract

Title: Structural Modification of Bacterial Cellulose and Plant Cellulose for Functionalization with Silver Nanoparticles^{4*}

Author(s): Juliet Thalia Trigos Rodriguez⁵

Key Words: Cellulose, Oxidation, Hydrogel, Nanoparticles, Silver

Description: Nanomaterials have revolutionized various scientific and technological fields due to their exceptional properties. Among them, silver nanoparticles (AgNPs) stand out for their antimicrobial and antifungal efficacy. However, their conventional synthesis often involves the use of toxic chemical agents, raising environmental concerns. This study proposes a sustainable alternative by utilizing oxidized cellulose, obtained from agro-industrial waste, to develop hybrid hydrogels functionalized with AgNPs. Vegetable cellulose (CV) and bacterial cellulose (CB) were oxidized using the TEMPO radical, achieving oxidation degrees of 0.210 and 0.140, respectively. After a post-oxidation step, these values increased to 0.261 and 0.218, associated with the presence of aldehyde groups. These groups, with reducing capability, were used as nucleation sites for the formation of AgNPs within the hydrogels. The materials were characterized by SEM, FT-IR, XRD, and XRF, confirming the successful incorporation of the silver precursor salt. The analyses revealed signals and morphologies consistent with the formation of nucleation sites, suggesting the potential of these biomaterials as sustainable functional systems with antimicrobial applications.

⁴Bachelor Thesis

⁵Faculty of Sciences. School of Chemistry. Director: Marianny Yajaira Combariza Montañez. Ph.D in Chemistry. Co-director: Andrea Paola Martínez Ph.D in Chemistry.

Introducción

En las últimas décadas, el desarrollo de materiales a escala nanométrica ha permitido explorar fenómenos fisicoquímicos que no se observan en materiales convencionales. A esta escala (1–100 nm), el aumento significativo del área superficial y los efectos de confinamiento cuántico modifican propiedades fundamentales como la reactividad química, la conductividad eléctrica y las respuestas ópticas de los materiales (Khan et al., 2019). Entre estas propiedades destacan fenómenos ópticos particulares, como la resonancia de plasmón superficial en nanopartículas metálicas, especialmente en nanopartículas de plata (AgNPs), las cuales permiten modular la interacción con la luz y han sido ampliamente estudiadas en aplicaciones como sensores, marcadores biológicos y dispositivos optoelectrónicos (N. Zhang et al., 2022). Debido a estas características, los nanomateriales se han convertido en componentes clave en diversas áreas de investigación, incluyendo nanotecnología, medicina, electrónica y energía (Tripathi & Bonilla-Cruz, 2023).

En particular, las AgNPs han ganado atención debido a su amplio espectro antimicrobiano y antifúngico, lo que las convierte en candidatos ideales para aplicaciones biomédicas y ambientales (Fan et al., 2022). Las AgNPs actúan como biocidas naturales, alterando la estructura de la membrana celular de los microorganismos e inhibiendo procesos clave como la gemación, lo que reduce la posibilidad de desarrollar resistencia en comparación con los tratamientos convencionales (Kim et al., 2009). Sin embargo, la síntesis tradicional de AgNPs implica el uso de agentes químicos tóxicos y procesos que generan residuos contaminantes, lo que limita su aplicabilidad en entornos clínicos y ambientales (N. Zhang et al., 2022). Además, los métodos convencionales presentan desafíos como la aglomeración de partículas, la falta de control sobre su

tamaño y morfología, así como la citotoxicidad asociada al uso de agentes reductores químicos (Dhaka et al., 2023).

Frente a estos desafíos, se ha promovido la búsqueda de métodos más sostenibles, como la síntesis verde, la cual emplea biomateriales como agentes reductores y estabilizadores (Kennedy et al., 2014). En este contexto, la celulosa —el polímero natural más abundante en la Tierra— ha emergido como un material prometedor debido a su biocompatibilidad, biodegradabilidad y versatilidad química (Cheng et al., 2017). La celulosa es un homopolisacárido lineal compuesto por unidades de β -D-glucopiranosas unidas mediante enlaces β (1 \rightarrow 4) glucosídicos, que le confiere una estructura parcialmente cristalina (90%<) y una elevada resistencia mecánica 0,45Gpa (Klemm et al., 2005; Kumaravel et al., 2025). Este biopolímero puede obtenerse de fuentes vegetales, como residuos agroindustriales, o ser sintetizado por bacterias del género *Gluconacetobacter*, dando lugar a la celulosa bacteriana (CB). La CB se caracteriza por su alta pureza, cercana al 97% (Kumaravel et al., 2025) y su estructura nanofibrilar única, lo que la hace ideal para aplicaciones biomédicas y en ingeniería de tejidos (Huang, 2018).

Una de las formas más efectivas de aprovechar la celulosa es mediante su oxidación selectiva utilizando el radical TEMPO (2,2,6,6-tetrametilpiperidina-1-oxilo). Esta reacción transforma los grupos hidroxilo primarios de la celulosa en aldehídos, y posteriormente en ácidos carboxílicos, introduciendo grupos funcionales $-\text{CHO}$ y $-\text{COOH}$ que pueden actuar como agentes reductores y estabilizantes en la síntesis de AgNPs (Ifuku et al., 2009). Este enfoque no solo elimina la necesidad de agentes químicos tóxicos, sino que también facilita la obtención de materiales híbridos, como los hidrogeles, que se emplean en biomedicina para la liberación controlada de fármacos (Ovalle-Serrano et al., 2020). Los hidrogeles son materiales poliméricos con una alta capacidad de retención de agua, lo que los hace especialmente adecuados para

aplicaciones médicas y farmacéuticas (Akhtar et al., 2016). Además, los hidrogeles de celulosa funcionalizados con AgNPs han demostrado ser matrices eficaces para la liberación sostenida de iones plata, mejorando así su actividad antimicrobiana y antifúngica (Dong et al., 2013).

Las investigaciones sobre la síntesis de hidrogeles de celulosa se han enfocado principalmente en fuentes convencionales, como la madera o el algodón, dejando de lado el potencial de los residuos agroindustriales como materia prima sostenible. En Colombia, la industria agrícola genera grandes volúmenes de residuos, entre ellos el raquis de palma de aceite y el mucílago de cacao, los cuales representan una fuente abundante y económica de celulosa (Chew et al., 2021; Saavedra Sanabria et al., 2020). El raquis, subproducto del procesamiento del fruto de palma, está compuesto principalmente por celulosa, lignina y hemicelulosa; sin embargo, su uso actual se limita al compostaje y a la generación de energía (Ramírez N. et al., 2011). Por su parte, el mucílago de cacao —un exudado azucarado rico en glucosa y fructosa— ha demostrado ser un sustrato eficaz para la producción de CB mediante fermentación estática con *Gluconacetobacter xylinus* (Arteaga V, 2014; Saavedra-Sanabria et al., 2021).

Por lo anterior, este proyecto se centró en el uso y aprovechamiento de residuos de raquis de palma de aceite y mucílago de cacao para la obtención de CV y CB y su posterior funcionalización con AgNPs, evaluando la capacidad reductiva de cada tipo de celulosa en la formación de hidrogeles híbridos. Este enfoque innovador buscó aprovechar los recursos locales, reducir el impacto ambiental y promover la economía circular en el contexto colombiano. Adicionalmente, estos hidrogeles híbridos con AgNPs Presenta un potencial uso antifúngico, considerando que la resistencia a los medicamentos antimicóticos —derivada del uso excesivo e inadecuado de estos fármacos— constituye una problemática relevante en el ámbito de la salud pública (García, 2001).

1 OBJETIVOS

1.1 Objetivo general

- Aislar nanocelulosa a partir de celulosa bacteriana y vegetal y utilizarla para la síntesis de hidrogeles híbridos de AgNPs.

1.2 Objetivos específicos

- Producir y caracterizar nanofibras de celulosa mediante la reacción de oxidación con el radical TEMPO utilizando celulosa bacteriana y vegetal como materiales de partida.
- Evaluar la capacidad reductiva de la nanocelulosa en el proceso de formación de hidrogeles híbridos que contengan AgNPs.

2 MARCO REFERENCIAL

2.1 Raquis de palma de aceite

El raquis, también conocido en inglés como *empty fruit bunches* (EFB), es un subproducto lignocelulósico generado durante el proceso de extracción del aceite de palma (Derman et al., 2018). Este residuo está constituido principalmente por polisacáridos como celulosa, glucano y xilano, que representan aproximadamente el 66 % de su composición, así como por lignina en un 12 % (Zou et al., 2023). De acuerdo con otros estudios, su composición se desglosa en celulosa (50,9 %), hemicelulosa (29,6 %) y lignina (17,84 %) (Martínez-Ramírez et al., 2023a), los cuales forman una matriz polimérica que otorga rigidez y estabilidad estructural a las paredes celulares vegetales.

La interacción entre estos biopolímeros ocurre principalmente mediante enlaces de hidrógeno y, en algunos casos, enlaces covalentes tipo éter, lo que dificulta su degradación natural (Li et al., 2016).

Desde un punto de vista estructural, el raquis presenta una superficie porosa y rugosa, con una alta densidad de grupos hidroxilo, lo que lo convierte en un sustrato atractivo para la funcionalización con NPs metálicas (Asadpour et al., 2021). Esta arquitectura nanoporosa actúa como un nanoreactor eficiente para la deposición de óxidos metálicos, facilitada por la interacción electrostática entre los átomos de oxígeno de los grupos $-OH$ y los cationes metálicos (X. Zhang et al., 2018).

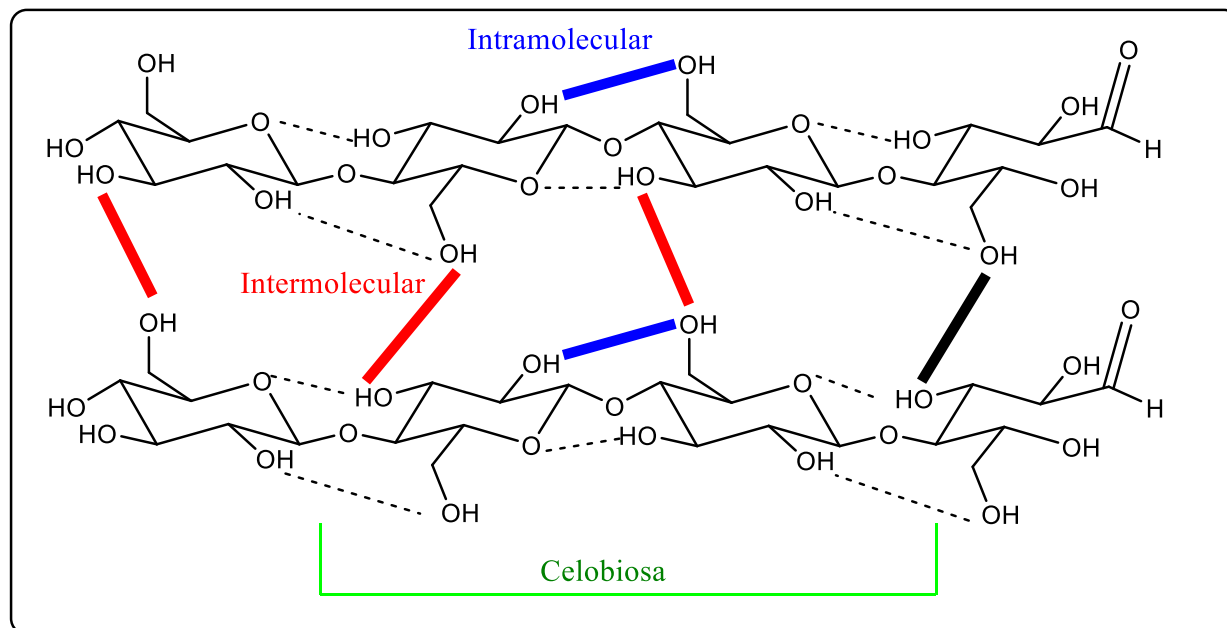
Gracias a estas características, el raquis de palma de aceite posee un gran potencial como materia prima en la producción de materiales biodegradables, promoviendo así la reducción del

uso de polímeros sintéticos y fomentando estrategias de economía circular en la industria oleaginosa (Boonsawang & Youravong, 2017). En particular, su alto contenido de celulosa lo hace idóneo para la obtención de nanocelulosa, un material versátil con aplicaciones emergentes en envases biodegradables, materiales compuestos de alto rendimiento y biomedicina (Boufi, 2017).

2.2 Celulosa

El término “celulosa” fue utilizado por primera vez en 1938 por el químico francés Anselme Payen, refiriéndose a un homopolisacárido lineal con una estructura constituida por unidades de β -D-glucopiranososa (β -glucosa) unido por enlaces glucosídicos β (1-4) en las posiciones de carbonos 1 y 4, a esta cadena de β -glucosas se le conoce como celobiosa (Klemm et al., 2005). La celobiosa dispone de grupos hidroxilo en posición ecuatorial e hidrógenos en posición axial, lo que le permite interactuar con otras unidades de celobiosas para ensamblarse por medio de puentes de hidrógeno inter e intramoleculares, generando así una molécula de celulosa como se ilustra en la **Figura 1** (Iguchi et al., 2000).

Las cadenas de celulosa se disponen de manera lineal para formar microfibrillas de celulosa cuyo diámetro varía de 20 a 30 nm y pueden alcanzar longitudes de varios micrómetros. Esto depende de la fuente de celulosa, la cual puede ser de origen vegetal, sintetizada mediante procesos enzimáticos o químicos, o producida por ciertos microorganismos. Estas microfibrillas, a su vez, se reensamblan para formar fibras de celulosa, las cuales contienen regiones amorfas debido a la distorsión de la estructura de la fibra por tensiones internas, así como regiones cristalinas debido a la estabilización y el empaquetamiento proporcionados por una densa red de enlaces de hidrógeno (Habibi et al., 2010).

Figura 1*Estructura Base de la Celulosa*

Nota: Adaptado de (Ivana Alberini et al., 2012).

La estructura cristalina de la celulosa, formada por la disposición ordenada de las cadenas de celobiosas, es fundamental para sus propiedades físicas y químicas. Las regiones cristalinas de la celulosa están caracterizadas por una alta densidad de enlaces de hidrógeno, lo que confiere rigidez y resistencia a la tracción. Por otro lado, las regiones amorfas, donde los enlaces de hidrógeno están menos organizados, proporcionan flexibilidad y permiten la absorción de agua y otros compuestos (Nishiyama et al., 2002). Esta combinación de regiones cristalinas y amorfas es lo que hace que la celulosa sea un material versátil y ampliamente utilizado en diversas aplicaciones industriales.

La obtención de la celulosa es un proceso clave para su aprovechamiento industrial, en el caso de la celulosa de origen vegetal, el proceso de extracción implica la eliminación de otros

componentes de la pared celular, como la lignina y la hemicelulosa, mediante métodos químicos o mecánicos. El proceso Kraft, por ejemplo, es ampliamente utilizado en la industria papelera debido a su eficiencia en la separación de la celulosa de la lignina (Sjöström, 1993). Por otro lado, la CB, producida por microorganismos como *Gluconacetobacter xylinus*, se caracteriza por su alta pureza y uniformidad, lo que la hace ideal para aplicaciones biomédicas y en la fabricación de materiales avanzados (Ross et al., 1991).

La celulosa es el biopolímero más abundante en la Tierra, con una producción anual estimada en 1.5×10^{12} toneladas (Klemm et al., 2005). Esta disponibilidad, junto con sus propiedades intrínsecas, ha despertado un creciente interés en el desarrollo de materiales avanzados derivados de la celulosa, como la nanocelulosa (NC). La NC, obtenida a través de procesos de desintegración mecánica o química de las fibras celulósicas, exhibe propiedades como alta resistencia mecánica, baja densidad y biodegradabilidad, lo que la posiciona como un material prometedor para aplicaciones en nanocompuestos, envases sostenibles y sistemas biomédicos. (Habibi et al., 2010).

2.3 Mucílago de cacao

El mucílago de cacao es un exudado azucarado que rodea a las almendras de cacao dentro de la mazorca o fruto. Su composición está principalmente constituida por azúcares (10-13%), ácido cítrico (1 a 2 %) y sales (8 a 10 %) (Piracoca R, 2022). Durante el beneficio de cacao se requiere solamente el 60 % de mucílago con respecto al peso total del grano húmedo, por lo tanto, se genera como subproducto entre 100 L y 150 L de mucílago por tonelada de grano húmedo de cacao (Piracoca R, 2022), el cual tradicionalmente se ha empleado para fabricar abonos y alimentos para animales. Sin embargo, su vertimiento directo al suelo o fuentes hídricas genera contaminación (Rodríguez et al., 2013).

Desde el punto de vista biotecnológico, el mucílago de cacao es una materia prima atractiva debido a su composición química. Puede ser utilizado para la producción de biopolímeros como polihidroxialcanoatos (PHA) y CB, así como para la extracción de pectinas y la producción de enzimas como xilanasas, celulasas y proteasas (Guzmán-Armenteros et al., 2025). Investigadores han logrado producir celulosa a partir de mucílagos de origen agroindustrial utilizando la bacteria *Komagataeibacter xylinus* (Keshk, 2014), y la bacteria *Gluconacetobacter xylinus* (Jozala et al., 2015). Estos medios, ricos en mucílago, han demostrado ser efectivos para la biosíntesis de celulosa, ya que las bacterias son capaces de metabolizar los azúcares y nutrientes presentes en estos hidrocoloides vegetales (Keshk, 2014).

En Colombia, el aprovechamiento de los residuos de cacao, como el mucílago y las cáscaras, representa una oportunidad para promover la economía circular en la industria cacaotera. Por ejemplo, el mucílago puede ser utilizado para la producción de CB (Saavedra Sanabria et al., 2020).

2.4 Celulosa bacteriana

La CB, es un biopolímero extracelular sintetizado por bacterias, cuyo descubrimiento se remonta a 1886, cuando fue reportado por primera vez por J. Brown. A partir del siglo XX, la CB se convirtió en un objeto de interés para la investigación y el desarrollo; debido a su alto grado de cristalinidad, pureza, estructura tridimensional y conformación reticulada. En la actualidad, la CB encuentra una amplia gama de aplicaciones en diversas industrias, especialmente en el ámbito de la salud (Klemm et al., 2001).

Tanto la CB como la CV tienen la misma fórmula empírica ($C_6H_{10}O_5$), y comparten muchas de sus características (Roberts et al., 2002). Sin embargo, al comparar ambos tipos de celulosa, se identifican diferencias significativas en sus principales propiedades, destacando la CB como un

mejor prospecto de material biocompatible, ya que una vez purificada se convierte en un componente no tóxico e hipoalergénico (V. Dubey et al., 2002). Además, la CB se considera un material de ultra alta pureza, alcanzando el 100%, mientras que la CV, a pesar de tener alta pureza, se encuentra en un rango de 60 a 70%. En general, la CB presenta una mejoría en cada una de sus propiedades como se observa en la **Tabla 1** (Jung et al., 2005).

Tabla 1

Propiedades físicas de celulosa vegetal y celulosa bacteriana

Criterio	Celulosa Vegetal	Celulosa Bacteriana
Pureza	60-70%	100%
Capacidad retención de agua	60%	98,5%
Grado de cristalinidad	50-65%	90%
Grado de polimerización	3.000-15.000	8.000
Propiedades mecánicas	Depende de la matriz y método de extracción	15-35 Pa, 200-300Mpa

Nota: Adaptado de referencia (Ho Jin et al., 2019).

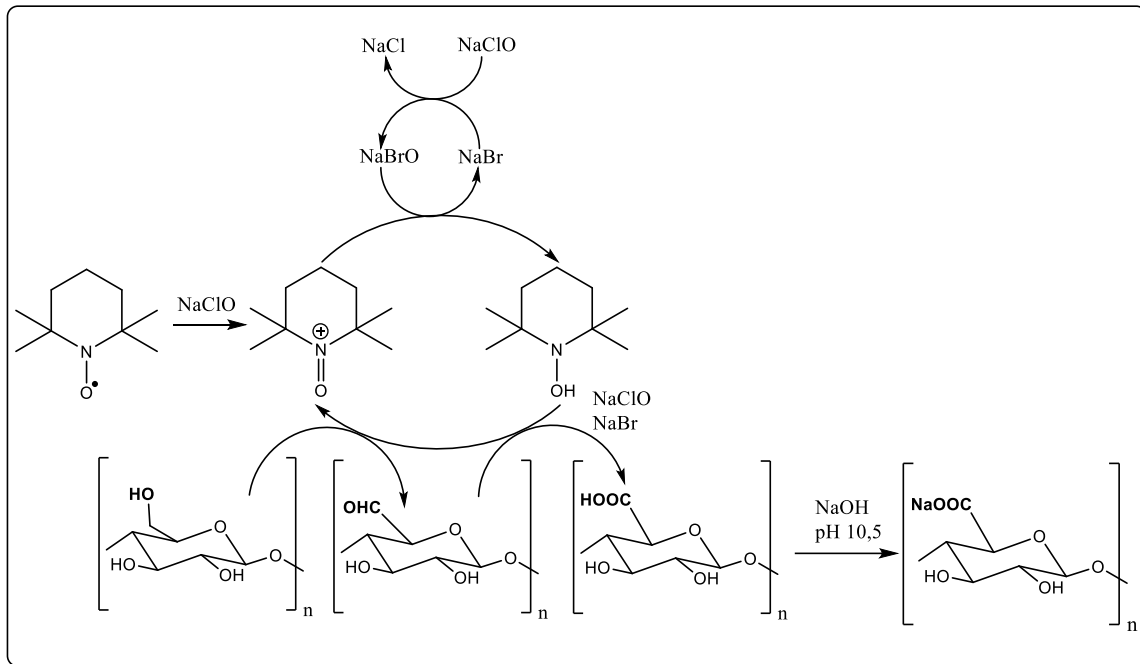
2.5 Oxidación con radical TEMPO y sonoquímica

La oxidación de celulosa con el radical TEMPO, es un proceso químico que modifica la estructura de la celulosa al introducir grupos carboxilo (-COOH) en sus cadenas poliméricas a través de un aldehído intermedio (Calderón-Vergara et al., 2020). Este radical actúa como catalizador en la reacción, permitiendo la oxidación selectiva de los grupos hidroxilo primarios en las cadenas de celulosa y su conversión en ácidos carboxílicos. La oxidación con radical TEMPO se lleva a cabo en condiciones suaves, evitando así la degradación de la celulosa, lo que la convierte en un método eficaz para la funcionalización de la celulosa sin afectar significativamente sus propiedades físicas. Esta reacción se lleva a cabo en presencia de un oxidante, como el hipoclorito

de sodio (NaClO), en un pH controlado entre 10-11 y a temperatura ambiente como se muestra en la **Figura 2** (Hubbe et al., 2008). La síntesis de nanofibras de celulosa oxidada mediante el sistema TEMPO implica una serie de reacciones catalíticas de óxido-reducción. En este proceso, el bromuro de sodio (NaBr) reacciona con el hipoclorito de sodio (NaClO) para formar hipobromito de sodio (NaOBr), el cual oxida al TEMPO a su forma activa, el ion nitrosonio. Este actúa como un oxidante selectivo, transformando los grupos hidroxilo primarios de la celulosa en grupos aldehídos. Posteriormente, estos grupos son oxidados a grupos carboxilo mediante la acción repetida del sistema redox, en el cual el ion nitrosonio se reduce a hidroxilamina antes de ser reoxidado (Bragd et al., 2000; Calderón-Vergara et al., 2020; Kato et al., 2003; Ovalle-Serrano et al., 2018; Saito & Isogai, 2004a). Sin embargo, este proceso de oxidación no ocurre de manera completa, lo que da lugar a una oxidación parcial de muchos grupos hidroxilo primarios, resultando en la formación de grupos aldehídos residuales en la estructura de la celulosa. Estos grupos aldehídos son de particular interés para aplicaciones posteriores, ya que se ha sugerido que confieren propiedades poco exploradas. Además, su presencia puede cuantificarse mediante una post-oxidación controlada (T. Isogai et al., 2010).

Figura 2

Mecanismo oxidación con radical TEMPO



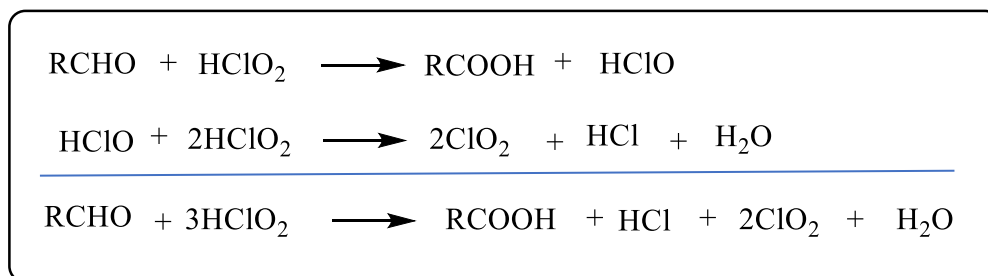
Nota: Adaptado de (Hubbe et al., 2008).

Con el objetivo de la obtención de microfibrillas y nanofibrillas individuales, la suspensión se somete a un tratamiento sonoquímico, en el que la energía del ultrasonido es transferida a las cadenas de la celulosa mediante cavitación, este fenómeno es producto del crecimiento y colapso violento de burbujas de vapor o cavidades en un líquido, causado por cambios rápidos en su presión de vapor. Esto proporciona una energía que se encuentra dentro de la escala de los enlaces de hidrógeno, que es de aproximadamente de 10 a 100 kJ/mol; siendo esta la energía necesaria para desintegrar gradualmente las fibras de celulosa, pasando de tamaños micrométricos a nanométricos (W. Chen et al., 2011).

2.6 Cuantificación de aldehídos en celulosa oxidada

La cuantificación de grupos aldehído en materiales celulósicos oxidados es un proceso fundamental en la caracterización de nanofibras de celulosa (TOCN, TOBCN) y otros derivados de celulosa. Este proceso se realiza comúnmente mediante métodos indirectos, como la post-oxidación con clorito de sodio (NaClO_2), que permite la conversión selectiva de grupos aldehído (-CHO) a grupos carboxilo (-COOH) en condiciones ácidas controladas (pH 3-4) (Saito & Isogai, 2004). El clorito de sodio (NaClO_2) en medio ácido genera ácido cloroso (HClO_2), un agente oxidante selectivo que reacciona preferentemente con grupos aldehído. Este mecanismo de oxidación es clave para la cuantificación indirecta de aldehídos, ya que permite la oxidación completa de estos grupos a carboxilos sin afectar otros grupos funcionales presentes en la estructura celulósica, como los alcoholes secundarios (Carlsson et al., 2014; Saito & Isogai, 2004).

La reacción química puede resumirse en dos etapas principales. En primer lugar, en medio ácido, el NaClO_2 reacciona con ácido acético para formar HClO_2 , el cual es el agente oxidante activo. Posteriormente, el HClO_2 oxida los grupos aldehídos a carboxilo, reduciéndose a ácido hipocloroso (HClO) y finalmente a cloruro (Cl^-). Este mecanismo ha sido ampliamente estudiado y descrito en la literatura, como en el trabajo de Johnson y Nicholson (1976), quienes detallan la oxidación de aldehídos a ácidos carboxílicos utilizando HClO_2 en medio ácido. El control del pH durante la post-oxidación es crítico por varias razones. Un pH ácido (3-4) favorece la formación de HClO_2 , el agente oxidante activo. Además, un pH demasiado bajo puede provocar la hidrólisis de las cadenas celulósicas, mientras que un pH alto puede desactivar el HClO_2 . Finalmente, en medio ácido, los grupos carboxilo permanecen protonados, lo que facilita su cuantificación mediante técnicas como la titulación conductimétrica (Yang et al., 2016).

Figura 3*Reacción de oxidación con aldehídos*

Nota: adaptado de (Yang et al., 2016)

La cuantificación de los grupos aldehídos se realiza mediante la diferencia entre el grado de oxidación (DO) después de la post-oxidación y el DO inicial. Este método ha demostrado ser altamente reproducible y proporciona información valiosa sobre la eficiencia de la oxidación inicial mediada por TEMPO (Mishra et al., 2012a; Saito & Isogai, 2004).

2.7 Hidrogeles

Los hidrogeles son materiales poliméricos caracterizados por una alta capacidad de retención de agua, gracias a su estructura tridimensional formada por redes entrecruzadas de polímeros. Esta red permite absorber y retener grandes cantidades de agua u otros líquidos, a la vez que proporciona una excelente compatibilidad con tejidos biológicos. Debido a estas propiedades, los hidrogeles se consideran materiales versátiles con aplicaciones ampliamente desarrolladas en medicina y en la industria farmacéutica (Akhtar et al., 2016).

En este contexto, las nanofibras de celulosa (NFC) se han consolidado como una alternativa prometedora para la elaboración de hidrogeles, ya que presentan una alta relación de aspecto y mayor ductilidad en comparación con otros materiales (Lehtonen et al., 2020). Las NFC pueden formar redes interconectadas mediante reticulación física, facilitada por los extensos enlaces de hidrógeno presentes en su estructura, lo que favorece la formación de hidrogeles estables. Además,

mediante un proceso de liofilización, estos hidrogeles pueden transformarse en aerogeles, ampliando aún más su gama de aplicaciones (Dong et al., 2013).

Los hidrogeles basados en NFC pueden sintetizarse a través de diversos métodos, siendo uno de los más comunes la polimerización por radicales libres. En este proceso, un precursor de polímero se mezcla con NFC para inducir el entrecruzamiento químico del polímero alrededor de las nanofibras, formando así una red sólida y funcional (Dong et al., 2013). Adicionalmente, se ha reportado que los grupos funcionales presentes en la nanocelulosa, como los aldehídos y los hidroxilos, juegan un papel clave en la reducción de especies metálicas y en el crecimiento controlado de NPs (Ovalle-Serrano et al., 2020).

2.8 Nanopartículas de plata

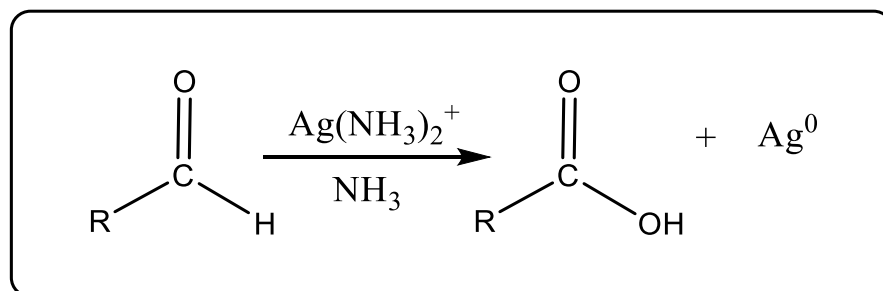
Las AgNPs cuyo diámetro varía entre 5 y 100 nm, son conocidas por sus fuertes propiedades antibacterianas, además de sus características eléctricas, químicas y físicas únicas, que las hacen útiles en una variedad de aplicaciones. Especialmente en la administración de fármacos (Padmavathi et al., 2023).

La síntesis de las NPs de plata suele involucrar la reducción química de sales de plata, como el nitrato de plata, en presencia de agentes reductores. Estos agentes reductores comunes incluyen el borohidruro de sodio, el citrato de sodio y otros compuestos químicos que desencadenan la formación de AgNPs. Sin embargo, estos procesos presentan desventajas como el uso de reactivos peligrosos, alto consumo de energía y costos elevados. Para abordar estas limitaciones, se han desarrollado métodos más sostenibles conocidos como “síntesis verdes”, en los cuales utilizan extractos de plantas, bacterias u otros agentes biológicos como reductores y estabilizadores en la síntesis, reduciendo así el consumo de energía y el uso de contaminantes (Dhaka et al., 2023).

Los aldehídos pueden funcionar como agentes reductores de los iones de plata (Ag^+) para convertirlos en plata metálica (Ag^0). Esto se debe a la capacidad de los aldehídos de donar electrones en una reacción redox. En este proceso, el aldehído se oxida a su forma correspondiente de ácido carboxílico, mientras que los iones de plata se reducen a átomos de plata metálica. Un ejemplo de reactivo utilizado es el reactivo de Tollens, que consiste en una solución alcalina de iones de plata (Ag^+) acomplejado con amoníaco (NH_3), que mantiene los iones de plata (Ag^+) en solución. Cuando el reactivo de Tollens oxida un aldehído, los iones de plata se reducen a plata libre (Ag^0) como se observa en la **Figura 4** (Autino J. et al., 2013).

Figura 4

Mecanismo oxidación de aldehidos utilizando el reactivo de Tollens



Nota: Adaptado de (Autino J. et al., 2013).

3 ANTECEDENTES

La obtención de biocompuestos híbridos que ofrecen soluciones en diversas áreas de aplicación es un campo de creciente interés. En múltiples disciplinas científicas se ha priorizado la investigación sobre las fuentes de obtención de estos biocompuestos y su posterior hibridación con el objetivo de ampliar su funcionalidad. Un ejemplo destacado son los híbridos con AgNPs, cuya incorporación permite conferir propiedades antimicrobianas y antifúngicas en matrices poliméricas. Sin embargo, uno de los principales desafíos ha sido el desarrollo de rutas verdes para su síntesis. En este contexto, las investigaciones se han enfocado inicialmente en la producción de

NFC, a partir de la funcionalización de celulosa mediante métodos oxidativos, como el proceso mediado por TEMPO.

Diversos estudios han empleado la metodología de oxidación TEMPO para aislar NFC a partir de distintas fuentes lignocelulósicas (Martínez-Ramírez et al., 2023). Un ejemplo destacado es el trabajo de Ovalle-Serrano, Gómez, et al (2018), quienes aislaron NFC a partir de estopa de fique mediante oxidación TEMPO, siguiendo procedimientos similares a los descritos por Saito & Isogai (2004). En su estudio, lograron introducir grupos carboxilato de sodio (-COONa), los cuales fueron cuantificados mediante titulaciones conductimétricas, obteniendo un grado de oxidación (DO) de 0,27 y una densidad de carga superficial (σ) de 1,6 mmol/g de celulosa. Es importante señalar que estos resultados se obtuvieron a partir de estopa de fique previamente deslignificada, lo que resalta la necesidad de realizar tratamientos previos similares en otras fibras vegetales para facilitar la oxidación (Ovalle-Serrano et al., 2018; Saito & Isogai, 2004).

De manera similar, Puangsin et al. (2013) evaluaron otras fuentes vegetales para la obtención de celulosa, como cáñamo, bambú y bagazo, reportando valores de σ superiores a 1,2 mmol/g de celulosa. Todos estos estudios coinciden en que dichas materias primas son adecuadas para el aislamiento de nanocelulosa (Puangsin et al., 2013).

Las reacciones via TEMPO, también pueden discernir por cambios en la concentración de los reactivos, así como en la temperatura, tiempo de reacción y procesos de desintegración mecánica. Ifuku et al (2009) emplearon una oxidación TEMPO con 5,0 mmol de NaClO por gramo de CB, obteniendo un contenido de grupos carboxilato de 0,84 mmol/g y fibras con diámetros entre 50 y 100 nm, determinados mediante microscopía electrónica. En contraste, Ono et al (2022) utilizaron concentraciones mayores de NaClO (10 y 5 mmol/g de CB), alcanzando contenidos carboxilato de 1,5 y 1,6 mmol/g de CB, respectivamente. Sin embargo, en este caso, las fibras

presentaron diámetros considerablemente mayores, en el rango de 2–3 μm , observados por microscopía electrónica de transmisión. En ambos estudios, el análisis por difracción de rayos X reveló que la fase cristalina predominante era la celulosa Ia (Ono et al., 2022a).

La oxidación TEMPO también ha sido aplicada exitosamente a biomasa residual proveniente de fuentes no convencionales como cáscara de coco, hojas de maíz, rastrojo de piña y cascarillas de trigo y arroz. Autores como Araya-Chavarría et al (2022), Du et al (2016), S. H. Hassan et al (2021), Nakamura et al (2019) reportaron contenidos de grupos carboxilato en rangos de 0,3 a 1,7 mmol/g de celulosa tras la oxidación. A diferencia de la CB, el aislamiento de CV a partir de biomasa lignocelulósica requiere pretratamientos previos, usualmente mediante tratamientos alcalinos, con el fin de eliminar la lignina y permitir un acceso más eficiente de los agentes oxidantes a la celulosa, aumentando así el rendimiento del proceso (Kaffashsaie et al., 2021).

Un aspecto clave en la obtención de NFC es el método de desintegración aplicado posterior a la oxidación. En este contexto, los estudios mencionados han utilizado diversas tecnologías, como homogenizadores, sonicadores, microfluidizadores y molinos de disco, logrando obtener NFC con diámetros menores a 100 (Araya-Chavarría et al., 2022; Du et al., 2016; Hassan et al., 2021; Nakamura et al., 2019).

Además de los avances en la oxidación vía TEMPO aplicada tanto a CB (Ono et al., 2022) como a CV; se ha prestado creciente atención a la cuantificación de los grupos funcionales generados durante el proceso, particularmente los grupos aldehídos. Esta cuantificación resulta crucial para entender la eficiencia de la oxidación y el comportamiento posterior del material, por ejemplo, en la síntesis de nanofibras o en la formación de hidrogeles (Ovalle-Serrano et al., 2020).

El contenido de grupos aldehídos en materiales celulósicos está estrechamente relacionado con el grado de oxidación. Históricamente, los primeros métodos para su cuantificación se basaron en técnicas colorimétricas, como la reacción de Schiff, que emplea fucsina básica como reactivo. Sin embargo, estos métodos presentaban limitaciones significativas en cuanto a selectividad y reproducibilidad (Jungreis & Ben-Dor, 1980). Con el avance de la química de polímeros, se desarrollaron métodos indirectos más confiables, destacándose la post-oxidación con clorito de sodio (NaClO_2), una técnica ampliamente difundida por Isogai y colaboradores (2011) a inicios de la década del 2000. Este procedimiento se ha consolidado como una herramienta estándar para la cuantificación indirecta de grupos aldehídos en celulosa oxidada, ya que permite inferir su presencia a partir del aumento en el grado de oxidación, atribuible a la conversión de grupos aldehídos a carboxilato. Un ejemplo de su aplicación lo reporta Calderón-Vergara et al. (2020), quienes realizaron procesos de post-oxidación y observaron un incremento de hasta un 40 % en el contenido de grupos carboxilato como resultado de la conversión de grupos aldehídos.

Durante la reacción TEMPO, se genera una mezcla de grupos carboxilo y aldehído, ya que la oxidación del grupo hidroxilo primario a ácido carboxílico puede quedar incompleta. Por esta razón, la post-oxidación con NaClO_2 se utiliza para convertir los aldehídos remanentes en carboxilos, permitiendo su cuantificación diferencial y más precisa (Corey et al., 1968; Saito & Isogai, 2004). Este procedimiento resulta esencial en investigaciones centradas en la funcionalización de nanocelulosa, ya que el contenido y tipo de grupos funcionales presentes condicionan tanto la eficiencia de dispersión como su capacidad de interacción con otros compuestos, como NPs metálicas.

En la búsqueda de materiales ecológicamente amigables y con bajo requerimiento energético para combatir infecciones bacterianas, la combinación de las NFC con AgNPs se ha

consolidado como una de las alternativas más prometedoras. Esta sinergia no solo aprovecha la alta pureza, biocompatibilidad y estructura nanofibrilar de las NFC, sino que también permite una liberación controlada y sostenida de iones de plata, conocidos por su amplio espectro antimicrobiano. De acuerdo con Sanguñedo et al (2018), esta liberación gradual optimiza la acción biocida de las AgNPs, manteniendo su eficacia frente a diversos patógenos y reduciendo la posibilidad de desarrollar resistencias microbianas. Este enfoque resulta particularmente valioso en aplicaciones biomédicas, donde se requiere una acción prolongada y segura sin comprometer la integridad de los tejidos (Raina et al., 2022; Sanguñedo et al., 2018).

La sinergia entre la celulosa oxidada con TEMPO y las AgNPs sintetizadas biológicamente, representa un remedio ecológico alternativo para controlar las enfermedades acuáticas sin un impacto grave en el medio ambiente. El método consiste en obtener la celulosa oxidada con TEMPO y posteriormente sumergirla en una solución acuosa de nitrato de plata (AgNO_3) con una concentración final de 1 mM y un pH de 6, sin la adición de agentes reductores. Esta inmersión se lleva a cabo durante la noche a una temperatura de 40 °C en un ambiente oscuro. Luego, la membrana sumergida se somete a un proceso de purificación utilizando agua desionizada (Elayaraja et al., 2021).

Ifuku et al (2009) introdujo grupos carboxilato en la superficie de CB oxidada mediante TEMPO, estos grupos carboxilato actúan como anfitriones para la introducción de iones metálicos mediante una reacción de intercambio iónico (Ifuku et al., 2009). En este proceso, la sal de sodio de CB oxidada (Cell-Na^+) se sustituye por la sal de plata (Cell-Ag^+) en una solución acuosa de AgNO_3 con una concentración de 1,0 mol/COONa. El intercambio iónico se realiza en condiciones de oscuridad, y durante esta etapa, no se observa un cambio de color en la lámina de CB. Posteriormente, la reducción de la celulosa Cell-Ag^+ a AgNPs se lleva a cabo mediante

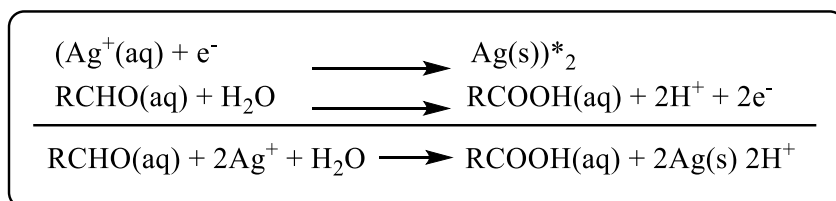
calentamiento a 100 °C. Obteniendo así el cambio de color a marrón de la lámina de CB a causa del tratamiento térmico, mostrando que hubo una reducción térmica lo que resultó en una producción de partículas de plata sobre la CB, usando como huéspedes los grupos carboxilato.

El uso de estos nanocompuestos como agentes reductores y estabilizantes para este tipo de NPs inorgánicas, resultó en la formación de hidrogeles, según Ovalle-Serrano et al (2020), estas TOCN pueden actuar simultáneamente como agentes reductores y estabilizantes, permitiendo la reducción in situ de iones plata (Ag^+) sin necesidad de añadir reactivos químicos adicionales. En particular, los grupos aldehído remanentes desempeñan un papel clave en la reducción de Ag^+ , promoviendo la formación de AgNPs y su incorporación uniforme dentro de la red tridimensional del hidrogel TOCN/AgNPs (Ovalle-Serrano et al., 2020).

Investigaciones previas han evidenciado que los aldehídos resultan eficaces como agentes reductores en la síntesis de NPs metálicas, dado que poseen potenciales de reducción inferiores en contraste con los metales. Esto los posiciona como superiores agentes reductores en comparación con los grupos hidroxilo (Gu et al., 2018). Por lo tanto, se sugiere que en la nanocelulosa oxidada mediante TEMPO, son los grupos aldehídos los que cumplen la función de agentes reductores para la plata, como se observa en la **Figura 5**.

Figura 5

Representación general de la reacción redox en la oxidación de aldehídos utilizando el ion Ag^+ como agente oxidante



Nota: Adaptado de (Flowers et al., 2022).

4 METODOLOGÍA

4.1 Limpieza y pretratamiento

4.1.1 Celulosa bacteriana

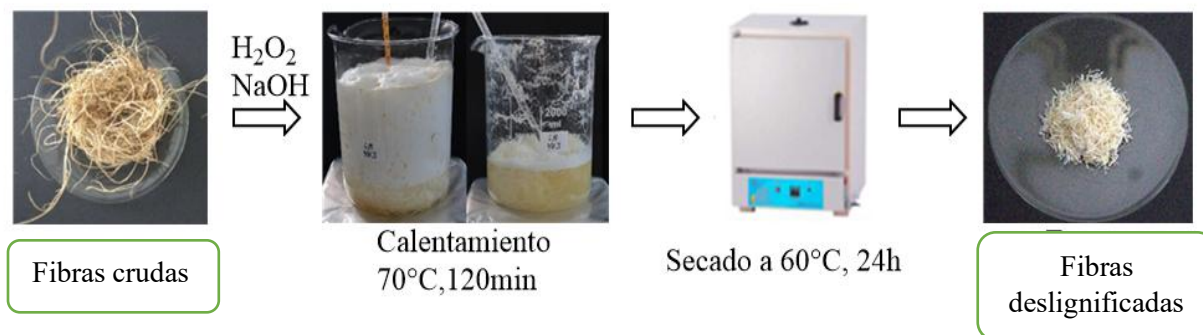
La CB fue suministrada por el grupo de investigación, la cual es producida mediante un proceso de fermentación estática, utilizando como fuente de carbono exudado del mucílago de cacao y una cepa bacteriana *Gluconacetobacter xylinus*. Una vez obtenida la celulosa, se lavó con agua, posteriormente fue esterilizada mediante tratamiento térmico con vapor de agua en autoclave a 121°C durante 20 min para remover el medio de cultivo. (Saavedra Sanabria et al., 2020).

4.1.2 Celulosa vegetal

El raquis de palma de aceite fue suministrado por *Extractora Central*, ubicada en Puerto Wilches, Santander, Colombia. Inicialmente, el material fue lavado con abundante agua y posteriormente secado a temperatura ambiente durante 24 horas. Las fibras obtenidas mediante este procedimiento fueron etiquetadas como “fibras crudas”. Estas se sometieron a un proceso de deslignificación, con el objetivo de remover principalmente lignina y hemicelulosa, dejando expuesta la celulosa para su posterior oxidación. Para ello, se trataron 15 g de fibra cruda en 300 mL de una solución al 10% p/p de peróxido de hidrógeno (H₂O₂), ajustando el pH a 11,5 mediante la adición de una solución de hidróxido de sodio (NaOH). La mezcla se calentó a 70 °C durante 120 minutos. Posteriormente, las fibras deslignificadas fueron filtradas, lavadas con agua desionizada y secadas a 60 °C durante 24 horas. Finalmente, las fibras secas fueron cortadas y almacenadas para su uso en ensayos y análisis posteriores. El procedimiento se resume en la **Figura 6**. (Martínez-Ramírez et al., 2023a; Ovalle Serrano & Combariza Montañez (DIR), 2012).

Figura 6

Procedimiento de deslignificación de fibra de Raquis de palma de aceite



4.2 Reacción de oxidación con tiempo

La oxidación de la CB y la CV se llevó a cabo utilizando la reacción vía TEMPO, siguiendo las metodologías descritas por Martínez-Ramírez et al (2023) y Ovalle-Serrano, Gómez et al (2018). Para ello, se preparó una suspensión al 1 % (p/v) de CB o CV, según correspondiera, en 100 mL de agua desionizada. Posteriormente, se añadieron 0,016 g de TEMPO y 0,01 g de bromuro de sodio (NaBr), previamente disueltos en 10 mL de agua. La mezcla se mantuvo bajo agitación constante mientras se incorporaba gradualmente hipoclorito de sodio (NaClO), en una proporción molar de 1:4 con respecto a la celulosa. La reacción se llevó a cabo en un baño ultrasónico operando a 40 kHz y 130 W de potencia. Durante el proceso, se controló el pH a un valor constante de 10,5, mediante la adición de soluciones de NaOH o HCl 1 M, según fuera necesario. La oxidación se consideró finalizada una vez se estabilizó el pH, momento en el cual la reacción fue detenida mediante la adición de etanol. Finalmente, la suspensión oxidada fue centrifugada a 5000 rpm durante 10 minutos, seguida de sucesivos lavados con agua desionizada hasta alcanzar pH

neutro, con el fin de eliminar los residuos de reactivos. El material resultante se reservó para su posterior desintegración mecánica (Martínez-Ramírez et al., 2023a; Ovalle-Serrano et al., 2018).

4.3 Desintegración mecánica

La desintegración mecánica se realizó utilizando una sonda ultrasónica operada a una amplitud del 40% durante 10 min con pulsos 1:1 y a temperatura ambiente. La celulosa nanofibrilada fue almacenada a 4°C para su caracterización y posterior uso. (Diaz Serrano et al., 2018).

4.4 Post-oxidación

El procedimiento de post-oxidación de TOCN se realizó siguiendo metodologías similares a las reportadas por Mishra et al (2012) y Calderón-Vergara et al (2020). Para ello, se pesaron 2 g de TOCN y se mezclaron con 20 mL de una solución de clorito de sodio (NaClO_2) al 24 % p/p, previamente acidificada con ácido acético diluido hasta alcanzar un pH entre 3 y 4. Este ajuste de pH tuvo como objetivo minimizar la hidrólisis de las nanofibras durante la reacción.

Posteriormente, la suspensión fue diluida con agua destilada hasta obtener una concentración final de 1 % p/v de celulosa. La mezcla resultante se calentó a 50 °C y se mantuvo bajo agitación constante durante 2 horas.

Finalizada la reacción, el sistema se dejó enfriar a temperatura ambiente. Las TOCN post-oxidadas (TOCN-R) fueron purificadas mediante sucesivos lavados con agua, empleando filtración por gravedad o vacío, con el propósito de eliminar completamente los reactivos residuales y subproductos. Este procedimiento tuvo como objetivo modificar los grupos aldehídos generados durante la oxidación parcial de los grupos hidroxilo en la reacción TEMPO. Cabe

destacar que el incremento en el contenido de grupos carboxilo se correlaciona directamente con la cantidad de grupos aldehídos presentes en la TOCN (Calderón-Vergara et al., 2020).

4.5 Síntesis de hidrogeles híbridos.

Los hidrogeles basados en nanofibras de celulosa oxidadas por TEMPO y nanopartículas de plata (TOCN/AgNPs, TOBN/AgNPs) se sintetizaron mediante una adaptación del protocolo descrito por Ovalle-Serrano et al (2020). Para su preparación, se colocaron 10 mL de una suspensión acuosa de celulosa oxidada (TOCN y TOBN) al 0,8 % p/v en un tubo de ensayo.

Seguidamente, se añadieron cuidadosamente 5 mL de agua desionizada, goteando lentamente por las paredes del tubo para evitar perturbaciones en la dispersión. Paralelamente, se preparó una solución de nitrato de plata (AgNO_3) en 5 mL de agua desionizada, utilizando relaciones molares de 1:3, 1:4 y 1:6 de ($\text{COOH}:\text{AgNO}_3$) presentes en la celulosa oxidada (TOCN y TOBN) e iones Ag^+ .

Luego de un periodo de espera de 10 minutos, la solución de AgNO_3 se incorporó lentamente por las paredes del tubo. La mezcla fue posteriormente calentada en un baño de aceite mineral a 60 °C durante 28 horas, promoviendo la reducción in situ de los iones Ag^+ y la formación de AgNPs dentro de la red tridimensional del hidrogel.

Finalizada la reacción, los hidrogeles obtenidos fueron transferidos a un vaso de precipitados con agua desionizada, la cual se renovó cada 12 horas durante un periodo total de 48 horas. Este procedimiento tuvo como objetivo eliminar el exceso de AgNO_3 no reaccionado y asegurar la pureza del material final (Martínez-Ramírez et al., 2023; Ovalle-Serrano et al., 2018).

4.6 Caracterización

4.6.1 Titulación conductimétrica

El contenido de carboxilato en las muestras de celulosa se determinó mediante valoración conductimétrica. Las muestras analizadas incluyeron: celulosa bacteriana lavada (CB), celulosa vegetal proveniente del raquis (CV), celulosa bacteriana oxidada (TOCBN), celulosa vegetal oxidada (TOCN), y sus respectivas muestras post-oxidadas (TOCBN-R y TOCN-R) (Isogai et al., 2011). Para el procedimiento, se suspendieron 50 mg de cada muestra en una solución de HCl 0.01 M hasta alcanzar un pH de 2, y la mezcla se agitó durante 10 minutos para garantizar la protonación de los grupos carboxilato. Posteriormente, la solución se tituló con NaOH 0.01 M, registrando simultáneamente la variación en la conductividad utilizando un conductímetro Orion4STAR de Thermo Scientific y el pH con un pH-metro Hanna. El monitoreo simultáneo del pH permitió una determinación más precisa de los puntos de equivalencia, ya que complementa los datos conductimétricos al identificar con mayor exactitud los cambios en la concentración de iones H^+ durante la neutralización de los grupos carboxilo (Sichinga et al., 2022).

La valoración conductimétrica generó una curva característica con dos puntos de inflexión. El primer punto correspondió a la neutralización del ácido fuerte (HCl), evidenciado por una disminución pronunciada en la conductividad debido al reemplazo de los iones H^+ por iones Na^+ . El segundo punto de inflexión indicó la neutralización de los grupos carboxílicos ($-COOH$), caracterizado por un período en el que la conductividad permaneció relativamente constante. Una vez completada la neutralización de ambas especies ácidas, se observó un incremento en la conductividad atribuido al exceso de iones OH^- provenientes de la base titulante (Ovalle-Serrano et al., 2018, 2020).

La cuantificación del grado de oxidación (DO) y la densidad de carga superficial (σ) se realizó utilizando las siguientes ecuaciones (1) y (2):

$$DO = \frac{162(V_2 - V_1)c}{m - 36(V_2 - V_1)c} \quad (1)$$

$$\sigma = \frac{c(V_2 - V_1)}{m} \quad (2)$$

Donde c es la concentración del NaOH, V_1 y V_2 son la cantidad de NaOH, m es la masa de la muestra de POBN (en g), 162 es el peso molecular de una unidad de anhidroglucosa (AGU) y 36 a la diferencia de peso entre AGU y ácido glucurónico (198 g/mol).

Todas las determinaciones se realizaron por duplicado para asegurar la reproducibilidad de los resultados y establecer las diferencias en el grado de oxidación entre la CB y CV, tanto en su estado puro como oxidado.

4.6.2 Dispersión dinámica de luz (DLS) y potencial z

La distribución de tamaños de partícula y la estabilidad coloidal (potencial zeta) de las suspensiones de TOCN y TOCBN se evaluaron mediante Dispersión de Luz Dinámica (DLS), utilizando un equipo Mastersizer 2000 (Malvern Instruments, UK), equipado con una fuente láser de He-Ne ($\lambda = 632,8$ nm).

Las muestras se prepararon a una concentración de 0,001 M, fueron sometidas a sonicación para asegurar su adecuada dispersión, y posteriormente se depositaron en celdas desechables de poliestireno tipo DTS0012 para la medición de distribución de tamaños de partícula. Para el análisis del potencial zeta, se emplearon celdas desechables de policarbonato transparente tipo DTS1060/1061.

Durante cada medición, se determinaron parámetros como la absorbancia a la longitud de onda del láser y el índice de refracción de las suspensiones, garantizando la precisión de los resultados obtenidos.

4.6.3 Microscopía electrónica de barrido (SEM)

Para corroborar la formación de AgNPs y la estructura de los hidrogeles híbridos, se realizó un análisis morfológico mediante Microscopía Electrónica de Barrido (SEM). Las muestras se analizaron en un microscopio electrónico JSM-6490 (JEOL) con un voltaje de aceleración de 20 kV y una distancia de trabajo de 10 mm, utilizando el detector BEC (Backscattered Electron Contrast).

Se evaluaron dos tipos de muestras: TOCN (Tempo-Oxidized Cellulose Nanofibers) y TOBCN (Tempo-Oxidized Bacterial Cellulose Nanofibers), tanto en su forma original como tratadas con AgNO_3 . Para cada una, se realizaron análisis a diferentes aumentos con el fin de obtener información detallada sobre su morfología y la distribución de las AgNPs. Las imágenes obtenidas presentan escalas de 100 μm y 10 μm , con tamaños de píxel variables, adecuados para el análisis detallado de la morfología y la presencia de AgNPs en los hidrogeles híbridos.

4.6.4 FTIR-ATR Espectroscopía de infrarrojo transformada de fourier con reflectancia total atenuada

La toma de los espectros infrarrojos se realizó en el espectrofotómetro infrarrojo de transformada de Fourier FTIR-ATR marca Bruker-Tensor 27 utilizando el aditamento de ATR marca Bruker A225/Q Platinum con cristal de diamante de índice de refracción 2. El espectro IR se tomó en el intervalo de 4000 a 400 cm^{-1} con resolución de 2 cm^{-1} , velocidad de 2.2 kHz y 32 scans. Los espectros se graficaron utilizando el programa OriginPro.

4.6.5 Difracción de rayos X (DRX)

Con el fin de analizar la estructura cristalina de los materiales celulósicos, se utilizó la técnica de difracción de rayos X (DRX). Las muestras fueron analizadas en 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 (Bruker Corporation, s.f.). Los difractogramas obtenidos se graficaron utilizando el programa OriginPro.

Para determinar cómo la cristalinidad se vio afectada por los diferentes tratamientos químicos y mecánicos durante el proceso de aislamiento y modificación de las NFC, se utilizó el parámetro denominado índice de cristalinidad (CrI, crystallinity index) (Segal et al., 1959). Este índice describe la cantidad relativa de material cristalino que posee la celulosa en base a la intensidad de las señales de DRX. El CrI se calculó mediante la ecuación (3) (Park et al., 2010):

$$CrI = \frac{I_{002} - I_{AM}}{I_{002}} \quad (3)$$

Donde:

I_{002} : Es la intensidad del pico cristalino correspondiente al plano 002, que aparece en el difractograma en un ángulo 2θ entre 22° y 23° .

I_{AM} Es la intensidad de la señal amorfa, que se encuentra en el mínimo del difractograma en un ángulo 2θ entre 18 y 19° .

4.6.6 Fluorescencia de rayos X (FRX)

Para determinar la composición elemental de las muestras, se empleó la técnica de fluorescencia de rayos X (FRX) mediante un espectrómetro BRUKER modelo S8 TIGER. El análisis se realizó bajo condiciones experimentales específicas que garantizan la precisión y

confiabilidad de los resultados. Se utilizó un voltaje variable entre 20 kV y 60 kV, con una corriente en el rango de 10 mA a 135 mA. La detección de los elementos se llevó a cabo mediante un detector de centelleo para elementos pesados y un detector de flujo para elementos livianos. Además, el equipo contó con un goniómetro de alta precisión y operó en una atmósfera de helio para minimizar la absorción de la radiación. Se empleó una máscara de 34 mm y una fuente de radiación de rodio (Rh), mientras que el procesamiento de los datos se realizó mediante el método de análisis QUANT EXPRESS. Estas condiciones experimentales permitieron una caracterización detallada de la composición elemental de las muestras, asegurando la detección de un amplio rango de elementos con alta sensibilidad y exactitud.

5 RESULTADOS

5.1 Caracterización de la celulosa modificada

5.1.1 Titulación conductimétrica

Una vez oxidadas las muestras de CB y CV mediante la reacción de oxidación vía radical TEMPO y posteriormente tratadas/post oxidadas con NaClO_2 , se procedió a cuantificar los grupos carboxilato. En la **Tabla 2** se presentan los resultados de la titulación conductimétrica para las muestras de CB y CV, así como sus respectivas formas oxidadas y post-oxidadas.

Se observó un comportamiento diferencial en la eficiencia de la oxidación mediada por TEMPO entre ambas fuentes de celulosa, atribuible a sus características estructurales y grado de orden molecular. La CV mostró una mayor eficiencia oxidativa ($\Delta\text{DO} = 0,164$) en comparación con la CB ($\Delta\text{DO} = 0,047$), lo cual puede explicarse por su menor cristalinidad (55–65%), estructura más abierta y presencia de zonas amorfas accesibles, que favorecen la conversión de los grupos hidroxilo en C6 a grupos carboxilo (Lin & Dufresne, 2014). En contraste, la CB, caracterizada por

una cristalinidad superior (80–90%) y una red nanofibrilar densa y compacta, presentó una oxidación más superficial, limitada por la baja accesibilidad de los reactivos al interior de la fibra (Arévalo Gallegos, 2016).







Durante la post-oxidación con NaClO_2 , se observó que la CB presentó un mayor contenido de grupos aldehídos remanentes (0,078 mmol/g), en comparación con la CV (0,051 mmol/g). Este resultado indica que la compactación estructural de la CB impide una conversión completa de grupos aldehídos a grupos carboxilato durante la oxidación inicial (Isogai & Bergström, 2018).

Estas diferencias estructurales influyen directamente en parámetros como la densidad de carga superficial, estabilidad térmica y propiedades mecánicas. La CV, con un mayor contenido de grupos carboxilo, tiende a dispersarse con mayor facilidad y forma películas más uniformes (Saito & Isogai, 2005), mientras que la CB mantiene una mayor integridad estructural y un alto grado de orden molecular (Singhsa et al., 2018).

Por tanto, la elección de la fuente de celulosa debe considerar estas características intrínsecas para la optimización de los procesos de modificación química, en función del tipo de aplicación deseada (Klemm et al., 2018; Rol et al., 2019).

Tabla 2

Grado de oxidación y cantidad de carboxilato medido para diferentes tipos de celulosa vegetal y bacteriana

Muestra	Ensayo 4h 1:4	DO	mmol COOH	
	Blanco	0,046	0,28	
Celulosa vegetal (raquis)	TEMPO	0,210	1,24	
	NaClO	0,261	1,52	
	Blanco	0,093	0,56	
Celulosa Bacteriana (mucilago de cacao)	TEMPO	0,140	0,84	
	NaClO	0,218	1,28	

Por otra parte, en este trabajo se obtuvieron DO de 0,210 para CV y de 0,140 para CB, así como un σ de 1,24 mmol COOH/g de celulosa y 0,84 mmol COOH/g de celulosa, respectivamente, tras la oxidación vía TEMPO. Estos valores son consistentes con los reportados en la literatura. En el caso de la CB, otros autores han informado contenidos de grupos carboxilo entre 1,0 y 1,7 mmol COOH/g (Ono et al., 2022b, 2024). Para la CV, se han reportado grados de oxidación entre 0,17 y 0,27, y contenidos de carboxilos en un rango de 1,0 a 1,6 mmol COOH/g de celulosa (Martínez-Ramírez et al., 2023b; Ovalle-Serrano et al., 2018; Puangsin et al., 2013; Sharma et al., 2024).

Posteriormente, las muestras fueron sometidas a un proceso de post-oxidación con clorito de sodio (NaClO_2), lo que permitió incrementar significativamente el contenido de grupos carboxilo. En el caso de la CV, el contenido aumentó de 1,24 a 1,52 mmol COOH/g de celulosa, mientras que para la CB se incrementó de 0,84 a 1,28 mmol COOH/g. Este aumento confirma la conversión parcial de los grupos aldehído generados durante la oxidación TEMPO en grupos carboxilo, lo cual es consistente con lo reportado por Mishra et al (2012) y Calderón-Vergara et al (2020), quienes observaron incrementos similares tras la aplicación de este tratamiento. Estos resultados evidencian la eficacia de la post-oxidación como estrategia para cuantificar los grupos aldehído en las muestras de TOCN y TOBCN ya que hubo un incremento de 0,24 mmol COOH/g y 0,44 mmol COOH/g en el contenido de σ , respectivamente. Este valor fue atribuido a la conversión de grupos aldehídos presentes en las muestras de TOCN y TOBCN, lo que sugiere una cantidad inicial equivalente de grupos $-\text{CHO}$ en la celulosa oxidada. Dado que la CB presenta una mayor concentración de grupos aldehídos en comparación con la CV, se espera que los hidrogeles derivados de CB incorporen una mayor cantidad de plata. Esto se debe a que los grupos aldehídos pueden reducir los iones Ag^+ a plata metálica (Ag^0) y/o facilitar su retención mediante interacciones superficiales y/o de coordinación.

5.1.2 Potencial Z

El potencial zeta es un parámetro importante para evaluar la estabilidad de las dispersiones coloidales, ya que muestra la magnitud de la repulsión electrostática entre partículas cargadas en un medio dispersante. Valores de potencial zeta superiores a +30 mV o inferiores a -30 mV indican una alta estabilidad coloidal, mientras que valores cercanos a cero sugieren una tendencia a la agregación y floculación de las partículas (Matusiak & Grządka, 2017).

En este estudio, se analizaron dos muestras: TOCBN (0,01M) y TOCN (0,01M). La muestra de TOCBN presentó un potencial zeta de -66,0 mV, mientras que la muestra de TOCN mostró un valor de -65,3 mV. Ambos valores se encuentran muy por debajo del umbral de -30 mV, lo que indica una excelente estabilidad coloidal en ambas muestras. Esta estabilidad se atribuye principalmente a la presencia de grupos cargados negativamente en la superficie de las partículas, como los grupos carboxilo (COO^-), que generan fuertes repulsiones electrostáticas y evitan la agregación (Derjaguin & Landau, 1993).

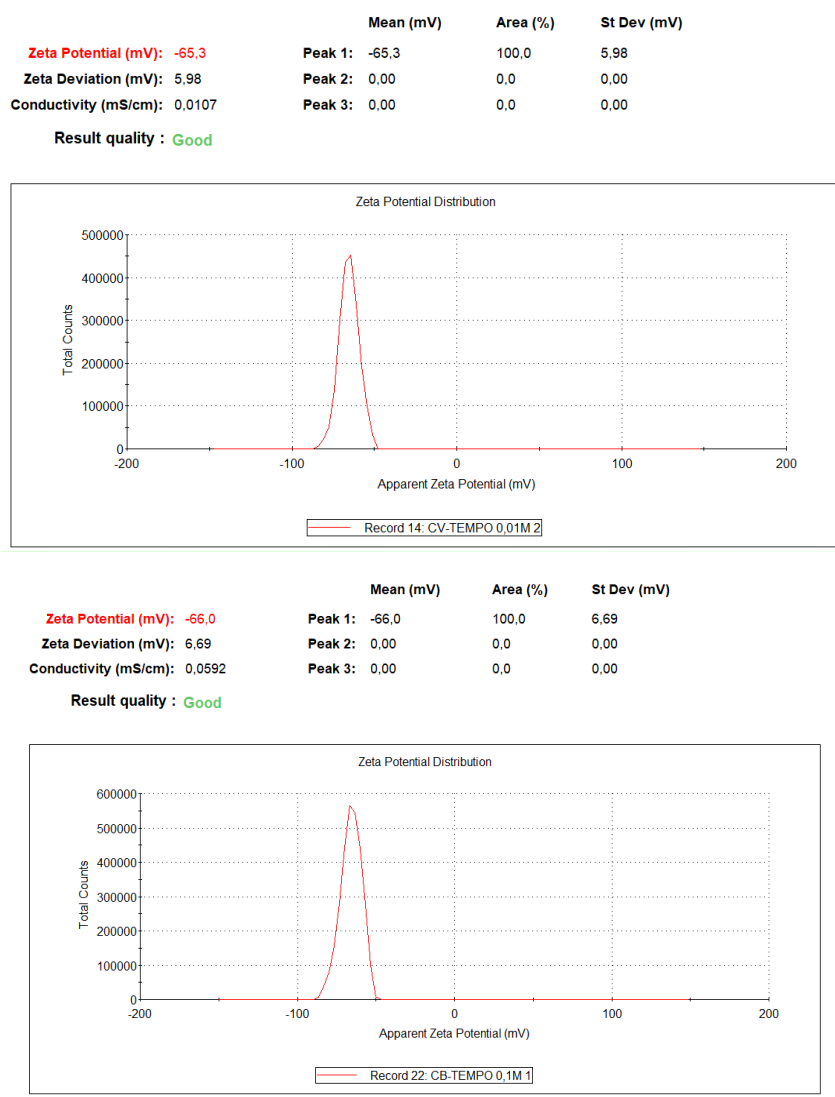
Además, la baja conductividad medida en ambas muestras (0,0592 mS/cm para TOCBN y 0,0107 mS/cm para TOCN) sugiere una baja concentración de iones en el medio dispersante, lo que contribuye a mantener la estabilidad del sistema. Estos resultados son consistentes con estudios previos que han demostrado que la presencia de grupos funcionales aniónicos en la superficie de las partículas, como los grupos carboxilos, mejoran la dispersión al aumentar la repulsión electrostática (Gómez et al., 2017).

La estabilidad coloidal también puede verse influenciada por factores como el pH, la fuerza iónica del medio y la naturaleza del dispersante. En este caso, las condiciones experimentales, como la temperatura constante de 25,0 °C y el uso de agua como dispersante, favorecieron la obtención de valores de potencial zeta altamente negativos, lo que confirma la estabilidad de las

dispersiones (ROBERT J. HUNTER, 1981). Esto sugiere que las repulsiones electrostáticas y estéricas juegan un papel crucial en la estabilización de estas dispersiones, lo que las hace adecuadas para aplicaciones que requieren una alta estabilidad coloidal, como la formación de hidrogeles o nanocompuestos (Mekkawy et al., 2017).

Figura 7

Potencial Z de las muestras de celulosa oxidadas mediante radical TEMPO



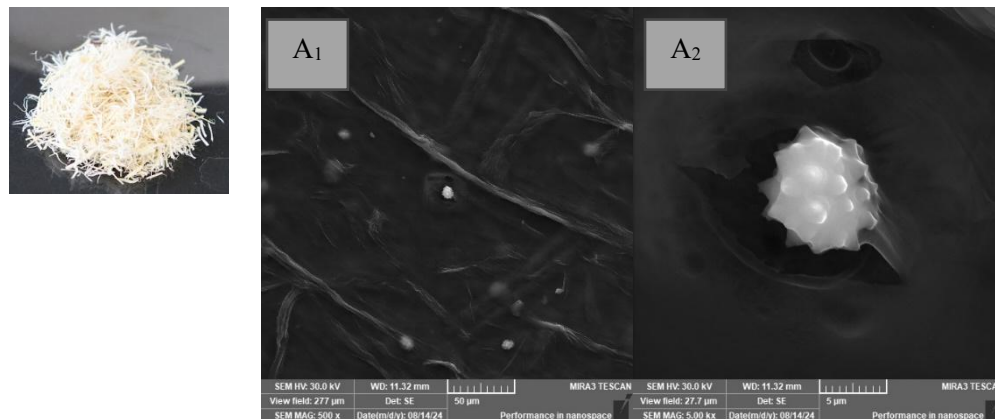
5.1.3 Microscopía electrónica de barrido (SEM)

Las micrografías de microscopía electrónica de barrido revelan la morfología superficial y la estructura interna de las nanofibrillas de celulosa sometidas a oxidación con TEMPO. Se exploraron muestras de TOCN y TOBCN, así como nanocompuestos TOCN/AgNPs y TOBCN/AgNPs, representadas respectivamente como A), B), C) y D), capturadas en aumentos de 500X, 5000X y 20000X.

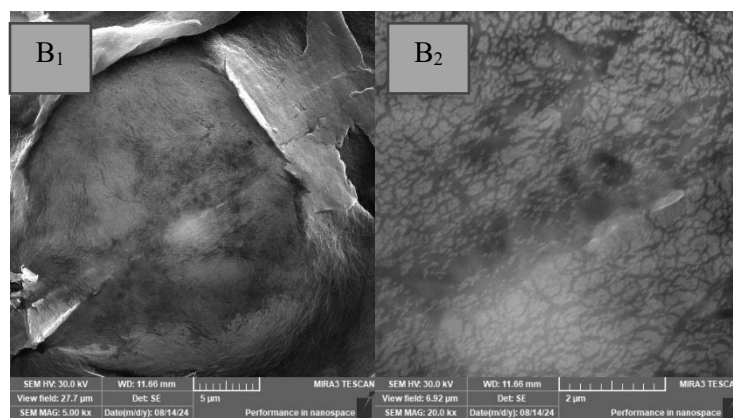
En la **Figura 8** se muestran las imágenes de las muestras A) TOCN y B) TOBCN, secadas después de la oxidación. En ambas imágenes se observa una estructura lisa, resultado de un secado uniforme. La homogeneidad de esta estructura se debe a la uniformidad en el tamaño de las fibras obtenidas mediante la oxidación TEMPO. No obstante, en la Figura 8A₂ se aprecian nanoestructuras distribuidas a lo largo de las fibras, las cuales, debido al origen de la muestra, se asocian con nano sílice provenientes del raquis, formando estructuras porosas (Martínez-Ramírez et al., 2023). Por otro lado, en las figuras 8B₁ y 8B₂ se pueden observar las nanofibras de la TOBCN, que también presentan una superficie lisa debido al proceso de oxidación TEMPO. Además, se puede notar la repulsión entre las fibras, resultado de los grupos aniónicos COO⁻, que inducen repulsiones electrostáticas (Elayaraja et al., 2021).

Figura 8*Micrografías SEM de celulosa oxidada con TEMPO*

TOCN



TOBCN



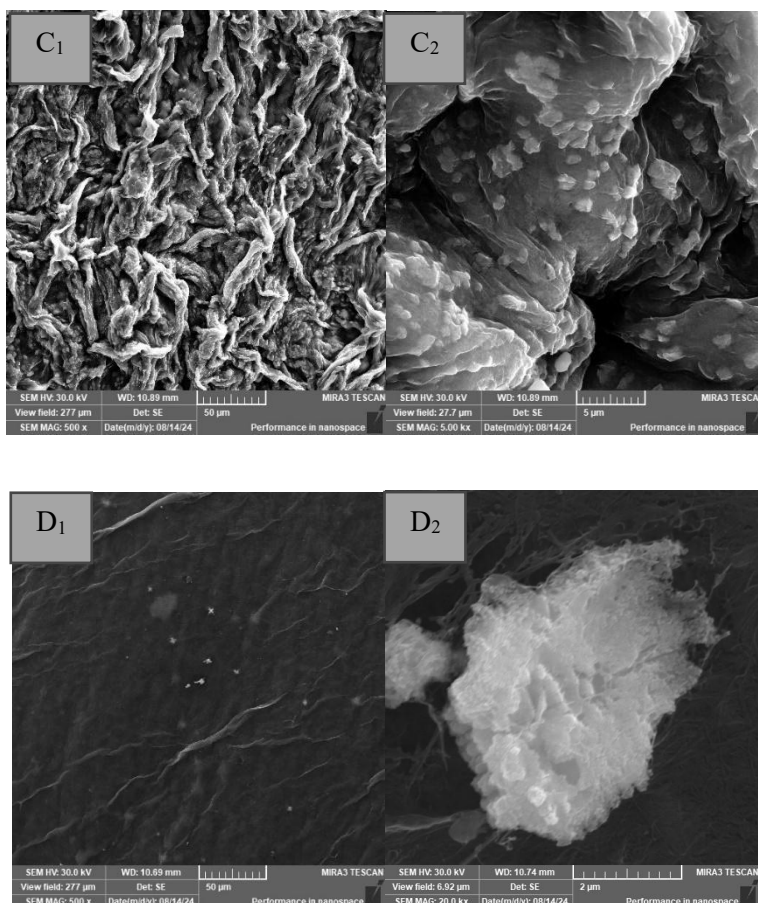
Nota. Donde A) TOCN B) TOBCN

La **Figura 9** ilustra la síntesis in situ de AgNPs sobre la superficie de las nanofibrillas de celulosa oxidada. Se observa la formación tanto de NPs individuales con morfología cuasi-esférica como de agregados ramificados de mayor tamaño, lo que indica la capacidad de las nanofibrillas para actuar como soporte y sitio de nucleación para las AgNPs (Wu et al., 2018). La Figura 9C muestra la interacción de los aniones carboxilato con las partículas de plata, evidenciando un control adecuado del crecimiento, el cual está favorecido por la estabilidad proporcionada por el resto de la fibra. Por otro lado, en la Figura 9D, se observa un crecimiento menos controlado,

formándose aglomerados. Esto sugiere que se formaron puntos de nucleación metal-carboxilato, pero la nucleación se centró en la formación de sales tipo AgCl.

Figura 9

Micrografías SEM de celulosa oxidada con TEMPO y AgNPs



Nota. Donde C) TOCN/AgNO₃ D) TOBCN/AgNO₃

5.1.4 Espectroscopia infrarroja (FTIR)

Los espectros FT-IR de la CV y CB, analizados tras la oxidación con radical TEMPO y funcionalización con nitrato de plata (AgNO₃), revelaron señales características de los grupos funcionales presentes (**Tabla 3**). La CV se distingue de otros tipos de celulosa, como la bacteriana, por la presencia de lignina (Kaffashsaie et al., 2021), lo que se refleja en señales específicas en los

espectros FT-IR. Una de estas señales es la banda en 1730 cm^{-1} , que corresponde al estiramiento (γ) del grupo carbonilo ($\text{C}=\text{O}$) de grupos acetilo y hemicelulosa, característica de la CV (Kaffashsaie et al., 2021). Otra señal distintiva es la observada en 1164 cm^{-1} , atribuida al estiramiento asimétrico (γ) del enlace C-O-C y a la vibración esquelética del anillo de piranosa (V. Dubey et al., 2002; Jiang & Hsieh, 2013). Estas señales no están presentes en la CB, lo que permite diferenciar claramente ambos tipos de celulosa.

En cuanto a las señales que comparten la CV y CB, se encuentran las siguientes: En el rango de $3400\text{-}3200\text{ cm}^{-1}$, se observa el estiramiento (γ) de los grupos hidroxilo ($-\text{OH}$), asociado con la formación de enlaces de hidrógeno intra e intermoleculares (X. Chen et al., 2011; Salari et al., 2019). En el rango de $3200\text{-}3500\text{ cm}^{-1}$, se detecta el estiramiento OH en alcoholes y fenoles (X. Chen et al., 2011; Zhao et al., 2015). La señal en 2925 cm^{-1} corresponde al estiramiento (γ) de enlaces C-H en grupos alifáticos, típicos del metileno (Łojewska et al., 2005; Ruiz-Caldas et al., 2022; Zhao et al., 2015). Las bandas en 1424 cm^{-1} y 1320 cm^{-1} reflejan la flexión simétrica (δ) del grupo CH_2 y una combinación de flexión balanceada del grupo CH_2 con el estiramiento del anillo en C-6, respectivamente (Wang et al., 2015). La señal en 1164 cm^{-1} , aunque más prominente en la CV, también puede observarse en la bacteriana, asociada al estiramiento asimétrico (γ) del enlace C-O-C (V. Dubey et al., 2002; Jiang & Hsieh, 2013). En el rango de $1029\text{-}1055\text{ cm}^{-1}$, se identifican vibraciones de estiramiento de los enlaces C-O en los carbonos C2, C3 y C6 (Łojewska et al., 2005; Morán et al., 2008). La señal en 1602 cm^{-1} corresponde al estiramiento (γ) de grupos carboxílicos ($\text{C}=\text{O}$), presente en ambas formas de celulosa (Isogai et al., 2011; Jiang & Hsieh, 2013; Łojewska et al., 2005).

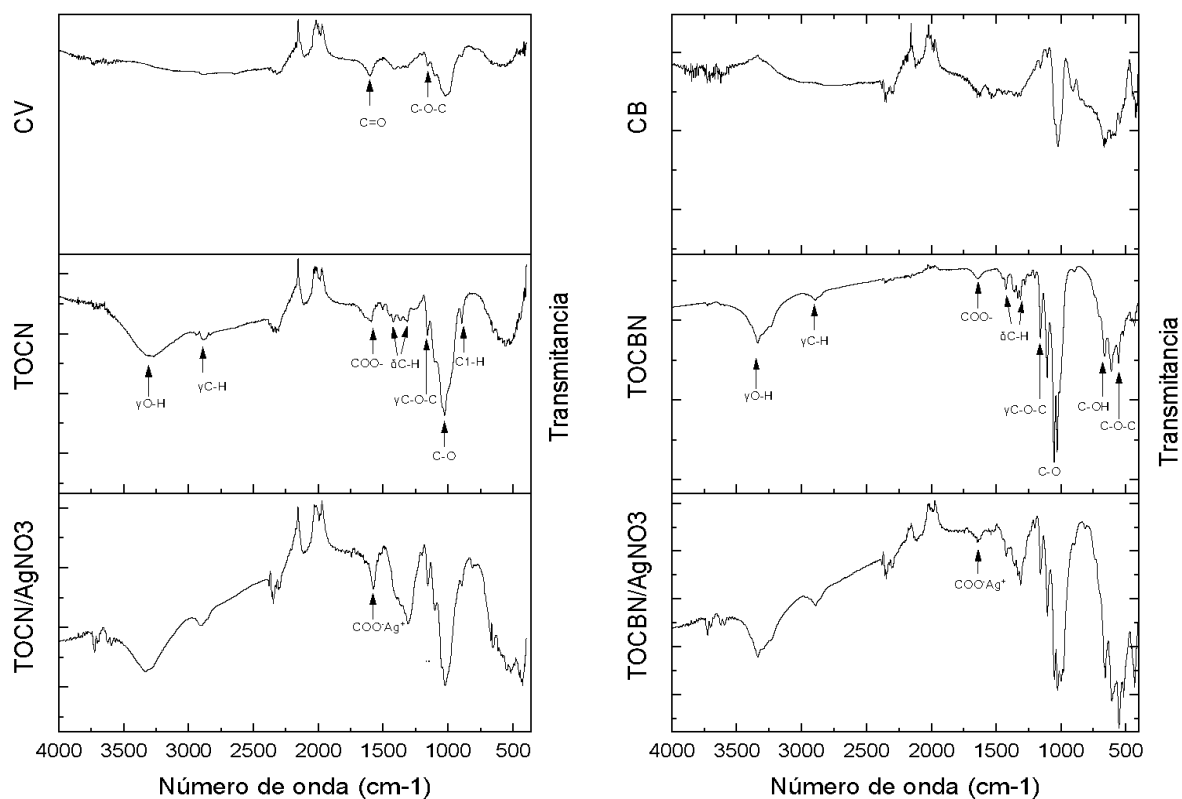
En la CV, la señal en 897 cm^{-1} se atribuye a la vibración del carbono anomérico $\text{C}_1\text{-H}$, característica de su estructura (X. Chen et al., 2011). En la CB, las señales en 664 cm^{-1} y 553

cm^{-1} corresponden a la flexión fuera del plano del enlace C-OH y al enlace glucosídico C-O-C, respectivamente (Morán et al., 2008), las cuales no se aprecian en la CV.

Finalmente, tras la funcionalización con AgNO_3 , se detectó una señal característica en el rango de $1599\text{-}1405\text{ cm}^{-1}$, asociada a interacciones entre el grupo carboxilato (COO^-) y los iones de plata (Ag^+). Esta señal confirma la presencia de Ag^+ en ambas formas de celulosa, aunque su intensidad y posición pueden variar dependiendo de la estructura de la celulosa (Zander et al., 2014). Esta funcionalización es clave para aplicaciones en materiales avanzados con presencia de AgNPs.

Figura 10

Espectros FT.IR



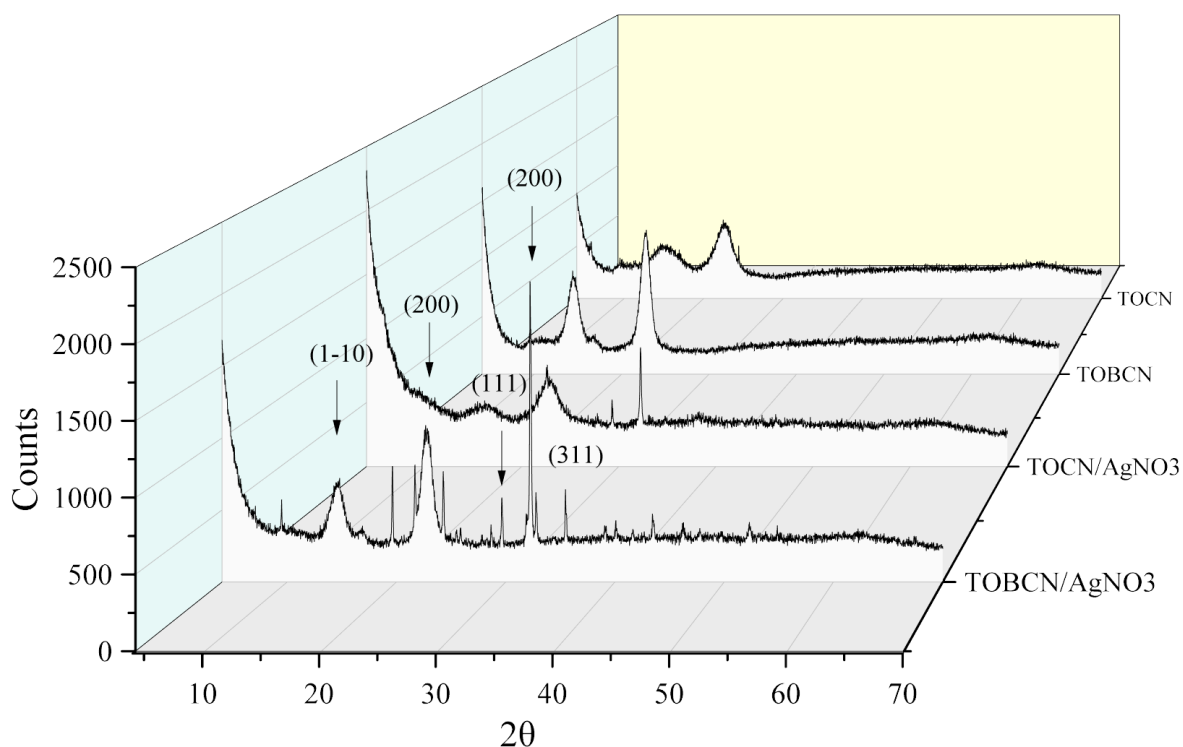
Nota. Dónde relación molar COOH:AgNO₃ fue para el hidrogel 1:6.

Tabla 3*Caracterización FT-IR*

Número de onda [cm ⁻¹]	Grupo Funcional	Descripción	Referencia
3400-3200	γ O-H	Estiramiento del grupo O-H.	(X. Chen et al., 2011; Salari et al., 2019)
3200-3500	γ O-H	Estiramiento O-H de alcoholes y fenoles.	(X. Chen et al., 2011; Zhao et al., 2015)
2925	γ C-H	Estiramiento de enlaces C-H alifáticos.	(Łojewska et al., 2005; Ruiz-Caldas et al., 2022; Zhao et al., 2015)
1424,1320	δ CH ₂	Flexión simétrica, balanceada del grupo CH ₂ en celulosa.	(Wang et al., 2015)
1164	γ C-O-C	Estiramiento asimétrico y vibración esquelética del anillo de piranosa.	(V. Dubey et al., 2002; Jiang & Hsieh, 2013)
897	C ₁ -H	Vibración del carbono anomérico C ₁ -H.	(X. Chen et al., 2011)
1029-1055	C-O	Vibraciones C-O de los carbonos C2, C3 y C6	(Łojewska et al., 2005; Morán et al., 2008)
664	C-OH	Flexión fuera del plano del enlace C-OH	(Morán et al., 2008)
553	γ C-O-C	Flexión del enlace glucosídico	(Morán et al., 2008)
1602	COO ⁻ , CO	Estiramiento en ácidos carboxílicos.	(A. Isogai et al., 2011b; Jiang & Hsieh, 2013; Łojewska et al., 2005)
1599, 1405	COO ⁻ Ag ⁺	Interacciones entre el grupo carboxilato y los iones de plata (Ag ⁺).	(Zander et al., 2014)
1097	γ C-C	estiramiento del enlace C-C en anillos de polisacáridos o celulosa	(S. Dubey et al., 2017)
1730	C=O	C=O Estiramiento de acetilo y hemicelulosa	(Kaffashsaie et al., 2021)

5.1.5 Difracción de rayos X (DRX)

La **Figura 11** muestra el análisis de fases de los datos de DRX para las muestras de los materiales celulósicos. El análisis de DRX muestra picos entre 15° - 16° y $22,8^\circ$ característicos de celulosa tipo $I\alpha$ y $I\beta$ con planos en (100), (110) y (1-01) y (200) respectivamente (Sun et al., 2023). La proporción de estas disposiciones estructurales, triclinica y monoclinica, varía según la especie y la fuente de obtención. Por ejemplo, la estructura $I\alpha$ predomina en la celulosa producida por bacterias, mientras que la $I\beta$ es la forma dominante en la celulosa de origen vegetal, como es el caso de la TOBCN y la TOCN (Saavedra-Sanabria et al., 2021). El patrón de difracción de rayos X también exhiben los planos cristalográficos (111), (200) y (311) asociados a los respectivos picos de difracción $2\theta = 29,5, 32,1$ y $35,4$ correspondientes a la estructura cúbica de AgCl como lo indica el archivo JCPDS de la base de datos del PDF - 2 2021 obtenido por el programa DIFRACC.EVA (Kota et al., 2017). La formación de este material nanoparticulado podría estar relacionada con la presencia de cloro en el medio, proveniente de NaClO consumido durante la reacción TEMPO. Asimismo, se pueden identificar señales en $2\theta = 19,6^\circ, 24,2^\circ, 29,6^\circ, 31,8^\circ, 32,7^\circ, 35,4^\circ, 40,1^\circ$ correspondientes a $AgNO_3$, esto coincide con lo reportado en el archivo JCPDS N° 43-0649. Estos resultados indican que el $AgNO_3$ fue anclado por los grupos carboxilo ($-COO^-$) y aldehído ($-CHO$) de la celulosa oxidada, así como por las nanofibras mediante enlaces de coordinación o electrostáticos. Sin embargo, la reducción de Ag^+ a plata metálica no se identificó por la presencia mayoritaria de los otros compuestos.

Figura 11*Espectros DRX*

Nota. Donde relación molar COOH:AgNO₃ fue para el hidrogel 1:6.

5.2 Caracterización de los hidrogeles.

5.2.1 Fluorescencia de rayos X (FRX)

El análisis por fluorescencia de rayos X (FRX) se realizó para determinar la presencia y concentración de plata en muestras de hidrogel basados en TOCN y TOBCN. Los resultados mostraron que ambas muestras están compuestas principalmente por celulosa, con un contenido superior al 99%. En el caso de la TOBCN, se observó una pureza del 100%, sin detectarse otros óxidos o elementos en cantidades cuantificables. Por otro lado, la TOCN presentó un 99,40% de

celulosa, junto con un 0,27% de silicio (Si) y trazas de elementos como rodio (Rh), azufre (S), calcio (Ca), cobre (Cu), hierro (Fe), bromo (Br), níquel (Ni) y sus respectivos óxidos (SiO_2 , SO_3 , CaO , CuO , Fe_2O_3), los cuales pueden atribuirse a impurezas propias del material vegetal.

En cuanto a los hidrogeles con AgNPs, se observó una mayor concentración de plata en la TOBCN (0,27%) en comparación con la TOCN (0,23%). Esta diferencia se atribuye a la mayor proporción de grupos aldehídos en el TOBCN, los cuales actúan como agentes reductores más eficaces que los hidroxilos, favoreciendo la inmovilización de nanopartículas de plata. También, la mayor pureza de la CB, facilita un acoplamiento más eficiente de las AgNPs. Además, la estructura molecular de la CB, caracterizada por una alta cristalinidad (80-90%) (Abdelraof et al., 2022; Saavedra-Sanabria et al., 2021) y una red nanofibrilar compacta, limita la accesibilidad de los reactivos durante la oxidación, lo que resulta en una mayor retención de grupos aldehído remanentes. Estos grupos actúan como sitios activos para la incorporación de plata, favoreciendo una mayor concentración de este metal en los hidrogeles de TOBCN. En contraste, la CV, con una estructura más abierta y menor cristalinidad (55-65%) (Fouad et al., 2020; Galiwango et al., 2019), presenta una oxidación más eficiente, lo que reduce la cantidad de grupos aldehído disponibles y, por ende, limita la incorporación de plata.

Además de la plata, se detectaron elementos minoritarios como silicio (Si) y azufre (S), se sugiere que estos elementos podrían estar relacionados con el proceso de obtención de la celulosa o con contaminantes naturales. Aunque estos elementos se encuentran en bajas concentraciones, su influencia en las propiedades mecánicas y químicas del material podría ser relevante para futuras investigaciones (Xu et al., 2024).

Tabla 4

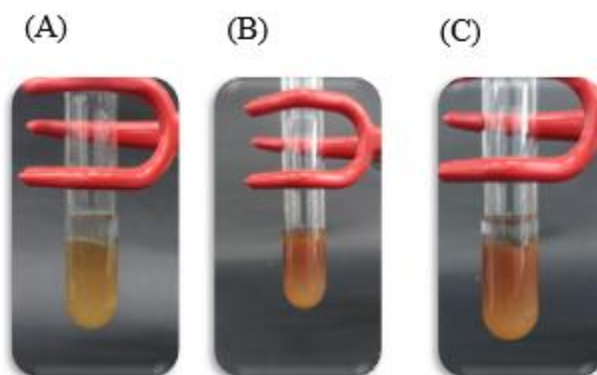
Porcentaje cuantitativo de óxidos y elementos obtenidos mediante análisis FRX de las muestras TOCN, TOBCN, TOCN/AgNO₃ y TOBCN/AgNO₃

Elemento/ Compuesto	Muestra			
	TOCN	TOBCN	TOCN/AgNO ₃	TOBCN/AgNO ₃
C6H10O5	99,40%	100,00%	99,60%	99,70%
Ag	-	-	0,23%	0,27%
Si	0,27%	N.C	0,05%	77 PPM
SiO ₂	0,58%	N.C	0,11%	0,02%
Minoritarios				
Rh	-	-	26 PPM	23 PPM
S	-	N.C	23 PPM	14 PPM
SO ₃	-	N.C	56 PPM	35 PPM
Ca	35 PPM	-	15 PPM	-
CaO	49 PPM	-	21 PPM	-
Br	10 PPM	N.C	4 PPM	-
Fe	9 PPM	-	7 PPM	8 PPM
Fe ₂ O ₃	13 PPM	-	10 PPM	12 PPM
Cu	7 PPM	N.C	7 PPM	7 PPM
CuO	9 PPM	N.C	9 PPM	9 PPM
Ni	4 PPM	N.C	4 PPM	-
NiO	4 PPM	N.C	4 PPM	-
Zn	3 PPM	-	-	N.C
ZnO	3 PPM	-	-	-
Ru	N.C	-	-	N.C

Nota. Dónde relación molar COOH:AgNO₃ fue para el hidrogel 1:6.

Figura 12

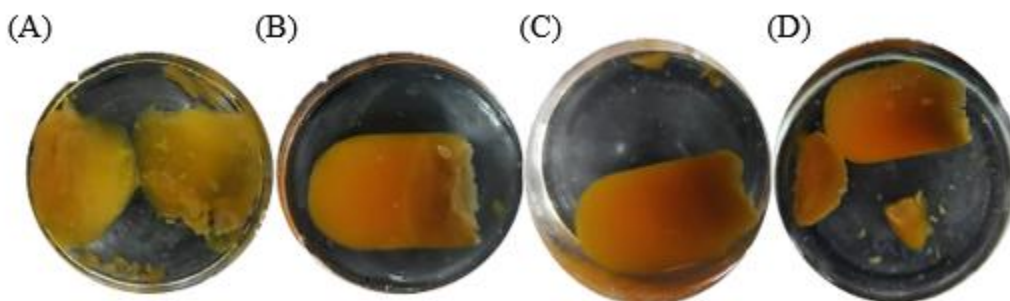
Preparación de hidrogeles TOBCN/AgNPs



Nota. Dónde relación molar $\text{COOH}:\text{AgNO}_3$ A) 1:3, B) 1:4 y C) 1:6

Figura 13

Preparación de hidrogeles TOCN/AgNPs a partir de raquis



Nota. Dónde relación molar $\text{COOH}:\text{AgNO}_3$ A) 1:3, B) 1:4, C) 1:5 y D) 1:6.

Los hidrogeles basados en biopolímeros se han consolidado como plataformas funcionales en aplicaciones biomédicas debido a su hidrofobicidad, biocompatibilidad y capacidad de servir como matrices para la incorporación de agentes bioactivos. En este contexto, los hidrogeles de nanocelulosa (**Figura 12**, **Figura 13**) oxidada con TEMPO (TOCN y TOBCN) permiten la estabilización y dispersión de nanopartículas de plata (AgNPs), reduciendo su tendencia a la

agregación y optimizando su desempeño antimicrobiano. La hibridación TOCN/AgNPs evidenció una actividad antimicótica frente a *Candida albicans* (método de difusión en disco), confirmada por la formación de halos de inhibición dependientes de la proporción molar COOH:AgNO₃. Se registraron halos de 7,0 mm (1:4), 9,5 mm (1:5) y 11,2 mm (1:6), lo que demuestra que un mayor contenido relativo de plata potencia la eficacia antifúngica del material, consolidándose como un candidato promisorio para el desarrollo de estrategias antifúngicas. Cabe destacar que estas pruebas no hicieron parte de la tesis propuesta, sin embargo, se mencionan como potencial uso del hidrogel sintetizado.

6 CONCLUSIONES

La presente investigación demostró que las fibras de raquis de palma de aceite deslignificada y la celulosa bacteriana producida por fermentación estática con mucílago de cacao son un material de partida eficiente para obtener NFC por medio de oxidación mediada por TEMPO.

Entre las muestras evaluadas, la CV extraída del raquis de palma de aceite presentó una mayor eficiencia de oxidación, con un DO de 0,210, en comparación con la CB, que alcanzó un DO de 0,140. Esta diferencia se atribuyó a la menor cristalinidad y a la estructura más porosa de la CV, lo que facilita el proceso de oxidación. Por otro lado, la CB mostró una mayor retención de grupos aldehídos, cuantificados mediante una post-oxidación, lo cual se relaciona con su estructura más ordenada, que limita la conversión completa de los aldehídos a carboxilos.

La síntesis de hidrogeles híbridos a partir de nanocelulosa oxidada (TOCN y TOBCN) y AgNO₃ resultó exitosa. La formación de puntos de nucleación para una posterior formación de

AgNPs en la superficie de las nanofibras de celulosa fue confirmada mediante técnicas de caracterización como SEM, FTIR, FRX y DRX, lo que sugiere que estos materiales tienen un gran potencial como soporte eficiente para incorporar nanopartículas inorgánicas por medio del potencial redox que aportan los grupos aldehído. Adicionalmente, los resultados obtenidos mediante FRX indicaron que TOBCN presentó un mayor contenido de plata en comparación con TOCN, lo cual se atribuye a su mayor concentración de grupos aldehídos. Estos hallazgos sugieren una correlación positiva entre la cantidad de grupos aldehídos y la plata.

No obstante, a pesar de la evidencia de la formación de sitios de nucleación, la síntesis efectiva de nanopartículas de plata no fue completamente exitosa. Los análisis estructurales indicaron la formación predominante de sales de plata asociadas a residuos de cloro, en lugar de AgNPs metálicas, lo cual sugiere que la presencia de NaClO en el sistema favoreció la precipitación de compuestos de plata-cloruro. Este fenómeno limitó la reducción completa de Ag^+ a plata metálica, afectando la formación final de AgNPs.

Los hidrogeles TOCN/AgNPs demostraron una actividad antifúngica dependiente de la proporción molar $\text{COOH}:\text{AgNO}_3$, evidenciada en la inhibición de *Candida albicans*. Este comportamiento confirma su potencial como materiales biomédicos con aplicaciones antifúngicas avanzadas ya que independientemente de la formación de AgCl, AgNO_3 O AgNPs se dio una liberación sostenida de iones Ag^+ promoviendo la inhibición biológica.

7 RECOMENDACIONES Y TRABAJO FUTURO

A partir de los resultados obtenidos en este trabajo, se identifican varias estrategias que podrían permitir optimizar la formación de nanopartículas metálicas. En primer lugar, sería

pertinente optimizar el proceso de purificación de TOCN mediante protocolos de lavado más rigurosos posteriores a la oxidación mediada por TEMPO, con el fin de eliminar posibles trazas de especies cloradas (NaClO) presentes en el sistema. Reducir la presencia de estos residuos podría evitar la formación de sales de plata como AgCl durante la síntesis, favoreciendo así la generación de nanopartículas de plata metálica (AgNPs). Adicionalmente, considerando que los grupos aldehído presentes en la celulosa podrían no ser suficientes para promover completamente la reducción de los iones Ag^+ bajo las condiciones empleadas, futuros estudios podrían evaluar la incorporación de agentes reductores adicionales de carácter "verde", como el ácido ascórbico, con el objetivo de facilitar la formación de la fase metálica de plata. Finalmente, sería relevante validar experimentalmente el potencial antimicrobiano y antifúngico de estos materiales mediante ensayos biológicos frente a microorganismos de interés, tales como *Candida albicans* y bacterias grampositivas y gramnegativas, dado que en el presente trabajo estas aplicaciones se plantean principalmente como un posible uso potencial fuera del alcance experimental inicialmente propuesto. Si bien se realizaron pruebas preliminares que mostraron resultados positivos en términos de actividad antimicrobiana, no fue posible determinar con certeza si dicha actividad se debe a la presencia de trazas de plata metálica o si está asociada a la formación de compuestos de plata como AgCl generados durante el proceso de síntesis ya que estos en medio acuoso permiten liberar iones Ag^+ que generan esos efectos biológicos sostenidos. En este sentido, futuros estudios deberían enfocarse en establecer con mayor claridad la relación entre la fase química de la plata presente en el material y su actividad biológica, mediante una caracterización más detallada y ensayos biológicos controlados.

- Abdelraof, M., El Saied, H., & Hasanin, M. S. (2022). Green Immobilization of Glucanobacter xylinum onto Natural Polymers to Sustainable Bacterial Cellulose Production. *Waste and Biomass Valorization*, 13(4), 2053–2069. <https://doi.org/10.1007/S12649-021-01666-W/FIGURES/8>
- Adegbola, R. O., Keith, C. V., Gutierrez, O., Goenaga, R., & Brown, J. K. (2024). Complete genome characterization of cacao leafroll virus, a newly described cacao-infecting polerovirus. *Archives of Virology*, 169(4), 1–7. <https://doi.org/10.1007/S00705-024-06013-7/FIGURES/2>
- Akhtar, M. F., Hanif, M., & Ranjha, N. M. (2016). Methods of synthesis of hydrogels ... A review. *Saudi Pharmaceutical Journal*, 24(5), 554–559. <https://doi.org/10.1016/j.jsps.2015.03.022>
- Araya-Chavarría, K., Rojas, R., Ramírez-Amador, K., Sulbarán-Rangel, B., Rojas, O., & Esquivel-Alfaro, M. (2022). Cellulose Nanofibers as Functional Biomaterial from Pineapple Stubbles via TEMPO Oxidation and Mechanical Process. *Waste and Biomass Valorization*, 13(3), 1749–1758. <https://doi.org/10.1007/s12649-021-01619-3>
- Arévalo Gallegos, A. M. , C. S. H. , P. R. , K. T. , and I. H. M. N. (2016). “Bacterial cellulose: A sustainable source to develop value-added products - A review,” *BioRes*. BioRes. 11(2), 5641-5655. <https://bioresources.cnr.ncsu.edu/resources/bacterial-cellulose-a-sustainable-source-to-develop-value-added-products-a-review-biores/>
- Arteaga V, L. (2014). *EVALUACIÓN DE RESIDUOS AGROINDUSTRIALES COMO SUSTRATO PARA LA PRODUCCIÓN DE CELULOSA BACTERIANA EMPLEANDO Gluconacetobacter medellinensis*.
- Arvelo, M. A., Delgado, T., Maroto, S., Rivera, J., Higuera, I., Navarro, A., & Inter-American Institute for Co-operation in Agriculture Oficina en Costa Rica. (n.d.). *Estado actual sobre la producción, el comercio y cultivo del cacao en América*.
- Asadpour, R., Yavari, S., Kamyab, H., Ashokkumar, V., Chelliapan, S., & Yuzir, A. (2021). Study of oil sorption behaviour of esterified oil palm empty fruit bunch (OPEFB) fibre and its kinetics and isotherm studies. *Environmental Technology & Innovation*, 22, 101397. <https://doi.org/10.1016/J.ETI.2021.101397>
- Autino J., Romanelli G., & Diego Manuel Ruiz. (2013). *Introducción a la química orgánica* (1st ed.). La Plata : Universidad Nacional de La Plata .
- Boonsawang, P., & Youravong, W. (2017). Sustainability Issues, Challenges and Controversies Surrounding the Palm Oil Industry. *Sustainability Challenges in the Agrofood Sector*, 596–615. <https://doi.org/10.1002/9781119072737.CH25>
- Boufi, S. (2017). Agricultural crop residue as a source for the production of cellulose nanofibrils. In *Cellulose-Reinforced Nanofibre Composites* (pp. 129–152). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100957-4.00006-1>

- Bragd, P. L., Besemer, A. C., & Van Bekkum, H. (2000). Bromide-free TEMPO-mediated oxidation of primary alcohol groups in starch and methyl α -D-glucopyranoside. *Carbohydrate Research*, 328(3), 355–363. [https://doi.org/10.1016/S0008-6215\(00\)00109-9](https://doi.org/10.1016/S0008-6215(00)00109-9)
- Calderón-Vergara, L. A., Ovalle-Serrano, S. A., Blanco-Tirado, C., & Combariza, M. Y. (2020). Influence of post-oxidation reactions on the physicochemical properties of TEMPO-oxidized cellulose nanofibers before and after amidation. *Cellulose*, 27(3), 1273–1288. <https://doi.org/10.1007/S10570-019-02849-4/FIGURES/2>
- Carlsson, D. O., Lindh, J., Nyholm, L., Strømme, M., & Mihranyan, A. (2014). Cooxidant-free TEMPO-mediated oxidation of highly crystalline nanocellulose in water. *RSC Advances*, 4(94), 52289–52298. <https://doi.org/10.1039/C4RA11182F>
- Chen, W., Yu, H., Liu, Y., Chen, P., Zhang, M., & Hai, Y. (2011). Individualization of cellulose nanofibers from wood using high-intensity ultrasonication combined with chemical pretreatments. *Carbohydrate Polymers*, 83(4), 1804–1811. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2010.10.040>
- Chen, X., Yu, J., Zhang, Z., & Lu, C. (2011). Study on structure and thermal stability properties of cellulose fibers from rice straw. *Carbohydrate Polymers*, 85(1), 245–250. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2011.02.022>
- Cheng, Z., Yang, R., Liu, X., Liu, X., & Chen, H. (2017). Green synthesis of bacterial cellulose via acetic acid pre-hydrolysis liquor of agricultural corn stalk used as carbon source. *Bioresource Technology*, 234, 8–14. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.02.131>
- Chew, C. L., Ng, C. Y., Hong, W. O., Wu, T. Y., Lee, Y.-Y., Low, L. E., Kong, P. S., & Chan, E. S. (2021). Improving Sustainability of Palm Oil Production by Increasing Oil Extraction Rate: a Review. *Food and Bioprocess Technology*, 14(4), 573–586. <https://doi.org/10.1007/s11947-020-02555-1>
- Corey, E. J., Gilman, N. W., & Ganem, B. E. (1968). New Methods for the Oxidation of Aldehydes to Carboxylic Acids and Esters. *Journal of the American Chemical Society*, 90(20), 5616–5617. https://doi.org/10.1021/JA01022A059/ASSET/JA01022A059.FP.PNG_V03
- Derjaguin, B., & Landau, L. (1993). Theory of the stability of strongly charged lyophobic sols and of the adhesion of strongly charged particles in solutions of electrolytes. *Progress in Surface Science*, 43(1–4), 30–59. [https://doi.org/10.1016/0079-6816\(93\)90013-L](https://doi.org/10.1016/0079-6816(93)90013-L)
- Derman, E., Abdulla, R., Marbawi, H., & Sabullah, M. K. (2018). Oil palm empty fruit bunches as a promising feedstock for bioethanol production in Malaysia. *Renewable Energy*, 129, 285–298. <https://doi.org/10.1016/J.RENENE.2018.06.003>
- Dhaka, A., Chand Mali, S., Sharma, S., & Trivedi, R. (2023). A review on biological synthesis of silver nanoparticles and their potential applications. *Results in Chemistry*, 6, 101108. <https://doi.org/10.1016/j.rechem.2023.101108>

- Diaz Serrano, Combariza Montañez (DIR.), & Ovalle Serrano (DIR.). (2018). *FUNCIONALIZACION DE NANOCELULOSA EXTRAIDA DE ESTOPA DE FIQUE MEDIANTE SU MODIFICACION CON NANOPARTICULAS DE PLATA*. [RECURSO ELECTRONICO] /UIS TESIS (PREGRADO).
http://tangara.uis.edu.co/biblioweb/pags/cat/popup/pa_detalle_matbib.jsp?parametros=185224|%20|1|1
- Dong, H., Snyder, J. F., Tran, D. T., & Leadore, J. L. (2013). Hydrogel, aerogel and film of cellulose nanofibrils functionalized with silver nanoparticles. *Carbohydrate Polymers*, 95(2), 760–767.
<https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2013.03.041>
- Du, C., Li, H., Li, B., Liu, M., & Zhan, H. (2016). Characteristics and Properties of Cellulose Nanofibers Prepared by TEMPO Oxidation of Corn Husk. In *BioResources* (Vol. 11, Issue 2).
- Dubey, S., Sharma, R. K., Agarwal, P., Singh, J., Sinha, N., & Singh, R. P. (2017). From rotten grapes to industrial exploitation: *Komagataeibacter europaeus* SGP37, a micro-factory for macroscale production of bacterial nanocellulose. *International Journal of Biological Macromolecules*, 96, 52–60. <https://doi.org/10.1016/J.IJBIOMAC.2016.12.016>
- Dubey, V., Saxena, C., Singh, L., Ramana, K. V., & Chauhan, R. S. (2002). Pervaporation of binary water–ethanol mixtures through bacterial cellulose membrane. *Separation and Purification Technology*, 27(2), 163–171. [https://doi.org/10.1016/S1383-5866\(01\)00210-6](https://doi.org/10.1016/S1383-5866(01)00210-6)
- Elayaraja, S., Liu, G., Zagorsek, K., Mabrok, M., Ji, M., Ye, Z., Zhu, S., & Rodkhum, C. (2021). TEMPO-oxidized biodegradable bacterial cellulose (BBC) membrane coated with biologically-synthesized silver nanoparticles (AgNPs) as a potential antimicrobial agent in aquaculture (In vitro). *Aquaculture*, 530, 735746. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.735746>
- Fan, F. M., Liu, Y., Liu, Y. Q., Lv, R. X., Sun, W., Ding, W. J., Cai, Y. X., Li, W. W., Liu, X., & Qu, W. (2022). *Candida albicans* biofilms: antifungal resistance, immune evasion, and emerging therapeutic strategies. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 60(5–6), 106673. <https://doi.org/10.1016/J.IJANTIMICAG.2022.106673>
- FAO. (2022). *PALM OIL PROCESSING*. <https://www.fao.org/4/y4355e/y4355e04.htm>
- Flowers, P., Theopold, K., Langley, R., & Robinsdon, W. (2022). Equilibrios de otras clases de reacción. *Química 2ed*. <https://openstax.org/books/qu%C3%ADmica-2ed/pages/15-2-acidos-y-bases-de-lewis>
- Fouad, H., Kian, L. K., Jawaid, M., Alotaibi, M. D., Alothman, O. Y., & Hashem, M. (2020). Characterization of Microcrystalline Cellulose Isolated from *Conocarpus* Fiber. *Polymers 2020*, Vol. 12, Page 2926, 12(12), 2926. <https://doi.org/10.3390/POLYM12122926>
- Galiwango, E., Abdel Rahman, N. S., Al-Marzouqi, A. H., Abu-Omar, M. M., & Khaleel, A. A. (2019). Isolation and characterization of cellulose and α -cellulose from date palm biomass waste. *Heliyon*, 5(12), e02937. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2019.e02937>

- García, Fernando. (2001). *Resistencia bacteriana a antibióticos*. Acta Médica Costarricense , 43 (3), 101-102. . https://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0001-60022001000300001
- Gómez, F. N., Combariza, M. Y., & Blanco-Tirado, C. (2017). Facile cellulose nanofibrils amidation using a ‘one-pot’ approach. *Cellulose*, 24(2), 717–730. <https://doi.org/10.1007/S10570-016-1174-9/METRICS>
- Gu, J., Hu, C., Zhang, W., & Dichiara, A. B. (2018). Reagentless preparation of shape memory cellulose nanofibril aerogels decorated with Pd nanoparticles and their application in dye discoloration. *Applied Catalysis B: Environmental*, 237, 482–490. <https://doi.org/10.1016/j.apcatb.2018.06.002>
- Gutiérrez Chávez, J. A., Barnett Mendoza, E., & Celi Saavedra, L. (2023). Estrategia de valorización para la biomasa residual en la producción y transformación del cacao. Cambio de paradigma para el sector. *Campus*, 28(35), 55–63. <https://doi.org/10.24265/campus.2023.v28n35.05>
- Guzmán-Armenteros, T. M., Guerra, L. S., Ruales, J., & Ramos-Guerrero, L. (2025). Ecuadorian Cacao Mucilage as a Novel Culture Medium Ingredient: Unveiling Its Potential for Microbial Growth and Biotechnological Applications. *Foods 2025, Vol. 14, Page 261, 14(2)*, 261. <https://doi.org/10.3390/FOODS14020261>
- Habibi, Y., Lucia, L. A., & Rojas, O. J. (2010). Cellulose nanocrystals: Chemistry, self-assembly, and applications. *Chemical Reviews*, 110(6), 3479–3500. https://doi.org/10.1021/CR900339W/ASSET/CR900339W.FP.PNG_V03
- Hassan, S. H., Velayutham, T. S., Chen, Y. W., & Lee, H. V. (2021). TEMPO-oxidized nanocellulose films derived from coconut residues: Physicochemical, mechanical and electrical properties. *International Journal of Biological Macromolecules*, 180, 392–402. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2021.03.066>
- Ho Jin, Y., Lee, T., Kim, J. R., Choi, Y.-E., & Park, C. (2019). Improved production of bacterial cellulose from waste glycerol through investigation of inhibitory effects of crude glycerol-derived compounds by *Gluconacetobacter xylinus*. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*, 75, 158–163. <https://doi.org/10.1016/j.jiec.2019.03.017>
- Huang, W. (2018). Cellulose Nanopapers. In *Nanopapers* (pp. 121–173). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-48019-2.00005-0>
- Hubbe, M. A., Rojas, O. J., Lucia, L. A., & Sain, M. (2008). Cellulosic nanocomposites, review. In *BioResources* (Vol. 3, Issue 3).
- Ifuku, S., Tsuji, M., Morimoto, M., Saimoto, H., & Yano, H. (2009a). Synthesis of Silver Nanoparticles Templated by TEMPO-Mediated Oxidized Bacterial Cellulose Nanofibers. *Biomacromolecules*, 10(9), 2714–2717. <https://doi.org/10.1021/bm9006979>

- Ifuku, S., Tsuji, M., Morimoto, M., Saimoto, H., & Yano, H. (2009b). Synthesis of Silver Nanoparticles Templated by TEMPO-Mediated Oxidized Bacterial Cellulose Nanofibers. *Biomacromolecules*, *10*(9), 2714–2717. <https://doi.org/10.1021/bm9006979>
- Iguchi, M., Yamanaka, S., & Budhiono, A. (2000). Bacterial cellulose - a masterpiece of nature's arts. *Journal of Materials Science*, *35*(2), 261–270. <https://doi.org/10.1023/A:1004775229149/METRICS>
- Inicio | Servicio Agrícola Exterior del USDA. (n.d.). Retrieved May 14, 2025, from <https://www.fas.usda.gov/>
- Isogai, A., & Bergström, L. (2018). Preparation of cellulose nanofibers using green and sustainable chemistry. *Current Opinion in Green and Sustainable Chemistry*, *12*, 15–21. <https://doi.org/10.1016/J.COGSC.2018.04.008>
- Isogai, A., Saito, T., & Fukuzumi, H. (2011a). TEMPO-oxidized cellulose nanofibers. *Nanoscale*, *3*(1), 71–85. <https://doi.org/10.1039/C0NR00583E>
- Isogai, A., Saito, T., & Fukuzumi, H. (2011b). TEMPO-oxidized cellulose nanofibers. *Nanoscale*, *3*(1), 71–85. <https://doi.org/10.1039/C0NR00583E>
- Isogai, T., Saito, T., & Isogai, A. (2010). TEMPO electromediated oxidation of some polysaccharides including regenerated cellulose fiber. *Biomacromolecules*, *11*(6), 1593–1599. https://doi.org/10.1021/BM1002575/ASSET/IMAGES/LARGE/BM-2010-002575_0007.JPEG
- Ivana Alberini, Dra. Mirtha G. Maximino, & Dr. Ignacio Rintoul. (2012). *PRETRATAMIENTO BIOTECNOLOGICO DE MATERIAS PRIMAS ALTERNATIVAS PARA LA OBTENCION DE CELULOSA ESFERICA*. UNIVERSIDAD NACIONAL DEL LITORAL.
- Jiang, F., & Hsieh, Y.-L. (2013). Chemically and mechanically isolated nanocellulose and their self-assembled structures. *Carbohydrate Polymers*, *95*(1), 32–40. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2013.02.022>
- Jozala, A. F., Pértile, R. A. N., dos Santos, C. A., de Carvalho Santos-Ebinuma, V., Seckler, M. M., Gama, F. M., & Pessoa, A. (2015). Bacterial cellulose production by *Gluconacetobacter xylinus* by employing alternative culture media. *Applied Microbiology and Biotechnology*, *99*(3), 1181–1190. <https://doi.org/10.1007/s00253-014-6232-3>
- Jung, J. Y., Park, J. K., & Chang, H. N. (2005). Bacterial cellulose production by *Gluconacetobacter hansenii* in an agitated culture without living non-cellulose producing cells. *Enzyme and Microbial Technology*, *37*(3), 347–354. <https://doi.org/10.1016/j.enzmictec.2005.02.019>
- Jungreis, E., & Ben-Dor, L. (1980). Organic spot test analysis. *Comprehensive Analytical Chemistry*, *10*(C), 1–60. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-41859-3.50007-4>
- Kaffashaie, E., Yousefi, H., Nishino, T., Matsumoto, T., Mashkour, M., Madhoushi, M., & Kawaguchi, H. (2021). Direct conversion of raw wood to TEMPO-oxidized cellulose nanofibers. *Carbohydrate Polymers*, *262*, 117938. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2021.117938>

- Kato, Y., Matsuo, R., & Isogai, A. (2003). Oxidation process of water-soluble starch in TEMPO-mediated system. *Carbohydrate Polymers*, *51*(1), 69–75. [https://doi.org/10.1016/S0144-8617\(02\)00159-5](https://doi.org/10.1016/S0144-8617(02)00159-5)
- Kennedy, D. C., Orts-Gil, G., Lai, C. H., Müller, L., Haase, A., Luch, A., & Seeberger, P. H. (2014). Carbohydrate functionalization of silver nanoparticles modulates cytotoxicity and cellular uptake. *Journal of Nanobiotechnology*, *12*(1), 1–8. <https://doi.org/10.1186/S12951-014-0059-Z/FIGURES/5>
- Keshk, S. M. (2014). Bacterial Cellulose Production and its Industrial Applications. *Journal of Bioprocessing & Biotechniques*, *04*(02). <https://doi.org/10.4172/2155-9821.1000150>
- Khan, I., Saeed, K., & Khan, I. (2019). Nanoparticles: Properties, applications and toxicities. *Arabian Journal of Chemistry*, *12*(7), 908–931. <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2017.05.011>
- Kim, K.-J., Sung, W. S., Suh, B. K., Moon, S.-K., Choi, J.-S., Kim, J. G., & Lee, D. G. (2009). Antifungal activity and mode of action of silver nano-particles on *Candida albicans*. *BioMetals*, *22*(2), 235–242. <https://doi.org/10.1007/s10534-008-9159-2>
- Klemm, D., Cranston, E. D., Fischer, D., Gama, M., Kedzior, S. A., Kralisch, D., Kramer, F., Kondo, T., Lindström, T., Nietzsche, S., Petzold-Welcke, K., & Rauchfuß, F. (2018). Nanocellulose as a natural source for groundbreaking applications in materials science: Today's state. *Materials Today*, *21*(7), 720–748. <https://doi.org/10.1016/J.MATTOD.2018.02.001>
- Klemm, D., Heublein, B., Fink, H.-P., & Bohn, A. (2005). Cellulose: Fascinating Biopolymer and Sustainable Raw Material. *Angewandte Chemie International Edition*, *44*(22), 3358–3393. <https://doi.org/10.1002/anie.200460587>
- Klemm, D., Schumann, D., Udhardt, U., & Marsch, S. (2001). Bacterial synthesized cellulose — artificial blood vessels for microsurgery. *Progress in Polymer Science*, *26*(9), 1561–1603. [https://doi.org/10.1016/S0079-6700\(01\)00021-1](https://doi.org/10.1016/S0079-6700(01)00021-1)
- Kongor, J. E., & Rahadian Aji Muhammad, D. (2025). *Processing of Cocoa and Development of Chocolate Beverages*. 157–192. https://doi.org/10.1007/978-3-031-38663-3_7
- Kota, S., Dumpala, P., Anantha, R. K., Verma, M. K., & Kandepu, S. (2017). Evaluation of therapeutic potential of the silver/silver chloride nanoparticles synthesized with the aqueous leaf extract of *Rumex acetosa*. *Scientific Reports*, *7*(1), 1–11. <https://doi.org/10.1038/S41598-017-11853-2>;TECHMETA=123,128,145,9;SUBJMETA=308,449,61,631,692;KWRD=BIOTECHNOLOGY ,MEDICAL+RESEARCH,PLANT+SCIENCES
- Kumaravel, A., Lin, S. P., Santoso, S. P., Shanmugasundaram, S., Hsu, H. Y., Hsieh, C. W., Chou, Y. C., Lin, H. W., & Cheng, K. C. (2025). Unlocking the potential of bacterial cellulose: synthesis, functionalization, and industrial impact. *International Journal of Biological Macromolecules*, *311*, 143951. <https://doi.org/10.1016/J.IJBIOMAC.2025.143951>

- Lam, M. K., & Lee, K. T. (2011). Renewable and sustainable bioenergies production from palm oil mill effluent (POME): Win-win strategies toward better environmental protection. *Biotechnology Advances*, 29(1), 124–141. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2010.10.001>
- Lehtonen, J., Hassinen, J., Kumar, A. A., Johansson, L.-S., Mäenpää, R., Pahimanolis, N., Pradeep, T., Ikkala, O., & Rojas, O. J. (2020). Phosphorylated cellulose nanofibers exhibit exceptional capacity for uranium capture. *Cellulose*, 27(18), 10719–10732. <https://doi.org/10.1007/s10570-020-02971-8>
- Li, M., Pu, Y., & Ragauskas, A. J. (2016). Current understanding of the correlation of lignin structure with biomass recalcitrance. *Frontiers in Chemistry*, 4(NOV), 225784. <https://doi.org/10.3389/FCHEM.2016.00045/BIBTEX>
- Lin, N., & Dufresne, A. (2014). Surface chemistry, morphological analysis and properties of cellulose nanocrystals with gradiented sulfation degrees. *Nanoscale*, 6(10), 5384–5393. <https://doi.org/10.1039/C3NR06761K>
- Łojewska, J., Miśkowiec, P., Łojewski, T., & Proniewicz, L. M. (2005). Cellulose oxidative and hydrolytic degradation: In situ FTIR approach. *Polymer Degradation and Stability*, 88(3), 512–520. <https://doi.org/10.1016/j.polymdegradstab.2004.12.012>
- Lu, F., Rodriguez-Garcia, J., Van Damme, I., Westwood, N. J., Shaw, L., Robinson, J. S., Warren, G., Chatzifragkou, A., McQueen Mason, S., Gomez, L., Faas, L., Balcombe, K., Srinivasan, C., Picchioni, F., Hadley, P., & Charalampopoulos, D. (2018). Valorisation strategies for cocoa pod husk and its fractions. *Current Opinion in Green and Sustainable Chemistry*, 14, 80–88. <https://doi.org/10.1016/j.cogsc.2018.07.007>
- Martínez-Ramírez, A. P., Rincón-Ortiz, S. A., Baldovino-Medrano, V. G., Blanco-Tirado, C., & Combariza, M. Y. (2023a). Influence of reaction variables on the surface chemistry of cellulose nanofibers derived from palm oil empty fruit bunches. *RSC Advances*, 13(51), 36117–36129. <https://doi.org/10.1039/D3RA06933H>
- Martínez-Ramírez, A. P., Rincón-Ortiz, S. A., Baldovino-Medrano, V. G., Blanco-Tirado, C., & Combariza, M. Y. (2023b). Influence of reaction variables on the surface chemistry of cellulose nanofibers derived from palm oil empty fruit bunches. *RSC Advances*, 13(51), 36117–36129. <https://doi.org/10.1039/D3RA06933H>
- Matusiak, J., & Grządka, E. (2017). Stability of colloidal systems - a review of the stability measurements methods. *Annales Universitatis Mariae Curie-Skłodowska, Sectio AA – Chemia*, 72(1), 33. <https://doi.org/10.17951/AA.2017.72.1.33>
- Meijaard, E. Abrams, Garcia-Ulloa, J., S. D., Wich, S. A., Carlson, K. M., Juffe, & Brooks, T. M. (2018). *Oil palm and biodiversity: a situation analysis by the IUCN Oil Palm Task Force* (E. Meijaard, J. Garcia-Ulloa, D. Sheil, K. M. Carlson, S. A. Wich, D. Juffe-Bignoli, & T. M. Brooks, Eds.). IUCN, International Union for Conservation of Nature. <https://doi.org/10.2305/IUCN.CH.2018.11.en>

- Mekkawy, A. I., El-Mokhtar, M. A., Nafady, N. A., Yousef, N., Hamad, M., El-Shanawany, S. M., Ibrahim, E. H., & Elsabahy, M. (2017). In vitro and in vivo evaluation of biologically synthesized silver nanoparticles for topical applications: effect of surface coating and loading into hydrogels. *International Journal of Nanomedicine*, *12*, 759–777. <https://doi.org/10.2147/IJN.S124294>
- Ministerio de Agricultura de Colombia. (2021). *Colombia registró la mayor producción de cacao de la historia, en el último año cacaotero*. <https://www.minagricultura.gov.co/noticias/Paginas/Colombia-registr%C3%B3-la-mayor-producci%C3%B3n-de-cacao-de-la-historia,-en-el-%C3%BAltimo-a%C3%B1o-cacaotero.aspx>
- Mishra, S. P., Manent, A. S., Chabot, B., & Daneault, C. (2012a). The Use of Sodium Chlorite in Post-Oxidation of TEMPO-Oxidized Pulp: Effect on Pulp Characteristics and Nanocellulose Yield. *Journal of Wood Chemistry and Technology*, *32*(2), 137–148. <https://doi.org/10.1080/02773813.2011.624666>
- Mishra, S. P., Manent, A. S., Chabot, B., & Daneault, C. (2012b). The use of sodium chlorite in post-oxidation of TEMPO-oxidized pulp: Effect on pulp characteristics and nanocellulose yield. *Journal of Wood Chemistry and Technology*, *32*(2), 137–148. <https://doi.org/10.1080/02773813.2011.624666;PAGE:STRING:ARTICLE/CHAPTER>
- Morán, J. I., Alvarez, V. A., Cyras, V. P., & Vázquez, A. (2008). Extraction of cellulose and preparation of nanocellulose from sisal fibers. *Cellulose*, *15*(1), 149–159. <https://doi.org/10.1007/S10570-007-9145-9/METRICS>
- Nakamura, Y., Ono, Y., Saito, T., & Isogai, A. (2019). Characterization of cellulose microfibrils, cellulose molecules, and hemicelluloses in buckwheat and rice husks. *Cellulose*, *26*(11), 6529–6541. <https://doi.org/10.1007/s10570-019-02560-4>
- Nishiyama, Y., Langan, P., & Chanzy, H. (2002). Crystal structure and hydrogen-bonding system in cellulose I β from synchrotron X-ray and neutron fiber diffraction. *Journal of the American Chemical Society*, *124*(31), 9074–9082. https://doi.org/10.1021/JA0257319/SUPPL_FILE/JA0257319_S1.CIF
- Ono, Y., Horikawa, Y., Takeuchi, M., Funada, R., & Isogai, A. (2024). Distribution of carboxy groups in TEMPO-oxidized cellulose nanofibrils prepared from never-dried Japanese cedar holocellulose, Japanese cedar-callus, and bacterial cellulose. *Cellulose*, *31*(7), 4231–4245. <https://doi.org/10.1007/S10570-024-05863-3/FIGURES/10>
- Ono, Y., Takeuchi, M., Kimura, S., Puangsin, B., Wu, C. N., & Isogai, A. (2022a). Structures, molar mass distributions, and morphologies of TEMPO-oxidized bacterial cellulose fibrils. *Cellulose*, *29*(9), 4977–4992. <https://doi.org/10.1007/S10570-022-04617-3/METRICS>
- Ono, Y., Takeuchi, M., Kimura, S., Puangsin, B., Wu, C. N., & Isogai, A. (2022b). Structures, molar mass distributions, and morphologies of TEMPO-oxidized bacterial cellulose fibrils. *Cellulose*, *29*(9), 4977–4992. <https://doi.org/10.1007/S10570-022-04617-3/METRICS>

- Ono, Y., Takeuchi, M., Kimura, S., Puangsin, B., Wu, C.-N., & Isogai, A. (2022c). Structures, molar mass distributions, and morphologies of TEMPO-oxidized bacterial cellulose fibrils. *Cellulose*, 29(9), 4977–4992. <https://doi.org/10.1007/s10570-022-04617-3>
- Ovalle Serrano, & Combariza Montañez (DIR). (2012). *SINTESIS VERDE DE NANOPARTICULAS DE PLATA Y OXIDO DE COBRE SOBRE FIBRAS DE FIQUE*. [Recurso Electrónico]. UIS. http://tangara.uis.edu.co/biblioweb/pags/cat/popup/pa_detalle_matbib.jsp?parametros=160457|20|8|8
- Ovalle-Serrano, S. A., Díaz-Serrano, L. A., Hong, C., Hinestroza, J. P., Blanco-Tirado, C., & Combariza, M. Y. (2020a). Synthesis of cellulose nanofiber hydrogels from fique tow and Ag nanoparticles. *Cellulose*, 27(17), 9947–9961. <https://doi.org/10.1007/s10570-020-03527-6>
- Ovalle-Serrano, S. A., Díaz-Serrano, L. A., Hong, C., Hinestroza, J. P., Blanco-Tirado, C., & Combariza, M. Y. (2020b). Synthesis of cellulose nanofiber hydrogels from fique tow and Ag nanoparticles. *Cellulose*, 27(17), 9947–9961. <https://doi.org/10.1007/S10570-020-03527-6/FIGURES/1>
- Ovalle-Serrano, S. A., Díaz-Serrano, L. A., Hong, C., Hinestroza, J. P., Blanco-Tirado, C., & Combariza, M. Y. (2020c). Synthesis of cellulose nanofiber hydrogels from fique tow and Ag nanoparticles. *Cellulose*, 27(17), 9947–9961. <https://doi.org/10.1007/S10570-020-03527-6/FIGURES/1>
- Ovalle-Serrano, S. A., Gómez, F. N., Blanco-Tirado, C., & Combariza, M. Y. (2018). Isolation and characterization of cellulose nanofibrils from Colombian Fique decortication by-products. *Carbohydrate Polymers*, 189, 169–177. <https://doi.org/10.1016/J.CARBPOL.2018.02.031>
- Padmavathi, J., Anantharaj, A., Velmurugan, S., Mariappan, G., & Gokulakumar, B. (2023). Synthesis of Silver nanoparticles employing Bryophyllum pinnatum leaf extract and its efficiency towards photocatalytic and antibacterial properties. *Chemical Data Collections*, 101085. <https://doi.org/10.1016/j.cdc.2023.101085>
- Park, S., Baker, J. O., Himmel, M. E., Parilla, P. A., & Johnson, D. K. (2010). Cellulose crystallinity index: Measurement techniques and their impact on interpreting cellulase performance. *Biotechnology for Biofuels*, 3(1), 1–10. <https://doi.org/10.1186/1754-6834-3-10/TABLES/2>
- Pedro Sula, S. (2009). *MANUAL TECNICO DE PALMA AFRICANA*.
- Piracoca R, M. (2022). *Caracterización del mucílago de cacao (Theobroma Cacao L., clon TSH 565) como fuente de pectina y azúcares para el aprovechamiento en la industria de alimentos*. Universidad Nacional de Colombia Facultad de Ciencias Agrarias, Instituto de Ciencia y Tecnología de Alimentos .
- Puangsin, B., Yang, Q., Saito, T., & Isogai, A. (2013). Comparative characterization of TEMPO-oxidized cellulose nanofibril films prepared from non-wood resources. *International Journal of Biological Macromolecules*, 59, 208–213. <https://doi.org/10.1016/J.IJBIOMAC.2013.04.016>

- Raina, N., Pahwa, R., Bhattacharya, J., Paul, A. K., Nissapatorn, V., Pereira, M. de L., Oliveira, S. M. R., Dolma, K. G., Rahmatullah, M., Wilairatana, P., & Gupta, M. (2022). Drug Delivery Strategies and Biomedical Significance of Hydrogels: Translational Considerations. *Pharmaceutics* 2022, Vol. 14, Page 574, 14(3), 574. <https://doi.org/10.3390/PHARMACEUTICS14030574>
- Ramírez N., Silva A., Garzón G. Edna, & Yáñez A. Edgar E. (2011). *Caracterización y manejo de subproductos del beneficio del fruto de palma de aceite Boletín Técnico No. 30*. <https://publicaciones.fedepalma.org/index.php/boletines/article/view/10502>
- ROBERT J. HUNTER. (1981). Zeta Potential in Colloid Science. *Zeta Potential in Colloid Science*. <https://doi.org/10.1016/C2013-0-07389-6>
- Roberts, A. W., Roberts, E. M., & Delmer, D. P. (2002). Cellulose Synthase (*CesA*) Genes in the Green Alga *Mesotaenium caldariorum*. *Eukaryotic Cell*, 1(6), 847–855. <https://doi.org/10.1128/EC.1.6.847-855.2002>
- Rodríguez, N., Diego, V. ;, Zambrano, A., César, F. ;, & Ramírez Gómez, A. (2013). Manejo y disposición de los subproductos y de. *Federación Nacional de Cafeteros de Colombia, Manual Del Cafetero Colombiano: Investigación y Tecnología Para La Sostenibilidad de La Caficultura (Vol. 3, Pp. 111–136). Cenicafé*. https://doi.org/10.38141/cenbook-0026_31
- Rol, F., Belgacem, M. N., Gandini, A., & Bras, J. (2019). Recent advances in surface-modified cellulose nanofibrils. *Progress in Polymer Science*, 88, 241–264. <https://doi.org/10.1016/J.PROGPOLYMSCI.2018.09.002>
- Ross, P., Mayer, R., & Benziman, M. (1991). Cellulose biosynthesis and function in bacteria. *Microbiological Reviews*, 55(1), 35–58. <https://doi.org/10.1128/mr.55.1.35-58.1991>
- Ruiz-Caldas, M. X., Carlsson, J., Sadiktsis, I., Jaworski, A., Nilsson, U., & Mathew, A. P. (2022). Cellulose Nanocrystals from Postconsumer Cotton and Blended Fabrics: A Study on Their Properties, Chemical Composition, and Process Efficiency. *ACS Sustainable Chemistry and Engineering*, 10(11), 3787–3798. https://doi.org/10.1021/ACSSUSCHEMENG.2C00797/ASSET/IMAGES/LARGE/SC2C00797_0007.JPEG
- Saavedra Sanabria, Hernandez Celi (DIR.), & Combariza Montañez (DIR.). (2020). *Evaluacion del exudado de mucilago de cacao como sustrato para la produccion de celulosa por fermentacion estatica de Gluconacetobacter Xylinus ATCC®23768TM*. [Recurso Electronico] Universidad Industrial de Santander. ESCUELA DE MICROBIOLOGIA. TESIS (POSGRADO). http://tangara.uis.edu.co/biblioweb/pags/cat/popup/pa_detalle_matbib.jsp?parametros=188667|20|1
- Saavedra-Sanabria, O. L., Durán, D., Cabezas, J., Hernández, I., Blanco-Tirado, C., & Combariza, M. Y. (2021). Cellulose biosynthesis using simple sugars available in residual cacao mucilage exudate. *Carbohydrate Polymers*, 274, 118645. <https://doi.org/10.1016/J.CARBPOL.2021.118645>

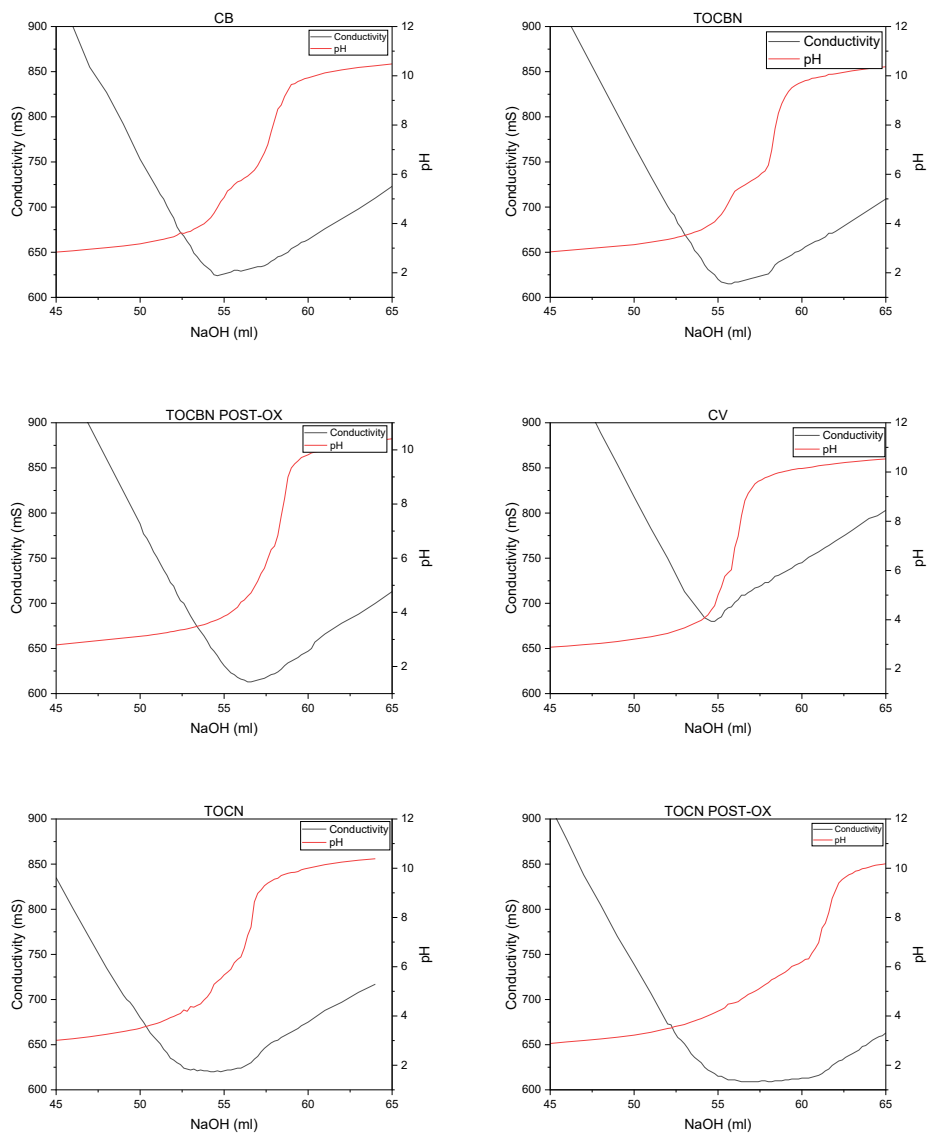
- Saito, T., & Isogai, A. (2004a). TEMPO-mediated oxidation of native cellulose. The effect of oxidation conditions on chemical and crystal structures of the water-insoluble fractions. *Biomacromolecules*, 5(5), 1983–1989. <https://doi.org/10.1021/BM0497769/ASSET/IMAGES/LARGE/BM0497769F00009.JPEG>
- Saito, T., & Isogai, A. (2004b). TEMPO-mediated oxidation of native cellulose. The effect of oxidation conditions on chemical and crystal structures of the water-insoluble fractions. *Biomacromolecules*, 5(5), 1983–1989. <https://doi.org/10.1021/BM0497769/ASSET/IMAGES/LARGE/BM0497769F00009.JPEG>
- Saito, T., & Isogai, A. (2005). Ion-exchange behavior of carboxylate groups in fibrous cellulose oxidized by the TEMPO-mediated system. *Carbohydrate Polymers*, 61(2), 183–190. <https://doi.org/10.1016/J.CARBPOL.2005.04.009>
- Salari, M., Sowti Khiabani, M., Rezaei Mokarram, R., Ghanbarzadeh, B., & Samadi Kafil, H. (2019). Preparation and characterization of cellulose nanocrystals from bacterial cellulose produced in sugar beet molasses and cheese whey media. *International Journal of Biological Macromolecules*, 122, 280–288. <https://doi.org/10.1016/J.IJBIOMAC.2018.10.136>
- Sanguiñedo, P., Estevez, M. B., Faccio, R., & Alborés, S. (2018). Nanopartículas de plata biogénicas a partir del hongo *Punctularia atropurpurascens* para el control de microorganismos. *Mundo Nano. Revista Interdisciplinaria En Nanociencias y Nanotecnología*, 12(22), 1. <https://doi.org/10.22201/ceiich.24485691e.2019.22.67627>
- Segal, L., Creely, J. J., Martin, A. E., & Conrad, C. M. (1959). An Empirical Method for Estimating the Degree of Crystallinity of Native Cellulose Using the X-Ray Diffractometer. *Textile Research Journal*, 29(10), 786–794. <https://doi.org/10.1177/004051755902901003>
- Sharma, P., Hicks, S., Ruggiero, A. R., Sharma, S. K., Hsiao, B. S., & Springstead, J. (2024). Extraction and analysis of carboxycellulose nanofibers from virgin plant fibers using updated TEMPO-mediated oxidation. *Cellulose*, 32(2), 887–902. <https://doi.org/10.1007/S10570-024-06328-3/METRICS>
- Sichinga, M. C., Kline, T., Whitehead, M. A., & van de Ven, T. G. M. (2022). One-pot eco-friendly oxidative synthesis of imine carboxymethyl dialdehyde cellulosic fibers. *Cellulose*, 29(2), 799–815. <https://doi.org/10.1007/s10570-021-04352-1>
- Singhsa, P., Narain, R., & Manuspiya, H. (2018). Bacterial Cellulose Nanocrystals (BCNC) Preparation and Characterization from Three Bacterial Cellulose Sources and Development of Functionalized BCNCs as Nucleic Acid Delivery Systems. *ACS Applied Nano Materials*, 1(1), 209–221. https://doi.org/10.1021/ACSANM.7B00105/ASSET/IMAGES/MEDIUM/AN-2017-00105M_0010.GIF
- Sjöström, E. (1993). Chapter 4 - LIGNIN. In *Wood Chemistry: Fundamentals and Applications*. Academic Press. <http://www.sciencedirect.com:5070/book/9780080925899/wood-chemistry>

- Sun, G., Huang, J., Hao, S., & Zhang, Q. (2023). Electroless plating silver nanoparticles mixed in oxidized microcrystalline cellulose for microwave absorption applications. *Cellulose*, 30(9), 5761–5775. <https://doi.org/10.1007/S10570-023-05241-5/METRICS>
- Tripathi, A., & Bonilla-Cruz, J. (2023). Review on Healthcare Biosensing Nanomaterials. *ACS Applied Nano Materials*, 6(7), 5042–5074. <https://doi.org/10.1021/acsanm.3c00941>
- Wang, N., Hu, B., & Chen, M. (2015). Preparation and characterization of silver chloride nanoparticles as an antibacterial agent. *Advances in Natural Science: Nanoscience and Nanotechnology*, 6.
- Wu, C.-N., Fuh, S.-C., Lin, S.-P., Lin, Y.-Y., Chen, H.-Y., Liu, J.-M., & Cheng, K.-C. (2018). TEMPO-Oxidized Bacterial Cellulose Pellicle with Silver Nanoparticles for Wound Dressing. *Biomacromolecules*, 19(2), 544–554. <https://doi.org/10.1021/acs.biomac.7b01660>
- Xu, X., Wang, J., Sun, T. C., Li, Q., & Ning, R. De. (2024). In situ forming Hydrogel with adding ZnO Nano-particle for effectively methicillin-resistant Staphylococcus aureus infected frostbite injury. *Regenerative Therapy*, 26, 956. <https://doi.org/10.1016/J.RETH.2024.10.008>
- Yang, H., Sheikhi, A., & Van De Ven, T. G. M. (2016). Reusable Green Aerogels from Cross-Linked Hairy Nanocrystalline Cellulose and Modified Chitosan for Dye Removal. *Langmuir*, 32(45), 11771–11779. <https://doi.org/10.1021/ACS.LANGMUIR.6B03084>
- Zander, N. E., Dong, H., Steele, J., & Grant, J. T. (2014). Metal cation cross-linked nanocellulose hydrogels as tissue engineering substrates. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 6(21), 18502–18510. <https://doi.org/10.1021/AM506007Z>
- Zhang, N., Peng, S., Liu, Z., Li, Y., Huang, J., Li, J., Wan, H., Zhou, S., Gao, Z., & Chen, T. (2022). Ag NPs decorated on the magnetic Fe₃O₄@PDA as efficient catalyst for organic pollutants removal and as effective antimicrobial agent for microbial inhibition. *Journal of Alloys and Compounds*, 928, 167257. <https://doi.org/10.1016/J.JALLCOM.2022.167257>
- Zhang, X., He, M., He, P., Li, C., Liu, H., Zhang, X., & Ma, Y. (2018). Ultrafine nano-network structured bacterial cellulose as reductant and bridging ligands to fabricate ultrathin K-birnessite type MnO₂ nanosheets for supercapacitors. *Applied Surface Science*, 433, 419–427. <https://doi.org/10.1016/J.APSUSC.2017.10.053>
- Zhao, Y., Zhang, Y., Lindström, M. E., & Li, J. (2015). Tunicate cellulose nanocrystals: Preparation, neat films and nanocomposite films with glucomannans. *Carbohydrate Polymers*, 117, 286–296. <https://doi.org/10.1016/J.CARBPOL.2014.09.020>
- Zou, L., Jin, X., Tao, Y., Zheng, Z., & Ouyang, J. (2023). Recent advances in the exploitation and application of coculture systems for the bioconversion of lignocellulosic feedstocks. *Industrial Crops and Products*, 203, 117117. <https://doi.org/10.1016/J.INDCROP.2023.117117>

Apéndices

Apéndice A. Conductividad Vs pH para la determinación del grado de oxidación

Figura 1



Apéndice B. Difractograma caracterizado con el programa DIFRACC.EVA

