



EDUCACIÓN
SECRETARÍA DE EDUCACIÓN PÚBLICA



INSTITUTO TECNOLÓGICO DE CIUDAD MADERO
DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN
MAESTRÍA EN CIENCIAS EN INGENIERÍA QUÍMICA



"POR MI PATRIA Y POR MI BIEN"

TESIS

"NANOCELULOSA BACTERIANA CON NANOPARTÍCULAS DE PLATA
PARA SU USO COMO ANTISÉPTICO TÓPICO"

Que para obtener el Grado de

Maestro en Ciencias en Ingeniería Química

Presenta

Ing. Sintia Karla Gallardo Urguell

G16070485

No. CVU: 1239388

Director de tesis:

Dra. Ana Beatriz Morales Cepeda

No. CVU: 121441

Co-director de tesis:

Dra. Abigail María Díaz Guerrero

Ciudad Madero, Tamaulipas, 03/diciembre/2024

Oficio No. U.153/2024

ASUNTO: Autorización de impresión de tesis

C. SINTIA KARLA GALLARDO URGUELL
No. DE CONTROL G16070485
PRESENTE

Me es grato comunicarle que después de la revisión realizada por el Jurado designado para su Examen de Grado de Maestría en Ciencias en Ingeniería Química, se acordó autorizar la impresión de su tesis titulada:

“NANOCELULOSA BACTERIANA CON NANOPARTÍCULAS DE PLATA PARA USO COMO ANTISÉPTICO TÓPICO”

El Jurado está integrado por los siguientes catedráticos:

PRESIDENTA:	DRA. ANA BEATRIZ MORALES CEPEDA
SECRETARIA:	DRA. ABIGAIL MARÍA DÍAZ GUERRERO
VOCAL:	DR. CARLOS FERNANDO CASTRO GUERRERO
SUPLENTE:	DR. JOSÉ LUIS RIVERA ARMENTA
DIRECTORA DE TESIS:	DRA. ANA BEATRIZ MORALES CEPEDA
CO-DIRECTORA:	DRA. ABIGAIL MARÍA DÍAZ GUERRERO

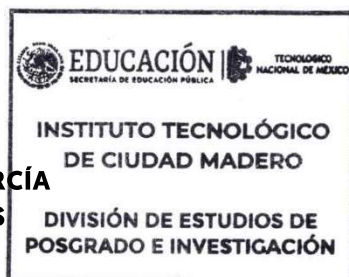
Es muy satisfactorio para la División de Estudios de Posgrado e Investigación compartir con usted el logro de esta meta. Espero que continúe con éxito su desarrollo profesional y dedique su experiencia e inteligencia en beneficio de México.

ATENTAMENTE

Excelencia en Educación Tecnológica •
“Por Mi Patria Y Por Mi Bien” •



MARCO ANTONIO CORONEL GARCÍA
JEFE DE LA DIVISIÓN DE ESTUDIOS
DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN



ccp. Archivo

MACG/NPDZ



AGRADECIMIENTOS

Quiero expresar mi más sincero agradecimiento a todas las personas e instituciones que hicieron posible el desarrollo de este proyecto, y que con su apoyo y orientación han sido una guía esencial en esta etapa de mi formación académica.

A mi asesora, Ana Beatriz Morales, por su dedicación, paciencia y sabiduría. Gracias por creer en mí y en este proyecto desde el principio. Su guía ha sido fundamental para completar este trabajo y para crecer como estudiante y como persona.

Al Instituto Tecnológico de Ciudad Madero agradezco el espacio brindado para desarrollar esta investigación y el apoyo continuo para llevar a cabo mis metas académicas. Este proyecto no habría sido posible sin el entorno y los recursos proporcionados, que fomentan un aprendizaje significativo y me han permitido aplicar mis conocimientos y habilidades.

A mi madre, quien con amor, sacrificio y valentía me enseñó a no rendirme nunca y a luchar siempre por mis sueños. Gracias, mamá, por ser mi inspiración y mi refugio en cada momento de duda y en cada logro. Eres mi ejemplo de fortaleza y bondad, y no hay palabras suficientes para expresar mi agradecimiento por el amor y la dedicación que me has brindado siempre. Sin ti, nada de esto sería posible.

A mi hermana, compañera de vida y confidente, gracias por ser siempre ese apoyo que me da fuerzas para seguir adelante. Gracias por creer en mí, y estar a mi lado en cada etapa de este proceso.

A mi sobrino, ese ser tan especial que llenó de luz y alegría mi vida. Gracias por recordarme con tu risa y tu amor incondicional la importancia de disfrutar cada momento. Eres una de mis mayores motivaciones para superarme cada día, y cada logro que obtengo es también para ti, como muestra del inmenso amor que te tengo.

Finalmente, a mi pareja, quien ha sido mi compañero en este camino de aprendizajes y desafíos. Gracias por tu apoyo constante, tu comprensión y por estar a mi lado en este momento tan especial para mí.

RESUMEN

Las nanopartículas de plata (AgNPs) son reconocidas por su potente efecto antimicrobiano y su uso como antiséptico tópico en el tratamiento de heridas y la prevención de infecciones. Sin embargo, uno de los principales desafíos en su aplicación es la toxicidad que estas nanopartículas pueden generar cuando se usan en altas concentraciones, lo que limita su empleo seguro en seres humanos. Este problema subraya la necesidad de investigar estrategias para controlar la liberación de las AgNPs y determinar concentraciones efectivas y seguras.

En este contexto, la nanocelulosa, y en particular la nanocelulosa bacteriana (BNC), surge como un material prometedor. La BNC se distingue de otros tipos de celulosa por su alta pureza, biocompatibilidad y sostenibilidad, siendo ideal como matriz para transportar nanopartículas. Además, su facilidad de obtención mediante procesos biotecnológicos, como el uso de madres de vinagre, abre oportunidades para su producción económica y ecológica. A pesar de los numerosos estudios sobre el uso de celulosa como soporte para nanopartículas de plata (AgNPs), no se habían explorado previamente películas antisépticas de BNC obtenidas específicamente a partir de madres de vinagre de piña.

El presente estudio aborda este vacío desarrollando películas de BNC dopadas con concentraciones controladas de AgNPs (5, 25, 50, 75 y 100 ppm). Este enfoque tiene dos objetivos principales:

Efectividad antimicrobiana: Se evaluó la capacidad de las películas para inhibir el crecimiento de *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*, dos bacterias patógenas comunes. Los resultados buscaban identificar la concentración mínima de AgNPs que logra un efecto antimicrobiano significativo (99% de inhibición).

Seguridad para uso humano: Al trabajar con concentraciones bajas de AgNPs, el estudio contribuye a establecer una ventana terapéutica segura, minimizando los riesgos de toxicidad sistémica o tópica.

ABSTRACT

Silver nanoparticles (AgNPs) are well-known for their potent antimicrobial effects and their use as topical antiseptics in wound treatment and infection prevention. However, a major challenge in their application is the toxicity that AgNPs can cause when used at high concentrations, limiting their safe use in humans. This problem underscores the need to explore strategies for controlling AgNP release and determining effective and safe concentrations.

In this context, nanocellulose, particularly bacterial nanocellulose (BNC), emerges as a promising material. BNC stands out from other types of cellulose due to its high purity, biocompatibility, and sustainability, making it an ideal matrix for nanoparticle delivery. Additionally, its production via biotechnological processes, such as using vinegar mothers, offers opportunities for economical and environmentally friendly manufacturing. Despite numerous studies on the use of cellulose as a carrier for silver nanoparticles, no prior research had explored antiseptic films made specifically from BNC derived from pineapple vinegar mothers.

This study addresses this gap by developing BNC films doped with controlled concentrations of AgNPs (5, 25, 50, 75, and 100 ppm). This approach focuses on two main objectives:

Antimicrobial effectiveness: The films ability to inhibit the growth of *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*, two common pathogenic bacteria, was assessed. The aim was to identify the minimum AgNP concentration needed to achieve significant antimicrobial effects (99% inhibition).

Human safety: By working with low concentrations of AgNPs, the study contributes to defining a safe therapeutic window, minimizing the risks of systemic or topical toxicity.

ÍNDICE GENERAL

INTRODUCCIÓN.....	1
CAPÍTULO 1.....	4
MARCO TEÓRICO	4
1.1 NANOCELULOSA	5
1.1.1 Nanocristales de celulosa	7
1.1.1.1 Preparación de nanocristales de celulosa	9
1.1.2 Nanofibras de celulosa	11
1.1.2.1 Preparación de nanofibras de celulosa	12
1.1.3 Nanocelulosa bacteriana	13
1.1.3.1 Preparación de celulosa bacteriana.....	14
1.2 ANTISÉPTICOS TÓPICOS	16
1.3 NANOPARTÍCULAS DE PLATA.....	18
1.3.1 Preparación de nanopartículas de plata.....	18
1.3.1.1 Síntesis física.....	19
1.3.1.2 Síntesis química.....	19
1.3.1.3 Síntesis biológica.....	19
1.3.2 Aplicaciones antisépticas de las nanopartículas de plata.....	20
1.3.3 Toxicidad de las nanopartículas de plata y otros potenciales impactos en la salud .	22
1.4 REDUCCIÓN DE NANOPARTÍCULAS DE PLATA A PARTIR DE CELULOSA BACTERIANA.....	23
1.5 MADRES DE VINAGRE	24
1.6 ANTECEDENTES	25
CAPÍTULO 2.....	28
DESARROLLO DE LA EXPERIMENTACIÓN	28
2.1 MATERIALES Y REACTIVOS	30
2.2 EQUIPOS.....	30
2.3 TRATAMIENTO DE LA NANOCELULOSA BACTERIANA.....	31
2.4 PREPARACIÓN DE NANOPARTÍCULAS DE PLATA.....	32
2.5 PREPARACIÓN DE LAS PELÍCULAS DE NANOCELULOSA BACTERIANA CON NANOPARTÍCULAS DE PLATA (BNC-AgNPs).....	33
2.6 ANÁLISIS TERMOGRAVIMÉTRICO (TGA).....	35
2.7 ANÁLISIS INFRARROJO POR TRANSFORMADA DE FOURIER (FTIR)	36

2.8 MICROSCOPÍA ELECTRÓNICA DE BARRIDO (SEM)	37
2.9 DIFRACCIÓN DE RAYOS X (DRX)	39
2.10 MICROSCOPÍA ÓPTICA	40
2.11 PRUEBAS ANTIMICROBIANAS	41
CAPÍTULO 3.....	44
RESULTADOS.....	44
3.1 CARACTERIZACIÓN POR FTIR.....	45
3.1.1 Análisis Comparativo de las Curvas.....	46
3.1.2 Diferencias Notables entre las Curvas.....	47
3.2 ANÁLISIS TÉRMICO	48
3.3 DIFRACCIÓN DE RAYOS X	52
3.4 MICROSCOPÍA ELECTRÓNICA DE BARRIDO (SEM)	55
3.5 MICROSCOPÍA ÓPTICA	59
3.6 PRUEBAS ANTIMICROBIANAS	65
CAPÍTULO 4.....	69
CONCLUSIONES	69
REFERENCIAS	72

ÍNDICE FIGURAS

Figura 1.1 Nanocristales de celulosa.....	7
Figura 1.2 a) Estructuras químicas de CNC y CNF. b) Enlaces de hidrógeno intramoleculares e intermoleculares en celulosa cristalina [6]. c) Estructura química de BC, CNC y CNF.	8
Figura 1.3 Representación esquemática de la preparación de CNC. Imágenes de microscopía electrónica de transmisión (TEM) de nanocristales de celulosa en forma de varilla [46]. Imágenes de microscopía electrónica de barrido (SEM) de nano-bigotes de celulosa [47]. Imágenes SEM de celulosa nanocristalina [48].....	10
Figura 1.4 Imágenes de microscopía electrónica de barrido (SEM) de (a, b) nanofibras de celulosa sin modificar y (c, d) nanofibras de celulosa modificada [209].	11
Figura 1.5 Representación esquemática de la preparación de CNF con imágenes SEM de celulosa microfibrilada [91] y de nanofibras de celulosa [92].	12
Figura 1.6 Nanocelulosa bacteriana.	13
Figura 1.7 Representación esquemática de la preparación de BC, con fotografía de una película de BC [101], imágenes SEM de una película de BC [102], e imágenes SEM de fibras BC [103].....	15
Figura 1.8 Antisépticos tópicos más comunes.	16
Figura 1.9 Nanopartículas de plata.....	18
Figura 1.10 Productos de uso clínico con nanopartículas de plata.....	20
Figura 1.11 Madres de vinagre de piña.	24
Figura 2.1 Diagrama general de la experimentación.....	29
Figura 2.2 Madres de vinagre en proceso de lavado.	31
Figura 2.3 Solución de nitrato de plata.	32
Figura 2.4 Impregnado de las películas con solución de nitrato de plata.....	33
Figura 2.5 Exposición a lámpara de sodio de la nanocelulosa bacteriana con nanopartículas de plata.	34
Figura 2.6 Tipos de análisis termogravimétrico: a) isoterma, b) cuasi-isoterma, y c) dinámico.	35
Figura 2.7 TGA, TA Instruments Modelo Q600 SDT.	36
Figura 2.8 Perkin Elmer Spectrum 100 FT-IR Spectrometer.....	37
Figura 2.9 SEM, equipo de la marca JEOL Modelo: JSM-IT200.....	38
Figura 2.10 DRX, equipo de la marca BRUKER Modelo: D8 Dscover.....	39
Figura 2.11 Microscopio Óptico Carl Zeiss Modelo Axio Lab.A1.....	40

Figura 3.1 Comparativa de los espectros IR de BNC-AgNPs a las diferentes concentraciones.	45
Figura 3.2 Espectro del blanco de la nanocelulosa bacteriana.	47
Figura 3.3 Termograma de BNC-AgNPs a diferentes concentraciones.	48
Figura 3.4 Termograma Diferencial de BNC-AgNPs a diferentes concentraciones.	51
Figura 3.5 Termograma de BNC.	52
Figura 3.6 Difractograma de BNC.	53
Figura 3.7 Difractograma de BNC-AgNPs con concentración de 100 ppm.	54
Figura 3.8 Morfología. Imágenes SEM obtenidas en la muestra de nanopartículas de plata.	55
Figura 3.9 Morfología. Imágenes SEM obtenidas en la muestra de nanopartículas de plata (perspectiva desde otra zona).	57
Figura 3.10 Microscopía óptica fluorescente del blanco.	59
Figura 3.11 Microscopía óptica de una película de BNC con 5 ppm de plata.	60
Figura 3.12 Microscopía óptica de una película de BNC con 25 ppm de plata.	61
Figura 3.13 Microscopía óptica de una película de BNC con 50 ppm de plata.	62
Figura 3.14 Microscopía óptica de una película de BNC con 75 ppm de plata.	63

INDICE TABLAS

Tabla 1.1 Principales características de los tres tipos de nanocelulosa [1].	6
Tabla 1.2 Antisépticos de uso común, características y aplicaciones.	17
Tabla 1.3 Tipos, aplicación y uso médico de las nanopartículas de plata.	21
Tabla 2.1 Diseño experimental para la evaluación de la actividad antimicrobiana de las películas de BNC-AgNPs contra <i>E. coli</i> y <i>S. aureus</i>	43
Tabla 3.1 Datos térmicos obtenidos de los Termogramas de TGA.....	50
Tabla 3.2 Pruebas antimicrobianas contra la bacteria <i>Escherichia coli</i>	66
Tabla 3.3 Pruebas antimicrobianas contra la bacteria <i>Staphylococcus aureus</i>	67

INDICE DE ECUACIONES

Ecuación 2.1 Formula para obtención de partes por millón	32
Ecuación 2.2 Formula para obtención de masa del soluto	32

INTRODUCCIÓN

La nanotecnología es una disciplina científica que consiste en el estudio, fabricación, y utilización de los materiales en una escala nanométrica, es decir, aquellos con tamaños de entre 1 y 100 nm. En las últimas décadas se ha descubierto y explotado el potencial de los nanomateriales en aplicaciones biomédicas tales como la catálisis de reacciones enzimáticas, la detección de ácido desoxirribonucleico, y la ingeniería de biomateriales, así como antisépticos en el tratamiento de quemaduras y heridas, entre muchas otras [1].

Los nanomateriales han revolucionado el campo de la medicina y la farmacología debido a sus propiedades únicas a escala nanométrica, que mejoran su eficacia en aplicaciones terapéuticas. Entre estos, la plata en forma de nanopartículas ha sido ampliamente utilizada en productos antisépticos tópicos debido a su notable actividad antimicrobiana [2]. Entre los nanomateriales más usados como antisépticos destaca el uso de las nanopartículas de plata, o AgNPs, que presentan una superficie elevada en relación a su volumen, lo que les permite interactuar eficazmente con las membranas celulares de diversos microorganismos, incluyendo bacterias, hongos y virus. Esta interacción resulta en una actividad antimicrobiana poderosa, capaz de desestabilizar la membrana celular y generar especies reactivas de oxígeno que dañan estructuras internas de los microorganismos, llevando a su muerte.

No obstante, aunque las nanopartículas de plata son eficaces para reducir infecciones en heridas y prevenir la proliferación bacteriana, su uso también plantea importantes preocupaciones en cuanto a su potencial toxicidad. Las investigaciones han señalado que, al igual que atacan las células microbianas, las nanopartículas de plata pueden también interactuar de forma negativa con células humanas, generando estrés oxidativo y afectando la integridad de las células sanas. Este efecto tóxico puede resultar en reacciones adversas como inflamación, citotoxicidad y, en algunos casos, efectos negativos en el sistema inmunológico, lo cual limita su uso y exige una dosificación precisa y controlada [3].

La creciente popularidad y eficacia de la plata como antiséptico tópico, junto con las preocupaciones sobre sus efectos secundarios, hacen que este tema sea de especial interés

para la investigación. Profundizar en el estudio de las nanopartículas de plata y su impacto en la salud puede contribuir a diseñar formulaciones más seguras y eficaces, optimizando la concentración y tamaño de las partículas para maximizar sus beneficios antimicrobianos mientras se minimizan los riesgos para las células humanas [3]. Además, explorar alternativas y combinaciones con otros nanomateriales podría ofrecer soluciones innovadoras para la administración tópica de antimicrobianos.

En la búsqueda de sistemas eficientes para la administración controlada de fármacos, el estudio de materiales biodegradables y sostenibles ha ganado una importancia significativa. En este contexto, la nanocelulosa ha emergido como un material prometedor gracias a su falta de inmunogenicidad, propiedades mecánicas sobresalientes, a su elevada área superficial y excelente biocompatibilidad, las cuales pueden adherirse a la superficie de la celulosa a través de sus interacciones electrostáticas o por medio de modificaciones químicas [4].

La nanocelulosa es una biomolécula derivada de la celulosa, el polímero orgánico más abundante del planeta, obtenida de fuentes renovables como la madera, las plantas, y ciertos tipos de bacterias. Su estructura a escala nanométrica proporciona una superficie extensa y propiedades mecánicas avanzadas, lo que permite que esta biomolécula sea funcionalizada o modificada para aplicaciones específicas en el campo de la salud. Además, la nanocelulosa se caracteriza por ser biocompatible, biodegradable y no tóxica, lo que la convierte en un material idóneo para su uso en aplicaciones médicas.

Una de las aplicaciones más prometedoras de la nanocelulosa se encuentra como sistema de transporte y liberación de fármacos. Los sistemas de administración de medicamentos basados en nanocelulosa presentan características excepcionales, como la capacidad de encapsular diversas moléculas terapéuticas, desde fármacos de bajo peso molecular hasta proteínas y ácidos nucleicos. Asimismo, la capacidad de la nanocelulosa para ser modificada químicamente permite la personalización de sus propiedades para responder a estímulos específicos, como cambios en el pH, temperatura o enzimas, lo que facilita la liberación controlada del fármaco en zonas específicas del cuerpo humano.

La administración de fármacos mediante nanocelulosa ofrece diversas ventajas, tales como su degradabilidad en el organismo y su capacidad para dirigir los fármacos hacia tejidos específicos, minimizando efectos secundarios. Además, sus propiedades mecánicas y térmicas excepcionales permiten diseñar sistemas de liberación que respondan a condiciones fisiológicas del cuerpo humano, proporcionando así una liberación progresiva y controlada de los principios activos [4].

Existen tres tipos de nanocelulosa: los nanocristales de celulosa (CNC), las nanofibrillas de celulosa (CNF), y la celulosa bacteriana (BC); entre ellos, destaca la celulosa bacteriana, obtenida por efecto de una fermentación mediada por bacterias, debido a que cuenta con una elevada pureza y es más fácil de sintetizar que los CNC o las CNF.

En el presente trabajo se prepararon películas antisépticas para uso tópico empleando madres de vinagre de piña para obtener celulosa bacteriana de alta pureza, ya que no existen reportes de la elaboración de las películas antisépticas con celulosa bacteriana que haya sido obtenida de madres de vinagre. Las películas fueron dopadas con nanopartículas de plata en concentraciones bajas (5, 25, 50, 75, 100 ppm) para evaluar su efecto antimicrobiano contra las bacterias *E. coli* y *S. aureus* y encontrar la concentración mínima con la cual se presenta un efecto antimicrobiano relativamente eficaz contra dichas bacterias sin representar un riesgo para el usuario.

CAPÍTULO 1

MARCO TEÓRICO

La nanocelulosa es un compuesto que viene de la celulosa, la cual se encuentra altamente disponible en la naturaleza, y tiene una gran variedad de propiedades químicas, biológicas y físicas notables, tales como biocompatibilidad, capacidad de renovación, alta resistencia mecánica, rigidez y bajo peso. Estas propiedades posibilitan el uso de la nanocelulosa en sistemas de administración de fármacos, ya sea como base o como transporte [1].

La nanocelulosa puede encontrarse en diferentes formas, ya sea como nanocristales de celulosa, nanofibrillas de celulosa o celulosa bacteriana, y en todas ellas puede ser empleada para la administración de fármacos gracias a su elevada área específica, sobresalientes propiedades mecánicas, y su variabilidad para la modificación química, así como su no inmunogenicidad y su alta biocompatibilidad. Es debido a su elevada área superficial que la nanocelulosa puede recibir una gran carga de fármacos.

Existe un amplio rango de fármacos que puede reformularse con la adición de la nanocelulosa después de modificaciones sencillas de su superficie. Si la superficie de la nanocelulosa se modifica químicamente, o se formula físicamente de manera adecuada, se puede lograr la liberación controlada de varios fármacos [2].

1.1 NANOCELULOSA

La nanocelulosa es un material celulósico a nanoescala que constituye una abundante biomasa natural, y se puede dividir en tres grandes tipos, nanocristales de celulosa (CNC), nanofibras de celulosa (CNF) y celulosa bacteriana (BC), dependiendo de si se obtiene por procesos químicos, mecánicos, o a partir de bacterias [2, 3]. Las principales propiedades de cada uno de los tres tipos de nanocelulosa se presentan en la **Tabla 1.1**.

Tabla 1.1 Principales características de los tres tipos de nanocelulosa [1].

Tipo	Talla / Longitud	Diámetro	Forma	Estructura	Proceso de producción	Impurezas	Propiedades
CNC	100-500 nm (Celulosa vegetal) 100 nm a varios micrómetros (túnicas y algas celulosa)	3-30 nm	Forma de huso, forma de varilla alargada o forma de aguja	Cristalina	“De arriba hacia abajo”	Puede contener hemicelulosa, lignina y pectina	La relación de aspecto, la gran superficie, alta elasticidad de los módulos, alta resistencias mecánicas, su forma uniforme de nanovarilla, menor expansión de rotura, carácter líquido cristalino, biocompatibilidad e hidrofilia
CNF	Más de 1 µm	3-100 nm	Cadenas lisas y largas	Amorfa y cristalina	“De arriba hacia abajo”	Puede contener hemicelulosa, lignina y pectina	Flexible, excelente hidrofilia, biocompatibilidad y alta superficie
BC	Más de 1 µm	20-100 nm	Una red de nanofibras	Cristalina	“De abajo hacia arriba”	No contiene hemicelulosa, lignina y pectina	Buenas porosidad, moldeabilidad, hemocompatible, un peso molecular medio elevado, buena estabilidad mecánica y una cristalinidad alta

1.1.1 Nanocristales de celulosa

Existen numerosas fuentes naturales de celulosa, entre las cuales se incluyen algunas plantas y animales, a partir de las cuáles se obtienen los nanocristales de celulosa (CNC), que también reciben los nombres de nanobigotes de celulosa (CNW, por sus siglas en inglés) y microcristales de celulosa en forma de varilla observados en la **Figura 1.1** La celulosa se puede obtener de diferentes fuentes vegetales como lo son la madera, el cáñamo, el algodón, el lino, la paja de trigo, la corteza de morera, el ramio, el avicel, la patata, la remolacha azucarera, la tunicina y las algas [4, 5]. La producción de CNC es un proceso vertical en el cuál una unidad grande, medida en centímetros, se divide hasta llegar a unidades que se miden en escala nanométrica. Dicho proceso consiste en separar la porción amorfa de la celulosa natural y conservar la fracción cristalina.



Figura 1.1 Nanocristales de celulosa.

En la **Figura 1.2** se muestran las estructuras químicas de la CNC, CNF y BC. La estructura química de la CNC y sus regiones cristalinas, formadas por enlaces de hidrógeno intra e intermoleculares que unen las macromoléculas de celulosa, se pueden observar en **Figura 1.2a** y **Figura 1.2b**, respectivamente.

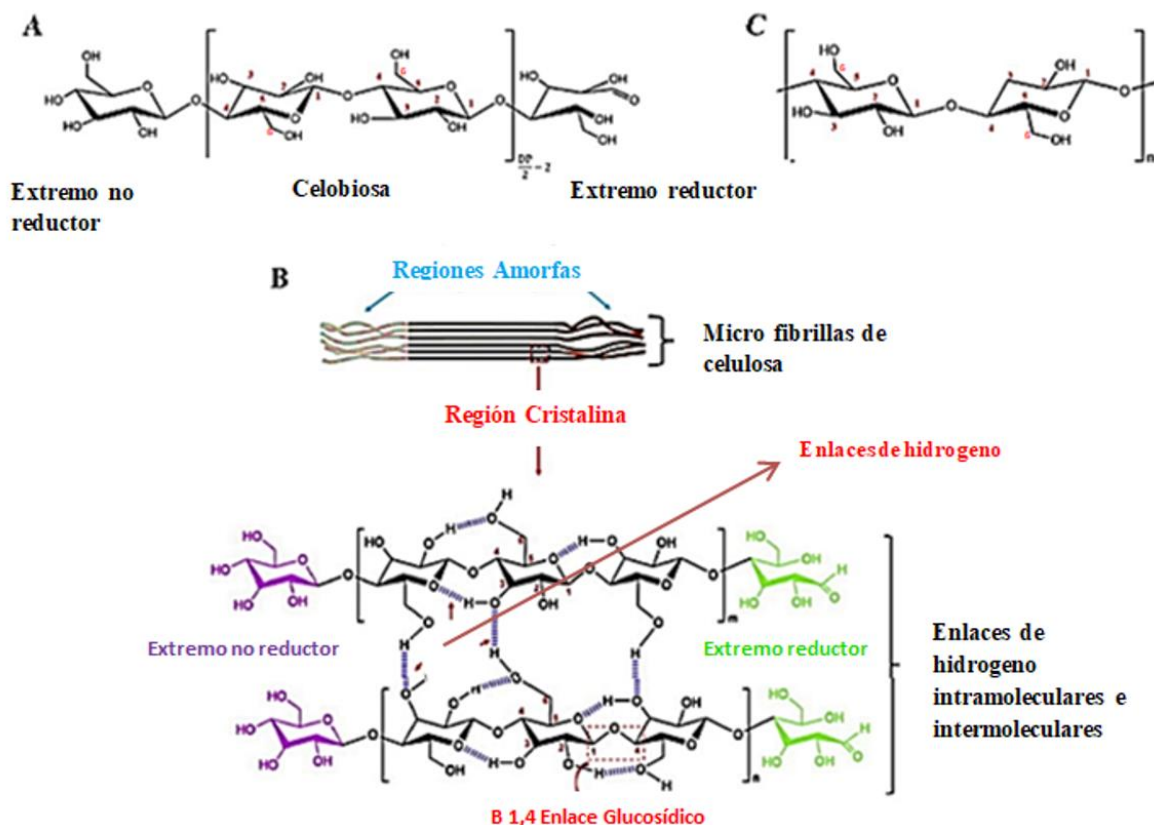


Figura 1.2 a) Estructuras químicas de CNC y CNF. **b)** Enlaces de hidrógeno intramoleculares e intermoleculares en celulosa cristalina [6]. **c)** Estructura química de BC, CNC y CNF.

La CNC tiene una tasa de cristalización relativamente alta, que se estima de entre 54 y 88%. Los cristales tienen forma rómbica, de varilla larga o de aguja, con adelgazamiento hacia los extremos, con una estructura rígida, y sus tamaños varían en dependencia de su origen. Aquellos cristales obtenidos de la celulosa vegetal suelen tener tamaños de entre 5 y 30 nm de diámetro con 100 a 500 nm de longitud, mientras que aquellos que se obtienen de algas y tunicados tienen longitudes mayores, partiendo de los 100 nm hasta varios micrómetros [7, 8].

El gran atractivo de la CNC como objeto de investigación viene de sus propiedades únicas, como su alta relación de aspecto, gran área de superficie, elevado módulo elástico, alta resistencia mecánica, biocompatibilidad e hidrofilia [1, 9-11].

1.1.1.1 Preparación de nanocristales de celulosa

La CNC puede ser preparada a través de un amplio número de procesos, que se resumen en la **Figura 1.3**, entre los cuales se destacan la hidrólisis enzimática/ácida y tratamiento mecánico u oxidativo, diseñados para separar las cadenas amorfas de las fibras de celulosa y recolectar la composición cristalina. La celulosa pura siempre debe aislarse de la fuente antes de comenzar la preparación, y posteriormente se siguen los pasos generales enlistados a continuación [12]:

- a) Secado, molienda o desparafinado
- b) Refinación
- c) Clasificación, ya sea mecánica, química, biológica o una combinación de éstas
- d) Blanqueado
- e) Filtrado y lavado
- f) Secado

Una de las técnicas más comunes para fabricar CNC es la hidrólisis enzimática, en la cual se utilizan enzimas como la endoglucanasa, exoglucanasa, o la celobiohidrolasa para romper las moléculas de celulosa en fracciones más pequeñas [13-15]. La hidrólisis ácida resulta más difícil, aunque se ha reportado que es posible preparar CNC a partir de celulosa con ácidos concentrados como el sulfúrico, clorhídrico, nítrico, fosfórico, bromhídrico, fosfotúngstico, p-toluenosulfónico, maleico, fórmico y oxálico [16-30]. Estos tratamientos imparten grupos funcionales que substituyen a los OH de la celulosa. También es posible preparar la CNC vía hidrólisis con agua en un reactor de acero inoxidable, a 120 °C y 20.3 MPa durante 1 hora [31, 32]. Existe también un tratamiento iónico en el cual se emplea bisulfato de 1-butil-3-metilimidazolio para disolver la celulosa y formar CNC [33-38]. Algunos otros tratamientos químicos incluyen el uso del clorito o per yodato de sodio, persulfato de amonio o 2,2,6,6-tetrametilpiperidin-1-oxilo (TEMPO) como agentes oxidantes fuertes [39-43].

Por último, es necesario mencionar que algunos métodos de procesamiento mecánicos, como lo son la homogeneización, la microlicuación, la ultrasonicación, el calentamiento convencional, y el fresado con disco húmedo, se encuentran también entre los métodos más usados para fabricar CNC [7, 44, 45]. Existen también reportes de tratamientos combinados que permitieron obtener CNC a través del uso simultáneo de métodos químicos y mecánicos, como hidrólisis mecánicamente asistida, así como tratamientos fisicoquímicos con ultrasonido y microondas [12].

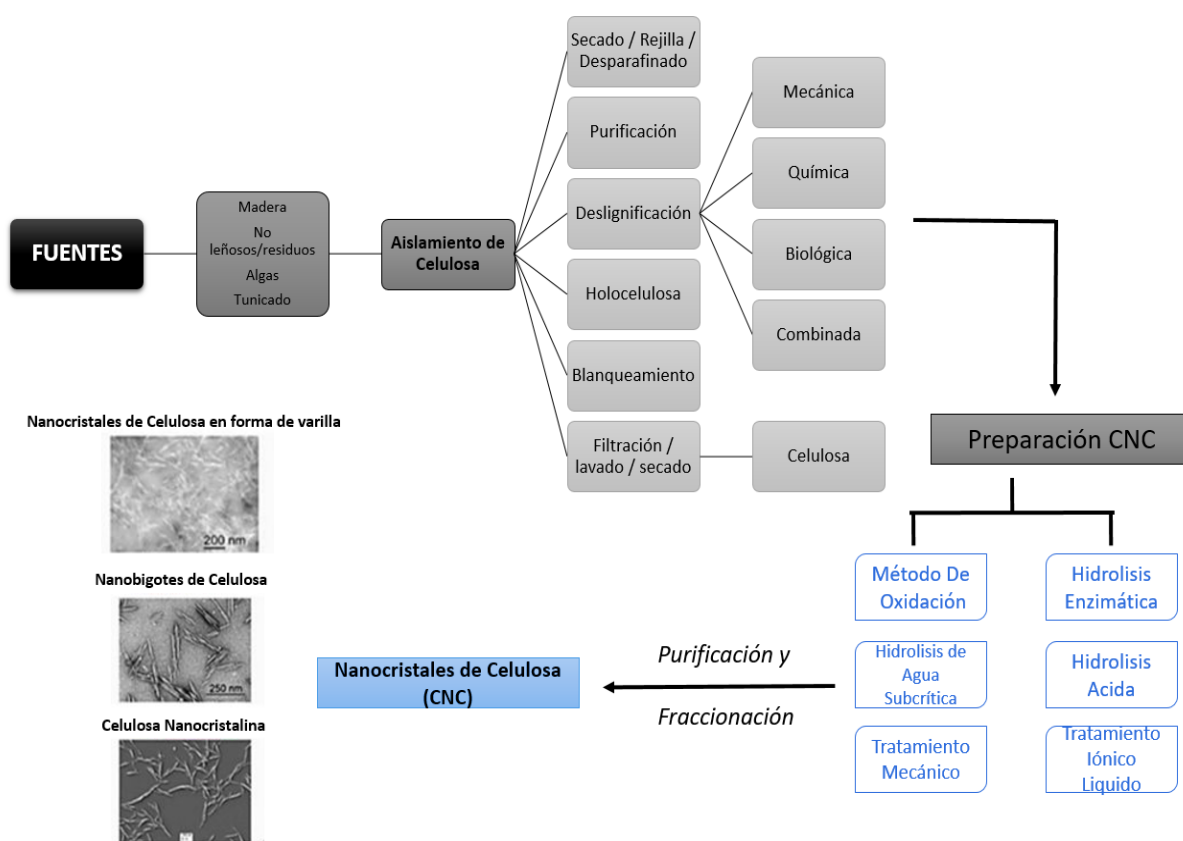


Figura 1.3 Representación esquemática de la preparación de CNC. Imágenes de microscopía electrónica de transmisión (TEM) de nanocristales de celulosa en forma de varilla [46]. Imágenes de microscopía electrónica de barrido (SEM) de nano-bigotes de celulosa [47]. Imágenes SEM de celulosa nanocristalina [48].

1.1.2 Nanofibras de celulosa

Al igual que la nanocelulosa cristalina, la nanocelulosa nanofibrada (CNF) o nanofibra de celulosa mostrada en la **Figura 1.4** puede extraerse a partir de la madera, la remolacha azucarera, las papas, el cáñamo, el lino, el algodón, la paja, las malas hierbas, el jacinto de agua, las algas, o la cáscara de plátano como precursores de la celulosa.

La estructura molecular de la CNF, tal como se muestra en la **Figura 1.2a**, es muy semejante a la de la CNC, siendo sus principales diferencias su morfología y cristalinidad. La CNF está formada por cadenas largas y suaves, cuya longitud puede ser difícil de determinar debido a su entrelazamiento, pero que generalmente se estima en más de 1 μm . El diámetro, por el otro lado, generalmente se estima entre los 3 y los 100 nm, en dependencia con los métodos de pretratamiento empleados. Si bien la CNC es únicamente cristalina, la estructura de la CNF presenta también regiones amorfas, y es gracias a esta naturaleza amorfa que las CNF son más flexibles que los CNC. Las CNF presentan, además, excelentes propiedades como la hidrofiliicidad, biocompatibilidad, y una elevada área superficial [1, 2, 49, 50].

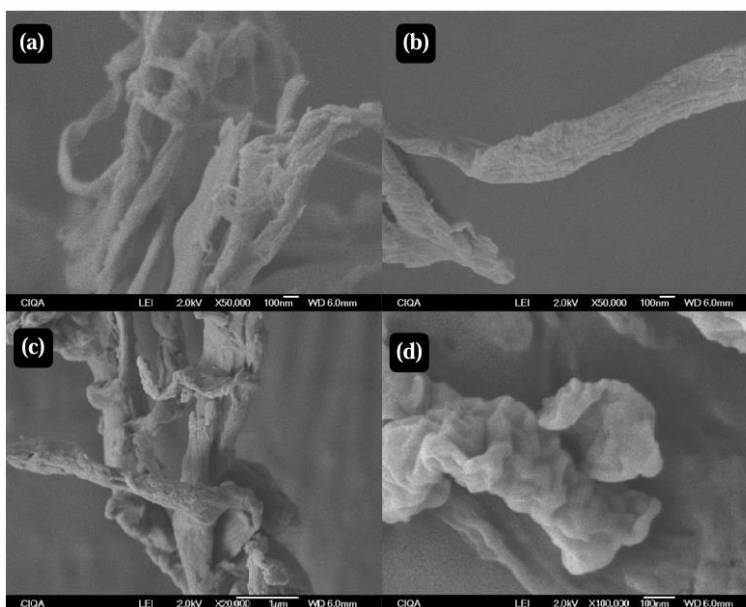


Figura 1.4 Imágenes de microscopía electrónica de barrido (SEM) de (a, b) nanofibras de celulosa sin modificar y (c, d) nanofibras de celulosa modificada [209].

1.1.2.1 Preparación de nanofibras de celulosa

Ya sea con o sin pretratamiento, la preparación de las CNF a partir de cualquier materia prima requiere un intenso proceso mecánico, como se observa en la **Figura 1.5**. En algunos casos es incluso necesario un tratamiento químico antes del mecánico, en dependencia de las propiedades de las materias primas [51].

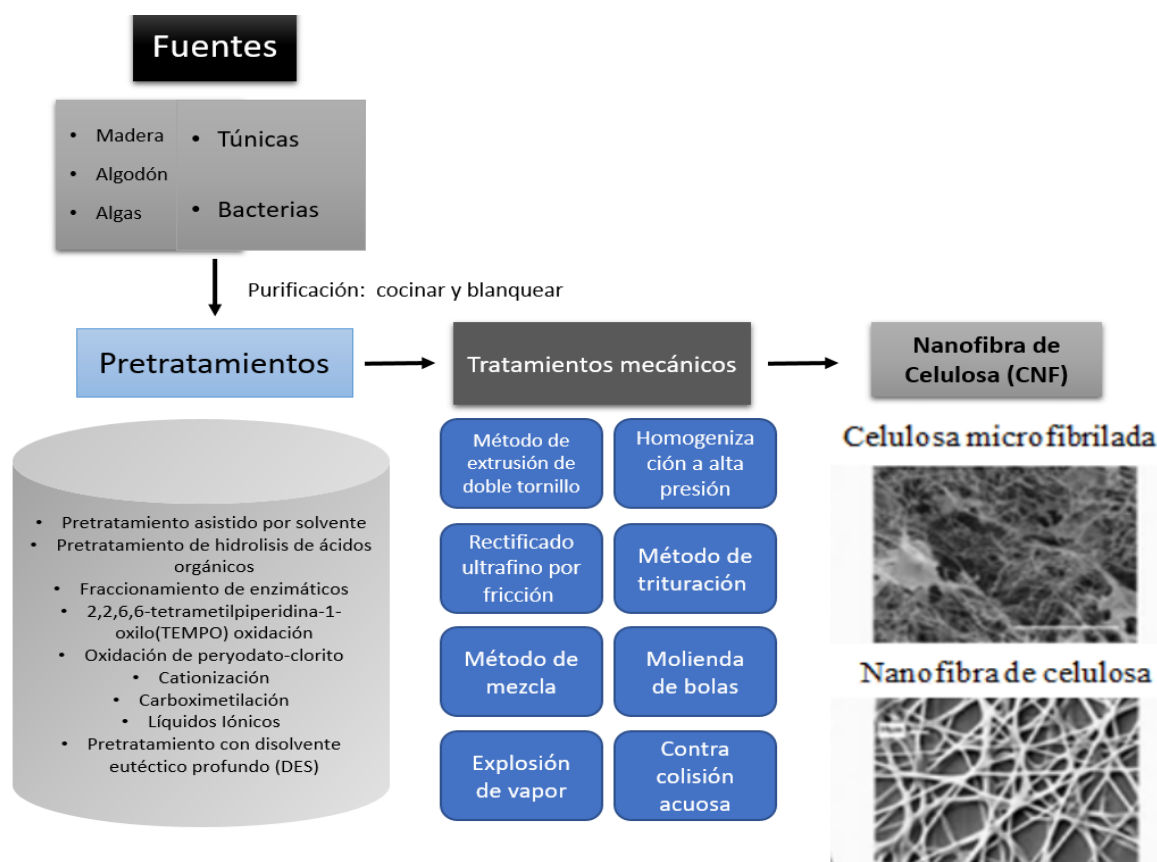


Figura 1.5 Representación esquemática de la preparación de CNF con imágenes SEM de celulosa microfibrilada [91] y de nanofibras de celulosa [92].

Entre los pretratamientos más comunes se encuentran el asistido con solventes [52, 53], la hidrólisis de ácidos orgánicos [54, 55], la hidrólisis enzimática [56, 57], la oxidación TEMPO [58, 59], la oxidación peryodato-clorito [60], la sulfonación oxidativa [60, 61], el pretratamiento catiónico [62], la carboximetilación [63, 64], el pretratamiento con líquidos iónicos [65], y los disolventes eutécticos profundos [66-69]. La elección del método de pretratamiento debe hacerse con cuidado, ya que este puede afectar la superficie interna de

las fibras, cambiar su grado de cristalinidad, e incluso destruir sus enlaces de hidrógeno [70].

La producción de CNF incluye, también, un proceso de mecanizado que puede llevarse a cabo por medio de una homogeneización a alta presión [71-75], molienda por fricción [76-78], molienda de bolas [24], extrusión de doble tornillo [79, 80], molienda criogénica [21, 81, 82], mezcla [83-85], explosión de vapor [17-19, 86, 87], u ósmosis inversa [88-90].

1.1.3 Nanocelulosa bacteriana

La nanocelulosa bacteriana, también conocida como celulosa bacteriana, celulosa microbiana y biocelulosa mostrada en la **Figura 1.6**, se obtiene, como su nombre lo indica, por acción bacteriana a partir de azúcares de bajo peso molecular para construir nanofibras. La celulosa obtenida por este método es pura y libre de impurezas y contaminantes como la lignina, la pectina, y la hemicelulosa que tan comúnmente se encuentran en la CNF y la CNC.

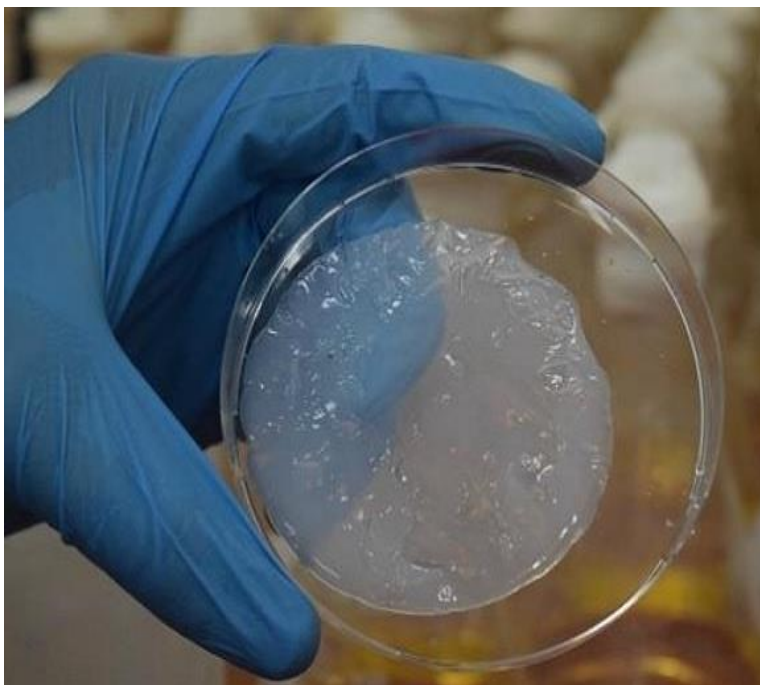


Figura 1.6 Nanocelulosa bacteriana.

Entre las bacterias que se pueden usar para producir BC se encuentran la bacteria Gram-positivas como la *Sarcina ventriculi*, y numerosas bacterias Gram-negativas como la

Acetobacter xylinum, la *Gluconacetobacter hansenii*, y el *Lactobacillus mali* [93]. Las bacterias productoras se incuban en un medio acuoso y la BC se forma como un exopolisacárido en la capa superior. El material resultante consiste principalmente de agua (>99%) y una red de nanofibras con diámetros de entre 20 y 100 nm [4], su estructura química puede ser observada en la **Figura 1.2c**.

Las propiedades de la celulosa bacteriana se pueden controlar manipulando el medio y las condiciones de cultivo, y seleccionando la cepa bacteriana adecuada [94]. Algunas de estas propiedades son la porosidad, la ductilidad, la pegajosidad, la hemocompatibilidad, el peso molecular, la estabilidad mecánica, y la cristalinidad [95].

1.1.3.1 Preparación de celulosa bacteriana

En la **Figura 1.7** se observa un resumen esquemático con los pasos para la preparación de la celulosa bacteriana. Previo al inicio del proceso, resulta importante tomar en cuenta algunos factores como la correcta selección de la cepa bacteriana y la optimización de las condiciones de crecimiento, que implica controlar factores de crecimiento como la temperatura, el pH, y un medio adecuado.

Los métodos más comunes para obtener la BC incluyen el cultivo estático, la mezcla, la síntesis en biorreactores de aireación y biorreactores de disco rotatorio, y la síntesis en reactores de lecho fluidizado. La preparación se puede realizar en condiciones estáticas o en recipientes de gran superficie con suministro de oxígeno y agitación, así como en diferentes tipos de biorreactores de aireación, dependiendo del método [95]. La producción estática se utiliza principalmente la biosíntesis de BC a escala de laboratorio y durante un periodo de tiempo relativamente corto de dos semanas, mientras que el cultivo mixto es más adecuado para la producción a gran escala ya que requiere un gran suministro de oxígeno [96]. Sin embargo, el proceso de producción a gran escala puede generar una inestabilidad genética bacteriana y una reducción en la producción de la BC.

Las celulosas obtenidas por diferentes métodos tienen diferentes propiedades y microformas y tamaños de partículas, aunque en su mayoría son esféricas [97, 98]. La BC producida en biorreactores de aireación usualmente tiene forma de gránulos [98, 99], la que

se produce en biorreactores de disco rotatorio generalmente es homogénea [99], y la que se obtiene en reactores de lecho fluidizado se presenta en capas desiguales debido a las altas concentraciones de oxígeno que contrastan con las bajas fuerzas de corte [100].

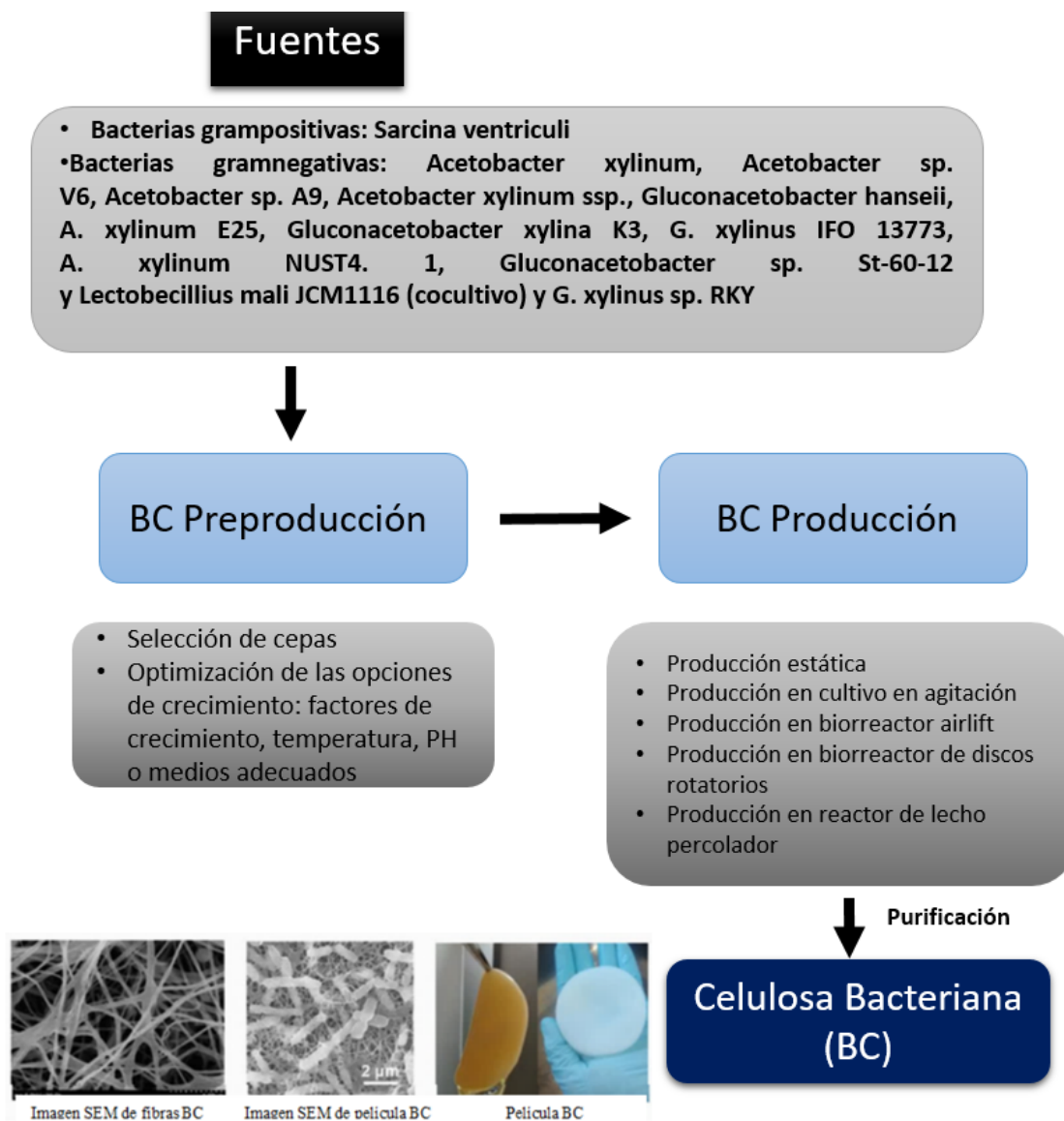


Figura 1.7 Representación esquemática de la preparación de BC, con fotografía de una película de BC [101], imágenes SEM de una película de BC [102], e imágenes SEM de fibras BC [103].

1.2 ANTISÉPTICOS TÓPICOS

Un antiséptico tópico (**Figura 1.8**) es un producto químico que se aplica por vía tópica, es decir, por medio de tejidos vivos como la piel, las membranas mucosas o las heridas, esto con el fin de destruir o reducir el número de microorganismos patógenos en la superficie afectada [104, 105].



Figura 1.8 Antisépticos tópicos más comunes.

Algunos de los antisépticos tópicos que podemos encontrar en el mercado son: Bactrovet plata AM (Imidacloprid), Blindagerm (Acetato de plata), Estercide (cloro y oxígeno), y ConBact (cefquinome), entre otras. Algunos de los criterios más importantes que se deben tomar en cuenta al elegir un antiséptico son el espectro de acción antimicrobiano del antiséptico, el tiempo transcurrido entre su aplicación y el comienzo del efecto antimicrobiano, la duración del efecto después de ser aplicado, la posible interferencia de la materia orgánica en el efecto antiséptico, los posibles efectos secundarios locales y sistémicos, y la compatibilidad con otros antisépticos lo que se detalla en la **Tabla 1.2**.

Tabla1.2 Antisépticos de uso común, características y aplicaciones.

	Alcohol	Agua oxigenada	Yodo	Clorhexidina
Espectro de acción	Bacterias y virus	Bacterias, virus y algunos hongos	Bacterias, virus y hongos	Bacterias, virus, esporas y hongos
Inicio de actividad	15 segundos	Inmediato	1 hora	15 a 30 segundos
Uso	Desinfección de la piel, limpieza antes de inyecciones o limpieza de termómetros	Lavado de úlceras o heridas. Enjuagues bucales o desinfección de equipo para endoscopia	Preparaciones quirúrgicas o inserción de catéter.	Antiséptico piel, mucosas y uso odontológico.
Seguridad	Inflamable.	Debe combinarse o diluirse antes de aplicar en tejidos.	Provoca quemaduras al permanecer mucho tiempo. Combinado con alcohol es inflamable.	Su uso prolongado mancha los dientes y puede alterar el gusto.
Contradicción	No aplicar en heridas abiertas. Usarlo por tiempo prolongado irrita y seca la piel.	No aplicar en cavidades cerradas u ojos. En concentraciones mayores a 10% causa quemaduras	Prohibido su uso en embarazadas, recién nacidos, lactantes o personas con trastornos de la tiroides.	No aplicar en pacientes con alergia o hipersensibilidad, ni en cirugías oftalmológicas o neuroquirúrgicas.

1.3 NANOPARTÍCULAS DE PLATA

Se les llama nanopartículas, o NPs (**Figura 1.9**), a las partículas con tamaños de entre 1 y 100 nm en al menos una dimensión. Las nanopartículas de menor tamaño tendrán una mayor relación entre el área superficial y el volumen de la partícula, lo cual conlleva cambios importantes en sus propiedades físicas, químicas y biológicas, y las hace atractivas para múltiples aplicaciones en el campo de la biomedicina [106]. Entre las nanopartículas de mayor interés dentro de este campo de estudio se encuentran las nanopartículas de plata, o AgNPs, pues se ha demostrado que poseen propiedades antisépticas sobresalientes.



Figura 1.9 Nanopartículas de plata.

1.3.1 Preparación de nanopartículas de plata

Existe cada vez una mayor cantidad de métodos disponibles para obtener nanopartículas de plata. La variedad en los procesos de fabricación también permite obtener AgNPs con diferentes composiciones y calidad, ya que las diferentes vías de síntesis generan nanopartículas con diferentes tamaños, morfología e incluso estabilidad. A grandes rasgos,

dichos métodos se pueden dividir en tres grandes categorías: síntesis física, síntesis química, y síntesis biológica o verde [106].

1.3.1.1 Síntesis física

La síntesis física de las nanopartículas de plata generalmente implica moler o triturar, reenfriar o fotografiar el material precursor en algún punto del proceso, sin embargo, en la mayoría de los casos el primer paso es la reducción de una sal de plata por medio de una reacción química. Las AgNPs empleadas a nivel comercial suelen estar sintetizadas con algún método físico para adaptar la forma y tamaño de las partículas a la aplicación específica en la cual serán usadas, o bien para funcionalizarlas. Algunos de los principales métodos físicos usados para la síntesis y modificación de AgNPs son la evaporación/condensación y la ablación láser. Las desventajas de estos métodos es que el metal empleado se obtiene en hornos cilíndricos que consumen una gran cantidad de energía y tardan mucho tiempo en lograr una estabilidad térmica [106, 107].

1.3.1.2 Síntesis química

El método más común para sintetizar nanopartículas de plata es por medio de una reducción química, utilizando como precursor alguna sal de plata, así como agentes reductores y estabilizadores químicos o agentes de acabado para manejar su crecimiento. La sal de plata más frecuentemente empleada es el nitrato de plata, ya que su costo es bajo y tiene una elevada estabilidad química, comparada con otras sales. Los agentes estabilizadores incluyen surfactantes y ligandos, o bien polímeros que contengan grupos de gran funcionalidad como lo son el polivinilpirrolidona, el polietilenglicol, el ácido polimetacrílico, y el polimetilmetacrilato, entre otros [106, 107].

1.3.1.3 Síntesis biológica

Debido a la creciente demanda de métodos de fabricación de nanopartículas de plata que sean amigables con el medio ambiente, recientemente se han desarrollado algunos métodos

de síntesis biológica, también llamada biosíntesis o síntesis verde. Los métodos de síntesis biológica consisten en reducir las sales de plata usando proteínas, péptidos, carbohidratos, bacterias, hongos, levaduras, algas, o plantas como agentes reductores [107].

1.3.2 Aplicaciones antisépticas de las nanopartículas de plata

Actualmente, las nanopartículas de plata se utilizan como antisépticos (**Figura 1.10**) para tratar infecciones al aplicarse en heridas en forma de ungüentos, vendas y almohadillas, pero las sales de plata se han utilizado durante cientos de años como agentes antibacterianos [108]. Existen reportes de alambre de plata siendo aplicado directamente para tratar infecciones, y de soluciones salinas de plata para limpiar heridas, como soluciones de nitrato de plata, por ejemplo. Más recientemente, los compuestos de plata se han utilizado como componentes antibióticos en cremas o ungüentos, como es el caso de la sulfadiazina argéntica, que han jugado un papel importante en el tratamiento de quemaduras durante años [109].



Figura 1.10 Productos de uso clínico con nanopartículas de plata.

Estas aplicaciones son solo algunos ejemplos de cómo las nanopartículas de plata están revolucionando los productos médicos y antisépticos, gracias a su capacidad para combatir bacterias y promover una cicatrización más rápida (**Tabla 1.3**).

Tabla 1.3 Tipos, aplicación y uso médico de las nanopartículas de plata.

Tipos	Aplicación	Uso
Antisépticos en productos médicos	Vendajes y apósitos para heridas	Los apósitos impregnados con nanopartículas de plata se utilizan para prevenir infecciones en heridas y quemaduras. Estos apósitos ayudan a eliminar bacterias y favorecen una mejor cicatrización.
	Catéteres y dispositivos médicos	Los catéteres recubiertos con nanopartículas de plata reducen el riesgo de infecciones bacterianas en procedimientos invasivos, ya que crean una barrera antimicrobiana.
Geles y cremas antimicrobianas	Geles para el tratamiento de heridas	Las cremas y geles con nanopartículas de plata se utilizan para tratar infecciones en la piel. Son eficaces en la eliminación de bacterias resistentes a antibióticos como el <i>Staphylococcus aureus</i> resistente a la metilicina.
	Cremas para quemaduras	Algunas cremas utilizadas para tratar quemaduras están formuladas con nanopartículas de plata, ya que no solo ayudan a prevenir infecciones, sino que también aceleran el proceso de regeneración celular.

Implantes médicos	Implantes ortopédicos	Los implantes como los de cadera, rodilla o dentales recubiertos con nanopartículas de plata pueden inhibir la formación de biopelículas bacterianas, lo que disminuye las infecciones posquirúrgicas.
Desinfectantes	Soluciones desinfectantes	Las nanopartículas de plata se están utilizando en la formulación de soluciones desinfectantes que se aplican en equipos quirúrgicos y áreas hospitalarias para reducir la presencia de microorganismos patógenos.
Mascarillas y ropa médica	Mascarillas faciales y ropa quirúrgica	El uso de nanopartículas de plata en la fabricación de mascarillas y prendas médicas crea una capa protectora que combate virus y bacterias, mejorando la seguridad del personal sanitario.

1.3.3 Toxicidad de las nanopartículas de plata y otros potenciales impactos en la salud

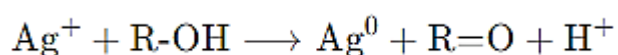
Estudios en ratas han demostrado que, después de la administración oral de AgNPs, entre un 1-4% de la dosis llega al sistema circulatorio. La plata que ingresa al cuerpo por inhalación, por el otro lado, es frecuentemente encontrada en varios tejidos, desde el tracto gastrointestinal hasta los pulmones, así como el bazo, el hígado, y los riñones. Otros estudios sugieren que la plata puede también acumularse en el cerebro y los testículos, aunque con respecto al cerebro no está claro si la plata se deposita en el tejido cerebral o sólo en las células endoteliales del cerebro [110, 111]. Esto resulta de especial preocupación, pues se ha demostrado que la sobreexposición a nanopartículas de plata puede provocar la degeneración de las neuronas e incluso desencadenar procesos patológicos en el cerebro [111]. Pero el efecto más conocido de la exposición crónica a la plata en humanos es, probablemente, la afección conocida como argiria o argirosis, la cual provoca una coloración grisácea o azulada en la piel y ojos del paciente [110, 111]. Se han

reportado casos de argiria después de terapias prolongadas con medicamentos a base de compuestos de plata, así como tras largas exposiciones ocupacionales, y más recientemente como consecuencia de la ingestión de plata coloidal en suplementos dietéticos y por el uso de apósitos para heridas recubiertos de plata. Se sabe también de un pequeño número de personas que han presentado reacciones alérgicas a la plata provocadas por restauraciones dentales [110]. Finalmente, resulta importante mencionar que en años recientes se han documentado bases genéticas de resistencia bacteriana a los iones de plata, aunque aún se sabe poco sobre el mecanismo de resistencia de las bacterianas a las AgNPs y sobre el riesgo potencial de la propagación ambiental de genes de resistencia [110]. Por todos estos motivos es relevante la búsqueda de alternativas para aprovechar el máximo potencial de las nanopartículas de plata en dosis mínimas, sin que exista el riesgo de provocar una sobredosis en el paciente.

1.4 REDUCCIÓN DE NANOPARTÍCULAS DE PLATA A PARTIR DE CELULOSA BACTERIANA

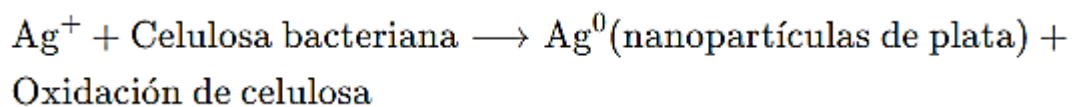
La celulosa bacteriana es un biopolímero producido por ciertas bacterias, y puede actuar como un agente reductor y estabilizador en la síntesis de nanopartículas de plata. Durante el proceso, los iones de plata (Ag^+) se reducen para formar nanopartículas de plata (Ag^0).

La reacción química básica para la reducción de iones de plata utilizando celulosa bacteriana se puede escribir de la siguiente manera:



Los grupos hidroxilo (-OH) presentes en la celulosa bacteriana actúan como agentes reductores. Estos grupos donan electrones a los iones de plata (Ag^+). Los iones de plata (Ag^+) se reducen a plata metálica (Ag^0), que luego se nuclea y forma nanopartículas. Como resultado de la reducción, el grupo hidroxilo en la celulosa se oxida a un grupo carbonilo (C=O).

La reacción simplificada se puede expresar de la siguiente manera:



En la reacción, la "oxidación de celulosa" se refiere a la formación de grupos carbonilo en la estructura de la celulosa debido a la pérdida de electrones que reduce los iones de plata. Este método de síntesis verde es muy valioso porque es amigable con el medio ambiente y evita el uso de agentes químicos tóxicos.

1.5 MADRES DE VINAGRE

La madre del vinagre (**Figura 1.11**) es la celulosa extracelular, es una capa gruesa y dura formada por bacterias del ácido acético en la superficie del vinagre durante la fermentación [122]. Los tipos más importantes de bacterias del ácido acético son aquellas de los géneros *Acetobacter* y *Gluconobacter*.



Figura 1.11 Madres de vinagre de piña.

Algunas de las cepas más importantes son *A. xylinum*, *A. aceti*, y *A. hansenii*, entre otros. Aunado a esto se ha descubierto que el *Acetobacter xylinum*, cuando se encuentra aislado del vinagre madre, todavía puede sintetizar estructuras coloidales extracelulares durante la fermentación del vinagre [123].

El vinagre es uno de los alimentos más populares en el mundo [112]. Actualmente, el vinagre de frutas, obtenido a partir de jugo de uva, manzanas y otras frutas que contienen azúcar, se está volviendo cada vez más popular [113,114]. Se ha demostrado que el vinagre tiene beneficios para la salud gracias a su efecto antihipertensivo, alta actividad antibacteriana y antioxidante, y su capacidad para prevenir la diabetes y las enfermedades cardiovasculares, así como para reducir el hígado graso y proporcionar energía después del ejercicio [114-121,124].

1.6 ANTECEDENTES

Se ha demostrado que la celulosa, en sus diferentes formas, puede ser usada como soporte para liberación de diversos fármacos debido a su biocompatibilidad, su alta área superficial, y la relativa facilidad con que puede ser funcionalizada [125]. Hay reportes del uso exitoso de los nanocristales de celulosa [126-134] y de las nanofibras de celulosa [135-145] en esta área. En cuanto a la celulosa bacteriana, se ha reportado su uso como sistema de liberación de fármacos para entrega oral [129, 146-156] y ocular [157-163], así como para entrega transdérmica y tópica [164-169]. El uso de la celulosa bacteriana como soporte de nanopartículas de plata presenta un efecto sobresaliente como antiséptico [170-175] y por ello resulta interesante profundizar en el tema.

Entre los diversos estudios al respecto se puede citar, por ejemplo, aquel que Wei Wang y colaboradores realizaron en 2020, cuando desarrollaron una película antimicrobiana respetuosa con el medio ambiente mediante la incorporación de nanopartículas de plata (AgNPs) y alcohol de polivinilo (PVA) en nanocelulosa bacteriana (BNC) a través de un método de reducción asistido por UV. Se observó que las AgNPs cambiaron el color de las películas de blanco a marrón sin afectar químicamente las estructuras superficiales de las películas; que las propiedades mecánicas de la película mejoraron debido a la adición de

PVA; y que la solución de PVA rompió y volvió a conectar físicamente las fibras BNC, y el PVA contribuyó a que la película fuera más flexible. La actividad antimicrobiana de la película BNC modificada con AgNPs se evaluó mediante pruebas de difusión en agar. Se registró actividad antimicrobiana contra *E. coli* en películas con reducciones de entre 1.946 y 1.098 UFC/mL en medio líquido y en carne cruda, respectivamente [176].

También es notable el estudio realizado por Sasiporn Audtarat y colaboradores en 2022, quienes sintetizaron compósitos de celulosa bacteriana con nanopartículas de plata para evaluar su actividad antimicrobiana contra las bacterias *E. coli* y *S. aureus*. Se empleó una nanocelulosa bacteriana obtenida de desechos agrícolas de extractos de plátano, levadura y peptona, por acción de la *G. xylinius*. Las nanopartículas de plata fueron preparadas por separado e incorporadas físicamente en la matriz de celulosa por medio de agitación en proporciones de 0.05, 0.1 y 0.2 %p/v durante 24 horas. Fueron caracterizadas por TEM, DRX, FTIR y UV-VIS para comprobar la correcta incorporación de las partículas en la matriz polimérica. Se obtuvieron los valores de concentración inhibitoria mínima (MIC) y concentración bactericida mínima (MBC) contra la *E. coli* y *S. aureus* en agar. Se encontró que el valor de MIC fue de 250 µg/mL tanto para la *E. coli* como para la *S. aureus*, mientras que los valores de MBC fue de 500 y 2000 µg/mL para la *E. coli* y la *S. aureus*, respectivamente [177].

Otro ejemplo es el estudio que desarrollaron Sol de Zhenbing y colaboradores en 2022, que alquilaron y esterificaron la celulosa bacteriana para producir una carboximetil celulosa bacteriana (CMBC), la cual se modificó con nanopartículas de plata para producir películas con propiedades antibacterianas. Las películas se caracterizaron por medio de TGA, SEM y pruebas mecánicas, y se evaluó su actividad antibacteriana contra *S. aureus* y *E. coli*. Los resultados indicaron que la adición de las AgNPs mejoró notablemente la actividad antimicrobiana de las películas en un 44% para *E. coli* y en un 59% para *S. aureus*, así como también las propiedades físicas y mecánicas [178].

Finalmente, en 2023, Mohamed T. Shaaban y colaboradores evaluaron el uso de la celulosa bacteriana impregnada con nanopartículas de plata como una membrana antimicrobiana para el tratamiento de la cicatrización de heridas. Las muestras se caracterizaron mediante UV/Vis, FTIR, DRX y TEM y se evaluó su actividad antimicrobiana en contra de las

bacterias *S. aureus* y *P. aeruginosa*. Los materiales mostraron una buena actividad antimicrobiana en contra de ambas bacterias y sin una diferencia significativa, obteniendo valores de 1.25 mg/mL tanto de concentración inhibitoria mínima (MIC) como de concentración bactericida mínima (MBC) [179].

Como antecedente de investigación se tiene un nuevo proceso para obtener nanopartículas de celulosa basado en la reacción TEMPO [184]. Saito en 2006 introdujo la oxidación de celulosa aplicando 2,2,6,6-tetrametilpiperidina-1-oxyl (TEMPO). Este método explica que los materiales celulósicos crudos se procesan mediante unas tijeras químicas nanométricas para obtener celulosa microfibrilada [186]. El principio básico de este método consiste en la oxidación de las fibras de celulosa por NaClO en presencia del catalizador TEMPO y NaBr con un pH de entre 10 y 11, y a temperatura ambiente [187]. Este método deja accesibles los hidroxilos primarios en la superficie de las fibras, y se los aldehídos se oxidan a grupos carboxilos con carga negativa [188]; como resultado, las nanofibrillas dentro de las fibras se desenrollan por la agitación mecánica y por las fuerzas repulsivas entre los carboxilatos ionizados y los puentes de hidrógeno (Eichhorn et al., 2010). Entre mayor cantidad de NaClO, mayor cantidad de grupos carboxilados se forman en la superficie, por lo tanto, el tiempo de oxidación aumenta y decrece la longitud de las nanofibrillas obtenidas [189]. Normalmente, el procedimiento de oxidación TEMPO es seguido por tratamiento mecánico para eliminar la celulosa microfibrilada incompleta [189]. Se ha encontrado que este sistema de oxidación permite tener una distribución uniforme de nanofibrillas (≈ 5 nm de ancho) y materiales libres de grupos aldehídos [185, 190].

CAPÍTULO 2

DESARROLLO DE LA EXPERIMENTACIÓN

Se sintetizaron películas de nanocelulosa bacteriana procedente de madres de vinagre de piña y dopadas con nanopartículas de plata (BNC-AgNPs) con concentraciones de 5, 25, 50, 75 y 100 ppm por medio de fotoreducción con lámpara de sodio y en baño ultrasónico [183], la síntesis se realizó por triplicado. Las películas sintetizadas, junto con una serie de blancos de BNC pura sin nanopartículas de plata, fueron caracterizadas por medio de microscopía óptica, Análisis Infrarrojo por Transformada de Fourier (FTIR), Análisis Termogravimétrico (TGA), Difracción de Rayos X (DRX) y Microscopía Electrónica de Barrido (SEM).

La metodología mencionada se muestra en la **Figura 2.1**

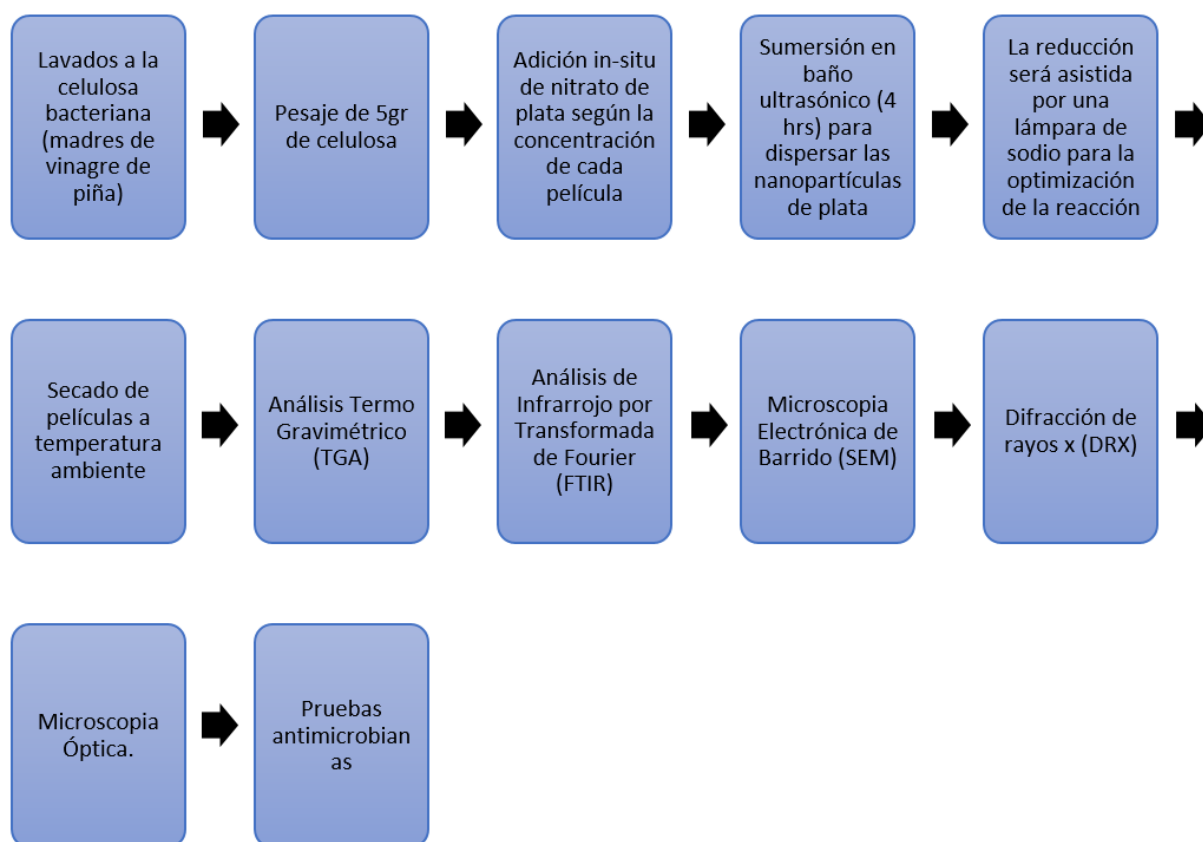


Figura 2.1 Diagrama general de la experimentación.

Posteriormente, fue evaluada la actividad antimicrobiana de todas las series de muestras en contra de las bacterias *E. coli* y *S. aureus*.

2.1 MATERIALES Y REACTIVOS

Materiales

La nanocelulosa bacteriana a utilizar fue formada por madres de vinagre de piña que está compuesta principalmente por las levaduras *Saccharomyces ellipsoideus* y *S. cerevisiae*, así como por las bacterias *Acetobacter acético*, *A. Xylinum*, *A. Ascendens*, y algunas bacterias del género *Gluconobacter* [180,181].

Para la reducción mediada por un baño ultrasónico será empleado el equipo Vevor Modelo JPS-08A(DD).

Reactivos

- Nitrato de plata (AgNO_3)
- Agua desionizada
- Hidróxido de Sodio (NaOH)

2.2 EQUIPOS

La síntesis y caracterización de las películas de BNC-AgNPs se llevó a cabo en el Centro de Investigación en Petroquímica del Instituto Tecnológico de Ciudad Madero, donde se encontraban los recursos materiales e instalaciones necesarias. Las pruebas de actividad antimicrobiana se llevaron a cabo en colaboración con el Centro de Investigación en Química Aplicada (CIQA). A continuación, se enlistan los equipos que fueron empleados para desarrollar la presente investigación:

- Balanza Analítica, Adventurer Pro Modelo AV264C

- Perkin Elmer Spectrum 100 FT-IR Spectrometer
- Microscopio Óptico Carl Zeiss Modelo Axio Lab.A1
- Baño ultrasónico, Vevor Modelo JPS-08A(DD)
- Parrilla de agitación, IKA C-MAG HS7
- Potenciómetro digital Hanna, Modelo: HI1217D
- TGA, TA Instruments Modelo Q600 SDT

2.3 TRATAMIENTO DE LA NANOCELULOSA BACTERIANA

Lavados con agua y alcohol nivelando el pH

Las madres de vinagre de piña fueron lavadas con una mezcla 50:50 alcohol isopropílico y agua desionizada de dos a tres veces (**Figura 2.2**) regulando un pH de entre 3 y 4 a temperatura ambiente en agitación constante, y una vez que el pH estuvo estabilizado se realizaron de tres a cuatro lavados con agua destilada hasta alcanzar un pH de entre 4 y 5.

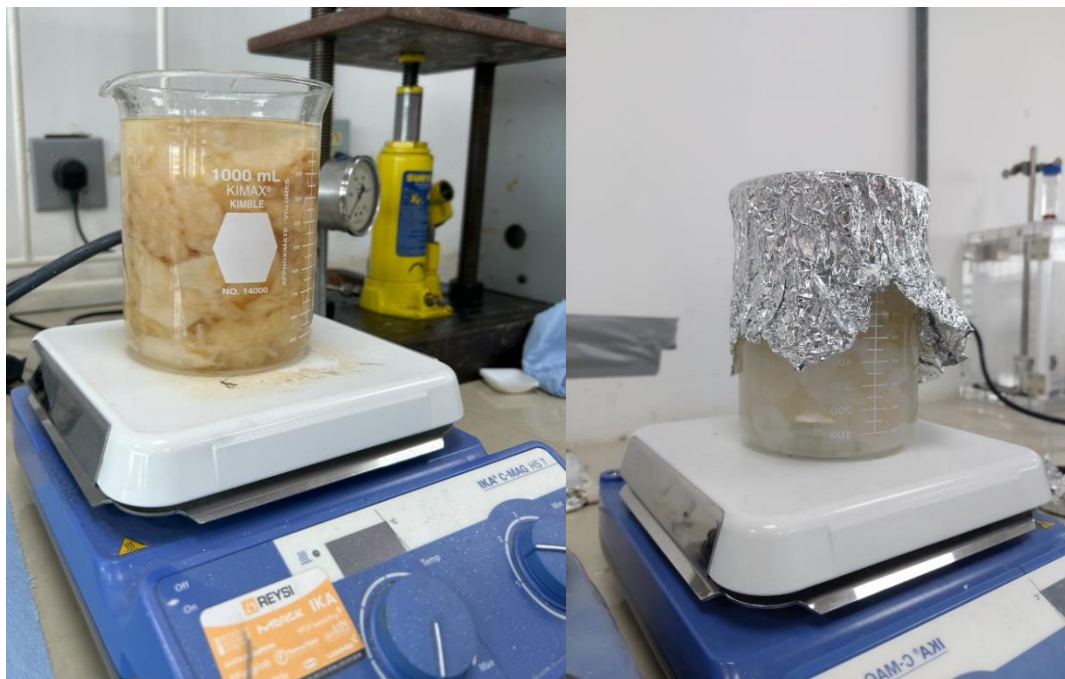


Figura 2.2 Madres de vinagre en proceso de lavado.

2.4 PREPARACIÓN DE NANOPARTÍCULAS DE PLATA

Las películas de nanocelulosa bacteriana fueron impregnadas con soluciones de nitrato de plata (**Figura 2.3**) con concentraciones de 5, 25, 50, 75 y 100 ppm. Dichas soluciones fueron preparadas considerando la siguiente fórmula:

$$PPM: \frac{\text{masa del soluto}}{\text{masa disolución}} * 1000000$$

Ecuación 2.1 Formula para obtención de partes por millón

Donde:

Masa de soluto: peso de nitrato de plata (mg)

Masa de disolución: peso de celulosa (mg)

PPM: concentración a obtener

Por tanto, quedaría:

$$\text{Masa soluto: } \frac{\text{masa de disolución} * PPM}{1000000}$$

Ecuación 2.2 Formula para obtención de masa del soluto



Figura 2.3 Solución de nitrato de plata.

2.5 PREPARACIÓN DE LAS PELÍCULAS DE NANOCELULOSA BACTERIANA CON NANOPARTÍCULAS DE PLATA (BNC-AgNPs)

Fueron pesadas muestras de 5 gr de nanocelulosa bacteriana (madres de vinagre de piña) y colocadas en bandejas pequeñas para luego ser trituradas y reinstaladas en pequeños viales de vidrio con tapa. Posteriormente fueron agregados los mililitros correspondientes de las soluciones de nitrato de plata (**Figura 2.4**), los cuales se indican en el apartado 2.4.



Figura 2.4 Impregnado de las películas con solución de nitrato de plata.

Para lograr la reducción del nitrato de plata a nanopartículas de plata, los viales fueron expuestos a la luz amarilla de una lámpara de sodio (**Figura 2.5**) durante una hora, al mismo tiempo que eran sometidos a las vibraciones de un baño ultrasónico para asegurar la dispersión de las partículas en toda la celulosa bacteriana. Posteriormente, las muestras fueron vertidas en bandejas y se les dejó secar entre dos y tres semanas hasta obtener películas sólidas.

Se repitió el proceso con un grupo de viales con BNC, pero sin nitrato de plata para usar como blancos.

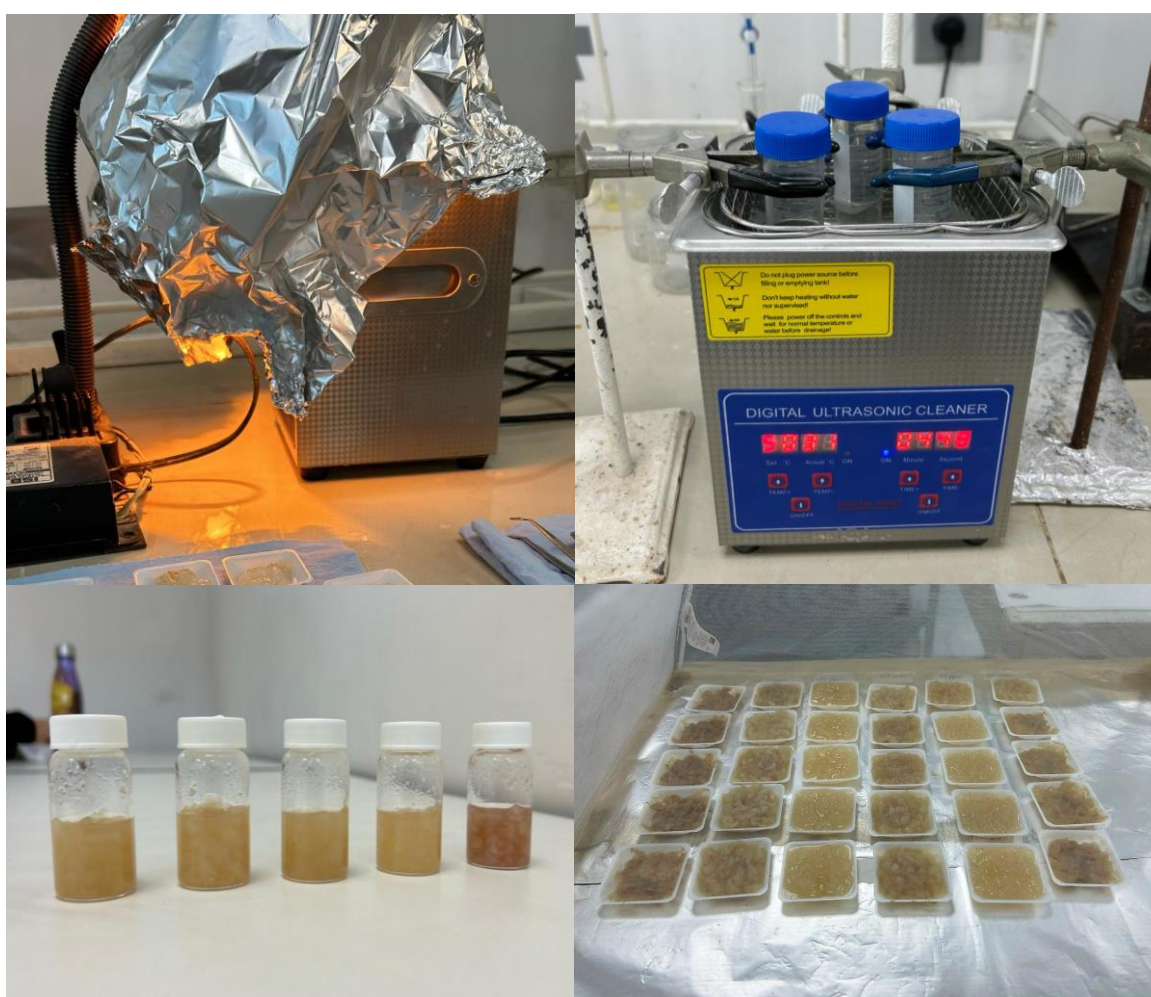


Figura 2.5 Exposición a lámpara de sodio de la nanocelulosa bacteriana con nanopartículas de plata.

2.6 ANÁLISIS TERMOGRAVIMÉTRICO (TGA)

El Análisis Termogravimétrico (TGA) es una técnica de análisis térmico que determina la pérdida o ganancia de masa en función de la temperatura. Se definen, básicamente, tres tipos de análisis termogravimétricos [182], cuyas representaciones gráficas se muestran en la **Figura 2.6**. En el análisis termogravimétrico isoterma, representado en la **Figura 2.6a**, se registran los cambios de masa de la muestra a una temperatura constante; en el análisis termogravimétrico, por el otro lado, la muestra se calienta mientras la masa es aún constante y se estabiliza la temperatura mientras se producen los cambios de masa, tal como se observa en la figura **Figura 2.6b**; finalmente, en un análisis termogravimétrico dinámico como el que se observa en la **Figura 2.6c**, la muestra se calienta en una atmósfera determinada y con una rampa de temperatura controlada. Mediante esta técnica se observará el perfil de descomposición térmica del material, lo cual ayudará a confirmar o negar los resultados obtenidos por la técnica de FTIR.

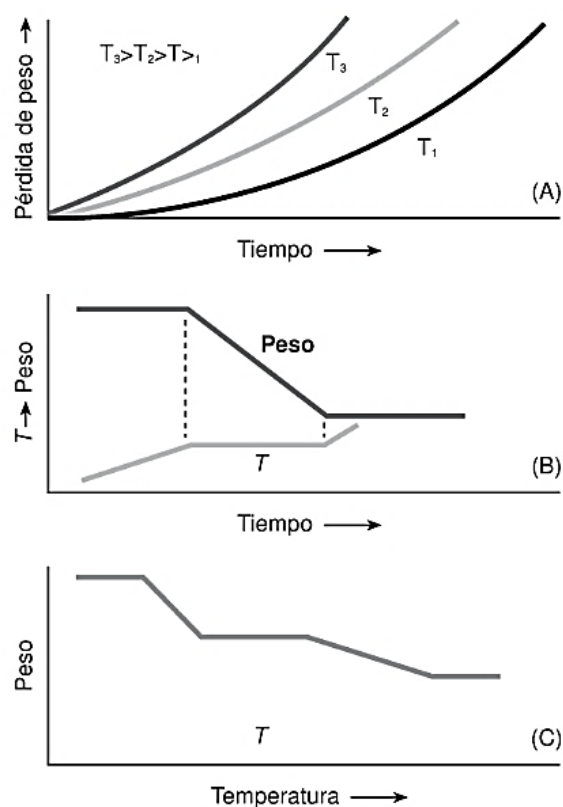


Figura 2.6 Tipos de análisis termogravimétrico: **a)** isoterma, **b)** cuasi-isoterma, y **c)** dinámico.

Dentro de la presente investigación, el análisis termogravimétrico se realizó en un equipo de TA Instruments de la serie Q600 que analiza de manera simultánea DSC y TGA (STD) (**Figura 2.7**). La prueba se realizó de 30 a 600°C con una velocidad de calentamiento de 10°C/min utilizando portamuestras de platino, con aproximadamente 10 mg de muestra en una atmosfera de nitrógeno con una velocidad de flujo de N₂ 100 mL/min [200].



Figura 2.7 TGA, TA Instruments Modelo Q600 SDT.

2.7 ANÁLISIS INFRARROJO POR TRANSFORMADA DE FOURIER (FTIR)

La Espectroscopia Infrarroja de Transformada de Fourier (FTIR) estudia la interacción entre la materia y la radiación infrarroja, radiación que corresponde a la región del espectro electromagnético que abarca las longitudes de onda entre 0.7 y 1.000 μm . Esta región se subdivide en infrarrojo cercano, infrarrojo medio e infrarrojo lejano (NIR, MIR y FIR, respectivamente, por sus siglas en inglés), correspondientes a los intervalos de longitud de onda de entre 0.7 y 2.5 μm (14300-4000 cm^{-1} , expresado en número de onda); 2.5 y 25 μm (4000-400 cm^{-1}); y 25 y 1000 μm (400-10 cm^{-1}), respectivamente. El espectro infrarrojo es

el resultado de la absorción de fotones con energías correspondientes a la banda infrarroja, lo que hace que la molécula pase a un estado vibratorio de mayor energía en el estado electrónico en el que se encuentra la especie [182]. Por medio de esta técnica se identificaron los grupos funcionales para determinar si ocurrió o no una interacción química entre la celulosa bacteriana y las partículas de plata, ya que de acuerdo a la bibliografía no es común que exista una reacción química.

La prueba de caracterización de FTIR para las películas se realizó utilizando un equipo de la marca Perkin Elmer Spectrum 100 con un accesorio ATR con placa diamante (**Figura 2.8**), en un rango de 4000 a 600 cm^{-1} , con 12 escaneos y una resolución de 4 cm^{-1} [200].



Figura 2.8 Perkin Elmer Spectrum 100 FT-IR Spectrometer.

2.8 MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE BARRIDO (SEM)

La microscopía electrónica de barrido (por sus siglas en inglés SEM) es una técnica que determina las características morfológicas de una superficie escaneada por un haz.

La superficie a atacar debe ser conductora, esté pulida o no. Los aumentos que se pueden conseguir con este método oscilan entre 10 y 50000 aumentos y se caracterizan por una gran profundidad de campo. El efecto de la fuerza del SEM comienza con la aceleración de los electrones en un campo eléctrico. Luego, estos electrones pasan a través del cañón, donde el haz incide en electrones de alta energía (electrones incidentes) contenidos en el sistema de lentes (condensador y objetivo), lo que permite que las imágenes de fibra óptica obtengan la menor cantidad posible de electrones cuantitativos en un haz para mejorar la resolución. Luego, el haz de electrones irradia la muestra y crea una interacción en respuesta a la influencia del electrón y la pérdida de energía del electrón. Al impactar, produce electrones incidentes llamados electrones secundarios y electrones retrodispersados, que abandonan la muestra y son detectados por instrumentos. Finalmente, cada dispositivo registra el número y la detectabilidad de los electrones y los convierte en una señal digital interpretada como intensidad de color para crear una imagen.

La microscopía electrónica de barrido se realizó con el equipo de la marca JEOL Modelo: JSM-IT200 (**Figura 2.9**), las pruebas fueron realizadas de acuerdo a la especificación ASTM E1508.

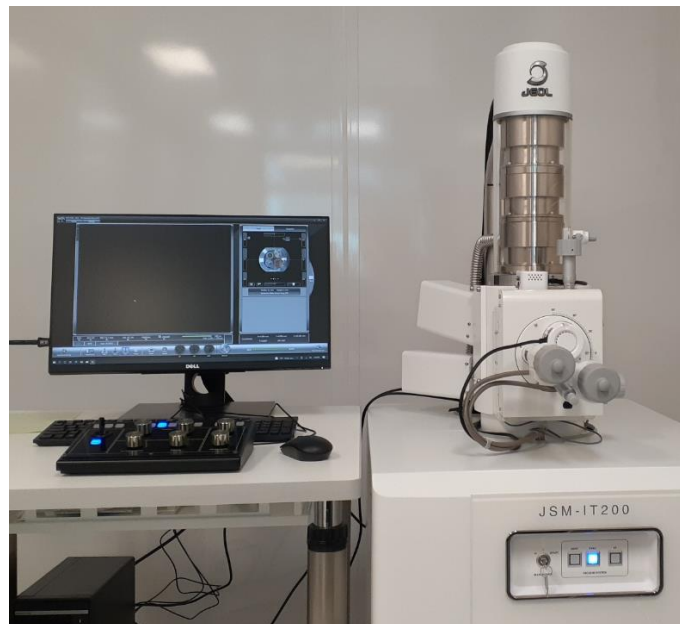


Figura 2.9 SEM, equipo de la marca JEOL Modelo: JSM-IT200.

2.9 DIFRACCIÓN DE RAYOS X (DRX)

La Difracción de Rayos X (DRX) es una técnica que facilita el estudio y análisis de materiales, basada en el fenómeno de difracción de los rayos X por sólidos en estado cristalino. Cuando los rayos X inciden sobre una muestra cristalina, los planos o capas atómicas y moleculares de dicha muestra difractan los rayos X y son recolectados por un detector (**Figura 2.10**). Los espectros obtenidos muestran las distancias entre las capas o planos del material analizado, a nivel atómico y molecular. Estas distancias son específicas para cada tipo de sustancia, por lo que el espectro DRX permite analizar la composición de la muestra [182]. Por medio de esta técnica se observarán las estructuras cristalinas dentro de la celulosa, y si la presencia de las partículas de plata afecta o no su cristalinidad.

La caracterización se realizó en un difractómetro de rayos X ángulo bajo, utilizando un difractómetro EMPYREAN, y una configuración satge flat simple y minimun step size 2. Para este análisis se tomaron dos películas de nanocelulosa, el blanco y 100 ppm.

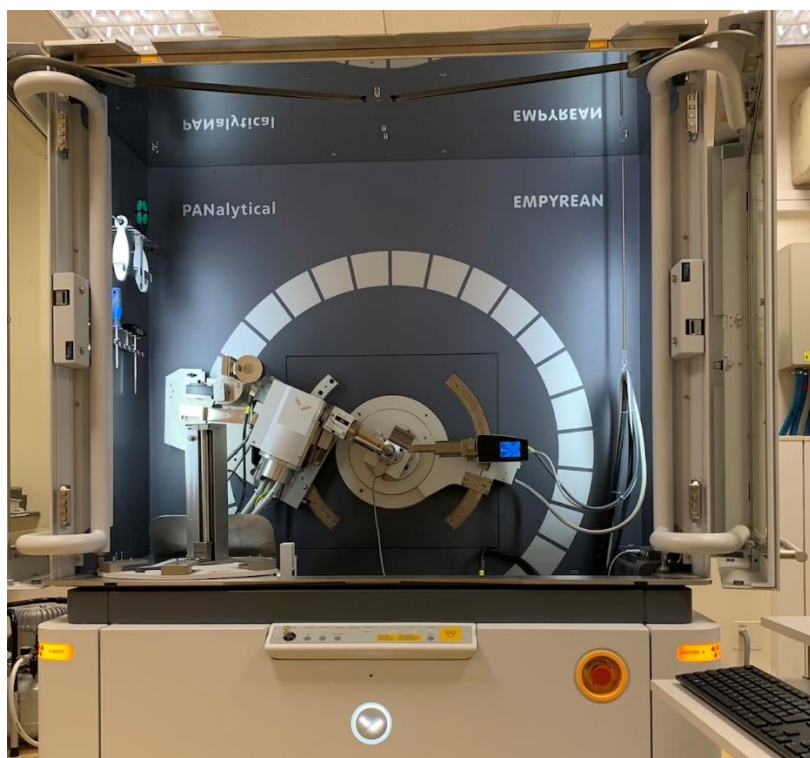


Figura 2.10 DRX, equipo de la marca EMPYREAN.

2.10 MICROSCOPIA ÓPTICA

La microscopía óptica es un conjunto de técnicas y métodos destinados a visualizar objetos de estudio, que por su pequeño tamaño superan el poder de resolución del ojo normal.

La microscopía óptica permite observar la morfología de la superficie de las películas antimicrobianas. Esto incluye la distribución y el tamaño de las nanopartículas de plata en la película. Una superficie homogénea con una distribución uniforme de nanopartículas puede ser indicativa de una buena calidad del recubrimiento.

Permite también identificar defectos, grietas o irregularidades en la película que podrían comprometer su eficacia antimicrobiana. Los defectos pueden influir en la liberación de las nanopartículas de plata y, por tanto, en su actividad antimicrobiana.

En películas de múltiples capas, la microscopía óptica puede ayudar a evaluar la integridad de cada capa y cómo las nanopartículas de plata están distribuidas a lo largo de estas capas.

Sin embargo, es importante tener en cuenta que la resolución de la microscopía óptica puede no ser suficiente para observar detalles a escala nanométrica. En estos casos, es común complementar la microscopía óptica con técnicas de mayor resolución como la microscopía electrónica de barrido (SEM) o la microscopía de fuerza atómica (AFM).

La microscopía óptica para las películas se realizó con el Microscopio Zeiss Modelo: AXIO lab 10 (**Figura 2.11**) usando un aumento de 10x y un software Motic Image 3 Plus y una cámara Moticom 1SP1.3MP.



Figura 2.11 Microscopio Óptico Carl Zeiss Modelo Axio Lab.A1

2.11 PRUEBAS ANTIMICROBIANAS

JIS Z 2801, desarrollado por la Organización de Estándares Industriales de Japón (JIS), prueba la capacidad de plásticos, metales, cerámicas y otras superficies antibacterianas para inhibir el crecimiento o matar microorganismos en objetos. El proceso tiene una alta sensibilidad antibacteriana y tiene aplicaciones prácticas en todas partes, desde hospitales y centros clínicos hasta empresas de consumo preocupadas por la capacidad del material para soportar el crecimiento bacteriano.

Se seleccionan dos tipos de superficies:

Superficie tratada que contiene el agente antimicrobiano a evaluar y superficie control la cual no tiene tratamiento antimicrobiano.

Para los cultivos bacterianos:

Generalmente se utilizan *Escherichia coli* (Gram-negativa) y *Staphylococcus aureus* (Gram-positiva) en el cual las bacterias se suspenden en un medio de cultivo que simula condiciones favorables para el crecimiento, como un líquido nutritivo diluido.

Para la inoculación de las superficies:

Se coloca una cantidad precisa de la suspensión bacteriana (habitualmente 0,4 mL) sobre la superficie de prueba. La suspensión se cubre con una película o lámina delgada para evitar que el líquido se evapore durante la incubación y para asegurar un contacto uniforme con la superficie. Las superficies inoculadas se colocan en un ambiente controlado (habitualmente una cámara de incubación). Las condiciones de incubación estándar son a una temperatura de 35 ± 1 °C y tiempo generalmente de 24 horas.

Tras el período de incubación, las bacterias se recuperan de las superficies utilizando un medio líquido estéril (por ejemplo, solución salina con surfactantes). Las superficies se agitan vigorosamente o se raspan para asegurar que todas las bacterias viables sean transferidas al líquido de recuperación.

Se determina el número de bacterias recuperadas utilizando técnicas microbiológicas estándar, como:

Método de dilución en serie: diluir la solución recuperada y sembrar en placas con agar nutritivo.

Conteo de colonias: Tras incubar las placas, se cuentan las colonias formadas para calcular la concentración original de bacterias.

Se compara el número de bacterias viables recuperadas de la superficie tratada con el número recuperado de la superficie control. De esta manera, fueron determinados los valores de Concentración Mínima Inhibitoria (MIC), que se define como la más baja dilución del bactericida a la cual el crecimiento del microorganismo se inhibe y que se juzga por la pérdida de turbidez en el vial inoculado, así como también los valores de Concentración Mínima Bactericida (MBC), que es la más alta dilución del bactericida que presente una inhibición del crecimiento del microorganismo igual o mayor al 99%.

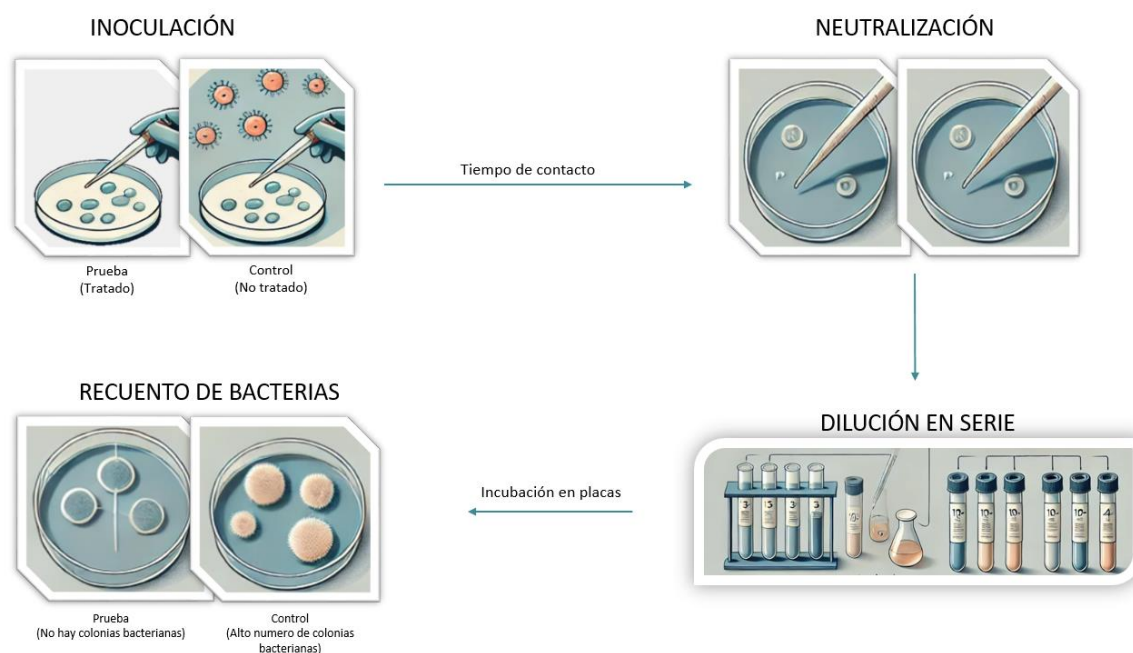


Figura 2.12 Diagrama simplificado del procedimiento JIS Z 2801

Para las películas de BNC-AgNPs se evaluó la actividad antimicrobiana en contra de las bacterias *Escherichia coli* ATCC-25922 y *Staphylococcus aureus* ATCC-29213, utilizando las cinco concentraciones de AgNPs y un blanco por barrido, es decir, series de BNC-

AgNPs con 0, 5, 25, 50, 75 y 100 ppm. Dicha prueba se realizó en el Centro de Investigación en Química Aplicada de Saltillo, en el estado de Coahuila.

A continuación, se reportan los valores obtenidos de concentración mínima inhibitoria (MIC) y concentración mínima bactericida (MBC) siguiendo el diseño experimental presentado en la **Tabla 2.1**.

Tabla 2.1 Diseño experimental para la evaluación de la actividad antimicrobiana de las películas de BNC-AgNPs contra *E. coli* y *S. aureus*.

Concentración de AgNPs en BNC	E. coli		S. aureus	
	MIC	MBC	MIC	MBC
0 ppm	EMI0	EMB0	SMI0	SMB0
5 ppm	EMI5	EMB5	SMI5	SMB5
25 ppm	EMI25	EMB25	SMI25	SMB25
50 ppm	EMI50	EMB50	SMI50	SMB50
75 ppm	EMI75	EMB75	SMI75	SMB75
100 ppm	EMI100	EMB100	SMI100	SMB100

CAPÍTULO 3

RESULTADOS

A continuación, se muestran los resultados obtenidos de las caracterizaciones de las películas de BNC y BNC-AgNPs con 5, 25, 50, 75 y 100 ppm de nanopartículas de plata.

3.1 CARACTERIZACIÓN POR FTIR

Las muestras de las películas fueron evaluadas en forma de láminas para facilitar la lectura en el equipo [200].

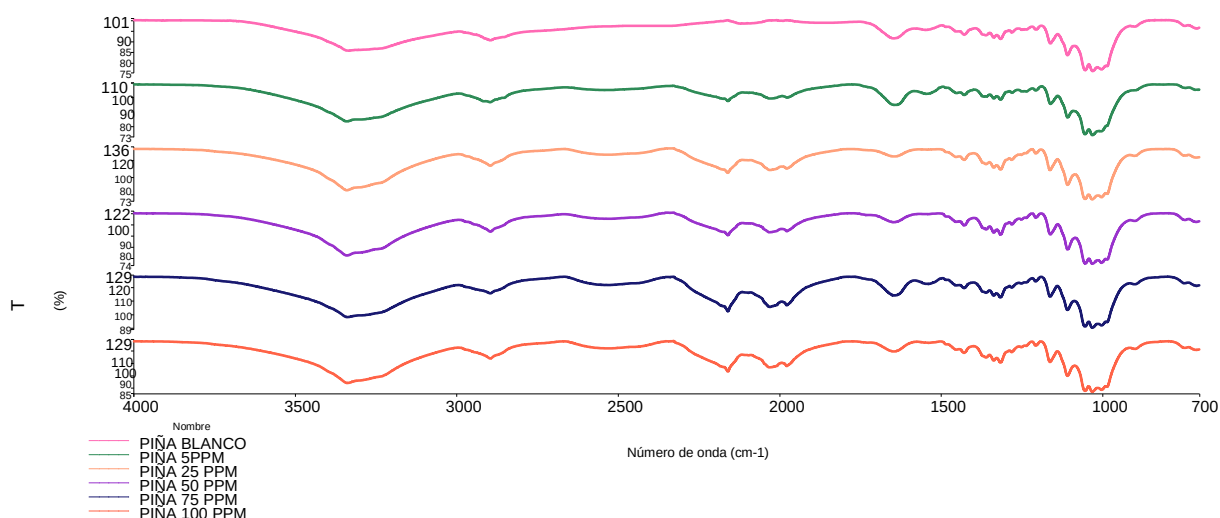


Figura 3.1 Comparativa de los espectros IR de BNC-AgNPs a las diferentes concentraciones.

En la **Figura 3.1** se muestra el espectro de FTIR con una comparativa de las concentraciones en las películas y las señales más importantes características de la celulosa bacteriana y componentes que se obtuvieron a partir de la incorporación de las nanopartículas de plata, las cuales se describen a continuación:

A 3292 cm^{-1} se observa un estiramiento O-H, este pico sugiere la presencia de grupos hidroxilo, como los que se encuentran en alcoholes o fenoles. En el caso de los alcoholes, este pico es generalmente amplio debido a la formación de puentes de hidrógeno. A 2932.82 cm^{-1} se encuentra un estiramiento C-H, la banda en esta región es característica de los enlaces C-H en grupos metilo y metileno debido a las contribuciones del anillo

glucopiranoico también conocido como silla de celulosa y que vibran a altas frecuencias gracias a la baja masa del hidrógeno en esta región específica del espectro de IR. A 1750 cm^{-1} se observa un estiramiento C=C o C=O, este pico puede ser atribuible a los enlaces dobles carbono-carbono o a los enlaces dobles carbono-oxígeno que podría indicar carboxílicos. Si las nanopartículas de plata se sintetizaron *in situ* usando la celulosa bacteriana como agente reductor, las reacciones de reducción del nitrato de plata podrían provocar modificaciones en los grupos funcionales de la celulosa. En este caso, parte de los grupos hidroxilo podrían oxidarse, generando grupos carboxílicos como subproductos. Esto ocurre porque las nanopartículas de plata se forman gracias a la capacidad reductora de los grupos funcionales de la celulosa (especialmente los hidroxilos), y durante este proceso se pueden generar especies oxidadas. A 1104 cm^{-1} se encuentra un estiramiento C-O; este pico está asociado con los enlaces C-O, común en éteres, ésteres y ácidos carboxílicos. Puede también estar relacionado con las vibraciones de flexión de los grupos metilo y metileno [203].

3.1.1 Análisis Comparativo de las Curvas

En la región de 3300 cm^{-1} hay una ligera disminución en la frecuencia con el aumento de la concentración, sugiriendo posibles interacciones de los grupos funcionales N-H o O-H con otros componentes a mayores concentraciones. En la región de 2930 cm^{-1} los picos se mantienen bastante consistentes en esta región, indicando que los grupos C-H no están significativamente afectados por el cambio en la concentración. En la región de 2115 cm^{-1} hay una ligera disminución en la frecuencia, similar a la observada en la región de 3300 cm^{-1} , sugiriendo posibles interacciones entre los grupos funcionales y otros componentes a mayores concentraciones. El pico a 1640 cm^{-1} se mantiene bastante constante, lo que sugiere que las interacciones en esta región no se ven significativamente afectadas por el aumento de la concentración. Por último, en la región de 1100 cm^{-1} los picos en esta región también se mantienen consistentes, indicando que los grupos C-O no están significativamente afectados por el cambio en la concentración de las nanopartículas de plata [203].

3.1.2 Diferencias Notables entre las Curvas

La frecuencia es ligeramente decreciente en las regiones de 3300 cm^{-1} y 2115 cm^{-1} en comparación con la **Figura 3.2**, esto sugiere que los grupos O-H, $\text{C}\equiv\text{C}$ y $\text{C}\equiv\text{N}$ experimentan alguna interacción o cambio conformacional con el aumento de la concentración, posiblemente debido a cambios en el entorno químico o interacciones intermoleculares.

También hay una consistencia notoria en las regiones de 2930 cm^{-1} , 1640 cm^{-1} y 1100 cm^{-1} , lo cual indica que los grupos C-H, C=C, C=O y C-O no están significativamente afectados por el aumento en la concentración, sugiriendo que las interacciones en estas regiones son menos sensibles a los cambios de concentración [203].

A medida que la concentración aumenta, las ligeras disminuciones en las frecuencias de ciertos picos pueden indicar interacciones intermoleculares más fuertes o cambios en el entorno químico de esos grupos funcionales específicos. La consistencia en las frecuencias de otros picos sugiere que no todas las regiones del espectro son igualmente sensibles a los cambios en la concentración de las nanopartículas de plata, lo cual es útil para identificar qué partes de la molécula se ven más afectadas.

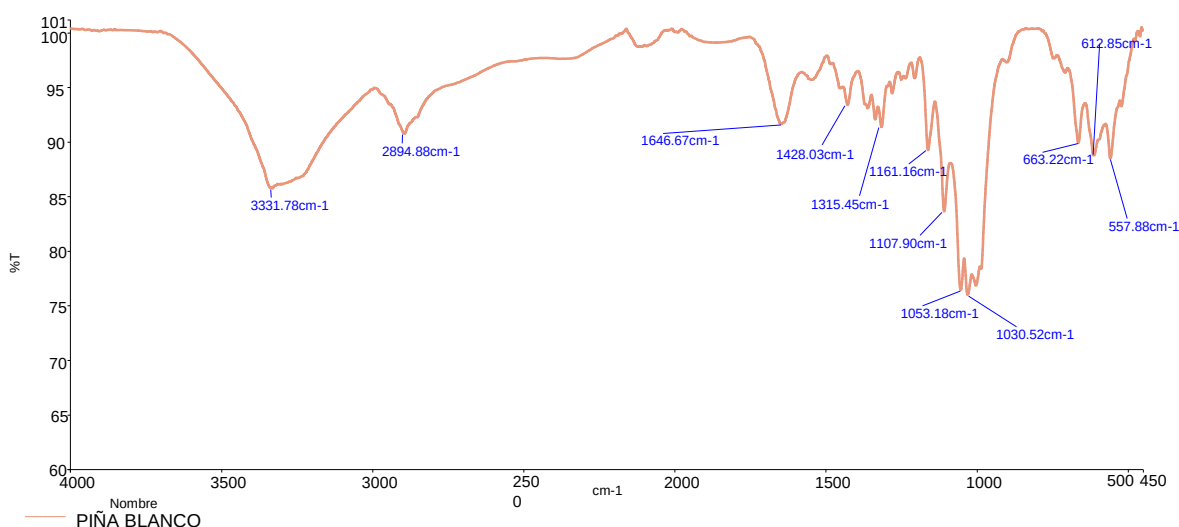


Figura 3.2 Espectro del blanco de la nanocelulosa bacteriana.

En este sentido, nuestros resultados son consistentes con los reportados por León-Jimenez *et al.* (2019) quienes encontraron que la formación de nanopartículas podría deberse a grupos carboxilo de compuestos fenólicos que tienen la capacidad de reducir los iones metálicos y actuar como agentes de estabilizantes del complejo que se forma [202].

3.2 ANÁLISIS TÉRMICO

Las pérdidas de peso observadas en los análisis térmicos (**Figura 3.3**) de las muestras pueden atribuirse a varios factores, entre los cuáles se encuentran principalmente la degradación térmica y descomposición de los materiales constituyentes [207]. Los factores que contribuyen a dichas pérdidas se explican más detalladamente a continuación.

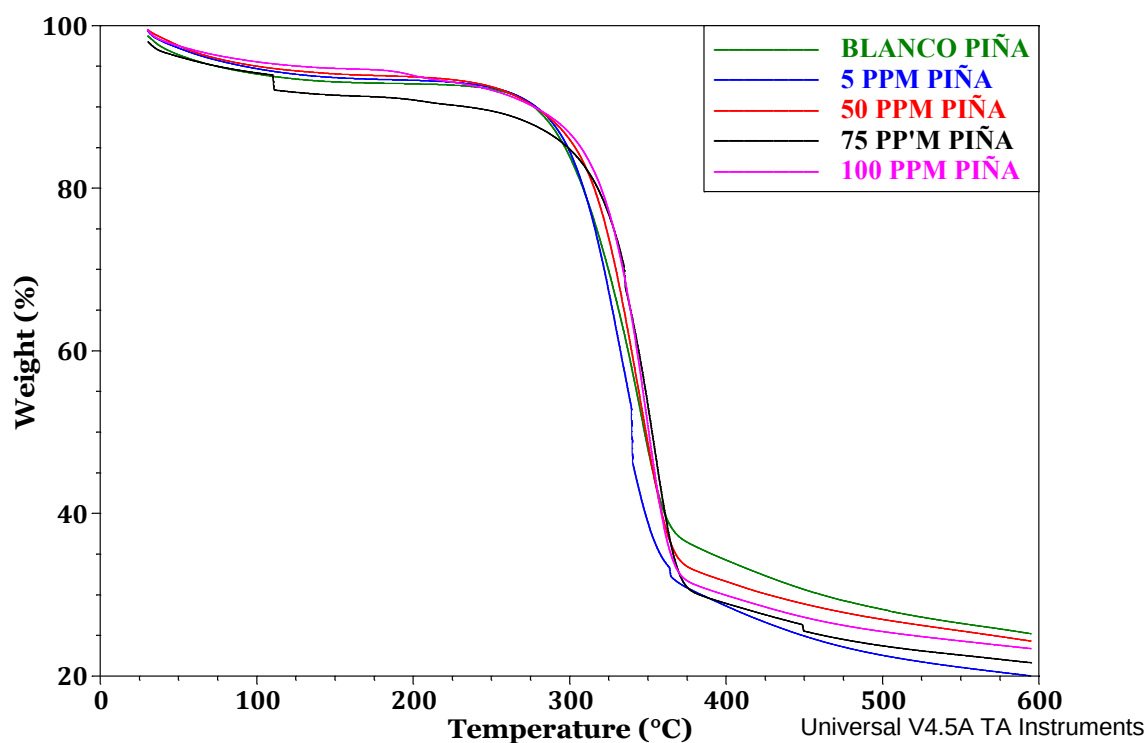


Figura 3.3 Termograma de BNC-AgNPs a diferentes concentraciones.

La descomposición de la nanocelulosa ocurre en dos etapas. La etapa inicial ocurre en el rango de temperaturas de 100 a 300°C. En esta etapa, se observa una ligera pérdida de peso que puede estar asociada con la evaporación de agua absorbida y otros componentes volátiles presentes en la muestra.

La descomposición principal, por otro lado, ocurre en el rango de temperatura de 300 a 500°C. Esta es la etapa principal de pérdida de peso donde ocurre la degradación térmica de la nanocelulosa. La cadena principal del polímero (es decir, la celulosa bacteriana) se rompe, liberando gases volátiles y pequeños fragmentos de polímero.

Aunque las partículas de plata en sí no se degradan térmicamente a las temperaturas mostradas en el termograma, su presencia puede influir en la estabilidad térmica de la nanocelulosa dándole así en este caso una mayor resistencia al polímero comparado con la celulosa normal [208].

Algunos efectos que las nanopartículas de plata pueden generar a diferentes concentraciones son:

- Bajas concentraciones de plata (5 – 50 ppm): A estas concentraciones, la influencia de las partículas de plata sobre la nanocelulosa es limitada ya que son concentraciones muy bajas, resultando en una pérdida de peso similar a la muestra sin adición (Blanco Piña).
- Altas concentraciones de plata (75 - 100 ppm): A concentraciones más altas, la interacción entre las partículas de plata y la nanocelulosa puede aumentar, resultando en un cambio en la temperatura de degradación y en una mayor pérdida de peso debido a la potencial catalización de la degradación del polímero por las partículas de plata.

El residuo de masa observado al final del análisis térmico (a temperaturas alrededor de 600 °C) representa la fracción no volátil de la muestra, que incluye las partículas de plata y otros componentes inorgánicos que no se descomponen a estas temperaturas y en relación al blanco las temperaturas son ligeramente mayores.

En resumen, las pérdidas de peso observadas en el termograma se atribuyen principalmente a la degradación térmica de la nanocelulosa y a la posible influencia catalítica de las partículas de plata, especialmente a concentraciones más altas. Las concentraciones más altas pueden indicar una ligera mejora en la estabilidad térmica después de 500°C [208]. Un resumen de este análisis se puede observar a continuación, en la **Tabla 3.1**.

Tabla 3.1 Datos térmicos obtenidos de los Termogramas de TGA.

Muestra	Inicio de Temp. de degradación (°C)	Temp. de degradación máx. (°C)	Residuo (%)
BLANCO PIÑA	320	450	≈ 7%
5 PPM PIÑA	325	455	≈ 6%
25 PPM PIÑA	-	-	-
50 PPM PIÑA	330	460	≈ 6%
75 PPM PIÑA	335	465	≈ 5%
100 PPM PIÑA	340	470	≈ 4%

En la **Figura 3.4** se muestra la derivada del peso con respecto a la temperatura, la cual indica la velocidad de pérdida de peso (%/°C) en función de la temperatura.

A medida que aumenta la concentración de las nanopartículas de plata con respecto a la nanocelulosa bacteriana, la temperatura a la que ocurre la degradación máxima también aumenta ligeramente. Esto sugiere que las concentraciones más altas de plata pueden mejorar la estabilidad térmica del material.

Las curvas para las muestras con concentraciones más altas de plata (50 ppm y superiores) son también más anchas, indicando que la degradación ocurre de manera más gradual en un

rango más amplio de temperaturas. Esto podría deberse a interacciones entre los componentes de la plata y el material base, que afectan la velocidad de descomposición.

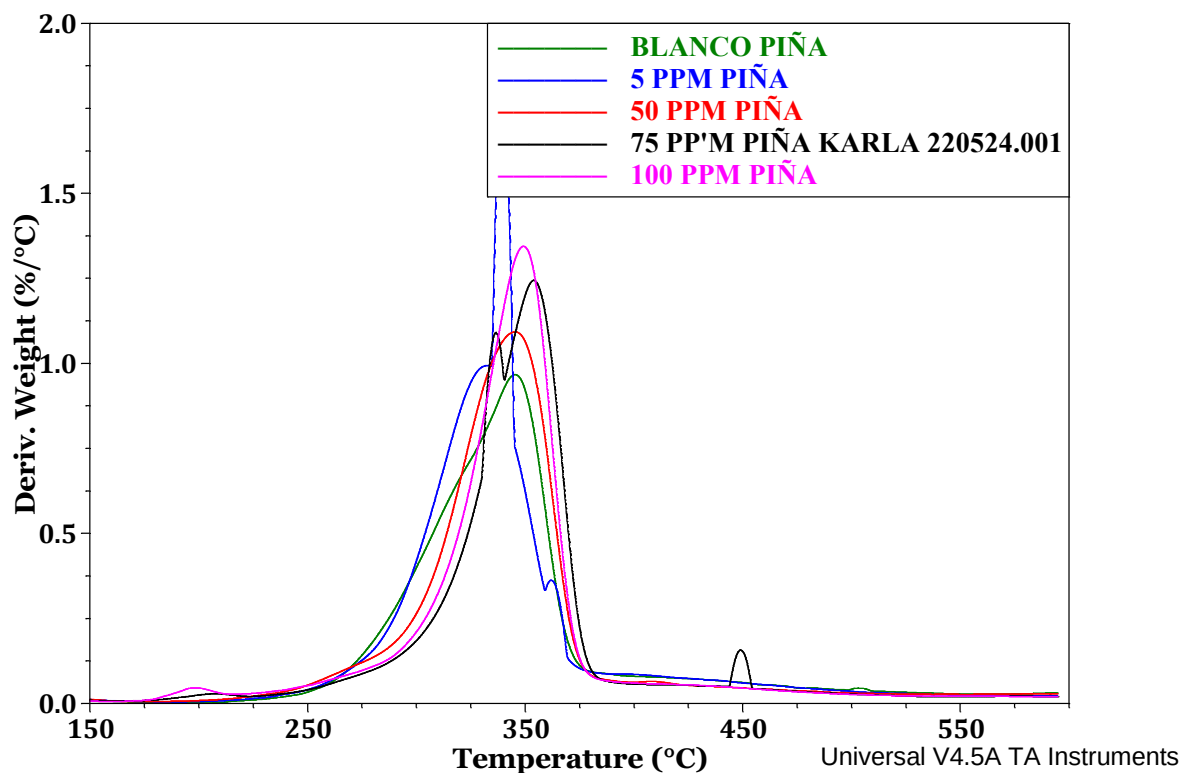


Figura 3.4 Termograma Diferencial de BNC-AgNPs a diferentes concentraciones.

Por el otro lado, las concentraciones más bajas de piña (5 ppm y blanco) muestran picos más pronunciados y estrechos, indicando una degradación rápida y específica. Las concentraciones más altas muestran una degradación más lenta y extendida.

Este análisis sugiere que la adición de plata afecta tanto la temperatura de degradación máxima como la tasa a la que ocurre la degradación, mejorando la estabilidad térmica del material a concentraciones más altas en comparativa con el blanco (**Figura 3.5**).

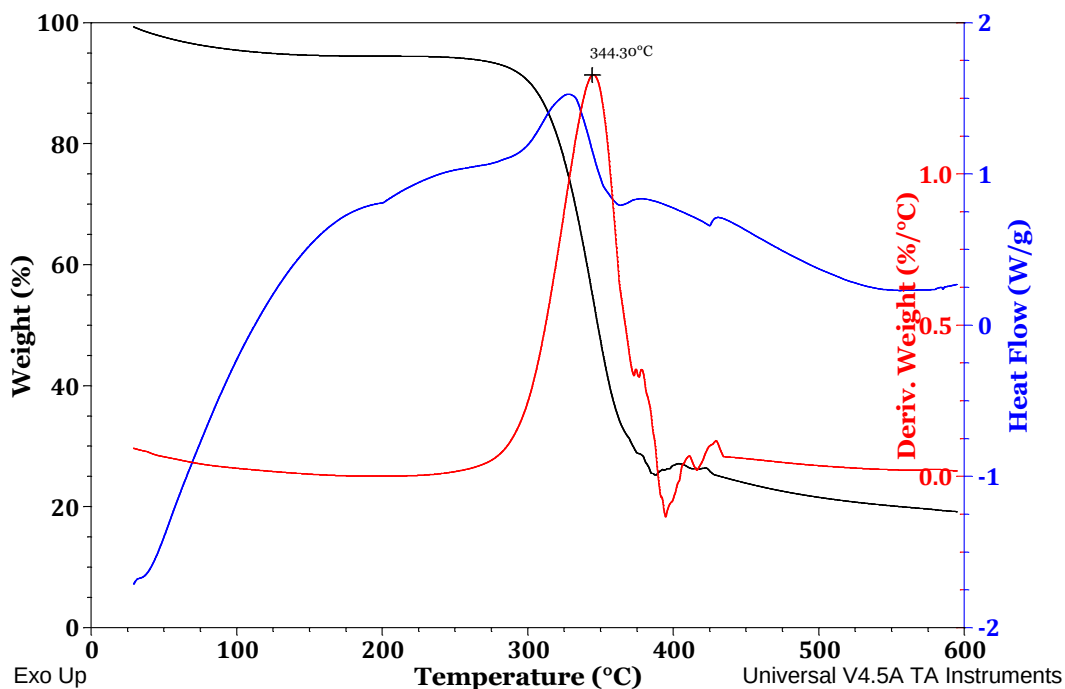


Figura 3.5 Termograma de BNC.

3.3 DIFRACCIÓN DE RAYOS X

En la **Figura 3.6** del blanco se observan dos picos principales de difracción: 14.9038° (ángulo 2θ) y 23.17588° (ángulo 2θ). El pico más intenso se encuentra a los 23.17588° con una intensidad cercana a los 4500 U.A. (Unidades Arbitrarias), mientras que en la **Figura 3.7** de 100 ppm se observan dos picos principales de difracción: 14.48363° (ángulo 2θ) y 22.72945° (ángulo 2θ). El pico más intenso se encuentra a los 22.72945° con una intensidad cercana a los 5000 U.A.

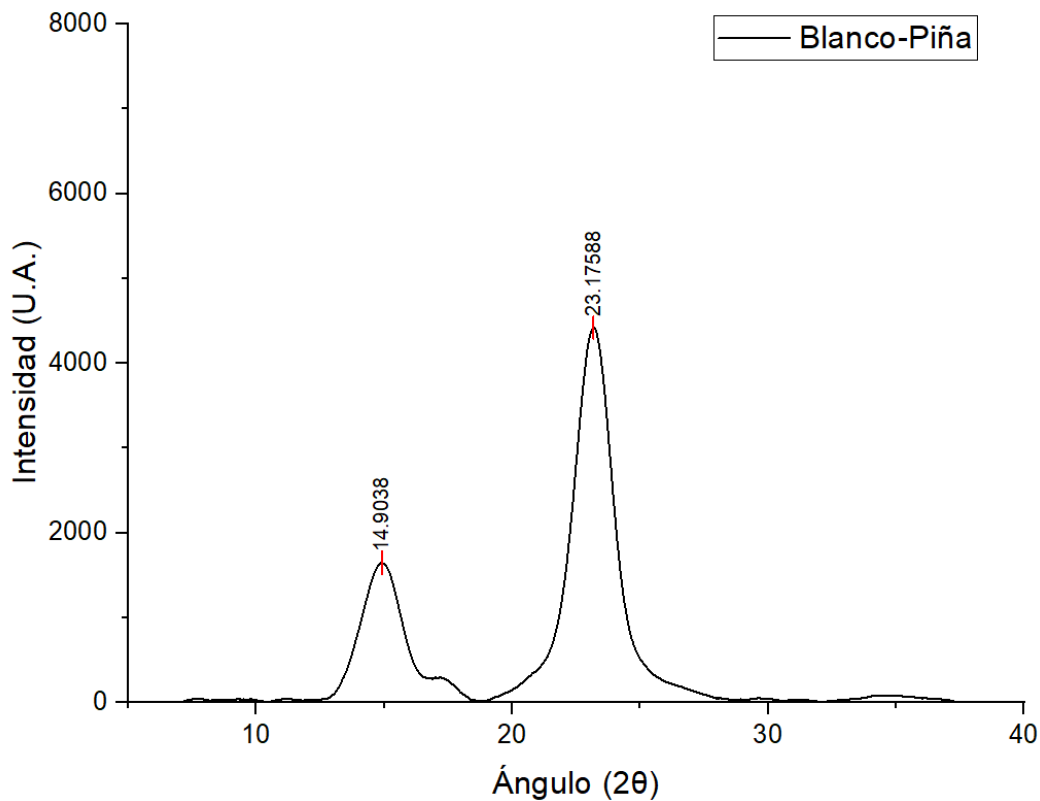


Figura 3.6 Difractograma de BNC.

En la **Figura 3.7** se observa el desplazamiento de picos en la película de celulosa con 100 ppm de AgNPs. Se puede apreciar que ambos picos se han desplazado ligeramente hacia la izquierda en comparación con la muestra Blanco-Piña, es decir, la película de celulosa bacteriana sin nanopartículas de plata. Se observa que el pico a 14.9° en el blanco se ha desplaza a 14.48° en la muestra con plata. Mientras que el pico a 23.17° en el blanco se desplaza a 22.73° en la película con plata.

Así mismo, se observa que la intensidad del pico principal en la película con nanopartículas de plata (~ 5000 U.A.) es mayor que en el blanco (~ 4500 U.A.). De igual manera, el segundo pico de la película de celulosa con plata (~ 2500 U.A.) también es mayor que el segundo pico en el blanco (~ 1800 U.A.).

El desplazamiento de los picos sugiere que hay cambios en la estructura cristalina o la composición de la muestra entre ambas películas. El aumento de la intensidad en los picos principales de la muestra con nanopartículas de plata podría indicar una mayor cristalinidad

o una fase más ordenada que en comparación con el blanco, lo cual sugiere que la adición de las nanopartículas de plata ha afectado la estructura cristalina de la muestra original [206].

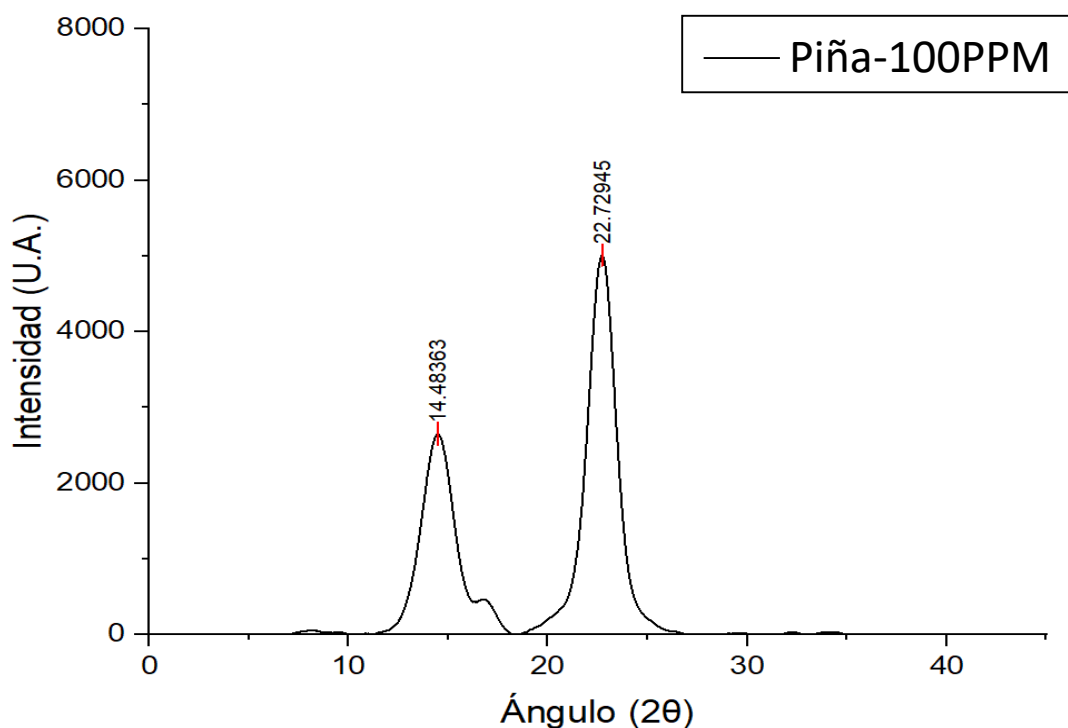


Figura 3.7 Difractograma de BNC-AgNPs con concentración de 100 ppm.

La cristalinidad se refiere al grado de orden en la estructura atómica. Cuanto mayor es la cristalinidad, más intenso es el pico en el patrón de difracción. Esto podría ser debido a que la piña contiene compuestos que promueven un empaquetamiento más ordenado o que actúan como nucleantes, facilitando la formación de cristales más grandes o más perfectos [206].

La obtención de películas a partir de nanocelulosa bacteriana utilizando como base madres de vinagre de piña podría actuar como un plastificante (haciendo el material más flexible) o como un endurecedor (haciendo el material más rígido y cristalino). El aumento en la intensidad del pico principal sugiere que, en este caso, podría estar actuando más como un endurecedor.

3.4 MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE BARRIDO (SEM)

En la **Figura 3.8** se reportan las imágenes tomadas bajo la técnica SEM a diferentes aumentos (x500, x1700, x7000) de la muestra.

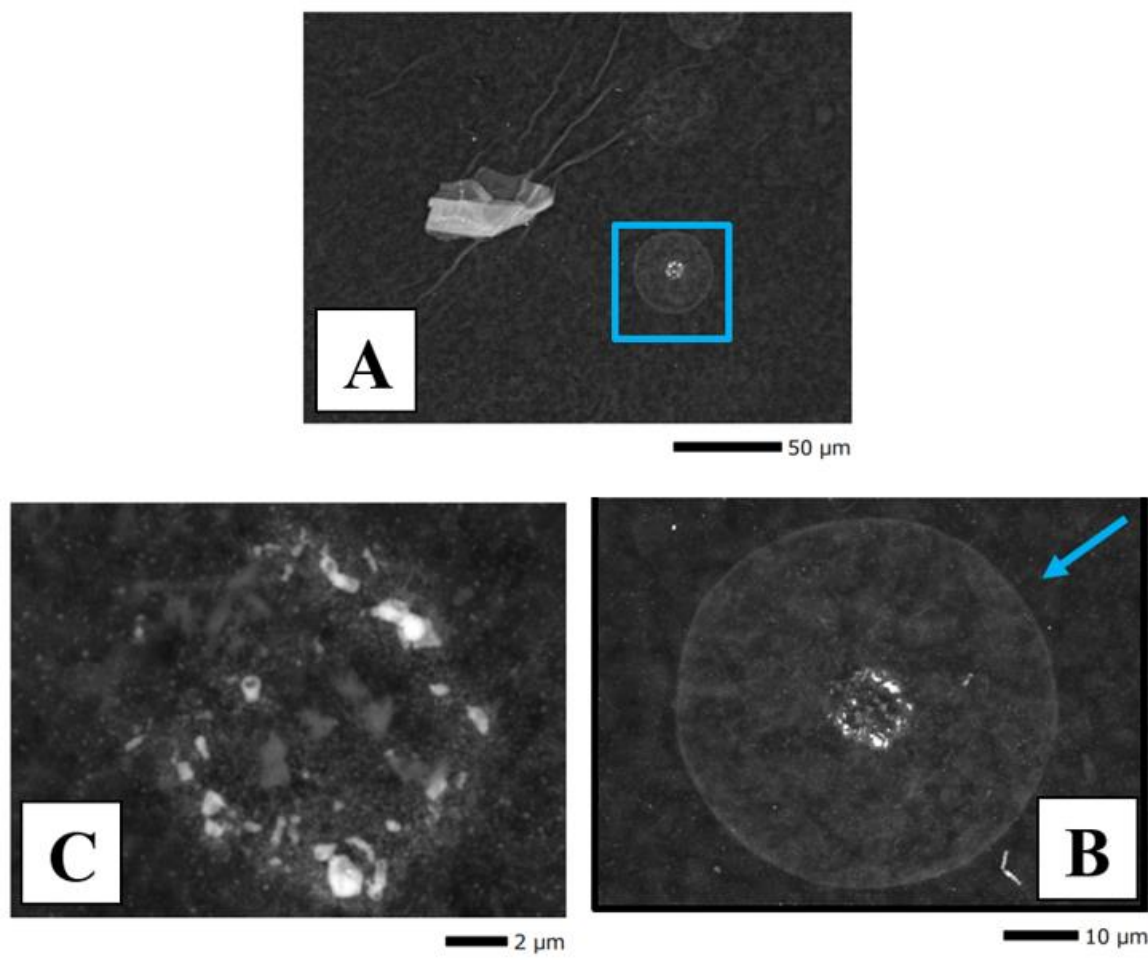


Figura 3.8 Morfología. Imágenes SEM obtenidas en la muestra de nanopartículas de plata.

En la imagen A se observa una vista general de una película de celulosa bacteriana. El recuadro azul indica una región de interés, un área en la que se concentran las nanopartículas de plata. No se aprecian claramente las nanopartículas en este aumento, pero es probable que estén incrustadas en la nanocelulosa o distribuidas en las fibras.

En la imagen B muestra una imagen de un área ampliada (la del recuadro azul del panel A). Aquí se distingue un círculo claro alrededor de una concentración central. El círculo grande, señalado con la flecha azul, puede representar el área de influencia de las nanopartículas de plata sobre la película de celulosa bacteriana. Tal vez la dispersión de las nanopartículas esté delimitada en esta región, o podría ser el rastro de un proceso de agregación o difusión de las partículas. En cuanto a la morfología de las AgNPs, a esta escala es difícil verlas individualmente, pero el círculo sugiere que las nanopartículas podrían estar en un estado agregado o disperso uniformemente dentro de esa área.

La imagen C tiene un enfoque aún más cercano, donde se ven zonas más claras que representan agregados de nanopartículas de plata. Estas regiones brillantes suelen indicar la presencia de materiales con mayor densidad electrónica (como los metales, en este caso las nanopartículas de plata). Estas partículas podrían estar interactuando directamente con la matriz de celulosa bacteriana, posiblemente inmovilizadas en sus fibras. La textura parece más granular, lo que indica que las nanopartículas pueden estar formando conglomerados de menor tamaño, posiblemente entre 10 y 100 nm, que es el tamaño típico de las nanopartículas de plata en este tipo de aplicaciones.

La nanocelulosa de fondo fibroso es característico de la celulosa bacteriana, un material biopolimérico altamente poroso. Las regiones más claras y definidas indican la presencia de AgNPs distribuidas en la superficie de la película agregadas en ciertos puntos, lo que sugiere una interacción con la celulosa. La estructura circular que aparece en la imagen B podría ser un efecto de la distribución de las nanopartículas en la película [204].

Este tipo de imágenes SEM es muy útil para estudiar cómo las nanopartículas se integran en matrices biopoliméricas, como la celulosa bacteriana, lo que tiene aplicaciones potenciales en la creación de materiales antimicrobianos y en sistemas de liberación controlada.

La interacción entre ambas estructuras (BC y AgNPs) es clave para crear materiales con propiedades antimicrobianas o aplicaciones en el campo biomédico, y las imágenes SEM muestran cómo se distribuyen y agregan las nanopartículas sobre la nanocelulosa [205].

El propósito de dicha caracterización fue identificar la morfología de las partículas en las películas. Las imágenes muestran que se obtuvieron nanopartículas a un tamaño de aproximadamente 50, 10 y 2 micrómetros, respectivamente.

En la **Figura 3.9** se aprecian en la imagen D y E dos nanopartículas de plata adherida a la película de BNC-AgNPs, las microscopías se enfocaron en un mismo plano e incrementaron el aumento del lente de x30 a x1400 y de x100 a x3500 respectivamente. La partícula tiene un tamaño aproximado de entre 10 y 5 micrómetros.

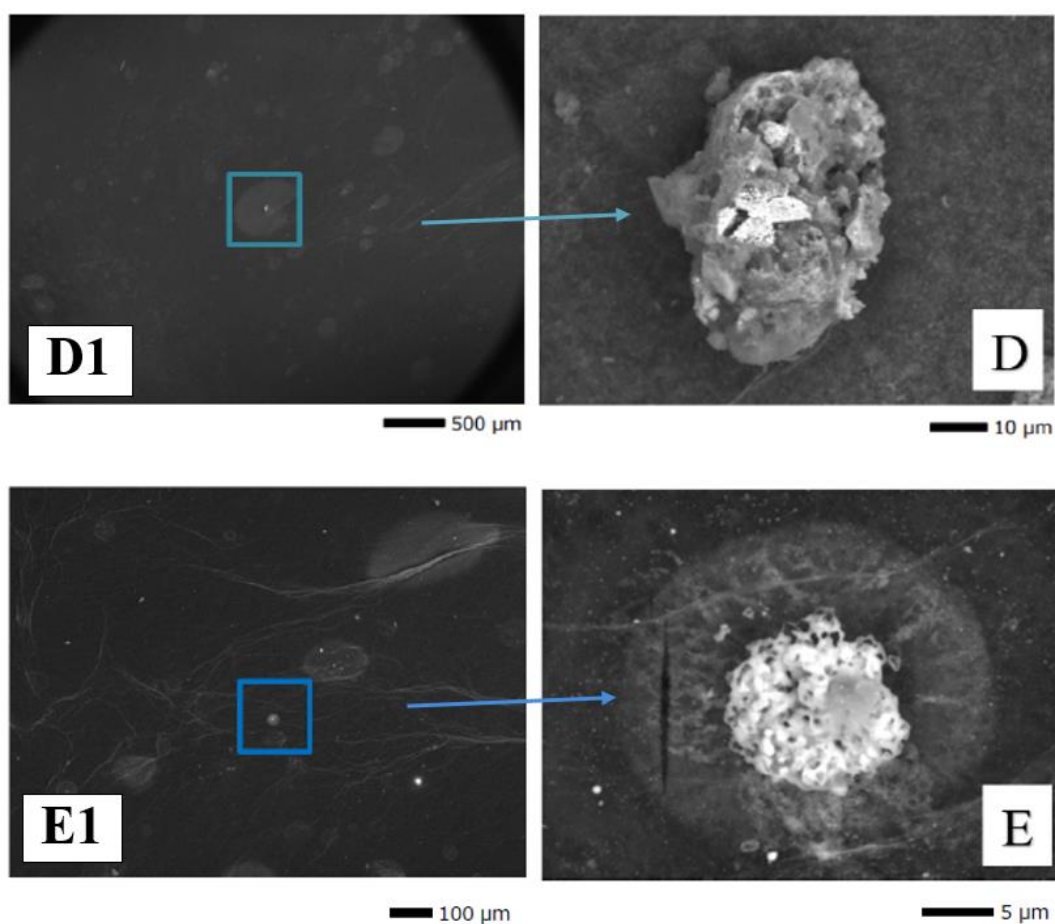


Figura 3.9 Morfología. Imágenes SEM obtenidas en la muestra de nanopartículas de plata (perspectiva desde otra zona).

En la imagen D1 el recuadro azul indica una zona de interés que se ha ampliado en la siguiente imagen (imagen D). Se observa una imagen a baja magnificación de la película de celulosa bacteriana. La escala de 500 μm indica que estamos observando una gran área

superficial. Aunque no hay detalles claros a esta magnificación, se pueden observar algunas pequeñas manchas brillantes o regiones más definidas, posiblemente áreas donde están localizadas las nanopartículas de plata o agregados de las mismas.

En la imagen D muestra una vista ampliada de la región del recuadro azul de la imagen anterior. Aquí podemos ver una estructura con un aspecto poroso e irregular, lo que sugiere que las nanopartículas de plata podrían estar aglomeradas sobre un fragmento o agregado de la matriz de celulosa. La plata tiende a formar agregados si no está bien dispersa, lo que puede observarse aquí. Algunas zonas más brillantes pueden ser regiones con una mayor concentración de plata metálica, lo que indica la presencia de nanopartículas [205].

En la imagen E1, el recuadro azul señala una zona donde parece haber una concentración de partículas más definidas, que es ampliada en la siguiente imagen (imagen E). Similar a la imagen D, esta imagen muestra una vista más amplia de la película de celulosa bacteriana. Aquí se observan fibras largas y delgadas, características de la estructura fibrosa de la celulosa bacteriana. Nuevamente se ven algunas pequeñas manchas brillantes, posiblemente nanopartículas dispersas o agregados de plata en la película, muestra un gran agregado de nanopartículas con una morfología irregular, rodeado por un área más clara.

Este tipo de agregados sugiere que las nanopartículas de plata no están completamente dispersas en la nanocelulosa, sino que se agrupan en ciertas áreas. Al igual que en las imágenes anteriores, se puede ver una zona circular alrededor del agregado, lo que podría representar un efecto de difusión o un área donde las nanopartículas han alterado la estructura de la celulosa bacteriana. La morfología de las nanopartículas dentro del agregado parece ser granular o esférica, como es común en las nanopartículas de plata cuando se agregan en grandes cantidades [204].

Este análisis sugiere que las nanopartículas de plata tienen tendencia a agregarse en áreas específicas de la película de celulosa bacteriana.

Los resultados obtenidos en este análisis se respaldan con los hallazgos reportados por Torres G. *et al* (2020), ya que en dicho artículo se han obtenido microestructuras de plata con aglomeraciones de tamaños variables [201]; en contraste con la obtención de nanopartículas de plata teniendo como medio de transporte la nanocelulosa bacteriana con

morfologías de aglomeraciones en diferentes tamaños de los cuales no es necesario reportar tamaños y formas ya que el interés de dicho estudio es únicamente la incorporación de la plata en la nanocelulosa.

3.5 MICROSCOPIA ÓPTICA

La **Figura 3.10** muestra una micrografía óptica de un blanco de celulosa bacteriana sin nanopartículas de plata, la cual fue tomada con un aumento de 10x y en modo de fluorescencia. En la micrografía se puede observar una textura homogénea que parece ser consistente con las fibras de nanocelulosa bacteriana. No se observan estructuras que indiquen la presencia de contaminantes microscópicos, como partículas metálicas o materiales no orgánicos evidentes.

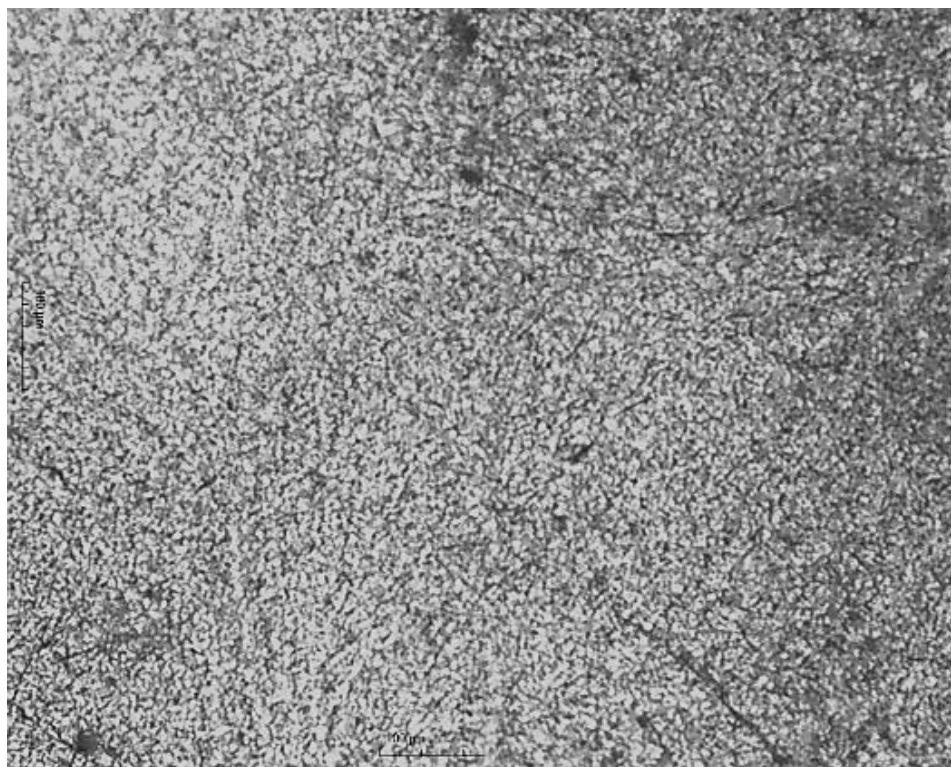


Figura 3.10 Microscopía óptica fluorescente del blanco.

En la **Figura 3.11** se observa la micrografía de una película de BNC con 5 ppm de nanopartículas plata, la cual presenta una distribución uniforme de las nanopartículas de plata. Se observa una ligera presencia de puntos oscuros, indicando una posible dispersión inicial de las partículas de plata.

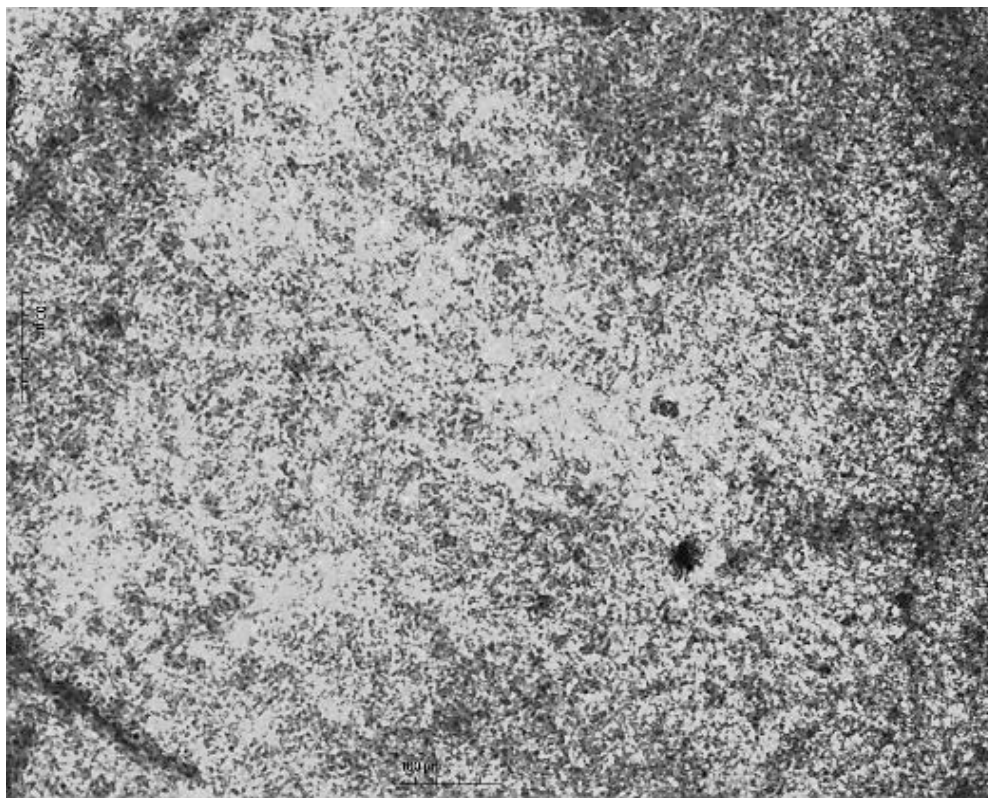


Figura 3.11 Microscopía óptica de una película de BNC con 5 ppm de plata.

En la **Figura 3.12** se muestra la micrografía de una película de BNC con 25 ppm de nanopartículas de plata, tomada bajo las mismas condiciones que las muestras anteriores. Se observa que la distribución sigue siendo homogénea, pero con un aumento notable de puntos oscuros y con algunas áreas ligeramente menos fluorescentes. Esto sugiere una mayor concentración de partículas de plata dispersas en la muestra.

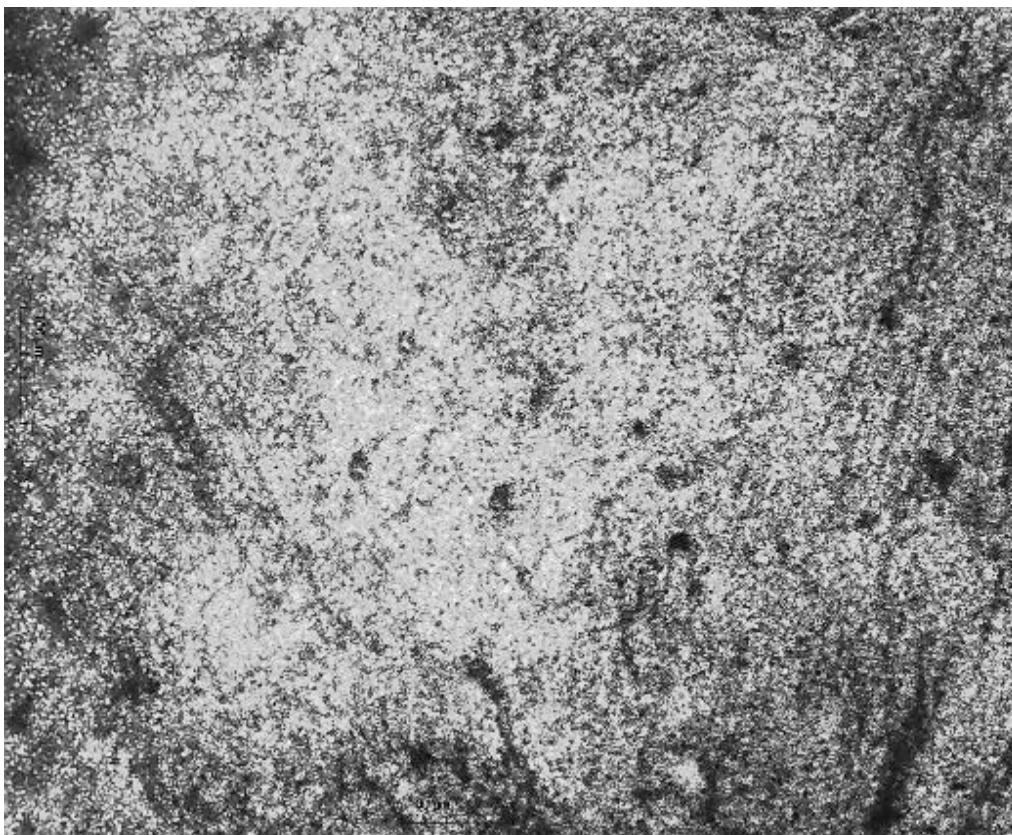


Figura 3.12 Microscopía óptica de una película de BNC con 25 ppm de plata.

La **Figura 3.13** correspondiente a la película de BNC con 50 ppm de nanopartículas de plata y tomada con las mismas condiciones que las muestras anteriores, se observa que la muestra presenta un aumento en la intensidad de la fluorescencia, con más puntos oscuros visibles. La distribución de las partículas de plata parece más pronunciada, indicando una concentración mayor de plata.

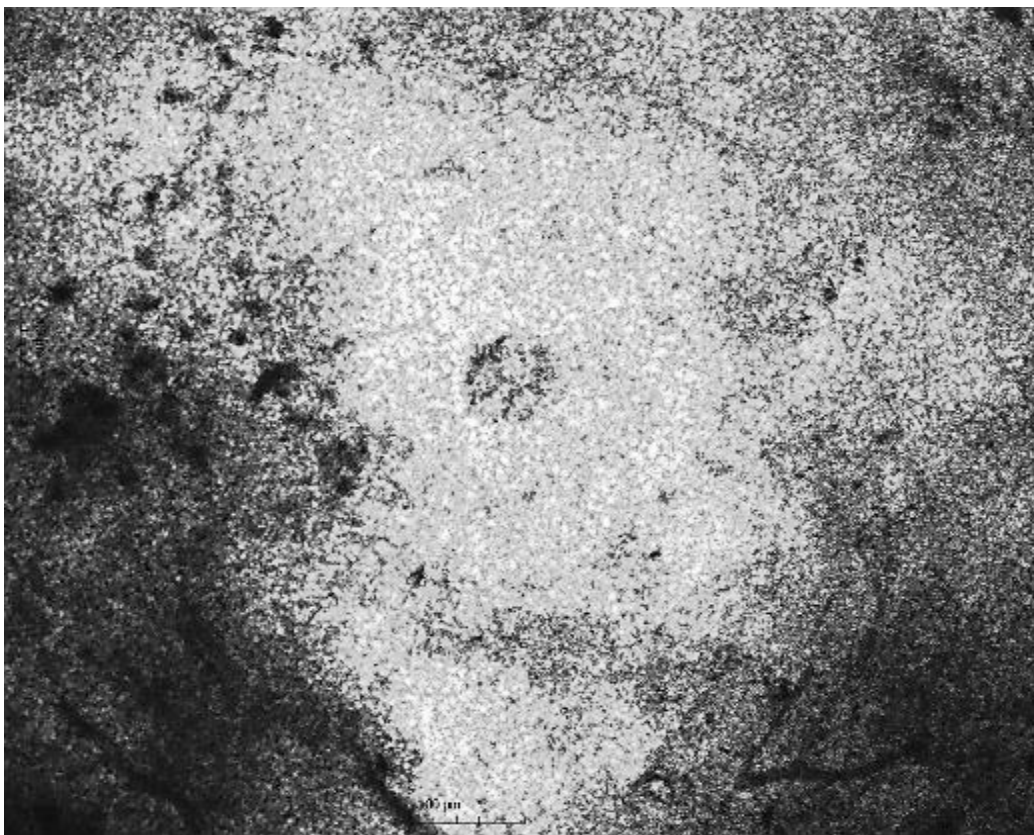


Figura 3.13 Microscopía óptica de una película de BNC con 50 ppm de plata.

En la **Figura 3.14** se observa la micrografía óptica de una película de BNC con 75 ppm de nanopartículas de plata, también tomada en modo fluorescente y con 10x de aumento. En la imagen se muestra que la fluorescencia es más intensa y la película presenta numerosos puntos oscuros y algunas áreas grandes de menor intensidad. Esto sugiere que las partículas de plata están más agregadas en algunas áreas debido al incremento de la concentración.

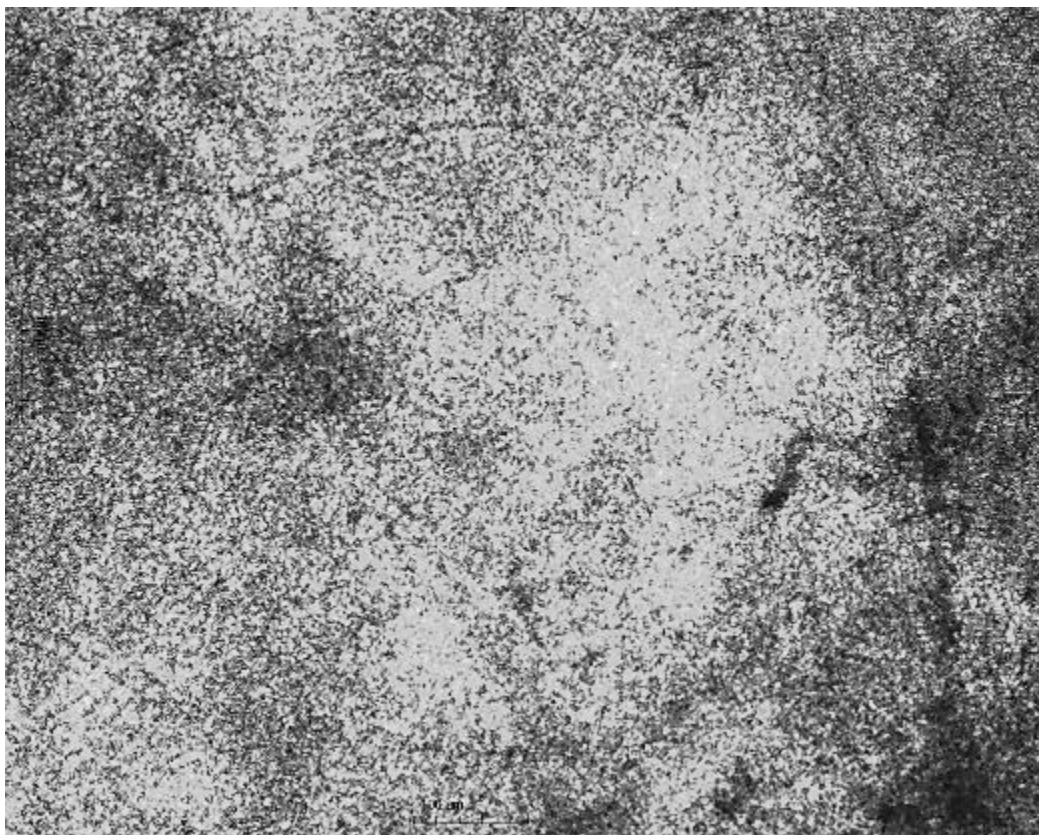


Figura 3.14 Microscopía óptica de una película de BNC con 75 ppm de plata.

Finalmente, la fluorescencia observada en la **Figura 3.15**, que corresponde a una película de BNC con 100 ppm de nanopartículas de plata, es muy intensa cuando se compara con muestras de menor concentración. Se observan numerosas áreas oscuras y grandes agregados claramente visibles. La distribución de las partículas de plata es menos homogénea, con claras indicaciones de que ha ocurrido una aglomeración debido a la alta concentración de plata.

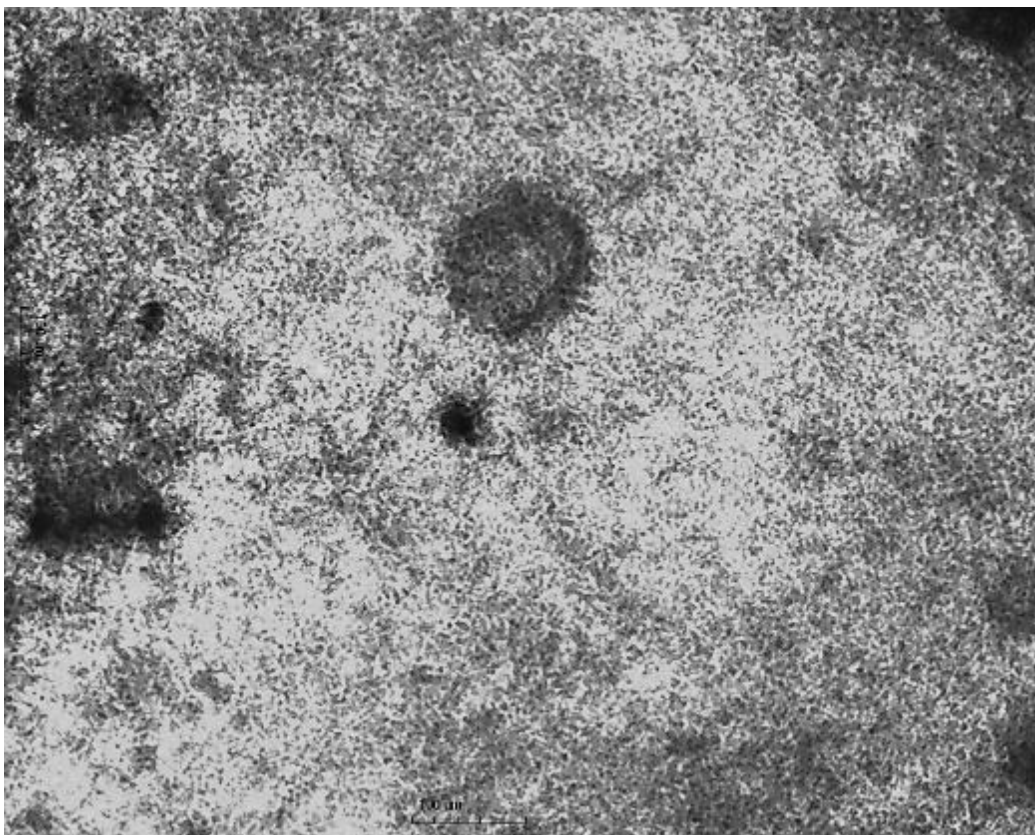


Figura 3.15 Microscopía óptica de una película BNC con 100 ppm de plata.

En resumen, a medida que aumenta la concentración de plata en las muestras, se observa un incremento en la cantidad e intensidad de puntos oscuros y áreas de menor fluorescencia, lo que indica una mayor presencia de partículas de plata. En las concentraciones más altas (75 y 100 ppm), las partículas de plata tienden a formar agregados más grandes y menos uniformemente distribuidos.

Esta información es consistente con lo que se espera cuando se incrementa la carga de partículas de plata en un medio, donde las partículas tienden a aglomerarse más a medida que su concentración aumenta.

3.6 PRUEBAS ANTIMICROBIANAS

A continuación, se muestra la eficacia de las películas de BNC con diferentes concentraciones de nanopartículas de plata contra las bacterias *E. coli* y *S. aureus*. Al analizar los datos de la **Tabla 3.2**, se puede determinar cuál concentración de nanopartículas de plata es más efectiva para inhibir el crecimiento bacteriano de *Escherichia coli*. Los parámetros clave a ser considerados son la Actividad Antimicrobiana (R) y el Porcentaje de Inhibición (%). Es importante destacar que todas las muestras se analizaron por triplicado, incluyendo los blancos.

Se puede observar en la **Tabla 3.2** que, en el grupo control, la población bacteriana de *Escherichia coli* creció a $1.70E+07$ UFC/mL en 24 horas, lo cual significa que los blancos de nanocelulosa bacteriana sin plata no mostraron una actividad antimicrobiana significativa. Por el otro lado, las muestras con concentraciones más bajas de nanopartículas de plata, de 5 ppm y 25 ppm, mostraron actividad antimicrobiana creciente pero menor al 75%. Conforme se incrementa la cantidad de plata en la nanocelulosa, se observa también un aumento en la actividad y el porcentaje de inhibición. Las muestras con concentraciones más altas de plata (50, 75 y 100 ppm), por el otro lado, presentaron una actividad antimicrobiana significativa, inhibiendo más del 90% del crecimiento bacteriano.

Tabla 3.2 Pruebas antimicrobianas contra la bacteria *Escherichia coli*.

<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922						
Muestra	Recuento total bacteriano UFC/mL (T0)		Recuento total bacteriano UFC/mL (T24)		Actividad Antimicrobiana (R)**	Inhibición (%)***
	Repetición	Promedio (±S.D.)	Repetición	Promedio		
Control	5.00E+04 5.00E+04 5.00E+04	5.00E+04	--	1.70E+07	-----	-----
Blanco piña			5.91E+07 4.84E+07	5.38E+07	0.5	-----
5 ppm piña			1.35E+04 9.15E+03 1.15E+04	1.13E+04	3.17	77.2
25 ppm piña			1.17E+04 1.05E+04 1.70E+04	1.30E+04	3.11	73.8
50 ppm piña			4.25E+03 5.00E+03 3.50E+03	4.25E+03	3.60	91.5
75 ppm piña			2.75E+03 4.60E+03 3.00E+03	3.45E+03	3.69	93.1
100 ppm piña			2.15E+03 2.41E+03 2.00E+03	2.18E+03	3.88	95.6

La muestra de 100 ppm fue la que presentó la mayor actividad antimicrobiana con un valor de R = 3.88 y el mayor porcentaje de inhibición (95.6%), por lo tanto, es la más efectiva, con la mayor inhibición del crecimiento bacteriano. Esto sugiere que, a esta concentración, los compuestos antimicrobianos presentes en la película están presentes en cantidad suficiente para ejercer un fuerte efecto inhibidor sobre la bacteria *E. coli*, haciéndola ideal para usos donde se requiere combatir una fuerte acción antimicrobiana.

Se puede observar en la **Tabla 3.3**, que, en el grupo control, la población bacteriana de *Staphylococcus aureus* creció a $9.75\text{E}+07$ UFC/mL en 24 horas, por lo cual se establece que la nanocelulosa bacteriana no mostró actividad antimicrobiana significativa en contra de esta bacteriana al presentar una mínima reducción del recuento bacteriano.

Tabla 3.3 Pruebas antimicrobianas contra la bacteria *Staphylococcus aureus*.

<i>Staphylococcus aureus</i>						
Muestra	Recuento total bacteriano UFC/mL (T0)		Recuento total bacteriano UFC/mL (T24)		Actividad Antimicrobiana (R)**	Inhibición (%)***
	Repetición	Promedio (±S.D.)	Repetición	Promedio		
<Control	5.00E+04 5.00E+04 5.00E+04	5.00E+04	9.40E+07 1.08E+08	9.75E+07	-----	-----
Blanco piña			5.40E+07	5.40E+07	0.26	0
5 ppm piña			3.0E+03 5.0E+02 1.2E+03	1.57E+03	4.79	96.8
25 ppm piña			7.35E+03 6.00E+02 4.7E+03	4.22E+03	4.36	91.5
50 ppm piña			2.15E+02 2.50E+02 1.00E+02	1.88E+02	5.71	99.6
75 ppm piña			5.00E+02 3.00E+02 2.00E+02	3.33E+02	5.46	99.3
100 ppm piña			0 0 0	0	> 5.71	100

Se observa también que las muestras de BNC con concentraciones de 5 a 100 ppm de nanopartículas de plata mostraron una actividad antimicrobiana creciente, con una inhibición significativa (+90%) a partir de 5 ppm. Las películas con concentración de 50 ppm mostraron una alta actividad antimicrobiana, con $R = 5.71$, y un porcentaje de inhibición del 99.6%. Las películas de 100 ppm, por el otro lado, lograron una inhibición completa del crecimiento bacteriano, con un R superior a 5.71 y una inhibición del 100%. De modo que la muestra con concentración de 100 ppm de nanopartículas de plata es la mejor opción para inhibir el crecimiento de *Staphylococcus aureus*, logrando una inhibición completa (del 100%) del crecimiento bacteriano. Esta concentración demuestra la máxima eficacia antimicrobiana, eliminando completamente la población bacteriana en el experimento.

CAPÍTULO 4

CONCLUSIONES

La caracterización mediante espectroscopía infrarroja (IR) ha demostrado que las curvas correspondientes a muestras con mayor concentración de nanopartículas de plata presentan picos más intensos y anchos, mientras que las muestras con menor concentración exhiben picos más definidos, pero menos intensos. En particular, las regiones cercanas a 3300 cm^{-1} y 2115 cm^{-1} sugieren que los grupos funcionales N-H, O-H, $\text{C}\equiv\text{C}$ y $\text{C}\equiv\text{N}$ experimentan cambios conformacionales o interacciones con el aumento de la concentración de plata. Estos cambios podrían estar relacionados con modificaciones en el entorno químico o con la formación de nuevas interacciones intermoleculares.

El análisis de termogravimetría (TGA) ha revelado que la adición de nanopartículas de plata influye tanto en la temperatura de degradación máxima como en la tasa de degradación del material. A concentraciones más elevadas, se observa una mejora en la estabilidad térmica en comparación con las muestras de menor concentración, donde la degradación ocurre más rápidamente. Estos resultados indican que la incorporación de plata puede mejorar las propiedades térmicas del material, ofreciendo mayor resistencia a temperaturas elevadas.

Por otro lado, el análisis de difracción de rayos X (DRX) ha mostrado un aumento en la intensidad de los patrones de difracción conforme se incrementa la concentración de plata. Este comportamiento sugiere un aumento de la cristalinidad en las muestras, lo cual contribuye a endurecer las películas, mejorando sus propiedades mecánicas.

En los estudios de microscopía electrónica de barrido (SEM) y microscopía óptica, se ha evidenciado una correcta dispersión de las nanopartículas de plata en las películas, así como su morfología cristalina. Además, se observa un incremento en la concentración de plata en cada muestra, corroborando la efectiva incorporación de las nanopartículas.

Finalmente, las pruebas antimicrobianas han demostrado que la concentración óptima de nanopartículas de plata es de 100 ppm, ya que en relación a los resultados obtenidos con el estudio JIS Z 2801, en dicha concentración se logra el mayor porcentaje de inhibición del crecimiento bacteriano en ambas bacterias estudiadas.

En resumen, esta investigación ha cumplido con los objetivos planteados, proporcionando una visión integral sobre la incorporación de nanopartículas de plata en medios biológicos. Los resultados obtenidos no solo destacan la importancia de la concentración de las nanopartículas en las propiedades del material, sino que también aportan un conocimiento relevante para el uso de nanocelulosa bacteriana como medio de transporte de nanopartículas. Estos hallazgos no solo enriquecen el conocimiento actual en el campo, sino que también abren nuevas oportunidades para futuras investigaciones, particularmente en la mejora de aplicaciones antimicrobianas y en la optimización de las propiedades mecánicas y térmicas de los materiales basados en nanocelulosa.

REFERENCIAS

- [1] Hasan N, Rahman L, Kim S-H, Cao J, Arjuna A, Lallo S, Jhun BH, Yoo J-W (2020) Recent advances of nanocellulose in drug delivery systems. *Journal of Pharmaceutical Investigation* 50:553–572.
- [2] Lee S-H, Kim H-J, Kim J-C (2019) Nanocellulose Applications for Drug Delivery: A review. *eArticle* 35(3): 141-149.
- [3] Abitbol T, Rivkin A, Cao Y, Nevo Y, Abraham E, Ben-Shalom T, Lapidot S, Shoseyov O (2016) Nanocellulose, a tiny fiber with huge applications. *Curr Opin Biotechnol* 39:76-88.
- [4] Klemm D, Kramer F, Moritz S, Lindstrom T, Ankerfors M, Gray D, Dorris A (2011) Nanocelluloses: A New Family of Nature-Based Materials. *Angewandte Chemie International Edition* 50(24):5438-5466.
- [5] Dufresne A (2017) Nanocellulose: from nature to high performance customs material. Walter de Gruyter GmbH & Co Kg, Berlin.
- [6] Lin N, Dufresne A (2014) Nanocellulose in biomedicine: current state and future perspective. *European Polymer Journal* 59:302-325.
- [7] Moon RJ, Martini A, Nairn J, Simonsen J, Youngblood J (2011) Cellulose nanomaterials review: structure, properties and nanocomposites. *Chemical Society Reviews* 40:3941-3994.
- [8] Lin N, Huang J, Dufresne A (2012) Preparation, properties and applications of polysaccharidenanocrystals in advanced functional nanomaterials: a review. *Nanoscale* 4:3274-3294.
- [9] Peng BL, Dhar N, Liu HL, Tam KC (2011) Chemistry and applications of nanocrystalline cellulose and its derivatives: A nanotechnology perspective. *Can. J. Chem. Eng.* 89: 1191-1206.
- [10] Zhou C, Wu Q, Yue Y, Zhang Q (2011) Application of rod-shaped cellulose nanocrystals in polyacrylamide hydrogels. *J Colloid Interface Sci* 353(1):116-23.
- [11] Habibi Y (2014) Key Advances in the Chemical Modification of Nanocelluloses. *Chemical Society Reviews* 43: 1519-1542.
- [12] Trache D, Hussin MH, Haafiz MM, Thakur VK (2017) Recent progress in cellulose nanocrystals: sources and production. *Nanoscale* 9:1763-1786.
- [13] Zhou S, Ingram LO (2000) Synergistic hydrolysis of carboxymethyl cellulose and acid-swollen cellulose by two endoglucanases (CelZ and CelY) from *Erwinia chrysanthemi*. *J Bacteriol* 182(20):5676-82.
- [14] Filson PB, Dawson-Andoh BE, Schwegler-Berry D (2009) Enzymatic-mediated production of cellulose nanocrystals from recycled pulp. *Green Chemistry* 11:1808-1814.

- [15] Chen XQ, Deng XY, Shen WH, Jia MY (2018) Preparation and characterization of the spherical nanosized cellulose by the enzymatic hydrolysis of pulp fibers. *Carbohydr Polym* 181:879-884.
- [16] Du H, Liu C, Mu X, Gong W, Lv D, Hong Y, Si C, Li B (2016) Preparation and characterization of thermally stable cellulose nanocrystals via a sustainable approach of FeCl₃-catalyzed formic acid hydrolysis. *Cellulose* 23:2389–2407.
- [17] Araki J, Wada M, Kuga S, Okano T (1998) Flow Properties of Microcrystalline Cellulose Suspension Prepared by Acid Treatment of Native Cellulose. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects* 142(1):75-82.
- [18] Wang B, Sain M (2007) Isolation of soy source nanofibers and their reinforcement capacity on synthetic polymers. *Composites Science and Technology* 67(11–12):2521-2527.
- [19] Camarero-Espinosa S, Kuhnt T, Foster EJ, Weder C (2013) Isolation of thermally stable cellulose nanocrystals by phosphoric acid hydrolysis. *Biomacromolecules* 14(4):1223-30.
- [20] Huang L, Chen X, Nguyen Tx, Tang H, Zhang L, Yang G (2013) Nano-cellulose 3D-networks as controlled-release drug carriers. *J. Mater. Chem. B* 1:2976-2984.
- [21] Yu H, Qin Z, Liang B, Liu N, Zhou Z, Chen L (2013) Facile extraction of thermally stable cellulose nanocrystals with a high yield of 93% through hydrochloric acid hydrolysis under hydrothermal conditions. *J. Mater. Chem. A* 1:3938-3944.
- [22] Chen I, Wang Q, Hirth K, Baez C, Agarwal Up, Zhu J (2015) Tailoring the yield and characteristics of wood cellulose nanocrystals (CNC) using concentrated acid hydrolysis. *Cellulose* 22(3):1753-1762.
- [23] Chen L, Zhu J, Baez C, Kitin P, Elder T (2016) Highly thermal-stable and functional cellulose nanocrystals and nanofibrils produced using fully recyclable organic acids. *Green Chem.* 18: 3835-3843.
- [24] Li B, Xu W, Kronlund D, Määttänen A, Liu J, Smått JH, Peltonen J, Willför S, Mu X, Xu C (2015) Cellulose nanocrystals prepared via formic acid hydrolysis followed by TEMPO-mediated oxidation. *Carbohydr Polym* 20(133):605-12.
- [25] Tang Y, Shen X, Zhang J, Guo D, Kong F, Zhang N (2015) Extraction of cellulose nano-crystals from old corrugated container fiber using phosphoric acid and enzymatic hydrolysis followed by sonication. *Carbohydr Polym.* 10(125):360-6.
- [26] Bian H, Chen L, Dai H, Zhu JY (2017) Integrated production of lignin containing cellulose nanocrystals (LCNC) and nanofibrils (LCNF) using an easily recyclable di-carboxylic acid. *Carbohydr Polym* 167:167-176.
- [27] Cheng M, Qin Z, Chen Y, Liu J, Ren Z (2017) Facile one-step extraction and oxidative carboxylation of cellulose nanocrystals through hydrothermal reaction by using mixed inorganic acids. *Cellulose*, 24:3243-3254.

- [28] Niu F, Li M, Huang Q, Zhang X, Pan W, Yang J, Li J (2017) The characteristic and dispersion stability of nanocellulose produced by mixed acid hydrolysis and ultrasonic assistance. *Carbohydr Polym* 165:197-204.
- [29] Sucaldito MR, Camacho DH (2017) Characteristics of unique HBr-hydrolyzed cellulose nanocrystals from freshwater green algae (*Cladophora rupestris*) and its reinforcement in starch-based film. *Carbohydr Polym* 169:315-323.
- [30] Torlopov MA, Udoratina EV, Martakov IS, Sitnikov PA (2017) Cellulose nanocrystals prepared in H3PW12O40-acetic acid system. *Cellulose* 24:2153-2162.
- [31] Novo LP, Bras J, García A, Belgacem N, Curvelo A (2015) Subcritical Water: A Method for Green Production of Cellulose Nanocrystals. *ACS sustainable chemistry* 3(11):2839-2846.
- [32] Novo LP, Bras J, García A, Belgacem N, Da Silva Curvelo A (2016) A study of the production of cellulose nanocrystals through subcritical water hydrolysis. *Industrial Crops and Products* 93:88-95.
- [33] Jordan JH, Easson MW, Condon BD (2020) Cellulose hydrolysis using ionic liquids and inorganic acids under dilute conditions: morphological comparison of nanocellulose. *RSC Adv* 10(65):39413-39424.
- [34] Abushammala H, Krossing I, Laborie MP (2015) Ionic liquid-mediated technology to produce cellulose nanocrystals directly from wood. *Carbohydr Polym* 134:609-16.
- [35] Mao J, Heck B, Reiter G, Laborie MP (2015) Cellulose nanocrystals' production in near theoretical yields by 1-butyl-3-methylimidazolium hydrogen sulfate ([Bmim]HSO₄)-mediated hydrolysis. *Carbohydr Polym* 117:443-451.
- [36] Tan X, Hamid SB, & Lai CW (2015) Preparation of high crystallinity cellulose nanocrystals (CNCs) by ionic liquid solvolysis. *Biomass & Bioenergy* 81:584-591.
- [37] Miao J, Yu and, Jiang Z, Zhang L (2016) One-pot preparation of hydrophobic cellulose nanocrystals in an ionic liquid. *Cellulose* 23(2):1209-19.
- [38] Iskak NAM, Julkapli NM, Hamid SBA (2017) Understanding the effect of synthesis parameters on the catalytic ionic liquid hydrolysis process of cellulose nanocrystals. *Cellulose* 24:2469–2481.
- [39] Ifuku S, Tsuji M, Morimoto M, Saimoto H, Yano H (2009) Synthesis of silver nanoparticles templated by TEMPO-mediated oxidized bacterial cellulose nanofibers. *Biomacromolecules* 10(9):2714-7.
- [40] Okita Y, Saito T, Isogai A (2010) Entire surface oxidation of various cellulose microfibrils by TEMPO-mediated oxidation. *Biomacromolecules* 11(6):1696-700.
- [41] Yang H, Alam MN, Ven TG (2013) Highly charged nanocrystalline cellulose and dicarboxylated cellulose from periodate and chlorite oxidized cellulose fibers. *Cellulose* 20:1865-75.

- [42] Peyre J, Pääkkönen T, Reza M, Konturi E (2015) Simultaneous preparation of cellulose nanocrystals and micron-sized porous colloidal particles of cellulose by TEMPO-mediated oxidation. *Green Chem* 17:808-811.
- [43] Piva G, Mascheroni E, Bonetti S, Rampazzo R, Bonetti S, Ortenzi M A, Piergiovanni L (2016) Comparison of cellulose nanocrystals obtained by sulfuric acid hydrolysis and ammonium persulfate, to be used as coating on flexible food-packaging materials. *Cellulose* 1-15.
- [44] Liimatainen H, Visanko M, Sirviö JA, Hormi OE, Niinimäki J (2012) Enhancement of the nanofibrillation of wood cellulose through sequential periodate-chlorite oxidation. *Biomacromolecules* 13(5):1592-7.
- [45] Li W, Yue J, Liu S (2012) Preparation of Nanocrystalline Cellulose via Ultrasound and Its Reinforcement Capability for Poly (Vinyl Alcohol) Composites. *Ultrasonics Sonochemistry* 19:479-485.
- [46] Li N, Lu W, Yu J, Xiao Y, Liu S, Gan L, Huang J (2018) Rod-like cellulose nanocrystal/cis-aconityl-doxorubicin prodrug: A fluorescence-visible drug delivery system with enhanced cellular uptake and intracellular drug controlled release. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl* 91:179-189.
- [47] Heath L, Thielemans W (2010) Cellulose nanowhisker aerogels. *Green Chem.* 12:1448-1453.
- [48] Anžlovar A, Kunaver M, Krajnc A, Žagar E (2018) Nanocomposites of LLDPE and Surface-Modified Cellulose Nanocrystals Prepared by Melt Processing. *Molecules* 23(7):1782.
- [49] Dufresne A (2013) Nanocellulose: a new ageless bionanomaterial. *Biomaterials* 16(6):220–227.
- [50] Xue Y, Mou Z, Xiao H (2017) Nanocellulose as a sustainable biomass material: structure, properties, present status and future prospects in biomedical applications. *Nanoscale* 9(39): 14758-81.
- [51] Chauhan VS, Chakrabarti SK (2012) Use of nanotechnology for high performance cellulosic and papermaking products. *Materials Science ID*: 115141983.
- [52] Carrillo CA, Laine J, Rojas OJ (2014) Microemulsion systems for fiber deconstruction into cellulose nanofibrils. *ACS Appl Mater Interfaces* 6(24):22622-7.
- [53] Lee H, Sundaram J, Zhu L, Zhao Y, Mani S (2018) Improved thermal stability of cellulose nanofibrils using low-concentration alkaline pretreatment. *Carbohydr Polym* 181:506-513.
- [54] Bian H, Chen L, Dai H, Zhu JY (2017) Integrated production of lignin containing cellulose nanocrystals (LCNC) and nanofibrils (LCNF) using an easily recyclable di-carboxylic acid. *Carbohydr Polym* 167:167-76.
- [55] Bian H, Chen L, Gleisner R, Dai H, Zhu J (2017) Producing wood-based nanomaterials by rapid fractionation of wood at 80 °C using a recyclable acid hydrotrope. *Green Chem.* 19:3370-3379.
- [56] Siqueira G, Tapin-Lingua S, Bras J, da Silva Perez D, Dufresne A (2010) Morphological investigation of nanoparticles obtained from combined mechanical shearing, and enzymatic and acid hydrolysis of sisal fibers. *Cellulose* 17:1147-1158.

- [57] Chen Y, He Y, Fan D, Han and, Li G, Wang S (2017) An Efficient Method for Cellulose Nanofibrils Length Shearing via Environmentally Friendly Mixed Cellulase Pretreatment. *Journal of Nanomaterials*. Special Issue: Nanomaterials from Natural Products for Industrial Applications. Article ID 1591504.
- [58] Saito T, Nishiyama Y, Putaux JL, Vignon M, Isogai A (2006) Homogeneous suspensions of individualized microfibrils from TEMPO-catalyzed oxidation of native cellulose. *Biomacromolecules* 7(6):1687-91.
- [59] Tarrés Q, Delgado-Aguilar M, Pelach MA, González I, Boufi S, Mutjé P (2016) Remarkable increase of paper strength by combining enzymatic cellulose nanofibers in bulk and TEMPO-oxidized nanofibers as coating. *Cellulose* 23:3939-3950.
- [60] Liimatainen H, Visanko M, Sirviö J, Hormi O, Niinimäki J (2013) Sulfonated cellulose nanofibrils obtained from wood pulp through regioselective oxidative bisulfite pre-treatment. *Cellulose* 20:741-749.
- [61] Sirviö JA, Kolehmainen A, Visanko M, Liimatainen H, Niinimäki J, Hormi OE (2014) Strong, self-standing oxygen barrier films from nanocelluloses modified with regioselective oxidative treatments. *ACS Appl Mater Interfaces* 6(16):14384-90.
- [62] Abbott Ap, Bell TJ, Handa S, Stoddart B (2006) Cationic functionalisation of cellulose using a choline based ionic liquid analogue. *Green Chem.* 8:784-786.
- [63] Eyholzer C, de Couraça AB, Duc F, Bourban PE, Tingaut P, Zimmermann T, Månson JA, Oksman K (2011) Biocomposite hydrogels with carboxymethylated, nanofibrillated cellulose powder for replacement of the nucleus pulposus. *Biomacromolecules* 12(5):1419-27.
- [64] Siró I, Plackett D, Hedenqvist M, Ankerfors M, Lindström T (2011) Highly transparent films from carboxymethylated microfibrillated cellulose: The effect of multiple homogenization steps on key properties. *J. Appl. Polym. Sci.* 119:2652-2660.
- [65] Ninomiya K, Abe M, Tsukegi T, Kuroda K, Tsuge and, Ogino C, Taki K, Taima T, Saito J, Kimizu M, Uzawa K, Takahashi K (2018) Lignocellulose nanofibers prepared by ionic liquid pretreatment and subsequent mechanical nanofibrillation of bagasse powder: Application to esterified bagasse/polypropylene composites. *Carbohydrate Polymers* 182:8-14.
- [66] Li P, Sirviö JA, Asante B, Liimatainen H (2018) Recyclable deep eutectic solvent for the production of cationic nanocelluloses. *Carbohydrate Polymers* 199:219-227.
- [67] Liu L, Yao W-D, Rao Y-F, Lu X-Y, Gao J-Q (2017) pH-Responsive carriers for oral drug delivery: challenges and opportunities of current platforms. *Drug Delivery* 24(1):569-581.
- [68] Liu Q, Lu Y, Aguedo M, Jacquet N, Ouyang C, He W, Yan C, Bai W, Guo R, Goffin D, Song J, Richel A (2017) Isolation of High-Purity Cellulose Nanofibers from Wheat Straw through the Combined

Environmentally Friendly Methods of Steam Explosion, Microwave-Assisted Hydrolysis, and Microfluidization. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering* 5 (7):6183-6191.

[69] Liu y, Guo B, Xia Q, Meng J, Chen W, Liu S, Wang Q, Liu and Li J, Yu H (2017) Efficient Cleavage of Strong Hydrogen Bonds in Cotton by Deep Eutectic Solvents and Facile Fabrication of Cellulose Nanocrystals in High Yields. *American Chemical Society* 5(9):7623-31.

[70] Szczęśna-Antczak M, Kazimierczak J, Antczak T (2012) Nanotechnology - Methods of Manufacturing Cellulose Nanofibres. *Fibres & Textiles in Eastern Europe* 2:8-12.

[71] Wang B, Sain M (2007) Isolation of nanofibers from soybean source and their reinforcing capability on synthetic polymers. *Composites Science and Technology* 67(11–12):2521-27.

[72] Dufresne A, Dupeyre D, Vignon MR (2000) Cellulose microfibrils from potato tuber cells: Processing and characterization of starch–cellulose microfibril composites. *Journal of Applied Polymer Science* 76:2080-92.

[73] Nakagaito AN, Yano H (2004) The effect of morphological changes from pulp fiber towards nano-scale fibrillated cellulose on the mechanical properties of high-strength plant fiber based composites. *Applied Physics A* 78:547-552.

[74] Zhang L, Tsuzuki T, Wang X (2015) Preparation of cellulose nanofiber from softwood pulp by ball milling. *Cellulose* 22:1729–41.

[75] Hassan ML, Hassan EA, Oksman KN (2011) Effect of pretreatment of bagasse fibers on the properties of chitosan/microfibrillated cellulose nanocomposites. *J Mater Sci* 46:1732–40.

[76] Spence KL, Venditti RA, Rojas OJ, Habibi Y, Pawlak JJ (2011) A comparative study of energy consumption and physical properties of microfibrillated cellulose produced by different processing methods. *Cellulose* 18:1097–1111.

[77] Wang QQ; Zhu JY, Gleisner R, Kuster TA, Baxa U, McNeil SE (2012) Morphological development of cellulose fibrils of a bleached eucalyptus pulp by mechanical fibrillation. *Cellulose* 19:1631-43.

[78] Nechyporchuk O, Pignon F, Belgacem MN (2014) Morphological properties of nanofibrillated cellulose produced using wet grinding as an ultimate fibrillation process. *Journal of Materials Science* 50:531-41.

[79] Hietala M, Rollo P, Kekäläinen K, Oksman K (2014) Extrusion Processing of Green Biocomposites: Compounding, Fibrillation Efficiency, and Fiber Dispersion. *Journal of Applied Polymer Science* 131 Article ID: 136470804.

[80] Ho TT, Abe K, Zimmermann T, Yano H (2015) Nanofibrillation of pulp fibers by twin-screw extrusion. *Cellulose* 22:421-433.

- [81] Bhatnagar A, Sain M (2005) Processing of Cellulose Nanofiber-Reinforced Composites. *Journal of Reinforced Plastics and Composites* 24:1259-68.
- [82] Alemdar A, Sain M (2008) Isolation and Characterization of Nanofibers from Agricultural Residues—Wheat Straw and Soy Hulls. *Bioresource Technology* 99:1664-71.
- [83] Uetani K, Yano H (2011) Nanofibrillation of wood pulp using a high-speed blender. *Biomacromolecules* 12(2):348-53.
- [84] Jiang F, Hsieh Y-L (2013) Chemically and mechanically isolated nanocellulose and their self-assembled structures. *Carbohydrate Polymers* 9(1):32-40.
- [85] Nakagaito AN, Ikenaga K, Takagi H (2015) Cellulose nanofiber extraction from grass by a modified kitchen blender. *Modern Physics Letters B* 29(6-7):Article ID 1540039.
- [86] Deepa B, Abraham E, Cherian BM, Bismarck A, Blaker JJ, Pothan LA, Leão AL, de Souza SF, Kottaisamy M (2011) Structure, morphology and thermal characteristics of banana nano fibers obtained by steam explosion. *Bioresource technology* 102(2):1988-97.
- [87] Yang W, Yanhong F, Hezhi H, Zhitao Y (2018) Environmentally-Friendly Extraction of Cellulose Nanofibers from Steam-Explosion Pretreated Sugar Beet Pulp. *Materials* 11(7):Article ID 1160.
- [88] Kondo T, Kose R, Naito H, Kasai W (2014) Aqueous counter collision using paired water jets as a novel means of preparing bio-nanofibers. *Carbohydrate Polymers* 112(4):284-90.
- [89] Kose R, Mitani I, Kasai W, Kondo T (2011) "Nanocellulose" as a single nanofiber prepared from pellicle secreted by *Gluconacetobacter xylinus* using aqueous counter collision. *Biomacromolecules* 12(3):716-20.
- [90] Van-Hai L, Zhai L, Kim HC, Kim JW, Choi ES, Kim J (2018) Cellulose nanofibers isolated by TEMPO-oxidation and aqueous counter collision methods. *Carbohydr Polym* 191:65-70.
- [91] Henriksson M, Henriksson G, Berglund LA, Lindström T (2007) An environmentally friendly method for enzyme-assisted preparation of microfibrillated cellulose (MFC) nanofibers. *European Polymer Journal* 43(8):3434-41.
- [92] Kim C-W, Kim D-S, Kang S-Y, Marquez M, Joo Y-I (2006) Structural studies of electrospun cellulose nanofibers. *Polymer* 47(14):5097-5107.
- [93] Lin S-P, Loira-Calvar I, Catchmark JM, Liu J-R, Demirci A, Cheng K-C (2013) Biosynthesis, production and applications of bacterial cellulose. *Cellulose* 20:2191–2219.
- [94] Islam MT, Alam MM, Patrucco A, Montarsolo A, Zoccola M (2014) Preparation of Nanocellulose: A Review. *AATCC Journal of Research* 1(5):17-23.
- [95] Gorgieva S, Trček J (2019) Bacterial Cellulose: Production, Modification and Perspectives in Biomedical Applications. *Nanomaterials* 9(10):Article ID 1352.

- [96] Rani MU, Rastogi NK, Appaiah KA (2011) Statistical optimization of medium composition for bacterial cellulose production by *Gluconacetobacter hansenii* UAC09 using coffee cherry husk extract--an agro-industry waste. *J Microbiol Biotechnol* 21(7):739-45.
- [97] Watanabe K, Tabuchi M, Morinaga Y, Yoshinaga F (1998) Structural Features and Properties of Bacterial Cellulose Produced in Agitated Culture. *Cellulose* 5:187-200.
- [98] Wang J, Tavakoli J, Tang Y (2019) Bacterial cellulose production, properties and applications with different culture methods - A review. *Carbohydrate polymers* 219:63-76.
- [99] Chao Y, Sugano Y, Shoda M (2001) Bacterial cellulose production under oxygen-enriched air at different fructose concentrations in a 50-liter, internal-loop airlift reactor. *Applied Microbiology and Biotechnology* 55:673-679.
- [100] Lu H, Jiang X (2014) Structure and properties of bacterial cellulose produced using a trickling bed reactor. *Appl Biochem Biotechnol* 172(8):3844-61.
- [101] Costa AFS, Almeida FCG, Vinhas GM, Sarubbo LA (2017) Production of Bacterial Cellulose by *Gluconacetobacter hansenii* Using Corn Steep Liquor As Nutrient Sources. *Front Microbiol* 8:Article ID 2027.
- [102] Wan Y, Wang J, Gama M, Guo R, Zhang Q, Zhang P, Yao F, Luo H (2019) Biofabrication of a novel bacteria/bacterial cellulose composite for improved adsorption capacity. *Composites Part A: Applied Science and Manufacturing* 125:Article ID 105560.
- [103] Wei B, Yang G, Hong F (2011) Preparation and evaluation of a kind of bacterial cellulose dry films with antibacterial properties. *Carbohydrate Polymers* 84(1):533-38.
- [104] McDonnell G, Russell AD (1999) Antiseptics and disinfectants: Activity, action, and resistance. *Clin Microbiol Rev.* 12(1):147-179.
- [105] Arévalo M, Arribas J, Hernández M, Lizán M, Herruzo R (2000) Guía de utilización de antisépticos. Sociedad Española de Medicina Preventiva, Salud Pública e Higiene.
- [106] Cardoso PC (2016) Nanopartículas de plata: obtención, utilización como antimicrobiano e impacto en el área de la salud. *Rev. Hosp. Niños* 58(260):19-28.
- [107] Palanisamy NK, Ferina N, Amirulhusni AN, Mohd-Zain Z, Hussaini J, Ping LJ, Durairaj R (2014) Antibiofilm properties of chemically synthesized silver nanoparticles found against *Pseudomonas aeruginosa*. *J Nanobiotechnology* 14(12):2.
- [108] Ge L, Li Q, Wang M, Ouyang J, Li X, Xing MM (2014) Nanosilver particles in medical applications: synthesis, performance, and toxicity. *Int J Nanomedicine* 16(9):2399-407.

- [109] Wounds International (2012) Appropriate use of silver dressings in wounds. International Consensus. Available: [<https://www.woundsinternational.com/resources/details/international-consensus-appropriate-use-silver-dressings-wounds-english-en>]
- [110] European Commission, Directorate-General for Health and Consumers (2014) Opinion on nanosilver: safety, health and environmental effects and role in antimicrobial resistance, European Commission.
- [111] Yang Z, Liu ZW, Allaker RP, Reip P, Oxford J, Ahmad Z, Ren G (2010) A review of nanoparticle functionality and toxicity on the central nervous system. *J R Soc Interface* 6(7, Suppl 4):S411-22.
- [112] Mazza S, Murooka Y: Vinegar through the age. In Solieri L, Giudici P. (2009) (ed): "Vinegars of the world." Milan: Springer-Verlag, pp 17;39,
- [113] Ou ASM, Chang RC: Taiwan fruit vinegar. In Solieri L, Giudici P. (2009) (ed): "Vinegars of the world." Milan: Springer-Verlag, pp 223;241.
- [114] Budak HN, Kumbul Doguc D, Savas CM, Seydim AC, K ok Tas T, Ciris IM G uzel-Seydim ZB (2011): Effects of Apple Cider Vinegars Produced with Different Techniques on Blood Lipids in High-Cholesterol-Fed Rats. *J Agr Food Chem* 59:6638–6644.
- [115] Nishidai S, Nakamura Y, Torikai K, Yamamoto M, Ishihara N, Mori H, Ohigashi H: Kurosu. (2000) A traditional vinegar produced from unpolished rice, suppresses lipid peroxidation in vitro and in mouse skin. *Biosci Biotech Bioch* 64:1909–1914.
- [116] Ogawa N, Satsu H, Watanabe H, Fukaya M, Tsukamoto Y, Miyamoto Y, Shimizu M. (2000) Acetic acid suppresses the increase in disaccharidase activity that occurs during culture of caco-2 cells. *J Nutr* 130:507–513.
- [117] Fushimi T, Tayama K, Fukaya M, Kitakoshi K, Nakai N, Tsukamoto Y, Sato Y. (2001) Acetic acid feeding enhances glycogen repletion in liver and skeletal muscle of rats. *J Nutr* 131:1973–1977.
- [118] Kondo S, Tayama K, Tsukamoto Y, Ikeda K, Yamori Y. (2001) Antihypertensive Effects of Acetic acid and Vinegar on Spontaneously Hypertensive Rats. *Biosci Biotech Bioch* 65:2690–2694.
- [119] Shimoji Y, Oishi E, Kitajima T, Muneta Y, Shimizu S, Mori Y. (2002) Heterologous Protein Expression and Intranasal Immunization of Pigs. *Infect Immun* 70, 226–232.
- [120] Sugiyama A, Saitoh M, Takahara A, Satoh Y, Hashimoto K. (2003) Acute cardiovascular effects of a new beverage made of wine vinegar and grape juice, assessed using an in vivo rat, *Nutr Res* 23:1291–1296.
- [121] Johnston CS, Kim CM, Buller AJ. (2003) Vinegar improves insulin sensitivity to a high-carbohydrate meal in subjects with insulin resistance or type 2 diabetes. *Diabetes Care* 27:281–282.

- [122] Bnaof Ali IAI, Akakabe Y, Moonmangmee S, Deeraksa A, Matsutani M, Yakushi T, Yamada M, Matsushita K. (2011) Structural characterization of pellicle polysaccharides of *Acetobacter tropicalis* SKU1100 wild type and mutant strains. *Carbohydr Polym* 86:1000–1006.
- [123] Brown RM. (1996) The biosynthesis of cellulose. *Pure Appl Chem* 33:1345–1373.
- [124] Elif Aykın, MA, Nilgun H. Budak, PhD, Zeynep B. G € uzel-Seydim, PhD. (2014) Bioactive Components of Mother Vinegar.
- [125] Seung-Hwan Lee, Hyun-Ji Kim and Jin-Chul Kim (2019) Nanocellulose Applications for Drug Delivery: A Review. *Journal of Forest and Environmental Science*. Vol. 35, No. 3, pp. 141-149.
- [126] Plackett D, Letchford K, Jackson JK, Burt HM (2014) A review of nanocellulose as a new vehicle for drug delivery. *Nord Pulp Paper Res J* 29: 105-118.
- [127] Lin N, Dufresne A (2013) Supramolecular Hydrogels of In Situ Host-Guest Embedding Between Chemically Modified Cellulose and Cyclodextrin Nanocrystals. *Biomacromolecules* 14(3):871-80.
- [128] Dash R, Ragauskas AJ (2012) Synthesis of a novel cellulose nanotechnology whisker-based drug delivery system. *RSC Adv* 2: 3403-3409.
- [129] Jackson JK, Letchford K, Wasserman BZ, Ye L, Hamad WY, Burt HM (2011) The use of nanocrystalline cellulose for the binding and controlled release of drugs. *Int J Nanomedicine* 6:321-330.
- [130] Plackett D, Letchford K, Jackson JK, Burt HM (2014) A review of nanocellulose as a new vehicle for drug delivery. *Nord Pulp Paper Res J* 29:105-118.
- [131] Dong S, Cho HJ, Lee YW, Roman M (2014) Synthesis and cell uptake of folic acid-conjugated cellulose nanocrystals for cancer treatment. *Biomacromolecules* 15: 1560-1567.
- [132] Akhlaghi SP, Berry RC, Tam KC (2013) Cellulose nanocrystal surface modification with chitosan oligosaccharide for drug delivery applications. *Cellulose* 20: 1747-1764.
- [133] Varjonen S, Laaksonen P, Paananen A, Valo H, Haehl H, Laaksonen T, Linder MB (2011) Self-assembly of cellulose nanofibrils by genetically modified fusion proteins. *Soft matter* 7:2402-2411
- [134] Wang H, Roman M (2011) Chitosan Formation and Properties – Polyelectrolyte and Macroion Complexes of Cellulose Nanocrystals for Drug Delivery Applications. *Biomacromolecules* 12: 1585-1593.
- [135] Kolakovic R, Laaksonen T, Peltonen L, Laukkanen A, Hirvonen J (2012) Spray-dried nanofibrillar cellulose microparticles for sustained drug release. *Int J Pharm* 430: 47-55.
- [136] Gavillon R, Budtova T (2008) Aerocellulose: new highly porous lulos cell prepared from aqueous cellulose-NaOH solutions. *Biomacromolecules* 9: 269-277.

- [137] Liebner F, Haimer E, Wendland M, Neouze MA, Schufter K, Miethe P, Heinze T, Potthast A. Rosenau T (2010) Unchanged bacterial cellulose aerogels: scCO₂ drying application for the preparation of cast ultralight cellulosic aerogels . *Macromol Biosci* 10: 349-352.
- [138] Valo H, Arola S, Laaksonen P, Torkkeli M, Peltonen L, Linder MB, Serimaa R, Kuga S, Hirvonen J, Laaksonen T(2013) Drug release from nanoparticles embedded in four different nanofibrillar cellulose aerogels . *Eur J Pharm Sci* 50: 69-77.
- [139] Kolakovic R, Peltonen L, Laukkanen A, Hirvonen J, Laaksonen T (2012) Nanofibrillar cellulose films for controlled drug delivery. *Eur J Pharm Biopharm* 82: 308-315.
- [140] Díez I, Eronen P, Österberg M, Linder MB, Ikkala O, Ras RH (2011) Functionalization of nanofibrillated cellulose with silver nanoclusters: fluorescence and antibacterial activity. *Macromol Biosci* 11: 1185-1191.
- [141] Varjonen S, Laaksonen P, Paananen A, Valo H, Haehl H, Laaksonen T, Linder MB (2011) Self-assembly of cellulose nanofibrils by genetically modified fusion proteins. *Soft Matter* 7: 2402-2411.
- [142] Utsel S, MalmströmE, CarlmarkA, WågbergL (2010) Thermoresponsive nanofibrillated cellulose multilayer nanocomposites and specially designed N-isopropylacrylamide-based polymers. *Soft Matter* 6: 342-352.
- [143] Loebmann K, Svagan AJ (2017) Cellulose nanofibers as an excipient for poorly soluble drug delivery. *Int J Pharm* 533: 285-297.
- [144] Gopi S, Balakrishnan P, Geethamma VG, Pius A, Thomas S (2018) Applications of cellulose nanofibrils in drug delivery. Woodhead Publishing, Cambridge, pp. 75-95.
- [145] Bhandari J, Mishra H, Mishra PK, Wimmer R, Ahmad FJ, Talegaonkar S (2017) Cellulose nanofiber airgel as a promising biomaterial for personalized oral drug delivery. *Int J Nanomedicine* 12: 2021-2031.
- [146] Liu L, Yao W, Rao Y, Lu X, Gao J (2017) pH-sensitive carriers for oral drug delivery: challenges and opportunities of current platforms. *Drug Delivery* 24: 569–581.
- [147] Liu Q, Lu Y, Aguedo M, Jacquet N, Ouyang C, He W, Yan C, Bai W, Guo R, Goffin D (2017) Isolation of high purity cellulose nanofibers from wheat straw by the combination of ecological methods of steam explosion, microwave assisted hydrolysis and microfluidization. *ACS Sustain Chem Ing* 5: 6183–6191.
- [148] Liu Y, Guo B, Xia Q, Meng J, Chen W, Liu S, Wang Q, Liu Y, Li J, Yu H (2017) Efficient cleavage of strong hydrogen bonds in cotton by deep eutectic solvents and fabrication easy to cellulose nanocrystals in high yields. *ACS Sustain Chem Ing* 5: 7623–7631.
- [149] Thomas D, Latha M, Thomas KK (2018) Synthesis and in vitro evaluation of hybrid cellulose-alginate nanocrystal nanoparticles for controlled oral delivery of rifampicin. *J Drug Deliv Sci Technol* 46: 392–399.

- [150] Abo-Elseoud WS, Hassan ML, Sabaa MW, Basha M, Hassan EA, Fadel SM (2018) Chitosan nanoparticle/cellulose nanocrystal nanocomposites as a carrier system for controlled release of repaglinide. *Int J Biol Macromol* 111:604–613.
- [151] Svagan AJ, Benjamins JW, Al-Ansari Z, Shalom DB, Müllertz A, Wågberg L, Löbmann K (2016) Solid cellulose nanofiber-based foams: towards easy design of sustained drug delivery systems. *Control release J* 244:74–82.
- [152] Löbmann K, Wohler J, Müllertz A, Wågberg L, Svagan AJ (2017) Cellulose nanopaper and nanofoam for patient-adapted drug delivery. *Advanced Mater Interfaces* 4:1600655.
- [153] Gao J, Li Q, Chen W, Liu Y, Yu H (2014) Self-assembly of lose and indomethacin nanocells into hierarchically ordered structures with high encapsulation efficiency for sustained release applications. *ChemPlusChem* 79:725–731.
- [254] Zhao J, Lu C, He X, Zhang X, Zhang W, Zhang X (2015) Imine-grafted cellulose nanofibril polyethylene aerogels as versatile vehicles for drug delivery. *ACS Appl Mater Interfaces* 7:2607–2615.
- [155] Rao KM, Kumar A, Han SS (2017) Poly(acrylamidoglycolic acid) nanocomposite hydrogels reinforced with cellulose nanocrystals for pH-sensitive controlled release of diclofenac sodium. *Polim Proof* 64: 175–182.
- [156] Badshah M, Ullah H, Khan SA, Park JK, Khan T (2017) Preparation, characterization and in vitro evaluation of bacterial cellulose matrices for oral drug delivery. *Cellulose* 24:5041–5052.
- [157] Bisht R, Mandal A, Jaiswal JK, Rupenthal ID (2018) Nanocarrier mediRetinal drug delivery: overcoming ocular barriers for the treatment of posterior ocular diseases. *Wiley Interdiscip Rev Nanomed Nanotechnology* 10:e1473.
- [158] Zhu M, Wang J, Li N (2018) A new thermosensitive hydrogel base on poly(N-isopropylacrylamide)/ketoconazole hyaluronic acid for ophthalmic administration. *Afr Cells Nanomed Biotechnol* 46:1282–1287.
- [159] Patchan M, Graham J, Xia Z, Maranchi J, McCally R, Schein O, Elisseeff JH, Trexler M (2013) Synthesis and properties of regenerated cellulose-based hydrogels with high strength and transparency for potential use as eye dressing. *Mater Sci Eng C* 33: 3069–3076.
- [160] Mohan EC, Kandukuri JM, Allenki VJJPR (2009) Preparation and evaluation of in situ gels for ocular drug delivery. *Res. J Pharmaceutical* 2:1089–1094.
- [161] Agrawal AK, Das M, Jain SJ (2012) Gel in situ systems as 'smart' carriers for sustained ocular drug delivery. *Expert Opinion Drug Deiv* 9:383–402.

- [162] Orasugh JT, Dutta S, Das D, Pal C, Zaman A, Das S, Dutta K, Banerjee R, Ghosh SK (2019) Sustained release of ketorolac tromethamine from nanofibril grafting nanocollagen-based ophthalmic formulations. cellulose/poloxamer. *Int J Biol Macromol* 140:441–453.
- [163] Orasugh JT, Sarkar G, Saha NR, Das B, Bhattacharyya A, Das S, Mishra R, Roy I, Chattoopadhyay A, Ghosh SK (2019) Effect of cellulose nanocrystals on the performance of thermosensitive gelling ophthalmic formulations in situ loaded with drugs. *Int J Biol Macromol* 124:235–245.
- [164] Jung R, Kim Y, Kim HS, Jin HJ (2009) Antimicrobial properties of hydrated cellulose membranes with silver nanoparticles. *J Biomater Sci Polym* 20(3):311-24.
- [165] Pinto RJ, Marques PA, Neto CP, Trindade T, Daina S, Sadocco P (2009) Antibacterial activity of nanocomposites of silver and bacterial or vegetable cellulosic fibers. *Acta Biomater* 5(6):2279-89.
- [166] Suede R, Bodhibukkana C, Tangthong N, Amnuait C, Kaewnopparat S, Srichana T (2008) Development of a reservoir-type transdermal enantioselective-controlled delivery system for racemic propranolol using a molecularly imprinted polymer composite membrane. *J Control Release* 129(3):170-8.
- [167] Trovatti E, Freire CS, Pinto PC, Almeida IF, Costa P, Silvestre AJ, Neto CP, Rosado C (2012) Bacterial cellulose membranes applied in topical and transdermal delivery of lidocaine hydrochloride and ibuprofen: in vitro diffusion studies. *Int J Pharm* 435(1):83-7.
- [168] Lin Z, Guan Z, Huang Z (2013) New Bacterial Cellulose/Polyaniline Nanocomposite Film with One Conductive Side through Constrained Interfacial Polymerization. *Industrial & Engineering Chemistry Research* 52(8), 2869-2874.
- [169] Yoon S-H, Jin H-J, Kook M-C, Pyun Y-R (2006) Electrically Conductive Bacterial Cellulose by Incorporation of Carbon Nanotubes. *Biomacromolecules* 7(4), 1280-1284.
- [170] Otter JA, Vickery K, Walker JT, de Lancey Pulcini E, Stoodley P, Goldenberg SD, Salkeld JA, Chewins J, Yezli S, Edgeworth JD (2015) Surface-attached cells, biofilms and biocide susceptibility: implications for hospital cleaning and disinfection. *J Hosp Infect* 89(1):16-27.
- [171] Kumar A, Alam A, Rani M, Ehtesham NZ, Hasnain SE (2017) Biofilms: Survival and defense strategy for pathogens. *Int J Med Microbiol* 307(8):481-489.
- [172] Sivaranjana P, Nagarajan ER, Rajini N, Jawaaid M, Rajulu AV (2017) Cellulose nanocomposite films with in situ generated silver nanoparticles using *Cassia alata* leaf extract as a reducing agent. *Int J Biol Macromol* 99:223-232.
- [173] Muthulakshmi L, Rajini N, Varada Rajalu A, Siengchin S, Kathiresan T (2017) Synthesis and characterization of cellulose/silver nanocomposites from biofloculant reducing agent. *Int J Biol Macromol* 103:1113-1120.

- [174] Saravanan M, Arokiyaraj S, Lakshmi T, Pugazhendhi A (2018) Synthesis of silver nanoparticles from *Phanerochaete chrysosporium* (MTCC-787) and their antibacterial activity against human pathogenic bacteria. *Microb Pathog* 117:68-72.
- [175] Pugazhendhi A, Prabakar D, Jacob JM, Karuppusamy I, Saratale RG (2018) Synthesis and characterization of silver nanoparticles using *Gelidium amansii* and its antimicrobial property against various pathogenic bacteria. *Microb Pathog* 114:41-45.
- [176] Wang W, Yu Z, Alsammarraie FK, Kong F, Lin M, Mustapha A (2020) Antimicrobial properties and activity of polyvinyl alcohol-modified bacterial nanocellulose packaging films incorporated with silver nanoparticles. *Food hydrocolloids* 100:105411.
- [177] Audtarat S, Hongsachart P, Dasri T, Chio-Srichan S, Soontaranon S, Wongsinlatam W, Sompech S (2022) Green synthesis of silver nanoparticles loaded into bacterial cellulose for antimicrobial application. *Nanocomposites*, 8(1):34-46.
- [178] Zhenbing S, Li X, Tang Z, Li X, Morrell JJ, Beaugrand J, Yao Y, Zheng Q (2022) Antibacterial Films Made of Bacterial Cellulose. *Polymers*, 14(16): 3306.
- [179] Shaaban MT, Zayed M, Salama HS (2023) Antibacterial Potential of Bacterial Cellulose Impregnated with Green Synthesized Silver Nanoparticle Against *S. aureus* and *P. aeruginosa*. *Current Microbiology* 80:75.
- [180] Solieri L, Giudici P. *Vinegars of the World*. Italia: Springer; 2009.
- [181] Morgan J, Mosawy S. *The Potential of Apple Cider Vinegar in the Management of Type 2 Diabetes*. undefined. 2016;
- [182] Faraldos, M. (2011). *Técnicas de análisis y caracterización de materiales* (2a. ed.). Madrid, Spain: Editorial CSIC Consejo Superior de Investigaciones Científicas. Recuperado de <https://elibro.net/es/ereader/tecnmcdmadero/41651?page=487>.
- [183] Microfibrillated cellulose -Its barrier properties and applications in cellulosic materials: A review N. Lavoine, I. Desloges, A. Dufresne, J. Bras *Carbohydrate polymers*, 90: 735-764, 2012
- [184] Cellulosic bionanocomposites: a review of preparation, properties and applications. G. Siqueira, J. Bras, A. Dufresne. *Polymers*, 2: 728-765, 2010
- [185] Homogeneous suspensions of individualized microfibrils from TEMPO-catalyzed oxidation of native cellulose. T. Saito, Y. Nishiyama, J.-L. Putaux, M. Vignon, A. Isogai. *Biomacromolecules*, 7: 1687-1691, 2006
- [186] Production of nanocrystalline cellulose from lignocellulosic biomass: technology and applications. L. Brinchi, F. Cotana, E. Fortunati, J. Kenny. *Carbohydrate Polymers*, 94: 154-169, 2013

- [187] Microfibrillated cellulose -Its barrier properties and applications in cellulosic materials: A review. N. Lavoine, I. Desloges, A. Dufresne, J. Bras. Carbohydrate polymers, 90: 735-764, 2012
- [188] Review: current international research into cellulose nanofibres and nanocomposites. S. Eichhorn, A. Dufresne, M. Aranguren, N. Marcovich, J. Capadona, S. Rowan, C. Weder, W. Thielemans, M. Roman, S. Renneckar, W. Gindl, S. Veigel, J. Keckes, H. Yano, K. Abe, M. Nogi, A. N. Nakagaito, A. Mangalam, J. Simonsen, A. S. Benight, A. Bismarck, L. A. Berglund, T. Peijs. Journal of Materials Science, 45: 1-33, 2010
- [189] Nanofibrillated cellulose: surface modification and potential applications. S. Kalia, S. Boufi, A. Celli, S. Kango. Colloid and Polymer Science, 292: 5-31, 2014
- [190] Microfibrillated cellulose and new nanocomposite materials: a review. I. Siró, D. Plackett. Cellulose, 17: 459-494, 2010
- [200] Efecto de la adición de partículas de coco modificadas químicamente sobre las propiedades termomecánicas en matriz polimérica con sbs. Edgar M. R., Beatriz Adriana S. C. y José Luis R. A. Repositorio Institucional del Tecnológico Nacional de México, 2022.
- [201] Nayely Torres-Gómez, Rodolfo D. Ávila-Avilés, Alfredo R. Vilchis-Nestor. Mundo. Biosynthesis and characterization of nanostructures by electron microscopy, nano vol.13 no.25 Ciudad de México jul./sep. 2020 Epub 25-Nov-2020.
- [202] Ruiz-Romero, P., Valdez-Salas, B., González-Mendoza, D. y Mendez-Trujillo, V. 2018. Antifungal Effects of Silver Phytonanoparticles from *Yucca shinerifera* Against Strawberry Soil-Borne Pathogens: *Fusarium solani* and *Macrophomina phaseolina*. Mycobiology.
- [203] Douglas A. Skoog, F. James Holler, Stanley R. Crouch. *Principios de análisis instrumental*, Sexta edición. Cengage Learning.
- [204] José L. Ojeda Sahagún. Métodos de Microscopía Electrónica de Barrido en Biología, Editorial: Universidad de Cantabria, (1997). ISBN: 978-84-8102-164-6
- [205] Guillermina González Mancera y María Eugenia Noguez Amaya. Principios de Microscopía Electrónica de Barrido y Microanálisis por Rayos X Característicos, Editorial: Universidad Nacional Autónoma de México. (2016) ISBN: 978-607-308-086-6.
- [206] Germán Antonio Pérez Alcázar y Hernán Darío Colorado Restrepo. Difracción de Rayos X y el Método Rietveld, Editorial: Universidad del Valle (2020).
- [207] Daniel Rodríguez. Fundamentos del Análisis Termogravimétrico, Espectrometría, (2020).
- [208] Germán Antonio Pérez Alcázar y Hernán Darío Colorado Restrepo. Análisis Termogravimétrico y el Método Rietveld, Editorial: Universidad del Valle (2020)

[209] Marisol Galves de Jesus. Obtención de polifarneseno y mejoramiento en su desempeño mecánico con bio – refuerzos. Centro de Investigación en Química Aplicada (2021).