

INCORPORACIÓN DE INGREDIENTES COSMÉTICOS ACTIVOS CON  
FUNCIONALIDAD PARA EL SKINCARE EN FILMS DE BIOCELULOSA BACTERIANA  
MODIFICADA PARA APLICACIÓN EN ROSTRO

Alejandra Álvarez Lenis

Ana Sofía Escandón Sanclemente

UNIVERSIDAD ICESI

FACULTAD DE INGENIERÍA, DISEÑO Y CIENCIAS APLICADAS

Química farmacéutica

Cali

2024

INCORPORACIÓN DE INGREDIENTES COSMÉTICOS ACTIVOS CON  
FUNCIONALIDAD PARA EL SKINCARE EN FILMS DE BIOCELULOSA BACTERIANA  
PARA APLICACIÓN EN ROSTRO

Alejandra Álvarez Lenis

Ana Sofía Escandón Sanclemente

TRABAJO DE GRADO PARA OPTAR A QUÍMICO FARMACÉUTICO

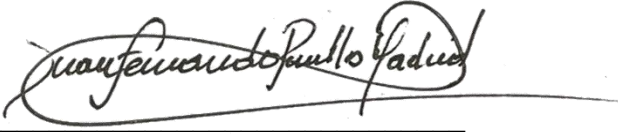
Asesor: Juan Fernando Pinillos Madrid

Cali

2024

AVAL PARA LA ENTREGA DE PDG II

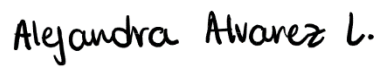
Firma del asesor:



---

Juan Fernando Pinillos Madrid

Firma del estudiante:



---

Alejandra Álvarez Lenis

Firma del estudiante:



---

Ana Sofía Escandón Sanclemente

## Resumen ejecutivo

La celulosa vegetal es un compuesto utilizado ampliamente en el mercado cosmético, principalmente en las rutinas de skincare. Sin embargo, esta materia presenta inconvenientes durante su proceso de extracción debido a que se obtiene junto con compuestos como lignina, pectina o hemicelulosa. De este modo, se emplea como alternativa la celulosa bacteriana, la cual puede obtenerse de manera pura a través de las bacterias del género *Acetobacter*. Igualmente, se emplean métodos de modificación química covalente y no covalente para mejorar las capacidades físicas y químicas de la celulosa. Por consiguiente, se busca desarrollar una prueba de concepto y aproximación a la utilización de la celulosa bacteriana modificada como posible agente de liberación de compuestos de interés cosmético en una aplicación de mascarilla facial. Para llevar a cabo lo anterior, se modificó la celulosa bacteriana con alginato y quitosano, alginato y cloruro de calcio, quitosano, ácido láctico y ácido cítrico. De los anteriores se evaluó la capacidad de carga, dando mejor resultado el alginato y quitosano, y ácido cítrico con incrementos hasta de 16.04 y 10.87 veces de su peso inicial respectivamente. Así mismo, se realizó la incorporación de la vitamina C como ingrediente cosmético activo con propiedades antioxidantes. No obstante, los resultados para su liberación no fueron concluyentes debido a los métodos desarrollados. Para finalizar, se proyecta que la presente investigación tenga repercusiones en la industria cosmética, pues se puede emplear la celulosa bacteriana modificada en productos cosméticos como mascarillas faciales.

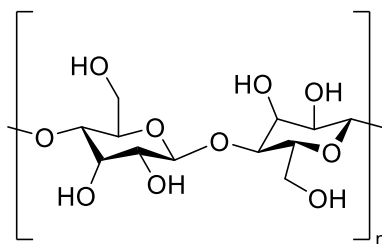
**Palabras clave:** celulosa bacteriana, skincare, modificaciones, covalente, no covalente.

### 1. Introducción

En las últimas décadas los consumidores del mercado del skincare han sido más conscientes con relación a la importancia que tiene el cuidado de la piel y cómo la composición y combinación de los productos disponibles tiene un efecto sobre los resultados a nivel facial. Dicho lo anterior, se ha evidenciado que para el año 2024, el mercado de las mascarillas se aproxima a los 9,08 mil millones de dólares y se espera que para el 2027 aumente hasta los 13,27 mil millones de dólares<sup>1</sup>, evidenciando la relevancia de este tipo de productos en el área cosmética. Adicional a ello, se mantiene la constante necesidad por parte de los consumidores de implementar herramientas o productos que les concedan de manera rápida y efectiva un efecto significativo que cumpla con los requerimientos individuales para cada tipo de piel; como lo son las *Sheet mask* o mascarillas

de celulosa. Así es como la demanda en esta área del mercado ha propiciado la investigación de diferentes técnicas que garanticen dicho fin y la búsqueda de compuestos más amables con el medio ambiente; esto, como efecto de que la materia prima empleada es de tipo vegetal y, por ende, su proceso de extracción implica un impacto en el ecosistema.

Dicho lo anterior, la celulosa es uno de los biopolímeros de mayor abundancia y disponibilidad en la tierra, la cual es extraída de forma invasiva de las plantas o sus residuos. Ahora bien, debido a su acceso facilitado y múltiples aplicaciones en áreas de la industria, se ha incrementado su demanda desencadenando afectaciones a nivel del medio ambiente como la deforestación<sup>2</sup>. Adicionalmente, durante el proceso de producción, se obtiene la celulosa en conjunto con componentes como la lignina, la pectina y la hemicelulosa; razón por la cual es necesario llevar a cabo un tratamiento con ácidos y bases fuertes para lograr la separación y obtención pura de la materia<sup>2,3</sup>. De este modo, la celulosa tradicional implica tanto la afectación del medio ambiente como costos elevados debido a sus métodos de extracción.

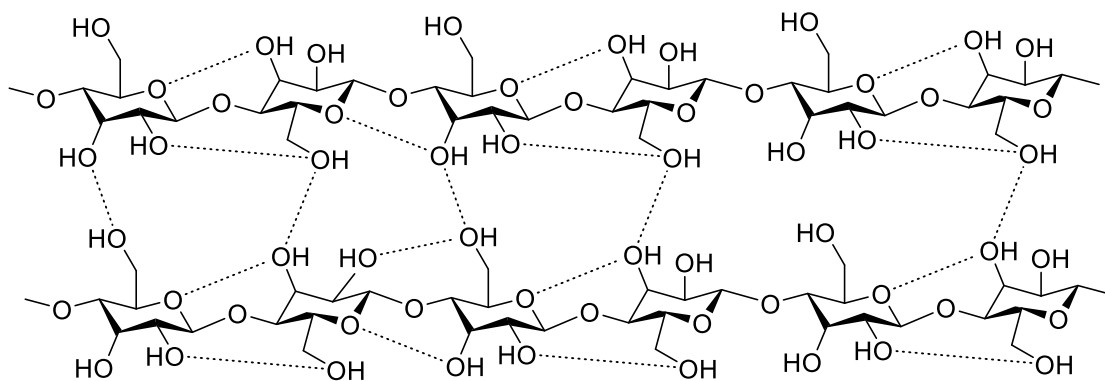


**Figura 1.** Estructura celulosa bacteriana

En contraste, la celulosa bacteriana (ver **Figura 1**) ha surgido como una alternativa para disminuir los impactos negativos generados por la celulosa de origen vegetal, puesto que esta es producida por métodos biotecnológicos a partir de bacterias del género *Acetobacter*, permitiendo la obtención del polímero puro<sup>4</sup>. Así mismo, posee características únicas que la diferencian de la celulosa vegetal, como lo es el alto grado de cristalinidad, alta fuerza mecánica, alto grado de polimerización, alta capacidad de retención de agua, entre otros<sup>5</sup>. Como consecuencia, esta ha sido ampliamente utilizada para diversas aplicaciones en el área de la medicina, la farmacia, la alimentación y la cosmética ante la creciente concientización de la sostenibilidad del medio ambiente<sup>5</sup>.

Adicionalmente, como efecto de las propiedades biocompatibles y biodegradables de la celulosa bacteriana, se facilita la funcionalización de la misma, bien sea de forma no covalente o covalente.

Lo mencionado, se refiere a la mejora de sus propiedades teniendo en cuenta la estructura química de la celulosa bacteriana, la cual es un biopolímero lineal compuesto de unidades de  $\beta$ -D-glucopiranososa (homopolisacárido), unido mediante enlaces  $\beta$ -1,4-glicosídicos<sup>6</sup>. De igual modo, contiene altas cantidades de grupos hidroxilo en su estructura que forman enlaces intramoleculares e intermoleculares de hidrógeno<sup>5</sup> (ver **Figura 2**). Los enlaces intramoleculares son aquellos formados entre monómeros vecinos en una misma cadena de celulosa; estos le confieren estabilidad a la estructura de la celulosa. Referente a los enlaces intermoleculares, son formados entre cadenas adyacentes de polímeros de celulosa; estos también proveen estabilidad a la estructura de celulosa y forman una red bidimensional.



**Figura 2.** Enlaces de hidrógeno inter- e intra- moleculares de la celulosa bacteriana

Ahora bien, referente a los métodos de modificación química efectuados sobre la celulosa bacteriana, se establece por un lado que, el método de gelificación no covalente se refiere al entrecruzamiento físico que ocurre debido a interacciones secundarias no covalentes como enlaces de hidrógeno, interacciones dipolo-dipolo, interacciones electrostáticas o fuerzas hidrófobas<sup>7</sup>, en donde, comúnmente se emplean componentes como quitosano, gelatina, colágeno, alginato de sodio, hialuronato y carragenina<sup>8</sup>. En específico estos entrecruzamientos pueden ser originados por interacciones electrostáticas o anfílicas (Van der Waals, enlaces de hidrógeno e interacciones hidrófobas)<sup>9</sup>. Por otro lado, el método de gelificación covalente establece que el entrecruzamiento químico es debido a interacciones covalentes entre las cadenas de celulosa y es realizado con el uso de monómeros, mediante el acoplamiento de radicales por radiación o por la reacción entre dos grupos funcionales (-OH y -COOH)<sup>7</sup>. Además de los mecanismos anteriores, también puede ser causado por la cuaternización de grupos amino, reacciones tipo click, entrecruzamiento fotoinducido, reacciones redox por puentes disulfuro, entre otros<sup>9</sup>.

Con relación a lo indicado, cabe destacar que se han llevado a cabo varios procesos de modificación química previamente en la celulosa bacteriana, tanto modificación covalente como no covalente. Algunos de los compuestos empleados han sido gelatina, quitosano, silica<sup>10</sup>, epóxidos, alginato, entre otros; donde aquellos han cumplido la función de mejorar las capacidades físicas y químicas de la celulosa bacteriana. Lo anterior, tiene su impacto y aplicaciones en ámbitos como la liberación de fármacos<sup>11</sup>, medicina regenerativa, industria cosmética, biomedicina<sup>12</sup>, entre otros. De esto, cabe destacar que la celulosa bacteriana ha sido aplicada para diversos fines, donde se ha encontrado que su modificación promueve una mejora a las capacidades intrínsecas de esta.

Habiendo establecido lo anterior, se busca desarrollar una prueba de concepto y aproximación a la utilización de la celulosa bacteriana modificada como posible agente de liberación de compuestos de interés cosmético en una aplicación de mascarilla facial, para determinar la capacidad de carga y liberación de agentes cosméticos, que demuestren mayores beneficios que la celulosa bacteriana no modificada. Por lo anterior, se tienen como objetivos diseñar un protocolo para los procesos de funcionalización covalente y no covalente; luego, incorporar compuestos de interés cosmético con actividad antioxidante en la celulosa bacteriana modificada y, por último, evaluar la cinética de liberación del componente de interés cosmético cargado en la mascarilla de la celulosa bacteriana.

## **2. Metodología**

### **2.1 Preparación de la muestra**

Las muestras de celulosa bacteriana sintetizada en los laboratorios de la Universidad Industrial de Santander (UIS) fueron cortadas con medidas establecidas de 1 cm \* 1 cm, en donde se efectuaron cortes por triplicado para cada uno de los ensayos de funcionalización a realizar posteriormente. En adición, se hizo un cuarto corte destinado a la muestra control, con el objetivo de evidenciar las diferencias entre la celulosa bacteriana (CB) modificada y no modificada.

### **2.2 Secado de la muestra**

Para comenzar, se empleó un método de secado a temperatura ambiente bajo condiciones de temperatura  $27^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$  y humedad relativa 63%, según AccuWeather<sup>13</sup>, durante 3 días, midiendo el peso inicial de la CB posterior al corte y el peso pasado el tiempo establecido, tomando este último dato como el peso de la CB sin agua en su estructura.

### **2.3 Estudios de caracterización de la estructura de la celulosa bacteriana.**

Se llevó a cabo la caracterización de la estructura de la celulosa bacteriana no modificada suministrada por la Universidad Industrial de Santander, mediante Infrarrojo (IR) y Calorimetría Diferencial de Barrido (DSC). Esto, con el objetivo de realizar una comparación de la estructura y morfología de la CB posterior al proceso de funcionalización.

### **2.3.1 Espectroscopía de Infrarrojo (IR)**

El análisis de IR de la CB sin modificar se realizó mediante el Espectrofotómetro IR Nicolet 6700, Thermoscientific. Para la evaluación, se llevó a cabo un corte de la CB, posicionándola sobre la superficie de cristal del accesorio de ATR y presionando para asegurar un contacto adecuado. Se llevó a cabo una lectura adecuada entre los rangos de  $450\text{ cm}^{-1}$  hasta  $4000\text{ cm}^{-1}$  con resolución de  $4\text{ cm}^{-1}$ . Para ello, se maceran las muestras en polvo y se colocan sobre pastillas de bromuro de potasio (KBr).

### **2.3.2 Calorimetría Diferencial de Barrido (DSC)**

Para el presente ensayo, se empleó el Calorímetro de Barrido diferencial, TA Instruments, Modelo: Q2000/2000-2740, en donde los cortes correspondientes fueron sometidos a un rango de temperatura desde  $25^{\circ}\text{C}$  hasta  $400^{\circ}\text{C}$ , con una rampa de  $10^{\circ}\text{C}/\text{min}$ , gas de purga nitrógeno UAP grado 5.0 con un flujo de  $50\text{ mL}/\text{min}$ . Esto, denominado técnica Pinhole.

## **2.4 Selección de agentes de funcionalización para modificar la celulosa bacteriana.**

Se realizó el proceso de selección de compuestos químicos para la modificación de la estructura de celulosa bacteriana con el objetivo de efectuar transformaciones de tipo covalente y no covalente. Para ello, se llevó a cabo una exhaustiva revisión de la literatura enfocando la búsqueda en la modificación de la celulosa bacteriana por medio de agentes como polímeros, alginatos y ácidos; evaluando principalmente su biocompatibilidad con la piel.

Dicho lo anterior, al realizar la búsqueda se tomó como referencia un ensayo de tipo covalente y cuatro estudios de tipo no covalente. Con ello, se elaboró un protocolo con las metodologías estandarizadas para ambos tipos de funcionalización (ver **Anexo 1**).

## **2.5 Selección del método de funcionalización covalente y no covalente favoreciendo incorporación de activos.**

### **2.5.1 Métodos de funcionalización covalente**

### **2.5.1.1 Incorporación de ácido cítrico**

Para este ensayo se tomó como referencia lo planteado por Salihu. R, *et al.*<sup>14</sup> Así, se comenzó sumergiendo las láminas de celulosa bacteriana en soluciones de 0.15M de ácido cítrico preparadas en agua destilada. Luego, se dejaron reposar por 24 horas en solución a 45°C en shaker agitando a 150 rpm y se retiraron las muestras de la solución realizando lavados por triplicado con agua destilada. Posteriormente, se removió el exceso de agua por presión mecánica y se secaron al aire libre durante 3 días para finalmente almacenarlas en nevera a 6°C.

## **2.5.2 Métodos de funcionalización no covalente**

### **2.5.2.1 Incorporación de alginato de sodio (ALG) y cloruro de calcio (CaCl<sub>2</sub>)**

Siguiendo como guía lo establecido por Chiaoprakobji, N., *et al.*<sup>15</sup> se preparó una solución de alginato de sodio 2% p/v en agua destilada a temperatura ambiente y se sumergieron las muestras de CB durante 24 horas a 150 rpm. Luego se preparó una solución de cloruro de calcio 1.5% p/v y se sumergieron las muestras durante 2 horas. Posteriormente, se lavaron las muestras con agua destilada por triplicado, se removió el exceso de agua a presión y se dejaron secando por 3 días para finalmente, almacenar en nevera a 6°C.

### **2.5.2.2 Incorporación de quitosano (CS) y alginato de sodio (ALG)**

Para el presente ensayo se siguió como referencia la metodología establecida por Petrova, V., *et al.*<sup>16</sup>. A partir de esto, se prepararon soluciones acuosas de alginato (ALG) 2% p/v y quitosano (CS) al 1% p/v en ácido acético 1% p/v. Después, se impregnó la CB en la solución de ALG durante 24 horas a 150 rpm. Seguido a esto, se removió el exceso y luego se sumergieron las muestras en CS durante 14 horas. Por último, se lavaron las muestras por triplicado con agua destilada, se retiró el exceso de agua, se dejaron secar las muestras durante 3 días bajo las condiciones ambientales de laboratorio y se almacenaron en nevera a 6°C.

### **2.5.2.3 Incorporación de quitosano (CS)**

El ensayo a continuación se realizó con la base de lo establecido por UI-Islam, M., *et al.*<sup>17</sup>. Con ello, se sumergieron las láminas de CB en CS al 1% p/v preparado en solución de ácido acético 1% p/v. Estas, se mantuvieron en solución durante 24 horas a 150 rpm y 50°C en el shaker. Por último, se retiraron las muestras de la solución, se realizaron lavados por triplicado, se removió el

exceso de agua a presión y se dejaron secar durante 3 días bajo las condiciones de laboratorio, para finalmente almacenar en nevera hasta su procesamiento.

#### **2.5.2.4 Incorporación de ácido láctico (AL)**

Para el último ensayo realizado se tomó como referente lo establecido por Phomrak, S., *et al.*<sup>18</sup>. De este modo, se sumergió la CB en solución a 0.25M de AL. Luego, se dejaron reposar en la solución durante 24 horas a 30°C en shaker a 150 rpm. Posteriormente, se retiraron las muestras de la solución, se lavaron con agua destilada por triplicado y se removió el exceso de agua con ayuda de presión mecánica. Por último, se dejaron secar las muestras durante 3 días bajo las condiciones de laboratorio establecidas y se almacenaron en nevera a 6°C.

### **2.6 Estudios de caracterización de la estructura de la celulosa bacteriana**

Posteriormente, se llevaron a cabo nuevamente los estudios de IR y DSC para la evaluación de los efectos de la modificación a nivel de propiedades estructurales y térmicas.

### **2.7 Ensayo de capacidad de carga en celulosa bacteriana modificada**

Seguido al paso de funcionalización y secado de las muestras de CB, se tomaron las muestras de CB, se registró su peso después del secado (peso inicial), se sumergieron en 100 ml de agua destilada durante 24 horas y pasado este tiempo se volvieron a pesar (peso hidratado). De igual modo, se cuantificó la capacidad de carga (mL) y el factor de hidratación empleando las **Ecuaciones 1 y 2** respectivamente.

$$\text{Ecu. 1 Capacidad de carga (mg)} = \text{Peso hidratado (mg)} - \text{Peso inicial (mg)}$$

$$\text{Ecu. 1.1. Capacidad de carga (mL)} = \text{Capacidad de carga (mg)} * \frac{1 \text{ mL}}{1000 \text{ mg}}$$

$$\text{Ecu. 2 Factor hidratación} = \frac{\text{Peso hidratado}}{\text{Peso inicial}}$$

A partir de los datos para cada uno de los ensayos, se ejecutó un análisis estadístico con el objetivo de evaluar cómo varía la capacidad de carga según el componente de funcionalización. Dicho análisis fue evaluado inicialmente con un análisis de varianza en RStudio empleando la capacidad de carga (mL), posteriormente se realizó un análisis T student en Excel con el peso inicial y el peso hidratado para conocer cuáles ensayos presentaron mejor capacidad de carga. Con ello, se

seleccionaron los 2 ensayos que presentaron mejores resultados para realizar posteriormente la incorporación de los ingredientes cosméticos.

## **2.8 Selección de ingredientes cosméticos.**

Una vez seleccionadas las muestras que presentaron mejores resultados posterior al proceso de funcionalización, se llevó a cabo la selección de los ingredientes tras una búsqueda bibliográfica, teniendo en cuenta las propiedades cosméticas de los mismos y la disponibilidad de los reactivos para el estudio. Así mismo, se tiene en consideración que estos sean compatibles con la piel y que a largo plazo brinden al consumidor una experiencia sensorial agradable. Dicho lo anterior, el compuesto seleccionado fue el ácido ascórbico (Vitamina C) con propiedades antioxidantes.

## **2.9 Incorporación de los ingredientes seleccionados en la celulosa bacteriana.**

### **2.9.1 Preparación de la muestra**

Se realizaron cortes de la CB de 3 cm \* 3 cm, teniendo en cuenta 3 repeticiones por cada ensayo y una muestra control. Seguidamente, se retiró el exceso de agua de la CB con presión mecánica y se dejó secando bajo las condiciones ambientales de laboratorio hasta peso constante (3 días).

### **2.9.2 Modificación de la celulosa bacteriana**

Previo a la incorporación de ingredientes activos, se realizaron nuevamente los procesos de funcionalización covalente y no covalente. Dicho esto, se siguió la metodología planteada en la sección 2.5.1.1 y 2.5.2.2, referentes al ácido cítrico y alginato + quitosano, respectivamente.

### **2.9.3 Incorporación de ingredientes cosméticos**

Para continuar, se preparó una solución de 1L a una concentración de 30 ppm de vitamina C en agua tipo 1, entregando un volumen de 100 ml en cada beaker, teniendo en cuenta 4 beakers para cada modificación, es decir, sus 3 repeticiones y el control.

Para el proceso de incorporación de los ingredientes, se tomó como referencia la metodología establecida por Haimer, *et. al*<sup>19</sup>, a partir del cual se realizó un protocolo (ver **Anexo 2**). De este modo, se registró el peso inicial de los cortes de celulosa bacteriana modificada y secada (peso inicial). Posteriormente, se sumergieron en los beakers respectivos que contenían una solución de 30 ppm de vitamina C por 24 horas a 150 rpm. Luego, se registró el peso de las muestras después

de la incorporación (peso hidratado + vitamina C) y se llevó a cabo una cinética de liberación para determinar la cantidad de componente integrado en la celulosa.

## **2.10 Ensayo de liberación del ingrediente activo incorporado en la celulosa bacteriana modificada**

### **2.10.1 Preparación de curva de calibración, fase móvil y estándar.**

Para la determinación de la cantidad de ingrediente activo liberado a partir de la celulosa bacteriana modificada, se seleccionó el método de cromatografía líquida de alta eficacia (HPLC), en donde se empleó la columna Luna 5  $\mu\text{m}$  C18 y un flujo de 1.5 mL/min.

Posterior a ello, se preparó una solución estándar de vitamina C (99% pureza) de 100 mg/L para llevar a cabo la curva de calibración con concentraciones de 5, 10, 20 y 30  $\mu\text{g/L}$  en balones aforados de 10 ml. Así mismo, se prepararon 2L de la fase móvil que constaba de agua tipo 1 y fosfato monobásico de sodio ( $\text{NaH}_2\text{PO}_4$ ), empleando la cantidad necesaria para obtener una solución al 1% p/v y ajustando el pH a un valor de  $2.7 \pm 1$  con ácido fosfórico al 85%.

### **2.10.2 Incorporación y cinética de liberación**

Ahora bien, después de 24 horas de inmersión en la solución de vitamina C de la CB modificada en 100 ml, se tomó una muestra de 2 ml para conocer cuánta vitamina C se incorporó en las muestras. De lo anterior, la muestra de aquel beaker se conoce como cantidad remanente, ya que es la cantidad que no se incorporó en la CB; con esta, se empleó la siguiente ecuación para conocer la cantidad incorporada:

$$\text{Ecu. 3 Cantidad remanente} = \text{ppm} \left( \frac{\text{mg}}{\text{L}} \right) * \frac{1 \text{ L}}{1000 \text{ mL}} * 100 \text{ mL}$$

$$\text{Ecu. 4 Cantidad incorporada} = \left( 30 \text{ ppm} * \frac{1 \text{ L}}{1000 \text{ mL}} * 100 \text{ mL} \right) - \text{cantidad remanente}$$

Siguiendo la cinética, se traspasó la CB a otro beaker con 100 ml de agua tipo 1 y se tomó una muestra en los tiempos de cinética establecidos, siendo estos 0, 5, 10, 15, 20 y 30 minutos. A partir de lo anterior, para cada uno de los tiempos determinados, se extrajo un volumen de 2 ml. Cabe mencionar que, cada que se extraía el volumen, este se reponía con la misma cantidad de agua tipo 1.

Ahora bien, en el caso de las muestras donde se quiso determinar la cantidad de vitamina C incorporada, se diluyó un volumen de 800  $\mu\text{L}$  de la solución en 200  $\mu\text{L}$  de fase móvil. Luego, para los tiempos restantes se extrajo un volumen de 1000  $\mu\text{L}$  de la solución. Los anteriores, fueron inyectados en viales para HPLC empleando jeringas de 5 ml con membranas de nylon 0.2  $\mu\text{m}$ .

### 2.10.3 Selección de un diseño experimental para el proceso de liberación de los ingredientes

Después de la incorporación, se propone realizar un diseño de experimentos tipo comparativo con el objetivo de evaluar el efecto de cada tipo de funcionalizaciones realizadas tienen un efecto sobre la incorporación y liberación de la vitamina C.

### 2.10.4 Evaluación y determinación del modelo cinético obtenido

Para los resultados obtenidos en la cinética de liberación, se emplean métodos matemáticos para reconocer el orden de reacción para cada modificación. En este caso, se utiliza la herramienta de análisis de datos de Excel, empleando la opción de regresión. De esta manera, se transforman los datos de la cinética siguiendo cada uno de los órdenes, según las siguientes ecuaciones.

$$\text{Ecu. 5 Orden cero: } [A]_t = -kt + [A]_0$$

$$\text{Ecu. 6 Orden uno: } \ln[A]_t = -kt + \ln[A]_0$$

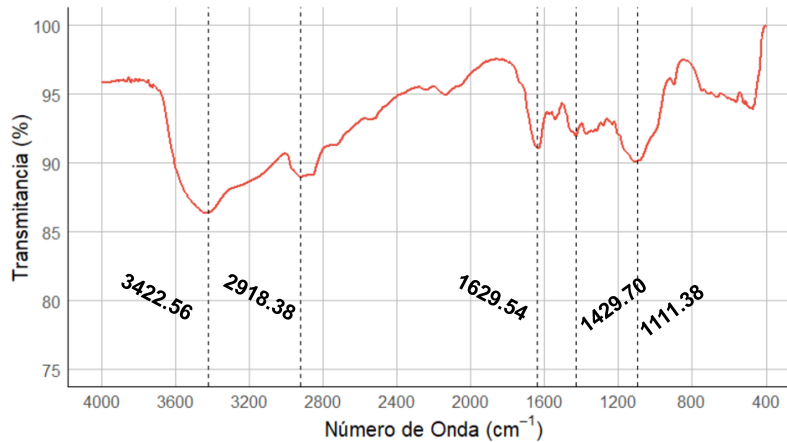
$$\text{Ecu. 7 Orden dos: } \frac{1}{[A]_t} = kt + \frac{1}{[A]_0}$$

Ahora bien, para determinar el orden de reacción se hace uso de aquel con el coeficiente de determinación  $R^2$  más cercano a uno.

## 3. Resultados y discusión

### 3.1. Estudios de caracterización de la celulosa bacteriana

Para comenzar, se determinaron los grupos funcionales característicos mediante el análisis de espectrometría infrarroja (FT-IR) (ver **Gráfico 1**) y la temperatura de degradación de la celulosa bacteriana mediante calorimetría diferencial de barrido (DSC) (ver **Error! Reference source not found.**). Con ello, los espectros y las tablas de asignación de bandas y temperaturas respectivas se muestran a continuación.



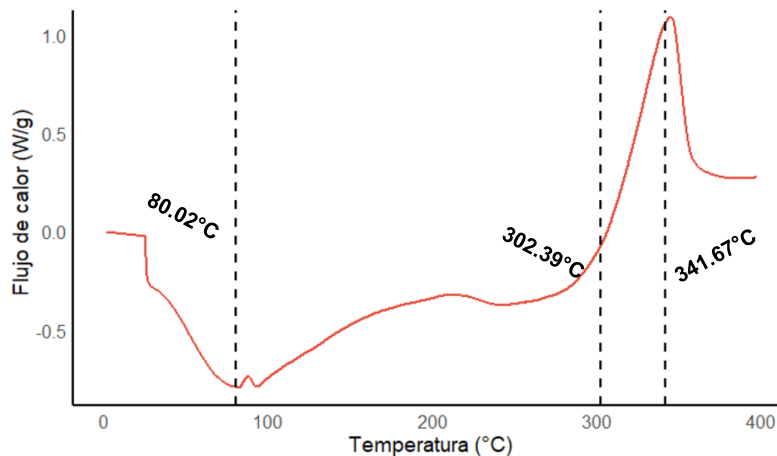
**Gráfico 1.** Espectro FT-IR de celulosa bacteriana sin modificar

**Tabla 1.** Asignación de bandas en el espectro FT-IR de la celulosa bacteriana

Posición (cm <sup>-1</sup> )	Asignación de bandas	Subestructura
3422.56	v(O-H)	OH polimérico
2918.38	v(C-H), v <sub>as</sub> (CH <sub>2</sub> )	CH
1629.54, 1541.56	v(C-C)	C-C
1429.70	δ <sub>s</sub> (CH <sub>2</sub> )	CH <sub>2</sub>
1374.56	δ <sub>s</sub> (CH <sub>3</sub> )	CH <sub>3</sub>
1111.38	v <sub>as</sub> (C-O-C)	Anillo glicosídico

**Vibraciones en IR:** v – estiramiento; δ – flexión; w – oscilación; s – simétrico; as – asimétrico

Por un lado, en el espectro FT-IR se pueden observar las señales más características de la celulosa bacteriana, una de ellas entre 800 a 1200 cm<sup>-1</sup>, la cual representa el anillo glicosídico característico de los polisacáridos (1111.38 cm<sup>-1</sup>) (ver **Figura 1**). De igual modo, entre 3200 a 3440 cm<sup>-1</sup> se encuentra la señal del OH polimérico, el cual se destaca por ser una banda ancha y de gran intensidad (3422.56 cm<sup>-1</sup>)<sup>12</sup>. Igualmente, para el resto de la estructura se destacan las siguientes señales: estiramiento del grupo metileno (2918.38 cm<sup>-1</sup>), estiramiento del grupo CH<sub>2</sub> y CH<sub>3</sub> del resto de la estructura<sup>20</sup> y flexión del grupo C-H (1429.70 cm<sup>-1</sup> y 1374.56 cm<sup>-1</sup>).



**Gráfico 2.** DSC de celulosa bacteriana sin modificar

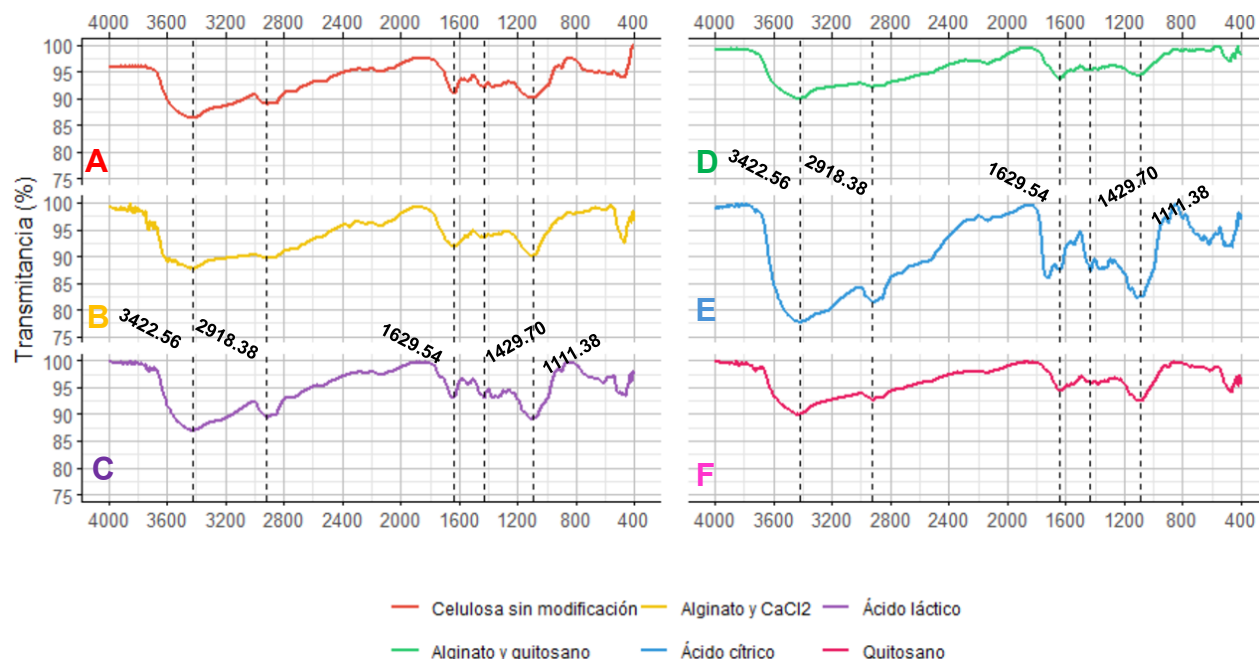
**Tabla 2.** Asignación de temperaturas en el espectro DSC de la celulosa bacteriana sin modificar

Temperatura (°C)	Asignación	Tipo de señal
80.02	Deshidratación	Endotérmica
302.39	Degradación	Endotérmica
341.67	Descomposición	Exotérmica

Por otro lado, en el espectro de calorimetría diferencial de barrido (DSC), se evidencia un pico endotérmico a 80.02°C; temperatura en la que la celulosa bacteriana comienza a perder agua a través de evaporación. Luego, en 302.39°C se observa el segundo pico endotérmico que indica el inicio de la degradación y fusión de la muestra y por último, un pico exotérmico en 341.67 °C que hace referencia a la temperatura en la que la celulosa bacteriana alcanza su grado máximo de degradación y se descompone<sup>21</sup>.

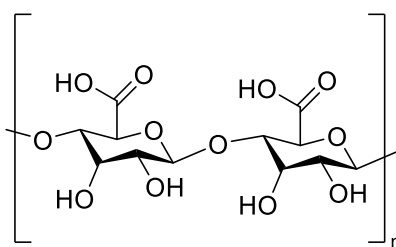
### 3.2. Caracterización celulosa bacteriana modificada covalente y no covalente

Ahora bien, después de haber realizado las modificaciones de la celulosa con los agentes descritos anteriormente, se analizó nuevamente la estructura para confirmar que aquellas modificaciones hayan sido exitosas (ver Gráfico 3).



**Gráfico 3.** Espectro FT-IR celulosa bacteriana modificada. (A) Celulosa sin modificar, (B) Alginato y CaCl<sub>2</sub>, (C) Ácido láctico, (D) Alginato y quitosano, (E) Ácido cítrico, (F) Quitosano

En la gráfica anterior, se pueden evidenciar las señales más características de la celulosa bacteriana en todas las estructuras como el anillo glucosídico entre 800 y 1200 cm<sup>-1</sup> y la señal del OH polimérico entre 3200 y 3440 cm<sup>-1</sup>. Igualmente, para el caso del alginato y cloruro de calcio (CaCl<sub>2</sub>) (ver **Anexo 4** y **Tabla 3**), se reflejan señales de la misma intensidad y característica. Lo anterior, es debido a que el alginato de sodio es un polisacárido que, a diferencia de la celulosa bacteriana, posee un grupo carboxílico en su estructura (ver **Figura 3**). De este modo, se evidencia un aumento en la intensidad y ancho de la señal entre 1900 y 1500 cm<sup>-1</sup> (1640.46 cm<sup>-1</sup>), lo cual indica la presencia del alginato dentro de la estructura de la celulosa bacteriana<sup>15</sup>. Así mismo, se destacan sus señales de 3421.69 cm<sup>-1</sup>, 1432.14 cm<sup>-1</sup> y 1096.85 cm<sup>-1</sup>, que también representan a los grupos -COOH y -OH en sus diferentes vibraciones como estiramiento y flexión<sup>22,23</sup>.



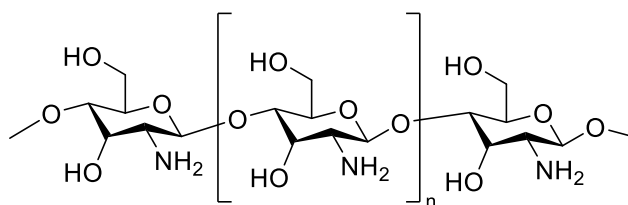
**Figura 3.** Estructura del alginato

**Tabla 3.** Asignación de bandas en espectro IR alginato y cloruro de calcio

Posición (cm <sup>-1</sup> )	Asignación de bandas	Subestructura
3421.69	v(O-H)	OH polimérico
2922.51	v(C-H), v <sub>as</sub> (CH <sub>2</sub> )	CH
1640.46	v(C-C)	C-C
1432.14	δ <sub>s</sub> (CH <sub>2</sub> ), δ(COOH)	CH <sub>2</sub> , COOH
1096.85	v <sub>as</sub> (C-O-C),	Anillo glicosídico

Vibraciones en IR: v – estiramiento; δ – flexión; w – oscilación; s – simétrico; as – asimétrico

Siguiendo con lo anterior, el espectro de alginato y quitosano (ver **Anexo 1** y **Tabla 4**) posee características similares que el alginato y CaCl<sub>2</sub>, pues lo único que cambia es la adición del quitosano, el cual también es un polisacárido, que cuenta con un grupo amino (ver **Figura 4**) a diferencia de los demás polisacáridos mencionados anteriormente. De este modo, el espectro se caracteriza por presentar una señal característica en 3421.31 cm<sup>-1</sup>, el cual representa la señal de los grupos hidroxilo y amina. Además, la señal de 1643.05 cm<sup>-1</sup> representa los grupos de aminas primarias en la estructura del quitosano<sup>24</sup>. No obstante, al hacer la comparación con la funcionalización de quitosano (ver **Anexo 7** y **Tabla 5**) por sí solo, es posible evidenciar con mayor claridad las señales características de las aminas. Las anteriores se evidencian en 1640.95 cm<sup>-1</sup> y 1542.66 cm<sup>-1</sup>, que representan a los grupos amina primarios y secundarios respectivamente. Igualmente, las señales de 1430.38 cm<sup>-1</sup> y 1381.67 cm<sup>-1</sup> están asociadas con los grupos -CH<sub>2</sub> respectivamente y CH<sub>3</sub>N-acetilglucosamina<sup>24</sup>.



**Figura 4.** Estructura del quitosano

**Tabla 4.** Asignación de bandas espectro IR alginato y quitosano

Posición (cm <sup>-1</sup> )	Asignación de bandas	Subestructura
3421.31	v(O-H)	OH polimérico
2923.00	v(C-H), v <sub>as</sub> (CH <sub>2</sub> )	CH

1643.05	$\nu(\text{NH}_2)$	$\text{NH}_2$
1431.84	$\delta_s(\text{CH}_2)$	$\text{CH}_2$
1108.94	$\nu_{as}(\text{C-O-C})$	Anillo glicosídico

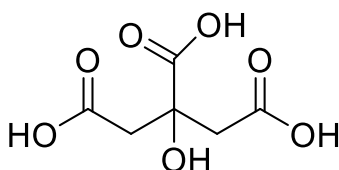
Vibraciones en IR:  $\nu$  – estiramiento;  $\delta$  – flexión;  $w$  – oscilación;  $s$  – simétrico;  $as$  – asimétrico

**Tabla 5.** Asignación de bandas espectro IR quitosano

Posición ( $\text{cm}^{-1}$ )	Asignación de bandas	Subestructura
3421.65	$\nu(\text{O-H})$	OH polimérico
2922.26	$\nu(\text{C-H}), \nu_{as}(\text{CH}_2)$	CH
1640.95, 1542.66	$\nu(\text{NH}_2)$	$\text{NH}_2$
1430.38	$\delta_s(\text{CH}_2)$	$\text{CH}_2$
1381.67	$\delta_s(\text{CH}_3)$	$\text{CH}_3$ N-acetilglucosamina
1094.51	$\nu_{as}(\text{C-O-C})$	Anillo glicosídico

Vibraciones en IR:  $\nu$  – estiramiento;  $\delta$  – flexión;  $w$  – oscilación;  $s$  – simétrico;  $as$  – asimétrico

Respecto a la modificación con ácido cítrico (ver **Anexo 5**), se puede confirmar su presencia, debido a la señal en  $1724.45 \text{ cm}^{-1}$ , característica del estiramiento del grupo carbonilo (ver **Figura 5** y **Tabla 6**). Así mismo, se evidencia una señal ancha e intensa, debido al grupo OH tanto de la celulosa bacteriana como del ácido cítrico ( $3420.95 \text{ cm}^{-1}$ )<sup>25</sup>. De igual modo, se puede evidenciar la torsión o estiramiento del carbonilo<sup>14</sup> en las señales de  $1428.60 \text{ cm}^{-1}$  y  $1337.40 \text{ cm}^{-1}$ . De la misma manera, para el ácido láctico (ver **Anexo 6**) se debería evidenciar una señal entre  $1700$  y  $1725 \text{ cm}^{-1}$  debido a la presencia del grupo carboxilo (ver **Figura 6** y **Tabla 7**), no obstante, esta señal no se puede apreciar con claridad. A diferencia de ello, se encuentran señales características del grupo  $-\text{COOH}$  en  $1338.36 \text{ cm}^{-1}$  y  $1429.29 \text{ cm}^{-1}$ . Lo anterior, es decir, la ausencia de señales puede ser debida a la falta de interacción química entre la celulosa bacteriana después de la modificación<sup>18</sup>, pues esta modificación se fundamenta en principios no covalentes ya que el ácido láctico interacciona con la celulosa bacteriana mediante puentes de hidrógeno.

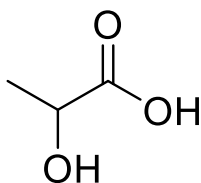


**Figura 5.** Estructura del ácido cítrico

**Tabla 6.** Asignación de bandas en espectro IR ácido cítrico

Posición (cm <sup>-1</sup> )	Asignación de bandas	Subestructura
3420.95	v(O-H)	OH polimérico
2919.73	v(C-H), v <sub>as</sub> (CH <sub>2</sub> )	CH
1724.45	v(C=O)	C=O
1650.62	v(C-C)	C-C
1428.60, 1337.40	δ(C=O)	C=O
1109.76	v <sub>as</sub> (C-O-C)	Anillo glicosídico

Vibraciones en IR: v – estiramiento; δ – flexión; w – oscilación; s – simétrico; as – simétrico

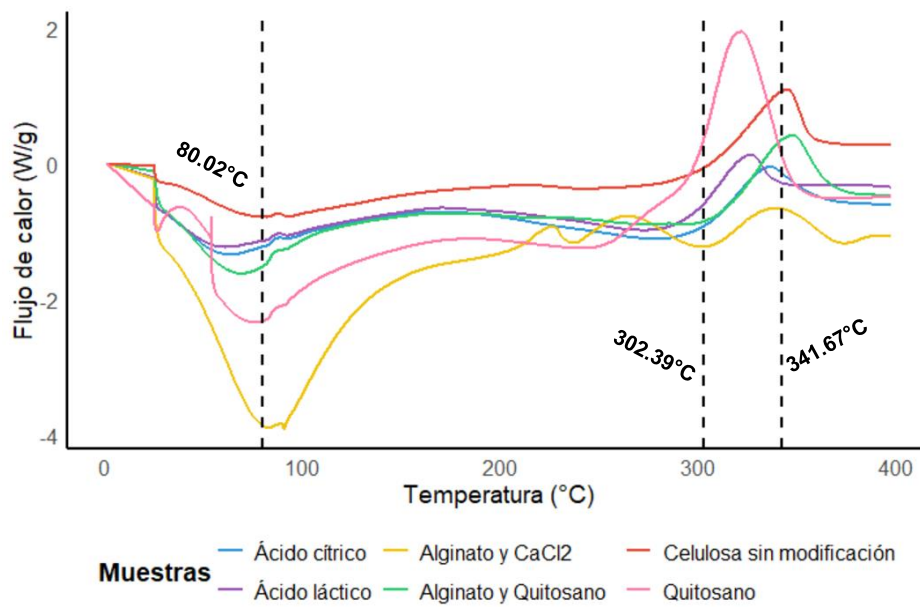


**Figura 6.** Estructura del ácido láctico

**Tabla 7.** Asignación de bandas en espectro IR ácido láctico

Posición (cm <sup>-1</sup> )	Asignación de bandas	Subestructura
3421.76	v(O-H)	OH polimérico
2919.94	v(C-H), v <sub>as</sub> (CH <sub>2</sub> )	CH
1640.63, 1542.61	v(C-C)	C-C
1429.29, 1338.26	δ(C=O), v(C=O)	C=O
1109.17	v <sub>as</sub> (C-O-C)	Anillo glicosídico

Vibraciones en IR: v – estiramiento; δ – flexión; w – oscilación; s – simétrico; as – simétrico



**Gráfico 4.** DSC de celulosa bacteriana no modificada

**Tabla 8.** Asignación de temperaturas en el espectro DSC de la celulosa bacteriana modificada

Ensayo	Temperatura (°C)	Asignación	Tipo de señal
Alginato y quitosano	68.16	Deshidratación	Endotérmica
Alginato y quitosano	311.71	Degradación	Endotérmica
Alginato y quitosano	344.74	Descomposición	Exotérmica
Alginato y CaCl <sub>2</sub>	82.60	Deshidratación	Endotérmica
Ácido cítrico	62.93	Deshidratación	Endotérmica
Ácido cítrico	312.78	Degradación	Endotérmica
Ácido cítrico	336.12	Descomposición	Exotérmica
Ácido láctico	61.36	Deshidratación	Endotérmica
Ácido láctico	303.42	Degradación	Endotérmica
Ácido láctico	323.70	Descomposición	Exotérmica
Quitosano	73.22	Deshidratación	Endotérmica
Quitosano	290.71	Degradación	Endotérmica
Quitosano	319.17	Descomposición	Exotérmica

Evaluando lo reportado en la (**Gráfica 4**), de la celulosa bacteriana modificada con los 5 agentes seleccionados, se logra evidenciar que el ensayo que garantizó y mantuvo en mayor medida la estabilidad térmica fue la modificación con alginato y quitosano. Esto, se puede justificar en la medida que la interacción entre el alginato con carga negativa y quitosano cargado positivamente

forman un complejo polieléctrico que le aporta estabilidad y densidad<sup>26</sup>, dificultando movilidad de los enlaces y, por ende, la degradación temprana de la celulosa.

Seguidamente, para el ensayo de alginato y cloruro de calcio, solo fue posible identificar la temperatura en donde comenzó la deshidratación y se reportaron múltiples oscilaciones de los picos en el termograma sin su asignación respectiva en la región entre los 200 y 350 °C. Ahora bien, considerando que la temperatura de descomposición de la celulosa se reportó en 341.67 °C, podría entenderse que las fluctuaciones observadas corresponden a degradaciones secuenciales del alginato y el cloruro de calcio, el agente catalizador, afectando así la estructura de la matriz.

Luego, el termograma del ácido cítrico demostró mantener una temperatura de degradación mínimamente inferior al valor reportado para la celulosa bacteriana sin modificar, por lo cual lo obtenido a partir de esta modificación resulta bastante favorable. Así mismo, este es un resultado esperable debido a que la interacción entre la celulosa y el ácido cítrico es de tipo covalente<sup>27</sup>, en donde se favoreció la reticulación por medio del uso de calor, y como efecto de esto, se refuerza la estructura interna manteniendo una estabilidad térmica elevada. Esto, teniendo en cuenta que esta molécula contiene tres ácidos carboxílicos y un grupo hidroxilo, lo cual permite el anclaje adecuado a la celulosa.

De igual modo, el ensayo de modificación con el ácido láctico muestra una tendencia similar a la observada para el caso del ácido cítrico; sin embargo, este primero cuenta con una estructura lineal compuesta solo por un ácido carboxílico dentro de su estructura y un grupo hidroxilo, lo cual le permite interactuar con la celulosa por medio de enlaces de hidrógeno; sin embargo, no son significativamente fuertes debido a la cantidad de grupos funcionales presentes para fortalecer y estabilizar más la estructura de la celulosa<sup>28,29</sup>.

Por último, se observa que la estabilidad térmica disminuyó de manera notoria en el ensayo en donde se empleó únicamente quitosano, lo cual puede atribuirse a que la fracción de quitosano que logró introducirse en la celulosa afectó la organización interna de la estructura, conduciendo a una reducción en la cristalinidad. Lo mencionado, considerando que las regiones amorfas de una estructura son menos rígidas y estables que las cristalinas, lo que las hace más susceptibles a degradarse a menores temperaturas<sup>30</sup>. Así mismo, la introducción de grupos funcionales como las aminas pueden actuar como sitios activos que posiblemente se degradan a temperaturas inferiores afectando negativamente la estabilidad térmica<sup>31</sup>.

### 3.3. Ensayo de capacidad de carga en celulosa bacteriana modificada

A partir de la incorporación de los agentes de funcionalización y el registro de la variación de los pesos en seco de los ensayos realizados, se determinó la capacidad de carga y el factor de hidratación (ver **Tabla 9**). Para una mejor evidencia de estos datos se pueden apreciar en el **Gráfico 5**, donde se toma como control el peso inicial de cada muestra.

*Tabla 9. Datos de capacidad de carga según cada modificación*

Muestra	Peso inicial (mg)	Peso hidratado (mg)	Capacidad de carga (mL)	Factor hidratación
<b>Control A</b>	4,80	12,90	0,01	2,69
<b>Alginato y quitosano (1)</b>	5,20	45,80	0,04	8,81
<b>Alginato y quitosano (2)</b>	5,50	74,10	0,07	13,47
<b>Alginato y quitosano (3)</b>	4,80	77,00	0,07	16,04
<b>Control B</b>	3,90	23,90	0,02	6,13
<b>Alginato y CaCl<sub>2</sub> (1)</b>	10,80	31,20	0,02	2,89
<b>Alginato y CaCl<sub>2</sub> (2)</b>	11,60	20,70	0,01	1,78
<b>Alginato y CaCl<sub>2</sub> (3)</b>	22,20	30,10	0,01	1,36
<b>Control C</b>	4,20	18,20	0,01	4,33
<b>Ácido cítrico (1)</b>	23,30	84,00	0,06	3,61
<b>Ácido cítrico (2)</b>	5,20	41,60	0,04	8,00
<b>Ácido cítrico (3)</b>	6,30	68,50	0,06	10,87
<b>Control D</b>	3,80	13,60	0,01	3,58
<b>Ácido láctico (1)</b>	4,60	46,80	0,04	10,17
<b>Ácido láctico (2)</b>	5,50	21,20	0,02	3,85
<b>Ácido láctico (3)</b>	5,40	19,90	0,01	3,69
<b>Control E</b>	4,80	23,50	0,02	4,90
<b>Quitosano (1)</b>	4,80	79,30	0,07	16,52
<b>Quitosano (2)</b>	5,20	11,70	0,01	2,25
<b>Quitosano (3)</b>	5,50	21,40	0,02	3,89

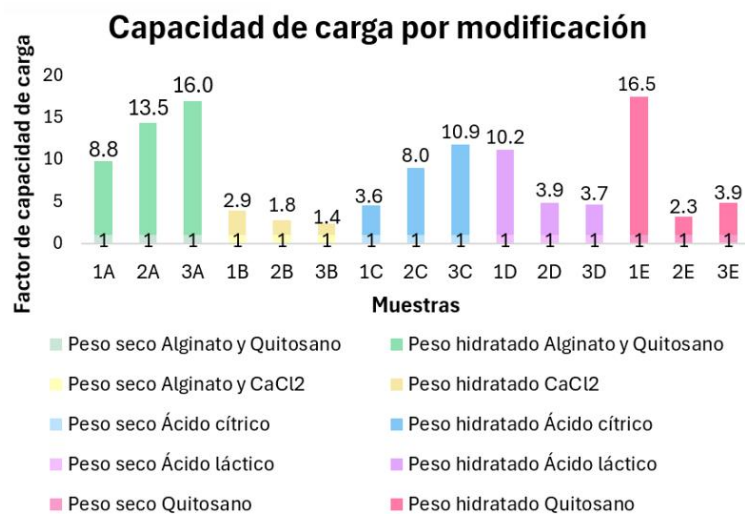
Ahora bien, para reconocer la significancia estadística de estos valores respecto al control, se realizó un análisis de varianza obteniéndose la **Tabla 10**, en la cual, teniendo en cuenta en Valor P, se obtuvo que las modificaciones si tuvieron un impacto respecto a la celulosa bacteriana sin modificar.

*Tabla 10. Análisis de varianza de la capacidad de carga (mL)*

Resumen	Grados de libertad	Suma cuadrados	Cuadrado medio	Valor F	Valor P
---------	--------------------	----------------	----------------	---------	---------

<b>Grupo</b>	5	0.006672	0.0013343	4.217	0.0151*
<b>Residuales</b>	14	0.004429	0.0003164		
<b>Códigos de significancia:</b> 0 ‘***’, 0.001 ‘**’, 0.01 ‘*’, 0.05 ‘.’, 0.1 ‘’, 1					

Con ello, en el **Gráfico 5**, se reporta el incremento del factor de capacidad de carga evaluado por triplicado para cada uno de los agentes de modificación; lo mencionado, teniendo en cuenta que el control de cada muestra es su peso seco evaluado contra su peso hidratado. No obstante, para identificar con mayor precisión los ensayos que tuvieron la mayor relevancia, se ejecutó un análisis estadístico T student para cada modificación (ver **Tabla 11**), cuyo propósito es verificar si la diferencia obtenida entre los valores de antes y después de cada ensayo, sí es significativa.



**Gráfico 5.** Capacidad de carga por modificación

**Tabla 11.** Análisis estadístico T student de la capacidad de carga

Modificación	Estadístico T	Valor P	Valor T crítico	Significancia
Alginato y quitosano	-6.0542	0.0131	2.9199	***
Alginato y CaCl <sub>2</sub>	-3.1309	0.0443	2.9199	***
Ácido cítrico	-6.3507	0.0119	2.9199	***
Ácido láctico	-2.6696	0.0581	2.9199	.
Quitosano	-1.5183	0.1341	2.9199	

**H<sub>0</sub>:** No hay un aumento significativo en el peso después del tratamiento. La media de las diferencias es menor o igual a 0; **H<sub>1</sub>:** El peso hidratado es significativamente mayor que el peso inicial. La media de las diferencias es mayor que 0. Rechazo H<sub>0</sub> si P < 0.05.

---

**Significancia:**  $0.01 \leq \text{Valor P} < 0.05$  ‘\*\*\*’ (Existe una diferencia alta),  $0.05 \leq \text{Valor P} < 0.1$  ‘.’ (Posible diferencia),  $\text{Valor P} \geq 0.1$  ‘’ (No hay diferencia)

---

Por un lado, la eficiencia de los resultados podría atribuirse al método de secado empleado. En un inicio del estudio, se empleó un método de secado en horno (40°C) hasta alcanzar peso constante, en donde las muestras se deshidrataron en su totalidad; sin embargo, disminuyó significativamente su porosidad y se observó un oscurecimiento de tono marrón localizado en los bordes indicando una posible degradación superficial. Con ello, se optó por implementar un secado bajo temperatura ambiente controlada dentro del laboratorio, el cual es un método que ha demostrado tener un menor efecto negativo en cuanto a las propiedades mecánicas de la celulosa bacteriana, como lo son la capacidad de absorción de agua, retención de agua y rehidratación<sup>30</sup>. Lo mencionado, se justifica en la medida que, durante este proceso de secado, ocurre una eliminación gradual del agua presente, lo cual permite conservar la integridad de la matriz; esto debido a que, una evaporación acelerada podría generar una deformación de la estructura interna afectando la porosidad<sup>32</sup>.

Por otro lado, se debe evaluar la naturaleza de los agentes de funcionalización empleados con el objetivo de justificar los valores obtenidos. Con ello, para el ensayo de alginato y quitosano, como se mencionó en secciones anteriores, forman una red polieléctrica como efecto de la diferencia de cargas entre ambos compuestos, el cual, al unirse de manera no covalente a la celulosa, permite una mayor flexibilidad dentro de la estructura, facilitando la incorporación de moléculas. Adicionalmente, se debe recalcar que ambas moléculas son de naturaleza hidrófila, por ende, actúan en sinergia para atraer moléculas de agua y permiten un incremento notorio de la capacidad de carga<sup>33</sup>.

Luego, para el caso del ensayo de alginato y cloruro de calcio, se ha establecido que estos dos compuestos al interactuar forman un gel por medio de un proceso de reticulación, en donde los iones divalentes del calcio forman enlaces iónicos con los grupos carboxilo del alginato, obteniéndose así una red más compacta y densa. No obstante, se ha descrito en la literatura que la funcionalización por parte de estos componentes conocida como “Caja de huevos”, tiende a generar una disposición de la estructura más ajustada<sup>34</sup>; con ello, se reducen significativamente los espacios disponibles, y, por tanto, se reduce la porosidad de la matriz afectando su capacidad de carga. Lo descrito anteriormente, es acorde con lo planteado en el **Gráfico 5**, pues en este se reporta que el ensayo de alginato y quitosano tuvo resultados inferiores, en comparación a las demás

funcionalizaciones. Sin embargo, en la **Tabla 11**, se observa que este ensayo presentó significancia estadística en conjunto con las modificaciones de alginato y quitosano, y ácido cítrico, lo cual se argumenta considerando que los valores obtenidos para alginato y cloruro de calcio son consistentes y no presentan una desviación elevada; característica que comparten con los otros dos ensayos presentes en esta tabla, razón por la cual el análisis realizado pudo indicar que los datos registrados sí son estadísticamente relevantes.

Referente a la funcionalización con ácido cítrico, la incorporación de esta molécula dentro de la matriz de la celulosa bacteriana conduce a la formación de redes de poros los cuales incrementan la capacidad de carga; esto, por medio de una esterificación entre los grupos carboxilo del ácido y los grupos hidroxilo de la celulosa, obteniéndose como resultado una estructura reticular tridimensional<sup>35</sup>. Así mismo, este componente al interactuar covalentemente con la celulosa genera sitios dentro de la estructura en donde los grupos hidroxilo pueden atraer y rodearse de un mayor número de moléculas de naturaleza hidrofílica, aumentando la capacidad para retener agua como efecto de la modificación.

Ahora, para el ensayo con ácido láctico se obtuvo un incremento considerable del factor de capacidad de carga en las tres repeticiones realizadas; esto, como efecto de la naturaleza de la estructura del ácido, que cuenta con un grupo carboxilo e hidroxilo, permitiendo así, la formación de enlaces que favorezcan los enlaces con moléculas de agua. No obstante, se debe considerar que las interacciones entre esta molécula y la celulosa bacteriana pueden conllevar a la reducción de espacios disponibles dentro de la matriz como consecuencia de un aumento de la densidad, limitando la capacidad de carga<sup>36</sup>. Sumado a lo anterior, al establecer una comparación entre el ácido láctico y el ácido cítrico, se entiende que el segundo presente un mayor incremento en el factor de capacidad de carga; puesto que cuenta con un mayor número de grupos funcionales disponibles para atraer moléculas de agua y afines.

Por último, para el ensayo con Quitosano, se debe comenzar considerando que la variabilidad de los resultados obtenidos se puede atribuir al peso molecular del compuesto; el cual era de aproximadamente de 250.000 y 300.000 dalton. Con ello, se considera que posiblemente el peso molecular seleccionado para el ensayo dificultó el ingreso de la molécula en la matriz de la celulosa. De este modo, se espera que al realizar el mismo ensayo evaluándolo bajo un peso molecular inferior de quitosano, se obtengan factores de capacidad de carga más favorables; esto,

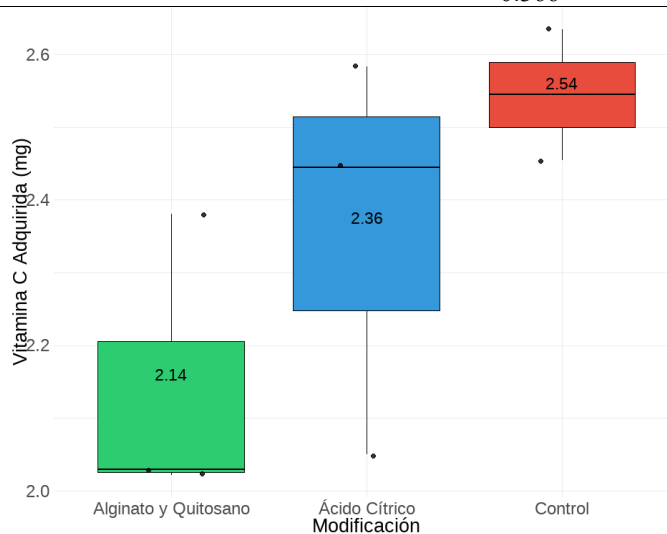
debido a que se ha reportado que este es un compuesto que ha demostrado tener gran capacidad de atracción de moléculas de agua<sup>31</sup>.

### 3.4. Incorporación de ingredientes cosméticos activos y su liberación en celulosa bacteriana modificada

Siguiendo con los ensayos desarrollados, para el caso de la incorporación de la vitamina C se recopilaron los datos del ingrediente cosmético adquirido para cada modificación en la **Tabla 12**. De igual modo, se representan estos datos en el **Gráfico 6**.

*Tabla 12. Vitamina C adquirida por modificación*

Muestra	Concentración remanente (ppm)	Cantidad remanente (mg)	Vitamina C adquirida (mg)
Alginato y quitosano (1)	6.189	0.619	2.381
Alginato y quitosano (2)	9.705	0.970	2.030
Alginato y quitosano (3)	9.781	0.978	2.022
Control	5.454	0.545	2.455
Ácido cítrico (1)	4.170	0.417	2.583
Ácido cítrico (2)	9.501	0.950	2.050
Ácido cítrico (3)	5.551	0.555	2.445
Control	3.658	0.366	2.634

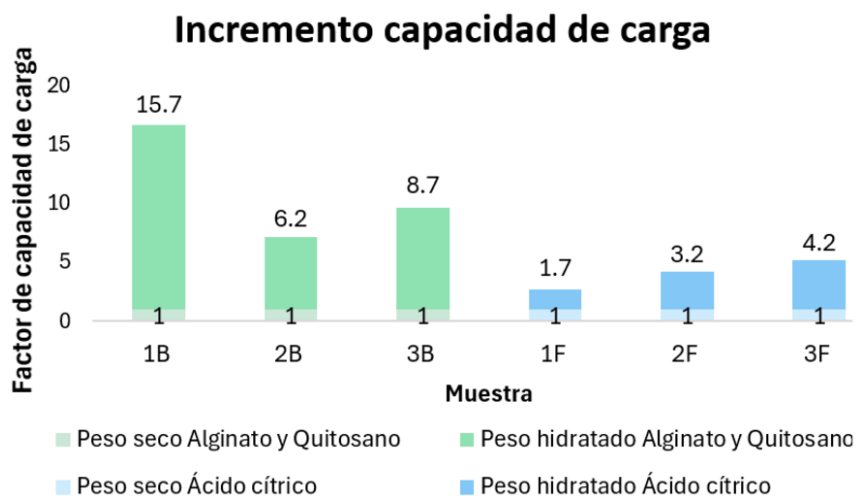


*Gráfico 6. Vitamina C adquirida por modificación*

Ahora bien, respecto a los datos anteriores se podría esperar que la celulosa modificada tenga la mayor cantidad de ingrediente incorporado. Sin embargo, se puede evidenciar que el control, es decir, la celulosa sin modificar obtuvo la mayor cantidad en su estructura. Lo anterior, puede ser debido a que los enlaces de la celulosa (ver **Figura 1**) están mayormente ocupados por los agentes

modificantes, lo cual evita incorporar la vitamina C en su estructura, debido a la disminución de espacio para el mismo<sup>14</sup>.

Igualmente, es importante destacar la diferencia entre la modificación del ácido cítrico y el alginato y el quitosano, pues se evidencia que, a pesar de la gran variabilidad de las muestras, el ácido cítrico obtuvo mayores cantidades de vitamina C en su estructura. Para este último, se evidencian mejores resultados debido a que, como se nota en su estructura (**Figura 5**), muestra una mayor cantidad de puntos de anclaje para la vitamina C (ver **Figura 7**), donde se pueden formar gran cantidad de puentes de hidrógeno con ayuda de los ácidos carboxílicos<sup>14</sup>. No obstante, la cantidad de vitamina C sigue siendo menor que el control, lo que puede ser debido a que la afinidad de la vitamina C es más alta por los OH del agua que de la celulosa, permaneciendo así en mayor medida en el medio acuoso<sup>37</sup>. Ahora, el alginato y quitosano forman una estructura altamente reticulada y a pesar de ser componentes altamente hidrofílicos y con alta porosidad<sup>14,15</sup>, un bajo ingreso de vitamina C puede deberse a la alta cantidad de reticulaciones en la estructura; reduciendo el espacio físico para el ingreso de esta. No obstante, esto podría contrarrestarse tras hacer uso de un quitosano con un menor peso molecular, esto, debido a que, a mayor peso molecular, el quitosano posee una estructura más compacta con un tamaño de poro más pequeño<sup>38</sup>. Así, una estructura más porosa permite mayor ingreso de ingrediente activo a la celulosa bacteriana<sup>17</sup>.

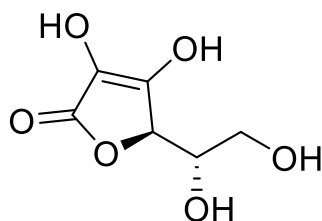


**Gráfico 7.** Incremento de capacidad de carga respecto a vitamina C adquirida por modificación.

Relacionado con el **Gráfico 6**, se elaboró un gráfico de barras con el objetivo de comparar cada modificación seleccionada influyó el resultado del factor de capacidad de carga (Ver **Gráfico 7**); esto, teniendo en cuenta que se estaba evaluando con respecto al volumen de agua más la

vitamina C. A partir de lo anterior, se obtuvo una respuesta que es acorde a lo planteado previamente; es decir, que el complejo de alginato y quitosano incorporan agua en mayor medida a diferencia del Ácido cítrico.

Sin embargo, a partir del incremento de capacidad de carga del alginato y quitosano, que fue desde las 6.2 hasta las 15.7 veces de su peso en seco, se establece que este resultado sumamente comprometedor podría permitir una óptima incorporación de otro tipo de moléculas tanto de interés cosmético como farmacéutico, diferentes a la vitamina C.



*Figura 7. Estructura de la vitamina C*

Ahora, con los resultados de liberación presentados en la **Tabla 13** y **Tabla 14**, se realiza una gráfica para analizar el comportamiento de los datos respecto al tiempo (ver **Gráfico 8**). En el anterior, se pueden evidenciar ciertos puntos con cantidad nula de vitamina C liberada, representando inconsistencias en el método de determinación. Aquello, es debido a que al momento de determinar las cantidades liberadas se empleó un volumen de agua elevado, llevando a la dilución de la concentración de vitamina C en el recipiente. Además, el equipo empleado (HPLC) no posee una alta sensibilidad, pues esta determinación podría haberse llevado a cabo en equipos como UHPLC que tienen la capacidad de medir muy bajas concentraciones de compuestos por su alta sensibilidad<sup>39</sup>.

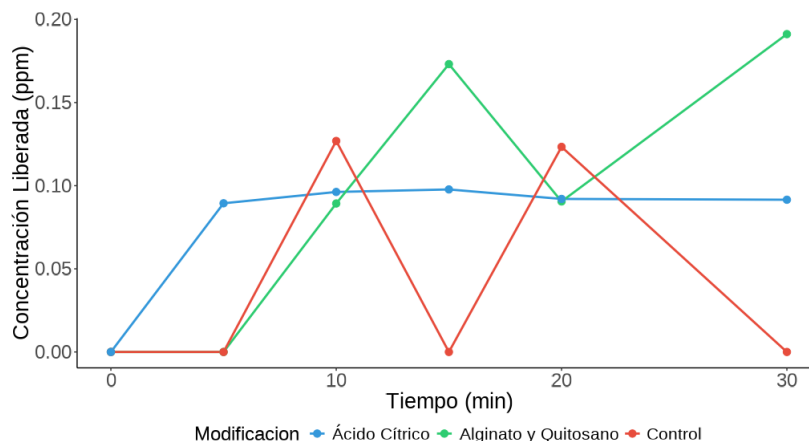
*Tabla 13. Resultados de liberación en concentración (ppm)*

<b>Modificación</b>	<b>0 min</b>	<b>5 min</b>	<b>10 min</b>	<b>15 min</b>	<b>20 min</b>	<b>30 min</b>
Alginato y quitosano (1)	0	0	0.268	0.275	0.272	0.314
Alginato y quitosano (2)	0	0	0	0	0	0
Alginato y quitosano (3)	0	0	0	0.245	0	0.260
Control	0	0	0.254	0	0.247	0
Ácido cítrico (1)	0	0	0	0	0	0
Ácido cítrico (2)	0	0.268	0.289	0.293	0.276	0.275
Ácido cítrico (3)	0	0	0	0	0	0
Control	0	0	0	0	0	0

*Tabla 14. Datos de liberación promedio por grupo en concentración (ppm)*

<b>Muestra</b>	<b>0 min</b>	<b>5 min</b>	<b>10 min</b>	<b>15 min</b>	<b>20 min</b>	<b>30 min</b>
----------------	--------------	--------------	---------------	---------------	---------------	---------------

Alginato y quitosano	0	0	0.089	0.173	0.091	0.191
Ácido cítrico	0	0.089	0.096	0.098	0.092	0.092
Control	0	0	0.127	0	0.123	0



**Gráfico 8.** Concentración (ppm) liberada de vitamina C por modificación

A pesar de lo anterior, se debe destacar que es posible hacer una suposición del orden de liberación que se lleva a cabo con cada una de las modificaciones. Para ello, se realizan las debidas transformaciones a los datos, empleando las **Ecuaciones 5, 6 y 7** y se reportan los resultados en los **Anexo 8 - Anexo 13**.

**Tabla 15.**  $R^2$  de los ajustes para cada orden de reacción

Modificación	Orden 0	Orden 1	Orden 2
<b>Alginato y quitosano</b>	0.735	0.645	0.634
<b>Ácido cítrico</b>	0.358	0.368	0.367
<b>Control</b>	0.013	0.015	0.016
El mejor orden es elegido por el $R^2$ más cercano a 1			

Cabe destacar que, se busca que la liberación de los componentes sea dada en un tiempo aproximado de 15 a 20 minutos, pues para la aplicación que se busca, las mascarillas faciales son productos cosméticos que tienen un tiempo corto de aplicación, pero generan un mayor efecto en la piel en esta corta instancia<sup>37</sup>. Sin embargo, el ensayo desarrollado no debe de seguir específicamente un orden de liberación, aun así, reconocerlo permite evaluar el tipo de interacciones que resultan entre los agentes de modificación, el ingrediente incorporado y la

celulosa bacteriana. Ahora, una de las razones por las que las cantidades de vitamina C fueran tan bajas, puede ser debido a las interacciones con la celulosa y los agentes modificantes, pues puede que los puentes de hidrógeno formados<sup>40</sup> no permitan la liberación rápida del compuesto en la solución. Igualmente, se debe reconocer que la vitamina C sufre de procesos de degradación por pH y fotosensibilidad<sup>41</sup>, por lo que es posible que, tras ejercer el ensayo por 24 horas, algunas de estas moléculas se hayan oxidado y no se pudieran detectar por los métodos desarrollados.

De igual modo, es importante destacar que el orden de liberación en cada modificación está relacionado con el coeficiente  $R^2$ , por lo que, un coeficiente más cercano a 1 determina el orden de liberación<sup>42</sup>. Para esto, se debe observar la **Tabla 15**, en donde se reportan los coeficientes para cada uno de los órdenes de liberación y modificaciones realizadas. En este, se puede observar que el orden de liberación que más se ajusta a los parámetros establecidos es: orden cero para alginato y quitosano, orden uno para ácido cítrico y orden dos para el control. Con estos resultados, se debe establecer que los coeficientes son suficientemente bajos como para hacer una determinación exacta de los resultados, por lo que se puede decir que no son concluyentes.

#### **4. Conclusiones**

A partir de los resultados, se evidencia que las modificaciones con los diferentes agentes fueron exitosas, tras evidenciar un cambio estructural y térmico, con ayuda de los ensayos de espectrometría infrarroja y calorimetría diferencial de barrido. Asimismo, a partir de las diferentes modificaciones y su capacidad de carga, con ayuda de los análisis estadísticos, permite evidenciar que las funcionalizaciones con alginato y quitosano y ácido cítrico mostraron los mejores resultados respecto a la cantidad de absorción de agua en su estructura. También, para el caso de la incorporación de vitamina C, se propone que para futuros ensayos se empleen menores cantidades de diluyente y un sistema más sensible para poder detectar las concentraciones de ingredientes cosméticos incorporados. De igual modo, se propone emplear otros ingredientes hidrofílicos que permitan evidenciar los diferentes comportamientos entre ingredientes cosméticos. También, se deberían incluir ingredientes que no sean susceptibles a procesos de degradación, pues esto evita futuros errores en la experimentación. Por último, los resultados en la presente investigación pueden generar un impacto en la industria cosmética, pues se puede emplear la celulosa bacteriana modificada en productos cosméticos como mascarillas faciales.

#### **5. Agradecimientos**

Queremos empezar agradeciendo a Dios, quien nos llenó de fortaleza e inspiración para culminar esta etapa. A nuestros padres, Juan Carlos Álvarez, Sulay Lenis, Juan Pablo Escandón y Ángela Sanclemente, por su amor, apoyo incondicional y confianza en nosotras a lo largo de este camino. A nuestros amigos y parejas, quienes con su compañía y palabras de ánimo nos ayudaron a superar los momentos difíciles. Agradecemos también a nuestro tutor, Juan Fernando Pinillos, por su orientación durante el desarrollo de este proyecto. Finalmente, reconocemos a la Universidad Industrial de Santander por proporcionarnos la celulosa bacteriana utilizada en este trabajo, y a la Universidad ICESI por brindarnos los recursos e instalaciones necesarias.

## 6. Referencias

1. Mordor Intelligence. Tamaño del mercado de mascarillas y análisis de de participación tendencias de crecimiento y pronósticos (2024-2029). <https://www.mordorintelligence.com/es/industry-reports/face-mask-market> (2024).
2. Esa, F., Masrinda, S. & Abd Rahman, N. Overview of Bacterial Cellulose Production and Application. *Agriculture and Agricultural Science Procedia* **2**, 113–119 (2014).
3. de Amorim, J. D. P. *et al.* Bacterial Cellulose as a Versatile Biomaterial for Wound Dressing Application. *Molecules* vol. 27 Preprint at <https://doi.org/10.3390/molecules27175580> (2022).
4. Kumar, V. *et al.* Efficient and economic process for the production of bacterial cellulose from isolated strain of *Acetobacter pasteurianus* of RSV-4 bacterium. *Bioresour Technol* **275**, 430–433 (2019).
5. Esa, F., Tasirin, S. M. & Rahman, N. A. Overview of Bacterial Cellulose Production and Application. *Agriculture and Agricultural Science Procedia* **2**, 113–119 (2014).
6. Lahiri, D. *et al.* Bacterial Cellulose: Production, Characterization, and Application as Antimicrobial Agent. *Int J Mol Sci* **22**, 12984 (2021).
7. Soto, D. & Oliva, H. MÉTODOS PARA PREPARAR HIDROGELES QUÍMICOS Y FÍSICOS BASADOS EN ALMIDÓN: UNA REVISIÓN METHODS FOR PREPARATION OF CHEMICAL AND PHYSICAL HYDROGELS BASED ON STARCH. A REVIEW. *Rev. LatinAm. Metal. Mat* **32**, 154–175 (2012).
8. Aditya, T., Allain, J. P., Jaramillo, C. & Restrepo, A. M. Surface Modification of Bacterial Cellulose for Biomedical Applications. *Int J Mol Sci* **23**, (2022).
9. Martínez, M. Desarrollo y aplicaciones de hidrogeles para la administración y liberación modificada de fármacos. (Universitat de Valencia, Valencia, 2016).
10. Blanco Parte, F. G. *et al.* Current progress on the production, modification, and applications of bacterial cellulose. *Crit Rev Biotechnol* **40**, 397–414 (2020).

11. Badshah, M. *et al.* Surface modification and evaluation of bacterial cellulose for drug delivery. *Int J Biol Macromol* **113**, 526–533 (2018).
12. Aditya, T., Allain, J. P., Jaramillo, C. & Restrepo, A. M. Surface Modification of Bacterial Cellulose for Biomedical Applications. *International Journal of Molecular Sciences* **2022**, Vol. 23, Page 610 **23**, 610 (2022).
13. AccuWeather. Previsión meteorológica para Cali, Valle del Cauca, Colombia | AccuWeather. <https://www.accuweather.com/es/co/cali/111732/weather-forecast/111732>.
14. Salihu, R. *et al.* Catalyst-free crosslinking modification of nata-de-coco-based bacterial cellulose nanofibres using citric acid for biomedical applications. *Polymers (Basel)* **13**, (2021).
15. Chiaoprakobkij, N., Sanchavanakit, N., Subbalekha, K., Pavasant, P. & Phisalaphong, M. Characterization and biocompatibility of bacterial cellulose/alginate composite sponges with human keratinocytes and gingival fibroblasts. *Carbohydr Polym* **85**, 548–553 (2011).
16. Petrova, V. A. *et al.* Bacterial cellulose (*Komagataeibacter rhaeticus*) biocomposites and their cytocompatibility. *Materials* **13**, 1–18 (2020).
17. Ul-Islam, M., Khan, T. & Park, J. K. Water holding and release properties of bacterial cellulose obtained by in situ and ex situ modification. *Carbohydr Polym* **88**, 596–603 (2012).
18. Phomrak, S. & Phisalaphong, M. Lactic acid modified natural rubber-bacterial cellulose composites. *Applied Sciences (Switzerland)* **10**, (2020).
19. Haimer, E. *et al.* Loading of bacterial cellulose aerogels with bioactive compounds by antisolvent precipitation with supercritical carbon dioxide. in *Macromolecular Symposia* vol. 294 64–74 (2010).
20. Yang, Q. *et al.* Improved thermal and mechanical properties of bacterial cellulose with the introduction of collagen. *Cellulose* **24**, 3777–3787 (2017).
21. Abidin, A. Z. & Graha, H. P. R. Thermal Characterization of Bacterial Cellulose/Polyvinyl Alcohol Nanocomposite. *Adv Mat Res* **1123**, 303–307 (2015).
22. Spectral Database for Organic Compounds SDBS. Alginic acid sodium salt - IR. <https://sdb.sdb.aist.go.jp/CompoundLanding.aspx?sdbno=12067>  
<https://sdb.sdb.aist.go.jp/IrSpectralView.aspx?fname=NIDA19823&sdbno=12067>.
23. Wiley Science Solutions. Algin - Spectrum (SpectraBase). <https://spectrabase.com/compound/7a0RkCOe7OY>  
<https://spectrabase.com/spectrum/KprhUME6Vwg> (2024).
24. Munim, S. A., Saddique, M. T., Raza, Z. A. & Majeed, M. I. Fabrication of cellulose-mediated chitosan adsorbent beads and their surface chemical characterization. *Polymer Bulletin* **77**, 183–196 (2020).
25. Spectral Database for Organic Compounds SDBS. Citric Acid. <https://sdb.sdb.aist.go.jp/CompoundLanding.aspx?sdbno=1995>.

26. Petrova, V. A. *et al.* Bacterial cellulose (*Komagataeibacter rhaeticus*) biocomposites and their cytocompatibility. *Materials* **13**, 1–18 (2020).
27. Salihu, R. *et al.* Catalyst-free crosslinking modification of nata-de-coco-based bacterial cellulose nanofibres using citric acid for biomedical applications. *Polymers (Basel)* **13**, (2021).
28. Hao, Y. *et al.* Influence of Crosslinking on Rheological Properties, Crystallization Behavior and Thermal Stability of Poly(lactic acid). *Fibers and Polymers* **23**, 1763–1769 (2022).
29. Castillo Martinez, F. A. *et al.* Lactic acid properties, applications and production: A review. *Trends in Food Science and Technology* vol. 30 70–83 Preprint at <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2012.11.007> (2013).
30. Torgbo, S. & Sukyai, P. Biodegradation and thermal stability of bacterial cellulose as biomaterial: The relevance in biomedical applications. *Polymer Degradation and Stability* vol. 179 Preprint at <https://doi.org/10.1016/j.polymdegradstab.2020.109232> (2020).
31. Deng, L. *et al.* Double Cross-Linked Chitosan/Bacterial Cellulose Dressing with Self-Healable Ability. *Gels* **9**, (2023).
32. Dey, B., Jayaraman, S. & Balasubramanian, P. Investigating the effects of drying on the physical properties of Kombucha Bacterial Cellulose: Kinetic study and modeling approach. *J Clean Prod* **452**, (2024).
33. Zhu, Q. *et al.* Development of alginate-chitosan composite scaffold incorporation of bacterial cellulose for bone tissue engineering. *International Journal of Polymeric Materials and Polymeric Biomaterials* **72**, 296–307 (2023).
34. Huang, X., Lee, C. S., Zhang, K., Alhamzani, A. G. & Hsiao, B. S. Sodium Alginate–Aldehyde Cellulose Nanocrystal Composite Hydrogel for Doxycycline and Other Tetracycline Removal. *Nanomaterials* **13**, (2023).
35. Yu, Q., Yang, L., Wang, S., Zhang, L. & Sun, D. Citric acid cross-linked regenerated bacterial cellulose as biodegradable and biocompatible film for food packaging. Preprint at <https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-2704167/v1> (2023).
36. Kumar, R., Kumari, P., Priyaragini, S. & Dinesh Kumar, K. Fabrication of poly lactic acid incorporated bacterial cellulose adhered flax fabric biocomposites. *Biocatal Agric Biotechnol* **21**, (2019).
37. Pacheco, G. *et al.* Bacterial cellulose skin masks—Properties and sensory tests. *J Cosmet Dermatol* **17**, 840–847 (2018).
38. Sulaeva, I., Henniges, U., Rosenau, T. & Potthast, A. Bacterial cellulose as a material for wound treatment: Properties and modifications: A review. *Biotechnology Advances* vol. 33 1547–1571 Preprint at <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2015.07.009> (2015).
39. Guillarme, D. & Dong, M. UHPLC, Part II: Benefits. *LCGC North America* vol. 35 486–495 (2017).

40. Bilgi, E. *et al.* Bacterial Cellulose Based Facial Mask With Antioxidant Property and High Moisturizing Capacity. Preprint at <https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-438989/v1> (2021).
41. Herbig, A.-L. & Renard, C. M. G. C. Factors that impact the stability of vitamin C at intermediate temperatures in a food matrix. **220**, 444–451 (2017).
42. Peña, A. & Pereda, R. Polímeros celulósicos y vinílicos en la formulación de matrices hidrofílicas: cinética de liberación y evaluación del modelo cinético. *Acta Farmacéutica Bonaerense* vol. 18 263–269 (1999).

## 7. Anexos

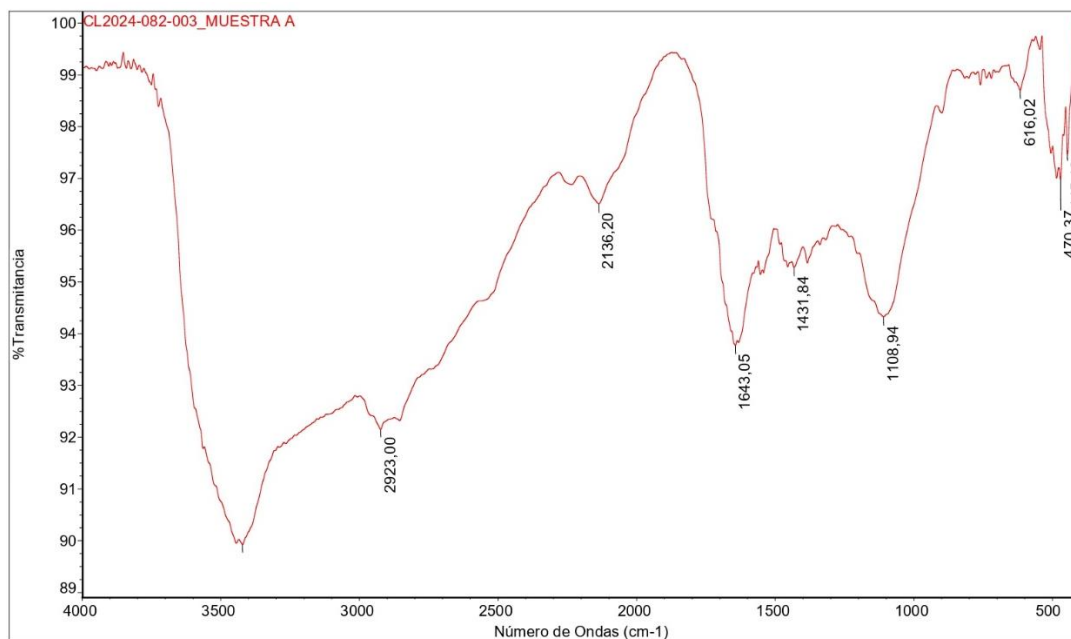
*Anexo 1. Protocolo de funcionalización covalente y no covalente en celulosa bacteriana*

[Protocolos de funcionalización covalente y no covalente.docx](#)

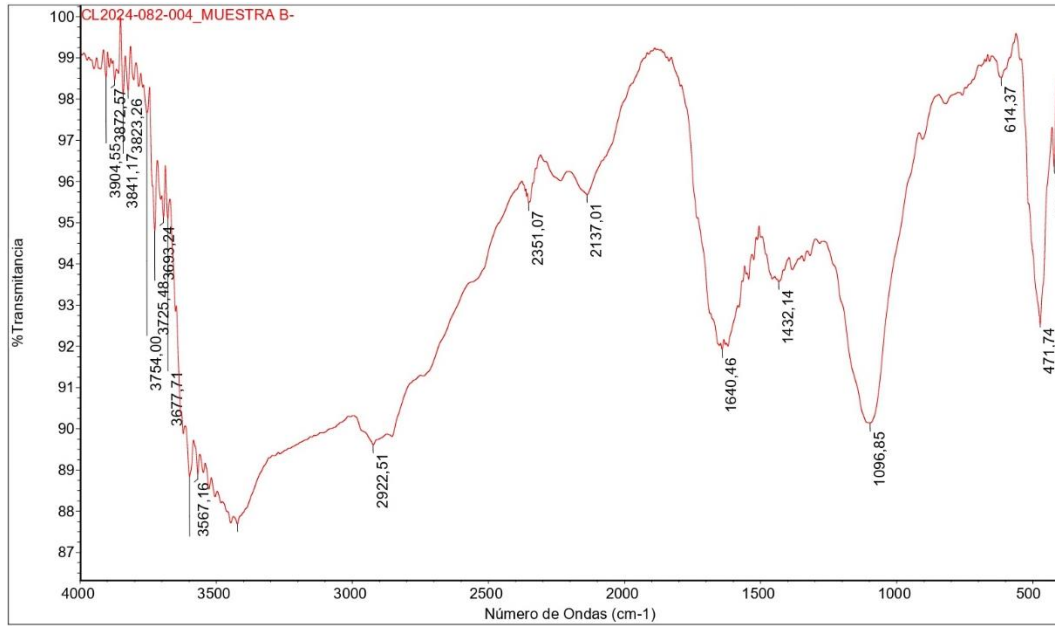
*Anexo 2. Protocolo de incorporación y liberación de ingredientes cosméticos activos en celulosa bacteriana*

[Protocolo de incorporación y liberación de ingredientes activos.docx](#)

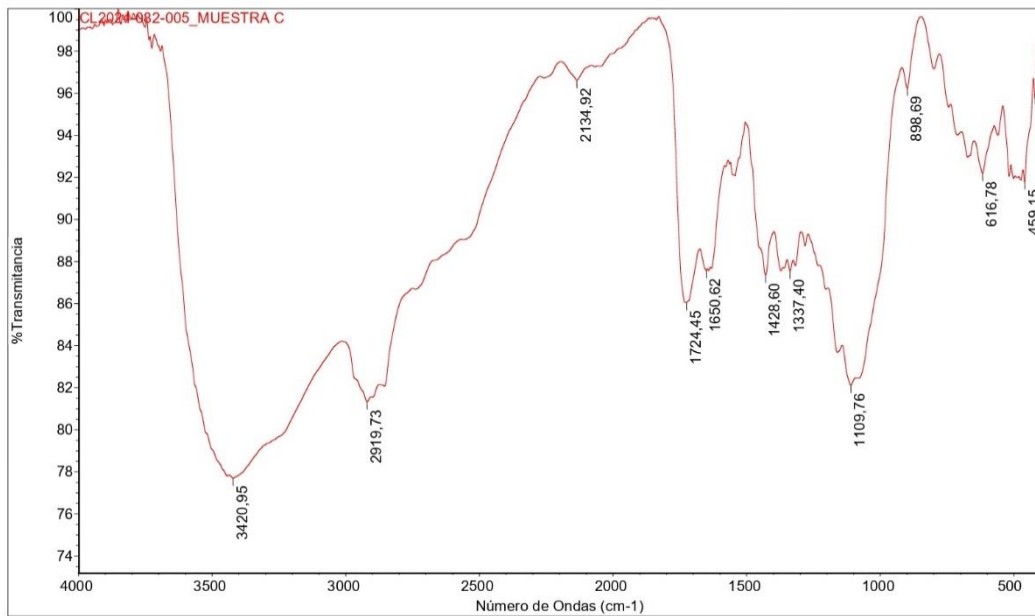
*Anexo 3. Espectro IR de alginato y quitosano*



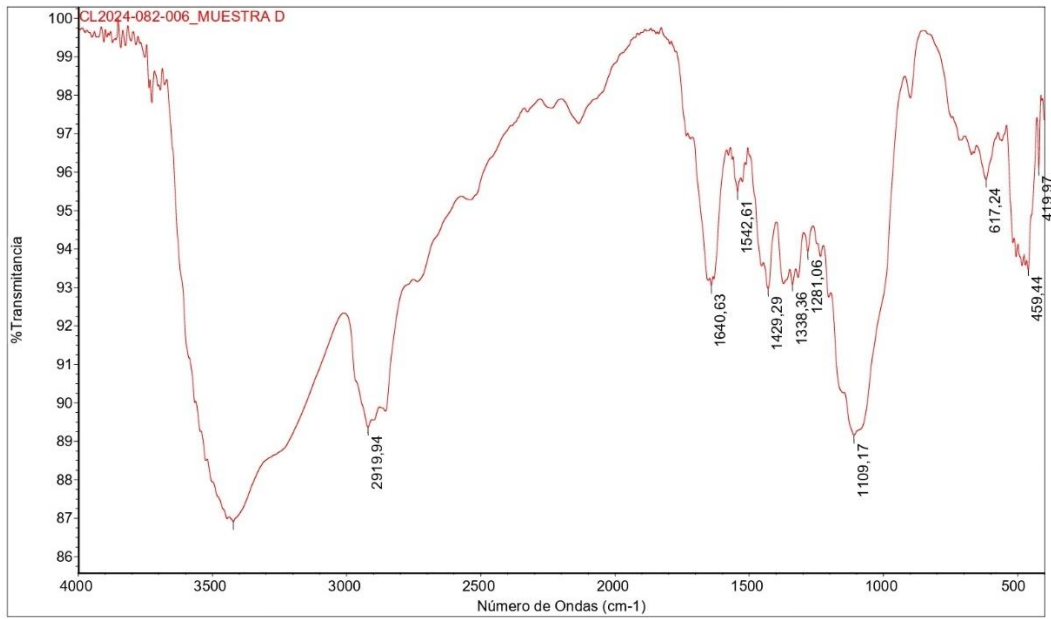
*Anexo 4. Espectro IR alginato y cloruro de calcio*



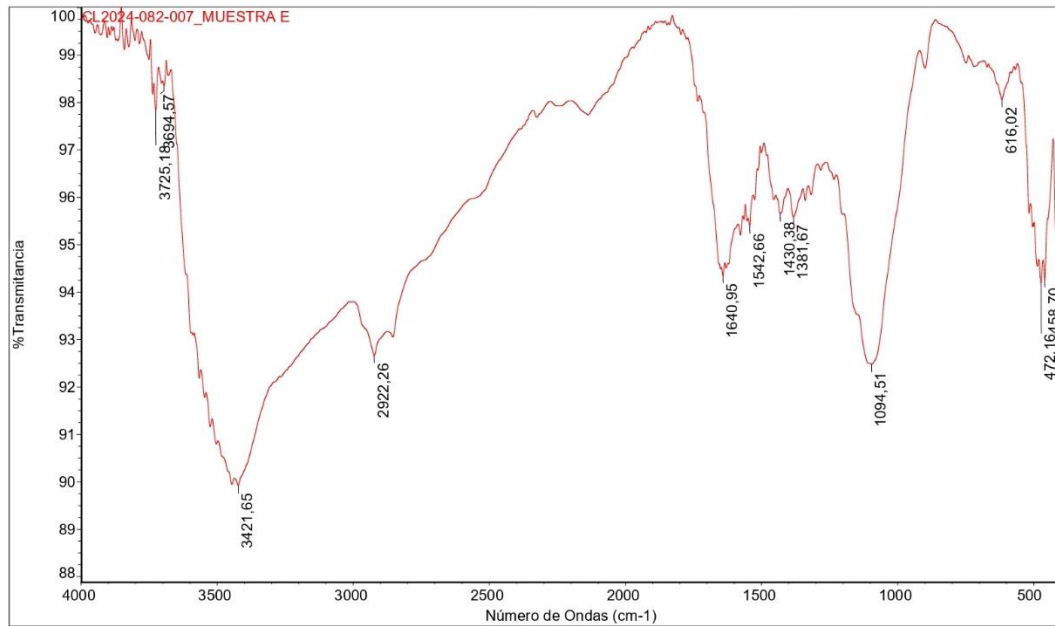
*Anexo 5. Espectro IR ácido cítrico*



*Anexo 6. Espectro IR ácido láctico*



*Anexo 7. Espectro IR quitosano*



*Anexo 8. Orden cero de liberación de vitamina C*

<b>Modificación</b>	<b>0 min</b>	<b>5 min</b>	<b>10 min</b>	<b>15 min</b>	<b>20 min</b>	<b>30 min</b>
Alginato y quitosano (1)	0	0	0.268	0.275	0.272	0.314
Alginato y quitosano (2)	0	0	0	0	0	0
Alginato y quitosano (3)	0	0	0	0.245	0	0.260
Control	0	0	0.254	0	0.247	0
Ácido cítrico (1)	0	0	0	0	0	0
Ácido cítrico (2)	0	0.268	0.289	0.293	0.276	0.275
Ácido cítrico (3)	0	0	0	0	0	0
Control	0	0	0	0	0	0

*Anexo 9. Promedio de orden cero de liberación de vitamina C por grupo*

<b>Muestra</b>	<b>0 min</b>	<b>5 min</b>	<b>10 min</b>	<b>15 min</b>	<b>20 min</b>	<b>30 min</b>
Alginato y quitosano	0	0	0.089	0.173	0.091	0.191
Ácido cítrico	0	0.089	0.096	0.098	0.092	0.092
Control	0	0	0.127	0	0.123	0

*Anexo 10. Orden uno de liberación de vitamina C*

<b>Modificación</b>	<b>0 min</b>	<b>5 min</b>	<b>10 min</b>	<b>15 min</b>	<b>20 min</b>	<b>30 min</b>
Alginato y quitosano (1)	0	0	-1.317	-1.292	-1.304	-1.159
Alginato y quitosano (2)	0	0	0	0	0	0
Alginato y quitosano (3)	0	0	0	-1.407	0	-1.348
Control	0	0	-1.371	0	-1.400	0
Ácido cítrico (1)	0	0	0	0	0	0
Ácido cítrico (2)	0	-1.316	-1.242	-1.227	-1.287	-1.292
Ácido cítrico (3)	0	0	0	0	0	0
Control	0	0	0	0	0	0

*Anexo 11. Promedio de orden uno de liberación de vitamina C por grupo*

<b>Muestra</b>	<b>0 min</b>	<b>5 min</b>	<b>10 min</b>	<b>15 min</b>	<b>20 min</b>	<b>30 min</b>
Alginato y quitosano	0	0	-0.439	-0.900	-0.435	-0.836
Ácido cítrico	0	-0.439	-0.414	-0.409	-0.429	-0.431
Control	0	0	-0.686	0	-0.700	0

*Anexo 12. Orden dos de liberación de vitamina C*

<b>Modificación</b>	<b>0 min</b>	<b>5 min</b>	<b>10 min</b>	<b>15 min</b>	<b>20 min</b>	<b>30 min</b>
Alginato y quitosano (1)	0	0	3.733	3.642	3.683	3.187
Alginato y quitosano (2)	0	0	0	0	0	0
Alginato y quitosano (3)	0	0	0	4.085	0	3.851
Control	0	0	3.940	0	4.054	0
Ácido cítrico (1)	0	0	0	0	0	0
Ácido cítrico (2)	0	3.728	3.464	3.410	3.621	3.641
Ácido cítrico (3)	0	0	0	0	0	0
Control	0	0	0	0	0	0

*Anexo 13. Promedio orden dos de liberación de vitamina C por grupo*

<b>Muestra</b>	<b>0 min</b>	<b>5 min</b>	<b>10 min</b>	<b>15 min</b>	<b>20 min</b>	<b>30 min</b>
Alginato y quitosano	0	0	1.244	2.576	1.228	2.346
Ácido cítrico	0	1.243	1.155	1.137	1.207	1.214
Control	0	0	1.970	0	2.027	0