

# UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO

FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS

ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL



**DESARROLLO DE PELICULAS ECO – AMIGABLES CON CAPACIDAD  
ANTIMICROBIANA A PARTIR DE NANOCOMPOSITOS DE ACETATO DE  
CELULOSA Y ACEITE ESENCIAL DE MUÑA (*Minthostachys spicata*)**

**TESIS**

PRESENTADA POR:

**ERICH DAVID ORDOÑEZ NEYRA**

PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE

**INGENIERO AGROINDUSTRIAL**

PUNO – PERÚ

2015

## UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO

ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL

TESIS

“DESARROLLO DE PELICULAS ECO-AMIGABLES CON CAPACIDAD  
ANTIMICROBIANA A PARTIR DE NANOCOMPOSITOS DE ACETATO DE  
CELULOSA Y ACEITE ESENCIAL DE MUÑA (*Minthostachys spicata*)”

PRESENTADA POR:

Erich David ORDOÑEZ NEYRA

PARA OPTAR EL TÍTULO DE INGENIERO AGROINDUSTRIAL

APROBADO POR EL JURADO REVISOR CONFORMADO POR:

PRESIDENTE

  
Ing. M.Sc. Genny Isabel LUNA MERCADO

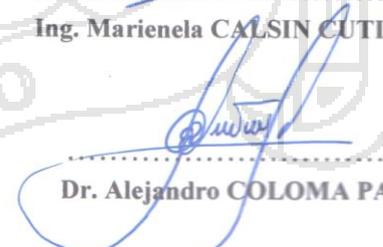
PRIMER MIEMBRO

  
Ing. M.Sc. Florentino Victor CHOQUEHUANCA CACERES

SEGUNDO MIEMBRO

  
Ing. Marienela CALSIN CUTIMBO

DIRECTOR DE TESIS

  
Dr. Alejandro COLOMA PAXI

PUNO

PERÚ

2015

**ÁREA: Ingeniería y tecnología****TEMA: Propiedades físicas y estructurales**

## DEDICATORIA



*A Dios en primer lugar,  
a mis queridos padres y hermanos  
por el esfuerzo logrado en mí.*

*A una personita especial  
Jhayr a quien anhelo  
un buen futuro  
de servicio abnegado y felicidad*

## AGRADECIMIENTOS

A mis apreciados docentes de la Escuela Profesional de Ingeniería Agroindustrial por sus conocimientos impartidos durante mi formación académica, por compartirme su tiempo, conocimientos, experiencias y anécdotas.

En especial mi maestro al Dr. Alejandro COLOMA PAXI por su apoyo incondicional en la realización del presente trabajo.

También a la Ing. M.Sc. Genny Luna Mercado por su disposición de tiempo y recomendaciones desde el inicio hasta la culminación de mi trabajo.

Al Ing. M.Sc. Victor Choquehuanca Cáceres por todo su apoyo y orientación.

Al Ing. Marielena Calsin Cutimbo por sus la palabras de aliento y disposición.

Al Bglo. Lorgio Palacios por su ayuda en el laboratorio, asesoramiento y palabras motivadoras.

Agradezco también a la familia del laboratorio de envases para alimentos Laben - Chile por recibirme y buena disposición dentro del laboratorio en especial a la Dra. María Jose Galoto (Directora) y a los Drs. Francisco Rodriguez y Julio Bruna y muchas buenas personas que conocí.

Finalmente agradezco toda mi gran familia de ingeniería agroindustrial y a todas las personas que directa o indirectamente me apoyaron en la realización de mi trabajo y de manera especial al Bglo. Jhony, Mayomi, Rut, Diego, David; quienes me apoyaron y me animaron en toda circunstancia, a pesar de las adversidades.

## TABLA DE CONTENIDOS

### RESUMEN

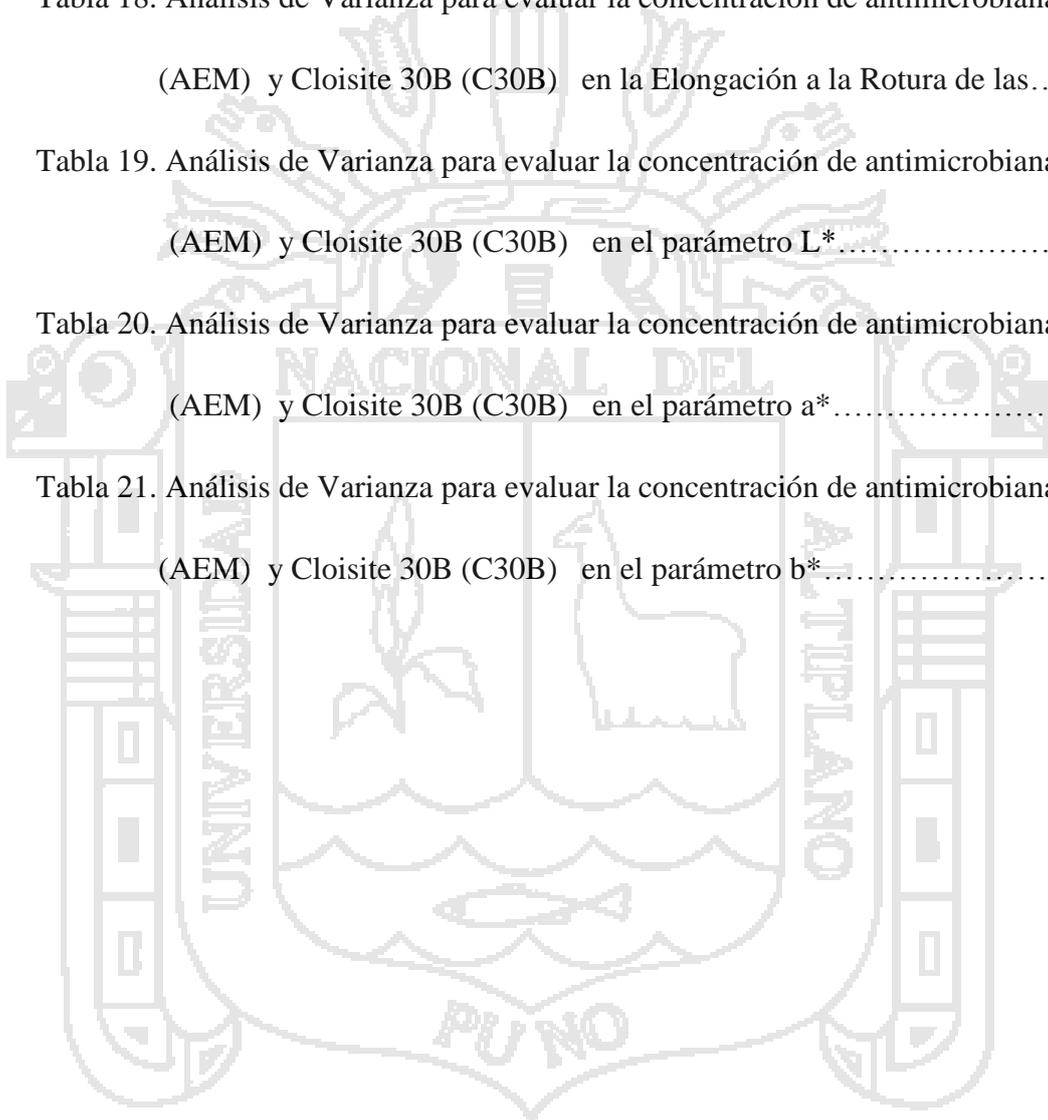
<b>CAPÍTULO 1. INTRODUCCIÓN .....</b>	<b>13</b>
<b>CAPITULO 2. REVISION DE BIBLIOGRAFIA .....</b>	<b>15</b>
<b>2.1. Nuevas tendencias en envases para alimentos .....</b>	<b>15</b>
2.1.1. Envases plásticos degradables.....	16
2.1.2. Polímeros biodegradables.....	16
2.1.3. Acetato de celulosa.....	17
<b>2.2. Envases activos e inteligentes .....</b>	<b>18</b>
2.2.1. Envases activos antimicrobianos.....	21
2.2.2. Agentes antimicrobianos de origen natural.....	23
2.2.2.1. Aceite esencial de muña.....	24
<b>2.3. Aplicación de nanotecnología .....</b>	<b>27</b>
2.3.1. Nanocompositos y Bionanocompositos.....	28
2.3.1.1. Arcilla .....	30
2.3.1.2. Arcilla Montmorillonita (MMT).....	31
<b>2.4. Propiedades de los nanocompositos.....</b>	<b>33</b>
2.4.1. Espectroscopia Infrarroja por Transformada de Fourier (FTIR).....	32
2.4.2. Propiedades Mecánicas.....	34
2.4.3. Propiedades Ópticas.....	35
2.4.4. Propiedades Antimicrobianas.....	35
<b>CAPITULO 3. METODOLOGIA DE INVESTIGACION.....</b>	<b>366</b>
<b>3.1. Lugar de Ejecución .....</b>	<b>366</b>
<b>3.2. Materiales.....</b>	<b>366</b>
3.2.1. Materia prima .....	36
3.2.2. Materiales de laboratorio.....	366
3.2.3. Instrumentos y equipos.....	377
3.2.4. Insumos y reactivos .....	377

<b>3.3. Caracterización de las películas eco - amigas</b> .....	<b>38</b>
3.3.1. Caracterización estructural de las películas activas .....	388
3.3.2. Caracterización óptico - mecánico de las películas eco – amigas activas .	388
3.3.2.1. Espesor de las Películas .....	388
3.3.2.2. Propiedades Mecánicas de las Películas .....	3838
3.3.2.3. Propiedades Ópticas de las Películas .....	39
3.3.3. Estudio de la actividad antimicrobiana de las películas con aceite de muña ( <i>Minthostachys spicata</i> ).....	40
<b>3.4. Metodología experimental</b> .....	<b>411</b>
3.4.1. Obtención de aceite esencial .....	411
3.4.2. Descripción del diagrama de flujo.....	422
3.4.3. Preparación de películas eco - amigas activas.....	43
<b>3.5. Diseño experimental</b> .....	<b>44</b>
3.5.1. Identificación de las variables de estudio.....	44
3.5.2. Ejecución de pruebas experimentales.....	45
3.5.3. Identificación de variables de respuesta.....	45
<b>CAPÍTULO 4. RESULTADOS Y DISCUSIONES</b> .....	<b>6446</b>
<b>4.1. Caracterización estructural por FTIR</b> .....	<b>46</b>
<b>4.2. Determinación de Propiedades mecánicas</b> .....	<b>489</b>
<b>4.3. Propiedades Ópticas de las películas eco – amigas</b> .....	<b>54</b>
<b>4.4. Determinación de la susceptibilidad microbiana y actividad         antimicrobiana</b> .....	<b>600</b>
<b>CAPÍTULO 5. CONCLUSIONES</b> .....	<b>644</b>
<b>RECOMENDACIONES</b> .....	<b>645</b>
<b>REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS</b> .....	<b>666</b>
<b>ANEXOS</b> .....	<b>700</b>

## INDICE DE TABLAS

Tabla 1. Algunos ejemplos de los sistemas de envasado activo.....	19
Tabla 2. Agentes antimicrobianos para la incorporación directa a polímeros utilizados en envases para alimentos.....	21
Tabla 3. Extractos y aceites presentes en plantas, consideradas GRAS.....	23
Tabla 4. CMI de compuestos derivados de aceites esenciales frente a microorganismos.....	24
Tabla 5. Tipos de Películas eco-amigables preparadas para su caracterización.....	44
Tabla 6. Cinco niveles de DCCR.....	44
Tabla 7. Numero de tratamientos para dos factores en un DCCR.....	45
Tabla 8. Propiedades mecánicas de las películas de eco - amigables obtenidas mediante el proceso de Casting con acondicionamiento.....	52
Tabla 9. Propiedades ópticas de las películas eco - amigables obtenidas por el proceso de Casting.....	59
Tabla 10. Volumen obtenido de Aceite esencial de Muña.....	60
Tabla 11. Actividad antimicrobiana del aceite esencial de muña (zona de inhibición en mm).....	61
Tabla 12. Susceptibilidad de las cepas evaluadas a los tratamientos frente a las películas eco-amigables con aceite esencial de muña.....	62
Tabla 13. Actividad antimicrobiana de los tratamientos (Zona de inhibición en milímetros) frente a <i>Echerichia coli</i> .....	77
Tabla 14. Actividad antimicrobiana de los tratamientos (Zona de inhibición en milímetros) frente a <i>Listeria innocua</i> .....	78
Tabla 15. Susceptibilidad de los tratamientos (Zona de inhibición en milímetros) frente a <i>Listeria innocua</i> y <i>Echerichia coli</i> .....	79

Tabla 16. Análisis de Varianza para evaluar la concentración de antimicrobiana (AEM) y cloisite 30B (C30B) en la elasticidad.....	80
Tabla 17. Análisis de Varianza para evaluar la concentración de antimicrobiana (AEM) y Cloisite 30B (C30B) en la Fuerza de Tensión.....	80
Tabla 18. Análisis de Varianza para evaluar la concentración de antimicrobiana (AEM) y Cloisite 30B (C30B) en la Elongación a la Rotura de las.....	81
Tabla 19. Análisis de Varianza para evaluar la concentración de antimicrobiana (AEM) y Cloisite 30B (C30B) en el parámetro $L^*$ .....	82
Tabla 20. Análisis de Varianza para evaluar la concentración de antimicrobiana (AEM) y Cloisite 30B (C30B) en el parámetro $a^*$ .....	82
Tabla 21. Análisis de Varianza para evaluar la concentración de antimicrobiana (AEM) y Cloisite 30B (C30B) en el parámetro $b^*$ .....	83



## LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Fuentes naturales de los polímeros biodegradables usados en <i>films</i> para el envasado y materiales compuestos .....	16
Figura 2. Estructura química del Acetato de Celulosa.....	17
Figura 3. Estructura química del Carvacrol y Timol.....	26
Figura 4. Compuestos mayoritarios del aceite esencial de muña.....	27
Figura 5. Nanocompuestos poliméricos esféricos, tubulares y laminares.....	28
Figura 6. Ciclo sostenible de biopolímeros.....	29
Figura 7. Tipos de nanocompuestos poliméricos.....	29
Figura 8. Micro estructura laminar de las arcillas.....	31
Figura 9. Estructura de la arcilla.....	31
Figura 10. Estructura de Montmorillonita 2:1.....	32
Figura 11. Cambios en la distancia del enlace.....	33
Figura 12. Diagrama de flujo del proceso de obtención de aceite esencial de muña.....	41
Figura 13. Comparación de espectro de FTIR de los tratamientos en estudio y el aceite esencial de muña.....	47
Figura 14. Gráfica de Efectos Principales para el módulo de elasticidad.....	48
Figura 15. Gráfica de Efectos Principales para el módulo de elasticidad.....	49
Figura 16. Estimación de superficie de respuesta del módulo de elasticidad.....	50
Figura 17. Gráfica de efectos principales para la fuerza tensión.....	50
Figura 18. Estimación de superficie de respuesta de la fuerza de tensión.....	51
Figura 19. Gráfica de efectos principales para la elongación a la rotura.....	52
Figura 20. Estimación de superficie de respuesta de la elongación a la rotura.....	54
Figura 21. Grafica de efectos principales para el parámetro $L^*$ .....	55

Figura 22. Estimación de superficie de respuesta del Parámetro L.....	56
Figura 23. Grafica de Efectos principales para el Parámetro a*.....	56
Figura 24. Estimación de superficie de respuesta del Parámetro a*.....	57
Figura 25. Grafica de Efectos principales para el Parámetro b*.....	58
Figura 26. Estimación de superficie de respuesta del Parámetro b*.....	59



## RESUMEN

El objetivo del presente trabajo de investigación fue desarrollar películas eco-amigables con capacidad antimicrobiana a partir de nanocompositos de acetato de celulosa y aceite esencial de muña (*Minthostachys spicata*), usando un contenido variable de cloisite 30B (3; 4,5 y 6%) y una concentración de aceite esencial de muña (5; 10 y 15%) conducido bajo un diseño central compuesto rotatable (DCCR). Las películas fueron fabricadas mediante el método disolución – evaporación (casting) utilizando como disolvente acetona. Se evaluaron las propiedades estructurales mediante la espectroscopia infrarroja por transformada de Fourier (FTIR), las propiedades mecánicas por ensayo tracción – deformación, color por colorimetría CIELab y capacidad antimicrobiana por la técnica difusión de discos.

Los resultados de las bandas del espectro FTIR mostraron que no hubo aparición de nuevos picos ni desplazamiento de los mismos al incorporar Cloiste 30B y aceite esencial de muña comparado con el espectro de polímero base, lo cual afirma que la estructura funcional de la matriz polimérica no fue afectada. Por su parte el ensayo tracción - deformación mostraron diferencias significativas entre los tratamientos, es así que el módulo de elasticidad y la fuerza de tensión aumentó con el incremento de la concentración de Cloiste 30B, sin embargo el porcentaje de elongación disminuye, esto puede ser atribuido al contenido de aceite esencial de muña. En cuanto a las propiedades ópticas se puede observar que la evolución de la luminosidad  $L^*$  muestra un descenso con el aumento del cloisite 30B, y para el índice de saturación  $a^*$ , como para el ángulo de tono  $b^*$ , se observaron valores ligeramente inferiores y superiores a cero respectivamente. Finalmente, los eco-nanocompositos mostraron actividad antimicrobiana frente a *E. coli* y *L. innocua*, siendo más efectiva (sensible) frente a *L. innocua*. A partir de los resultados obtenidos se puede concluir que las propiedades estructurales no fueron afectadas, las propiedades mecánicas, color y actividad antimicrobiana si se afectaron.

**Palabras claves:** Acetato de celulosa, Aceite esencial, Cloisite 30B, Nacompositos, Envase activo, Actividad antimicrobiana.

**ABREVIATURAS**

AC	: Acetato de Celulosa
ATR	: Reflexión total atenuada
a*	: Desviación de color, rojo hacia verde
b*	: Desviación de color, amarillo hacia azul
AEM	: Aceite esencial de muña, Antimicrobiano
AAM	: Actividad antimicrobiana
ASTM	: American Society for Testing and Materials
C30B	: Cloisete 30B, nanorrelleno, Organoarcilla
cm	: Centímetros
cm <sup>2</sup>	: Centímetros cuadrados
cm <sup>3</sup>	: Centímetros cúbicos
FTIR	: Espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier
g	: Gramos
h	: Horas
L*	: Luminosidad
m/m	: Masa/masa
µg	: Microgramos
min	: Minutos
mL	: Mililitros
mm	: Milímetros
mM	: Milimolar
MO	: Microscopía óptica
Mt	: Montmorillonita
NCCLS	: National Committee for Clinical Laboratory Standards
N	: Newton
NCs	: Nanocompósitos
nm	: Nanómetros
NPs	: Nanopartícula
°C	: Grados Celsius
TEC	: Citrato de Trietilo
t	: Tiempo

## CAPÍTULO I: INTRODUCCIÓN

Producto de la comercialización de productos envasados y la externalización de los mercados, ha sido necesaria una transformación tanto ideológica como tecnológica para adaptar el envase a los requerimientos y demandas de consumidores cada vez más exigentes, preocupados por su salud y el medio ambiente. Es por este motivo, que esta nueva concepción, no puede considerar al envase y al alimento como entidades independientes, sino que se deben considerar como dos elementos complementarios que interactúan entre sí.

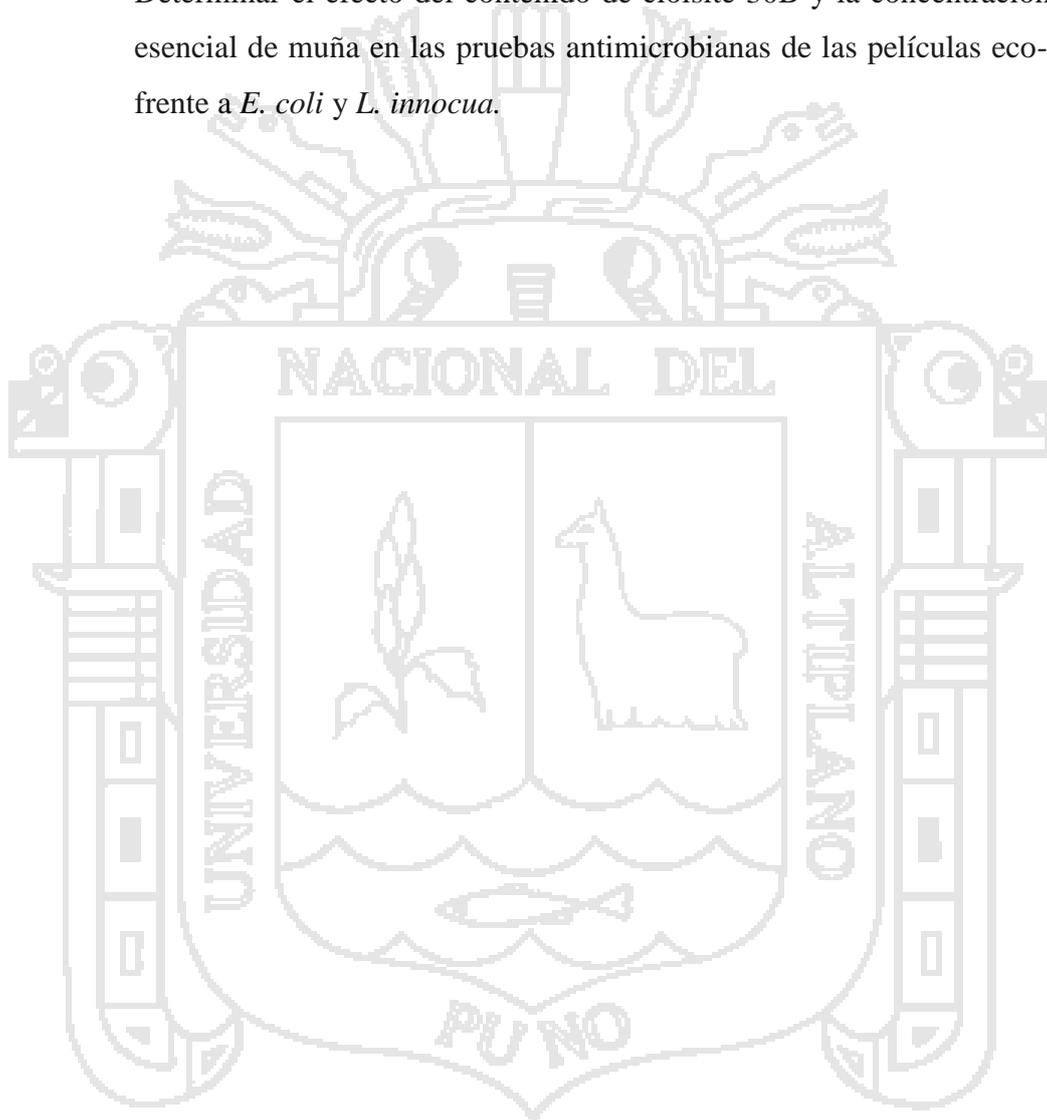
Es así como en el último tiempo ha surgido el concepto de **envase activo** como aquellos que cambian las condiciones de los alimentos envasados extendiendo su vida útil, mejorando su seguridad o propiedades sensoriales, mientras se mantiene la calidad del alimento envasado (Guarda & Galotto, 2009), de los cuales se han desarrollado sistemas orientados a controlar el crecimiento de microorganismos patógenos, denominados **envases activos antimicrobianos**. Otra línea de investigación está trabajando en la incorporación de la **nanotecnología** al desarrollo de nuevos materiales capaces de ser utilizados en el envasado de alimentos utilizando para ello, nanopartículas como las **arcillas**, que permiten aumentar el efecto barrera obstaculizando el paso de gases críticos para el alimento reduciendo costes en el envase y mejorando la eficiencia del mismo.

Por otra parte, con respecto al enorme impacto medio ambiental provocado por los desechos de plásticos no degradables, ha sido necesario disponer de materiales alternativos como los **biopolímeros** y sus derivados. Sin embargo, debido a sus propiedades intrínsecas, su uso en lugar de los materiales tradicionales es limitado. Es en este sentido que la introducción de nanorellenos con el objeto de mejorar sus propiedades térmicas, físicas y mecánicas, ha sugerido como una alternativa acorde a las nuevas tendencias en el área de nanocompositos.

Es así, como este proyecto estuvo orientado al desarrollo de películas **eco – amigables** basadas en nanocompositos de acetato de celulosa y un aceite esencial. Con esto se espera obtener materiales cuyas propiedades hayan sido modificadas por la presencia de nanorellenos en su estructura y que presenten además, actividad antimicrobiana la cual

será impartida por el aceite esencial incorporado dentro de los nanocompositos. Por lo expuesto se plantearon los siguientes objetivos:

- Determinar el efecto del contenido de cloisite 30B y la concentración del aceite esencial de muña en las propiedades físicas (estructural, mecánica y óptica) de las películas eco-amigables.
- Determinar el efecto del contenido de cloisite 30B y la concentración de aceite esencial de muña en las pruebas antimicrobianas de las películas eco-amigables frente a *E. coli* y *L. innocua*.



## CAPITULO II. REVISION DE BIBLIOGRAFIA

### 2.1. Nuevas tendencias en envases para alimentos

El requisito básico de la calidad alimentaria es la inocuidad de los alimentos, lo que implica en ellos la ausencia de contaminantes físicos, químicos y biológicos o cualquier otra sustancia que pueda poner en riesgo la salud de los consumidores. Por tanto, para que la población pueda llevar a cabo una vida sana y segura, es necesario que los alimentos presenten altos estándares de calidad y a su vez características nutricionales y sensoriales adecuadas que se encuentren acordes con las normativas inmersas en los distintos reglamentos tales como el Reglamento Sanitario de los Alimentos (RSA), Codex Alimentarius, Organización para la Alimentación y la Agricultura (FAO), Organismo Mundial de la Salud (OMS), entre otros. De no ser así, existe una alta probabilidad de que los alimentos presenten alteraciones en su composición y calidad causando pérdidas importantes a nivel industrial (Morón, 2001).

Respecto a la calidad de los alimentos, existen diversos factores que provocan alteraciones en sus propiedades, reduciendo su vida útil y aumentando las probabilidades de ser vehículo para la transmisión de enfermedades hacia los consumidores. Es así, como uno de los factores más importantes en determinar la calidad de los alimentos guarda relación con el deterioro microbiológico. Es por este motivo que un manejo adecuado de todo el proceso productivo en la industria de alimentos, incluyendo en éste el **área de envases**, debe velar por la responsabilidad y prevención de contaminación por microorganismos patógenos tales como *E. coli*, *Salmonella spp.*, *Shigella spp.*, *Cl. botulinum*, *Cl. perfringens*, *S. aureus*, entre otros, además de algunos virus, hongos y levaduras (Tafur, 2009), que pueden llegar afectar la salud de los consumidores. Para ello, se debe cumplir con la normativa nacional e internacional, tener un sistema eficiente de gestión de control de inocuidad de alimentos y contar con la implementación de un sistema de aseguramiento para poder así, garantizar la inocuidad y la calidad de los alimentos en los distintos eslabones de la cadena productiva (Mercado, 2007; Tafur, 2009).

Según la Ley de Envases y Residuos de Envases y Embalajes de España, un envase convencional o pasivo es todo producto fabricado con materiales de cualquier naturaleza y que se utilice para contener, proteger, manipular, distribuir y presentar

mercancías, desde materias primas hasta artículos acabados, en cualquier fase de la cadena de fabricación, distribución y consumo. Se considerarán también envases, todos los artículos "desechables" utilizados con este mismo fin. Dentro de este concepto se incluyen únicamente los envases de venta o primarios, los envases colectivos o secundarios, y los envases de transporte o terciarios (EnvaPack, 2003).

En base a lo anterior, los principales objetivos de los envases son mantener la calidad, inocuidad y vida útil requerida por el alimento compatible con el sistema de comercialización al que va a ser sometido junto con el envase (Valenzuela y col., 2009). Para lograr dichos objetivos, es necesario protegerlos del deterioro; evitar pérdidas de sabor y aroma; prolongar el tiempo de almacenamiento; mantener la atmósfera interna del alimento; preservar la calidad nutricional del producto; entre otros (Valenzuela y col., 2009).

Por su parte, la innovación del área de envases se ha limitado hasta ahora a un pequeño número de materias primas como polímeros y materiales complejos de capas múltiples, los cuales representan cerca del 50% del consumo total en Chile así como en el mundo (Asipla, 2010). Sin embargo, actualmente, nuevas tecnologías de envasado están siendo desarrolladas debido a la alta producción industrial y demanda por parte de los consumidores, siendo una de las más importantes la de **envases activos e inteligentes**.

### **2.1.1. Envases plásticos degradables**

La *American Society for Testing of Materials* (ASTM, 2003) y la *International Organization for Standardization* (ISO 2005, 2007) definen los plásticos degradables como aquellos que sufren un cambio significativo en la estructura química bajo las condiciones ambientales específicas. Estas alteraciones resultan en una pérdida de las propiedades físicas y mecánicas, medidas por medio de métodos estandarizados.

### **2.1.2. Polímeros biodegradables**

Los polímeros biodegradables pueden provenir de fuentes agrícolas y tienen la capacidad de combinarse o procesarse con polímeros de otras fuentes para resultar en el material deseado, estos son derivados de cuatro fuentes principales: Animal

(colágeno/gelatina), productos del mar (quitina/quitosano), microbiana (ácido poliláctico o PLA y polihidroxicanoatos o PHA) y origen agrícola (lípidos e hidrocoloides, proteínas y polisacáridos) (Tharanathan, 2003), como se muestra en la Figura 1.



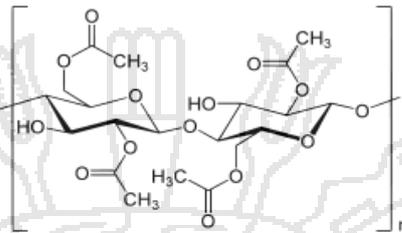
**Figura 1.** Fuentes naturales de los polímeros biodegradables usados en *films* para el envasado y materiales compuestos (Tharanathan, 2003).

En los polímeros biodegradables ocurre un proceso intrínseco, por el cual microorganismos y sus enzimas consumen este polímero como fuente de nutrientes, en condiciones normales de humedad, temperatura y presión. Los mejores adaptados a la biodegradación completa son los naturales, aquellos hidrolizables a  $\text{CO}_2$  y  $\text{H}_2\text{O}$  (Zetty, 2012).

### 2.1.3. Acetato de celulosa

El **acetato de celulosa** (AC) (Figura 2), es un material muy atractivo para la preparación de nanocompositos de arcilla debido a su gran biodegradabilidad, claridad óptica, rigidez y bajo costo (Delhom y col., 2009). Por otro lado, la preparación de acetato de celulosa con MMT puede incluir en su formulación un plastificante para mejorar sus propiedades mecánicas. Al respecto, (Park y col., 2004). Han informado

del uso de **citrato de trietilo (TEC)** como plastificante para dicho derivado de celulosa. La ventaja de usar este plastificante radica en que se trata de un aditivo eco - amigable que no cambia la característica biodegradable del acetato de celulosa (Bonzanini y col., 2009; Park y col. 2004).



**Figura 2.** Estructura química del Acetato de Celulosa

## 2. 2. Envases activos e inteligentes

Se entiende como **envase activo** un sistema alimento//envase//entorno que actúa de forma coordinada para mejorar la salubridad y la calidad del alimento envasado aumentando así, su vida útil (Catalá & Gavara, 2001). Con esta definición se amplía el concepto de envase que pasa de ser un mero contenedor (envase pasivo) a desempeñar un papel activo en el mantenimiento de la calidad del alimento envasado. La actividad de estos nuevos sistemas de envasado se orienta a controlar los principales procesos de deterioro que puede sufrir un determinado alimento, tales como oxidación, crecimiento microbiano, entre otros. Así, es posible encontrar distintos sistemas de envasado, los cuales pueden resumirse de la siguiente manera (Galet, 2009):

- a. **Absorbedores:** Son Sistemas que absorben o retienen sustancias indeseables del producto o de su entorno, como Oxígeno (hierro, ácido ascórbico, glucosa – oxidasa), Humedad (sílica gel, arcilla, sales anhídridas), Exudados (celulosa, poliacrilato), Dióxido de carbono (carbonato sódico), Etileno (permanganato de potasio, zeolitas) y Olores (zeolitas).
- b. **Emisores:** Sistemas que liberan o emiten sustancias beneficiosas al producto o a su entorno. Entre ellos, **Inhibidores de microorganismos (aceites esenciales, ácidos orgánicos, enzimas, iones metálicos)**, Dióxido de carbono (carbonato de

hierro, carbonato cálcico, bicarbonato de sodio), Vapor (gel súper absorbente hidratado, almohadillas) y Aditivos (enzimas, ácidos orgánicos, vitaminas).

- c. **Otros sistemas:** Son con efecto térmico, como Envases auto – enfriables, Envases auto – calentables y Susceptores de microondas.

El envasado activo se ha utilizado con muchos productos alimenticios y está siendo probado con muchos otros. En la Tabla 1, se enumeran algunas de las aplicaciones alimentarias que se han beneficiado de la tecnología de envases activos.

Por su parte los **envases inteligentes**, permiten realizar un seguimiento de las condiciones de los alimentos, proporcionando información sobre su calidad, condiciones de transporte y almacenamiento. Actualmente, los conceptos “activo” e “inteligente” se deben utilizar al momento de describir un envase innovador desarrollado con nuevas tecnologías para prolongar la vida útil, mejorar la calidad e inocuidad de los alimentos. Sumado a ello, se adiciona el concepto de “biodegradable”, pues el envase debe contribuir a la protección del medio ambiente. Estos conceptos, se utilizan para modificar y controlar la interacción que existe entre el interior del envase que contiene al alimento y el medio externo; a su vez, proporcionar múltiples barreras u obstáculos para proteger al alimento como se menciona en párrafos anteriores (Guarda & Galotto, 2009).

Australia, Japón y Estados Unidos, son líderes en investigación, desarrollo y comercialización de innovadores sistemas de envases activos e inteligentes, ya que cuentan e implementan normativas enfocadas al área de envases. Es así, como por ejemplo, Europa ya ha modificado recientemente su legislación para controlar de mejor manera el uso de éstos (Patterson, 2008).

**Tabla 1.** Algunos ejemplos de los sistemas de envasado activo.

Sistema de envasado Activo	Mecanismos	Aplicaciones alimentarias
<b>Removedores de oxígeno</b>	base de hierro metal / ácido catalizador metálico (por ejemplo, platino) ascorbato /sales metálico basado en la enzima	pan, pasteles, arroz cocido, galletas, pizza, pasta, queso, embutidos y pescado, café, snacks, alimentos secos y bebidas
<b>Removedor y/o emisor de dióxido de carbono</b>	óxido de hierro / hidróxido de calcio carbonato de hierro / halogenuros metálicos óxido de calcio / carbón activado ascorbato / bicarbonato de sodio	café, carnes y pescados frescos, frutos secos, snacks y bizcochos
<b>Removedores de etileno</b>	permanganato de potasio carbón activado arcillas activadas / zeolitas	frutas, hortalizas y otros productos hortícolas
<b>Liberadores de conservantes</b>	ácidos orgánicos zeolita de plata especies y extractos de hierbas dióxido de cloro volátiles /dióxido de azufre	cereales, carnes, pescado, pan, queso, bocadillos, frutas y hortalizas
<b>Emisores de etanol</b>	alcohol en spray etanol encapsulado	cortezas de pizza, pasteles, pan, galletas, pescado y productos de panadería
<b>Absorbentes de humedad</b>	manta de PVA arcillas activadas y minerales gel de sílice	pescados, carnes, aves, merienda alimentos, cereales, alimentos secos, sándwiches, frutas y hortalizas
<b>Adsorbentes de Sabor y/o Olor</b>	Triacetato de celulosa papel acetilado ácido cítrico sal ferrosa / ascorbato carbón activo / arcillas / zeolitas	jugos de frutas, aperitivos fritos alimentos, pescado, cereales, aves de corral, productos lácteos y frutas
<b>Control de temperature de envases</b>	no-tejido de plástico recipientes de dos paredes gas hidrofluorocarburo Cal / agua nitrato de amonio y agua	comidas preparadas, carnes, pescados, aves de corral y bebidas

Fuente: Coles y col. (2003)

### 2.2.1. Envases activos antimicrobianos

Debido a que el desarrollo de microorganismos es la principal causa de deterioro de los productos frescos, estudios vinculados a la generación de envases activos con **capacidad antimicrobiana** se encuentran dentro de los más estudiados. Tradicionalmente, para su control se utilizan diferentes sustancias antimicrobianas ya sean aplicadas de manera directa sobre el producto o bien, como complemento o alternativa a las técnicas fisicoquímicas de conservación. Sin embargo, la aplicación directa de éstos sobre la superficie del producto mediante pulverización o inmersión puede ser poco efectiva, ya que el agente provoca un efecto limitado sobre la microbiota superficial debido a su rápida difusión al interior del producto. Es así como la incorporación de las sustancias antimicrobianas al envase, ha sido planteada como una alternativa para mantener su actividad en forma efectiva (Cha & Chinnan, 2004; Han, 2005).

La acción antimicrobiana en los envases activos puede consistir en la emisión de sustancias volátiles al espacio de cabeza del envase o en la migración del componente activo del material de envase al alimento envasado, o bien, en la inmovilización de la sustancia activa sobre el material de envase, de forma que la acción se ejerza por contacto del producto envasado (Catalá y col., 2007). A su vez, existen polímeros que presentan por sí mismos capacidad antimicrobiana, como es el caso del quitosano, alginatos y poliamidas irradiadas (Sáiz & López, 2010).

**Tabla 2.** Agentes antimicrobianos para la incorporación directa a polímeros utilizados en envases para alimentos.

Agente Antimicrobiano	Polímero	Microorganismos
<b>Ácidos Orgánicos</b>  (propiónico, benzoico, sórbico, acético, málico, ácido láctico)	Film comestibles, Etilen vinil acetato, Polietileno de baja densidad	Mohos
<b>Gases Inorgánicos</b>	Varias Poliolefinas	Mohos, Bacterias, Levaduras

(dióxido de azufre, dióxido de cloro)		
<b>Metales</b> (plata, cobre)	Varias Poliolefinas	Bacterias
<b>Fungicidas</b> (benomilo, imazalil)	Polietileno de baja densidad	Mohos
<b>Bacteriocinas</b> (nisina)	Film comestibles, celulosa, Polietileno de baja densidad	Bacterias gram positivas
<b>Enzimas</b> (lizosima, glucosa oxidasa, quitinasa, lactoperoxidasa)	Acetato de Celulosa, Poliestireno	Bacterias gram positivas
<b>Especias</b> (canela, café, rábano picante)	Nylon/Polietileno, celulosa	Mohos, Bacterias, Levaduras
<b>Aceites Esenciales</b> (extracto de uva, polvo de bambú)	Polietileno de baja densidad, celulosa	Mohos, Bacterias, Levaduras
Polímeros Bioactivos	Quitosano	Mohos, Bacterias

Fuente: Patterson (2008).

Existe una amplia gama de agentes antimicrobianos naturales que son derivados de animales, microorganismos y plantas, los cuales están siendo empleados para la conservación de los alimentos y otros aún están siendo investigados (Santos, 2007). Por otra parte, existen otros tipos de agentes antimicrobianos que no cumplen con el concepto natural y seguro que los consumidores demandan, puesto que son sustancias sintéticas las cuales son considerados “sospechosas” por poseer un cierto grado de toxicidad (Lambert y col., 2001). Es por este motivo, que las industrias están empleando sustancias de **origen natural** en lugar de sustancias sintéticas, ya que éstos son potenciales e inocuos (Tabla2).

### 2.2.2. Agentes antimicrobianos de origen natural

Dentro de los compuestos naturales con actividad antimicrobiana ha sido reconocida la efectividad que presentan los **aceites esenciales** (Lambert y col., 2001). Con respecto a estos compuestos, la Asociación Francesa de Normalización (AFNOR), los define como “aquellos productos obtenidos a partir de una materia prima vegetal por destilación por arrastre con vapor, por procedimientos mecánicos, entre otros, con el fin de separar la fase acuosa” (Bermúdez, 2009). Se caracterizan por ser una mezcla compleja de varios componentes de aromas volátiles pertenecientes a diferentes clases de compuestos orgánicos, tales como, hidrocarburos, alcoholes, aldehídos, cetonas, ésteres, éteres y fenoles (Zekaria, 2007), los cuales son los responsables del aroma característico de las esencias.

La FDA (Foods and Drugs Administration) ha considerado a los agentes antimicrobianos derivados de aceites esenciales como sustancias del tipo GRAS (Generally Recognized as Safe), es decir que no presentan ningún riesgo para la salud de las personas. Dentro de la amplia gama de aceites esenciales con actividad antimicrobiana destacan las oleoresinas y extractos naturales, obtenidos de productos vegetales (Tabla 3).

**Tabla 3.** Extractos y aceites presentes en plantas, consideradas GRAS.

Nombre Científico	Nombre Común	Parte	Aceite esencial
<i>Cinnamon</i>	Canela	Hojas	Cinamaldehído
<i>Oriaganum</i>	Orégano	Hojas	Carvacrol
<i>Syzygium aromaticum</i>	Clavo de olor	Corteza, Hojas	Eugenol
<i>Thymus vulgaris</i>	Tomillo	Flor, Hojas	Timol
<i>Eucalyptus globulus</i>	Eucalipto	Hojas	Cineol

Fuente: Zekaria (2007).

Los componentes activos de los aceites esenciales de cada vegetal puede ser muy variables en su composición, ya que ésta puede verse afectada por diversos factores como el origen, especie, partes de la planta, condiciones ambientales, crecimiento y

almacenamiento, así como localización geográfica y metodología de extracción. Un ejemplo es la concentración de cinamaldehído en la mezcla de aceites esenciales procedentes de la canela pudiendo variar entre un 60 y 75%, mientras que en el caso de derivados del tomillo, como carvacrol y timol, varían entre un 3 y 60% del total (Zekaria, 2007). Por su parte, se ha determinado que la actividad antimicrobiana de los aceites esenciales es dependiente tanto de la estructura química de sus componentes como también del tipo de compuesto y proporción en que se encuentren (Burt, 2004).

**Tabla 4.** CMI de compuestos derivados de aceites esenciales frente a microorganismos.

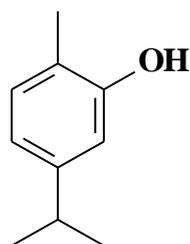
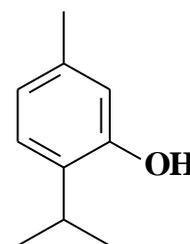
Aceite esencial	Bacteria	CMI ( $\mu\text{l ml}^{-1}$ )
<b>Timol</b>	E. coli	0,225 – 0,45
	S. aureus	0,140 – 0,225
	S. typhimurium	0,056
	L. monocytogenes	0,45
<b>Carvacrol</b>	E. coli	0,225 – 5
	L. monocytogenes	0,375 – 5
	S. aureus	0,175 – 0,45
	S. typhimurium	0,225 – 0,25
	A. flavus	0,2
<b>Cinamaldehído</b>	L. monocytogenes	10
	S. enteritidis	20
	A. flavus	0,2
<b>Eugenol</b>	E. coli	1,0
	L. monocytogenes	> 1,0
	S. typhimurium	0,5

Fuente: Burt (2007).

En base a los diversos estudios enfocados a microorganismos patógenos para el hombre, hasta ahora se ha informado que los aceites esenciales son en general más activos frente a bacterias gram positivas que negativas (Zekaria, 2007), lo cual puede deberse a la estructura de la pared celular y composición de la membrana externa de ellas. En general, la actividad antimicrobiana de los aceites esenciales, se basa en el deterioro de sistemas enzimáticos, incluyendo los vinculados con la producción de energía y síntesis de componentes estructurales. Este mecanismo de acción consiste en que componentes del aceite esencial atraviesan la membrana celular y mitocondrial por medio de los lípidos, interactuando con enzimas y proteínas, alterando la estructura y haciéndola más permeable causando finalmente, una fuga de iones que pueden conllevar a la muerte celular (Brijesh y col., 2009).

Varios estudios referentes a la actividad antimicrobiana de los aceites esenciales han estado orientados a la determinación de las concentraciones mínimas inhibitorias (CMI). Así, en la Tabla 4 se resumen los valores de CMI para diferentes aceites esenciales frente a distintos microorganismos.

Tanto el aceite de orégano como el de tomillo son muy ricos en los isómeros timol y carvacrol (Figura 3). El timol es un compuesto fenólico volátil mono terpeno, el cual ha demostrado una alta eficacia antibacteriana y antifúngica, además de ser antiséptico urinario y de la cavidad bucofaríngea, antiespasmódicos y antioxidante debido a la capacidad de secuestrar radicales libres. Este compuesto ha sido utilizado frente a bacterias gram positivas (*S. aureus*, *L. monocytogenes*), gram negativas (*S. typhi*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa*, *E. coli*) (Burt, 2007), hongos filamentosos (*A. niger*, *F. oxysporum* y *Mucor spp.*), y levaduras (*C. albicans*) (Arcila y col., 2004; Pei y col., 2009). Otros estudios han demostrado que la combinación con su isómero Carvacrol, presenta un alto nivel de actividad contra microorganismos gram negativos con excepción de *P. aeruginosa*, siendo el timol en este caso el más activo (Gaspar, 2008).

**Carvacrol****Timol****Figura 3.** Estructura química del Carvacrol y Timol.

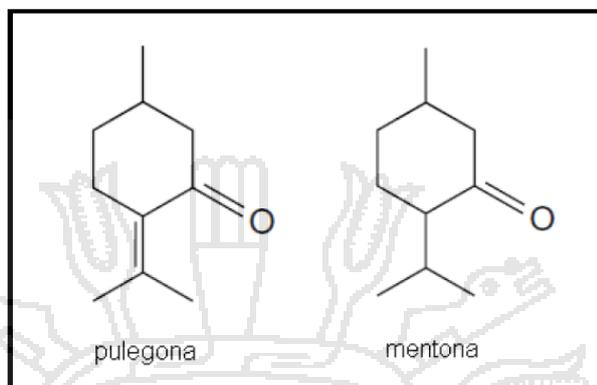
Respecto al mecanismo de acción, el Timol es capaz de desintegrar la membrana externa de las bacterias Gram negativas, liberando lipopolisacáridos (LPS), aumentando la permeabilidad de la membrana citoplasmática, reduciendo la tasa de síntesis del ATP y permitiendo la liberación de iones (Burt, 2004; Lambert y col., 2001).

#### 2.2.2.1. Aceite esencial de muña

La muña es una planta promisoriosa por sus aceites esenciales esta planta nativa de la cordillera de los andes desde Venezuela hasta Bolivia con un alto rango altitudinal (1000 – 3500 m.). Es un arbusto aromático de hasta 50 cm. de altura leñoso hasta la base, con hojas ovadas y pubescentes e inflorescencia axiales en cimas (Alkire y col., 1994). La *Minthostachys* es conocida como muña en el Perú, piperina en Argentina y orégano en Colombia, y es utilizada en medicina popular para tratar los cólicos estomacales y ciertos trastornos gripales (White, 1985), el uso más conocido tiene que ver con la preservación de la papa en condiciones de almacenamiento; se ha señalado que los campesinos de la sierra peruana la han utilizado desde hace muchos años con este fin, igualmente ha tenido uso como condimento y preservativo de alimentos.

La pulegona y la mentona, son los componentes mayoritarios de los géneros *Menta* y *Minthostachys*, generalmente la primera está presente en mayor porcentaje en contraste con la *Minthostachys*. La pulegona puede ser tóxica, en grandes cantidades, produciendo aborto y daños al hígado. Esa toxicidad es dañina también para las plagas

y parásitos, lo que justifica su utilización como conservante de alimentos. La mentona presenta propiedades digestivas y no tiene toxicidad. En la Figura 4, se presenta la estructura química de estos compuestos (Luna, 2010).



**Figura 4.** Compuestos mayoritarios del aceite esencial de muña (Luna, 2010).

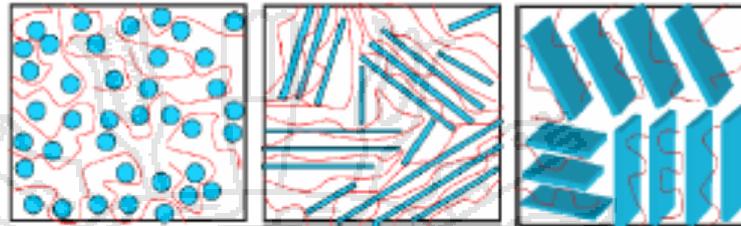
### 2.3. Aplicación de nanotecnología

La importancia de esta tecnología ha aumentado a lo largo de los años ya que se ha convertido en un enfoque multidisciplinario en el campo de la ciencia. Actualmente, diversos países se encuentran invirtiendo fuertemente a través de programas nacionales y transnacionales con altas expectativas pudiendo alcanzar cifras de trillones en el año 2011 (Franco & Maspocho, 2009).

Por definición, el concepto de la **nanotecnología** fue presentado por Richard Feynman en 1959, en una reunión de la Sociedad Americana de Física. Esta ciencia, trabaja dentro del rango nanométrico ( $1 \times 10^{-9} \text{m}$ ) a fin de comprender, crear, caracterizar y utilizar dispositivos y sistemas con nuevas propiedades derivadas de su nanoestructura (De Azeredo, 2009).

Una de las aplicaciones de la nanotecnología con mayor impacto en el área de materiales poliméricos ha sido el desarrollo de los **nanocompositos**. Éstos se definen como una nueva clase de materiales compuestos, en los cuales una de las dimensiones de las partículas de carga o relleno se encuentra en el rango nanométrico (Villanueva, 2009). Éstos sistemas híbridos son en esencia, polímeros reforzados con partículas, las cuales pueden ser esféricas (tres dimensiones nanométricas), tubulares (dos dimensiones) y laminares (una dimensión), siendo esta última la forma más adecuada

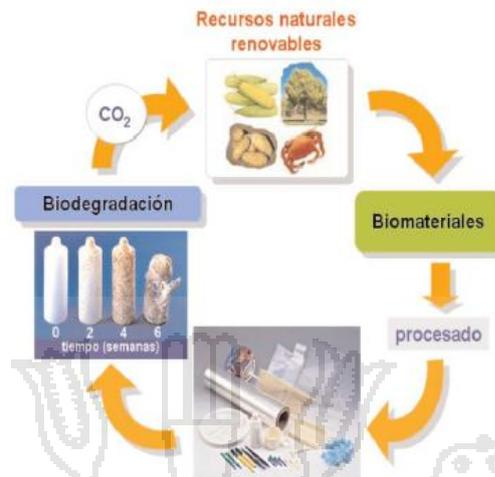
para obtener un máximo rendimiento (Figura 5). Aunque varias nanopartículas han sido reconocidos como posibles aditivos para mejorar el rendimiento de los polímeros, la industria de envases ha centrado su atención principalmente en sólidos inorgánicos de estructura laminar como son las **arcillas**, también conocidas como filosilicatos o silicatos laminares. (Franco & Maspoch, 2009)



**Figura 5.** Nanocompósitos poliméricos esféricos, tubulares y laminares.

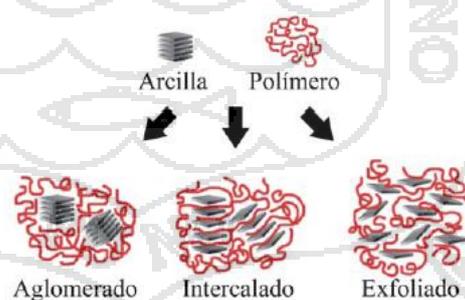
### **2.3.1. Nanocompositos y Bionanocompositos**

Actualmente, la mayoría de los materiales de embalaje tradicionales están hechos con materiales no degradables lo cual aumenta la contaminación ambiental. Es por este motivo que ha surgido la necesidad de **desarrollar** nuevos materiales basados en materias primas eco – amigables que reemplacen en un futuro próximo parcialmente a los polímeros derivados del petróleo, disminuyendo con ello la cantidad de desechos plásticos no biodegradables y contribuyendo así a la conservación del medio ambiente. Es así como la utilización de **biopolímeros** ha surgido como una alternativa para enfrentar dicha problemática (Figura 6). Sin embargo, algunas de las propiedades que presentan este tipo de polímeros (por ejemplo, alta permeabilidad y fragilidad) desfavorecen su uso para estos fines. Así, el uso de **nanorellenos** para producir **bionanocompositos** ha sido propuesto como una alternativa para mejorar sus propiedades mecánicas, de barrera al paso de gases y estabilidad térmica (Darder y col, 2007). A estas propiedades, comunes a todos los nanocompositos, se suman ahora las que aportan los biopolímeros, tales como la biocompatibilidad y biodegradabilidad (Sozer & Kokini, 2009).



**Figura 6.** Ciclo sostenible de biopolímeros

Dependiendo de la naturaleza de los componentes, se pueden obtener tres tipos de nanocompositos a partir de arcillas: Aglomerados, Intercalados o Exfoliados (Figura 7). Los compuestos aglomerados ocurren cuando el polímero es incapaz de intercalarse entre las láminas de arcilla obteniéndose una fase separada. En los nanocompositos intercalados, el polímero es capaz de intercalarse en la estructura laminar de la arcilla sin afectar la morfología lámina sobre lámina de ésta. Mientras que la tercera clasificación corresponde a los nanocompositos exfoliados, donde las láminas de la arcilla se encuentran totalmente dispersas y desordenadas dentro la matriz polimérica (Franco & MasPOCH, 2009).



**Figura 7.** Tipos de nanocompuestos poliméricos

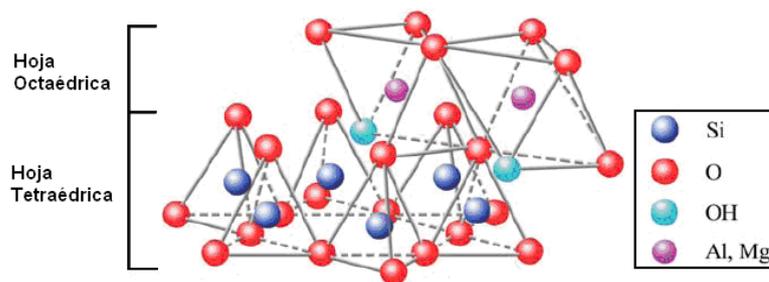
Dentro de los biopolímeros usados en el desarrollo de nanocompositos destacan el poliácido láctico (PLA), Polihidroxibutirato (PHB), Almidón, Celulosa y Quitosano (Medina, 2007). Respecto a la **celulosa**, es importante destacar que es el polímero natural más abundante en la tierra, por lo tanto, ofrece una alternativa atractiva para su

aplicación en el desarrollo de nanocompositos de arcilla. Sin embargo, su difícil procesabilidad dificulta su uso. Es por este motivo que el desarrollo de nanocompositos de celulosa se ha orientado principalmente al uso de sus derivados, tales como acetato de celulosa (CA), propionato de acetato de celulosa (CAP), butirato de acetato de celulosa (CAB), y carboximetilcelulosa acetato butirato (CMCAB) (Bonzanini y col., 2009; Gindl & Keckes, 2005).

### **2.3.1.1. Arcilla**

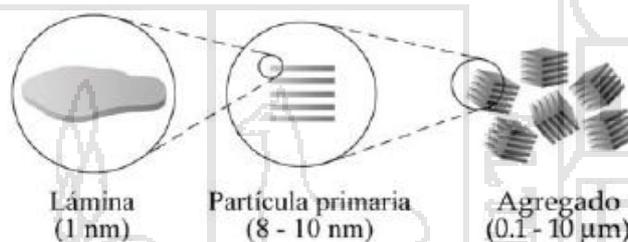
Se define el término arcilla como una roca sedimentaria consistente en mezclas de distintos minerales, esencialmente silicatos hidratados de aluminio, hierro o magnesio, junto a diversas impurezas, en forma de partículas cristalinas pequeñas y en proporciones variables (Villanueva, 2009). Las láminas de las arcillas presentan una estructura cristalina que está basada en el apilamiento de hojas formadas principalmente por dos tipos de geometrías: tetraédricas y octaédricas (Figura 8). La primera, se compone de tetraedros de silicio-oxígeno, siendo el silicio el que aporta cuatro cargas positivas y el oxígeno ocho cargas negativas, por lo tanto, el tetraedro se encuentra eléctricamente descompensado. Dado este desequilibrio, el oxígeno debe unirse a otros cationes para así neutralizar sus cargas. En tanto, la capa octaédrica está conformada de octaedros de magnesio o aluminio cuyos vértices están formados por oxígeno, que al igual que los tetraedros, ésta se encuentra eléctricamente descompensada debido a que si el catión es magnesio ( $Mg^{2+}$ ) aporta dos cargas positivas o bien, si el catión fuese aluminio ( $Al^{3+}$ ) aportaría tres cargas positivas frente a las doce cargas negativas aportadas por los oxígenos, por lo cual, para lograr la neutralización es necesario que los vértices formen una capa octaédrica (Franco & Maspoeh, 2009; Uddin, 2008), (Figura 8).

La arcilla pertenece al grupo más amplio de minerales de grano fino, sin embargo, en química, todos los minerales de la arcilla puede ser simplemente descritos como silicatos hidratados con Al, Mg, Fe, entre otros; lo cual demuestra la plasticidad a través de una gama variable de contenido de agua por la atracción polar (Uddin, 2008; Utrackl, 2004).



**Figura 8.** Micro estructura laminar de las arcillas

Las láminas de arcillas de uso común en nanocompuestos no son por sí mismas partículas nanométricas, sino que constan de dos capas bidimensionales, que poseen un espesor aproximado de 1 nm mientras que sus dimensiones laterales se encuentran en función del silicato en particular, que puede variar desde 30 nm hasta varias micras (Franco & Maspocho, 2009), (Figura 9).



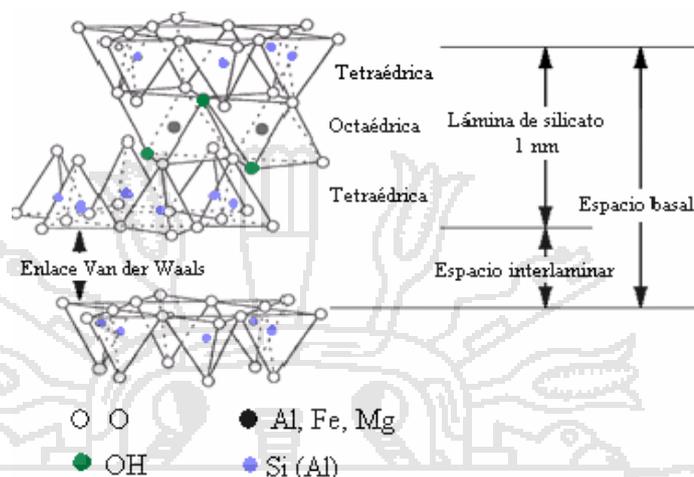
**Figura 9.** Estructura de la arcilla

Los minerales de arcillas se clasifican en 4 grupos: Caolinita, Esmectita, Illitas y Clorita. Dentro del grupo esmectita se encuentra el tipo **Montmorillonita** (descubierta por Damaour y Salvetat en Montmorillon, Francia). Debido a su disponibilidad, a que no son contaminantes, a su bajo costo, a las significativas mejoras en diversas áreas de estudio y por último, a la capacidad de procesamiento relativamente sencillo, que este tipo de arcilla ha sido una de las más empleadas en el desarrollo de nanocompositos (De Azeredo, 2009; Franco & Maspocho, 2009).

### 2.3.1.2. Arcilla Montmorillonita (MMT)

La MMT es la arcilla mineral más utilizado para la producción de nanocompuestos comerciales. Es un filosilicato laminar perteneciente al grupo de las esmectitas y presenta la estructura típica de un filosilicato del grupo 2:1, lo cual indica que posee 2 hojas tetraédricas de silicio intercalando una hoja octaédrica central de

aluminio (Figura 10). Ésta se caracteriza entre otros tipos de arcillas por ser de **naturaleza hidrofílica**, por lo cual el agua penetra bien en los espacios moleculares (Betega de Paiva y col., 2008).



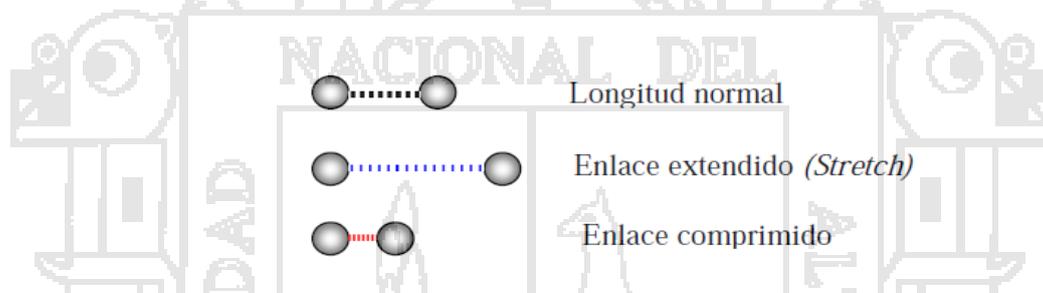
**Figura 10.** Estructura de Montmorillonita 2:1

## 2.4. Propiedades de los nanocompositos

### 2.4.1. Espectroscopia Infrarroja por Transformada de Fourier (FTIR)

La espectroscopia de infrarrojo (IR) es una técnica muy empleada para la caracterización estructural de polímeros y está basada en las vibraciones de los átomos y grupos funcionales en las moléculas a causa de su interacción con la radiación emitida en la región infrarroja del espectro electromagnético. El espectro infrarrojo se obtiene haciendo pasar a través de la muestra una radiación de la longitud de onda adecuada y determinando qué fracción de la energía incidente es absorbida a causa de los diferentes movimientos moleculares. La energía a la que parece un pico en un espectro de absorción corresponde a la frecuencia de vibración de uno o varios grupos funcionales de la molécula e implica la absorción de una cierta cantidad de energía de la radiación incidente. Las moléculas son flexibles, de forma que los átomos están continuamente oscilando en torno a su posición de equilibrio. Durante esta vibración tanto las distancias entre los átomos como los ángulos de los enlaces cambian constantemente respecto de su posición nominal debido a la agitación térmica. Cuando estas moléculas son expuestas a la radiación infrarroja absorben en determinadas longitudes de onda (o frecuencias). Este hecho se debe a que la molécula absorbe

exclusivamente cuando la vibración de los átomos genera un campo eléctrico (cambio en su momento dipolar) con la misma frecuencia que la onda IR incidente. Por tanto, una molécula absorberá exclusivamente a unas determinadas frecuencias del espectro infrarrojo, que serán función de los enlaces y grupos funcionales propios de esta molécula. El conjunto de frecuencias a las que absorbe una molécula (bandas de absorción) son específicas para esta molécula, lo que permitirá diferenciarla de cualquier otra. Todos los movimientos vibracionales de los átomos se pueden describir en base a dos tipos de vibraciones: cambios en la distancia del enlace o cambios en el ángulo del enlace. Los cambios en la distancia del enlace, denominados extensión “stretch”, son movimientos rítmicos a lo largo de la línea entre los átomos, de forma que la distancia interatómica se ve incrementada y disminuida sucesivamente (Figura 11).



**Figura 11.** Cambios en la distancia del enlace.

El segundo tipo de movimiento vibracional produce cambios en el ángulo del enlace entre los átomos. Estos movimientos son denominados “scissoring”, “rocking”, “waging” y “twisting”. En el caso de los grupos  $\text{CH}_2$  presentes en las cadenas poliméricas, se pueden dar seis tipos de movimientos: tensión “stretching” simétrica y asimétrica, flexiones simétricas y asimétricas en el plano (“scissoring” si los enlaces se mueven como las hojas de unas tijeras y “rocking” si los átomos se mueven en la misma dirección), y flexiones simétricas y asimétricas fuera del plano (“waging” si se mueven los dos átomos en el mismo sentido y “twisting” si lo hacen alternativamente). Por tanto, en función de las distancias entre átomos y los movimientos que tienen lugar en cada uno de los enlaces entre los mismos, una molécula presentará una serie de bandas propias asociadas a sus enlaces, permitiendo la detección de los grupos funcionales presentes en la misma. Esto hace de la espectroscopia infrarroja sea una herramienta muy útil para el análisis cualitativo (identificación) de compuestos orgánicos (Coloma, 2014).

### 2.4.2. Propiedades Mecánicas

Las propiedades mecánicas de un material se refieren a su respuesta cuando se ve sometido a una fuerza externa, la cual se puede relacionar con la deformación que llega a sufrir. De los diferentes ensayos existentes para esta determinación, el más empleado es el ensayo tracción en una dimensión, el cual permite evaluar las propiedades más relevantes del material cuando se pretende estudiar los cambios en su ductilidad, permitiendo evaluar de forma precisa su capacidad para soportar esfuerzos y deformaciones sin que se vea alterado. La información que suministra el ensayo de tracción es muy completa ya que permite cuantificar la respuesta elástica y plástica del material a través de sus propiedades resistentes, como el módulo elástico de Young (E) y las dúctiles: porcentaje de elongación a la rotura y fuerza de tensión (Callister, 1995).

(Bruna y col., 2012) incorporaron la montmorillonita-Cu<sup>2+</sup> en la matriz polimérica de PEBD. Ellos demostraron que el módulo de tensión disminuyó con la incorporación de MtCu<sup>2+</sup>, atribuyendo este hecho a la débil interacción entre PEBD y la arcilla, debido a la presencia de cobre en la arcilla. Por otra parte, demostraron que no hubo cambios significativos en la fuerza de tensión. En cuanto al alargamiento a la rotura hubo disminución con la adición de la arcilla modificada. Esto debido a que la presencia de la arcilla en la matriz polimérica reduce la movilidad de las cadenas del polímero.

(Rodríguez y col., 2012) desarrollaron nanocompuestos de acetato de celulosa (AC) adicionando una arcilla comercial Cloisite 30B, observando que el módulo de elasticidad y la elongación a la rotura son las propiedades mecánicas más afectadas cuando se aumentó el contenido de arcilla orgánica en la matriz de AC. Por otro lado, se observó un efecto menor en la resistencia a la tracción. Para los nanocompuestos basados en AC de M~30.000 y M~50.000 con un 10 % en peso de arcilla orgánica el módulo de tracción se incrementó 84% y 60%, la resistencia a la tracción se redujo hasta 40% y 14% y el alargamiento disminuyó hasta 89% y 62%, respectivamente. Estos resultados han mostrado que las películas de nanocompuestos se vuelven más frágiles con la adición de Cloisite 30B.

### 2.4.3. Propiedades Ópticas

La determinación del color de un material mediante el uso de técnicas espectrofotométricas permite conocer las variables en su coloración según la formulación, lo cual es un parámetro muy importante en materiales que vaya a ser utilizados en envasado de alimentos. Los valores obtenidos por el equipo se dan en las coordenadas del espacio colorimétrico CIELAB formado por un sistema cartesiano definido por tres coordenadas que describen el color de un objeto. Así,  $L^*$  indica la luminosidad, es decir la cantidad de luz percibida que refleja o transmite un material y puede tomar valores de 0 a 100;  $a^*$  indica la saturación o desviación del punto acromático de  $L^*$  hacia el rojo o hacia verde (si  $a^* > 0$  hacia el rojo y si  $a^* < 0$  hacia el verde); y  $b^*$  es el ángulo de tono que define la desviación de  $L^*$  en el eje amarillo y/o azul (si  $b^* > 0$  hacia el amarillo y  $b^* < 0$  hacia el azul).

### 2.4.4. Propiedades Antimicrobianas

**Método de difusión de discos (antibiograma disco-placa):** Basado en el trabajo de Bauer y Kirby y colaboradores es uno de los métodos que el National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS) recomienda para la determinación de la sensibilidad bacteriana a los antimicrobianos. Para determinar efecto bacteriano del aceite esencial de muña en las muestras que se elaboradas, Se trató del uso de papel filtro impregnados con antimicrobiano (discos con aceite esencial de muña). En esta prueba de sensibilidad por difusión con discos la resistencia a los antimicrobianos se detecta exponiendo los bacterias seleccionadas a discos de antimicrobiano que se colocan en una placa de agar cuya superficie se ha sembrado con la bacteria para luego realizar la lectura y clasificar a la bacteria como resistente o sensible frente a un agente antimicrobiano de acuerdo a la medición en milímetros de los halos visibles en el agar (Gómez, 2009).

## CAPITULO III: METODOLOGIA DE INVESTIGACION

### 3.1. LUGAR DE EJECUCION

El trabajo de investigación desarrollado durante los meses de Julio a Diciembre 2014, se llevó a cabo gran parte del estudio en el Laboratorio especializado de envases (LABEN-CHILE) de la Universidad Santiago de Chile (USACH), y se culminaron los estudios en el Mega Laboratorio de la UNA-PUNO y en los Laboratorios de microbiología, pos cosecha e ingeniería de la Facultad de Ciencias Agrarias de la Escuela Profesional de Ingeniería Agroindustrial.

### 3.2. MATERIALES

#### 3.2.1. MATERIA PRIMA

Aceite esencial de Muña extraída de la especie *Minthostachys spicata* procedente del distrito de Juli, Provincia de Chucuito, Región Puno.

#### 3.2.2. MATERIALES DE LABORATORIO

- Guantes de goma
- Algodón
- Rotulador
- Probetas marca Pirex
- Pipetas 10 ml
- Erlenmeyer 50 ml
- Vasos precipitados de 50 ml
- Papel filtro
- Frascos de vidrio cap. 250, 500 ml
- Placas Petri marca Pirex
- Tubos de ensayo con o sin tapa
- Campana de desecación
- Soporte universal
- Bolsas de Polietileno (bolsas Ziploc).

### 3.2.3. INSTRUMENTOS Y EQUIPOS

- Software Statgraphics Centurion 16.1 español
- Software Origin Pro 8
- Complemento Endnote v.x7
- Mufla de esterilización autoclave
- Espectrómetro IR (marca Bruker, modelo Alpha, Ettlingen, Alemania)
- Máquina universal de ensayos Zwick Roell modelo BDO-FB 0.5 TH
- Colorímetro marca Konica Minolta modelo CR 410
- Estufa (Binder, FD115, Tuttlingen, Alemania).
- Estufa MEMMERT universal 30-120°C modelo TV- 40
- Termómetro de 0 – 100°C marca Pirex
- Balanza Analítica y precisión marca AND FR – 300 Japón
- Agitador magnético (IKA® C-MAG HS7)
- Ultrasonido (Elmasonic S60H)
- Espectrofotómetro UV-Vis Mini 1240 (Spectroquant® Pharo 300, Darmstadt, Alemania).
- Micrómetro Digimatic Mitutoyo (modelo ID-C112, Kawasaki, Japón)
- Destilador por arrastre de vapor
- Contador de colonias, *LightBox*, modelo Petite
- Balanza analítica, marca Kern, modelo ABS-200-4, serie WB1210336
- Estufa, marca Binder, modelo D78532 – Tufflinger / Alemania
- Incubadora, marca Lab Incubador, modelo IN-601, serie 7100842
- pH – metro, marca Jenway, modelo 3510.

### 3.2.4. INSUMOS Y REACTIVOS

- *Polímero*: Acetato de celulosa (AC) (Aldrich Chemistry, Grado de Acetilación: 39,8% p/p; Mn 30,000 (g/mol)).
- *Solvente*: Acetona técnica (Equilab, 99,5%, P.M. 58,08 (g/mol)).
- *Nanorrelleno*: Organoarcilla, Cloisite 30B® (Southern Clay Products, INC; Lot #09H25ACX-047, G Number 15985).
- *Plastificante*: Citrato de Trietilo (SAFCTM Citrato de Trietilo>99%, FCC, FG; Densidad 1,14(g/ml)).
- *Agente Antimicrobiano*: Aceite esencial de Muña (*Minthoschys spicata*).

- *Micro-organismos: Echerichia coli ATCC25922 y Listeria innocua.*
- *Medios de cultivos: Caldo Verde Brillante - BRILA 2% (40/L), Agar Mueller - Hinton*

### **3.3. EVALUACION DE LAS PELICULAS ECO - AMIGABLES**

#### **3.3.1. Evaluación química estructural de las películas eco-amigables**

En presente trabajó, se utilizó la técnica de espectroscopia infrarroja por Transformada de Fourier (FTIR) para caracterizar los grupos funcionales y poder observar los posibles cambios causados por las interacciones entre los distintos componentes de la mezcla. El instrumento fue un espectrofotómetro infrarrojo (marca Bruker, modelo Alpha, Ettlingen, Alemania), en la región de 9000 a 100  $\text{cm}^{-1}$  con un promedio de 214 escaneos con una resolución de 4  $\text{cm}^{-1}$ . Las medidas se llevaron a cabo en modo reflectancia total atenuada (ATR) utilizando un accesorio Golden Gate con cristal de diamante, que permite el análisis directo de la muestra sin necesidad de preparación previa. Los espectros 4000 a 400  $\text{cm}^{-1}$  utilizando una muestra con un tamaño de aproximado de 5 $\text{mm}^2$ . Para el registro de fondo y de las muestras se utilizaron 60 barridos, obteniéndose los espectros de absorbancia en función del número de onda ( $\text{cm}^{-1}$ ) (Bruna y Col., 2012).

#### **3.3.2. EVALUACION ÓPTICA - MECÁNICA DE LAS PELÍCULAS ECO – AMIGABLES ACTIVAS**

##### **3.3.2.1. Espesor de las Películas**

Los espesores de los nanocompositos se midieron en un micrómetro Digimatic Mitutoyo (modelo ID-C112, Kawasaki, Japón), con una precisión de 0,001 mm. Las mediciones se llevaron a cabo en cinco puntos diferenciados de las películas activas obteniéndose el valor promedio para cada muestra de película activa (Rodríguez y Col., 2012).

##### **3.3.2.2. Propiedades Mecánicas de las Películas**

La fuerza de tensión, elongación a la rotura y el módulo de elasticidad de cada material se midieron a temperatura ambiente en una máquina universal de ensayos Zwick Roell modelo BDO-FB 0.5 TH (Ulm, Alemania), de acuerdo a la norma (ASTM D 882, 1991). Se cortaron muestras de las películas plásticas de 150 x 25 mm, las que se sometieron a un ensayo de tracción, siendo la distancia entre las mordazas

de 50 mm, la velocidad del ensayo fue de 24 mm/s y el ensayo se llevó a cabo con una precarga de 0,1N. El módulo de elasticidad, la fuerza de tensión y el porcentaje de elongación, se obtuvieron con el software testXpert v1102 estándar (Zwick GmbH, Ulm, Alemania). Los resultados reportados son los valores medios obtenidos tras seis repeticiones para cada tratamiento.

### 3.3.2.3. Propiedades Ópticas de las Películas

Las mediciones de color de las películas plásticas se llevaron a cabo con un colorímetro marca Konica Minolta modelo CR 410 (Tokio, Japón), utilizando el iluminante D65 y el observador 2°. Los parámetros medidos fueron luminosidad ( $L^*$ ), cromaticidad  $a^*$  (rojo-verde) y  $b^*$  (amarillo-azul). Una placa estándar de color blanco ( $L^*=97,11$ ;  $a^*=-0,03$  y  $b^*=1,96$ ) fue utilizada como fondo para las mediciones de color. Los valores de cada una de las muestras corresponden a la medida de diez repeticiones. Los resultados reportados fueron el valor promedio de las diferencias de color ( $\Delta E$ ) calculadas mediante la expresión  $\Delta E = [(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2]^{1/2}$ . (Coloma, 2014)

La opacidad de las películas plásticas se determinaron con un espectrofotómetro UV-Vis Mini 1240 (Spectroquant® Pharo 300, Darmstadt, Alemania). Las películas plásticas se cortaron en piezas rectangulares (1,2×4,5 cm) y las muestras fueron colocadas en el compartimiento de muestra del espectrofotómetro. El compartimiento vacío fue utilizado como referencia en las mediciones. Se determinó la absorbancia de las muestras a una longitud de onda de 600 nm. El índice de opacidad se calculó a partir del cociente del valor de absorbancia dividido por el espesor de la película mm (Rodríguez y col., 2012).

### 3.3.3. ESTUDIO DE LA ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DE LAS PELICULAS CON ACEITE DE MUÑA (*Minthostachys spicata*)

En el presente trabajo, la actividad antimicrobiana de las películas eco-amigables se evaluó mediante el método de difusión de disco descrito por el Laboratorio internacional de Referencia: *National Committee for clinical Laboratory Standards* (NCCLS). De esta manera se llevaron a cabo ensayos por contacto directo entre la película eco-amigable y el medio de cultivo inoculado, con una concentración inicial de  $10^8$  UFCml<sup>-1</sup>, a una temperatura de 37 °C y 24 horas y en condiciones de

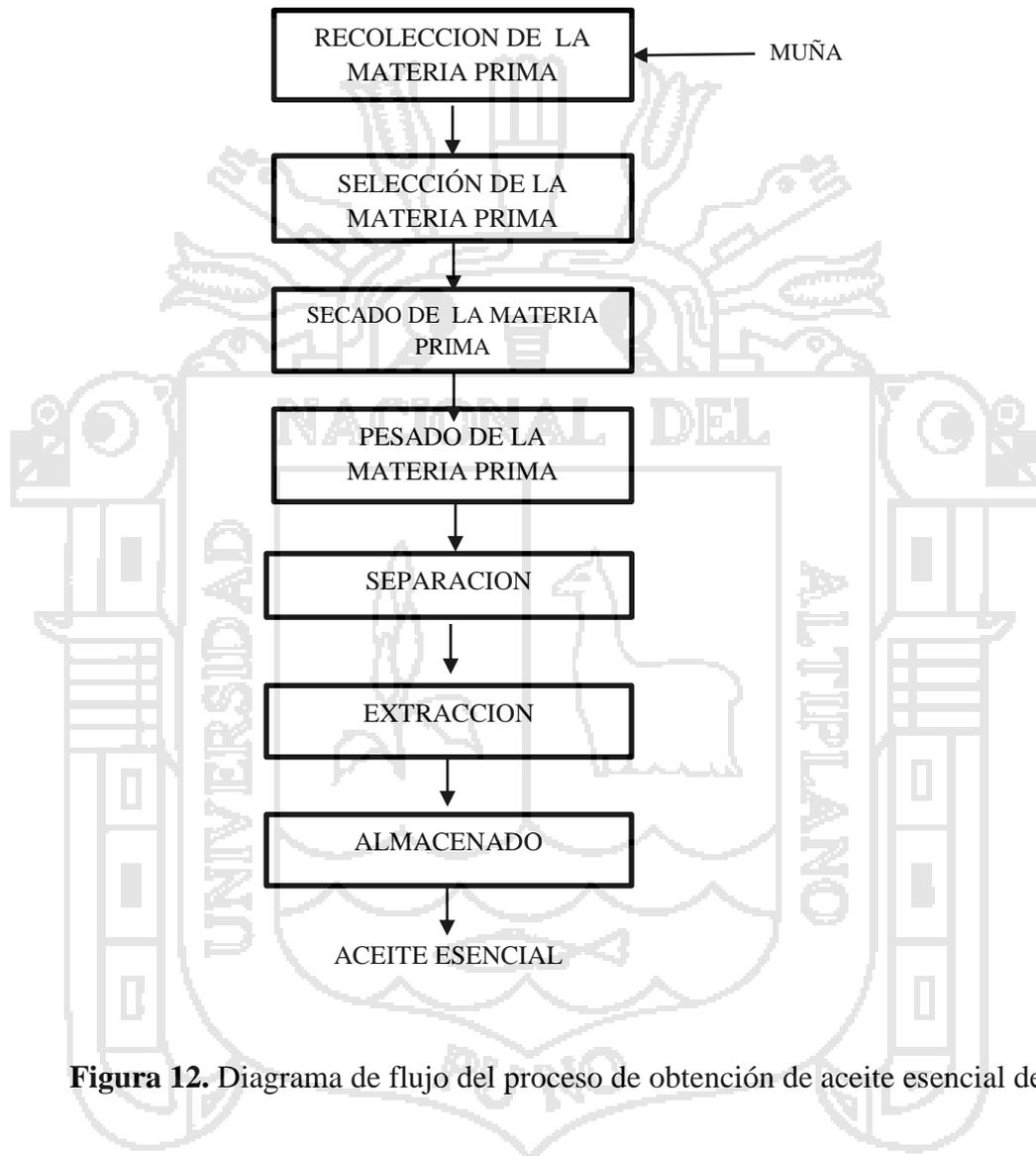
esterilidad en una cámara de bioseguridad. Se seleccionaron dos bacterias indicadoras susceptibles de estar presentes en los alimentos *Listeria innocua* y *Echerichia coli*, *E. coli* sugiere una contaminación de origen fecal, mientras que la *L. innocua* se relaciona con el medio ambiente por ejemplo en el suelo, siendo microorganismos muy útiles como indicadores de una inadecuada manipulación. El procedimiento se detalla a continuación:

- Se impregno los discos de papel filtro con concentraciones de 25%, 50%, 75%, 100% del aceite esencial de *Minthostachys spicata* (Muña). Luego los discos impregnados fueron colocados en las placas para su desecación y posterior utilización.
- En cada placa de Agar Mueller Hinton se sembró las bacterias *Echerichia coli* y *Listeria innocua* por el método de dispersión con un hisopo estéril con una suspensión bacteriana de  $1 \times 10^8$  UFC/ml (turbidez estándar de 0.5 Mc Farland).
- La superficie de la placa se barrió en tres direcciones para asegurar una distribución igual y completa del inóculo sobre toda la placa con el medio de Agar Mueller - Hinton que es el medio base estándar.
- Luego se aplicó los discos con cada una de las concentraciones indicadas del aceite esencial de muña y también los diferentes tratamientos en estudio en forma de discos de 5mm, fijándolos en el interior de la placa.
- Luego se procedió a la incubación de las placas que se invirtieron para evitar la acumulación de humedad en la superficie que pudieran haber interferido en la interpretación de los resultados de la prueba. La incubación se realizó a una temperatura de 37°C, con una duración de 24 horas.
- Al término de la incubación se comprobó la formación del halo de inhibición expresado en milímetros.

### 3.4. METODOLOGIA EXPERIMENTAL

#### 3.4.1. OBTENCION DE ACEITE ESENCIAL

El proceso de obtención del aceite esencial de las hojas de Muña (*Minthostachys spicata*) se realizó según el método de Destilación por Arrastre de Vapor. El proceso de detalla a continuación en la Fig. 12.



**Figura 12.** Diagrama de flujo del proceso de obtención de aceite esencial de muña.

### 3.4.2. DESCRIPCION DEL DIAGRAMA DE FLUJO

- ✓ **Recolección de Materia Prima:** Esta operación se ha realizado deslizando las manos a lo largo de la planta en el sentido inverso al crecimiento para no malograr la fisiología de la planta durante este proceso se utilizó guantes y tijeras a una altura de 30 cm. Inversa a la raíz y luego se separaron hojas y tallos.
- ✓ **Selección de materia prima:** Se seleccionó las hojas de muña de esta especie desechando la materia prima que no estaba apta para la extracción del aceite esencial. Excluyendo las hojas que contenían daños causados por algunas plagas.
- ✓ **Secado de materia prima:** Se utilizó un secador bajo sombra por 10 días, en este tiempo las hojas seleccionadas pierden humedad.
- ✓ **Pesado de materia prima:** Se pesaron 5 Kilos de muña seca en una balanza. Para su posterior extracción de aceite esencial y ser sometidos a la eliminación del contenido de agua (porcentaje de humedad).
- ✓ **Extracción:** Se utilizó 5 kilos de hojas secas para cada prueba de destilación, por arrastre de vapor en esta operación se controlaron los parámetros de:  
Tiempo de destilación a 60 minutos, a una temperatura entre 70 – 90 °C, el rendimiento en la obtención de aceite esencial se tomó en una probeta los mililitros obtenidos fueron 600 ml de aceite esencial y agua.
- ✓ **Separación:** La separación se realizó con peras de decantación para eliminar el agua y obtener el aceite esencial 80 ml. En esta operación es muy importante controlar la cantidad de aceite que empleó las pipetas volumétricas.
- ✓ **Almacenado:** El aceite obtenido se almacenó en botellas de vidrio con medida de 120 ml de color ámbar para evitar alguna reacción desfavorable con el contacto de la luz.

### 3.4.3. PREPARACION DE PELICULAS ECO - AMIGABLES ACTIVAS

Las películas eco-amigables se elaboraron de acuerdo a la Tabla 5; como se muestra a continuación.

**Tabla 5.** Tipos de Películas eco-amigables preparadas para su caracterización.

Tratamientos	Película	Polímero	%C30B	Plastificante	%Antimicrobiano
1	AC-C30B4.5%-TEC-AM2.93%	AC	4.5	TEC	2.93
2	AC-C30B6%-TEC-AM15%	AC	6	TEC	15
3	AC-C30B6.62%-TEC-AM10%	AC	6.62	TEC	10
4	AC-C30B2.38%-TEC-AM10%	AC	2.38	TEC	10
5	AC-C30B3%-TEC-AM5%	AC	3	TEC	5
6	AC-C30B6%-TEC-AM5%	AC	6	TEC	5
7	AC-C30B4.5%-TEC-AM17.07%	AC	4.5	TEC	17.07
8	AC-C30B3%-TEC-AM15%	AC	3	TEC	15
9	AC-C30B4.5%-TEC-AM10%	AC	4.5	TEC	10
10	AC-TEC	AC	0	TEC	0
11	AC-TEC	AC	0	TEC	0

**Fuente:** Elaboración propia

- Para preparar las películas correspondientes (Tabla 5), se disolvió 5 g de Acetato de Celulosa en 75 ml de acetona técnica dentro de un frasco de vidrio tapa rosca de 250 ml con agitación constante durante 1hr. en un agitador magnético (IKA® C-MAG HS 7). Según el caso, se adicione el compuesto antimicrobiano (aceite esencial) en cantidades variables (5, 10, 15 % en peso) en conjunto con el plastificante Citrato de Trietilo (15% en peso) dejando en agitación durante 30 min.
- Todo los eco-nanocompositos consistieron de un 3, 4.5, 6% en peso de la organoarcilla comercial con relación al peso del polímero. Así, 0,3 g de Cloisite 30B se dispersaron en 25 ml de acetona técnica dentro de un frasco de vidrio tapa rosca de 500 ml y se sometieron a tratamiento de ultrasonido (Elmasonic S60H) a temperatura ambiente por 30 min. Concluido el tiempo, se adicione bajo agitación la solución de acetato de celulosa preparado anteriormente sobre la suspensión de arcilla. La mezcla final se llevó a un baño con ultrasonido a temperatura ambiente durante 30 min. y luego con agitación magnética se dejó por 1 hora para su homogenización. Luego, 30 ml de esta solución serán

vertidos en placas Petri de 18.5 cm de diámetro, las cuales se llevarán a estufa a una temperatura de 40°C durante 4 horas. Finalmente, las películas se extrajeron de las placas y almacenadas en bolsas de polietileno (Bolsas Ziploc®) hasta su caracterización. Este procedimiento se llevó a cabo para cada tipo de formulación, del cual se obtuvo finalmente dos películas, por lo cual según se necesitó películas para analizar, se llevó a cabo esta preparación.

### 3.5. DISEÑO EXPERIMENTAL

#### 3.5.1. Identificación de las Variables de Estudio

Para realizar el siguiente trabajo de investigación se estudiaron las siguientes variables: Cloiste 30B, concentración de aceite esencial, para lo cual nuestras variables de respuesta fueron: Color, módulo de la elasticidad, fuerza de tensión, elongación a la rotura, capacidad antimicrobiana. El **Diseño Factorial 2<sup>k</sup> Centrado Rotacional DCCR** permite evaluar directamente la curvatura de un modelo y a partir de ella poder optimizar el diseño factorial. Este diseño, permite evaluar a la vez cinco niveles en cada factor como se puede apreciar en el Tabla 6.

**TABLA 06: CINCO NIVELES DE DCCR**

NIVEL DE CODIFICACION $X_i$	DENOMINACION
-&	Nivel Mínimo
-1	Nivel Bajo
0	Nivel Medio
1	Nivel Alto
&	Nivel Máximo

FUENTE: Elaboración Propia

Para  $k=2$ ,  $\&=1.414$

La codificación de las variables se obtiene de:

$$X_i = (V_i - a)/b$$

Dónde:  $V_i$  = Nivel de variable real escogida  
 $a$  = Valor de la variable en el punto central  
 $b$  = Amplitud del valor real

En el Tabla 7, se muestra el número de tratamientos o experiencias para dos variables o factores (contenido de Cloisite 30B, concentración de aceite esencial de Muña) en un DCCR, codificados y los datos reales se muestran en la Tabla 5.

**TABLA 7. NUMERO DE TRATAMIENTOS PARA DOS FACTORES EN UN DCCR**

TRATAMIENTOS	FACTORES CODIFICADOS	
	X <sub>1</sub>	X <sub>2</sub>
1	-1	1
2	-&	0
3	-1	-1
4	0	-&
5	0	&
6	1	-1
7	1	1
8	&	0
9	0	0
10	0	0
11	0	0

### 3.5.2. Ejecución de Pruebas Experimentales

En resumen, mediante las técnicas del diseño central compuesto cada uno de los factores independientes se especifican en cinco niveles. El principio del diseño incluye dos tipos de combinaciones. Los puntos axiales incluyen cada factor en sus niveles extremos, con los restantes factores de su nivel central.

El punto central es un solo ensayo en el nivel medio de cada factor con el propósito de estimar el nivel experimental se repitió el nivel central dos veces durante el experimento. Para obtener estos resultados se introdujo los datos al software STHAT GRAPHICS CENTRION 16.1 en español.

### 3.5.3. Identificación de variables de respuesta

Las variables de respuesta para el presente trabajo de investigación fueron:

- ✓ Módulo de la Elasticidad
- ✓ Fuerza de Tensión
- ✓ Elongación a la rotura
- ✓ Color
- ✓ Capacidad Antimicrobiana

Tomando en consideración que tuvo que determinarse primero el espesor de las películas en milímetros de los diferentes muestras necesaria para medir las propiedades mecánicas.

## CAPITULO IV: RESULTADOS Y DISCUSIONES

En este capítulo se analizan y discuten los resultados obtenidos de la evaluación de las películas elaboradas a base de nanocompositos de acetato de celulosa y Cloisite 30B con la incorporación de un antimicrobiano (aceite esencial de muña). Las películas fueron evaluadas mediante Espectroscopia Infrarroja de Transformada por Fourier (FTIR), propiedades mecánicas (elasticidad, tensión, elongación), ópticas y Actividad antimicrobiana.

### 4.1. Evaluación estructural química por FTIR

En la Figura 13, se muestra el espectro de IR obtenido para el aceite esencial de muña, en el que se puede apreciar las bandas características de la misma, en comparación con los espectros IR obtenidos de las películas eco-amigables. En todos los tratamientos en estudio se observa una estructura similar al comparar el espectro de la película en blanco (control) con los tratamientos, no se observan picos correspondientes a la presencia de los principales componentes químicos de la mentóna, pulegona y el carvacrol según (Carvajal, 1986). Este hecho es justificable ya que probablemente la cantidad de aceite esencial incorporado en las películas eco amigables fue muy pequeña y sus picos fueron enmascarados y/o sobrelapados. Sin embargo los espectros de FTIR del aceite esencial de muña muestran algunas diferencias al comparar con los tratamientos en estudio en las bandas de vibración entre  $500 - 1500 \text{ cm}^{-1}$ . Se observó un cambio de banda a una longitud de banda  $\sim 1680$  asociadas al estiramiento de  $\text{C}=\text{O}$ , y la longitud de  $\sim 1458 \text{ cm}^{-1}$  indica la presencia de anillo aromático y también según las longitudes de bandas  $535$  a  $1128 \text{ cm}^{-1}$  estas se deben a la presencia de enlaces metilénicos y alcoholes primarios, secundarios y terciarios.

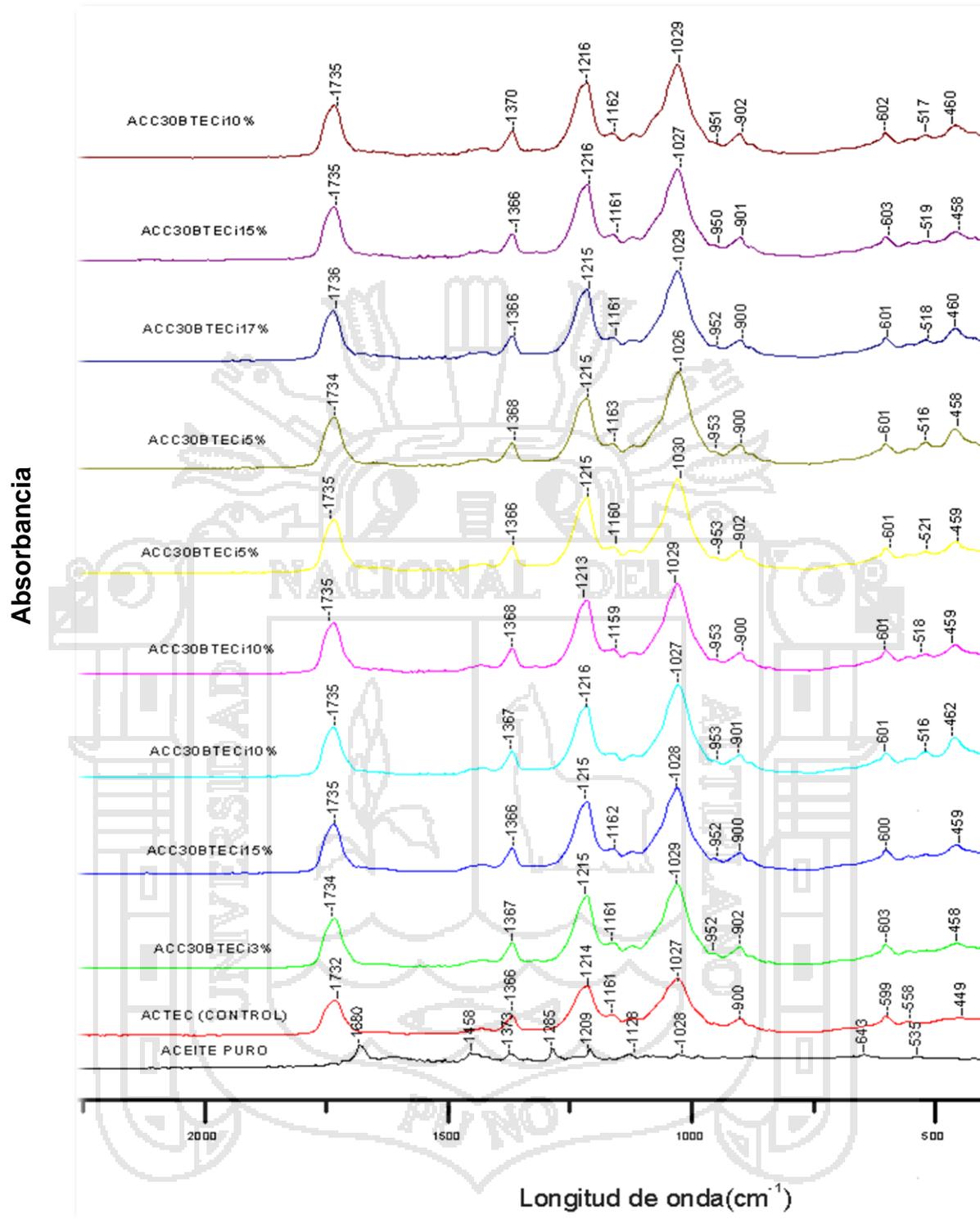


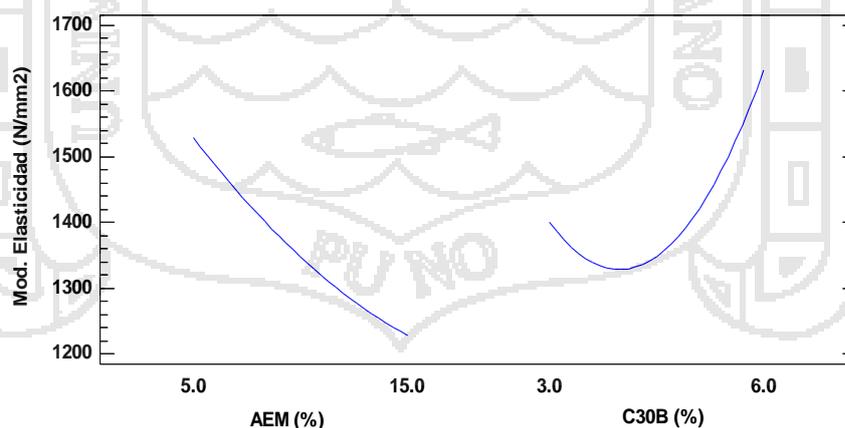
Figura 13. COMPARACION DE ESPECTRO FTIR DE LOS TRATAMIENTOS EN ESTUDIO Y EL ACEITE ESENCIAL DE MUÑA.

## 4.2. Determinación de Propiedades mecánicas

Los resultados de los ensayos tracción - deformación (propiedades mecánicas) de las películas eco - amigas elaboradas, se presentan en la Tabla 8.

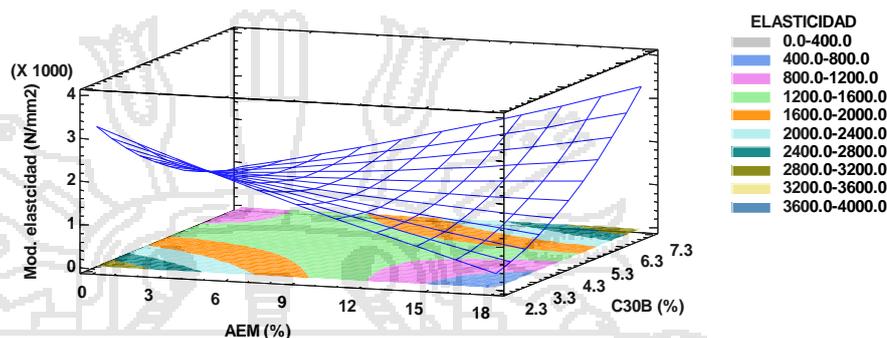
### 4.2.1 Efectos de la concentración aceite esencial de muña; AEM (%) y Cloisite 30B; C30B (%) en el módulo de elasticidad ( $N/mm^2$ ) de las películas eco - amigas

En la Fig. 14. Se presenta la representación gráfica del concentración de aceite esencial de muña y contenido de cloisite 30B en el módulo de elasticidad, en donde se observa que a medida que aumenta la concentración de aceite esencial de muña el módulo de elasticidad disminuye, mientras con el incremento del contenido de cloisite 30B, el módulo de elasticidad disminuye y luego aumenta. Estos valores son similares a lo reportado por (Rodriguez y col., 2012). Esto puede ser atribuido a que las moléculas de Cloisite 30B producen un efecto plastificante. De acuerdo a los análisis de varianza realizado en el anexo - 3 el contenido de aceite esencial de muña no afecta significativamente ( $p < 0,05$ ) en el módulo de elasticidad a sí mismo el contenido de cloisite 30B afecta significativamente.



**Figura 14.** Gráfica de efectos principales para el módulo de elasticidad.

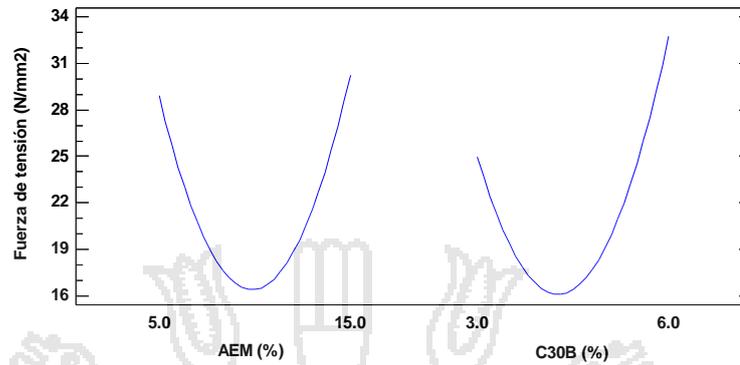
En la Fig. 15 observamos el comportamiento del contenido de cloisite 30B (C30B) y las concentraciones de aceite esencial de muña (AEM) con respecto al módulo de elasticidad, en el cual observamos un decrecimiento gradual con respecto al Cloisite 30B, sin embargo con respecto al aceite esencial se observa un comportamiento gradual de la elasticidad.



**Figura 15.** Estimación de superficie de respuesta del módulo de elasticidad.

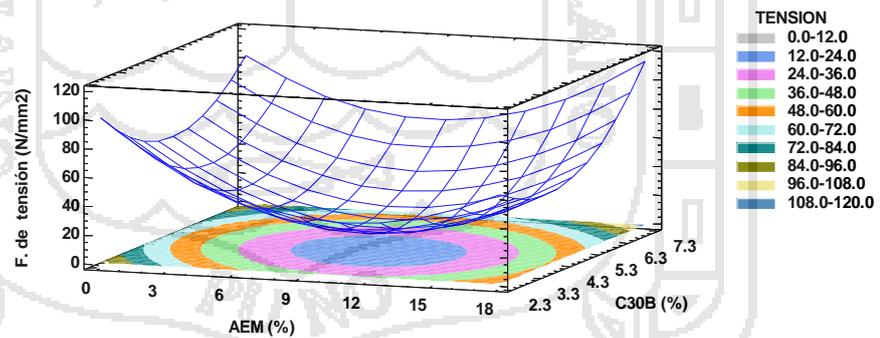
#### 4.2.2 Efectos de la concentración aceite esencial de muña; AEM (%) y Cloisite 30B; C30B (%) en la fuerza de tensión (N/mm<sup>2</sup>) de las películas eco - amigables

En la Fig. 16. Se presenta la representación gráfica del concentración de aceite esencial de muña y contenido de cloisite 30B en la fuerza de tensión, en donde se observa que a medida que aumenta la concentración de aceite esencial de muña fuerza de tensión disminuye y luego aumenta, mientras con el incremento del contenido de cloisite 30B, la fuerza de tensión disminuye y luego aumenta. Estos valores tienen similitud a lo reportado por (Rodríguez y col., 2012). Esto puede ser atribuido a que las moléculas de Cloisite 30B y aceite esencial producen un efecto de elástico y plástico. De acuerdo a los análisis de varianza realizado en el anexo – 3 el contenido de aceite esencial de muña afecta significativamente ( $p < 0,05$ ) en la fuerza de tensión a sí mismo el contenido de cloisite 30B afecta significativamente.



**Figura 16.** Gráfica de efectos principales para la fuerza tensión.

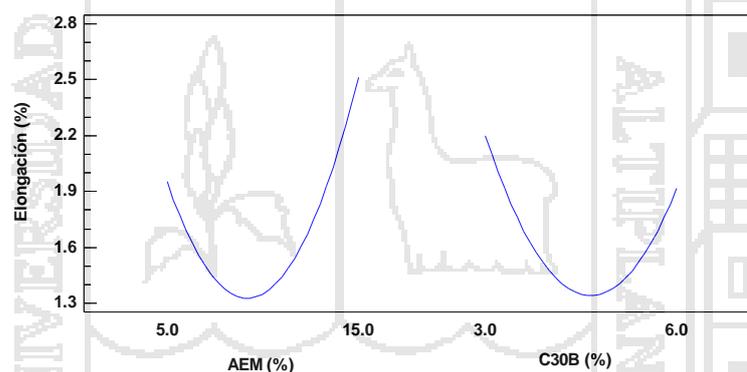
En la Fig. 17 observamos el comportamiento del contenido de cloisite 30B (C30B) y las concentraciones de aceite esencial de muña (AEM) con respecto al módulo de elasticidad, en el cual observamos un decrecimiento y crecimiento gradual con respecto al Cloisite 30B, sin embargo con respecto al aceite esencial se observa un comportamiento decrecimiento y luego de crecimiento gradual de la tensión.



**Figura 17.** Estimación de superficie de respuesta de la fuerza de tensión.

#### 4.2.3. Efectos de la concentración aceite esencial de muña; AEM (%) y Cloisite 30B; C30B (%) en la elongación a la rotura (%) de las películas eco - amigables

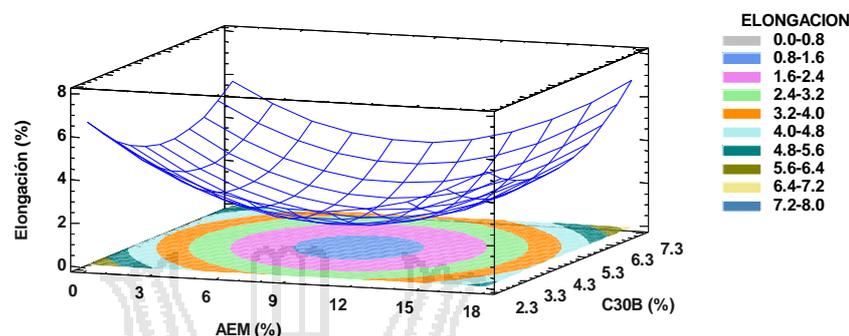
En la Fig. 18. Se presenta la representación gráfica del concentración de aceite esencial de muña y contenido de cloisite 30B en la elongación a la rotura, en donde se observa que a medida que aumenta la concentración de aceite esencial de muña elongación a la rotura disminuye y luego aumenta considerablemente, mientras con el incremento del contenido de cloisite 30B, la elongación a la rotura disminuye y luego aumenta ligeramente. Estos valores tienen similitud a lo reportado (Rodriguez y col., 2012). Y esto puede ser causado a que las moléculas de aceite esencial producen un efecto elástico. De acuerdo a los análisis de varianza realizado en el anexo – 3 el contenido de aceite esencial de muña afecta significativamente ( $p < 0,05$ ) en el elongación a la rotura a sí mismo el contenido de cloisite 30B tiene un efecto



significativo.

**Figura 18.** Gráfica de efectos principales para la elongación a la rotura.

En la Fig. 19, observamos el comportamiento de las concentraciones del antimicrobiano y las concentraciones de la arcilla C30B con respecto a la elongación a la rotura, en el cual observamos un decrecimiento e incremento de la elongación con respecto de la cloisite 30B, sin embargo con respecto a la concentración de antimicrobiano se observa decrecimiento e incremento más bajo.



**Figura 19.** Estimación de superficie de respuesta de la elongación a la rotura.

Las propiedades mecánicas de los nanocompuestos obtenidos por el proceso de casting que se muestran en la Tabla 8. El análisis comparativo de las diferentes películas permite observar diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0,05$ ) entre los nanocompuestos con o sin agentes activos. El módulo de elasticidad es una medida de la rigidez de las películas, mientras que el porcentaje de elongación indica la flexibilidad y la capacidad de elongación de las películas. En general, el esfuerzo de tensión se incrementó y el porcentaje de elongación disminuyó cuando se incorporaron los compuestos activos en comparación con la película (control). Este efecto es más pronunciado en el caso de las películas que contienen más concentración de antimicrobiana. La incorporación de los compuestos activos aumentó la rigidez de las películas debido a la interacción interfacial entre la superficie de los compuestos activos y el polímero lo que produce el incremento de módulo de elasticidad y la fuerza de tensión mientras el porcentaje de elongación disminuye.

Según (Bustamente & Koscina, 2013), Los resultados mostraron un comportamiento claro respecto a la adición de distintos aditivos sobre las propiedades mecánicas del acetato de celulosa. Esto podría ser explicado de acuerdo a la técnica empleada en la preparación de las películas dado que no existe una superficie homogénea en la totalidad de éstas, además se suma a ello la naturaleza hidrofílica que le otorga el derivado de celulosa.

Así, se procedió a realizar un proceso de acondicionamiento previo sobre las películas el cual consistió en exponerla a una humedad relativa de 50% y a una temperatura de 27 °C durante 48 horas.

Analizando estadísticamente los valores en comparación con el análisis sin acondicionamiento, se observa que en los tres parámetros analizados, existen menores diferencias significativas entre ellos, lo cual indica que la técnica de acondicionamiento arroja resultados más confiables.

Lo anterior deja en evidencia la importancia de un acondicionamiento previo para estandarizar un ensayo, lo cual sería la solución a las anomalías presentadas en los resultados anteriores y futuros estudios.

**Tabla 8.** Espesor y las propiedades mecánicas de las películas de eco - amigables obtenidas mediante el proceso de Casting con acondicionamiento.

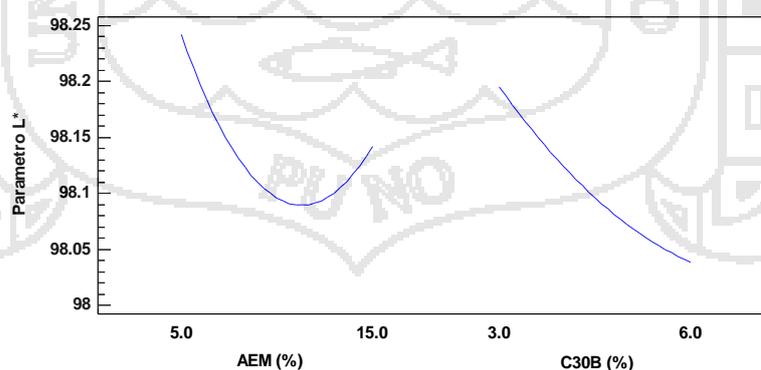
N°	Tratamientos (Películas)	Espesor ( $\mu\text{m}$ )	Módulo de Elasticidad ( $\text{N}/\text{mm}^2$ )	Fuerza de tensión ( $\text{N}/\text{mm}^2$ )	Elongación a la rotura (%)
1	AC-C30B4.5%-TEC-AM2.93%	56,7 $\pm$ 5,2	1353,7 $\pm$ 24,9	34,61 $\pm$ 4,4	2,5 $\pm$ 0,4
2	AC-C30B6%-TEC-AM15%	33,3 $\pm$ 5,2	2673,7 $\pm$ 43,3	60,05 $\pm$ 6,1	3,2 $\pm$ 0,6
3	AC-C30B6.62%-TEC-AM10%	53,3 $\pm$ 8,2	1143,0 $\pm$ 53,6	35,39 $\pm$ 4,9	2,4 $\pm$ 0,0
4	AC-C30B2.38%-TEC-AM10%	55,0 $\pm$ 5,5	1388,0 $\pm$ 58,5	34,36 $\pm$ 9,0	3,2 $\pm$ 1,0
5	AC-C30B3%-TEC-AM5%	51,7 $\pm$ 4,1	2128,0 $\pm$ 93,0	44,92 $\pm$ 5,6	3,0 $\pm$ 0,3
6	AC-C30B6%-TEC-AM5%	53,3 $\pm$ 5,2	1893,0 $\pm$ 76,6	51,57 $\pm$ 34,1	2,6 $\pm$ 0,3
7	AC-C30B4.5%-TEC-AM17.07%	55,0 $\pm$ 8,4	630,0 $\pm$ 87,4	38,01 $\pm$ 3,6	3,8 $\pm$ 1,0
8	AC-C30B3%-TEC-AM15%	53,3 $\pm$ 5,2	1164,0 $\pm$ 84,4	37,06 $\pm$ 4,1	2,8 $\pm$ 0,4
9	AC-C30B4.5%-TEC-AM10%	53,3 $\pm$ 8,2	1368,4 $\pm$ 19,6	17,32 $\pm$ 1,9	1,7 $\pm$ 0,6
10	AC-TEC	53,3 $\pm$ 8,2	1328 $\pm$ 0,4	15,54 $\pm$ 9,3	1,0 $\pm$ 0,6
11	AC-TEC	45 $\pm$ 8,4	1320,9 $\pm$ 82,5	43,94 $\pm$ 7,2	3,1 $\pm$ 0,5

### 4.3. Propiedades Ópticas de las películas eco – amigables

El parámetro de color L proporciona una medida de claridad de las películas, sus valores van de 0 a 100, que designan a la transición de color de negro a blanco. El valor positivo del parámetro  $a^*$  es una medida de la tonalidad hacia el rojo, y los valores negativo del parámetro  $a^*$  tonalidades hacia el verde. A valores positivos del parámetro  $b^*$  indica películas con tonalidades hacia el amarillo, y los valores negativo del parámetro  $b^*$  tonalidades hacia el azul. El índice de amarillamiento o blancura (WI) combina tres parámetros de color, sus valores oscilan de 0 a 100, cuanto menor sea el valor combinado, menor es la blancura de las películas.

#### 4.3.1 Efecto de la concentración de aceite esencial de muña, AEM (%) y Cloisite 30B, C30B (%), en el parámetro L de las películas eco – amigables.

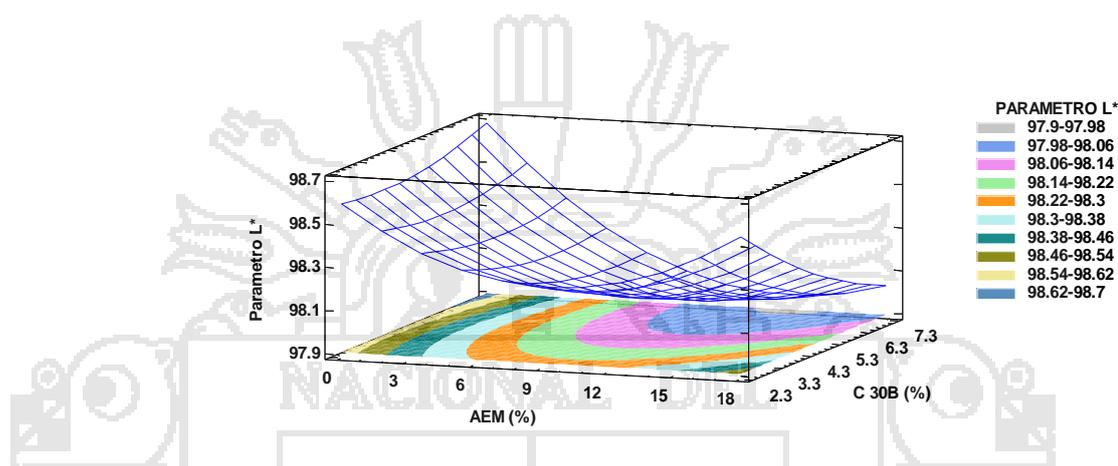
En la Fig. 20. Se presenta la representación gráfica del concentración de aceite esencial de muña y contenido de cloisite 30B en el parametro  $L^*$ , en donde se observa que a medida que aumenta la concentración de aceite esencial de muña el parámetro  $L^*$  disminuye y luego aumenta ligeramente, mientras con el incremento del contenido de cloisite 30B, la el parámetro  $L^*$  disminuye. Esto puede ser causado ya que el cloisite 30B es una arcilla de color oscuro. De acuerdo a los análisis de varianza realizado en el anexo – 4 el contenido de aceite esencial de muña afecta significativamente ( $p < 0,05$ ) en el parámetro  $L^*$  a sí mismo el contenido de cloisite



30B tiene un efecto significativo.

**Figura 20.** Grafica de efectos principales para el parámetro  $L^*$ .

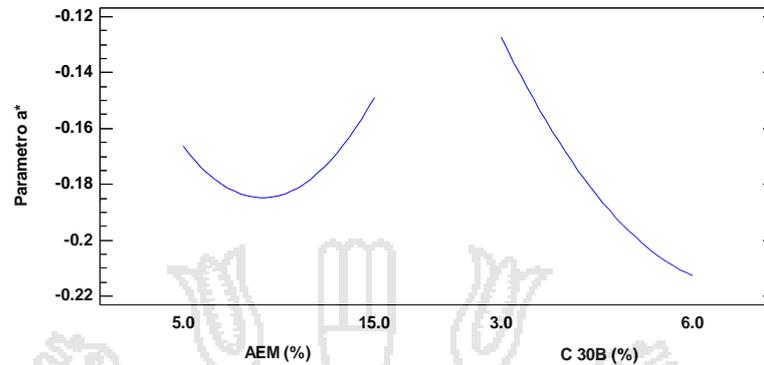
En la Fig. 21, observamos el comportamiento de las concentraciones de antimicrobiano y el contenido del Cloisite 30B con respecto al parámetro  $L^*$ , en el cual observamos un decrecimiento gradual y constante de la con respecto al cloisite 30B, sin embargo con respecto a la concentración de antimicrobiano se observa decrecimiento y luego un incremento del mismo.



**Figura 21.** Estimación de superficie de respuesta del Parámetro  $L^*$ .

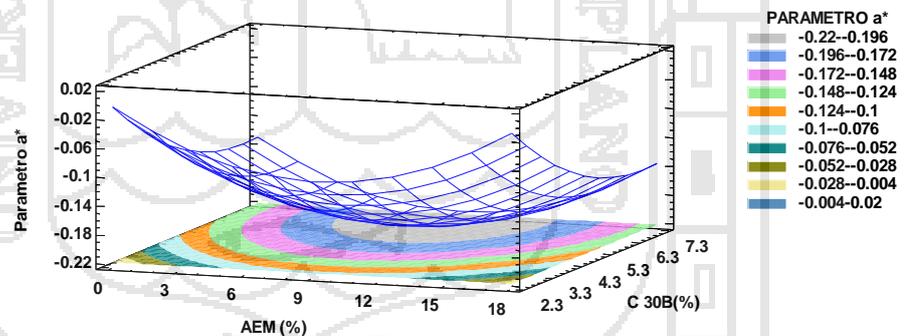
#### 4.3.2. Efecto de la concentración aceite esencial de muña, (AEM) y Cloisite 30B (C30B) en el parámetro $a^*$ de las películas eco – amigas

En la Fig. 20. Se presenta la representación gráfica del concentración de aceite esencial de muña y contenido de cloisite 30B en el parámetro  $a^*$ , en donde se observa que a medida que aumenta la concentración de aceite esencial de muña el parámetro  $a^*$  disminuye y luego aumenta ligeramente, mientras con el incremento del contenido de cloisite 30B, la el parámetro  $a^*$  disminuye. Esto es atribuido a que el color del aceite esencial de muña es amarillo claro. También concuerda con lo reportado por (Palacios, 2006) De acuerdo a los análisis de varianza realizado en el anexo – 4 el contenido de aceite esencial de muña afecta significativamente ( $p < 0,05$ ) en el parámetro  $a^*$  a sí mismo el contenido de cloisite 30B tiene un efecto significativo.



**Figura 22.** Grafica de Efectos principales para el Parámetro a\*

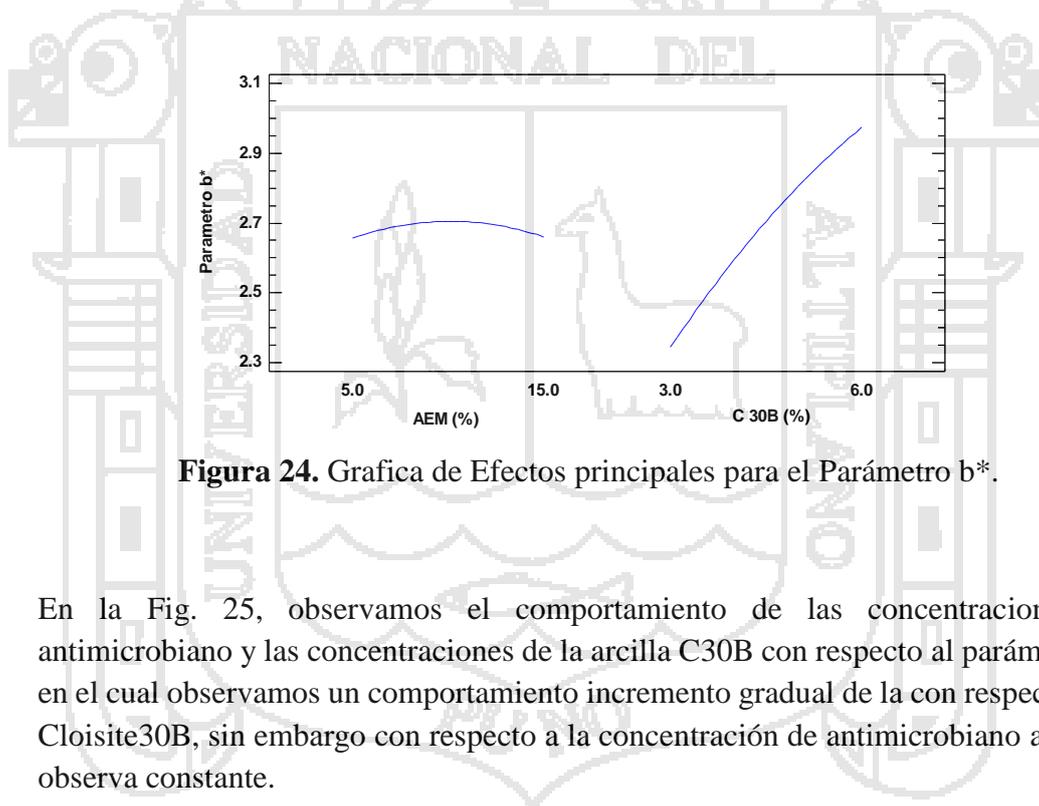
En la fig. 23, observamos el comportamiento de las concentraciones del antimicrobiano y las concentraciones de Cloisite 30B con respecto al parámetro a\*, en el cual observamos un decrecimiento de la con respecto de la arcilla C30B, sin embargo con respecto a la concentración de antimicrobiano se observa un ligero incremento.



**Figura 23.** Estimación de superficie de respuesta del Parámetro a\*.

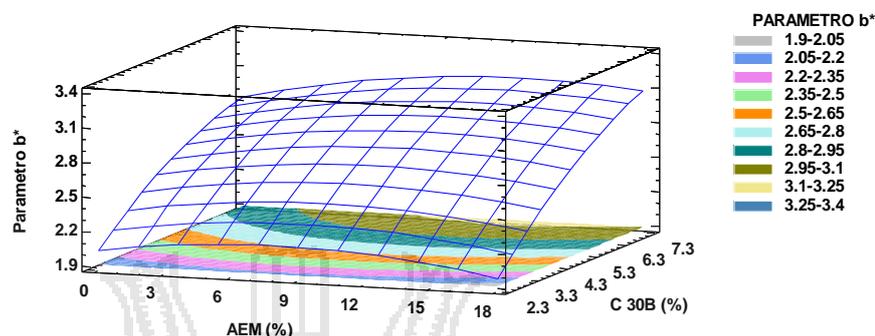
### 4.3.3 Efecto de la concentración aceite esencial de muña (AEM) y Cloisite 30B (C30B) en el parámetro $b^*$ de las películas eco - amigables

En la Fig. 24. Se presenta la representación gráfica del concentración de aceite esencial de muña y contenido de cloisite 30B en el parametro  $b^*$ , en donde se observa que a medida que aumenta la concentración de aceite esencial de muña el parámetro  $b^*$  se mantiene constante, mientras con el incremento del contenido de cloisite 30B, el parámetro  $b^*$  aumenta. Esto puede ser causado ya que el cloisite 30B es oscuro y el color del aceite esencial es claro. De acuerdo a los análisis de varianza realizado en el anexo – 4 el contenido de aceite esencial de muña afecta significativamente ( $p < 0,05$ ) en el parámetro  $b^*$  a sí mismo el contenido de cloisite 30B tiene un efecto altamente significativo.



**Figura 24.** Grafica de Efectos principales para el Parámetro  $b^*$ .

En la Fig. 25, observamos el comportamiento de las concentraciones del antimicrobiano y las concentraciones de la arcilla C30B con respecto al parámetro  $b^*$ , en el cual observamos un comportamiento incremento gradual de la con respecto de la Cloisite30B, sin embargo con respecto a la concentración de antimicrobiano aceite se observa constante.



**Figura 25.** Estimación de superficie de respuesta del Parámetro  $b^*$ .

Las propiedades ópticas de las películas de las películas eco-amigables y los nanocompuestos obtenidos mediante el proceso casting se muestran en la Tabla 9.

En general, las películas eco - amigables con diferentes concentraciones de antimicrobiano y arcilla modificada (cloisite 30B modificada con sales de amonio) muestran diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0,05$ ) en cuanto a las propiedades ópticas del material obtenido, observándose mayor incidencia cuando fue incorporado el antimicrobiano y la arcilla modificada con nanopartículas, lo cual es esperable debido a que, la arcilla modificada con nanopartículas tiene una coloración oscura, por su características del material. Por otra parte, las películas con diferentes contenidos de antimicrobiano, muestran diferencias significativas ( $p < 0,05$ ). Las películas control son transparentes, pero al agregar el antimicrobiano se observa una disminución de la transparencia, como consecuencia de un incremento en la opacidad respecto al Control, debido a la dispersión incompleta del antimicrobiano en la estructura de la matriz polimérica.

En este caso las películas antimicrobianas con mayor contenido de arcilla modificada se observa que con el aumento de la concentración de arcilla, los parámetros de color de las muestras cambian de blanco a oscuro, de verde a rojo y de azul a amarillo para los valores de  $L$ ,  $a^*$  y  $b^*$  respectivamente.

**Tabla 9.** Propiedades ópticas de las películas eco - amigables obtenidas por el proceso de Casting.

N°	Tratamientos	L	a*	b*	ΔE	Índice de amarillamiento	Opacidad
1	AC-C30B4.5%-TEC-AM2.93%	98,2 ± 0,4	-0,15 ± 0,0	2,7 ± 0,1	0,3 ± 0,2	97,4 ± 0,3	2,042 ± 0,2
2	AC-C30B6%-TEC-AM15%	98,1 ± 0,2	-0,20 ± 0,0	3,0 ± 0,1	0,3 ± 0,1	96,5 ± 0,1	2,935 ± 0,5
3	AC-C30B6.62%-TEC-AM10%	97,9 ± 0,5	-0,20 ± 0,1	3,1 ± 0,3	0,6 ± 0,5	96,2 ± 0,5	3,021 ± 0,6
4	AC-C30B2.38%-TEC-AM10%	98,2 ± 0,2	-0,10 ± 0,0	2,1 ± 0,1	0,6 ± 0,1	97,2 ± 0,2	2,054 ± 0,3
5	AC-C30B3%-TEC-AM5%	98,4 ± 0,3	-0,10 ± 0,0	2,3 ± 0,0	0,4 ± 0,1	97,1 ± 0,1	2,319 ± 0,5
6	AC-C30B6%-TEC-AM5%	98,6 ± 0,3	-0,20 ± 0,0	2,8 ± 0,0	0,3 ± 0,1	96,7 ± 0,1	2,740 ± 0,4
7	AC-C30B4.5%-TEC-AM17.07%	98,2 ± 0,4	-0,10 ± 0,0	2,5 ± 0,1	0,4 ± 0,2	96,9 ± 0,3	2,951 ± 0,3
8	AC-C30B3%-TEC-AM15%	98,3 ± 0,1	-0,10 ± 0,0	2,4 ± 0,1	0,3 ± 0,1	97,0 ± 0,2	2,741 ± 0,5
9	AC-C30B4.5%-TEC-AM10%	98,1 ± 0,0	-0,2 ± 0,0	2,7 ± 0,1	0,1 ± 0,1	96,7 ± 0,1	2,014 ± 1,2
10	AC-TEC	98,1 ± 0,0	-0,2 ± 0,0	2,8 ± 0,0	0,2 ± 0,0	96,6 ± 0,0	0,834 ± 0,1
11	AC-TEC	98,6 ± 0,2	0,0 ± 0,0	2,0 ± 0,0	0,9 ± 0,1	97,6 ± 0,1	0,998 ± 0,1

Con el aumento de la concentración de antimicrobiano los parámetros  $L^*$  y  $b^*$  cambian más en comparación con los valores de  $a^*$ . La incorporación de los compuestos activos ocasiona asimismo una disminución en la diferencia de color ( $\Delta E$ ) y un aumento en el índice de amarillamiento (WI) indicando un oscurecimiento de las películas obtenidas respecto a la película control, este efecto es mayor cuando se agrega mayor cantidad, siendo más significativo cuando se agrega la arcilla modificada con nanopartículas y antimicrobiano.

Una variación de los valores  $\Delta E$  de  $\pm 0,5$  es capaz de ser reconocido por el panel sensorial como diferente en cuanto al color, siendo mucho más importante cuando la  $\Delta E$  es mayor de  $\pm 2,0$  (Bruna y Col., 2012).

#### 4.4. Determinación de la susceptibilidad microbiana y actividad antimicrobiana.

En la tabla 10, se muestra el volumen obtenido a partir de hojas secas de muña previo tratamiento a la extracción del aceite esencial mediante la técnica de Arrastre de Vapor.

**Tabla 10. Volumen obtenido de Aceite esencial de Muña**

Cantidad de hojas sometidas a Hidrodestilación	Volumen
<b>5000 gr</b>	80 ml

Los aceites esenciales son tradicionalmente obtenidos por destilación con vapor o hidrodestilación. Estos procesos son realizados a temperaturas muy altas y pueden conducir a la degradación de los compuestos termolábiles, resultando la formación de compuestos indeseables y desagradables. Además que pueden tener una composición heterogénea. Aceites de superior calidad, libres de productos degradados por hidrolisis y degradación térmica; pueden ser aislados usando dióxido de carbono de carbono supercrítico ( $SC-CO_2$ ) como solvente. (Bocevaska & Sovová, 2007). Debido a que la extracción con dióxido de carbono supercrítico puede ser llevado a cabo a bajas temperaturas (cerca de 313 K), se preservan las propiedades y composición original del aceite (Zizovic y Col, 2005). La extracción del aceite esencial de *M. spicata* en el

presente estudio, se realizó por medio de la hidrodestilación y se obtuvo una mediana cantidad a partir de las hojas secas (Tabla 10) y con un rendimiento de 0.80%, esto es posible porque como se mencionó anteriormente, esta técnica se hace a temperaturas muy altas y la volatilización de los componentes del aceite se hace mucho más fácil. Lo anterior hizo que la evaluación de la actividad antimicrobiana fuera limitada y dependiera de la cantidad de aceite.

En las tablas 11 y 12 se muestran la comparación de los mejores tratamientos con el aceite esencial de muña además con la película control y muestra los datos obtenidos de la actividad antimicrobiana y susceptibilidad respectivamente del aceite esencial de muña frente a las bacterias *E. coli* y *L. innocua*.

**Tabla 11. Actividad antimicrobiana del aceite esencial de muña (zona de inhibición en mm).**

		<i>Tamaño del halo (mm)</i>				
<b>Cepas Bacterianas</b>		<b>Repli ca 1</b>	<b>Repli ca 2</b>	<b>Repli ca 3</b>	<b>Promedio</b>	<b>CMI (µg/ml)</b>
<i>Echerichia coli</i>	<b>ACEITE ESENCIAL</b>	18	15	17	17	8
	<b>AC-C30B3%-TEC-AM15%</b>	9	11	10	10	4.7
	<b>AC-C30B6%-TEC-AM15%</b>	11	10	8	9.7	4.5
	<b>PELICULA CONTROL</b>	5	5	5	5	2.4
<i>Listeria innocua</i>	<b>ACEITE ESENCIAL</b>	40	45	25	36	16.9
	<b>AC-C30B3%-TEC-AM15%</b>	17	13	15	15	7
	<b>AC-C30B6%-TEC-AM15%</b>	16	17	13	15	7
	<b>PELICULA CONTROL</b>	5	6	5	5	2.4

Tamaño del halo: Diámetro del halo + disco - diámetro del disco (0.6mm)

**Tabla 12. Susceptibilidad de las cepas evaluadas a los tratamientos frente a las películas eco-amigables con aceite esencial de muña**

Disco	<i>Echerichia coli</i>	<i>Listeria innocua</i>
ACEITE ESENCIAL	S	S
AC-C30B3%-TEC-AM15%	R	S
AC-C30B6%-TEC-AM15%	R	S
PELICULA CONTROL	R	R

**S:** Cuando la CMI del antimicrobiano para una bacteria se puede conseguir in vivo a dosis terapéuticas.

**R:** Cuando el microorganismo no es inhibido por las concentraciones que normalmente se pueden obtener en el sitio de infección.

**I:** Cuando las bacterias no se inhiben a concentraciones normales, pero pueden inhibirse a concentraciones más altas sin resultar tóxicas.

Para evidenciar la actividad antimicrobiana de aceite esencial de la planta, el cual si mostró actividad y tubo inhibición en la *Listeria innocua* como se demuestra (Tabla 11) pues hubo presencia de halos de las cepas analizadas, mostrando sensibilidad de estos microorganismos al aceite con concentración utilizado para *L. innocua* y *E. coli*.

El presente estudio no tenía como objetivo determinar la composición del aceite esencial de muña (*M. spicata*), por tanto se tomaron como base datos obtenidos en estudios anteriores acerca de los principales componentes presentes. (Palacios, 2006), reportaron que el aceite contiene principalmente mentona 1.030%, pulegona 98.007% y carvacrol entre otros. De estos el carvacrol ha sido muy estudiado por su potencial actividad antimicrobiana y antifúngica frente a distintos microorganismos. La inhibición del crecimiento de muchos patógenos por el carvacrol, ha sido reportada en varios artículos, sin embargo no se ha definido el mecanismo de acción de este.

La ausencia efectiva de actividad antimicrobiana es porque en el aceite esencial obtenido en el presente estudio, no contiene o es reducida la cantidad de carvacrol dentro de sus componentes, siendo este el componente con mayor actividad antimicrobiana reportado. Es probable que lo anterior se haya dado porque la composición química del aceite obtenido de la planta puede variar según las condiciones de crecimiento geográficas, geológicas, climáticas y estacionales de la planta, por lo tanto sus características o propiedades antimicrobianas pueden variar (Chica y Col., 2006).

Ahora bien, al comparar la resistencia de las bacterias utilizadas a los antimicrobianos, se puede apreciar que *L. innocua* fue más susceptible que *E. coli* lo cual coincide con trabajos reportados por otros autores (Huarpaz y col., 2003; Marino y col., 2001; Pintore y col., 2002). Las diferencias podrían ser explicadas en base a la estructura de la membrana externa de las gram negativas, la cual podría restringir la difusión de compuestos hidrofobicos. Sin embargo, los derivados de aceites esenciales como cinamaldehido, timol, carvacrol, entre otros, son capaces de desintegrar la membrana externa de la bacteria gram negativas, liberando los lipopolisacaridos, lo que aumentaría la permeabilidad del ATP en la membrana citoplasmática. Lo anterior, implica que se debe incorporar una mayor concentración del agente antimicrobiano derivado de aceite esenciales. En este estudio se encontró que para *E. coli* que los rangos de concentraciones inhibitorias fluctuaron 4.5 - 4.7  $\mu\text{g/ml}$  y para *L. innocua* 6 - 7  $\mu\text{g/ml}$ , lo cual demostró una mayor susceptibilidad de las gram positivas frente a la acción antimicrobiana de los aceites esenciales. En este mismo contexto (Vukovic y col., 2007) comprobaron que los compuestos fenólicos lipofilicos, tales como el timol y carvacrol, alteran la permeabilidad de la célula microbiana causando la muerte celular.

## CAPÍTULO V: CONCLUSIONES

- La concentración de aceite esencial de muña y el contenido de cloisite 30B no afectaron en las propiedades químicas de acuerdo a los análisis de FTIR, sin aparición de nuevas bandas ni desplazamientos de los mismos, sin embargo fueron afectados el módulo de elasticidad, el esfuerzo de tensión y el porcentaje de elongación. Además se estableció la necesidad de realizar un acondicionamiento de las películas como etapa previa a la determinación de las propiedades mecánicas. En cuanto al color fue observado que se afectaron significativamente en las películas de nanocompositos con concentraciones de antimicrobiano. Según esto, la presencia de arcilla y antimicrobiano ocasionan variaciones en el color de las películas que explican los cambios en el proceso de coloración.
- El Antimicrobiano mostró su actividad frente a *E. coli* y *L. innocua* así se logró determinar la mayor susceptibilidad en la película frente a *L. innocua* por su parte, en el caso de *E. coli*, solo se obtuvo una reducción del área de crecimiento a partir del agente antimicrobiano. En base a los puntos anteriores, es posible indicar que la inclusión de aceite esencial de muña en el proceso de elaboración de las películas, permitió contar con un material con capacidad antimicrobiana y a su vez, mejorar sus propiedades ópticas – mecánicas en relación a una película sin la adición de nanorellenos y antimicrobiano.

## RECOMENDACIONES

Tomando en cuenta esta mejora se recomienda, la utilización de esta película dentro de la industria alimentaria para el envasado primario, sin embargo, esta afirmación sólo es posible atribuirle a productos que posean una baja actividad de agua, dado a que en el estudio sólo se analizaron los nanocompositos en presencia de microorganismos que crecen bajo esta condición. A su vez, considerando la acción antimicrobiana encontrada es factible la utilización de esta película en otras áreas en las cuales haya un contacto directo con un producto susceptible a la contaminación, ya sea de hongos o levaduras.

Se recomienda el estudio y/o aplicación del envase activo y antimicrobiano elaborado, por influir de manera positiva en la conservación de los productos.

Se recomienda el estudio e investigación de las propiedades de arcilla del chaco para envases activos, y otros insumos de la región para elaboración de envases activos e inteligentes.

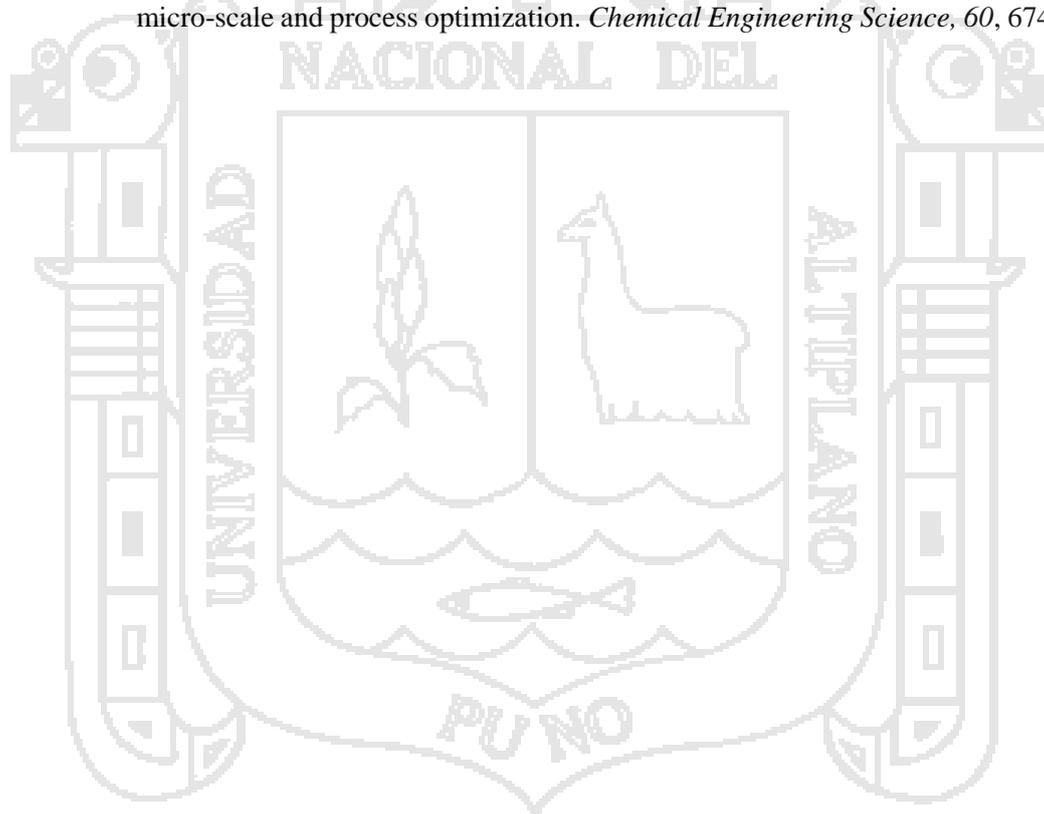
## REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- Alkire, B. H., Tucker, A. O., & Maciarello, M. J. (1994). Tipo, *Minthostachys spicata* (Lamicea). In A. E. Mint. (Ed.), *Economic Botany*, vol. 80).
- Alvarado, J. (2005). Permeabilidad al Vapor de Agua de Películas Biodegradables de Quitosano Obtenidos de Caparazones de Camarón. *Ciencia y Tecnología*, 17-18.
- Asipla. (2010). Envases y Embalajes. In). Asociación Gremial de Industriales del Plástico.
- Azeredo, H. D. (2009). Nanocomposites for food packaging applications. *Review. Food Reseach International*, 42, 1240 – 1253.
- Bermudez, M. (2009). *Uso industrial de plantas Aromáticas medicinales* Unpublished ingeniería, Universidad Politécnica de Madrid.
- Betega de Paiva, L., Rita, A., & Valenzuela, F. (2008). Organoclays: properties, preparation and applications. *Applied clay science*, 42, 8-24.
- Bocevsk, M., & Sovová, H. (2007). Supercritical CO<sub>2</sub> Extraction of Essential Oil from Yarrow *Supercritical Fluids*, 40, 360-367.
- Bonzanini, R., Alberto, C., Leite, P., & Goncalves, M. (2009). The effect of the solvent on the morphology of cellulose acetate/montmorillonite nanocomposites. *Polymer*, 50, 161 – 170.
- Brijesh, K., Tiwari, Vasilis, P., Valdramidis, Colm, P., O'donnell, Muthukamarappan, K., Bourke, P., & Cullen, P. J. (2009). Application of natural antimicrobials for food preservation. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 57, 5987 – 6000.
- Bruna, J. E., Peñalosa, A., Guarda, A., Rodríguez, F., & Galotto, M. J. (2012). Development of MtCu<sub>2</sub>/LDPE nanocomposites with antimicrobial activity for potential use in food packaging. *Applied clay science*, 58, 79–87.
- Burt, S. (2004). Essential Oils: Their antibacterial properties and potential applications in foods. A review. *International Journal of Food Microbiology*, 94, 223-253.
- Burt, S. (2007). *Antibacterial activity of essential oils: potencial applications in food*. Institute for risk assessment sciences. Utrecht University, Division of Veterinary Public Health.
- Bustamente, D., & Koscina, S. (2013). *Elaboracion de Películas Biodegradables Basadas En Nanocompositos de Acetato De Celulosa y Un Aceites Esenciales*. Universidad de Santiago de Chile.
- Callister, W. (1995). Introducción a la ciencia y tecnología de los materiales In Reverte (Ed.): Barcelona.
- Carbajal, Q. H. (1986). *Efecto del Soporte en la Actividad catalítica de Pt/Zeolita*. Iztapalapa: Tesis de Maestro en Química. Universidad Autónoma Metropolitana.
- Catalá, R., Almenar, E., & Gavara, R. (2007). Innovations and trends in fruit and vegetable packaging (innovaciones y tendencias en el envasado de frutas y hortalizas. *5th Congreso Iberoamericano de Tecnología Postcosecha y Agroexportaciones, Proceso: Resumen #S9 0220. pp.* (Murcia, España.), 1541 – 1548.
- Catalá, R., & Gavara, R. (2001). Nuevos envases. de la protección pasiva a la defensa activa de los alimentos envasados. *Arbor CLXVIII*, 661, 109-127.
- Cha, D., & Chinnan, M. (2004). Biopolymer-based antimicrobial packaging. a review. *Crit. Rev. Food Science Nutritional*, 44, 223 – 237.
- Chica, N., Melgarejo, L., Sanchez, J., & Carrascal, A. (2006). Actividad Antimicrobiana del Aceite esencial de *Minthotachys mollis* (Lamiceae).
- Coles, R., McDowell, D., & Kirwan, M. J. (2003). *Food Packaging Technology*. London: Blackwell Publishing Ltd.
- Coloma, A. (2014). *Desarrollo de nanocompositos con capacidad de adsorción de etileno*. Tesis para la obtención de Título de Doctor en Ciencia y Tecnología de los Alimentos. Universidad De Santiago De Chile.
- Darder, M., Aranda, P., & Ruiz-Hitzky, E. (2007). Bionanocomposites: A new conceptof ecological, bioinspired, and funtional hybrid materials. *InterScience*, 19, 1309-1319.

- Delhom, C., White-Ghoorahoo, L., & Pang, S. (2009). Development and characterization of cellulose/clay nanocomposites. *Composites, Part B. Engineering*.
- EnvaPack. (2003). Empaque y Embalaje. In). Revista Online del Envase.
- Franco, E., & Maspoch, M. (2009). Estructura general de las arcillas utilizadas en la preparación de nanocompuestos poliméricos. *Ingenierías, XII* (No. 44).
- Galet, A. (2009). Envases activos que permiten alargar la vida útil de los alimentos. In *Transporte y Logística (ITENE)*. Instituto Tecnológico del Embalaje,.
- Gaspar, J. (2008). *Actividad antimicrobiana de extractos de orégano (Lippia graveolens) contra microorganismos fitopatógenos*. Universidad Autónoma de Querétaro, Tesis para la obtención de título Ingeniero de Invernaderos.
- Gindl, W., & Keckes, J. (2005). All-cellulose nanocomposite. *Science Direct. Polymer*, 46, 10221–10225.
- Gómez, M. (2009). *Concentración Mínima Inhibitoria de la Actividad antibacteriana del Aceite Esencial de Origanum vulgare L. (Orégano) frente a Echerichia coli*. Univerisdad Nacional del Altiplano Puno, Escuela Profesional de Biología.
- Guarda, A., & Galotto, M. (2009). Monografía Envases Activos para la Industria de Alimentos. *Obra Independiente ISBN 978-956-319-965-9, Proyecto Innova Corfo CODIGO: 207-6848*.
- Han, J. H. (2005). *Antimicrobial packaging system, in Innovation in Food Packaging*. Elsevier Academia Press: Londres, Gran Bretaña.
- Hernandez, V., Izquierdo, & Krochta, J. (2008). Thermoplastic Processing of Proteins for Film Formation a Review. *Journal of Food Sciencie*, 73, 30-39.
- Huarpaz, S., & Glatman, L. (2003). Effects of herbal oils used to extend the shelf lite of freshwaterreared. Asian sea bass fish (lates Clacarifes) *Journal of Food Protection*, 66, 410-417.
- Kalemba, D., & Kunicka, A. (2003). Antibacterial and Antifungal Properties of Essential Oils Current Medicinal chemistry. *Poland*, 10, 813-829.
- Lambert, R., Skandamis, P., Coote, P., & Nychas, G. (2001). A study of the minimum inhibitory concentration and mode of action of oregano essential oil, thymol and carvacrol. *Journal of Applied Microbiology*, 91, 453 – 462.
- Liu, L., Khang, G., & Rhee, J. (1999). Preparation y Characterization of Cellulose Acetate Membrane for Monolithic Osmotic Tablet. *Korea Polymer Journal*, Vol. 1(No. 5), 289 – 296.
- López, P., Sánchez, C., Batlle, R., & Nerín, C. (2007). Vapor-phase activities of cinnamon, thyme, and oregano essential oils and key constituents against foodborne microorganisms. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55, 4348 – 4356.
- Luna, D.M. (2010). *Validación de la actividad antimicrobiana del aceite esencial y del extracto de Mynthostachys setosa*. Tesis de maestría, Universidad de Sao Paulo, Brasil.
- Lucena, M. C., Alencar, A. V. D., Mazzeto, S., & Soares, S. A. (2003). The effect of additives on the thermal degradation of cellulose acetate. *Polymer Degradation and Stability*, 80, 149 – 155.
- Marino, M., & Bersani, C. (2001). Impedance me asurement tosludy tre antimicrobial activity of essential oils from Lamiceae and Composite *International journal of Food microbiology*, 67, 187-195.
- Medina, J. (2007). *Polímeros Biodegradables*. . Universidad de los Andes,, Cámara de Comercio de Bogotá.
- Mercado, C. (2007). Los ámbitos normativos, la gestión de la calidad y la inocuidad alimentaria: Una visión integral. *Agroalimentaria* (No. 24), 119 – 131.
- Morita, R., Khan, F., Sakaguchi, T., Shiotsuki, M., Nishio, Y., & Masudaa, T. (2007). Synthesis, characterization, and gas permeation properties of the silyl derivatives of cellulose acetate. *Journal of Membrane Science*, 305, 136–145.
- Morón, C. (2001). Importancia del Codex Alimentarius en la seguridad alimentaria y el comercio de los alimentos. *Revista Salud Pública y Nutrición*, Vol. 2(No.3).

- Mundo Alimentario (2005). El envasado de alimentos: Función, Tecnologías y Futuro. In *Revista Mundo Alimentario.*
- Oboh, G., Akindahunsi, A., & Oshodi, A. (2002). Nutrient and anti – nutrient contents of *Aspergillus niger* – fermented cassava products. *Journal of Food Composition and Analysis*, 15, 617 – 622.
- Palacios, Z. (2006). *Caracterización fisicoquímica de Aceite Esencial de dos especies de muña (Minthostchys spicata y Minthostachys mollis) en la Provincia de la Unión - Arequipa.* Universidad Nacional del Altiplano Puno, Escuela Profesional de Ingeniería Agroindustrial
- Park, H., Misra, M., Drzal, L., & Mohanty, A. (2004). "Green" nanocomposites from cellulose acetate bioplastic and clay: effect of eco-friendly triethyl citrate plasticizer. *Biomacromolecules*, 5, 2281 – 2288.
- Patterson, C. A. (2008). Impact of active and intelligent packaging. *Vol. 4*(No. 1).
- Pei, R., Zhou, F., Ji, B., & Xu, J. (2009). Evaluation of combined antibacterial effects of eugenol, cinnamaldehyde, thymol, and carvacrol against *E. coli* with an improved method. *Journal of Food Science*, Vol. 74(No. 7), M379 - M383.
- Pintore, G., & Usai, M. (2002). Chemical composition and antimicrobial activity of *romarisus offinalis* L. oils from Sardinia and Corsica. *Flavor and fragrance Journal*, 17, 15-19.
- Placencia, M. (2006). *Elaboración y caracterización de películas de quitosano: Evaluación del efecto antimicrobiano sobre el crecimiento de Aspergillus niger.*, Universidad Autónoma Metropolitana, México.
- Pojanavaraphan, T. (2010). Desarrollo de materiales biodegradables espumosa a base de caseína y montmorillonita arcilla de sodio. *Biomacromoleculas*, 2640-2646.
- Rodríguez, F. J., Coloma, A., Galotto, M. J., Guarda, A., & Bruna, J. E. (2012). Effect of organoclay content and molecular weight on cellulose acetate nanocomposites properties. *Polymer Degradation and Stability*, 97, 1996-2001.
- Rodríguez, F. J., Galotto, M. J., Guarda, A., & Bruna, J. E. (2010). Modification of cellulose acetate films using nanofillers based on organoclays. In U. P. d. València. (Ed.), *International conference on food innovation*, vol. 198.). Valencia Madrid.
- Sáenz, J. (2013). *Desarrollo de eco-nanocompositos activos de acetato de celulosa mediante proceso de extrusión. Tesis de pregrado. Facultad Tecnológica Departamento De Ciencia Y Tecnología De Los Alimentos.* Universidad De Santiago De Chile.
- Sáiz, M. J., & López, N. (2010). Obtención y Aplicación de Extractos Naturales. Alianza Estratégica y de Cooperación en Investigación en Envase y Embalaje para la Comercialización de Alimentos Transformados CEIDE@. Centro Nacional de Tecnología y Seguridad Alimentaria (CNTA). . In *Laboratorio del EBRO*.
- Santos, J. (2007). *Extracción, caracterización y funcionalidad de compuestos de origen vegetal obtenidos de materiales mexicanos empleados como condimentos, obtención de agentes antimicrobianos, antioxidantes e ingredientes funcionales.* Universidad de las Américas Puebla.
- Siracusa, V. V., Rocculi, P., Romani, S., & Dalla, M. (2008). Biodegradable polymers for food packaging. *a review. Trends in Food Science & Technology*, Vol. 19, 634 – 643.
- Sozer, N., & Kokini, J. (2009). Nanotechnology and its applications in the food sector In *Review. Illinois Agricultural Experiment Station.*
- Stuart, B. (2002). *Polymer Analysis. Jonh Wiley and Sons.* London.
- Tafur, M. (2009). La inocuidad de alimentos y el comercio internacional. *Revista colombiana de ciencias pecuarias*. Vol. 22(No. 3), 330 – 338.
- Tharanathan, R. N. (2003). Biodegradable films and composite coatings: Past, present and future. *Trend in Food Science and Technology*, 14, 71-78.
- Uddin, F. (2008). Clays, Nanoclays and montorillonite minerals. *Metallurgical and Materials Transactions A.*, Vol. 39A, 2804 – 2814.
- Utracki, L. A. (2004). Clay- Containing Polymeric Nanocomposites. *Limited. Vol. 1.*

- Valenzuela, X., Guarda, A., & M.J.Galotto. (2009). *Inocuidad de envases de alimentos: efecto del calentamiento convencional y por microondas sobre la migración de componentes de envases plásticos a los alimentos*. Universidad de Santiago de Chile.
- Villanueva, M. P. (2009). *Materiales nanocompuestos basados en polietileno y filosilicatos laminares obtenidos por mezclado en fundido. Estructura y propiedades*. . Tesis doctoral. Departamento de Ingeniería de Sistemas Industriales y Diseño.
- Vukovic, M., & Milosevic, T. (2007). Antimicrobial activities of essential oils and methanol extract of *severium montanum*. *CAM*, 4, 17-20.
- White, A. (1985). Herbs of Ecuador. In *Quito Ecuador* Ediciones Libri Mundi ed.).
- Wibobo, A., Misra, M., Park, H., Drzal, L., Schalek, R., & Mohanty, A. (2008). Biodegradable nanocomposites from cellulose acetate: Mechanical, morphological, and thermal properties. *Composites: Part A*, 37, 1428–1433.
- Zekaria, D. (2007). Aceites esenciales, Una alternativa de antimicrobianos. In *Laboratorios Calier S.A.* ).
- Zetty, A. M. (2012). *Film biodegradable a base de fécula de mandioca como potencial indicador de cambio de pH. Tesis de maestría en Ingeniería*. Universidad de São Paulo, Brasil.
- Zizovic, I., Samenic, M., Orlovic, A., & Scala, D. (2005). Supercritical carbon dioxide essential oil extraccion of Lamiaceae Family species: Mathematical modelling on the micro-scale and process optimization. *Chemical Engineering Science*, 60, 6747-6756.



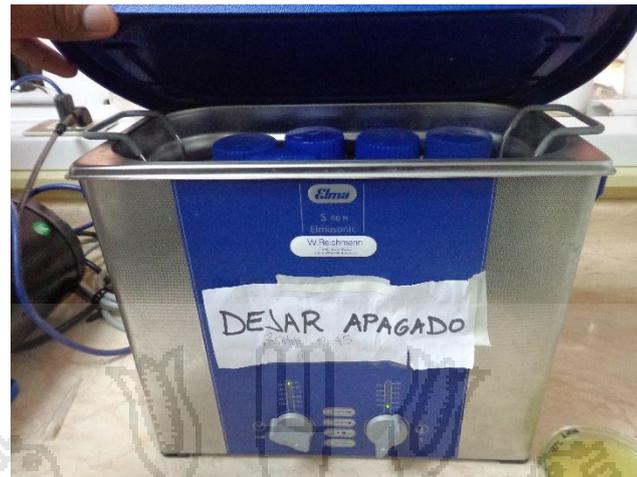
## ANEXOS

### Anexo 1. Panel fotográfico:



### PREPARACIÓN DE MUESTRAS POLIMERO Y EL DISOLVENTE





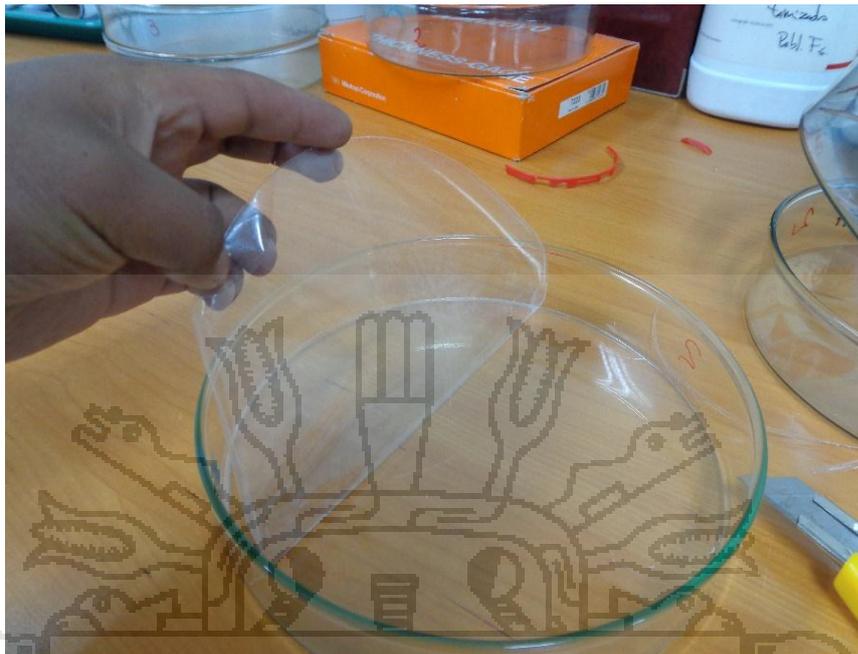
BAÑO DE ULTRASONIDO Y AGITACION FINAL



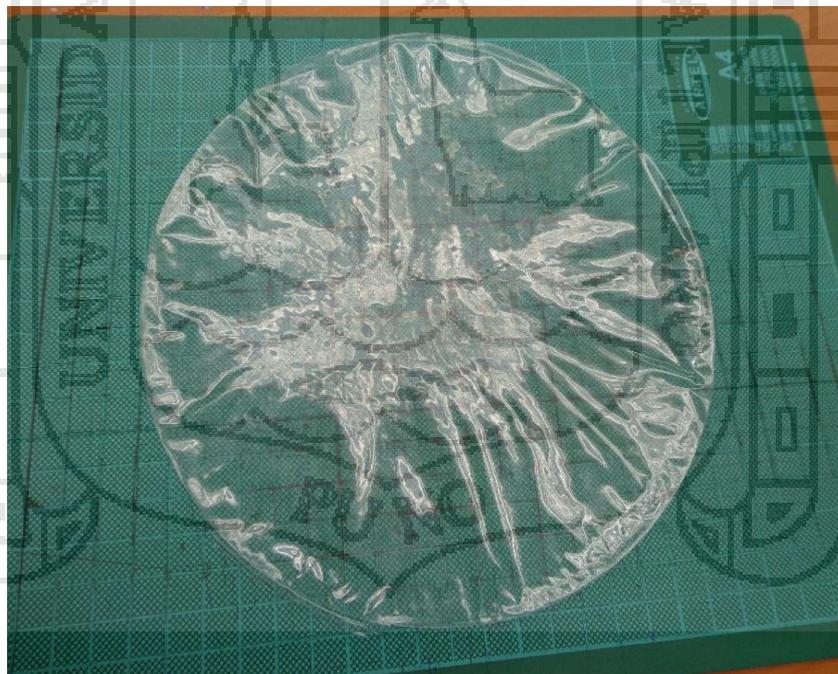


### PLAQUEADO E INCUBACION EN PLACAS PETRI GIGANTE



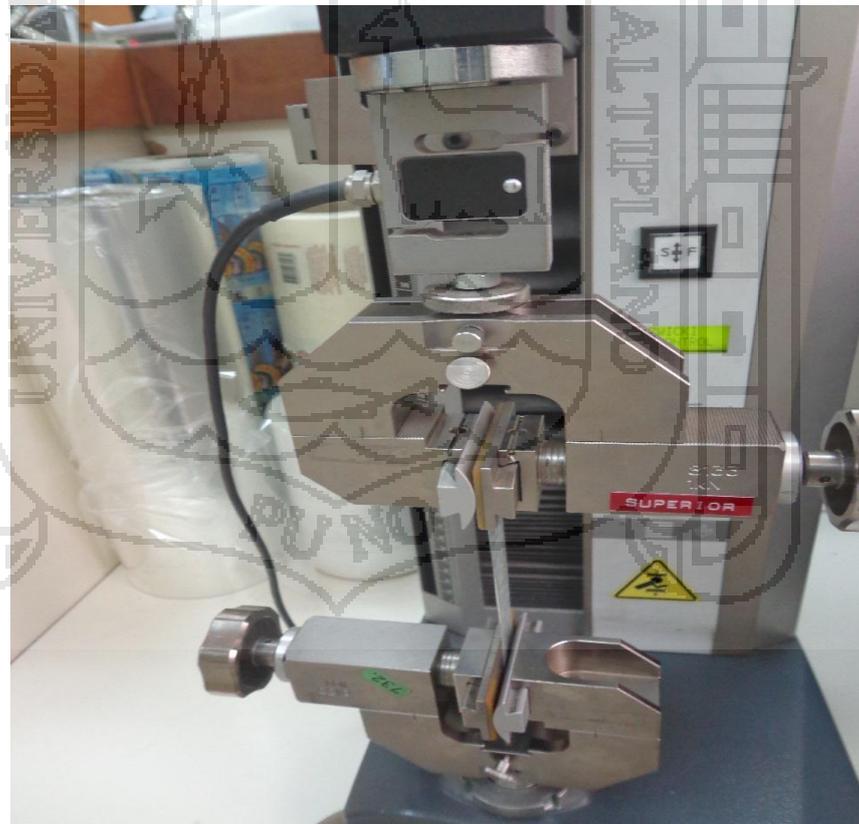


NACIONAL DEL  
PELICULAS ECO - AMIGABLES





ENSAYO TRACCIÓN - DEFORMACIÓN



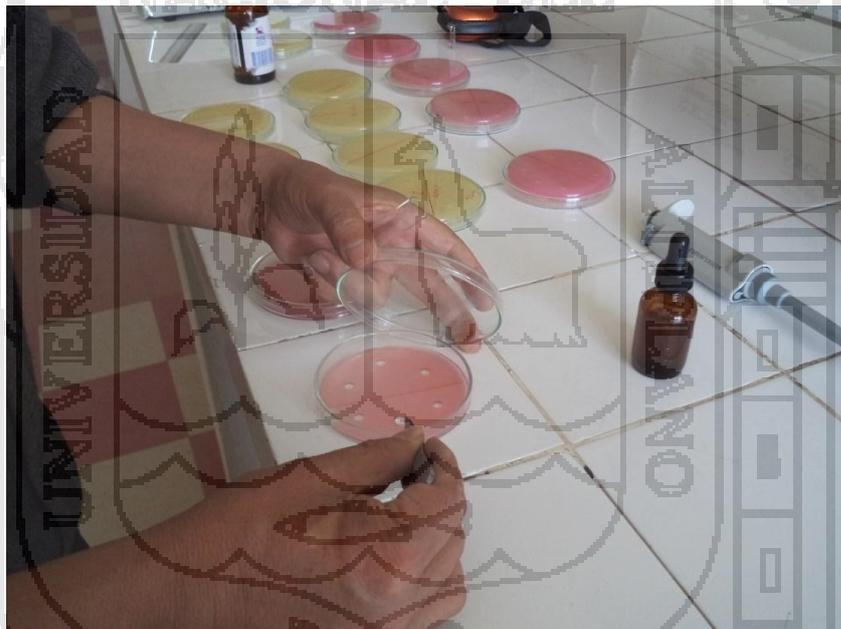


MEDICION DE PROPIEDADES ESTRUCTURALES (FTIR) Y  
COLORIMETRIA





TECNICA MICROBIOLÓGICA DISCOS DE DIFUSIÓN EN PLACA



## ANEXO 2.

Datos experimentales de los tratamientos en Microbiología.

Tabla 13. Actividad antimicrobiana de los tratamientos (Zona de inhibición en milímetros) frente a *Echerichia coli*.

TRATAMIENTOS		<i>Tamaño del halo (mm)</i>			
NROS	DESCRIPCION	Replica 1	Replica 2	Replica 3	Promedio
Aceite esencial	Papel filtro+aceite E.	18	15	17	17
Tratamiento 1	AC-C30B4.5%- TEC-AM2.93%	8	5	5	6
Tratamiento 2	AC-C30B6%-TEC- AM15%	11	10	8	9.7
Tratamiento 3	AC-C30B6.62%- TEC-AM10%	8	6	7	7
Tratamiento 4	AC-C30B2.38%- TEC-AM10%	7	6	6	6.3
Tratamiento 5	AC-C30B3%-TEC- AM5%	9	7	6	7.3
Tratamiento 6	AC-C30B6%-TEC- AM5%	8	8	7	7.7
Tratamiento 7	AC-C30B4.5%- TEC-AM17.07%	9	9	7	8.3
Tratamiento 8	AC-C30B3%-TEC- AM15%	9	11	10	10
Tratamiento 9	AC-C30B4.5%- TEC-AM10%	10	10	9	9.7
Control	AC-TEC	5	5	5	5

**Tabla 14. Actividad antimicrobiana de los tratamientos (Zona de inhibición en milímetros) frente a *Listeria innocua*.**

<b>TARATAMIENTOS</b>		<b>Tamaño del halo (mm)</b>			
<b>NROS</b>	<b>DESCRIPCION</b>	<b>Replica 1</b>	<b>Replica 2</b>	<b>Replica 3</b>	<b>Promedio</b>
<b>Aceite esencial</b>	Papel filtro+aceite E.	<b>40</b>	<b>45</b>	<b>25</b>	<b>36</b>
<b>Tratamiento 1</b>	AC-C30B4.5%-TEC-AM2.93%	<b>9</b>	<b>10</b>	<b>10</b>	<b>10</b>
<b>Tratamiento 2</b>	AC-C30B6%-TEC-AM15%	<b>16</b>	<b>17</b>	<b>13</b>	<b>15</b>
<b>Tratamiento 3</b>	AC-C30B6.62%-TEC-AM10%	<b>15</b>	<b>11</b>	<b>11</b>	<b>12</b>
<b>Tratamiento 4</b>	AC-C30B2.38%-TEC-AM10%	<b>11</b>	<b>9</b>	<b>9</b>	<b>10</b>
<b>Tratamiento 5</b>	AC-C30B3%-TEC-AM5%	<b>13</b>	<b>13</b>	<b>15</b>	<b>13</b>
<b>Tratamiento 6</b>	AC-C30B6%-TEC-AM5%	<b>13</b>	<b>13</b>	<b>11</b>	<b>12</b>
<b>Tratamiento 7</b>	AC-C30B4.5%-TEC-AM17.07%	<b>11</b>	<b>8</b>	<b>11</b>	<b>10</b>
<b>Tratamiento 8</b>	AC-C30B3%-TEC-AM15%	<b>17</b>	<b>13</b>	<b>15</b>	<b>15</b>
<b>Tratamiento 9</b>	AC-C30B4.5%-TEC-AM10%	<b>10</b>	<b>11</b>	<b>13</b>	<b>12</b>
<b>Control</b>	AC-TEC	<b>5</b>	<b>6</b>	<b>5</b>	<b>5</b>

**Tabla 15. Susceptibilidad de los tratamientos y aceite esencial (Zona de inhibición en milímetros) frente a *Listeria innocua* y *Echerichia coli*.**

<b>DISCOS</b>	<b>DESCRIPCION</b>	<b><i>E. coli</i></b>	<b><i>L. innocua</i></b>
<b>Papel - Aceite</b>	<b>Papel filtro+aceite E.</b>	<b>S</b>	<b>S</b>
<b>Tratamiento 1</b>	AC-C30B4.5%-TEC-AM2.93%	<b>R</b>	<b>I</b>
<b>Tratamiento 2</b>	AC-C30B6%-TEC-AM15%	<b>R</b>	<b>S</b>
<b>Tratamiento 3</b>	AC-C30B6.62%-TEC-AM10%	<b>R</b>	<b>S</b>
<b>Tratamiento 4</b>	AC-C30B2.38%-TEC-AM10%	<b>R</b>	<b>I</b>
<b>Tratamiento 5</b>	AC-C30B3%-TEC-AM5%	<b>R</b>	<b>S</b>
<b>Tratamiento 6</b>	AC-C30B6%-TEC-AM5%	<b>R</b>	<b>S</b>
<b>Tratamiento 7</b>	AC-C30B4.5%-TEC-AM17.07%	<b>R</b>	<b>I</b>
<b>Tratamiento 8</b>	AC-C30B3%-TEC-AM15%	<b>R</b>	<b>S</b>
<b>Tratamiento 9</b>	AC-C30B4.5%-TEC-AM10%	<b>R</b>	<b>S</b>
<b>Control</b>	AC-TEC	<b>R</b>	<b>R</b>

**ANEXOS 3:****Efectos de la Concentraciones de Antimicrobiano (AM) y Cloisite 30B (C30B) en Propiedades Mecánicas de las películas eco amigables.****Tabla 16:** Análisis de Varianza para evaluar la concentración de antimicrobiana (AM) y cloisite 30B (C30B) en la elasticidad de las películas eco amigables.

<i>F. DE V.</i>	<i>S.C.</i>	<i>Gl</i>	<i>C.M.</i>	<i>Fc</i>	<i>F<sub>t0.05</sub></i>	<i>SIG.</i>
A:AM	182037.	1	182037.	0.40	0.5609	N.S.
B:C30B	107699.	1	107699.	0.24	0.6517	N.S.
AA	4343.08	1	4343.08	0.01	0.9268	N.S.
AB	760995.	1	760995.	1.68	0.2650	*
BB	128485.	1	128485.	0.28	0.6229	N.S.
Error total	1.81537E6	4	453843.			
Total (corr.)	3.00401E6	9				

C.V. = 39.57

La tabla ANOVA particiona la variabilidad de ELASTICIDAD en piezas separadas para cada uno de los efectos. Entonces prueba la significancia estadística de cada efecto comparando su cuadrado medio contra un estimado del error experimental. En este caso, 0 efectos tienen un valor-P menor que 0.05, indicando que son significativamente diferentes de cero con un nivel de confianza del 95.0%.

**Tabla 17:** Análisis de Varianza para evaluar la concentración de antimicrobiana (AM) y Cloisite 30B (C30B) en la Fuerza de Tensión de las películas eco amigables.

<i>F. DE V.</i>	<i>S.C.</i>	<i>Gl</i>	<i>C.M.</i>	<i>Fc</i>	<i>F<sub>t0.05</sub></i>	<i>SIG.</i>
A:AM	3.68287	1	3.68287	0.03	0.8623	N.S.
B:C30B	120.875	1	120.875	1.12	0.3493	*
AA	789.523	1	789.523	7.33	0.0537	**
AB	66.7489	1	66.7489	0.62	0.4753	*
BB	705.669	1	705.669	6.55	0.0627	**
Error total	431.132	4	107.783			
Total (corr.)	1670.31	9				

C.V. = 74.19

La tabla ANOVA particiona la variabilidad de TENSION en piezas separadas para cada uno de los efectos. Entonces prueba la significancia estadística de cada efecto comparando su cuadrado medio contra un estimado del error experimental. En este caso, 0 efectos tienen un valor-P menor que 0.05, indicando que son significativamente diferentes de cero con un nivel de confianza del 95.0%.

**Tabla 18:** Análisis de Varianza para evaluar la concentración de antimicrobiana (AM) y Cloisite 30B (C30B) en la Elongación a la Rotura de las películas eco amigables.

<i>F. DE V.</i>	<i>S.C.</i>	<i>Gl</i>	<i>C.M.</i>	<i>Fc</i>	<i>F<sub>t0.05</sub></i>	<i>SIG.</i>
A:AM	0.626337	1	0.626337	3.71	0.1263	*
B:C30B	0.16	1	0.16	0.95	0.3853	*
AA	3.55018	1	3.55018	21.04	0.0101	**
AB	0.16	1	0.16	0.95	0.3853	*
BB	2.28019	1	2.28019	13.51	0.0213	**
Error total	0.674892	4	0.168723			
Total (corr.)	5.776	9				

C.V. = 88.32

En La tabla ANOVA particiona la variabilidad de ELONGACION en piezas separadas para cada uno de los efectos. Entonces prueba la significancia estadística de cada efecto comparando su cuadrado medio contra un estimado del error experimental. En este caso, 2 efectos tienen una valor-P menor que 0.05, indicando que son significativamente diferentes de cero con un nivel de confianza del 95.0%.



## ANEXOS 4

**Efectos de la Concentraciones de Antimicrobiano (AM) y Cloisite 30B (C30B) en Propiedades Ópticas de las películas eco amigables.****Tabla 19:** Análisis de Varianza para evaluar la concentración de antimicrobiana (AM) y Cloisite 30B (C30B) en el parámetro L de las películas eco amigables.

<i>F. DE V.</i>	<i>S.C.</i>	<i>Gl</i>	<i>C.M.</i>	<i>Fc</i>	<i>F<sub>t0.05</sub></i>	<i>SIG.</i>
A:aceite	0.0200002	1	0.0200002	0.91	0.3952	*
B:arcilla	0.0487132	1	0.0487132	2.21	0.2117	*
AA	0.0419111	1	0.0419111	1.90	0.2404	*
AB	0.01	1	0.01	0.45	0.5379	N.S.
BB	0.0019683	1	0.0019683	0.09	0.7802	N.S
Error total	0.0883369	4	0.0220842			
Total (corr.)	0.211266	9				

C.V. = 58.19

La tabla ANOVA particiona la variabilidad de L\* en piezas separadas para cada uno de los efectos. Entonces prueba la significancia estadística de cada efecto comparando su cuadrado medio contra un estimado del error experimental. En este caso, 0 efectos tienen una valor-P menor que 0.05, indicando que son significativamente diferentes de cero con un nivel de confianza del 95.0%.

**Tabla 20:** Análisis de Varianza para evaluar la concentración de antimicrobiana (AM) y Cloisite 30B (C30B) en el parámetro a\* de las películas eco amigables.

<i>F. DE V.</i>	<i>S.C.</i>	<i>Gl</i>	<i>C.M.</i>	<i>Fc</i>	<i>F<sub>t0.05</sub></i>	<i>SIG.</i>
A:aceite	0.000624991	1	0.000624991	1.51	0.2863	*
B:arcilla	0.0145711	1	0.0145711	35.23	0.0040	**
AA	0.00318009	1	0.00318009	7.69	0.0502	**
AB	0.0	1	0.0	0.00	1.0000	N.S.
BB	0.000880079	1	0.000880079	2.13	0.2184	*
Error total	0.00165441	4	0.000413603			
Total (corr.)	0.0200676	9				

C.V. = 91.78

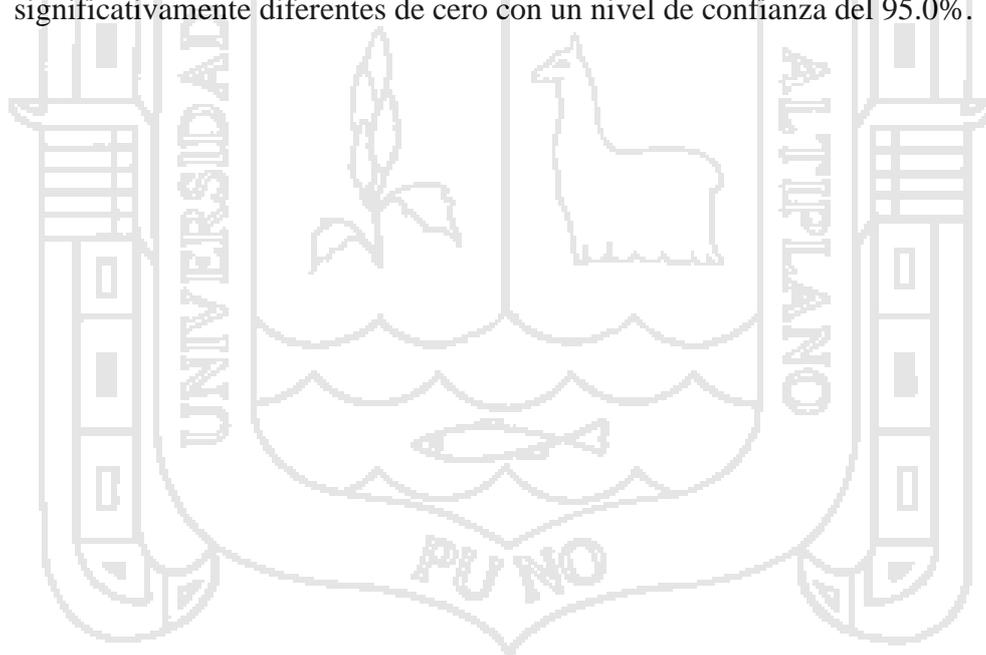
La tabla ANOVA particiona la variabilidad del parámetro a\* en piezas separadas para cada uno de los efectos. Entonces prueba la significancia estadística de cada efecto comparando su cuadrado medio contra un estimado del error experimental. En este caso, 1 efectos tienen una valor-P menor que 0.05, indicando que son significativamente diferentes de cero con un nivel de confianza del 95.0%.

**Tabla 21:** Análisis de Varianza para evaluar la concentración de antimicrobiana (AM) y Cloisite 30B (C30B) en el parámetro b\* de las películas eco amigables.

<i>F. DE V.</i>	<i>S.C.</i>	<i>Gl</i>	<i>C.M.</i>	<i>Fc</i>	<i>F<sub>t0.05</sub></i>	<i>SIG.</i>
A:aceite	0.000036798	1	0.000036798	0.00	0.9635	*
B:arcilla	0.790159	1	0.790159	50.89	0.0020	**
AA	0.00977876	1	0.00977876	0.63	0.4718	*
AB	0.0025	1	0.0025	0.16	0.7087	N.S.
BB	0.00977866	1	0.00977866	0.63	0.4718	*
Error total	0.0621043	4	0.0155261			
Total (corr.)	0.86849	9				

C.V. = 92.85

La tabla ANOVA particiona la variabilidad de parámetro b\* en piezas separadas para cada uno de los efectos. Entonces prueba la significancia estadística de cada efecto comparando su cuadrado medio contra un estimado del error experimental. En este caso, 1 efectos tienen un valor-P menor que 0.05, indicando que son significativamente diferentes de cero con un nivel de confianza del 95.0%.



### ANEXO 5

#### Datos experimentales de propiedades mecánicas.

	CONTROL															
	T1				T2				T3							
	ELASTICIDAD AD	TENSIO N	ELONGACI ON	ESPESO R	ELASTICIDAD AD	TENSIO N	ELONGACI ON	ESPESO R	ELASTICIDAD AD	TENSIO N	ELONGACI ON	ESPESO R				
1	1393.35	55.42	3.31	0.04	1719.16	37.06	2.72	0.05	2026.53	52.27	3.38	0.04	3054.77	61.06	2.71	0.04
2	1294.97	34.85	2.51	0.04	1380.28	31.62	1.97	0.06	2660.6	67.05	2.68	0.03	1853.11	32.47	2.12	0.06
3	1757.35	47.92	3.9	0.05	1330.86	37.39	2.51	0.06	2638.43	60.17	3.58	0.04	4844.17	132.38	3.17	0.15
4	1879.93	44.77	2.7	0.04	984.53	33.59	2.74	0.06	2405.83	53.7	2.19	0.03	2033.38	32.65	2.01	0.05
5	1215.69	40.46	3.23	0.06	1765.6	39.93	2.91	0.05	1891.04	61.39	3.28	0.03	13075.67	379.39	2.01	0.06
6	1379.43	40.2	2.69	0.04	1349.82	28.06	2.06	0.06	2721.95	65.71	3.92	0.03	10681.44	287.13	2.22	0.06
Prom	1486.8	43.94	3.1	0.0	1421.7	34.61	2.5	0.1	2390.7	60.05	3.2	0.0	5923.8	154.18	2.4	0.1
Des est.	267.7	7.2	0.5	0.0	287.4	4.4	0.4	0.0	354.0	6.1	0.6	0.0	4793.5	146.4	0.5	0.0
Coef. V.	504.79	30.66	18.10	15.73	489.08	23.90	16.37	5.09	794.58	29.86	20.92	15.50	4151.81	94.94	19.76	56.60

**ANEXO 6. Datos experimentales de las propiedades ópticas parte 1**

	TRAT1			TRAT2			TRAT3			TRAT4			TRAT5											
	L*	a*	b*	ΔE	Wi	L*	a*	b*	ΔE	Wi	L*	a*	b*	ΔE	Wi	L*	a*	b*						
1	98.29	-0.18	2.71	0.08	96.79	97.85	-0.22	2.98	0.47	96.32	98.17	-0.19	2.72	0.07	96.72	98.46	0.22	1.95	0.87	97.51	98.42	-0.14	2.37	
2	98.31	-0.15	2.76	0.11	96.76	98.18	-0.23	2.95	0.27	96.53	98.28	-0.19	2.73	0.08	96.77	98.53	0.14	2.02	0.80	97.50	98.61	-0.12	2.4	
3	98.13	-0.2	2.8	0.15	96.63	98.08	-0.17	2.82	0.19	96.58	98.3	-0.2	2.87	0.20	96.66	98.45	0.08	2.06	0.71	97.42	97.89	-0.13	2.35	
4	98.16	-0.18	2.79	0.12	96.65	98.29	-0.2	2.83	0.16	96.69	97.95	-0.23	3.01	0.42	96.35	97.89	0.12	2.1	0.73	97.02	98.17	-0.1	2.29	
5	98.04	-0.13	2.74	0.19	96.63	98.35	-0.21	2.91	0.26	96.65	98.02	-0.29	3.24	0.60	96.19	98.06	0.15	2.14	0.65	97.11	98.29	-0.12	2.32	
6	97.92	-0.06	2.66	0.32	96.62	98.06	-0.24	3.02	0.37	96.40	97.93	-0.32	3.34	0.73	96.06	97.99	0.18	2.16	0.67	97.04	98.3	-0.12	2.32	
7	97.63	-0.17	2.61	0.60	96.47	98.32	-0.23	3	0.33	96.55	96.9	-0.13	3.43	1.51	95.37	98.1	0.12	2.16	0.61	97.12	98.42	-0.13	2.4	
8	98.98	-0.16	2.64	0.76	97.17	98.01	-0.24	3.05	0.42		97.23	-0.36	3.59	1.35	95.45	97.9	0.14	2.16	0.69	96.98	98.39	-0.14	2.42	
9	98.58	-0.16	2.62	0.37	97.02	98.16	-0.22	2.91	0.23	96.55	98.07	-0.27	3.09	0.44	96.35	98.1	0.15	2.11	0.67	97.16	98.85	-0.12	2.29	
10	98.16	-0.15	2.62	0.10	96.79	98.14	-0.25	3.06	0.39	96.41	97.82	-0.28	3.31	0.74	96.03	98.18	0.1	2.11	0.64	97.21	98.49	-0.13	2.33	
Promedio	98.2	-0.15	2.7	0.3	96.8	98.1	-0.2	3.0	0.3	96.5	97.9	-0.2	3.1	0.6	96.2	98.2	0.1	2.1	0.7	97.2	98.4	-0.1	2.3	
Desest.	0.4	0.0	0.1	0.2	0.2	0.2	0.0	0.1	0.1	0.1	0.5	0.1	0.3	0.5	0.5	0.2	0.0	0.1	0.1	0.1	0.2	0.3	0.0	0.0
Coef.Variab.	0.37	-24.91	2.74	84.88	0.21	0.16	-10.55	2.87	33.55	0.13	0.47	-28.50	9.53	80.73	0.51	0.24	28.37	3.30	11.01	0.20	0.26	-9.43	1.99	

Datos

experimentales de las propiedades ópticas parte 2

	TRAT6				TRAT7				TRAT8				TRAT9							
	L*	a*	b*	ΔE	Wi	L*	a*	b*	ΔE	Wi	L*	a*	b*	ΔE	Wi	L*	a*	b*	ΔE	Wi
1	98.22	-0.21	2.77	0.09	96.70	98.47	-0.14	2.49	0.32	97.07	98.11	-0.13	2.44	0.28	96.91	98.08	-0.19	2.51	0.23	96.83
2	97.37	-0.19	2.75	0.85	96.19	98.49	-0.12	2.41	0.39	97.15	98.31	-0.13	2.53	0.19	96.95	98.1	-0.16	2.71	0.12	96.69
3	98.26	-0.19	2.76	0.08	96.73	98.41	-0.12	2.32	0.42	97.18	98.17	-0.11	2.5	0.21	96.90	98.07	-0.18	2.71	0.15	96.67
4	98.42	-0.21	2.83	0.25	96.75	98.17	-0.12	2.35	0.35	97.02	98.37	-0.13	2.49	0.26	97.02	98.19	-0.17	2.68	0.04	96.76
5	98.1	-0.23	2.89	0.24	96.53	98.39	-0.11	2.43	0.32	97.08	98.31	-0.11	2.37	0.34	97.09	98.14	-0.16	2.64	0.10	96.77
6	98.64	-0.23	2.83	0.45	96.85	97.84	-0.14	2.52	0.42	96.68	98.34	-0.1	2.33	0.39	97.14	98.09	-0.18	2.73	0.14	96.66
7	97.65	-0.22	2.85	0.59	96.30	98.04	-0.18	2.69	0.18	96.67	98.44	-0.1	2.51	0.29	97.04	98.06	-0.21	2.75	0.18	96.63
8	97.85	-0.2	2.79	0.38	96.47	98.16	-0.16	2.58	0.13	96.83	98.19	-0.16	2.57	0.13	96.85	98.07	-0.2	2.77	0.17	96.62
9	98.08	-0.21	2.84	0.21	96.57	98.62	-0.13	2.49	0.45	97.15	98.3	-0.1	2.22	0.48	97.20	98.08	-0.18	2.78	0.17	96.62
10	98.17	-0.21	2.87	0.19	96.59	97.22	-0.13	2.62	1.00	96.18	98.54	-0.08	2.19	0.60	97.37	98.08	-0.21	2.77	0.17	96.62
Promedio	98.1	-0.2	2.8	0.3	96.6	98.2	-0.1	2.5	0.4	96.9	98.3	-0.1	2.4	0.3	97.0	98.1	-0.2	2.7	0.1	96.7
Des est.	0.4	0.0	0.0	0.2	0.2	0.4	0.0	0.1	0.2	0.3	0.1	0.0	0.1	0.1	0.2	0.0	0.0	0.1	0.1	0.1
Coef. Variab.	0.38	-6.73	1.70	72.15	0.21	0.42	-15.71	4.72	59.21	0.33	0.13	-19.77	5.48	45.30	0.16	0.04	-9.99	3.01	36.33	0.08

**ANEXO 7: FICHAS TÉCNICAS**

**ACETATO DE CELULOSA  
SIGMA-ALDRICH**

[sigma-aldrich.com](http://sigma-aldrich.com)

**Material Safety Data Sheet**

Version 4.0  
Revision Date 07/24/2010  
Print Date 08/25/2010

**1. PRODUCT AND COMPANY IDENTIFICATION**

Product name : Cellulose acetate  
Product Number : 180955  
Brand : Aldrich  
Company : Sigma-Aldrich  
3050 Spruce Street  
SAINT LOUIS MO 63103  
USA  
Telephone : +18003255832  
Fax : +18003255052  
Emergency Phone # : (314) 776-6555

**2. HAZARDS IDENTIFICATION**

**Emergency Overview**

**OSHA Hazards**

No known OSHA hazards

**HMIS Classification**

**Health hazard:** 0

**Flammability:** 0

**Physical hazards:** 0

**NFPA Rating**

**Health hazard:** 0

**Fire:** 0

**Reactivity Hazard:** 0

**Potential Health Effects**

**Inhalation**

May be harmful if inhaled. May cause respiratory tract irritation.

**Skin**

May be harmful if absorbed through skin. May cause skin irritation.

**Eyes**

May cause eye irritation.

**Ingestion**

May be harmful if swallowed.

**3. COMPOSITION/INFORMATION ON INGREDIENTS**

Synonyms : Acetylcellulose

CAS-No.	EC-No.	Index-No.	Concentration
<b>Cellulose acetate</b>			
9004-35-7	-	-	-

**4. FIRST AID MEASURES**

**If inhaled**

If breathed in, move person into fresh air. If not breathing, give artificial respiration.

**In case of skin contact**

Wash off with soap and plenty of water.

**In case of eye contact**

Flush eyes with water as a precaution.

**If swallowed**

Never give anything by mouth to an unconscious person. Rinse mouth with water.

**5. FIRE-FIGHTING MEASURES**

**Suitable extinguishing media**

Use water spray, alcohol-resistant foam, dry chemical or carbon dioxide.

**Special protective equipment for fire-fighters**

Wear self contained breathing apparatus for fire fighting if necessary.

**6. ACCIDENTAL RELEASE MEASURES**

**Personal precautions**

Avoid dust formation. Avoid breathing vapors, mist or gas.

**Environmental precautions**

No special environmental precautions required.

**Methods and materials for containment and cleaning up**

Sweep up and shovel. Keep in suitable, closed containers for disposal.

**7. HANDLING AND STORAGE**

**Precautions for safe handling**

Provide appropriate exhaust ventilation at places where dust is formed. Normal measures for preventive fire protection.

**Conditions for safe storage**

Keep container tightly closed in a dry and well-ventilated place.

**8. EXPOSURE CONTROLS/PERSONAL PROTECTION**

Contains no substances with occupational exposure limit values.

**Personal protective equipment**

**Respiratory protection**

Respiratory protection is not required. Where protection from nuisance levels of dusts are desired, use type N95 (US) or type P1 (EN 143) dust masks. Use respirators and components tested and approved under appropriate government standards such as NIOSH (US) or CEN (EU).

**Hand protection**

Handle with gloves. Gloves must be inspected prior to use. Use proper glove removal technique (without touching glove's outer surface) to avoid skin contact with this product. Dispose of contaminated gloves after use in accordance with applicable laws and good laboratory practices. Wash and dry hands.

**Eye protection**

Use equipment for eye protection tested and approved under appropriate government standards such as NIOSH (US) or EN 166(EU).

**Skin and body protection**

Choose body protection in relation to its type, to the concentration and amount of dangerous substances, and to the specific work-place. The type of protective equipment must be selected according to the concentration and amount of the dangerous substance at the specific workplace.

**Hygiene measures**

General industrial hygiene practice.

**9. PHYSICAL AND CHEMICAL PROPERTIES**

**Appearance**

Form

Sheet

**Safety data**

pH	no data available
Melting point	no data available
Boiling point	no data available
Flash point	no data available
Ignition temperature	no data available
Lower explosion limit	no data available
Upper explosion limit	no data available
Density	1.3 g/mL at 25 °C (77 °F)
Water solubility	no data available

**10. STABILITY AND REACTIVITY****Chemical stability**

Stable under recommended storage conditions.

**Conditions to avoid**

no data available

**Materials to avoid**

no data available

**Hazardous decomposition products**

Hazardous decomposition products formed under fire conditions. - Carbon oxides

**11. TOXICOLOGICAL INFORMATION****Acute toxicity**

LD50 Oral - rat - > 5,050 mg/kg

**Skin corrosion/irritation****Serious eye damage/eye irritation**

no data available

**Respiratory or skin sensitization**

no data available

**Germ cell mutagenicity**

no data available

**Carcinogenicity**

IARC: No component of this product present at levels greater than or equal to 0.1% is identified as probable, possible or confirmed human carcinogen by IARC.

ACGIH: No component of this product present at levels greater than or equal to 0.1% is identified as a carcinogen or potential carcinogen by ACGIH.

NTP: No component of this product present at levels greater than or equal to 0.1% is identified as a known or anticipated carcinogen by NTP.

OSHA: No component of this product present at levels greater than or equal to 0.1% is identified as a carcinogen or potential carcinogen by OSHA.

**Reproductive toxicity**

no data available

**Specific target organ toxicity - single exposure (Globally Harmonized System)**

no data available

**Specific target organ toxicity - repeated exposure (Globally Harmonized System)**

no data available



**SARA 313 Components**

SARA 313: This material does not contain any chemical components with known CAS numbers that exceed the threshold (De Minimis) reporting levels established by SARA Title III, Section 313.

**SARA 311/312 Hazards**

No SARA Hazards

**Massachusetts Right To Know Components**

No components are subject to the Massachusetts Right to Know Act.

**Pennsylvania Right To Know Components**

Cellulose acetate

CAS-No.  
9004-35-7

Revision Date

**New Jersey Right To Know Components**

Cellulose acetate

CAS-No.  
9004-35-7

Revision Date

**California Prop. 65 Components**

This product does not contain any chemicals known to State of California to cause cancer, birth defects, or any other reproductive harm.

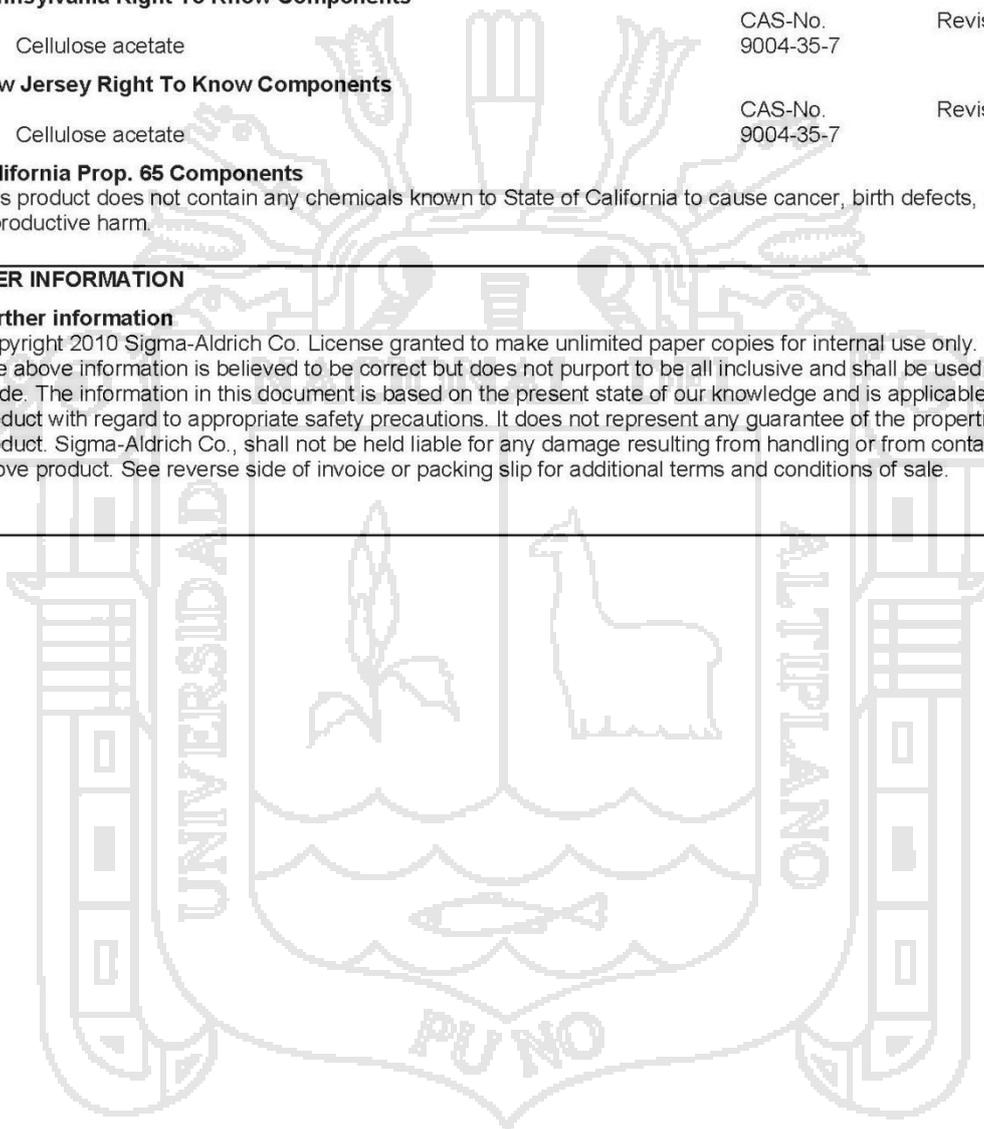
---

**16. OTHER INFORMATION**

**Further information**

Copyright 2010 Sigma-Aldrich Co. License granted to make unlimited paper copies for internal use only. The above information is believed to be correct but does not purport to be all inclusive and shall be used only as a guide. The information in this document is based on the present state of our knowledge and is applicable to the product with regard to appropriate safety precautions. It does not represent any guarantee of the properties of the product. Sigma-Aldrich Co., shall not be held liable for any damage resulting from handling or from contact with the above product. See reverse side of invoice or packing slip for additional terms and conditions of sale.

---



**CLOISITE 30B**

SOUTHERN CLAY PRODUCTS / A SUBSIDIARY OF ROCKWOOD SPECIALTIES, INC.

**PRODUCT BULLETIN/Cloisite®**



Southern Clay Products, Inc.  
 1212 Church Street  
 Gonzales, TX 78629  
 Phone: 800-324-2891  
 Fax: 830-672-1903  
 www.scpod.com

**Cloisite® 30B**

**Typical Physical Properties Bulletin**

**Description:**

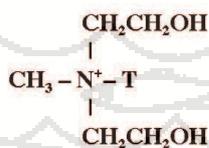
Cloisite® 30B is a natural montmorillonite modified with a quaternary ammonium salt.

**Designed Used:**

Cloisite® 30B is an additive for plastics to improve various plastic physical properties, such as reinforcement, HDT, CLTE and barrier.

**Typical Properties:**

Treatment/Properties:	Organic Modifier (1)	Modifier Concentration	% Moisture	% Weight Loss on Ignition
Cloisite® 30B	MT2EtOH	90 meq/100g clay	< 2%	30%



Where T is Tallow (~65% C18; ~30% C16; ~5% C14)

**Anion: Chloride**

(1) MT2EtOH: methyl, tallow, bis-2-hydroxyethyl, quaternary ammonium

Typical Dry Particle Sizes: (microns, by volume)

10% less than:	50% less than:	90% less than:
2µm	6µm	13µm

Color: Off White

Density:

Loose Bulk, lbs/ft <sup>3</sup>	Packed Bulk, lbs/ft <sup>3</sup>	Density, g/cc
14.25	22.71	1.98

X Ray Results: d<sub>001</sub> = 18.5Å

For additional information or technical assistance contact Southern Clay Products, Inc. toll free at 800-324-2891.

Disclaimer of Warranty: The information presented herein is believed to be accurate but is not to be taken as a warranty, guarantee, or representation for which we assume legal responsibility. This information does not grant permission, license, or any rights or recommendations to practice any form of proprietary intellectual property without obtaining the appropriate license or grant from the property owner. The information is offered solely for your consideration, investigation and verification, but you must determine the suitability of the product for your specific application. The purchaser assumes all risk of use of handling the material, including but not limited to transferring the material within purchaser's facilities, using the material in applications specified by the purchaser and handling any product which includes the material, whether or not in accordance with any statements made herein.

8.3.1. CITRATO DE TRIETILO

**SIGMA-ALDRICH**

**Material Safety Data Sheet**

Version 3.0  
Revision Date 08/22/2009  
Print Date 08/25/2010

**1. PRODUCT AND COMPANY IDENTIFICATION**

Product name : Triethyl citrate  
Product Number : W308307  
Brand : Aldrich  
Company : Sigma-Aldrich  
3050 Spruce Street  
SAINT LOUIS MO 63103  
USA  
Telephone : +18003255832  
Fax : +18003255052  
Emergency Phone # : (314) 776-6555

**2. COMPOSITION/INFORMATION ON INGREDIENTS**

Synonyms : Ethyl citrate  
Formula :  $C_{12}H_{20}O_7$   
Molecular Weight : 276.28 g/mol

CAS-No.	EC-No.	Index-No.	Concentration
<b>Triethyl citrate</b>			
77-93-0	201-070-7	-	

**3. HAZARDS IDENTIFICATION**

**Emergency Overview**

**OSHA Hazards**

No known OSHA hazards

**HMIS Classification**

Health Hazard: 0  
Flammability: 1  
Physical hazards: 0

**NFPA Rating**

Health Hazard: 2  
Fire: 1  
Reactivity Hazard: 0

**Potential Health Effects**

**Inhalation** : May be harmful if inhaled. May cause respiratory tract irritation.  
**Skin** : May be harmful if absorbed through skin. May cause skin irritation.  
**Eyes** : May cause eye irritation.  
**Ingestion** : May be harmful if swallowed.

---

#### 4. FIRST AID MEASURES

**If inhaled**

If breathed in, move person into fresh air. If not breathing give artificial respiration

**In case of skin contact**

Wash off with soap and plenty of water.

**In case of eye contact**

Flush eyes with water as a precaution.

**If swallowed**

Never give anything by mouth to an unconscious person. Rinse mouth with water.

---

#### 5. FIRE-FIGHTING MEASURES

**Flammable properties**

Flash point 155 °C (311 °F) - closed cup

Ignition temperature no data available

**Suitable extinguishing media**

Use water spray, alcohol-resistant foam, dry chemical or carbon dioxide.

**Special protective equipment for fire-fighters**

Wear self contained breathing apparatus for fire fighting if necessary.

---

#### 6. ACCIDENTAL RELEASE MEASURES

**Personal precautions**

Avoid breathing vapors, mist or gas.

**Environmental precautions**

Do not let product enter drains.

**Methods for cleaning up**

Keep in suitable, closed containers for disposal.

---

#### 7. HANDLING AND STORAGE

**Handling**

Normal measures for preventive fire protection.

**Storage**

Keep container tightly closed in a dry and well-ventilated place.

---

#### 8. EXPOSURE CONTROLS/PERSONAL PROTECTION

Contains no substances with occupational exposure limit values.

**Personal protective equipment****Respiratory protection**

Respiratory protection is not required. Where protection is desired, use multi-purpose combination (US) or type ABEK (EN 14387) respirator cartridges. Use respirators and components tested and approved under appropriate government standards such as NIOSH (US) or CEN (EU).

**Hand protection**

For prolonged or repeated contact use protective gloves.

**Eye protection**

Safety glasses

## 9. PHYSICAL AND CHEMICAL PROPERTIES

### Appearance

Form	clear, liquid
Colour	light yellow

### Safety data

pH	no data available
Melting point	no data available
Boiling point	235 °C (455 °F) at 200 hPa (150 mmHg) - lit.
Flash point	155 °C (311 °F) - closed cup
Ignition temperature	no data available
Lower explosion limit	no data available
Upper explosion limit	no data available
Vapour pressure	1 hPa (1 mmHg) at 107 °C (225 °F)
Density	1.14 g/mL at 25 °C (77 °F)
Water solubility	no data available
Relative vapour density	9.54 - (Air = 1.0)

---

## 10. STABILITY AND REACTIVITY

### Storage stability

Stable under recommended storage conditions.

### Materials to avoid

Strong oxidizing agents

### Hazardous decomposition products

Hazardous decomposition products formed under fire conditions. - Carbon oxides

---

## 11. TOXICOLOGICAL INFORMATION

### Acute toxicity

LD50 Oral - rat - 5,900 mg/kg

Remarks: Behavioral: Altered sleep time (including change in righting reflex). Respiratory disorder Nutritional and Gross Metabolic: Changes in: Body temperature decrease.

LC50 Inhalation - rat - 6 h - 1300 ppm

Remarks: Lungs, Thorax, or Respiration: Acute pulmonary edema. Lungs, Thorax, or Respiration: Pleural effusion. Lungs, Thorax, or Respiration: Dyspnea.

LD50 Dermal - rabbit - > 5,000 mg/kg

### Irritation and corrosion

### Sensitisation

### Chronic exposure

- IARC:** No component of this product present at levels greater than or equal to 0.1% is identified as probable, possible or confirmed human carcinogen by IARC.
- ACGIH:** No component of this product present at levels greater than or equal to 0.1% is identified as a carcinogen or potential carcinogen by ACGIH.
- NTP:** No component of this product present at levels greater than or equal to 0.1% is identified as a known or anticipated carcinogen by NTP.
- OSHA:** No component of this product present at levels greater than or equal to 0.1% is identified as a carcinogen or potential carcinogen by OSHA.

**Signs and Symptoms of Exposure**

To the best of our knowledge, the chemical, physical, and toxicological properties have not been thoroughly investigated.

**Potential Health Effects**

- Inhalation** May be harmful if inhaled. May cause respiratory tract irritation.
- Skin** May be harmful if absorbed through skin. May cause skin irritation.
- Eyes** May cause eye irritation.
- Ingestion** May be harmful if swallowed.

**Additional Information**

RTECS: GE8050000

---

**12. ECOLOGICAL INFORMATION**

**Elimination information (persistence and degradability)**

**Ecotoxicity effects**

**Further information on ecology**

---

**13. DISPOSAL CONSIDERATIONS**

**Product**

Observe all federal, state, and local environmental regulations.

**Contaminated packaging**

Dispose of as unused product.

---

**14. TRANSPORT INFORMATION**

**DOT (US)**

Not dangerous goods

**IMDG**

Not dangerous goods

**IATA**

Not dangerous goods

---

**15. REGULATORY INFORMATION**

**OSHA Hazards**

No known OSHA hazards

**DSL Status**

All components of this product are on the Canadian DSL list.



**SARA 302 Components**

SARA 302: No chemicals in this material are subject to the reporting requirements of SARA Title III, Section 302.

**SARA 313 Components**

SARA 313: This material does not contain any chemical components with known CAS numbers that exceed the threshold (De Minimis) reporting levels established by SARA Title III, Section 313.

**SARA 311/312 Hazards**

No SARA Hazards

**Massachusetts Right To Know Components**

No components are subject to the Massachusetts Right to Know Act.

**Pennsylvania Right To Know Components**

Triethyl citrate

CAS-No.  
77-93-0

Revision Date

**New Jersey Right To Know Components**

Triethyl citrate

CAS-No.  
77-93-0

Revision Date

**California Prop. 65 Components**

This product does not contain any chemicals known to State of California to cause cancer, birth, or any other reproductive defects.

---

**16. OTHER INFORMATION**

**Further information**

Copyright 2009 Sigma-Aldrich Co. License granted to make unlimited paper copies for internal use only. The above information is believed to be correct but does not purport to be all inclusive and shall be used only as a guide. The information in this document is based on the present state of our knowledge and is applicable to the product with regard to appropriate safety precautions. It does not represent any guarantee of the properties of the product. Sigma-Aldrich Co., shall not be held liable for any damage resulting from handling or from contact with the above product. See reverse side of invoice or packing slip for additional terms and conditions of sale.

---

