

CORRECCIONES INFORME
FINAL
FIA PYT
2013-0018

OFICINA DE PARTES 1 FIA	
RECEPCIONADO	
Fecha	05-04-2017
Hora	12:28
Nº Ingreso	37744

MEMORIA DESCRIPTIVA

CAMPO DE LA INVENCION

La presente invención se refiere a una película degradable para empaque de frutas y hortalizas, que comprende una matriz polimérica en base a poliolefina que incorpora un agente activo antimicrobiano (biocida o fungicida) de aceite esencial seleccionado del grupo consistente de carvacrol, cinemaldehído, cineol, sabineno, thujaplicin o una mezcla de los mismos, o incorpora dicho aceite esencial seleccionado del grupo consistente de: aceite de canela, aceite de orégano, aceite de eucalipto, aceite de nuez moscada, aceite de honokitiol, o una mezcla de los mismos, y además comprende un agente degradante; procedimiento de microencapsulación dichos agentes activos antifúngicos o antibacterianos de aceite esencial o dicho aceite esencial; y procedimiento de preparación de la película.

Preferentemente, la presente película es una película inteligente para empaque de frutas y hortalizas, en base a una poliolefina seleccionada de polietileno (PE), polipropileno (PE), poliestireno (PS) y etilvinilacetato (EVA) y agentes antimicrobianos de aceite esencial o dicho agente esencial, que puede estar microencapsulado en un agente encapsulante seleccionado del grupo consistente de: ciclodextrina (β - o γ -), arcilla o sílica; y además incorpora un agente degradante, seleccionado del grupo consiste de: nanocarbonato de calcio, carbonato de calcio, almidón, celulosa o una mezcla de los mismos. Dicha película cuenta con propiedades antimicrobianas (biocidas o fungicidas), y una vez cumplido su ciclo de vida, esgradable al medio ambiente.

ANTECEDENTES

Existen tres diferentes problemáticas que se encuentran pendiente en el área de las películas para alimentos. En primer lugar, la lenta degradación de los plásticos ya que las poliolefinas actualmente usadas en su manufactura, no pueden ser fácilmente degradadas en condiciones ambientales – su degradación dura aproximadamente 400

años – causando así, un incremento en la contaminación e impacto ambiental como consecuencia de la acumulación de desechos plásticos. En segundo lugar, la acumulación de residuos es también otro problema que en la actualidad genera grandes daños ambientales. En Chile, en el año 2009, la generación de residuos sólidos municipales alcanzó los 6,5 millones de toneladas anuales en residuos plásticos. Por último, un gran número de alimentos, frutas, verduras o fármacos se deterioran por acción del ambiente, bacterias, hongos entre otros, debido a que no se cuenta con un envase adecuado que impida su deterioro y que aisle apropiadamente el producto.

Chile es un gran exportador en el área agronómica en especial en frutas, ocupando el primer lugar a nivel mundial en la exportación de uvas, y en segundo lugar en paltas [http://www.prochile.cl/nexos/antecedentes_exportaciones_fruta_chilena.pdf (vista en Noviembre 2012)], además de otras frutas como kiwi, manzanas, peras, cerezas. Así, la industria de empaque de frutas juega un papel importante en el desarrollo económico del país. Por esto, es de gran importancia tener un buen mecanismo para evitar la maduración de la fruta durante su transporte, entre los factores más comunes que alteran las propiedades de las frutas se encuentran la humedad, luz, oxígeno y bacterias, hongos y plagas del ambiente. Análisis económicos indican que los exportadores pierden hasta el 30% de los productos frescos debido a la maduración y descomposición durante el transporte [RHIM J.W., Ng P.K.W. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 47 (4),411-433]. Estos desafíos llevan a la búsqueda de alternativas, para mantener la calidad de las frutas. Actualmente, se ha reportado la preparación de películas de plásticos con propiedades biocidas, los que contienen algunos metales como plata, cobre o titanio [Zapata P.A., Tamayo L., Páez M., Cerda E., Azocar I., Rabagliati F. M., *E. Polym. J.* 47(2011) 1541, Palza H., Gutierrez S., Salazar O., Fuenzalida V., Avila J., Quijada R., *Macromol. Rapid. Commun.* 31 (2010) 63]. Es conocida la ventaja de la plata y el cobre debido a que son potentes en un amplio espectro contra bacterias, hongos, algas y virus [Duncan T.V., *J. Colloid Interf. Scien.*, 363 (2011) 1-24]. La preparación de compositos en base a polímeros presenta

la propiedad que la liberación de los iones del metal puede ser controlada por un determinado período de tiempo. En el caso de usar nano o partículas de plata y cobre como biocidas, queda duda de su toxicidad al ser humano.

A nivel industrial en el sector de empaques de alimentos, en Chile, se utiliza dióxido de azufre (SO_2) como un agente antimicrobiano. El SO_2 es un antioxidante y preservativo de productos como vegetales, frutas y vinos. El SO_2 actúa como preservante de alimentos previniendo el crecimiento microbiano. Sin embargo, el SO_2 puede causar diversos problemas de salud como cefalea crónica y trastornos de memoria. En 1989 se introdujo un nivel de tolerancia de 10 ppm para el SO_2 . Diferentes esfuerzos han sido desarrollados para empaques en la liberación controlada del SO_2 de poliolefinas. Plásticos en multicapas conteniendo en la superficie externa, sulfito de calcio, y en una capa de liberación, el dióxido de azufre, SO_2 . Es conocido que el método empleado para la liberación de SO_2 es costoso además puede presentar problemas para la salud, si se comprende altas concentraciones de SO_2 . Por lo tanto, es importante buscar un producto natural que actúe como biocida y fungicida para los alimentos, especialmente frutas. Por otro lado, con respecto a la degradabilidad de estas películas para el embalaje de alimentos, las empresas deben ir cumpliendo en la mayoría de los países, una serie de normativas que regulan el manejo de desechos de bolsas plásticas y películas en base a polímeros.

Pocas empresas ya están certificando que sus películas tengan sustentabilidad y que sea amigable con el medio ambiente. Estas bolsas presentan entre otras características oxodegradabilidad pero la desventaja de los aditivos usados en su preparación como prodegradantes es que requieren la presencia de luz para que el polímero sea degradable al medio ambiente. Por lo tanto, en el área de la degradabilidad de películas en base a polímeros se tiene grandes retos por resolver.

Por otra parte, la demanda de empaques para alimentos que mantengan la calidad del mismo, por un largo período, ha incrementado fuertemente en las últimas décadas, y se espera siga creciendo de la misma forma. Por ello, diferentes metodologías han sido desarrolladas para aumentar el tiempo de vida de los alimentos. Un película para conservación de lechuga, fue preparado con polipropileno y nanopartículas de TiO_2 . El empaque inhibió el crecimiento de *E. Coli* en la lechuga [Chawengkijwanich C., Hayata Y., Int.J.FoodMicrobiol. 123 (2008) 288]. Los materiales usados como agentes antimicrobianos en polímeros son nanopartículas de óxido de zinc [Li X., Xing Y., Jiang.Y., Ding Y., Li W, Int.J.FoodSci Tech 44 (2009) 2161] y quitosano [Xing K, Chen X.G., Kong M., Liu C.S., Cha D.S., Park H.J., Carbohydr.Polym. 76 (2009) 17].

Otros compuestos de gran interés como agentes biocidas y fungicidas son los aceites esenciales [Burt S., International Journal of Food Microbiology 94 (2004) 223– 253]. Los aceites se pueden extraer de la canela (cinalmaldehído), orégano (carvacrol), eucaliptus (cineol), tomillo (timol), entre otros. La actividad microbiciada de diferentes aceites esenciales en la incorporación de polímeros ha sido estudiada [López P., Sánchez C., Batlle R., Nerin C., J. Agric. Food Chem., 55, 4348 (2007)]. Películas de polietileno con arcilla y carvacrol muestran propiedades biocidas contra diferentes bacterias [Persico P., et.al., Polymer Engineering Science, 49 (2009) 1447]. Por tanto, una alternativa de obtener una película biocida, será incorporando un aceite esencial en una matriz polimérica.

Debido al aumento preocupante de desechos plásticos a nivel mundial, se propone con este proyecto buscar una poliolefina degradable que retenga la función de ésta mientras cumple el ciclo de vida pero que al degradarse sus productos finales, no sean tóxicos al ambiente. En la literatura se encuentran algunas patentes usando metales de transición en forma de sales, Ejemplos de prodegradantes incluyen estereato y oleato de magnesio, sales de cobalto y acetato férrico [Newland GC, Greear GR, Tamblin JW. Polyolefin compositions and degradable films.Pat US3454510, assigned to Eastman

Kodak Co.; 1969, Peng C. A degradable polyolefin resin and process for making same. Pat WO2008020752, assigned to Gain Mark Technology Ltd.; 2008]. Otros prodegradantes son provenientes de óxidos metálicos fotoestables como el TiO_2 y ZNO [Ammala A, Hill AJ, Meakin P, Pas SJ, Turney TW. J Nanopart Res 2002;4:167–74]. Se ha reportado que solo se requiere un 2% en peso de prodegradante con respecto a la poliolefina, y esto hace, que el proceso sea amigable por extrusión o por inyección, En la literatura se informa del estudio de carbonato de calcio, almidón y celulosa para degradación de poliolefinas como polietileno y polipropileno [Forsberg G., Moessner EK., Chapman GM., Packages. Pat WO2006009502, ADD-XBIOTECH;2006]. Esto fue realizado con fines de obtener un producto para un empaque de alimentos y para bolsas con características oxodegradables. El carbonato de calcio en forma nanopartículas ha sido usado además como refuerzo de polietileno y propileno con el fin mejorar las propiedades mecánicas. Este mineral también permite promover y acelerar la degradación de las poliolefinas bajo condiciones ambientales, el cual es evidenciado en una disminución en sus pesos moleculares y un importante incremento en el índice de carbonilo que da una idea del rompimiento de las cadenas, la formación de cetonas, aldehídos entre otros, y por tanto degradación del polímero [Pablos J. L., Abruscí C., Marín I., López-Marín J., Catalina F., Espí E., Corrales T., Polymer Degradation and Stability 95 (2010) 2057, Li J, Yang R., Yu J., Liu Y., Polym.Degrad. Stab. , 93 (2008) 84].

US2014242138 divulga formulaciones de aceites esenciales microencapsulados adecuados para aplicaciones agrícolas, donde al menos un aceite esencial se encuentran en un núcleo sólido encapsulado por carcasa exterior anfipática que consiste esencialmente de una forma de sal multivalente de al menos un ácido alcanoico. También, enseña un proceso de preparación para la formulación y su aplicación como preservante, desinfectante y producto repelente de insectos para almacenar productos o alimentos agrícolas.

US2014154426 divulga un proceso para la obtención de una película compuesta de la incorporación de agentes antimicrobianos de origen natural en una estructura polimérica para desarrollar paquetes para aumentar la vida útil de la carne refrigerada, preferentemente salmón fresco, en donde dicho proceso comprende las siguientes etapas: a) obtener microcápsulas de un agente antimicrobiano de origen natural en un medio envolvente, que comprende las etapas de: a1) la producción de una fase acuosa disolviendo goma árabe (Quimatic) y Tween 20 en agua destilada; a2) la producción de una fase oleosa a través de una solución del agente antimicrobiano de origen natural con una mezcla de timol y carvacrol; a3) preparar una emulsión incorporando la fase acuosa sobre la fase oleosa; b) la incorporación de las microcápsulas en polímeros, el tratamiento anteriormente ellos a fin de reducir su tensión superficial (tratamiento corona), las microcápsulas de sedimentación sobre la película, y dejando secar en una estufa a temperatura controlada.

CN103788494 divulga una película de frutas y verduras frescas y un método para su preparación, donde la película comprende polietileno (PE), polipropileno (PP) y un material de alta barrera copolímero de etileno/alcohol vinílico (EVOH), los que sirven materias primas básicas, y esencia de semilla de aceite de romero y uva como ingredientes activos. La película se prepara mezclando uniformemente las materias primas básicas y los ingredientes activos para preparar una resina modificada a través de una extrusora de doble tornillo, y luego su extrusión y soplado a través de la resina modificada. La película así preparada permite inhibir el crecimiento microbiano, la evaporación del agua y la tasa de respiración de frutas y verduras, obteniéndose un efecto de resistencia a la oxidación, el pardeamiento enzimático de las frutas y verduras.

CN103159970 se refiere a un método de preparación de una película comestible con funciones antibacterianas y antioxidantes, y pertenece al campo técnico de los materiales de envasado comestibles. El método de preparación descrito por la

invención comprende las siguientes etapas: 1) disolver y gelatinizar el almidón de maíz; 2) disolver la gelatina; 3) disolución de quitosano; 4) añadir glicerina y aceite esencial de planta o componentes de aceites esenciales; 5) mezclar, homogeneizar y refinar; 6) desgasificación; 7) fundición en cinta; y 8) secado y extracción de la película.

El método de preparación muestra los efectos beneficiosos que quitosano, almidón de maíz y gelatina muestran como materiales base de la película comestible. La película comestible así preparada tiene propiedades mecánicas ventajosas, alto rendimiento de barrera y una gran transparencia.

Entre los aceites esenciales se enseñan aceite de orégano, carvacrol y cinamaldehído como agentes antibacterianos y un antioxidante para ser añadido en la película comestible.

CN101965863 describe un microencapsulado para mantener frescor de frutas y hortalizas que se prepara a partir de quitosano, propóleos y beta-ciclodextrina, que se usan como materiales de la pared, y aceite de casia, aceite de romero y aceite de limón, que se utilizan como materiales de núcleo. El microencapsulado se prepara mediante las siguientes etapas de: añadir la beta-ciclodextrina y agua en una botella de tres puertos con agitación eléctrica y calentamiento a 60-70°C para disolver la beta-ciclodextrina en agua revolviendo continuamente y enfriamiento a 40-45°C. La adición de los materiales del núcleo: aceite de cassia, aceite de romero y aceite de limón, permiten asegurar que la mezcla de aceites esenciales se dispersé uniformemente en una solución después enfriar lentamente a la temperatura ambiente para obtener una microcápsula de aceite esencial en beta-ciclodextrina, al añadir el material de la pared mixta de quitosano y propóleo, y la adición de glicerol y Tween-80, se agita continuamente durante 30 minutos para formar el microencapsulado.

US2008220036 enseña un material de envasado antimicrobiano para productos alimenticios que contienen de 0,05% a 1,5% en peso de un aceite esencial natural. El aceite se puede seleccionar de principalmente linalool y/o metilchavicol, pero también de uno o más de citral, geraniol, cinamato de metilo, metil eugenol, 1,8-cineol, trans- α -bergamotena, carvacrol y timol mezclado con uno o más polímeros seleccionados del copolímero de etileno y alcohol de vinilo, poliacrilatos, incluyendo copolímeros de metacrilato de etilo, acrilato de metilo ionomers, nylons y otros polímeros hidrófilos o polímeros que poseen grupos funcionales capaces de anclaje parcial. Un agente de unión tal como el polietilenglicol se añade a la mezcla para mejorar la retención del aceite volátil en el polímero durante el procesamiento. Este material no tiene limitaciones de regulación y, a las concentraciones que se hace referencia, no forma malos sabores detectables.

MX2007008879 enseña formulaciones que contienen aceites esenciales microencapsulados y un vehículo no volátil, las que son útiles como repelente, insecticida, pesticida, ovicida o larvicida.

El película de la presente invención es una película inteligente para embalaje de frutas y hortalizas con doble función: biocida y fungicida, y a la vez, tiene propiedades degradantes al medio ambiente. La incorporación de un agente activo o aceite esencial que le brindará al polímero o película propiedades biocidas y fungicidas (antimicrobiana) con el fin de conservar, aumentar el tiempo de vida y calidad del producto que se va a comercializar, evitando la descomposición de las frutas.

El objetivo de la presente película es que la fruta u hortaliza, conserve sus características intrínsecas durante su transporte a los mercados y pueda ser entregado, en buen estado. Además, una vez que la película cumple el tiempo de vida útil, presenta propiedades degradantes al medio ambiente, en un período de 3-4 años. El cual se obtiene mediante la preparación de una película con adición de un agente

degradante o prooxidante que mitiga la contaminación y disminuye los desechos generados al medio ambiente.

BREVE DESCRIPCION DE LA INVENCION

La presente invención se refiere a una película para empaque de frutas y hortalizas que comprende una matriz polimérica en base a poliolefina que incorpora agente activo antimicrobiano (biocida o fungicida) de aceite esencial seleccionado del grupo consistente de carvacrol, cinemaldehído, cineol, sabineno, thujaplicín o una mezcla de los mismos o incorpora dicho aceite esencial seleccionado del grupo consistente de: aceite de canela, aceite de orégano, aceite de eucalipto, aceite de nuez moscada, aceite de honokitiol o una mezcla de los mismos, que pueden además estar microencapsulado, y adicionalmente comprende un agente degradante; procedimiento de microencapsulación dichos agentes activos antifúngicos o antibacterianos biológicos de aceite esencial o dicho aceite esencial; y procedimiento de preparación de la película.

La presente película es una película inteligente para empaque de frutas y hortalizas, que comprende una matriz polimérica en base a poliolefina que incorpora dicho agente antimicrobianos de aceite esencial o dicho aceite esencial, que opcionalmente puede estar microencapsulado, y además incorpora un agente degradante; y procedimiento de microencapsulación de dicho agente antimicrobiano de aceite esencial o dicho aceite esencial, y procedimiento de preparación de la película.

La presente película es una película inteligente para empaque de frutas y hortalizas que comprende matriz polimérica en base a una poliolefina seleccionada de polietileno (PE), polipropileno (PE), poliestireno (PS) y etilvinilacetato (EVA), la que incorpora dicho agente antimicrobiano de aceite esencial o dicho aceite esencial, que puede estar opcionalmente microencapsulado y donde dicho agente encapsulante es seleccionado del grupo consistente de ciclodextrina (β - o γ -), arcilla o silica; y además incorpora un

agente degradante seleccionado del grupo consistente de nanocarbonato de calcio, carbonato de calcio, almidón, celulosa o una mezcla de los mismos, y donde además el nanocarbonato de calcio cumple la función de un agente de refuerzo. Dicha película cuenta con propiedades antimicrobianas (biocidas o fungicidas), y una vez cumplido su ciclo de vida, es degradable al medio ambiente.

Como agentes activos antimicrobianos se incluyen los principios activos de aceites esenciales incluyendo carvacrol, cinamaldehído, cineol, sabineno, thujaplicin o una mezcla de los mismos. Estos aceites esenciales provienen del orégano, canela, eucalipto, nuez moscada, honokitiol, entre otras plantas. Los principios activos presentan la ventaja de tener mayor estabilidad térmica que los extractos de aceites esenciales. Los principios activos pueden microencapsularse con el fin de evitar la volatilización y/o descomposición de los agentes antimicrobianos debido a las condiciones del proceso de extrusión. Agentes de microencapsulación de los principios activos incluyen: ciclodextrina (β - o γ -), arcilla o sílica. Preferentemente, el agente de microencapsulación es β -ciclodextrina que es un oligosacárido natural que se obtiene de la degradación enzimática del almidón. Para la microencapsulación, se establecieron variables de encapsulamiento (relación material β -ciclodextrina/agente antimicrobiano de aceite esencial (o principio activo), proceso de encapsulamiento, velocidad de agitación, entre otros). Como a modo de comparación, los aceites (orégano y canela) y sus principios activos (carvacrol, cinamaldehído) fueron incorporados directamente al polietileno mediante mezcla en fundido para la formación de la película o película. A la vez, se incorporó nanocarbonato de calcio al polietileno con el fin de estudiar la degradabilidad de éste en el tiempo simulando condiciones ambientales.

BREVE DESCRIPCION DE FIGURAS

La Figura 1 muestra los espectros IR β -ciclodextrina pura, carvacrol y cinamaldehído puros, y las microcapsulas β -ciclodextrina/carcacrol (b-CD-Car) y β -ciclodextrina/Cinamaldehído (b-CD-Cin).

La Figura 2 muestra termogramas DSC β -ciclodextrina (b-CD) y microcapsulas β -ciclodextrina/carvacrol (b-CD-Car) y β -ciclodextrina/cinamaldehido (b-CD-Cin).

La Figura 3 muestra termograma TGA de b-CD y de los complejos de inclusión b-CD/cinamaldehido (b-CD-Cin) obtenidas mediante el método de co-precipitación.

La Figura 4 muestra micrografia SEM realizadas a (A) b-CD, (B) b-CD-cinamaldehido y (C) b-CD-carvacrol, mediante un método de co-precipitación.

La Figura 5 muestra espectros IR polietileno, cinamaldehido, b-CD, polietileno/b-CD-Cin y polietileno/Cin.

La Figura 6 muestra espectros IR polietileno, carvacrol, b-CD, polietileno/b-CD-Car y polietileno/Car.

La Figura 7 muestra termogramas DSC para películas, PE solo, PE + Cinamaldehido 5%, PE + b-CD-Cinamaldehido 5% y PE + b-CD-Cinamaldehido 5% (principio activo).

La Figura 8 muestra termogramas DSC para películas, PE solo, PE + Carvacrol 5%, PE + b-CD-Carvacrol 5% y PE + b-CD-Carvacrol (5% principio activo).

La Figura 9 muestra termogramas TGA polietileno (PE), polietileno- microcapsulas cinamaldehido (PE+b-CD-Cin) y carvacrol (PE+b-CD-Car).

La Figura 10 muestra el índice de carbonilo de PE y PE/CaCO₃ a diferentes tiempos de irradiación

DESCRIPCION DETALLADA DE LA INVENCION

La presente invención se refiere a una película para empaque de frutas y hortalizas, que comprende una matriz polimérica en base a poliolefina que incorpora un agente activo antimicrobiano (biocida o fungicida) de aceite esencial seleccionado del grupo consistente de carvacrol, cinemaldehído, cineol, sabineno, thujaplicin o una mezcla de los mismos, o incorpora dicho aceite esencial seleccionado del grupo consistente de: aceite de canela, aceite de orégano, aceite de eucalipto, aceite de nuez moscada, aceite de honokitiol o una mezcla de los mismos, que pueden estar microencapsulados, y además comprende un agente degradante y; procedimiento de microencapsulación de dicho agente activo antimicrobiano de aceite esencial o dicho aceite esencial; y procedimiento de preparación de la película.

La presente película es una película inteligente para empaque de frutas y hortalizas, que comprende una matriz polimérica en base a poliolefina, la que incorpora dicho agente antimicrobiano de aceite esencial o dicho aceite esencial que puede opcionalmente estar microencapsulado, y además incorpora un agente degradante; y procedimiento de microencapsulación de dicho agente antimicrobiano de aceite esencial o dicho aceite esencial; y método de preparación de la película.

La presente película es una película inteligente para empaque de frutas y hortalizas, en base a una poliolefina seleccionada de polietileno (PE), polipropileno (PE), poliestireno (PS) y etilvinilacetato (EVA) y dicho antimicrobiano de aceite esencial microencapsulado o dicho aceite esencial que puede opcionalmente estar microencapsulado, donde el agente encapsulante se selecciona del grupo consistente de: ciclodextrina (β - o γ -), arcilla o sílica; y además comprende un agente degradante seleccionado de nanocarbonato de calcio, carbonato de calcio, almidón, celulosa o una mezcla de los

misimos. Dicha película cuenta con propiedades antimicrobianas (biocidas o fungicidas), y una vez cumplido su ciclo de vida, es degradable al medio ambiente.

En una modo de realización de la presente invención, se usaron como agentes activos antimicrobianos o principios activos fungicidas: cinemaldehído, carvacrol, y aceites esenciales incluyendo aceite de orégano y aceite de canela, los que previamente fueron caracterizados mediante análisis de espectroscopia infrarroja (FT-IR). Para evitar la volatilización o descomposición de los aceites esenciales bajo las condiciones del proceso de extrusión, estos primero fueron microencapsulados, con el fin de preservar el principio activo. En este sentido, se establecieron variables de encapsulamiento de los aceites en oligosacáridos cíclicos como beta-ciclodextrina. Posteriormente, estos aceites encapsulados fueron caracterizados mediante diferentes técnicas espectroscópicas e instrumentales como: espectroscopia infrarroja FT-IR, UV-Vis, análisis diferencial de barrido (DSC), análisis termogravimétrico (TGA) y microscopia electrónica de barrido (SEM). Mediante las técnicas mencionadas, se confirmó que el aceite esencial fue incorporado dentro de la beta-ciclodextrina.

La beta-ciclodextrina permitió el encapsulamiento satisfactorio de los aceites esenciales.

Como se puede observar en los resultados, los principios activos incluyendo carvacrol y cinemaldehído, son estables térmicamente, no necesitan ser microencapsulados y presentan alto porcentaje de poder fungicida al ser incorporados directamente en la matriz de polietileno. Por otro lado los aceites esenciales, especialmente el aceite de orégano, necesitan ser microencapsulados debido a que son compuestos más volátiles y en el procesamiento puede haber pérdida de éstos, evidenciándose en sus propiedades fungicidas mas bajas, al ser microencapsulados que equivalen a 1% de su compuesto, se observa actividades fungicidas de un 40%, la microencapsulación

estabiliza al aceite esencial lo protege de descomposición a altas temperaturas de procesamiento.

EJEMPLOS

1. Preparación y resultados de las microcápsulas de β -Ciclodextrina/principio activo

Para la preparación de las microcapsulas β -ciclodextrina/aceite esencial o β -ciclodextrina/principio activo o agente antimicrobiano de aceite esencial, se utilizó el método de co-precipitación. Se procedió a pesar una cantidad de β -ciclodextrina y se solubilizó en una solución agua/etanol 2:1 en un reactor, bajo agitación constante a una temperatura de 55°C, en paralelo se prepara una solución del agente activo en etanol al 10% v/v. Una vez que la β -ciclodextrina se solubiliza se agrega el agente activo lentamente a la solución, mezclando a 55°C por 30 minutos. Luego, se disminuye la temperatura 25°C y se deja en agitación por 4 horas. La solución final se deja bajo refrigeración a 7°C por un lapso de 12 horas, finalmente el precipitado frío, se recuperó por filtración al vacío y se secó en estufa por 24 horas. [19-21]

Determinación de rendimiento y eficiencia de encapsulación.

La eficiencia de encapsulación, se cuantificó mediante espectroscopia UV, en un espectrofotómetro UV-visible weisser SPECORD100. Para esto se realizó previamente una curva de calibración utilizando diferentes concentraciones. La Eficiencia de encapsulación (E.E), se obtuvieron a partir de las siguientes ecuaciones

$$E.E = \frac{\text{masa de agente activo obtenida}}{\text{masa inicial del agente}} * 100$$

Las microcápsulas obtenidas se caracterizaron mediante técnicas espectroscópicas como infrarroja (FT-IR), espectrofotometría UV-visible y calorimetría diferencial de barrido (DSC), análisis termogravimétrico TGA y microscopia electrónica de barrido (SEM), ver Figuras 1-4 y 6-10.

2. Preparación de películas base polietileno (PE) y principio activo antimicrobiano.

2.1. Preparación de mezcla polímero/principio activo antimicrobiano mediante mezclado en fundido:

Las mezclas se realizaron en un equipo Brabender de doble tornillo. El equipo se calentó previamente a 120°C a 12 rpm durante 5 minutos para que el polímero se funda. Luego, se agrega un agente antimicrobiano de aceite esencial seleccionado del grupo consistente de: aceite de canela (A. canela), aceite de orégano (A. orégano), carvacrol (Carv), cinemaldehído (Cin), beta-ciclodextrina-carvacrol (b-CD-Car), beta-ciclodextrina cinemaldehído (b-CD-Cin) y se mezclan por 2 minutos a 120 rpm hasta que quede bien homogénea. Se estudiaron las mezclas, variando la cantidad de dicho agente antimicrobiano, así se prepararon mezclas 99/1, 97/3 y 95/5 %p/p. Las mezclas formadas fueron PE/A. Canela, PE/A. Orégano, PE/Carv, PE/Cin, PE/ b-CD-Car y PE/b-CD-Cin, polietileno solo (100%). Además junto con el agente activo (cinemaldehído o carvacrol), se incorporó nanocarbonato de calcio al 5% en peso respecto al peso del polímero, el que permite la degradación del polímero.

Tabla N°1. Relación Polietileno (PE)/Principio activo antimicrobiano utilizado en las mezclas

Película	% Principio activo antimicrobiano	Masa b-CD	Masa A.A
	1	0	0,35
PE + A. Canela	3	0	1.05
	5	0	1,75
PE + b-CD/A.	1	0,28	0,07

Canela	3	0,85	0,20
	5	1,40	0,35
	1	0	0,35
PE+ A. Orégano	3	0	1,05
	5	0	1,75
	1	0,28	0,07
PE+ b-CD-A. Orégano	3	0,85	0,20
	5	1,40	0,35
	1	0	0,35
PE+ Cinamaldehido	3	0	1,05
	5	0	1,75
	1	0,28	0,07
PE+ b- CD/Cinamaldehido	3	0,85	0,20
	5	1,40	0,35
	1	0	0,35
PE+ Carvacrol	3	0	1,05
	5	0	1,75
	1	0,28	0,070
PE+ b-CD- Carvacrol	3	0,85	0,200
	5	1,40	0,350
	1	0,28	0,070

Masa b-CD: Masa de la β -Ciclodextrina, masa A.A: Masa del agente activo.

2. Preparación de las películas de PE mediante prensado en fundido:

Las películas se obtuvieron mediante prensado a 170°C y 344 KPa (50 psi) de presión, en un equipo Scientific, LabTech Engineering. Una vez obtenidas las mezclas polímero/agente antimicrobiano, estas se colocaron en un molde de 12 cm x12 cm y 1mm de espesor, luego se realizó un prensado por 3 minutos, posteriormente las placas fueron enfriadas y retiradas.

3. Caracterización de las películas de las películas de polietileno con principio activo antimicrobiano

Las películas obtenidas fueron caracterizadas mediante espectroscopia infrarroja (FT-IR), calorimetría diferencial de barrido (DSC), Análisis termogravimétrico (TGA), además se estudiaron las propiedades mecánicas mediante ensayos de tracción deformación y sus propiedades antimicrobianas frente al crecimiento de *botrytis cinérea*.

3.1. Espectroscopia infrarroja (FT-IR): Los espectros IR fueron obtenidos utilizando un equipo Perkin Elmer BX-FTIR en un rango que va desde los 600 a los 4000 cm^{-1} .

3.2. Calorimetria diferencial de barrido (DSC): Las medidas se realizaron en un equipo Mettler DSC823, con una velocidad de calentamiento de 10°C min^{-1} en atmósfera de N_2 , las muestras fueron calentadas desde 25 hasta los 180°C.

3.3. Analisis temogravimetrico (TGA): Las medidas se realizaron en un equipo Netzsch-TG209 F1 Libra con una velocidad de calentamiento de 10°C min^{-1} en atmósfera inerte, las muestras fueron calentadas desde 25 hasta los 600°C.

3.4. Ensayo Tracción-Deformación: Las propiedades mecánicas de los materiales se determinaron mediante ensayos de tracción-deformación, en un dinamómetro HP Instron D-500, a una velocidad de deformación de 50 mm/min a temperatura ambiente.

Las muestras fueron preparadas cortando probetas de ensayo desde una placa de 1 mm de espesor, utilizando un molde de acero según la norma ASTM D638. Se realizaron como mínimo de 4 determinaciones por material, reportando el valor promedio simple.

4. Estudio propiedades fungicidas:

Método de recuento de colonias: Este método permite cuantificar la actividad fungicida de las películas estudiadas. Las muestras y los controles fueron cortados en cuadrados de 2,5 x 2,5 cm y esterilizados. Posteriormente, se inoculan en suero fisiológico estéril (SF) entre 1×10^4 y 5×10^6 esporas del hongo *B. cinerea*, se toman 500 μ L y se depositan en la superficie de las películas durante 8 horas a temperatura ambiente. Posteriormente, las películas se depositan en 10 mL de SF utilizando tubos falcon de 50 mL, se toman 500 μ L de la suspensión recuperada y son diluidos en 4,5 mL de SF. Luego, se toman 200 μ L y se siembran en placas de agar sabouraud mediante la técnica de rastrillo por duplicado y se dejan incubando por 96 horas a temperatura ambiente. Finalmente, transcurrido el tiempo se cuantifican las unidades formadoras de colonias (UFC) y se obtiene el porcentaje de reducción mediante la siguiente ecuación

$$\% \text{ Reducción} = ((C-M)/C) \times 100$$

donde

C= Recuento UFC/mL del control

M= Recuento UFC/mL de la muestra

5. Estudio degradación de las películas con la incorporación de CaCO_3

Se estudió el efecto de la incorporación de nanopartículas de carbonato de calcio en la degradación del polietileno en una cámara que simula el envejecimiento solar, durante un periodo de tres meses. Películas de 5 x 5 cm fueron puestas en la cámara de degradación (marca Suntest/Atlas XLS 2200 W), la irradiación fue realizada usando

filtros solares (borosilicato) el cual provee una irradiación de 550 W m^{-2} (ISO 4892/DIN 53387). A diferentes tiempos de envejecimiento se estudió el índice de carbonilo de las películas de polietileno virgen y de polietileno con nanopartículas de CaCO_3 . La degradación se determinó midiendo el índice de carbonilo (CI) como la relación entre la densidad óptica de la banda del grupo carbonilo a 1715 cm^{-1} con la vibraciones del CH_2 a 1465 cm^{-1}

3. Resultados

3.1 Microencapsulación de los aceites esenciales o principios activos en la β -ciclodextrina

Espectroscopía IR

En la Figura 1, se muestran los espectros FT-IR para los principios activos (Cinamaldehído, carvacrol), β -ciclodextrina y para las microcapsulas β -ciclodextrina/principio activo. La denominación con la β -ciclodextrina y principios activos: carvacrol (β -CD-Car) y cinamaldehído (β -CD-Cin) respectivamente.

La Figura 2, presenta el espectro para los principios activos encapsulados en la β -ciclodextrina. Obtenidas de las microcapsulas: β -ciclodextrina/Carvacrol (β -CD-Car) y β -ciclodextrina/Cinamaldehído (β -CD-Cin). Para el carvacrol (β -CD-Car) aparecen señales cercanas a los $1300\text{-}1400 \text{ cm}^{-1}$ correspondientes principalmente a interacciones C-OH del anillo aromático, lo mismo se aprecia para el cinamaldehído (β -CD-Car) que tiene una señal cercana a los 1670 cm^{-1} correspondiente a los enlaces C=O característicos de este compuesto.

La microencapsulación de los aceites esenciales de orégano y canela también fue verificada mediante infrarrojo IR.

Todas estas señales confirman que el proceso de encapsulación de los diferentes principios activos antimicrobianos estudiados en la cavidad de la β -ciclodextrina fue satisfactorio.

Mediante espectrofotometría UV-Visible se determinó la eficiencia de encapsulación (E.E) a diferentes velocidades de agitación para todos los agentes activos mediante la siguiente ecuación:

$$EE. = \frac{\text{masa de agente obtenida}}{\text{masa inicial del agente}} * 100 \text{ (Ecuación 1)}$$

De los resultados obtenidos, se puede apreciar que los valores de la E.E aumentan a medida que aumenta la agitación llegando a un 90% para 1000 rpm. Esto indica que la agitación juega un rol importante, pues puede facilitar el proceso de inclusión de los principios activos antimicrobianos hidrofóbicos dentro de la cavidad de la β -ciclodextrina. Por otro lado, no se aprecian diferencias entre los aceites esenciales y sus principios activos antimicrobianos mayoritarios, esto nos indica que aunque los aceites poseen una variedad amplia de compuestos estos se pueden incorporar en el agente encapsulante.

Análisis térmico

Los termogramas DSC obtenidos para la β -ciclodextrina y las microcápsulas con los principios activos carvacrol (b-CD-Car) y cinamaldehído (b-CD-Cin) (Figura 2). Se aprecia una señal endotérmica cercana a los 130°C característica de la β -ciclodextrina, en el caso de las microcápsulas se registra una señal menos intensa y con un pequeño desplazamiento para ambos principios activos antimicrobianos, atribuido a las interacciones de los principios activos con la b-CD. El cambio en la señal endotérmica y el desplazamiento de esta, indica que la inclusión del principio activo antimicrobiano modifica la estructura cristalina de la ciclodextrina.

La Figura 3 presenta el termograma de TGA para la b-CD y para (b-CD-Cin). Para el caso de la b-CD este presenta un pico cercano a los 330°C correspondiente a la degradación térmica de esta. Para las microcapsulas b-CD-Cin se aprecia una señal a 325°C correspondiente a la b-CD, y otra señal en torno a los 260°C atribuido a la degradación del cinamaldehido, el termograma TGA para el cinamaldehido puro muestra el comienzo de la degradación cercano a los y el punto máximo de degradación se aprecia cercano a los 205°C. Con este análisis junto con corroborar la incorporación del agente activo en la b-CD, también se aprecia el efecto protector que la encapsulación le otorga al principio activo en condiciones de altas temperaturas. Similar comportamiento fue encontrado para las películas conteniendo carvacrol y b-CD.

Mediante microscopia electrónica de barrido (SEM), ver Figura 6, se aprecia que las microcapsulas b-CD-Car y b-CD-Cin Carvacrol, presentan una morfología diferente a la b-CD pura, este cambio se atribuye a la modificación en la estructura cristalina de la b-CD producto de la incorporación de los agentes activos.

Las microcápsulas presentan una forma irregular, hay presencia de regiones donde las microcapsulas se encuentran aglomeradas, pero existen algunas con una buena dispersión que presentan un tamaño promedio de 4 μm .

Mediante las técnicas antes mencionadas se confirmó que los principios activos antimicrobianos incorporados dentro de la β -ciclodextrina permite un encapsulamiento satisfactorio.

Como matriz polimérica se utilizó el polietileno de baja densidad (PEBD),

El polietileno en general se caracteriza por ser un polímero semi-cristalino, con buena resistencia química y procesabilidad, buen aislante eléctrico, presenta cierto grado de flexibilidad. El PEBD por su parte posee un alto grado de ramificaciones, lo que dificulta el ordenamiento de las cadenas poliméricas. Es un polímero amorfo con baja densidad (0,92 a 0,94 g/cm³), suave y flexible. Es utilizado en distintas aplicaciones, desde bolsas plásticas hasta aislamiento eléctrico.

3.2 Caracterización de las películas del principio activo antimicrobiano

Espectroscopía infrarrojo (IR)

La Figura 6 muestra los espectros IR obtenidos para el polietileno (PE), Cinamaldehído (Cin), β -ciclodextrina (b-CD), Polietileno/b-CD-Cin y Polietileno/Cin. Se observan las señales características del polietileno también las bandas características del cinamaldehído y la b-CD. Cabe destacar que en las películas que contienen el agente activo sin encapsulamiento, se aprecia la aparición de una señal entre 1500-1700 cm⁻¹, que si bien esta solapada corresponde a una señal característica del cinamaldehído, para las películas con microcapsulas b-CD-cinamaldehído aparece una señal en la región entre 1000-3000cm⁻¹ característica de la b-CD, Para el caso del carvacrol (figura 7), se aprecia un efecto similar, para el caso de la película con un 5% del agente sin encapsular aparece una señal entre los 1550-1580 cm⁻¹, característica del carvacrol, para el caso de la película con microcapsula, se aprecia claramente la señales características de la b-CD a los 3500 cm⁻¹ y entre los 1100-1150 cm⁻¹, esto confirma que aún después de los procesos, tanto de mezclado en fundido, como de prensado el agente activo queda ocluido en la matriz.

Análisis y estabilidad térmica de las películas de PE con el agente activo

Las Figuras 8 y 9 muestran los termogramas DSC para las películas de polietileno solo y las películas Cinamaldehído, Carvacrol, conteniendo 5% de principios activos antimicrobianos en la carga y con microcapsulas b-CD-Cinamaldehído, b-CD-Carvacrol

(conteniendo 1% del agente en la carga). Se observa una señal de fusión cristalina cercana a los 110°C para el caso del polietileno solo, para todas las películas estudiadas ya sea con el principio activo antimicrobiano sin encapsular y con la incorporación de microcapsulas, se puede apreciar que no existen mayores diferencias con el polietileno virgen en cuanto al comportamiento térmico que presentan, La señal de fusión cristalina para todos se mantiene en un rango entre los 110 y 115°C. Luego, la incorporación de los principios activos antimicrobianos ya sea encapsulados o sin encapsularse, no afecta las propiedades térmicas del material.

La Figura 10 muestra los termogramas TGA, tanto para el PE, como para las microcapsulas b-CD-Cin y b-CD-car al 5% en ambiente de nitrógeno. Para el caso del cinamaldehido, el termograma no presenta diferencias con el polietileno sin incorporación del principio activo, por lo que la presencia de agente activo al interior de la matriz no genera cambios significativos en la degradación de la película obtenida. Sin embargo para el caso del carvacrol, se aprecia una señal cercana a los 305°C atribuida a la descomposición térmica de la β -ciclodextrina confirmando la presencia de las microcapsulas al interior de la matriz. Mediante ambos análisis tanto DSC como TGA se confirma que la incorporación de las microcapsulas a la matriz, no afecta las propiedades térmicas de las películas en comparación al polietileno virgen.

Actividad películas obtenidas mediante el método de conteo de colonias:

Las Tablas 2 muestran los resultados obtenidos, para las películas de polímero solo con carvacrol y cinamaldehido y sus respectivos aceites esenciales (orégano, canela), además cada uno de ellos encapsulados en la β -ciclodextrina. Con el incremento de agente activo (cinemaldehido y carvacrol) se presentó un aumento en el porcentaje de reducción obteniéndose hasta un 99,9%, para ambos agentes activos cuando la carga fue de un 5%, ambos compuestos muestran una gran actividad fungicida.

Caso contrario para los aceites esenciales por lo que puede deberse a que son menos estables a altas temperaturas, volatizándose en el procesamiento. Cuando se

incorporan a la película los compuestos encapsulados, el efecto fungicida es menor llegando a un 31,4% para el carvacrol cuando la carga fue 5% en peso. Esto se debe principalmente a que la cantidad de principio activo que se incorpora al complejo de inclusión es menor, equivalente a 1%. Por otra parte se debe considerar que la liberación del principio activo hacia la superficie de la película es más lenta y requiere mayor cantidad de tiempo. Caso contrario para las películas sin complejos, donde los agentes activos quedan ocluidos en la matriz polimérica y su difusión a la superficie es mucho más rápida y en mayor cantidad generando esta diferencia en la actividad fungicida.

Tabla 2. Porcentaje de reducción de unidades formadoras de colonia (UFC) de las películas mediante el método de conteo de colonia

Película	Relación PE/carga (%)	Actividad fungicida (%)
PE + A. Canela	99/1	9,4
	97/3	31,2
	95/5	70,5
PE + A. Orégano	99/1	12,6
	97/3	46,8
	95/5	38,9
PE + Cinamaldehido	99/1	85,3
	97/3	93,7
	95/5	99,9

	99/1	25,4
PE + Carvacrol	97/3	92,5
	95/5	99,9
PE + b-CD-A. Canela	99/1	24,5
	97/3	31,2
	95/5	39,3
PE + b-CD-A. Orégano	99/1	15,7
	97/3	20,8
	95/5	41,4
PE + b-CD- Cinamaldehido	99/1	n.d
	97/3	n.d
	95/5	20
PE + b-CD- Carvacrol	99/1	27,9
	97/3	n.d
	95/5	31,4

Efecto de la incorporación del carbonato de calcio en el polietileno

En la Tabla 3, se presentan las propiedades mecánicas para los nanocompositos de PE/CaCO₃. Se pueden apreciar cambios significativos en los parámetros estudiados, por una parte se ve un aumento de hasta un 25% en el módulo de Young, lo cual quiere decir que para deformar el nanocomposito se necesita un esfuerzo mayor con respecto a la matriz sin adición de nanoparticulas. Esto se debe a que las nanoparticulas

generan nuevos centros de nucleación formando más esferulitas y de un tamaño menor, esta cristalinidad u ordenamiento compacto de las cadenas son las responsables de darle la rigidez al polímero.

La incorporación de nanopartículas de carbonato de calcio generó nuevo centros de fractura con la incorporación de 5 y 8%, ya que la zona amorfa y las cadenas que poseen movilidad se ven afectadas por la adición de estas reduciendo su movilidad, esto puede ser debido a las aglomeraciones de las nanopartículas en la matriz polimérica.

La incorporación óptima se realiza con la adición del 5% mejorando en un 20% su rigidez, los valores al 8% no presentan una gran variación, debido a la baja dispersión de las nanopartículas en la matriz.

Tabla 3. Propiedades mecánicas para los nanocompositos de CaCO_3 utilizando como matriz polietileno de baja densidad

Partículas	Carga	Módulo de Young (E)(Mpa)	Límite Elástico o Punto de fluencia (σ_y) (Mpa)	Elongación en ruptura (%)
CaCO_3				
S/P	S/N	202 ± 7	$7,71 \pm 0,03$	60 ± 8
Nanopartículas	3%	230 ± 7	$8,38 \pm 0,15$	59 ± 10

Nanopartículas	5%	250 ± 4	8,40 ± 0,09	42 ± 3
Nanopartículas	8%	254 ± 10	8,08 ± 0,14	39 ± 1

Se estudió el efecto de la incorporación de nanopartículas de carbonato de calcio en la degradación del polietileno en una cámara que simula el envejecimiento solar, durante un periodo de tres meses. Películas de 5cm x 5cm fueron puestas en la cámara de degradación marca Suntest/Atlas XLS 2200 W, la irradiación fue realizada usando filtros solares (borosilicato) el cual provee una irradiación de 550 W m^{-2} (ISO 4892/DIN 53387). A diferentes tiempos de envejecimiento se estudió el índice de carbonilo de las películas de polietileno virgen y de polietileno con nanopartículas de CaCO_3 . La degradación se determinó midiendo el índice de carbonilo (CI) como la relación entre la densidad óptica de la banda del grupo carbonilo a 1715 cm^{-1} con la vibraciones del CH_2 a 1465 cm^{-1} .

El infrarrojo del polietileno sin irradiar y después de irradiar durante 28 días con la incorporación de nanopartículas se observó una banda a 1700 cm^{-1} , debido a la degradación que ha sufrido el polietileno en el tiempo, por la incorporación de las nanopartículas. Se puede interferir que las nanopartículas están acelerando la degradación del polietileno.

En la Figura 6 se presenta el índice de carbonilo del polietileno y PE/CaCO_3 a diferentes tiempos de irradiación. Se puede observar el incremento de índice de carbonilo es mucho mayor al incorporar nanopartículas de CaCO_3 al polietileno, estas nanopartículas aceleran la degradabilidad del polietileno.

Los mejores resultados fueron los obtenidos para las películas con un 5% de agente activo (cinemaldehído o carvacrol) y con 5% de nanopartículas de carbonato de calcio por lo que éstas condiciones son las idóneas para preparar una película o película inteligente que tenga propiedades fungicidas pero que a la vez sea degradado en condiciones ambientales.

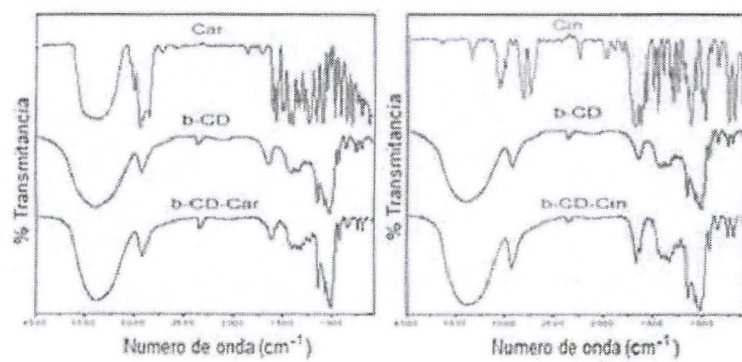


Figura 1

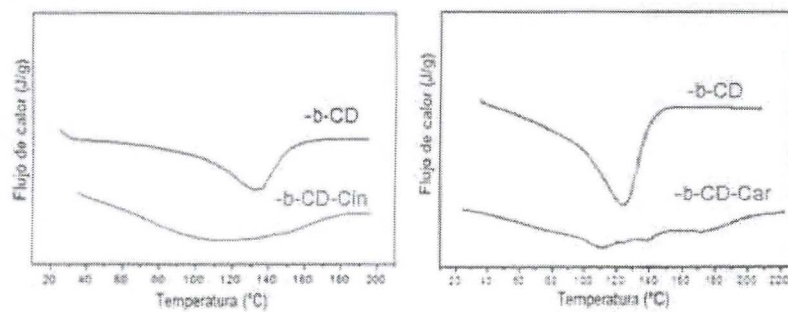


Figura 2

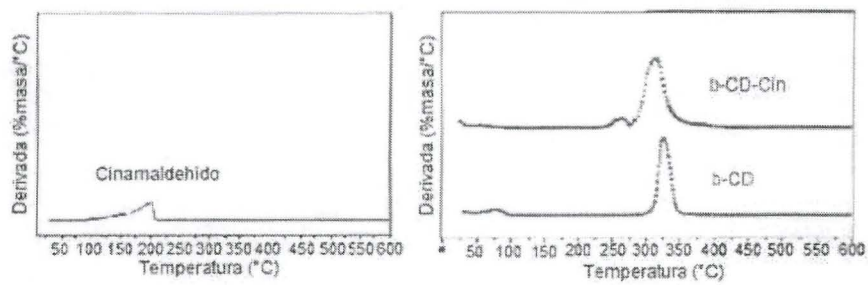


Figura 3

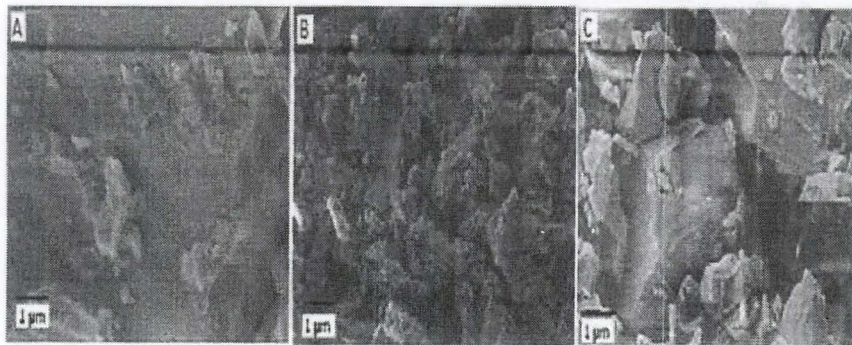


Figura 4

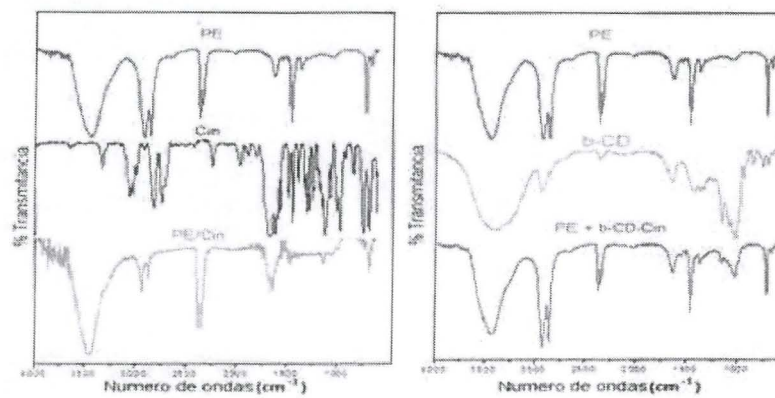


Figura 5

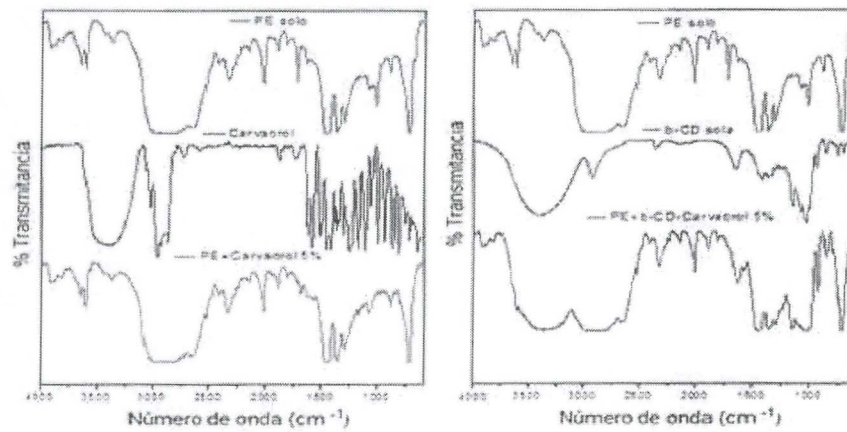


Figura 6

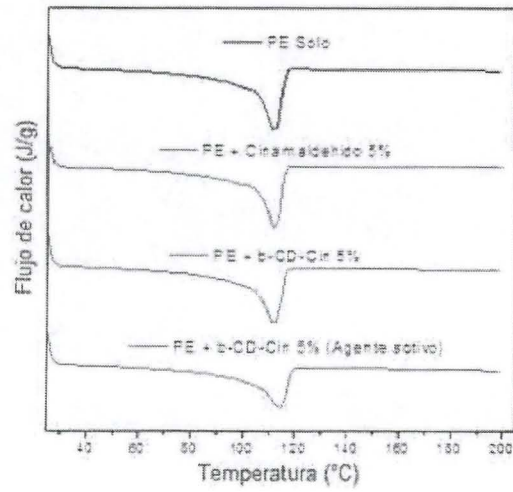


Figura 7

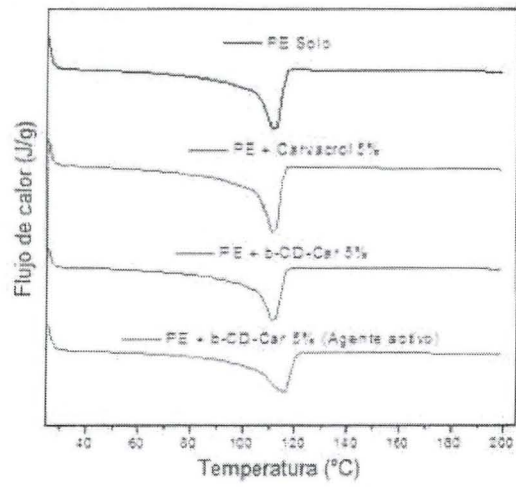


Figura 8

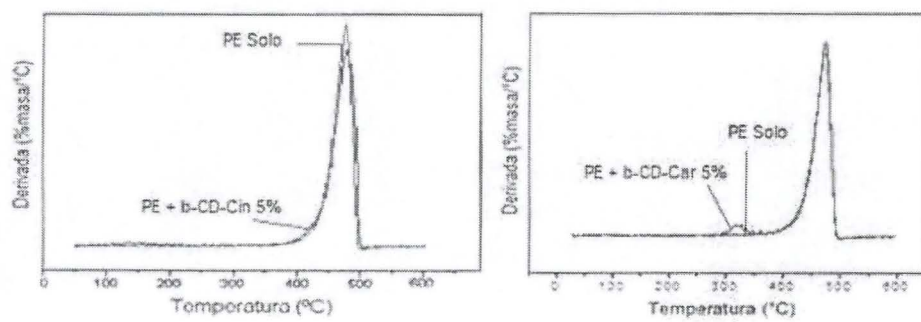


Figura 9

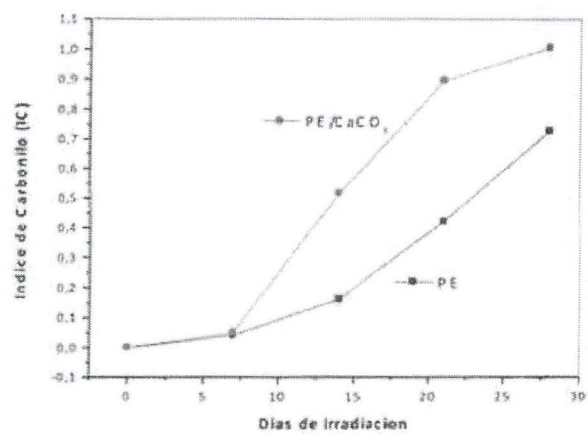


Figura 10

Anexo 1

ANEXO 1. RESULTADOS

A continuación se presentan los resultados obtenidos del proyecto, con el fin de cumplir el objetivo general “Producir un film inteligente para empaque de frutas y hortalizas, en base a poliolefina y productos naturales, el cual por medio de la adición de aceites esenciales (orégano, canela y eucalipto) y un mineral (carbonato y nanocarbonato de calcio), cuente con propiedades antimicrobianas (biocidas o fungicidas) y que una vez cumplido su ciclo de vida, el film tenga propiedades degradables al medio ambiente” .

1. Resultado esperado 1: “Obtener un film biocida con la adición de aceites esenciales y adecuadas propiedades de barrera.”

A continuación se presentan los resultados obtenidos para las películas de polietileno (PE) con las microcápsulas de aceites esencial y principio activo de carvacrol y cinemaldehído. Se evaluaron las propiedades mecánicas, térmicas y fungicidas de las películas.

Procesamiento de las películas de PE, PE/agente activo (Carvacrol, Cinemaldehído); PE/Aceite esencial (Orégano, Canela)

Las mezclas se realizaron en un equipo Brabender de doble tornillo. El equipo se calentó previamente a 120 °C a 12 rpm durante 5 minutos para que el polímero se funda. Luego se agregan los agentes activos y se mezclan por 2 minutos a 120 rpm hasta que quede bien homogénea. Se estudiaron diferentes mezclas variando la cantidad de aceite esencial o agente activo (Tabla 1), así se prepararon mezclas 99/1, 97/3 y 95/5 % p/p. Las mezclas formadas fueron PE/A.Canela, PE/A.Oregano, PE/Carv, PE/Cin, PE/ b-CD-Carvacrol y PE/ b-CD-Cinemaldehído polietileno solo (PE) (100 %).

Tabla N°1. Relación Polietileno/Agente activo utilizado en las mezclas

Película	% Agente activo	Masa b- CD	Masa A.A
PE+ A.Canela	1	0	0,35
	3	0	1.05
	5	0	1,75
PE+ b- CD/A.Canela	1	0,28	0,07
	3	0,85	0,20
	5	1,40	0,35
PE+ A.Orégano	1	0	0,35
	3	0	1.05
	5	0	1,75
PE+ b-CD- A.Orégano	1	0,28	0,07
	3	0,85	0,20
	5	1,40	0,35
PE+ Cinamaldehido	1	0	0,35
	3	0	1.05
	5	0	1,75
PE+ b- CD/Cinamaldehido	1	0,28	0,07
	3	0,85	0,20
	5	1,40	0,35
PE+ Carvacrol	1	0	0,35
	3	0	1.05
	5	0	1,75
PE+ b-CD- Carvacrol	1	0,28	0,070
	3	0,85	0,200
	5	1,40	0,350

Masa b-CD: Masa de la B-Ciclodextrina, masa A.A: Masa del agente activo

1.1 Propiedades mecánicas , ensayos tracción-deformación de las películas de polietileno sin y con microcápsulas

Los agentes activos Cinamaldehido, Carvacrol, Aceites de orégano y canela fueron incorporados al PE mediante mezclado en fundido con el fin de ver su estabilidad en condiciones de procesamiento. También los agentes activos y los aceites esenciales fueron microencapsulados en la β -ciclodextrina, antes de ser incorporados al PE , con el fin de conservar algunos agentes activos durante el procesamiento de las películas.

Posteriormente, se midieron las propiedades mecánicas , térmicas y fungicidas de las películas obtenidas como se muestra a continuación.

Las Tablas 2,3, 4, 5, 6, 7 y 8 muestran los valores de módulo de Young para las diferentes películas base polietileno, PE/principio-activo, PE/aceite esencial y PE/ b-CD-agente activo. En ellas se puede observar que los valores obtenidos para la mayoría de las películas presentan una leve disminución en comparación al polietileno virgen, estas diferencias se encuentran dentro del margen de error de la medición. El límite de fluencia y el porcentaje de elongación tampoco difieren mucho, por lo que se puede concluir que la carga agregada a la matriz no ejerce un efecto en el comportamiento mecánico del material.

Tabla 2. Propiedades mecánicas películas polietileno/ Carvacrol, a diferentes razones en peso

Razón PE/A.A %p/p	Módulo de Young (MPa)	Límite Elástico (MPa)	% Elongación
PE solo	227 ± 1	$8,90 \pm 0,5$	$56,3 \pm 7,5$
99/1	$202 \pm 0,4$	$7,56 \pm 0,1$	$50,8 \pm 2,8$
97/3	$179 \pm 0,66$	$6,96 \pm 0,46$	$31,9 \pm 2,9$
95/5	n.d	n.d	n.d

Tabla 3. Propiedades mecánicas películas polietileno/ Cinamaldehido, a diferentes razones en peso

Razón PE/A.A %p/p	Módulo de Young (MPa)	Límite Elástico (MPa)	% Elongación
PE solo	227 ± 1	$8,90 \pm 0,5$	$56,3 \pm 7,5$
99/1	n.d	n.d	n.d
97/3	$185 \pm 0,97$	$7,21 \pm 0,15$	$32,7 \pm 7,91$
95/5	n.d	n.d	n.d

Tabla 4. Propiedades mecánicas películas polietileno/ Aceite de orégano, a diferentes razones en peso

Razón PE/A.A %p/p	Módulo de Young (MPa)	Límite Elástico (MPa)	% Elongación
PE solo	227 ± 1	8,90 ± 0,5	56,3 ± 7,5
99/1	n.d	n.d	n.d
97/3	n.d	n.d	n.d
95/5	n.d	n.d	n.d

Tabla 5. Propiedades mecánicas películas polietileno/complejos de inclusión b-CD-Carvacrol, a diferentes razones en peso

Razón PE/A.A %p/p	Módulo de Young (MPa)	Límite Elástico (MPa)	% Elongación
PE	227 ± 1	8,90 ± 0,5	56,3 ± 7,5
99,5/0,5	220 ± 20	8,06 ± 0,6	53,6 ± 3,6
99/1	177 ± 22	6,75 ± 0,5	51,6 ± 4,1
97/3	208 ± 14	7,53 ± 0,1	49,1 ± 19,5
95/5	208 ± 5	7,60 ± 0,2	45,4 ± 12,9

Tabla 6. Propiedades mecánicas de las películas polietileno/complejos de inclusión b-CD-Cinamaldehído, a diferentes razones en peso

Razón PE/A.A %p/p	Módulo de Young (MPa)	Límite Elástico (MPa)	% Elongación
PE	227 ± 1	8,90 ± 0,5	56,3 ± 7,5
99,5/0,5	207 ± 3	7,36 ± 0,8	54,5 ± 6,9
99/1	213 ± 8	7,74 ± 0,1	51,5 ± 3,8
97/3	208 ± 2	7,41 ± 0,4	43,4 ± 4,9
95/5	200 ± 6	6,82 ± 0,1	41,4 ± 1,1

Tabla 7. Propiedades mecánicas películas polietileno/complejos de inclusión b-CD-Aceite de orégano, a diferentes razones en peso

Razón PE/A.A %p/p	Módulo de Young (MPa)	Límite Elástico (MPa)	% Elongación
PE	227 ± 1	8,90 ± 0,5	56,3 ± 7,5
99,5/0,5	202 ± 9	7,34 ± 0,1	44,6 ± 3,4
99/1	196 ± 4	6,90 ± 0,3	42,6 ± 10,3
97/3	n.m	n.m	n.m
95/5	n.m	n.m	n.m

Tabla 8. Propiedades mecánicas Películas polietileno/complejos de inclusión b-CD-Aceite de canela, a diferentes razones en peso

Razón PE/A.A %p/p	Módulo de Young (MPa)	Límite Elástico (MPa)	% Elongación
PE	227 ± 1	8,90 ± 0,5	56,3 ± 7,5
99,5/0,5	209 ± 11	7,4 ± 0,4	26,6 ± 0,41
99/1	198 ± 9	7,15 ± 0,4	53,6 ± 5,7
97/3	210 ± 12	7,45 ± 0,2	47,6 ± 1,3
95/5	n.m	n.m	n.m

n.m= No medido.

1.2 Análisis Térmico mediante Calorimetría diferencial de barrido (DSC) de las películas de polietileno sin y con microcápsulas

Con el fin de estudiar el efecto de incorporación del agente activo en las propiedades finales de las películas se midió las propiedades térmicas del polímero como temperatura de fusión, este análisis se realizó mediante análisis diferencial de barrido (DSC). Las Figuras 1,2,3 y 4 muestran los termogramas DSC para las películas de polietileno solo y las películas Cinamaldehído, Carvacrol, A. Canela, A Orégano, con microcapsulas b-CD-Cinamaldehído, b-CD-Carvacrol, b-CD-A.Canela y b-CD-A.Orégano al 5% y finalmente con microcápsulas conteniendo un 5% de Agentes activos en la carga. Se observa una señal de fusión cristalina cercana a los 110°C para el caso del polietileno solo, para todas las películas estudiadas ya sea con el agente activo sin encapsular y con la incorporación de

microcápsulas se puede apreciar que no existen mayores diferencias con el polietileno virgen en cuanto al comportamiento térmico que presentan. La señal de fusión cristalina para todos se mantiene en un rango entre los 110 y 115°C. Con esto se puede concluir que la incorporación de los agentes activos ya sea encapsulados o sin encapsularse, no afecta las propiedades térmicas del material.

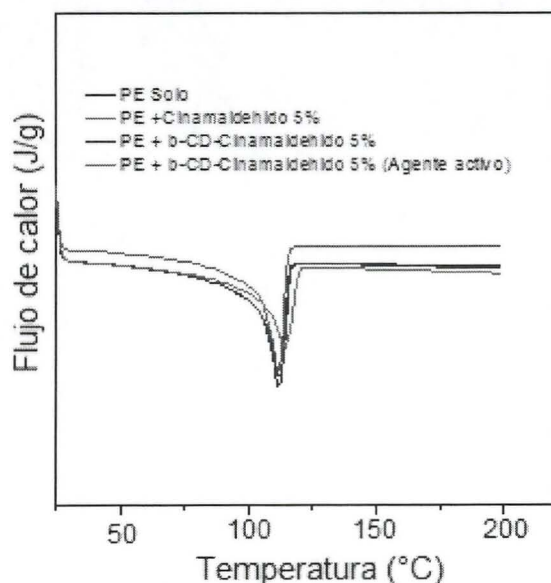


Figura 1. Termogramas DSC para películas, PE solo, PE + Cinamaldehído 5%, PE + b-CD-Cinamaldehído 5% y PE + b-CD-Cinamaldehído 5% (Agente activo)

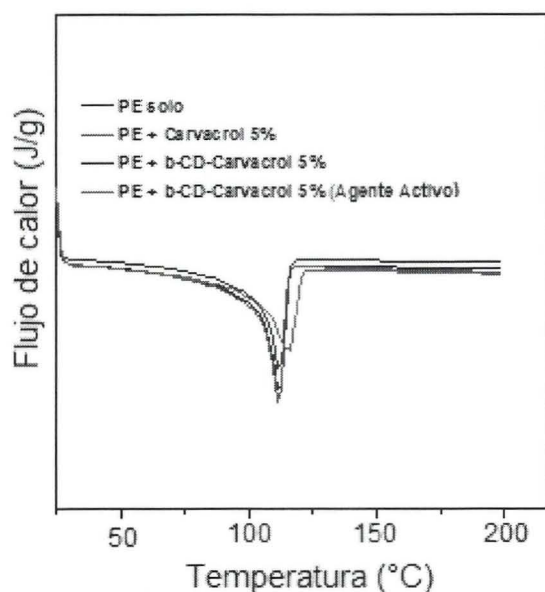


Figura 2. Termogramas DSC para películas, PE solo, PE + Carvacrol 5%, PE + b-CD-Carvacrol 5% y PE + b-CD-Carvacrol (5% Agente activo)

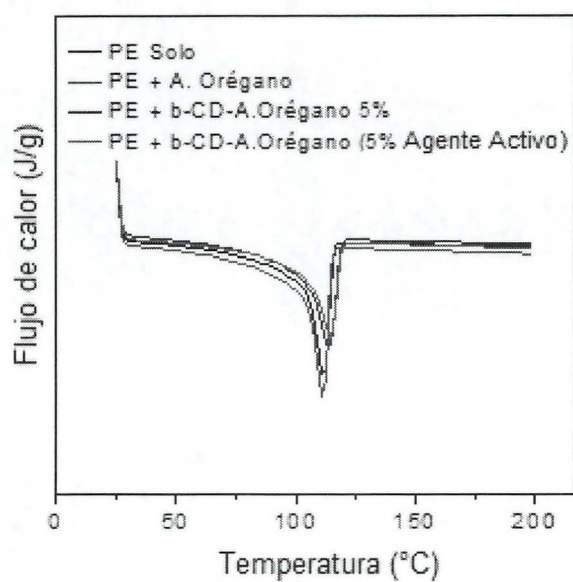


Figura 3. Termogramas DSC para películas, PE solo, PE + A. Orégano 5%, PE+ b-CD-A.Orégano 5%, PE+ b-CD-A.Orégano (5% Agente activo)

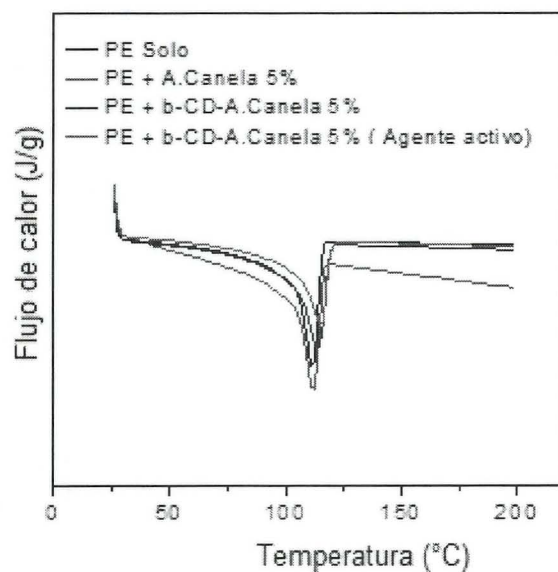


Figura 4. Termogramas DSC para películas, PE solo, PE + A. Canela 5%, PE+b-CD-A.Canela 5%, PE+b-CD-A.Canela (5% Agente activo)

1.3 Análisis termogravimétrico (TGA)

La Figura 5 muestra el termograma de TGA para la película de polietileno (PE) y una película de polietileno con cinamaldehído, sin la microencapsulación. Se aprecia que la temperatura de degradación del polietileno solo es cercana a las 400 °C y al incorporar el cinamaldehído no hay un cambio en la temperatura máxima de descomposición, lo que nos podría indicar que el agente activo se encuentra incorporado en la cadena polimérica.

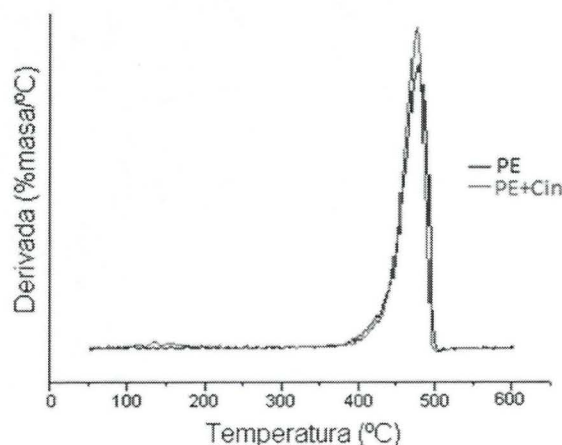


Figura 5. Análisis Térmico de Polietileno y polietileno con cinamaldehído

1.4 Actividad fungicida de aceites esenciales y sus compuestos activos mediante el método de screening

La Figura 6, muestra los resultados obtenidos mediante el método de screening que indica de forma cualitativa la actividad fungicida contra la *B. cinérea* del aceite de canela, cinamaldehído y el control. Se observa para cada uno de los compuestos un halo de inhibición en comparación con la placa control, lo que confirma que ambos compuestos son inhibidores del crecimiento del hongo. Este efecto se debe en gran parte a que los compuestos involucrados interaccionan con la pared celular provocando un

daño en esta lo que lleva a deterioro del hongo. Si bien no existe un mecanismo de acción detallado para el efecto fungicida de estos compuestos existen distintos estudios que dan cuenta de diferentes sitios de acción. Un efecto posible de cinamaldehído frente al decaimiento de hongos, es debido a que el cinamaldehído interactúa con la pared celular inhibiendo la síntesis de enzimas fundamentales como la quitina sintasa y β -(1,3) glucano sintasa, responsables de la síntesis de quitina y glucanos que son componentes principales de la pared, generando daño irreparable en esta.

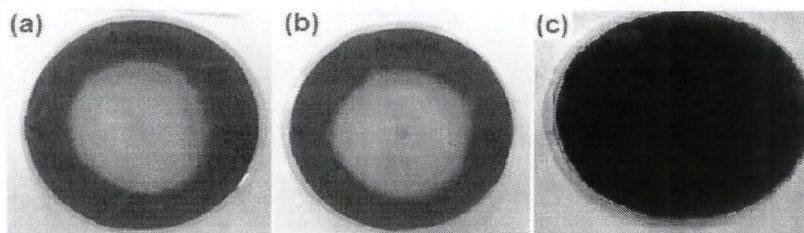


Figura 6. Actividad fungicida de agentes activos frente a *B.cinerea* mediante método de screening, (a) Aceite de canela, (b) cinamaldehído (c) control

La **Figura 7** muestra los resultados obtenidos mediante el método de screening la actividad fungicida contra la *B. cinérea* del aceite del aceite orégano, carvacrol y el control. Ambos compuestos presentan halo de inhibición y se aprecia que el halo es mayor que para el aceite de canela y cinamaldehído respectivamente. Esta diferencia en la actividad esta atribuida, principalmente al efecto del grupo hidroxilo (OH) fenólico presente en la estructura del carvacrol

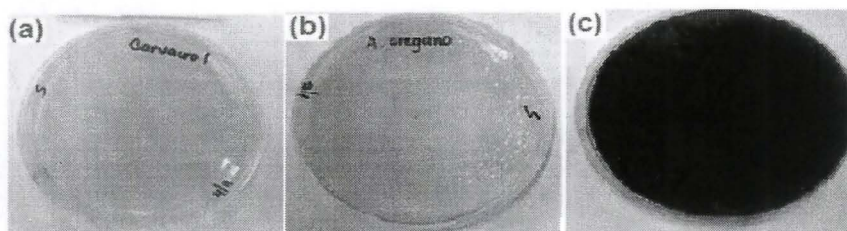


Figura 7. Actividad fungicida de agentes activos frente a *B.cinerea* mediante método de screening, (a) Aceite de orégano, (b) carvacrol (c) control.

1.5 Propiedades Fungicidas de las Película de polietileno con y sin microcápsulas

Posterior a la realización de las películas se estudió el efecto de la incorporación del agente activo, aceite esencial y estos incorporados en la B-Cilcodextrina contra el hongo *Botrytis cinerea*. La Tablas 9 muestra los resultados obtenidos, para las películas de polietileno solo con carvacrol y cinamaldehído y películas con los respectivos compuestos encapsulados. Con el incremento de agente activo tanto de carvacrol como de cinamaldehído se presentó un aumento en el porcentaje de reducción, obteniéndose hasta un 99.9 %, cuando la carga fue de un 5%, ambos compuestos muestran una gran actividad fungicida. Cuando se incorporan a la película los compuestos encapsulados, el efecto fungicida es menor llegando a un 31.4 % para el carvacrol para una carga fue 5% en peso. Esto se debe principalmente a que la cantidad de agente activo que se incorpora al complejo de inclusión es menor. Por otra parte, se debe considerar que la liberación del agente activo hacia la superficie de la película es más lenta y requiere mayor cantidad de tiempo. Caso contrario para las películas sin complejos, donde los agentes activos quedan ocluidos en la matriz polimérica y su difusión a la superficie es mucho más rápida y en mayor cantidad generando esta diferencia en la actividad fungicida.

Tabla 9. Porcentaje de reducción de unidades formadoras de colonia (UFC) de las películas mediante el método de conteo de colonia

c	Relación PE/carga (%)	Actividad fungicida (%)
PE + A. Canela	99/1	9,4
	97/3	31,2
	95/5	70,5
PE + A. Orégano	99/1	12,6
	97/3	46,8
	95/5	38,9
PE + Cinamaldehido	99/1	85,3
	97/3	93,7
	95/5	99,9
PE + Carvacrol	99/1	25,4
	97/3	92,5
	95/5	99,9
PE + b-CD-A. Canela	99/1	24,5
	97/3	31,2
	95/5	39,3
PE + b-CD-A. Orégano	99/1	15,7
	97/3	41,4
	95/5	20,8
PE + b-CD-Cinamaldehido	99/1	n.d
	97/3	n.d
	95/5	7,9
PE + b-CD-Carvacrol	99/1	27,9
	97/5	31,4

La **Tabla 10**, resume los mejores resultados obtenidos en las propiedades fungicidas contra el hongo *Botrytis cinerea*, con el fin de disminuir los costos de procesamiento a nivel industrial se realizará el film inteligente de polietileno con 3 % de Cinamaldehido. Además el principio activo va ser directamente encapsulado en el PE.

Tabla 10. Mejores resultados del Porcentaje de reducción de unidades formadoras de colonia (UFC) de las películas mediante el método de conteo de colonia

Película	Relación PE/carga (%)	Actividad fungicida (%)
PE + Cinamaldehido	97/3	93,7
	95/5	99,9
PE + Carvacrol	97/3	92,5
	95/5	99,9

1.6 Liberación del agente activo en el tiempo y propiedades de barrera de las películas

Se estudió la liberación del agente activo mediante cromatografía líquida (HPLC) durante un período de 4 meses. La película de polietileno permite que la liberación del agente activo sea controlada en el tiempo haciendo que el empaque para frutas y verduras será efectivo durante su transporte. La **Figura 8**, muestra la liberación del Cinemaldehído en las primeras horas la liberación es alta debido al cinemaldehído que se encuentra en la superficie. Después de la primera a la octava semana disminuye la liberación y esta es mas controlada en el tiempo.

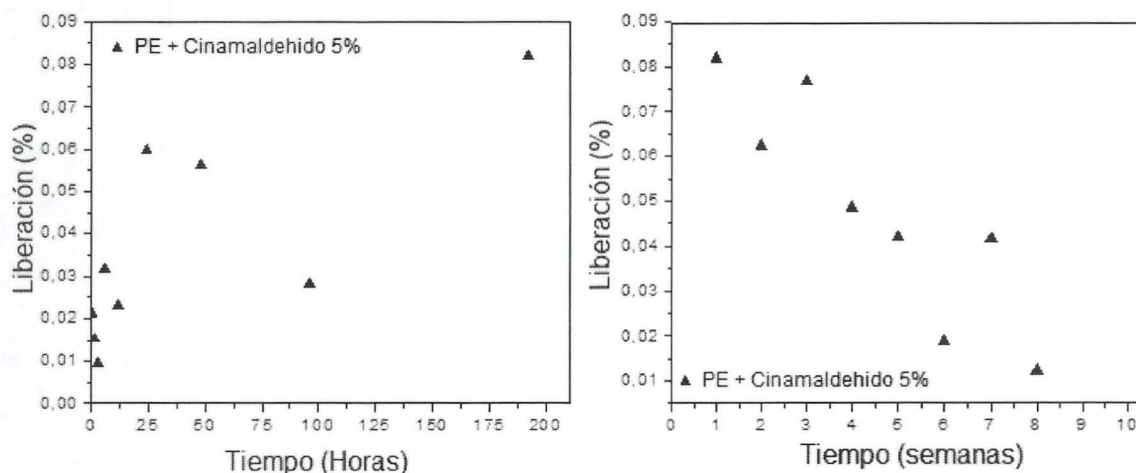


Figura 8. Liberación de Cinemaldehído desde el film PE/Cinlemaldehído en el tiempo

Las **Figura 9** , presentan la liberación del principio activo desde la película de Polietileno (PE) al contener 5 % del agente activo. Se observa que las primeras 60 horas al igual que en el cinemaldehído, la liberación es rápida y lineal en el tiempo. Posteriormente, la liberación es mas lenta y controlada, se obtiene una máxima liberación de 1% de Carvacrol a las 4 semanas de liberación. La **Figura 10**, presenta la liberación de la película PE/b-CD-Carvacrol 5%, donde el carvacrol fue microencapsulado previamente y se muestra que la liberación es en forma mas controlada pero en menor medida, teniendo solo una liberación de un 0,25 %.

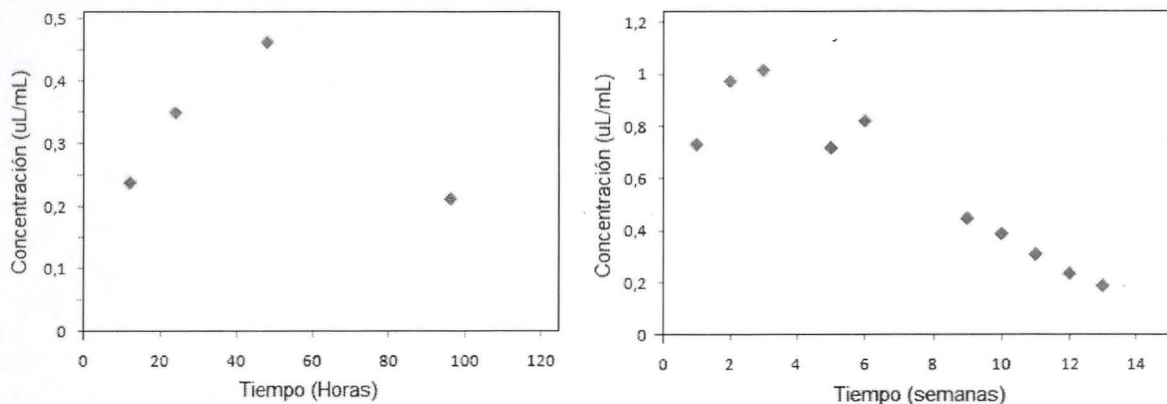


Figura 9. Grafica liberación en el tiempo de las películas PE/Carvacrol 5%

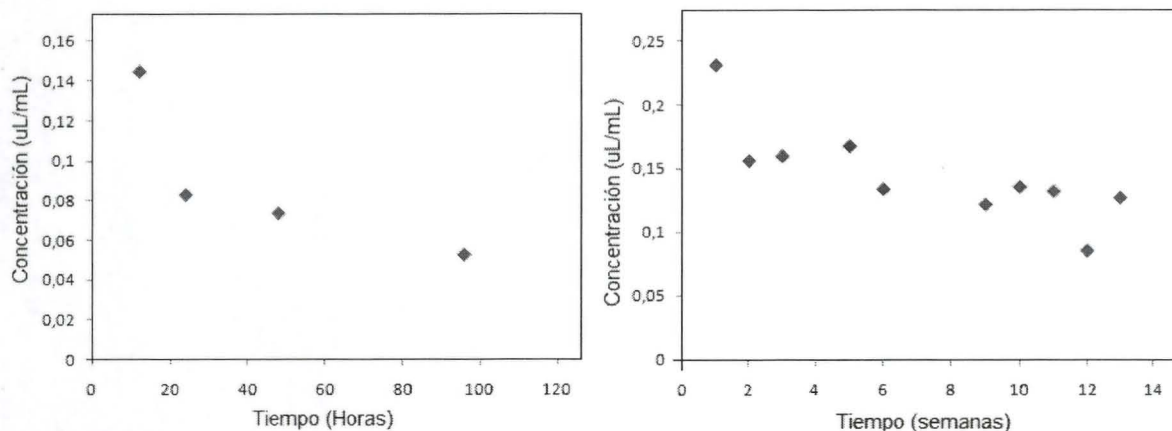


Figura 10. Grafica liberación en el tiempo de las películas PE/b-CD-Carvacrol 5%

La **Tabla 11** presenta los valores de propiedades de barrera de oxígeno y vapor de agua de las películas de PE y PE con 3 % de cinemaldehído.

Tabla 11. Propiedades de barrera a oxígeno y vapor de agua para el PE y PE/cinemaldehído con 3 %.

Razón PE/A.A %p/p	Barrera a oxígeno Bar	Barrera a vapor de agua (WVTR) g m ⁻² d ⁻¹
PE solo	445	2.5 x10 ⁻⁶
97/3	445	2.1 x10 ⁻⁶

Como se observa en la **Tabla 11**, las propiedades de barrera contra oxígeno y vapor de agua no presentan cambios con la incorporación del agente activo, por lo que lo hace al film muy atractivo para envases de frutas y hortalizas

La **Figura 11**, presenta las imágenes de microscopía electrónica de barrido (SEM) para polietileno, polietileno/cinamaldehído 5% y polietileno/b-CD-Cinamaldehído 5% con una resolución de 500 μm , se aprecia que la superficie del polietileno no se ve afectada con la incorporación del cinamaldehído, ni de las microcápsulas. Al realizarle un corte transversal a la película y observarlas a mayor resolución 5 μm (**Figura 12**), se observa las microcápsulas homogéneamente dispersas en la matriz, corroborando que la incorporación fue efectiva.

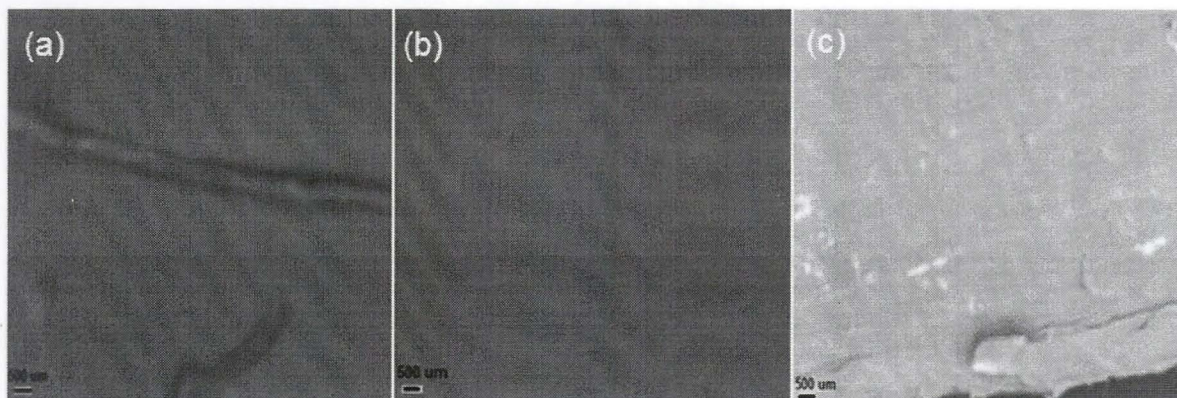


Figura 11. Figuras de SEM para películas (a) Polietileno, (b) Polietileno/Cinamaldehído 5% y (c) polietileno/b-CD-Cinamaldehído 5%

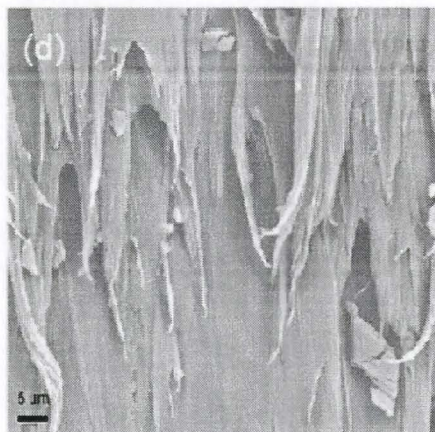


Figura 12. Figura SEM película Polietileno/b-CD-cinamaldehido 5%, corte transversal

2. Resultado esperado 2: “Preparación de un film degradable con la incorporación de carbonato de calcio”

2.1 Síntesis de las nanopartículas de carbonato de calcio

Inicialmente se sintetizaron nanopartículas de carbonato de calcio mediante el método de precipitación, y fueron caracterizadas mediante microscopía electrónica de transmisión (TEM) y difracción de rayos x mostrados respectivamente en las **Figuras 13 y 14** respectivamente. Obteniéndose nanopartículas con un diámetro aproximado de 60 nm de diámetro

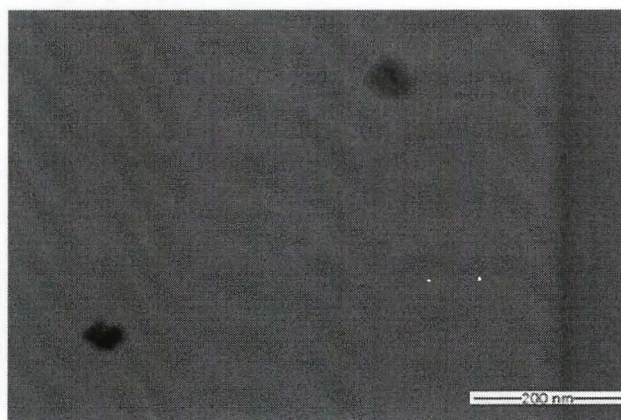


Figura 13. Análisis TEM a las partículas de Carbonato de Calcio

El difractograma de difracción de rayos-x, de las nanopartículas de carbonato de calcio, muestra las reflexiones de Bragg en los ángulo de 29° y 32° correspondientes a la fase calcita del carbonato de calcio. Por otro lado marca las reflexiones a 27° y 45° correspondiente a la fase aragonita del carbonato de calcio. Por tanto las nanopartículas obtenidas son policristalinas.

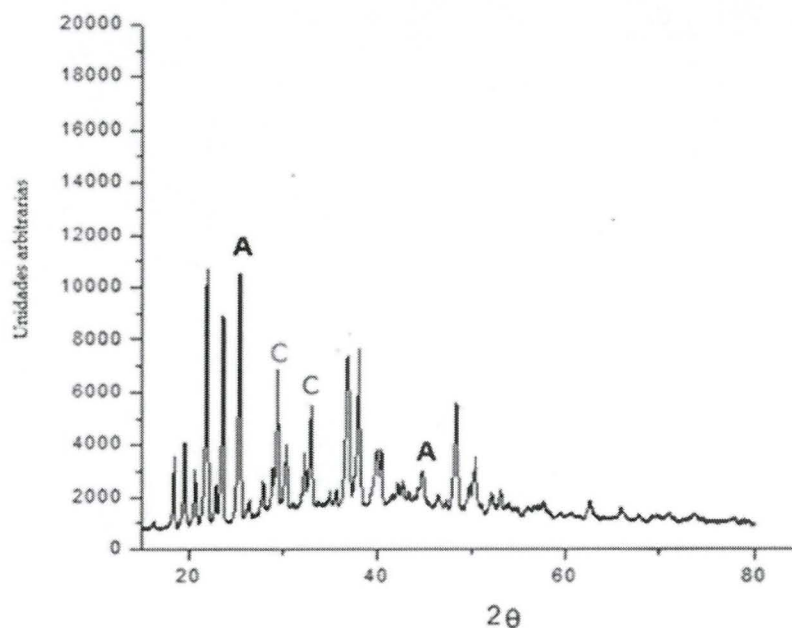


Figura 14. *Análisis DRX de las partículas de Carbonato de Calcio*

2.2. Propiedades mecánicas de los nanocompositos PE/ CaCO_3

En la **Tabla 12** se presentan los resultados de las propiedades mecánicas de los nanocompositos de PE/ CaCO_3 .

Tabla 12. Propiedades mecánicas para los nanocompositos de CaCO_3 utilizando como matriz PE una velocidad de 110 rpm

Partículas CaCO_3	Carga	Módulo de Young (E)(Mpa)	Limite Elástico o Punto de fluencia (σ_y) (Mpa)	Elongación en ruptura (%)
S/P	S/N	202 ± 7	7.71 ± 0.03	60 ± 8
Nanoparticulas	3%	230 ± 7	8.38 ± 0.15	59 ± 10
Nanoparticulas	5%	250 ± 4	8.40 ± 0.09	42 ± 3
Nanoparticulas	8%	254 ± 10	$8,08 \pm 0.14$	39 ± 1

Se pueden apreciar cambios significativos en los parámetros estudiados, por una parte se ve un aumento de hasta un 25 % en el módulo de Young, lo cual quiere decir que para deformar el nanocomposito se necesita un esfuerzo mayor con respecto a la matriz sin adición de nanoparticulas. Esto se debe a que las nanoparticulas generan nuevos centros de nucleación formando más esferulitas y de un tamaño menor, esta cristalinidad u ordenamiento compacto de las cadenas son las responsables de darle la rigidez al polímero.

La incorporación de nanoparticulas de carbonato de calcio generó nuevo centros de fractura con la incorporación de 5 y 8 %, ya que la zona amorfa y las cadenas que poseen movilidad se ven afectadas por la adición de estas reduciendo su movilidad, esto puede ser debido a las aglomeraciones de las nanopartículas en la matriz polimérica.

La incorporación óptima se realiza con la adición del 5 % mejorando en un 20 % su rigidez, los valores al 8% no presentan una gran variación, debido a la baja dispersión de las nanopartículas en la matriz.

2.3 Propiedades térmicas de los nanocompositos

En la **Tabla 13**, se presentan las propiedades térmicas para los nanocompositos de PE/CaCO₃ con incorporación de un 5% de nanocarbonato de calcio, se puede apreciar que el porcentaje de cristalinidad aumento levemente para el nanocomposito, esto es debido a que la nanopartícula actúa como agente nucleante.

Tabla 13. Porcentaje de cristalinidad de PE y PE/CaCO₃ nanocompositos

Partículas CaCO₃	Carga	Porcentaje de cristalinidad (%)
S/P	S/N	25
Nanopartículas	5%	28

2.4 Determinación del índice de Carbonilo de las películas degradadas

Se realizó un análisis inicial de la degradación de películas de polietileno sin y con incorporación de un 5 % de nanopartículas de calcio. La degradación se estudió en una estufa Suntest/Atlas XLS 2200 W, usando filtros solares que proveen una irradiación de 550 W·m⁻² (Irradiance acc. to ISO 4892/DIN 53387) en el rango 300-800 nm.

Se cortaron las muestras de 1cm x 1cm , los film tenían un espesor aproximado de 0,04 mm y se irradiaron durante un periodo de 35 días. Periódicamente, las películas fueron caracterizadas mediante infrarrojo con el fin de calcular el índice de carbonilo que indica el grado de degradación de las películas. La degradación de los polímeros puede ser determinada usando la relación entre la banda del grupo carbonilo a 1715 cm⁻¹ con la banda de CH₂ a 1465 cm⁻¹ proveniente del polietileno.

En la **Figura 15**, se presenta el índice de carbonilo del polietileno y PE/CaCO₃ a diferentes tiempos de irradiación durante 35 días. El índice de carbonilo del polietileno con

nanopartículas es un 44% mayor al del polietileno virgen al finalizar la degradación. Esto confirma que la adición de nanopartículas a la matriz polimérica favorece la oxidación del polietileno, generando así más grupos carbonilos en las muestras, por lo que el PE con nanopartículas degrada más rápidamente que el polietileno virgen.

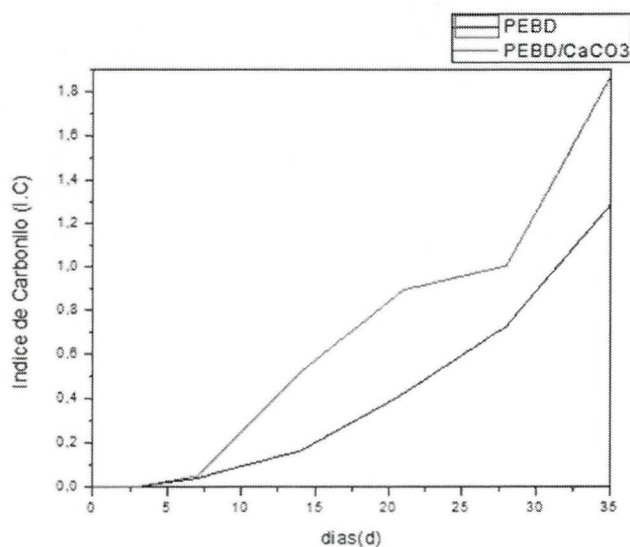


Figura 15. Índice de carbonilo de PE y PE/CaCO₃ a diferentes tiempos de irradiación

2.5 Estudio de las propiedades térmicas de los polímeros degradados

En la **Tabla 14** se presentan los resultados de temperatura de fusión (T_m), temperatura de cristalización (T_c) y porcentaje de cristalinidad (X_c) de los nanocompositos de PE /CaCO₃ antes y después de la degradación. El tiempo inicial ($t=0$) corresponde al polímero antes de la degradación. El tiempo de degradación ($t=35$) se refiere al tiempo que estuvieron expuestos los polímeros en la cámara de degradación, el cual fue de 35 días.

Según el análisis térmico realizado, se observa una disminución muy leve en la temperatura de cristalización de las muestras con la degradación. Por otro lado, el porcentaje de cristalinidad aumenta en un 27% en el caso del polietileno sin adición de nanopartículas, y

un 34% para el polietileno con una carga del 5% de nanopartículas. Este comportamiento es explicado por el rompimiento de las cadenas que ocurre durante la degradación, éstas al ser más pequeñas podrán reordenarse de una mejor forma, aumentando así el porcentaje de cristalinidad.

Tabla 14. Temperatura de cristalización, Temperatura de fusión y porcentaje de cristalización para nanocompositos de PE y PE/CaCO₃ sin irradiar (t=0) e irradiados (t=35 días)

Muestra	T _c (°C)	T _m (°C)	X _c (%)
PE t=0	108	112	11,4
PE t=35	105	107	14,5
PE/CaCO ₃ 5% t=0	107	111	11,8
PE/CaCO ₃ 5% t=35	106	108	15,9

2.6 Estudio de las propiedades mecánicas de los polímeros degradados

En la **Tabla 15** se observan los parámetros Módulo de Young, limite elástico y elongación en ruptura para el PE y PE/CaCO₃ sin irradiar t=0 e irradiados durante 35 días.

Tabla 15 . Propiedades mecánicas para PE y PE/CaCO₃ sin irradiar (t=0) e irradiados (t=35 días).

Muestra	Módulo de Young (E)(Mpa)	Limite Elástico (σ _y) (Mpa)	Elongación en ruptura (%)
PE t=0	145	3	39
PE t=35	201	3	28
PE/CaCO ₃ 5% t=0	203	2	24
PE/CaCO ₃ 5% t=35	316	2	16

La degradación provoca un aumento del módulo de Young de un 55% para PE/CaCO₃. Los resultados obtenidos indican que existe un mayor rompimiento de cadenas del polímero

en el nanocomposito PE/CaCO₃. El rompimiento de la cadena permitirá que las cadenas se vuelvan a organizar de una forma más ordenada, formándose cristales más pequeños que aumentaran la rigidez del polímero.

Finalmente en el caso de la elongación en ruptura, hubo una disminución de este parámetro que se atribuye a la degradación del polímero, ya que la degradación provoca la ruptura de las cadenas generando centros de fractura en el material, lo que significará un rompimiento más temprano de la probeta. La elongación en ruptura disminuyó en un 34% en el caso del polietileno con adición de nanopartículas de carbonato de calcio.

2.7 Estudio de la morfología de los polímeros degradados

En la **Figura 16** se presentan las imágenes de microscopía electrónica de barrido (SEM) para el polietileno y polietileno con 5% de nanopartículas antes y después de la degradación.

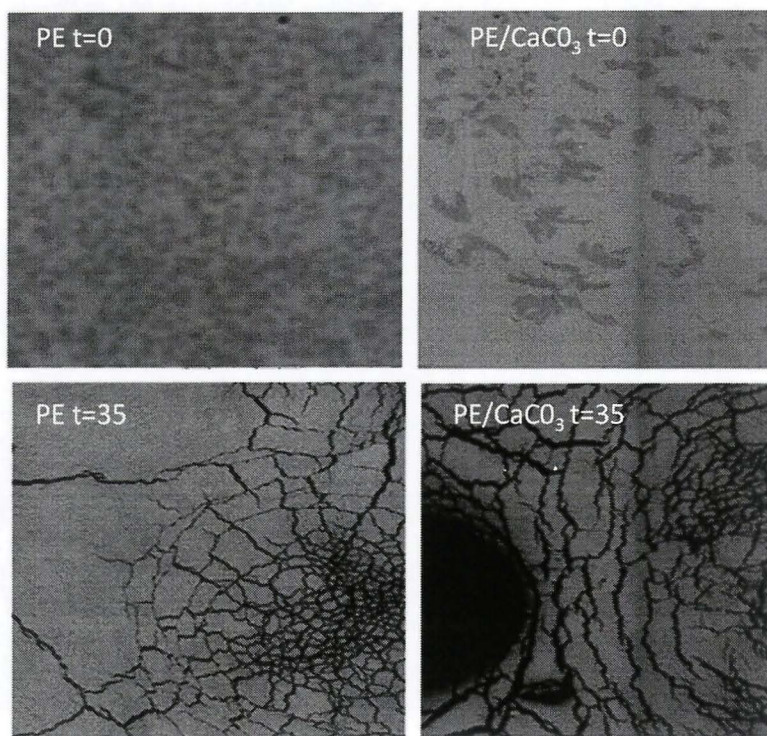


Figura 16. Figuras de SEM para PE y PE/CaCO₃ 5% antes de irradiar (t=0 días) y después de irradiar durante t=35 días

Se puede observar, que los polímeros en un tiempo cero no presentan ningún fraccionamiento aparente; por el contrario, después de la irradiación aparecen cavidades correspondientes a las películas degradadas, observándose fisuras de mayor grado para la película de polietileno que contiene las nanopartículas, presentándose además agujeros en su superficie. Estos resultados indican que el nanocomposito de PE /CaCO₃ sufrió mayor degradación debido a la presencia de las nanopartículas.

3. Resultado Esperado 3 “Producir un film inteligente”

Los mejores resultados fueron obtenidos al incorporar 3 % de agente activo (Cinmaldehído) además de 5 % de nanopartículas de carbonato de calcio. Después de la preparación del Film se estudiaron las propiedades finales del polímero. Se observó que la incorporación sinérgica del agente activo o biocida y las nanopartículas de carbonato de calcio se cumplía con el objetivo. Las películas presentaron similar propiedades fungicidas de un 90 % contra el hongo *Botrytis cinérea*, las propiedades mecánicas como el módulo de Young se mantuvo en 245 MPa. Mediante análisis térmico se observó que la fusión cristalina o temperatura de fusión fue cercana a los 110°C. Con respecto a las propiedades de barrera de oxígeno se obtuvo un valor similar al PE sin ningún aditivo de 445 barr y contra vapor de agua de 2.1×10^{-6} WVTR. La incorporación de nanopartículas al polietileno disminuye en cierta medida el olor característico del Cinmaldehído.

EL film inteligente también fue irradiado por un tiempo de 35 días para estudiar el efecto de las nanopartículas y el aceite esencial, obteniéndose índice de carbonilos mayores a 1,0, indicando que las nanopartículas actúan como agente degradante en la película, después de cumplir su ciclo de vida para envases de frutas, salmón entre otros.

4. Resultado esperado 4 “Estudio de patentamiento.”

La patente está en solicitud la INAPI desde diciembre de 2015. Ver **anexo 2**.

5. Resultado esperado 5,6 y 7 :

La **Figura 17**, muestra la preparación de los pellets de PE/Cinimaldehído mediante el proceso de Master Batch realizado en la empresa TOPCOLOR, con la asesoría de la empresa BO Packaging. Además del Film inteligente obtenido de un espesor de 100 μm mediante extrusión a nivel industrial.

El film cumple con la transparencia necesaria para ser usado en envases de alimentos. Este film presenta las propiedades deseadas de un envase de alimentos, como son propiedades mecánicas, térmicas, de barrera. Además la liberación del principio activo (Cinimaldehído) se presentó en forma controlada. Por lo que se cumplieron con los resultados de validación técnica del prototipo, se realizó a la empresa de BO Packaging la transferencia tecnológica para preparar este film inteligente que será aplicado en el sector de las frutas como UVA y para envase de Salmón.

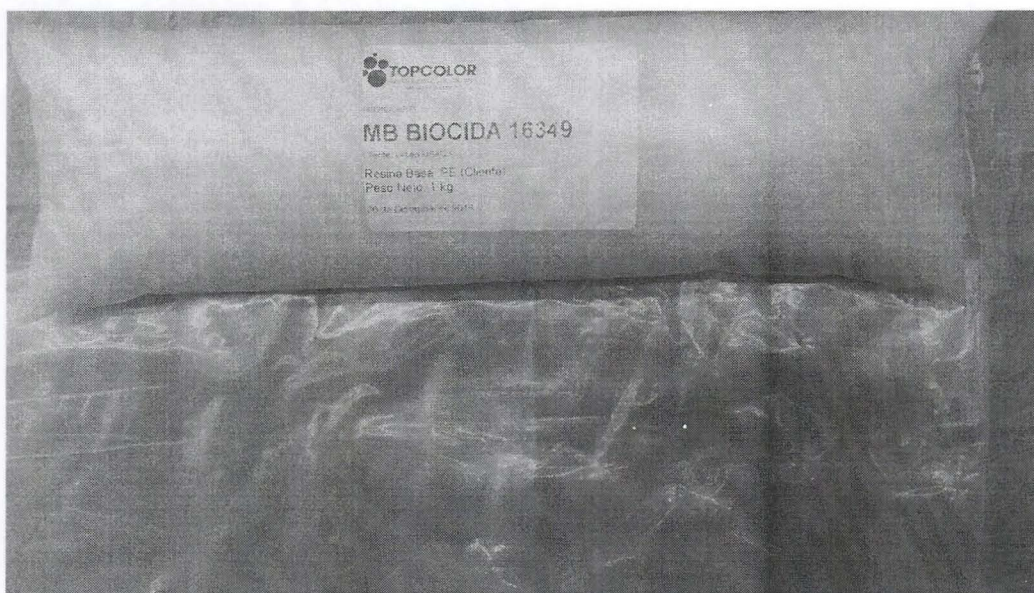


Figura 17. Validación técnica y comercial del prototipo

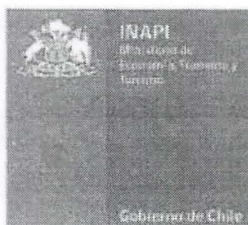
Se evaluó la actividad antimicrobiana de éste film, siendo efectivo contra la bacteria *Escherichia Coli* en un 99.99 %.

CONCLUSIONES

Se cumplieron con todos los objetivos propuestos en éste proyecto, por lo que se logró producir un film inteligente para empaque de frutas y hortalizas, en base a polietileno y productos naturales, el cual por medio de la adición de aceites esenciales (orégano, canela y eucalipto) y un mineral (carbonato y nanocarbonato de calcio), presentó propiedades antimicrobianas (biocidas o fungicidas) y que una vez cumplido su ciclo de vida, el film tenga propiedades degradables al medio ambiente

Los mejores resultados fueron los obtenidos para las películas con un 5 % de agente activo (cinemaldehído o carvacrol), pero con el fin de disminuir costos de producción a nivel industrial la película inteligente se preparó con un 3 % del agente. La incorporación de un 5 % de nanopartículas de carbonato de calcio acelera la degradación del polietileno.

Anexo 2



FPI - 41

(19)

HOJA TÉCNICA (RESUMEN)

(12) TIPO DE SOLICITUD

INVENCIÓN	X	MODELO DE UTILIDAD		(51) Int. Cl.	
-----------	---	--------------------	--	---------------	--

(21) Número de Solicitud		
--------------------------	--	--

(22) Fecha de Solicitud	22	12	2015
-------------------------	----	----	------

(30) Número de Prioridad (País, N° y Fecha)

(72) Nombre inventor(es) (Incluir Dirección)
1) ZAPATA RAMÍREZ, Paula Andrea, ENTRE OTROS

(71) Nombre Solicitante (Incluir Dirección y Teléfono)
UNIVERSIDAD DE SANTIAGO DE CHILE

(74) Representante (Incluir Dirección y Teléfono)
ESTUDIO VILLASECA Y COMPAÑIA

(54) Título de la Invención (Máximo 330 caracteres)
Película degradable para empaque de frutas y hortalizas que comprende una matriz polimérica en base a poliolefina, la que incorpora un agente activo antimicrobiano (biocida o fungicida) de aceite esencial o dicho aceite esencial, y además incorpora agentes degradantes, y procedimiento de microencapsulación de dicho agente activo antimicrobiano de aceite esencial o dicho aceite esencial, y método de preparación de la película

(57) Resumen (Máximo 1600 caracteres)
La presente invención se refiere a una película degradable para empaque de frutas y hortalizas que comprende una matriz polimérica en base a poliolefina que incorpora un agente activo antimicrobiano (biocida o fungicida) de aceite esencial seleccionado del grupo consistente de: carvacrol, cinemaldehído, cineol, sabineno, thujaplicin o una mezcla de los mismos; o incorpora dicho aceite esencial seleccionado del grupo consistente de: aceite de canela, aceite de orégano, aceite de eucalipto, aceite de nuez moscada, aceite de honokiol o una mezcla de los mismos; y además dicha matriz polimérica, incorpora comprende agentes degradantes; y procedimiento de microencapsulación de dichos agentes activos antifúngicos o antibacterianos de aceite esencial o dicho aceite esencial, y procedimiento preparación de la película. Preferentemente, la presente película es una película inteligente para empaque de frutas y hortalizas, de una matriz polimérica en base a una poliolefina seleccionada de polietileno (PE), polipropileno (PE), poliestireno (PS) y etilvinilacetato (EVA) que incorpora dicho agente activo antimicrobiano de aceite esencial o dicho aceite esencial, que puede estar microencapsulado en un agente microencapsulante que se selecciona del grupo consistente de: ciclodextrina (β- o γ-), arcilla o sílica; y además comprende un agente degradante seleccionado del grupo consistente de: nanocarbonato de calcio, carbonato de calcio, almidón, celulosa o una mezcla de los mismos. Dicha película cuenta con propiedades antimicrobianas (biocidas o fungicidas), y una vez cumplido su ciclo de vida, es degradable al medio ambiente.

Firma Solicitante o Apoderado

Anexo 3

RESUMEN REALIZADO POR MULTIEXPORT

“Preparación de un Film inteligente con potencial uso en el sector de alimentos y agricultura”

Esta charla estuvo enmarcada en entregar información respecto al desarrollo que se está llevando a cabo para poder extender la vida útil en distintos tipos de productos (carnes, pollo, frutas y pescados) por medio de aditivos naturales incorporados al plástico, en especial la presentación fue enfocada en la UVA.

I. Participantes del Proyecto

- a. **USACH**, quien está encargada de la investigación y desarrollo de aditivos.
- b. **TOP COLOR**, fabricantes de Masterbatches (Materia Prima – Perlas) con aditivos.
- c. **BO Packaging**, Fabricantes de Film.
- d. **Capital Creativo**

II. Asistentes a la Charla

- a. Watts
- b. Colun
- c. Soprole
- d. Grupo Empresarial

Las áreas a las cuales representaban dentro de sus empresas correspondían a, Producción, Calidad, Ingeniero en Desarrollo y Abastecimiento, además Gerente General del Grupo Empresarial.

III. Desarrollo de la Charla

Este desarrollo lleva más de 5 años y estuvo detenido por un buen tiempo y hace más de 2 años se retomó nuevamente.

Han existido cambios desde sus inicios, donde se realizaron estudios como por ejemplo de aditivos con Plata, Cobre y Titanio, donde se encontró que estos producían, toxicidad al organismo, cambio de color al producto y en caso del Titanio necesitaba luz solar y radicación. Ante esto se trabajó en Aceites Esenciales con los cuales se ha logrado tener buenos resultados a nivel de Laboratorio y muestras pequeñas.

Estos aditivos Inhiben el crecimiento de bacterias (E, Coli) lo cual lleva por efecto que se extienda la vida útil del producto.

Para continuar y ver los resultados en el caso de pescados, necesitan que una empresa privada pueda formar parte de éste desarrollo para ver resultados reales.

El film además tiene una doble actividad, **BIOCIDA-FUNGICIDA** que corresponde al principio Activo y **BIO-Degradable** como mineral natural PRO-degradante.

IV. Conclusión

Multiexport como el resto de las empresas de la Industria de Salmón, tiene una tremenda oportunidad para poder llegar a competir en mercados lejanos con el Salmón fresco, como Asia Europa, etc., que por logística se pierden entre 72 y 96 hrs. El hecho que se extienda la Vida útil de nuestro producto nos lleva a que no tengamos esa desventaja frente a sus competidores que están mucho más cerca de esos mercados distantes.

Multiexport tiene ésta oportunidad de poder participar y formar parte de éste desarrollo.

Anexo 4



Grupo de Polímeros

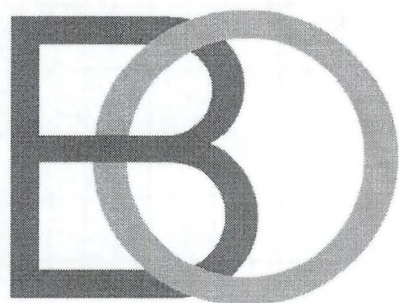
“Preparación de un film inteligente con potencial uso en el sector de alimentos y agricultura”

Laboratorio de Polímeros Universidad Santiago de Chile

D.Canales, L.Montoille, M.Yañez, F.M Rabagliati, P.A.Zapata

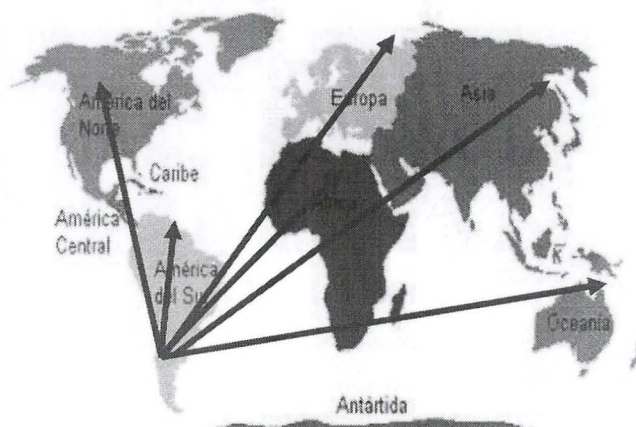
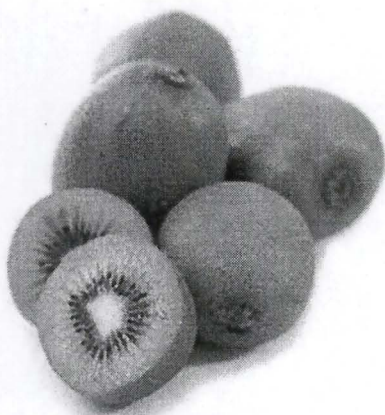


GOBIERNO REGIONAL
METROPOLITANO DE
SANTIAGO



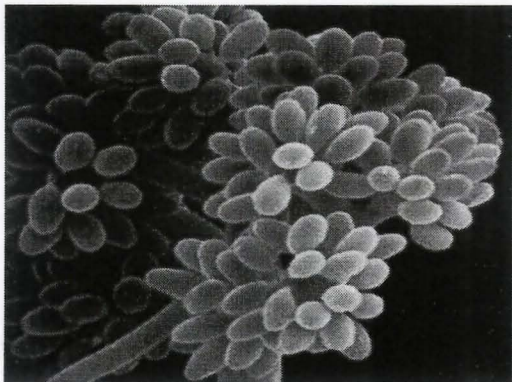
packaging

CHILE UN GRAN EXPORTADOR DE FRUTAS



Uvas de mesa 33%	}	63%
Manzanas 30%		
Paltas	}	37%
Kiwi		
Cítricos		
Peras		

Fuente: ASOEX periodo 2012-2013



Botrytis cinerea



Podredumbre gris

**Chile : Registra pérdidas de
15-30% de frutas frescas .**

Evitar la maduración de la fruta durante su transporte; entre los factores más comunes que alteran las propiedades de la frutas se encuentra la humedad, luz, oxígeno y bacterias, hongos y plagas del ambiente

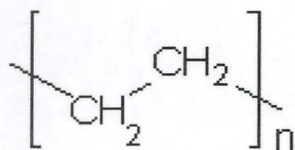


**ALTERNATIVAS PARA
MATENER LA CALIDAD**

ENVASES DE FRUTAS



PLÁSTICOS COMO POLIETILENO



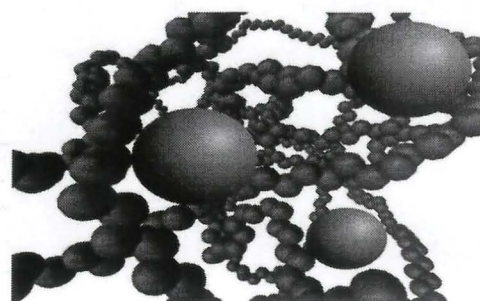
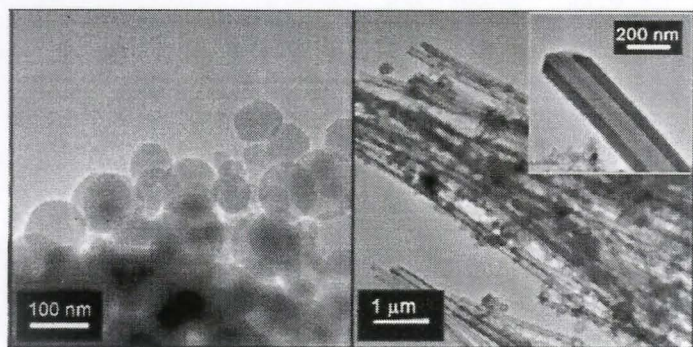
Poliétileno



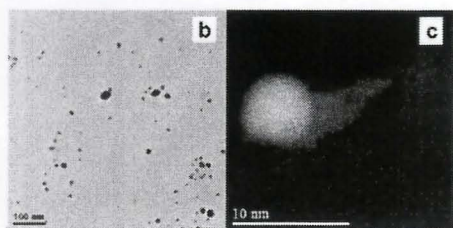
- Polímero semicristalino
- Transparente
- Es flexible
- Utilizado en bolsas y películas
- Bajo Costo



NANOCOMPOSITOS

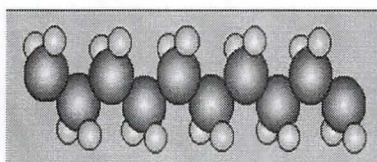


Propiedades biocidas



Nanopartículas de Ag

+



Polietileno

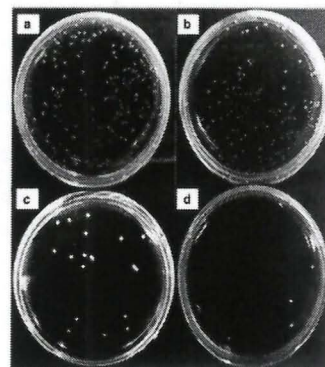
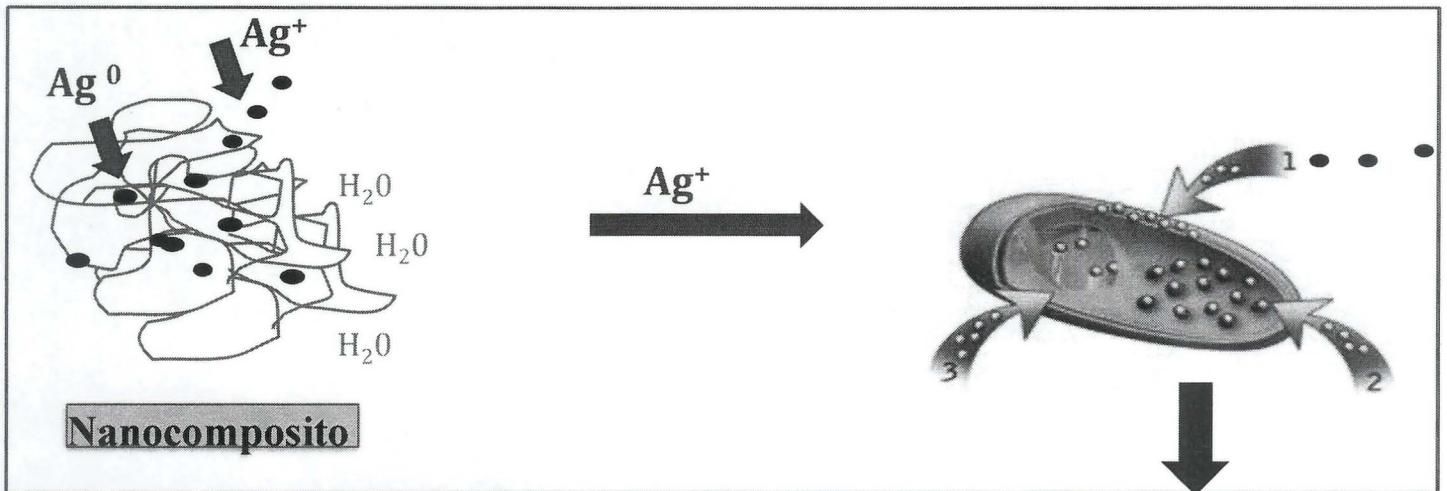


Fig. 9. Pictures of survival bacteria after 24 h contact. (a) Non PE and PE/AgNps with (b) 1 wt%, (c) 2 wt%, and (d) 5 wt% AgNps.

Nanopartículas de Plata o Cobre

Plata o Cobre : presenta gran estabilidad térmica, períodos de actividad antimicrobiana.



Los iones de plata o cobre forman complejos con azufre, nitrógeno u oxígeno con los compuestos presentes en el M.O, inactivando las proteínas celulares. Bloqueo de la membrana celular

Cobre: Laboratorio de Polímeros: Universidad de Chile. Dr-Humberto Palza

P.Zapata, L.Tamayo, E.Cerda, M.Paez, F.Rabagliati. European polymer jurnal (2011) 1541-1549.

DESVENTAJAS DE LAS NANOPARTÍCULAS DE COBRE Y PLATA

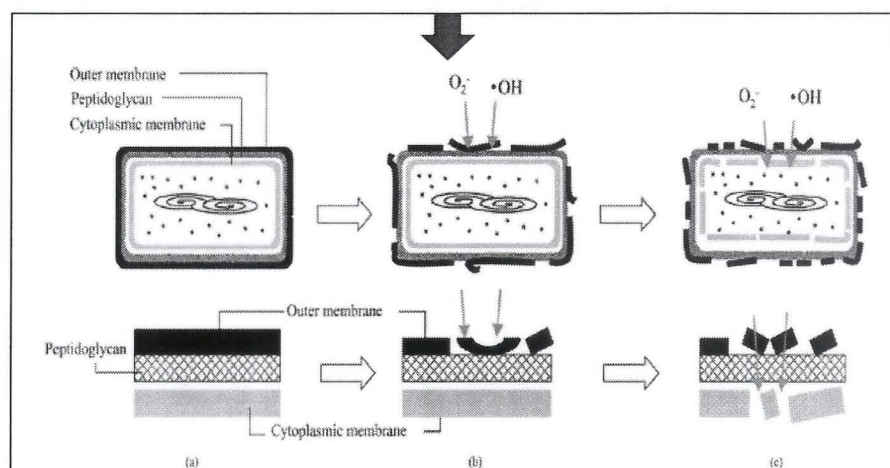
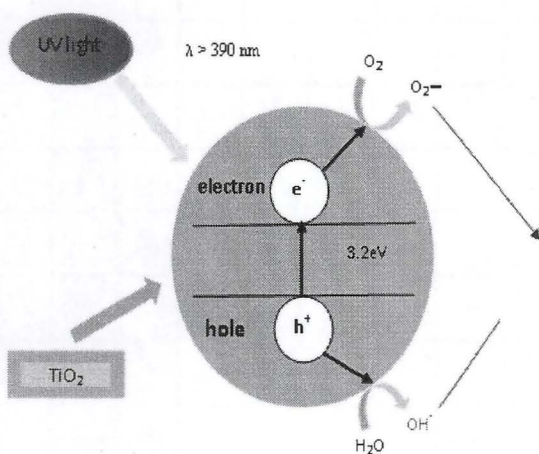
1. TOXICIDAD AL SER HUMANO

No esta Completamente establecido

2. DURACIÓN DE LOS IONES

Nanopartículas de TiO₂

TiO₂ bajo costo, disponible, presentan actividad fotocatalítica
En la presencia de luz solar o UV



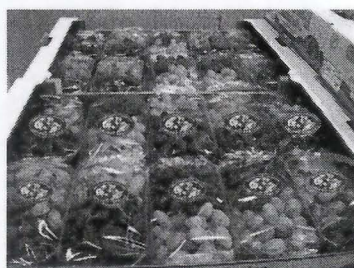
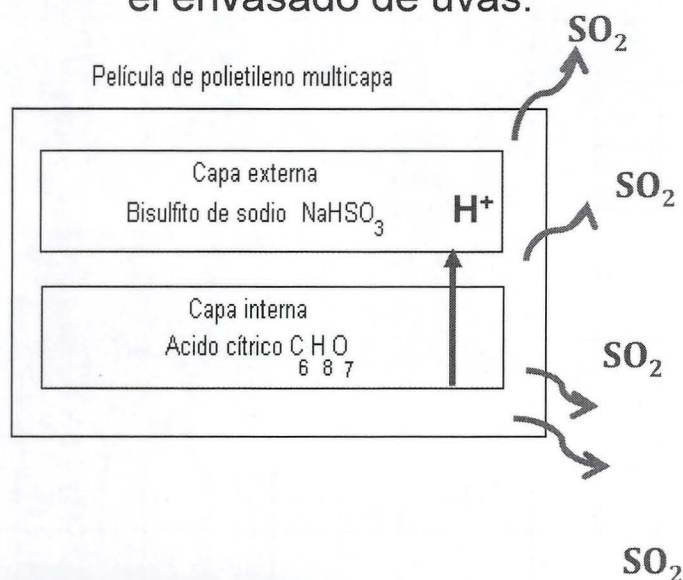
DESVENTAJA NECESITA IRRADIACIÓN

A. Zapata, H. Palza, F. M. Rabagliati. Journal of polymer science, 50 (2012) 4055-4062.

A. Zapata, H. Palza, L. S. Cruz, I. Lieberwirth, F. Catalina, T. Corralesd, F. M. Rabagliati Polymer, 54 (2013) 2690 - 2698

Uso de películas que liberan SO_2

El SO_2 es ampliamente utilizado en el envasado de uvas.



SO_2

➔ Poder Fungicida

Ventajas:

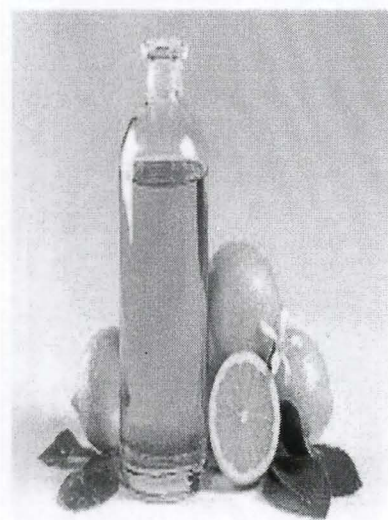
- Presenta poder fungicida e inhibe el crecimiento del hongo
- Presenta poder antioxidante
- Es preservante, muy utilizado en vinos y vegetales

Desventajas:

- En ciertas concentraciones es perjudicial para la salud, provoca cefálea y trastornos a la memoria
- La tecnología de implementación es relativamente costosa.

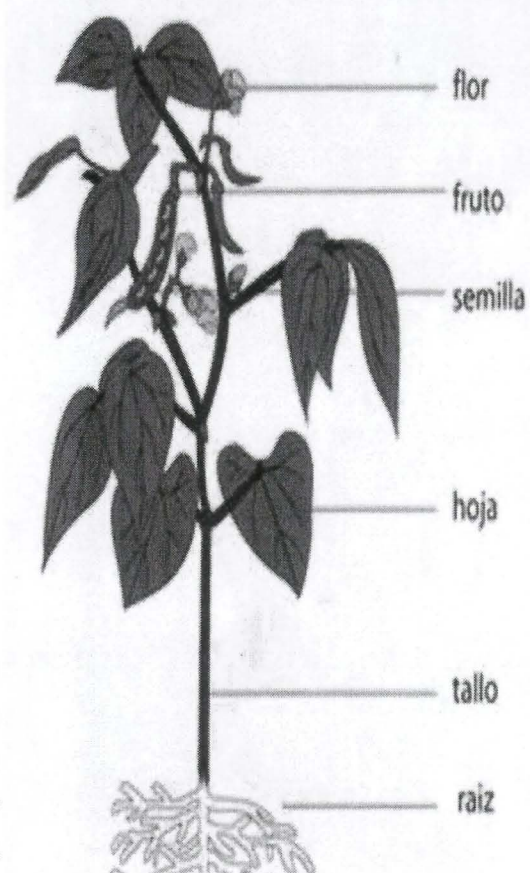
ALTERNATIVA

Compuestos naturales



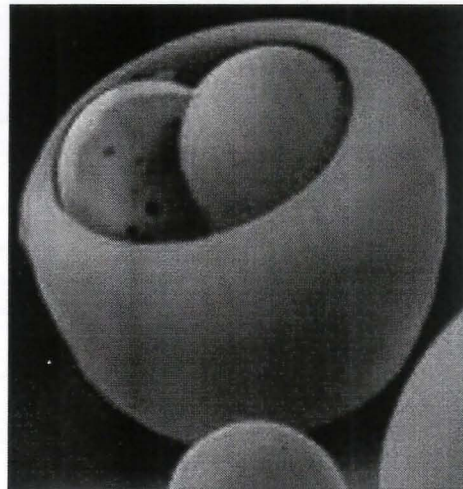
Son sustancias que se obtienen de las plantas, son líquidos, presentan fuertes propiedades aromáticas volátiles, solubles en solventes orgánicos

Las propiedades son atribuidas a los componentes en mayor cantidad (40 – 80%)



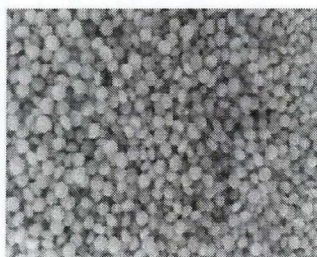
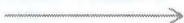
MICROENCAPSULACIÓN

**Sustancia Natural es
volátil por lo que debe
de ser encapsulada**



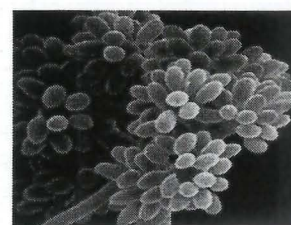
Para procesamiento con el polietileno

La incorporación de microcápsulas con el principio activo en matrices de polietileno permitirá obtener una película con potenciales propiedades fungicidas frente a la *Botrytis cinerea* para su eventual aplicación en el envasado de uva de mesa.



+
Polietileno

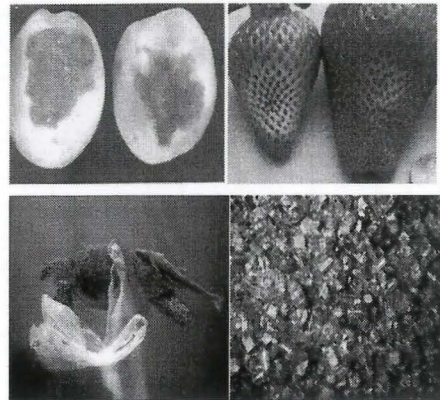
→
Procesamiento a
temperaturas 190 °C



Estudiante de Maestría Daniel Canales (Poster)
Estudiante de pregrado Lissette Montouille

PROBLEMA Y/U OPORTUNIDAD

1. **Deterioro** de alimentos
2. **Lenta** degradación de plásticos
3. **Acumulación** de residuos



Degradación poliolefinas: **400 años**

*Fuente: Polym Degrad Stabil
91(2006) 2739*



Residuos sólidos municipales en Chile:
650.000 ton/año plásticos

*Fuente : Primer Reporte Del
Manejo De Residuos Sólidos En
Chile, 2010.*

Industria de plásticos en Chile: **US\$3.000 MM** (2011)

(Fuente: Diario Financiero,

<http://www.sofofainnova.cl/innovaciones-de-compuestos-del-plastico-diversifican-mercados/>)

DEGRADABILIDAD DE LAS PELÍCULAS

ASTM6954-04, la cual está relacionada, con la regulación del manejo de desechos de bolsas plásticas y películas base polímeros

Estereato, oleato de cobalto y acetato férrico

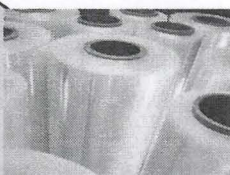


**Permanecen después de la degradación
generando otro contaminante**

**Incorporar un mineral natural que acelere la
degradación del polietileno sin contaminantes
remanentes**

SOLUCIÓN INNOVADORA

1 Film inteligente de **doble función**



BIOCIDA/FUNGICIDA

+

BIO-DEGRADABLE

Principio Activo



Mineral natural pro-degradante:



2 Aplicación en **múltiples industrias**

- a) Alimentos
- b) Invernaderos

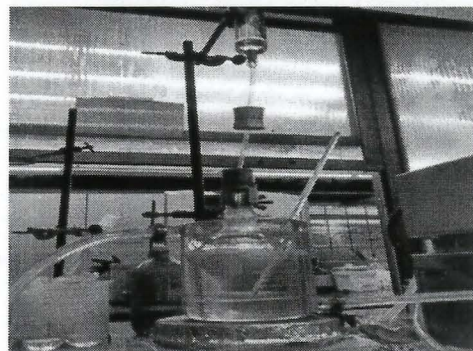
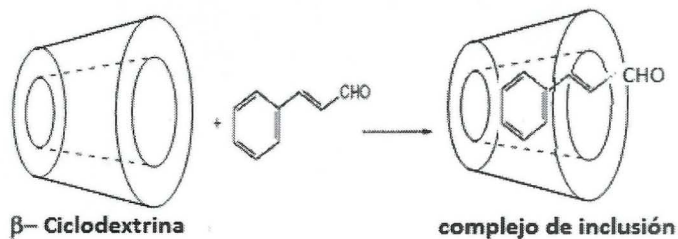
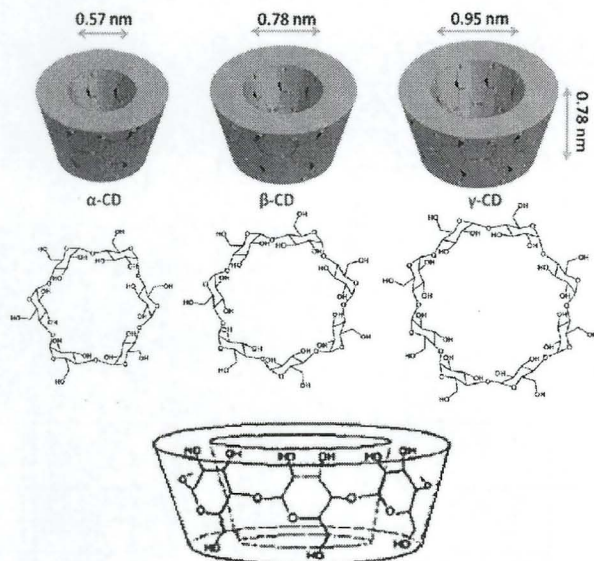
RESULTADOS PRELIMINARES

1. Preparación de películas con principio activo encapsulado con propiedades fungicidas/biocidas

Metodología experimental

1) Micro encapsulación de agentes activos

a) Co-precipitación



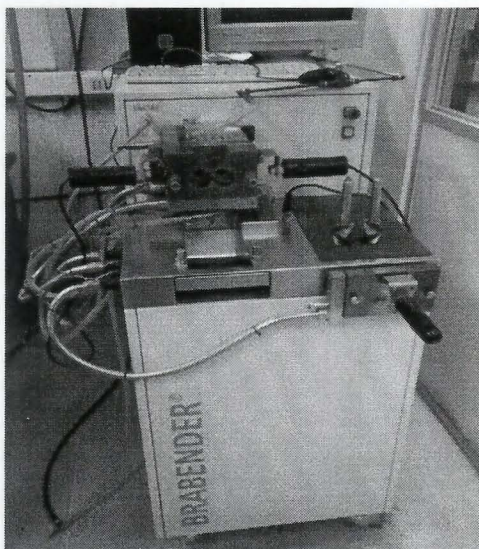
β -ciclodextrina es anfífilica

Encapsulation of cinnamon oil in β -cyclodextrin. G. Petrovic, G. Stojanovic, N. Radulovic. Journal of medicinal plant research, 4, 1382-1390, (2010).

Microencapsulation of flaxseed oil by β -cyclodextrin. A. Abd-Kader, F. Aggor. Journal of applied sciences research, 9 (4), 2951-2958, (2013).

Preparación de películas

Mezclado en fundido



Polietileno + Principio Activo (Aceite natural)



**PELÍCULA CON PROPIEDADES
biocidas/ fungicidas**

Rendimiento y eficacia de encapsulación. (R.E y E.A)

Tabla 1: Rendimiento y eficiencia de encapsulación de fungicida en β -ciclodextrina mediante el proceso de co-precipitación.

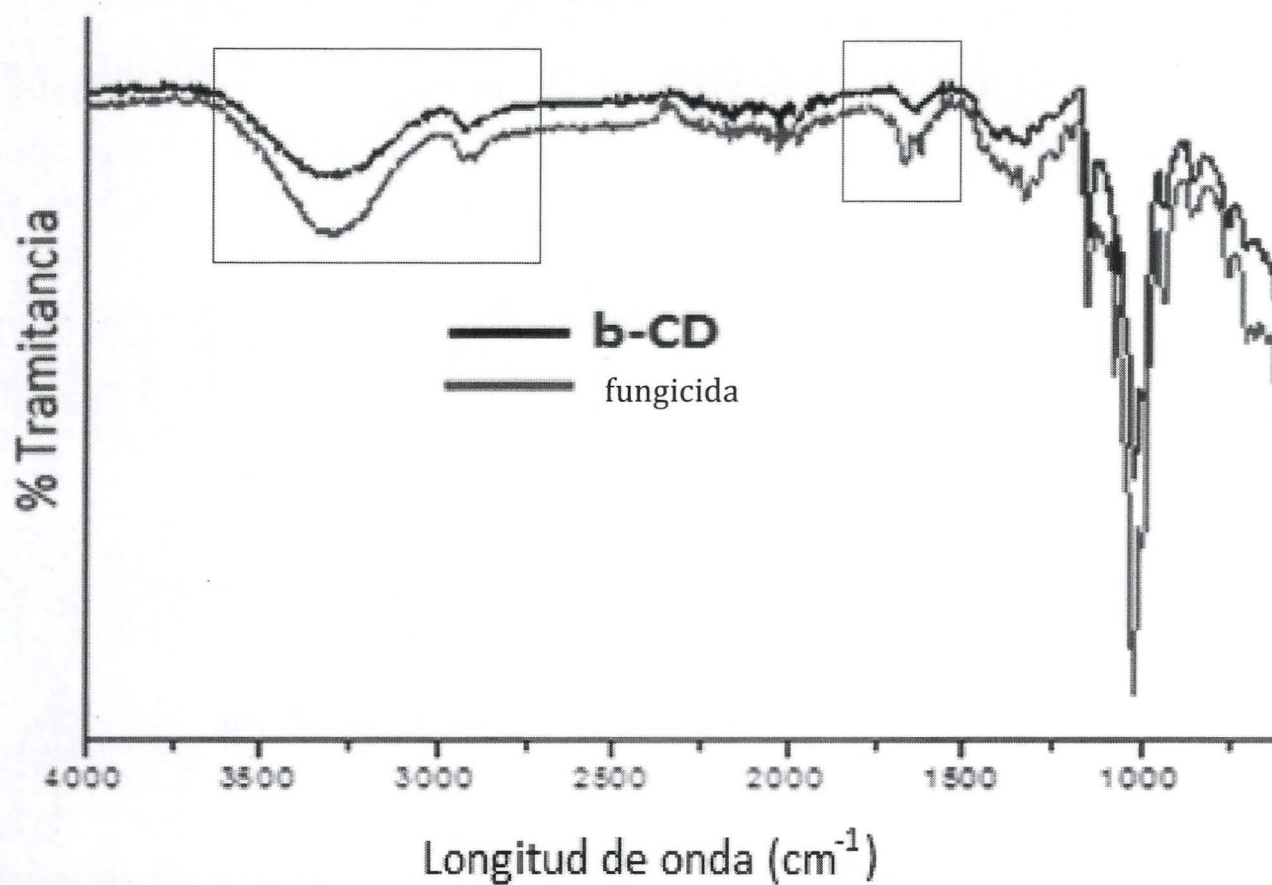
Carga inicial b-CD (g)	Carga inicial agente (g)	Peso final Microcápsulas (g)	R.E %	E.E %
2	0,5	1,8871	75,5	69
2	0,5	1,8871	75,8	71,6

$$R.E = \frac{\text{masa microcápsulas obtenidas}}{\text{masa inicial de reactivos}} * 100$$

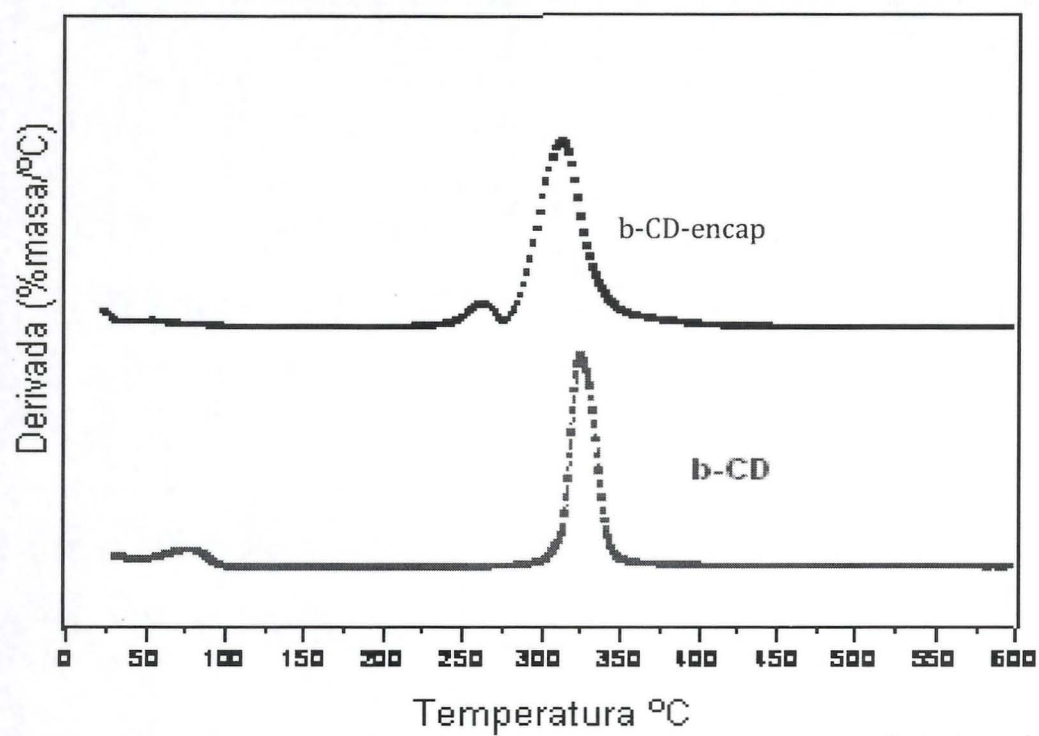
$$E.E = \frac{\text{masa de agente obtenida}}{\text{masa inicial del agente}} * 100$$

Caracterización microcápsulas obtenidas :

Caracterización mediante espectroscopia IR



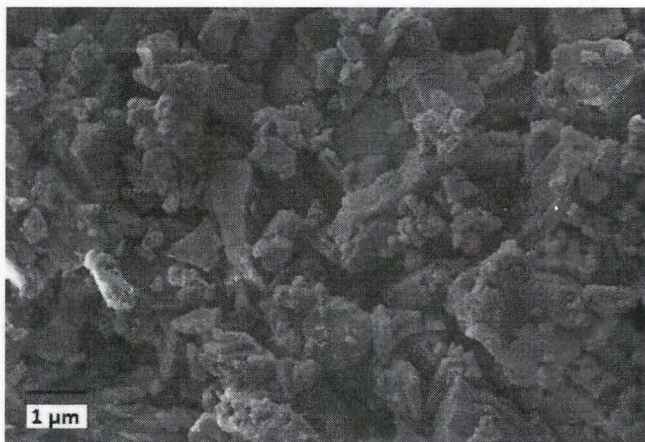
Caracterización mediante análisis termogravimétrico



Caracterización mediante microscopia electrónica de barrido (SEM)

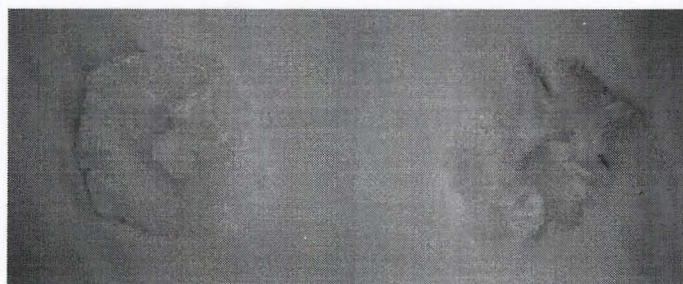


β -CD



β -CD -encap

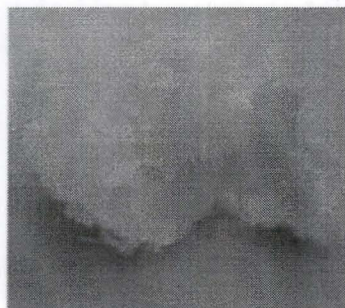
Obtención películas con la incorporación de microcápsulas a la matriz polimérica mediante mezclado en fundido.



**Mezcla
PE/Microcápsulas**



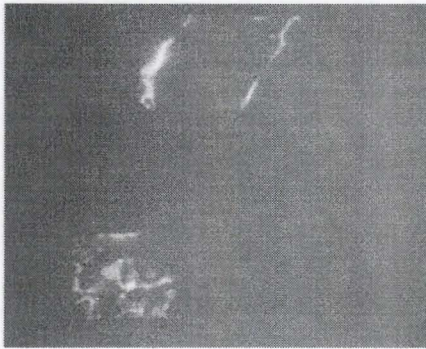
Polietileno



Polietileno + Microcápsula

**Mezcla PE/Agente
activo**

Preparación de películas



**Películas PE-
Microcápsulas**

**Presentan propiedad
Fungicida**



Películas PE-Agente activo

GRACIAS



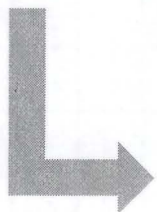
COMPETENCIA

Nacional

- Petroquim Dow
- Sigdopack
- TermoPlastic

Internacional

- Bolphane (UK)
- Biolefin (EEUU)



- Las empresas competidoras tienen films oxodegradables pero **sin** propiedades biocidas.
- Los desarrollos actuales han generado soluciones biodegradables, pero que generan **efectos secundarios** al medio ambiente (polución)
- Chile recientemente se acogió a la normativa **ASTM**.

EQUIPO

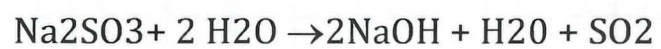
Investigadores Principales

Dra. Paula Zapata
Directora de Proyecto

- Investigación en polímeros y composites
- Publicaciones en revistas ISI (13)
- Investigadora Proyecto Fondecyt 11112307
- Vínculos con importantes grupos de investigación (CSIC, Max Planck)

Dr. Mauricio Yáñez
Director de I+D

- Vasta experiencia en procesos de transformación de biomasa lignocelulósica en combustibles y materiales.
- Manejo de técnicas analíticas e instrumentales diversas.
- Publicaciones en revistas ISI



Anexo 5

MICROENCAPSULACIÓN DE ACEITES ESENCIALES Y SUS COMPUESTOS ACTIVOS EN β -CICLODEXTRINA.

Daniel A. Canales, Lissette A. Montoille, Paula A. Zapata, Franco M. Rabagliatti

¹ Grupo Polímeros, Facultad de Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile, USACH,



Grupo de Polímeros

Introducción

Los aceites esenciales y sus compuestos activos presentan una marcada actividad antimicrobiana, antioxidante entre otras, que los convierten en sustancias de gran interés para su aplicación en diferentes industrias. [1]. Debido a la gran volatilidad que los aceites esenciales presentan, para poder ser procesados a altas temperaturas deben ser microencapsulados. En el presente trabajo se estudio la microencapsulación de carvacrol (Car) y cinamaldehído (Cin) respectivamente, en β -ciclodextrina (b-CD) mediante el método de co-precipitación [2]. Las microcapsulas obtenidas fueron caracterizadas mediante espectroscopia IR, UV visible, análisis termogravimétrico TGA, y microscopia de barrido electrónico (SEM)

Metodología experimental

Los complejos de inclusión b-CD /Cinamaldehído y b-CD/Carvacrol se prepararon mediante el método de co-precipitación, se uso la relación 80:20 % p/p de b-ciclodextrina : agente activo. La figura 1 describe el esquema de inclusión de los agentes activos en la cavidad del encapsulante.

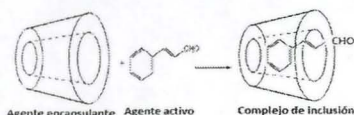


Figura 1. Esquema de reacción formación de complejos de inclusión

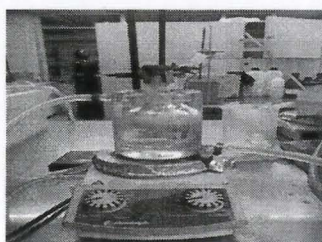


Figura 2. Proceso de formación de complejos de inclusión

Caracterización complejos de inclusión

En la Figura 5 se presenta los espectros IR de los agentes activos Cinamaldehído y carvacrol y la figura 7 de sus respectivos complejos de inclusión. Se puede apreciar que aparecen las señales correspondientes a los agentes activos en los complejos de inclusión confirmando que la inclusión fue exitosa

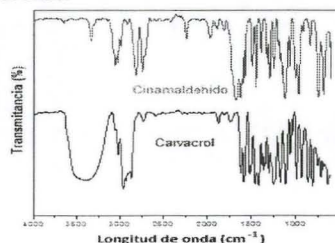


Figura 5. Espectros IR compuestos activos Cinamaldehído y Carvacrol.

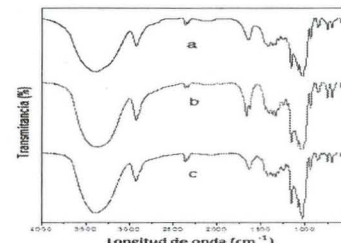


Figura 6. Espectros IR complejos de inclusión a) b-CD, b) b-CD-Cin, c) b-CD-Carv

Resultados

La tabla 1 y 2 muestran los resultados obtenidos en la preparación de los complejos de inclusión b-CD/Cin y b-CD/Car a diferentes velocidades de agitación. Se puede apreciar que a medida que aumenta la velocidad de agitación, aumenta la incorporación de agente activo al interior de la b-ciclodextrina.

	Rendimiento de encapsulación (%)	Eficiencia de encapsulación (%)
250 RPM	64,5	75,6
500 RPM	68,4	77,2
750 RPM	67,5	87,3
1000 RPM	70,4	90,9

Tabla 1. Resultados encapsulación de cinamaldehído en b-ciclodextrina, a diferentes velocidades de agitación.

	Rendimiento de encapsulación (%)	Eficiencia de encapsulación (%)
250 RPM	66,8	61,4
500 RPM	67,5	83,4
750 RPM	63	93,6
1000 RPM	64,3	87,8

Tabla 2. Resultados encapsulación de carvacrol en b-ciclodextrina, a diferentes velocidades de agitación.

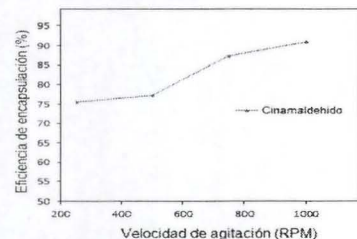


Figura 3. Gráfico eficiencia encapsulación (%) con la variación de la velocidad de agitación para b-CD/Cin

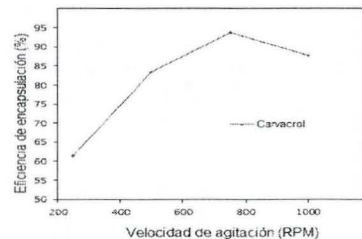


Figura 3. Gráfico eficiencia encapsulación (%) con la variación de la velocidad de agitación para b-CD/Car

Conclusiones

- Mediante el proceso de co-precipitación fue posible preparar complejos de inclusión b-CD y los agentes activos estudiados.
- La eficiencia de encapsulación aumenta al incrementar la velocidad de agitación, obteniéndose valores cercanos al 90% para 1000 y 750 RPM.
- Mediante microscopia SEM se puede apreciar una morfología bastante irregular de los complejos de inclusión.

La Figura 7 muestra los termogramas TGA de los agentes activos Cinamaldehído y carvacrol y la figura 8 los termogramas correspondiente a la b-CD y el complejo de inclusión b-CD/Cin.

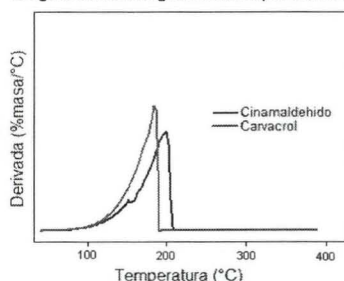


Figura 7. Termograma TGA Agentes activos

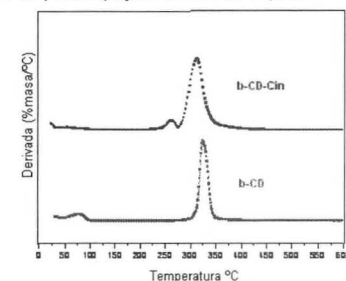


Figura 8. Termogramas TGA b-CD y complejo de inclusión

La figura 9. muestra las imenes obtenidas por microscopia de barrido electrónico (SEM) donde se aprecia una morfología irregular, están aglomeradas, existen algunas dispersas, las que presentan un tamaño promedio de 4 μ m



Fig.9. Microscopia de barrido electrónico SEM a las microcapsulas obtenidas (A) b-CD, (B) b-CD-Cin, (C) b-CD-Carv.

Referencias

- S. Burt. International journal of food Microbiology. 94, 223-253, (2004).
- G. Petrovic, G.Stojanovic, N.Radulovic. Journal of medicinal plant research, 4, 1382-1390, (2010).

AGRADECIMIENTOS: Se agradece el financiamiento de este trabajo al proyecto FIA PYT-2013-0018.



Anexo 6

"Preparación de un film inteligente con potencial uso en el sector de alimentos y agricultura"

Daniel A. Canales, Lissette A. Montoille, Cristian Silva, Paula Galvez, Franco M. Rabagliatti, Paula A. Zapata

¹ Grupo Polímeros, Facultad de Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile,

Introducción

Los envases tradicionales tienen la función de proteger, comunicar, contener y dar seguridad durante el traslado, en la actualidad la investigación en este campo ha buscado desarrollar tecnologías que brinden un beneficio adicional. Se han desarrollado sistemas de envasado que interactúan con los alimentos brindando nuevas propiedades como antioxidantes, antimicrobianas entre otras que colaboren a ampliar la vida útil de los alimentos [1]. Algunos compuestos activos, presentan propiedades antimicrobianas frente a un amplio espectro de microorganismos, son inocuos al consumo humano en bajas concentraciones por lo que resultan una alternativa interesante para el desarrollo de envases antimicrobianos [2]. En el presente trabajo se prepararon y caracterizaron diferentes películas en base a polietileno y los componentes principales de dos agentes activos. Los agentes activos fueron incorporados de manera directa y se comparó con los agentes activos previamente encapsulados en otro polímero. Por otro lado, se está estudiando la incorporación de aditivos naturales que incrementan la degradabilidad del polímero en el tiempo.

Metodología experimental

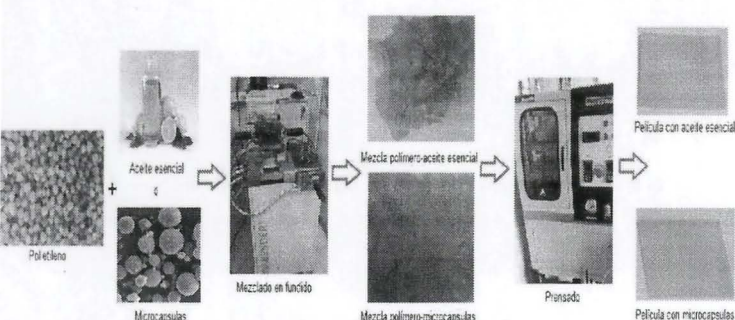


Figura 1. Esquema preparación de películas PE/Agente activo ó PEPE/Agente/degradante

Resultados



Figura 2. Películas polímero/ agente natural a diferentes relaciones en peso

Caracterización de las películas

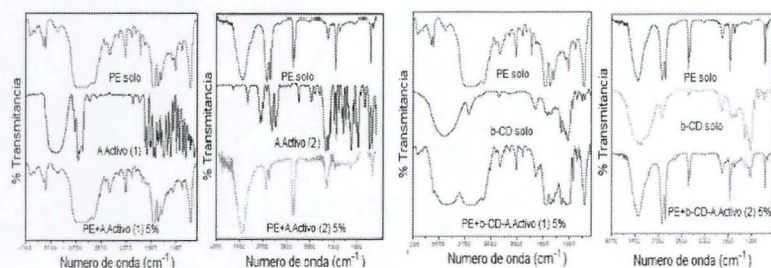


Figura 3. Espectros IR para PE solo, A. Activo (1) y (2), PE/A. Activo (1) y (2) 5%

Figura 4. Espectros IR para PE solo, b-CD solo, PE/b-CD-A. Activo (1) y (2) 5%

En la Figura 5 se presenta los termogramas DSC para las películas PE, PE/A. Activo y PE/microcapsulas al 5%, Se puede apreciar que no existe variación con la incorporación de los agentes en cuanto a la temperatura de fusión cristalina (T_m). La figura 6 muestra los termogramas TGA para las películas PE y PE/Microcapsulas al 5%, en ambos casos no existe variación en la temperatura de degradación de estas. Estos análisis confirman que la incorporación de los agentes no afecta las propiedades térmicas del polímero.

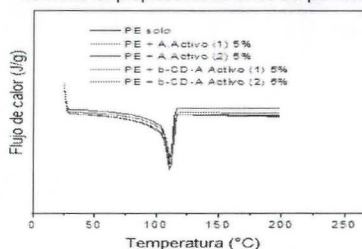


Figura 5. Termograma DSC polímero solo y películas PE/ agente activo y PE/microcapsulas

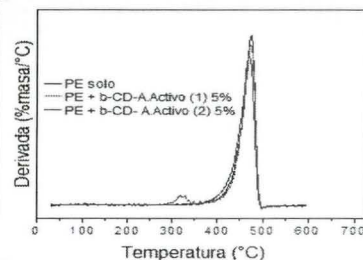


Figura 6. Termograma TGA PE solo y PE/microcapsulas

Tabla 1. Propiedades mecánicas películas PE solo y PE + A. Activo

Razón PE/A. A. %p/p	Módulo de Young (MPa)	Límite Elástico (MPa)	% Elongación
PE + A. Activo (1) 5%			
PE solo	227 ± 1	8,90 ± 0,5	56,3 ± 7,5
99/1	202 ± 0,4	7,56 ± 0,1	50,8 ± 2,8
97/3	179 ± 0,66	6,96 ± 0,46	31,9 ± 2,9
95/5	n.d	n.d	n.d
PE + A. Activo (2) 5%			
PE solo	227 ± 1	8,90 ± 0,5	56,3 ± 7,5
99/1	n.d	n.d	n.d
97/3	185 ± 0,97	7,21 ± 0,15	32,7 ± 7,91
95/5	194 ± 0,88	7,96 ± 0,24	42,7 ± 7,46

n.d = no determinado

Tabla 2. Propiedades mecánicas películas PE solo y PE-Microcapsulas

Razón PE/A. A. %p/p	Módulo de Young (MPa)	Límite Elástico (MPa)	% Elongación
PE + b-CD-A. Activo (1) 5%			
PE solo	227 ± 1	8,90 ± 0,5	56,3 ± 7,5
99/1	1,77 ± 22	6,75 ± 0,5	51,6 ± 4,1
97/3	208 ± 14	7,53 ± 0,1	49,1 ± 19,5
95/5	208 ± 5	7,60 ± 0,2	45,4 ± 12,9
PE + b-CD-A. Activo (2) 5%			
PE solo	227 ± 1	8,90 ± 0,5	56,3 ± 7,5
99/1	213 ± 8	7,74 ± 0,1	51,5 ± 3,8
97/3	208 ± 2	7,41 ± 0,4	43,4 ± 4,9
95/5	200 ± 6	6,82 ± 0,1	41,4 ± 1,1

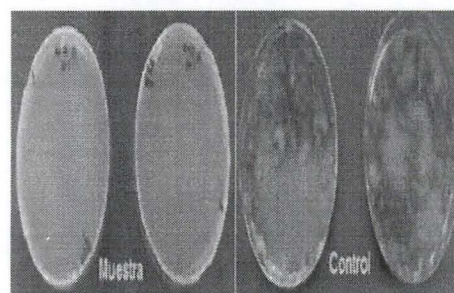


Figura 7. Ensayo fungicida PE/A. Activo (1) 5%

Conclusiones

- Mediante la caracterización térmica y mecánica de las películas, se observó que la incorporación de estos agentes no afectan las propiedades originales del polímero.
- Las películas con A. Activo y microcapsulas respectivamente mostraron actividad fungicida, la eficiencia de estas depende de la carga de agente en la matriz y de la velocidad de difusión.
- Se obtiene una película con propiedades fungicidas y a la vez con características degradables con el medio ambiente

Referencias

- Y. Martinez. Temas selectos de ingeniería de alimentos, 5-2 (2011), 1-12.
- S. Burt. International journal of food Microbiology. 94, 223-253, (2004).

AGRADECIMIENTOS: Se agradece el financiamiento de este trabajo al proyecto FIA PYT-2013-0018.

Anexo 7

LABORATORIO DE POLÍMEROS:

En la UdeSantiago se desarrolla envase que se degrada en poco tiempo y cuida los productos

Un grupo de investigadores de esta casa de estudios desarrolla plásticos que en vez de demorarse 400 años en desaparecer del medio ambiente lo hacen en menos de tres años y que pueden mejorar las cualidades de los productos que envuelven.

Chile tiene una gran tasa natural de muerte de insectos plásticos, según estudios de la Universidad de Santiago, entre 10 mil y 25 mil toneladas de residuos de este tipo en tener el tratamiento adecuado, para no contaminar al medio ambiente por siglos y siglos.

Este es el tema que interesa a la investigadora del Laboratorio de Polímeros de la Facultad de Química y Biología de la Universidad de Santiago de Chile, Dra. Paula Zapata, por lo que durante los dos últimos años se ha dedicado a desarrollar un producto que aporte a la disminución de los desechos plásticos que se generan en el país.

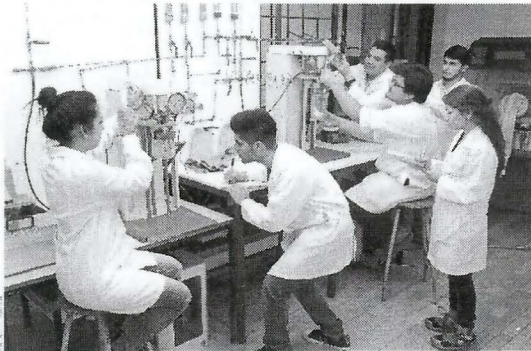
En este camino, el equipo que lidera se dedicó a conocer las necesidades entre usuarios en torno a este tema, donde pudieran encontrar que la industria frutícola requiere envases para sus productos en los ataques en transporte para mantener su frescura y calidad.

Y así como se enfocaron en los requerimientos de las productoras y exportadoras de fruta, que tienen el permanente desafío de combatir la Botrytis, una enfermedad fúngica que causa pérdidas de hasta el 20% de la vida de fruta y hasta el 70% de algunas variedades de uva vinífera.

Con esos dos fundamentos de base se acercaron al desarrollo de un envase plástico que se degrada en un plazo máximo de tres años, gracias a la utilización de compuestos naturales y que contiene un cocoo, también natural, que combate la Botrytis "haciendo gris" en las frutas Botrytis afectadas.

Esta labor se desarrolló en colaboración con la Dra. María Teresa Ulloa y el Dr. Eduardo Álvarez, investigadores de la Facultad de Medicina de la Universidad de Chile. Para lograr buenos resultados, la autora se cuenta que debieron realizar un estudio previo sobre la cantidad mínima necesaria para combatir el hongo en las uvas y también encontrar un degradante amigable con el medio ambiente para que cuando el cliente cumpla su ciclo de vida se pueda descomponer sin producir efectos nocivos que contaminen.

"En la actualidad, existen envases biodegradables en el mercado, lo que nos permite que ofrezca nuestro producto en una sola pieza, agregando recursos naturales que



DRA. FRANCO KARAGHIATILI
 jefe del Laboratorio de Polímeros.



DRA. PAULA ZAPATA
 directora del proyecto.

aceleran el ciclo de vida del plástico y no retrasan el momento de cobalto, como ocurre en otros casos, que quedan en el ambiente", señala la Dra. Zapata.

Franco Karaghiatili, jefe del Laboratorio de Polímeros de la Facultad de Química y Biología de la UdeSantiago, quien colabora con este proyecto, señala que la degradación del plástico en un plazo menor ha sido un tema muy difundido en el mundo de la academia y de la industria. En este proyecto, señala que la degradación de los plásticos no pueden realizar sus tareas y sus funciones de investigación a partir de este tema, "añade".

Este es el caso del Magister en Química, Daniel Cordero, quien acompaña su formación en el desarrollo de este proyecto y actualmente se encuentra cursando un programa de doctorado.

Según explica Macarena Millán, encargada de Marketing de la GGT (en la imagen), esta iniciativa tiene dos características: por una parte, responde al rol y compromiso que tiene esta universidad con el país y, por otra, privilegia el aspecto

formativo de los participantes. "La Universidad de Santiago juega un rol importante en el desarrollo del país, por lo que contar con proyectos que impacten a nivel nacional, en diferentes sectores productivos, es relevante, tanto para la universidad como para los mismos alumnos. Se piensa que Chile está al fin del mundo y que nadie lo ve, pero no es así. Chile está considerado como uno de los países que tiene mayor potencial en ciencia, tecnología e innovación, y nosotros queremos que nuestros estudiantes contribuyan de manera activa en estos procesos", indica Millán.

Para esta segunda etapa se trabajará junto a Start-Up Chile de Corfo y el Ministerio de Educación, con la finalidad de llevar adelante una serie de iniciativas que permitan que los estudiantes cuenten con un ecosistema de innovación de alto nivel al

y el Socorro Regional Metropolitano de Santiago, para fomentar e impulsar conversaciones con empresas para promover su emprendimiento a nivel industrial. Además, la iniciativa cuenta con una selección de talento para Chile y el extranjero.

APOYO ESTATAL

Hector Enríquez, director ejecutivo de la Fundación para la Innovación Agraria, destaca que, ser Chile un gran exportador de frutas, la industria agrícola se ve directamente beneficiada con el desarrollo de este tipo de envases que se distribuirá la cantidad de frutas y verduras que se pierden durante la exportación de frutas a los diferentes mercados de la zona. Según Enríquez, la industria agrícola se ve directamente beneficiada con el desarrollo de este tipo de envases que se distribuirá la cantidad de frutas y verduras que se pierden durante la exportación de frutas a los diferentes mercados de la zona.

"Como fundación apoyamos esta iniciativa gracias al financiamiento del FICR del Gobierno Regional Metropolitano y nos interesa seguir apoyando el desarrollo de este tipo de iniciativas que permitan que los estudiantes cuenten con un ecosistema de innovación de alto nivel al

Análisis

RODIO FONSECA
 Directora ejecutiva
 Start-Up Chile

Start-Up Chile para rato

El ecosistema de emprendimiento en Chile está creciendo a pasos agigantados. Informes como el GEDT nos muestran como un referente entre los hubs internacionales, más destacados y como el único país latinoamericano dentro de los 10 con las mejores condiciones para emprender en el mundo.

Este posicionamiento no es solo gracias al programa que también a las compañías que se han quedado en nuestro país. A la fecha, nuestras startups que están en Chile generan ventas anuales por US\$42 millones, casi cuatro veces la inversión en el Corfo. Al mismo tiempo la valorización de nuestras empresas supera los US\$ 342 millones.

Las cifras son positivas y nos dicen que estamos invirtiendo en empresas tremendamente rentables, pero sabemos que aún queda mucho por avanzar, sobre todo en materia de financiamiento de alto riesgo, tanto en etapas tempranas como en la fase de crecimiento intensivo.

Ahora, el desafío para este 2016 se centra en atraer más startups al país, tareas que se aborda desde varios frentes.

Actualmente, trabajamos en impulsar una cultura de Venture Capital en Chile a través de la creación de nuestro Club de Inversionistas. El objetivo es comenzar a desarrollar esta industria y conectar emprendedores con las oportunidades de financiamiento adecuadas desde el inicio del programa.

Seguimos esta línea, creamos una red de empresas para atraer las inversiones de emprendedores y para que estas se abran a la posibilidad de que las startups "trabajas" sus productos con ellos y se genere valor temprano. Ya en el largo plazo la idea es promover los *mergers & acquisitions*.

"Las cifras son positivas y nos dicen que estamos invirtiendo en empresas tremendamente rentables, pero sabemos que aún queda mucho por avanzar".

También seguiremos atrayendo al mejor talento local e internacional, con miras a que el emprendedor pueda establecerse en Chile y ocupar a nuestro país como plataforma para hacer negocios en Latinoamérica y el mundo.

Además, buscamos fortalecer los ecosistemas en regiones apoyando con emprendedores del programa en Valparaíso y Concepción (en una primera etapa). El talento en regiones va a ser y por lo mismo, buscamos aumentar los recursos y la participación de los emprendedores de nuestra red en los hubs regionales. Con esto potenciamos las ideas para cada polo de innovación de empresas a partir de sus ventajas competitivas y genera una identidad.

Sabemos que Chile, en el mundo ya existen más de 50 incubadoras que han validado nuestra metodología, por eso resulta clave continuar generando nuevas ideas que nos permitan diferenciarnos. El primer paso es el mentor que nos va a guiar, el cambio de acuerdo a las condiciones. Las necesidades de los emprendedores, del mercado y las tendencias. Los desafíos que nos mueven, son seguir atrayendo talento y emprendimientos de calidad, continuar generando impacto económico y cultural en el ecosistema de Start-Up Chile para rato.

Noticias

Emprendimiento universitario



Ser pioneros en emprendimiento universitario de base científica y tecnológica es el objetivo de la nueva versión del concurso "Despega Usach. Transformando realidades", que próximamente abrirá su nueva convocatoria.

Tras una primera versión exitosa del concurso "Despega Usach", la Dirección de Gestión Tecnológica (GGT) de la Universidad de Santiago prepara el lanzamiento de la segunda convocatoria de esta iniciativa que promueve el emprendimiento entre los estudiantes de pregrado y posgrado de esta casa de estudios.

Según explica Macarena Millán, encargada de Marketing de la GGT (en la imagen), esta iniciativa tiene dos características: por una parte, responde al rol y compromiso que tiene esta universidad con el país y, por otra, privilegia el aspecto

formativo de los participantes.

"La Universidad de Santiago juega un rol importante en el desarrollo del país, por lo que contar con proyectos que impacten a nivel nacional, en diferentes sectores productivos, es relevante, tanto para la universidad como para los mismos alumnos. Se piensa que Chile está al fin del mundo y que nadie lo ve, pero no es así. Chile está considerado como uno de los países que tiene mayor potencial en ciencia, tecnología e innovación, y nosotros queremos que nuestros estudiantes contribuyan de manera activa en estos procesos", indica Millán.

Para esta segunda etapa se trabajará junto a Start-Up Chile de Corfo y el Ministerio de Educación, con la finalidad de llevar adelante una serie de iniciativas que permitan que los estudiantes cuenten con un ecosistema de innovación de alto nivel al

interior del planal, que les permita competir entre ellos y a su vez, adquirir una serie de herramientas que les permitan ampliar sus horizontes.

En ese sentido, la U. de Santiago se perfila como una institución pionera en emprendimiento universitario, entendiendo su rol como eje de crecimiento y potenciación de muchos objetivos son capaces de cumplir en armonía con el entorno.

"Creo que como institución estamos haciendo lo correcto al entregar las herramientas a nuestros estudiantes para que ellos tengan dominio del tema, y sea en nuestra responsabilidad apoyarlos, formalmente para que puedan al mismo a emprender. Sin embargo, el riesgo se pierde cuando el ambiente también te lo permite y trabajamos para generar esas condiciones", destaca la responsable de Marketing.

Anexo 8

Influence of nanoparticle incorporation on polyethylene properties.

Paula A. Zapata¹, Boris Díaz¹, Cristian Silva¹, , Nicolás Amigó¹, Daniel Canales¹, Paula Galvez¹, Franco M. Rabagliati¹, Humberto Palza².

¹ Grupo Polímeros, Facultad de Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile, USACH, Santiago, Chile ,

² Departamento de Ingeniería Química y Biotecnología, Facultad de Ciencias Físicas y Matemáticas, Universidad de Chile, Santiago, Chile

Polyolefin composites, such as polyethylene (PE)/nanoparticles, are of particular interest as they allow inexpensive and commodity polymers (plastics) to be used across a wide range of applications [1]. In particular, the addition of small amounts (1-10 wt%) of nanoparticles [2] can modify the polyolefin behavior allowing the development of novel materials. Compared with polymer/microparticle composites, nanocomposite materials have improved properties, including: crystallization, mechanical strength, melt processing, thermal degradation stability and viscoelasticity, among other, [1,2]. The goal of the present is to study the influence of the nanoparticles incorporations in the final properties of the polymer and the degradation in the time. Nanoparticles as degradant were included into polyethylene in order to study its influence on the final properties such as mechanical, thermal and accelerating the degradation with time of the nanocomposite obtained. Oxodegradation can be caused by additives referred to as prodegradants that accelerate the polyolefin degradation process and promote biodegradation [3]. Nanoparticles incorporated into the polymer as TiO₂, promoted and accelerate its photodegradation due to reactive species generated during irradiation. The photodegradation of the nanocomposites was confirmed by chemiluminescence (CL), carbonyl index (CI), degree of crystallinity (% χ), and microhardness (MH), which increased with photoaging time. After photoaging, the viscosity molecular weight of nanocomposites, decreased markedly. The nanoparticles increased the mechanical and slight thermal properties in comparison with neat PE. The Young modulus increased ca. 20 % with 5 wt.% of the nanoparticles incorporation. The Figure 1, display the TEM image of the 3 nanoparticles incorporated into PE matrix.

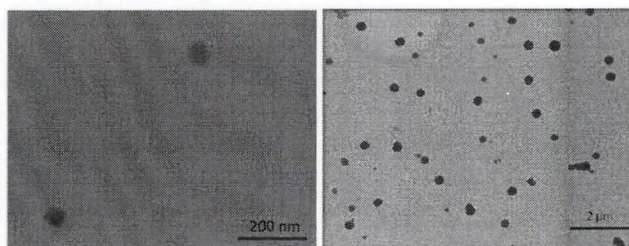


Fig1. TEM image of the nanoparticles embedded in a PE matrix.

Acknowledgment : Financial support from “Proyecto FIA- PYT-2013-0018 to Dr. P.A. Zapata. Thanks are also due to Departamento de Investigaciones Científicas y Tecnológicas, Universidad de Santiago de Chile, DICYT-USACH and to Project FONDECYT 1150130.

References

- [1] D.R. Paul, L.M. Robeson, *Polymer* **49**, 3187 (2008).
- [2] H. Palza , B. Reznik, M. Kappes, F. Hennrich, IFC Naue, M. Wilhelm *Polymer* **51** , 3753 (2010).
- [3] P.A. Zapata*, F. M. Rabagliati, I Lieberwirth, F. Catalina, T Corrales, *Polymer Degradation and Stability* 109, 106-114, 2014.

Presentation Method (Poster/ Invited Oral 15/20/25/30minutes): Invited Oral 20 minutes

Anexo 9

SINTESIS Y CARACTERIZACIÓN DE PELÍCULAS BASE POLIETILENO DE BAJA DENSIDAD (PEBD) Y AGENTES ACTIVOS

D.A.Canales¹, L.A.Montoille¹, FM.Rabagliati¹, M.T.Ulloa², E.Alvarez², L.M.Rivas², P.A.Zapata¹

1. Grupo de polímeros, Facultad de Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile

2. Programa de Microbiología y Micología, ICBM-Facultad de Medicina Universidad de Chile

Los envases de alimentos tienen la función de proteger, comunicar, contener y dar seguridad durante el traslado. Se han desarrollado sistemas para envases que interactúan con los alimentos brindando nuevas propiedades como antioxidantes, antimicrobianas entre otras que permitan prolongar la vida útil de los alimentos [1]. Algunos compuestos activos, presentan propiedades antimicrobianas frente a un amplio espectro de microorganismos, son inocuos al consumo humano en bajas concentraciones por lo que resultan una alternativa interesante para el desarrollo de envases antimicrobianos [2]. En el presente trabajo se prepararon y caracterizaron diferentes películas en base a polietileno y los componentes principales de dos agentes activos. Los agentes activos fueron incorporados de manera directa y se comparó con los agentes activos previamente encapsulados en otro polímero. En la Tabla 1 se presentan las propiedades fungicidas de las películas contra la *botritis cinerea*.

Tabla 1. Porcentaje de reducción de colonias de las películas estudiadas, mediante el método de conteo de colonias

Película	Relación PE/carga (%)	Actividad fungicida (%)
PE + principio activo 1	99/1	85,3
	97/3	93,7
	95/5	99,9
PE + principio activo 2	99/1	n.d.
	97/3	92,5
	95/5	99,9
PE + b-CD- principio activo 1	99/1	25,5
PE + b-CD- principio activo 2	99/1	33,4

Agradecimientos: Se agradece el financiamiento de este trabajo al proyecto FIA PYT-2013-0018 y al proyecto DICYT ASOCIATIVO, código 051641ZR_DAS, Vicerrectoría de Investigación, Desarrollo e Innovación, Universidad de Santiago de Chile.

Referencias

1. Y. Martinez. Temas selectos de Ingeniería de alimentos, 5-2 (2011), 1-12.
2. S. Burt. International journal of food Microbiology.94, (2004), 223-253.

Anexo 10



UNIVERSIDAD
DE SANTIAGO
DE CHILE



Grupo de Polímeros

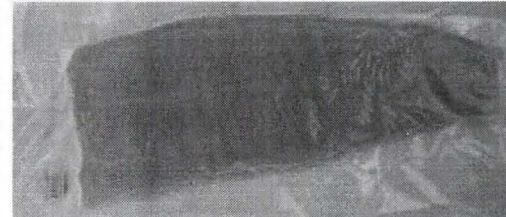
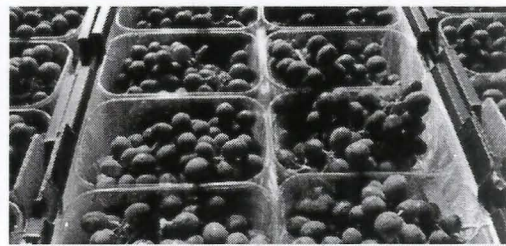
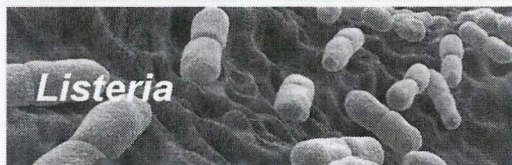
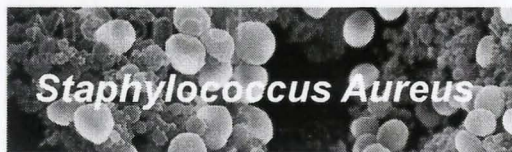
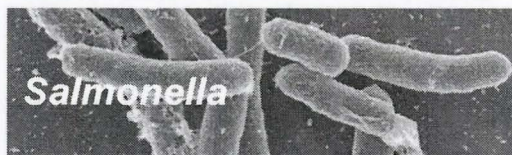
“Preparación de un film inteligente con potencial uso en el sector de alimentos y agricultura”

**Grupo de Polímeros, Facultad de Química y
Biología. Universidad Santiago de Chile.**

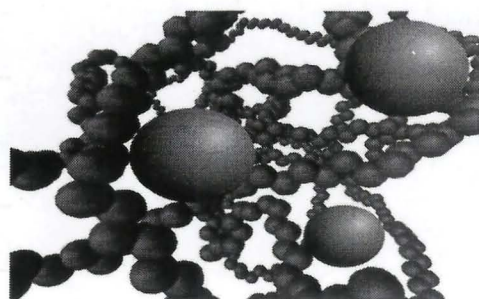
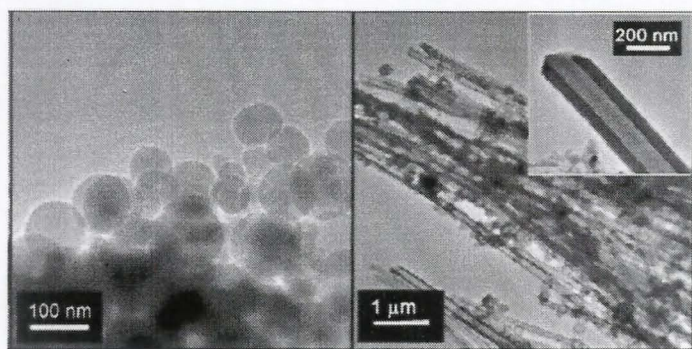


PROBLEMA: Alimentos afectados por microorganismos, entre la producción y el consumidor.

OPORTUNIDAD: Producir envases funcionalizados con aceites esenciales y/o nanopartículas fungicidas y bactericidas de amplio espectro.

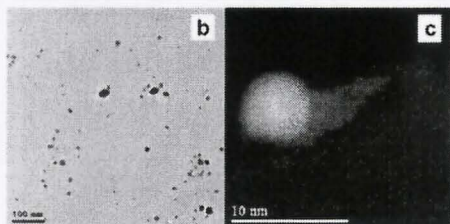


Nanocompuestos



Adición de nanopartículas de 1 a 5 % para modificar propiedades del polímero

Propiedades biocidas



+

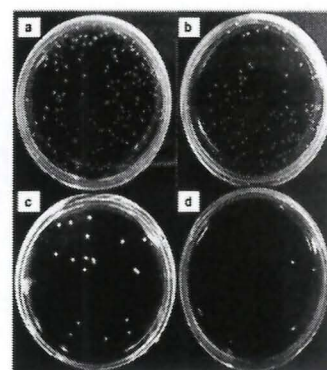
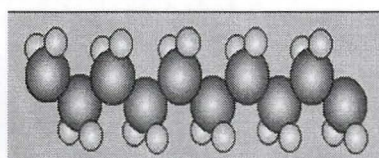


Fig. 9. Pictures of bacterial bacteria after 24 h contact: (a) PE, (b) and PE/AgNPs with (b) 1 wt%, (c) 2 wt%, and (d) 5 wt% AgNPs.

Nanopartículas de Ag

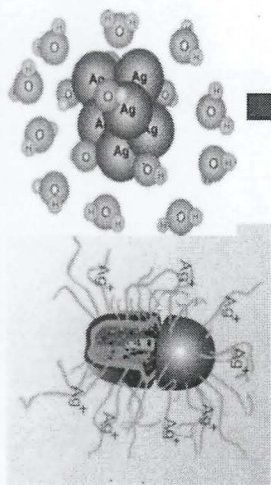
Polyethylene

Palza H, Zapata P.A, Vera J, M. Wilhelm, Macromol. Mater. Eng. 296 (2011) 744-751.

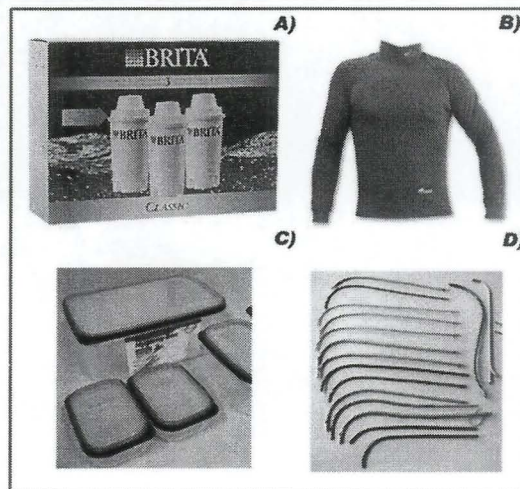
Nanopartículas de Plata o Cobre

Plata o Cobre : presenta gran estabilidad térmica, largo períodos de actividad antimicrobiana.

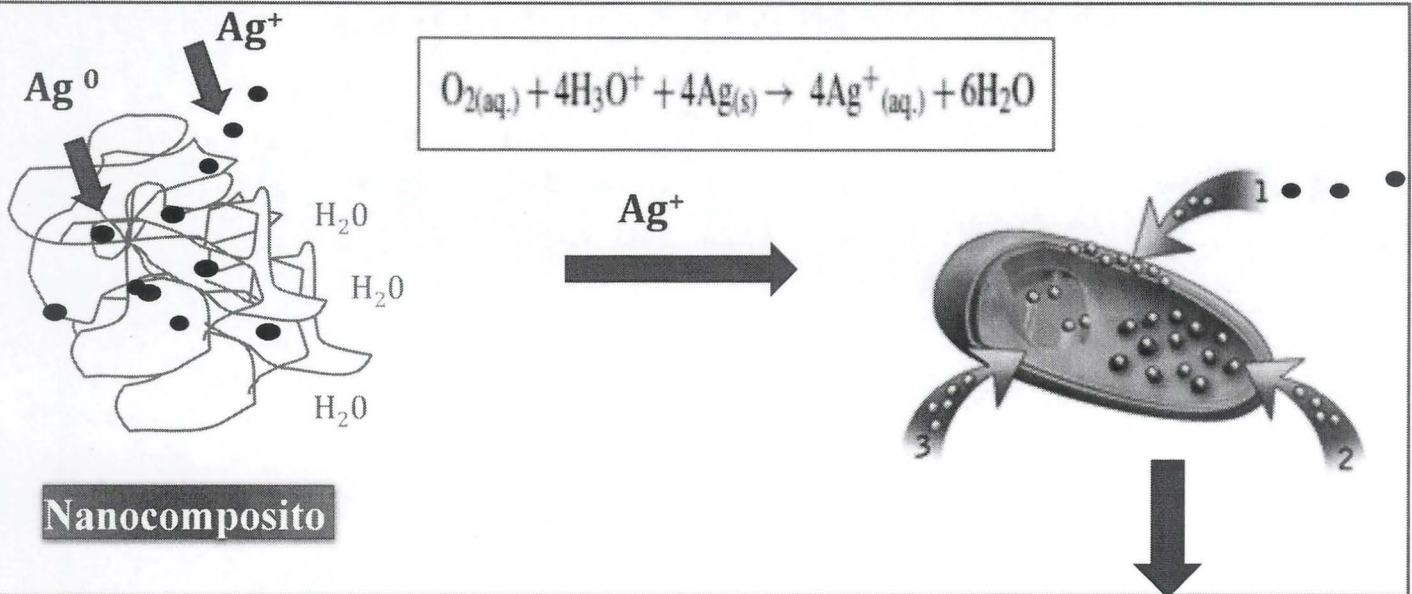
Efecto de toxicidad en bacterias, virus, algas y hongos



Los iones de plata o cobre forman complejos con azufre, nitrógeno u oxígeno con los compuestos presentes en el M.O, inactivando las proteínas celulares. Bloqueo de la membrana celular



Liberación y Formación de iones de plata o cobre



1. Difusión del agua dentro del nanocomposito

2. La reacción entre la plata y moléculas de agua para formar el ión de plata.

Muerte del microbio

DNA pierde la habilidad de replicarse

DESVENTAJAS DE LAS NANOPARTÍCULAS DE COBRE Y PLATA

1. Toxicidad al ser humano

No esta Completamente establecido

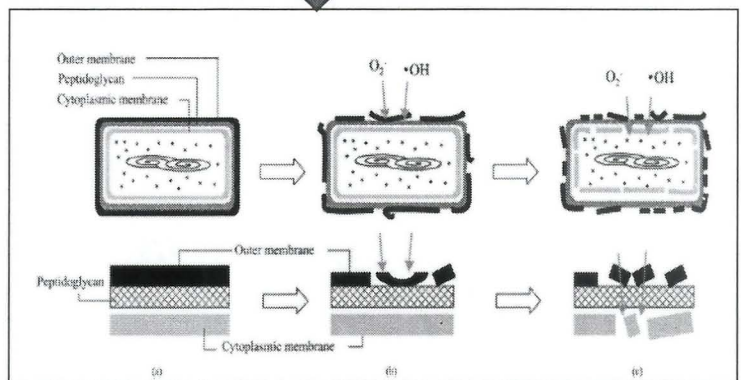
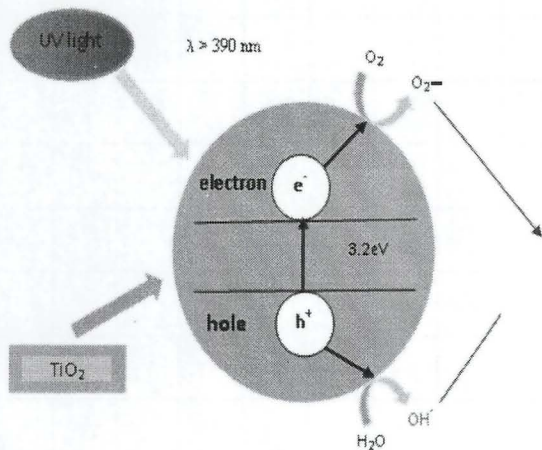
2. DURACIÓN DE LOS IONES

P.Zapata, L.Tamayo, E.Cerda, M.Paez, F.Rabagliati. European polymer jurnal ,47, 1541-1549, **2011**.

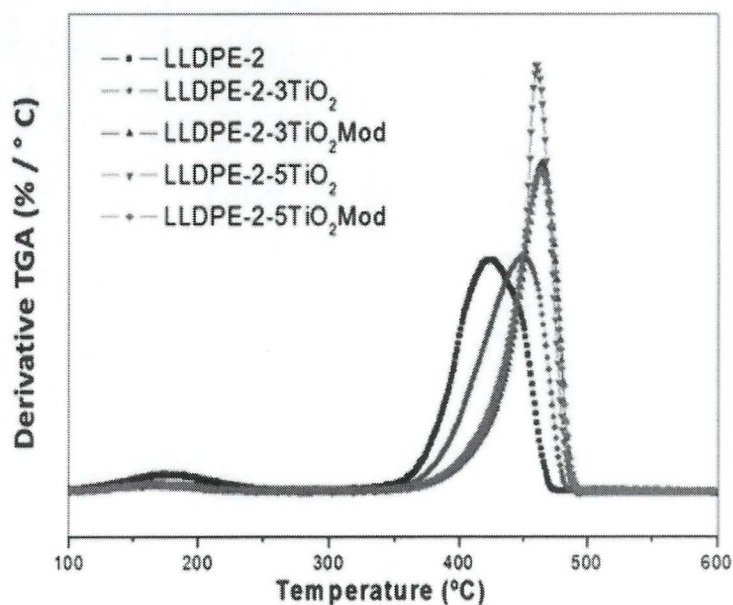
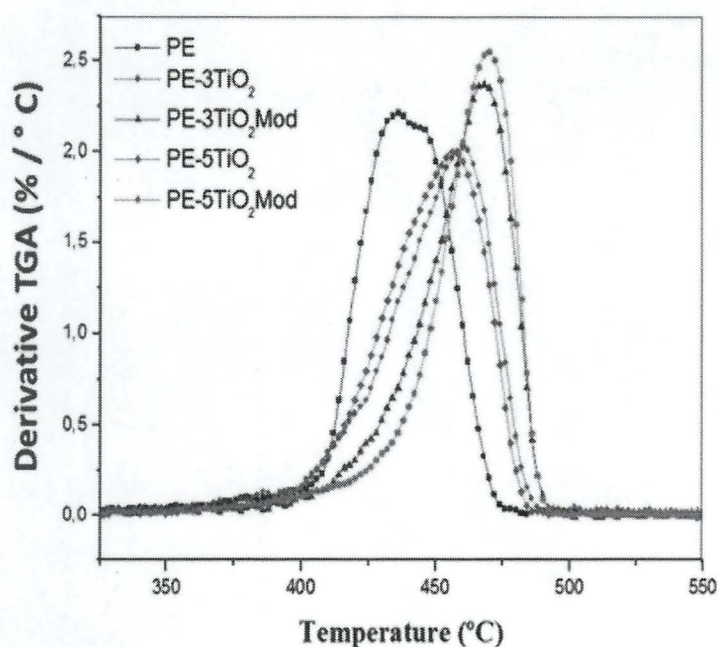
P.A Zapata, M Larrea, L Tamayo, FM Rabagliati, MI Azócar , M Páez, Material Science an Engineering C, 69, 1282-1289.**2016**

Nanopartículas de TiO_2

TiO_2 bajo costo, disponible, presentan actividad fotocatalítica
En la presencia de luz solar o UV



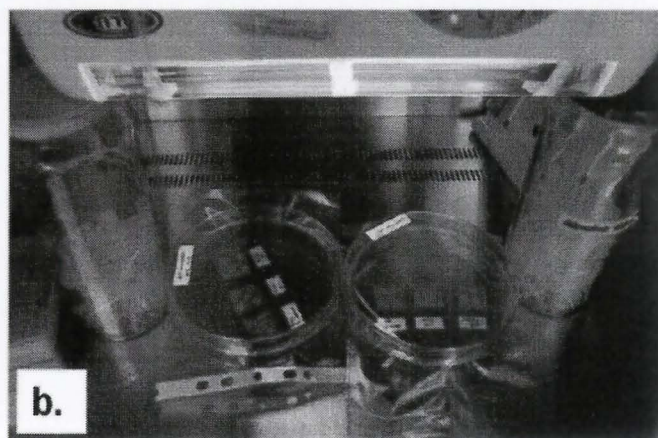
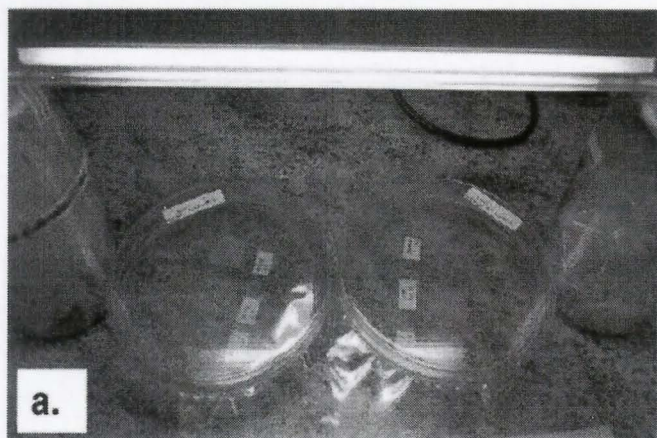
DESVENTAJA NECESITA IRRADIACIÓN



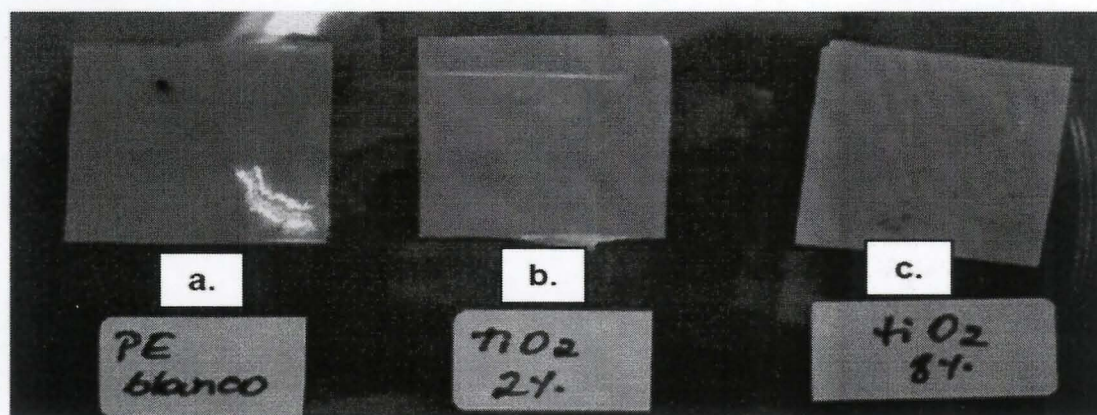
Derivada TGA para PE, PE/TiO₂, PE-2/Mod-TiO₂, LLDPE, LLDPE/TiO₂ y LLDPE-2/Mod-TiO₂ nanocompositos con 3 y 5 wt% de nanopartículas.

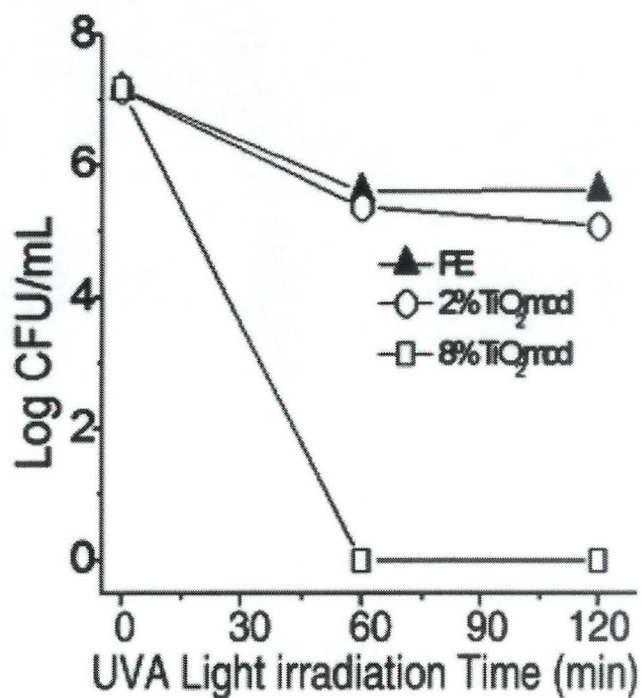
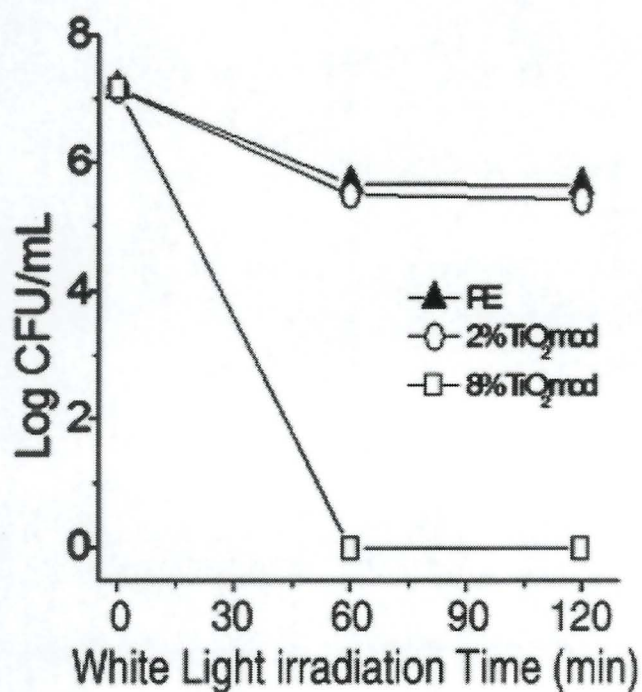
A.Zenteno, S.Gurrero, I.Lieberwirth, M-T.Ulloa, H.Palza, **P.A.Zapata***, Polymer International, 64,1442-450 **2015**.

Yañez D, F.M. Rabagliati, S.Guerrero, I.Lieberwirth, M.T. Ulloa, T.Gomez **P.A.Zapata***, Applied Catalysis A: General, 489, 255-261, **2015**.



$$\% R = \frac{(CFU \text{ virgen polimer} - CFU \text{ nanocomposite})}{CFU \text{ virgen polimer}} * 100$$





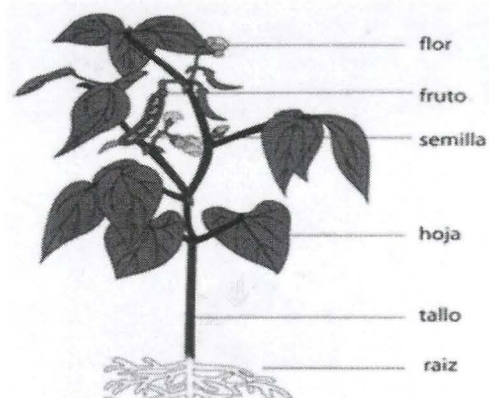
Inactivación de *E. coli* en in vitro test después de 60 y 120 min de irradiación. bajo (a) luz blanca y (b) UVA del PE and PE/Mod-TiO₂ nanocompositos incluyendo varios ModTiO₂ nanoparticle contents .

P.Zapata, H.Palza, F.M. Rabagliati. Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry. 50,4055-4062,2012.

ACEITES ESENCIALES

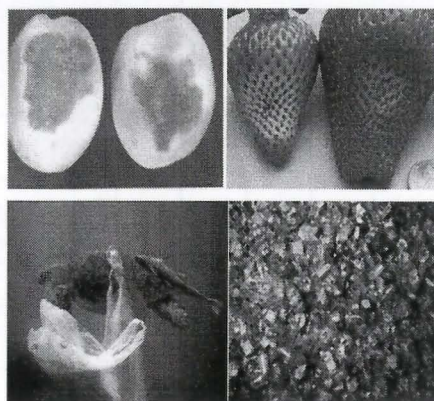


- HIDROCARBUROS
- ALCOHOLES
- CETONAS
- ALDEHIDOS
- ESTERES
- FENOLES



COMPUESTO CON PROPIEADES BIOCIDAS CONTRA UN AMPLIO ESPECTRO DE MICROORGANISMOS

1. **Deterioro** de alimentos
2. **Lenta** degradación de plásticos
3. **Acumulación** de residuos



Degradación poliolefinas: **400 años**

*Fuente: Polym Degrad Stabil
91(2006) 2739*



Residuos sólidos municipales en Chile:
650.000 ton/año plásticos

*Fuente : Primer Reporte Del
Manejo De Residuos Sólidos En
Chile, 2010.*

Industria de plásticos en Chile: **US\$3.000 MM** (2011)

(Fuente: Diario Financiero,

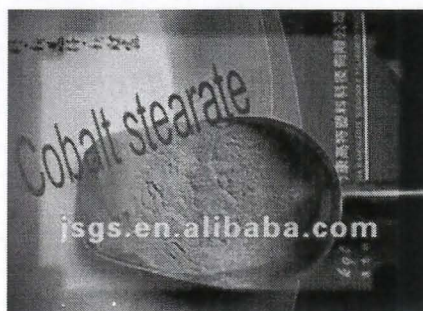
<http://www.sofofainnova.cl/innovaciones-de-compuestos-del-plastico-diversifican-mercados/>)

DEGRADABILIDAD DE LAS PELÍCULAS

ASTM6954-04, la cual está relacionada, con la regulación del manejo de desechos de bolsas plásticas y films base polímeros



Estereato, oleato de cobalto y acetato férrico



**Permanecen después de la degradación
generando otro contaminante**



**Incorporar un mineral natural que acelere la
degradación del polietileno sin contaminantes
remanentes**

SOLUCIÓN INNOVADORA

1 Film inteligente de **doble función**



BIOCIDA/FUNGICIDA

+

BIO-DEGRADABLE

Principio Activo

Mineral natural pro-degradante:

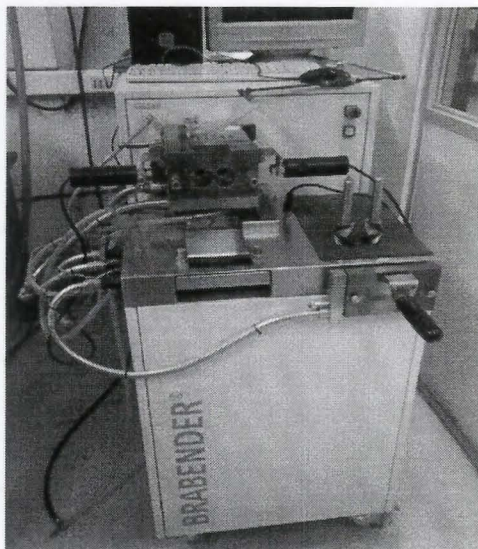


2 Aplicación en **múltiples industrias**

- a) Alimentos
- b) Invernaderos

PROCESAMIENTO DE LAS PELÍCULAS

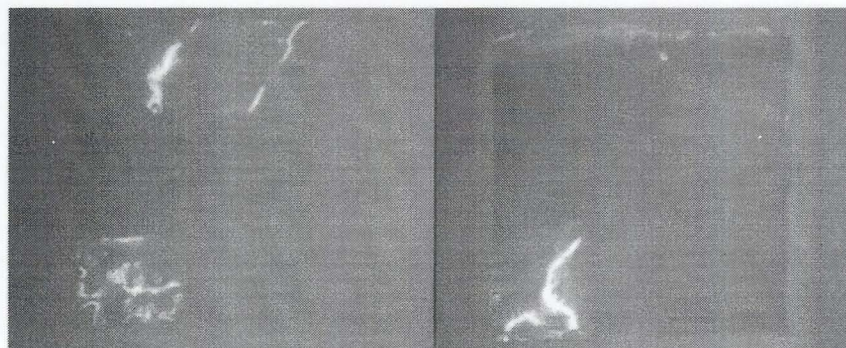
Mezclado en fundido



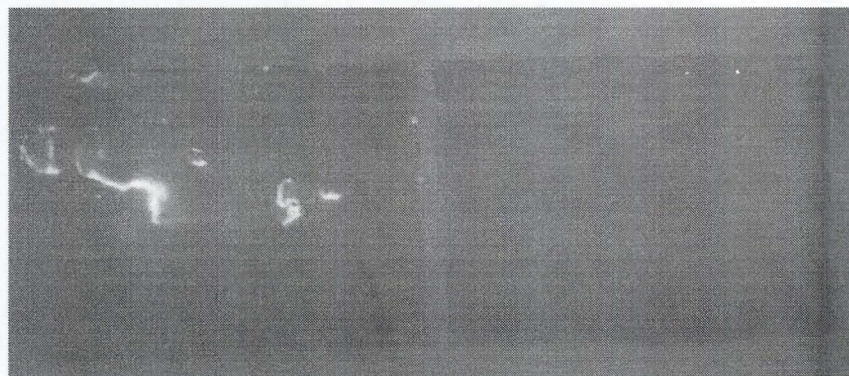
Proceso de prensado



Películas de Polietileno



**Películas PE-
Microcápsulas**



**Películas
PE-Agente
activo**

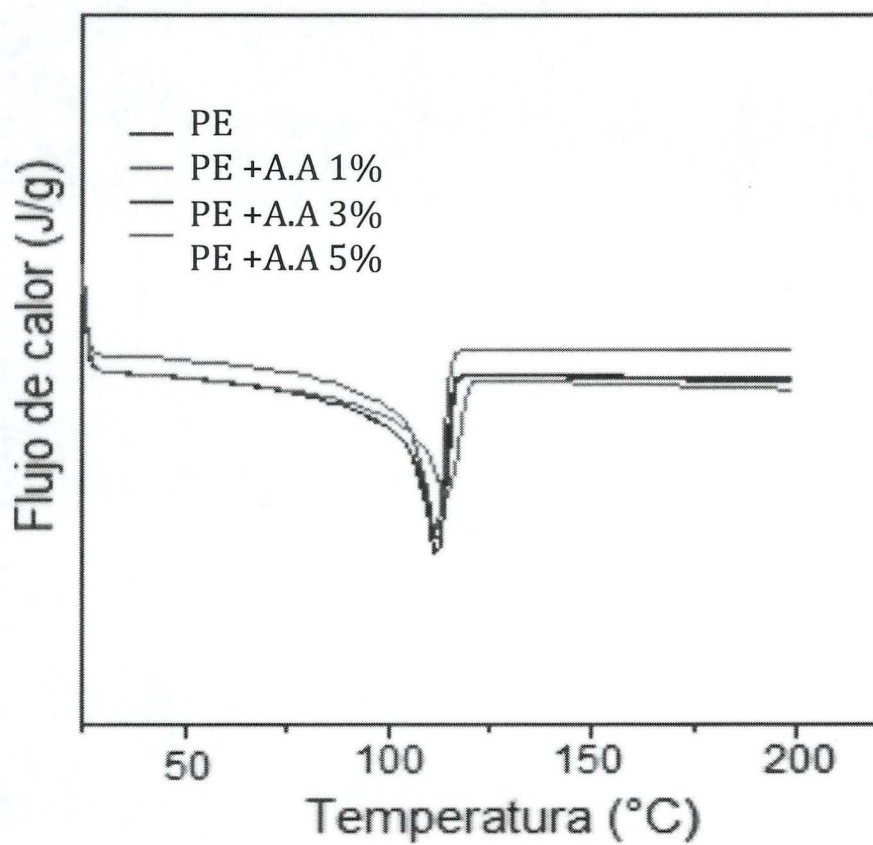
RESULTADOS

Propiedades mecánicas , Determinación modulo de Young

Tabla. Resultado de propiedades mecánicas de las películas con agente activo

Razón PE/A.A %p/p	Módulo de Young (MPa)	Límite Elástico (MPa)	% Elongación
PE solo	227 ± 1	$8,90 \pm 0,5$	$56,3 \pm 7,5$
99,5/0,5	220 ± 20	$8,06 \pm 0,6$	$53,6 \pm 3,6$
93/7	208 ± 14	$7,53 \pm 0,1$	$49,1 \pm 19,5$
95/5	208 ± 5	$7,60 \pm 0,2$	$45,4 \pm 12,9$

Calorimetría diferencial del barrido (DSC)



PERMEABILIDAD CONTRA VAPOR DE AGUA

Polietileno : 2.5×10^{-6} WVTR

Polietileno + Agente Activo : 2.1×10^{-6} WTR

WTR: Velocidad de transmisión de agua

Tabla 2. Porcentaje de reducción de unidades formadoras de colonia (UFC) de las películas mediante el método de conteo de colonia

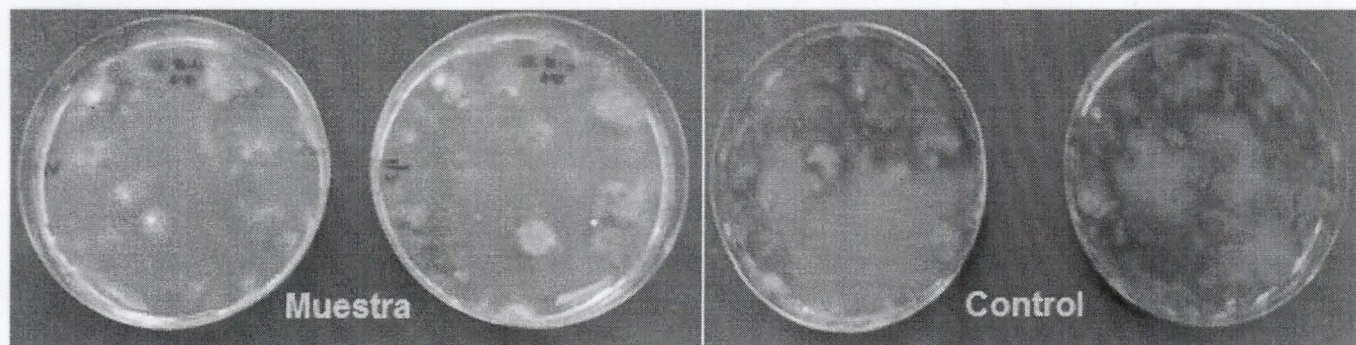
Película	Relación PE/carga (%)	Actividad fungicida (%)
PE + principio activo 1	99/1	85,3
	97/3	93,7
	95/5	99,9
PE + principio activo 2	99/1	25,4
	97/3	92,5
	95/5	99,9
PE + b-CD- principio activo 1	99/1	25,5
PE + principio activo 2	99/1	33,4

PROPIEDADES FUNGICIDAS DE LAS PELÍCULAS

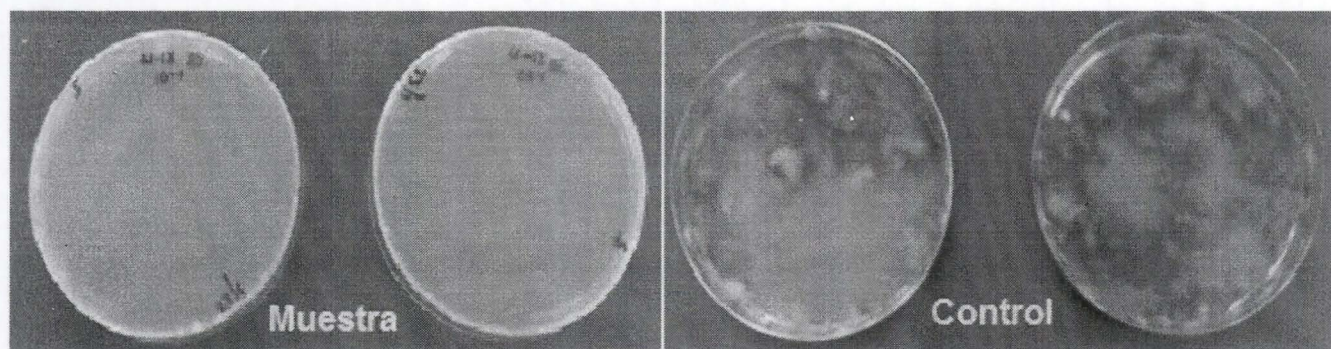
C= Recuento UFC/mL del control

M= Recuento UFC/mL de la muestra

$$\% \text{ Reducción} = \frac{C - M}{C} \times 100$$



PE/A.A



PE/A.A

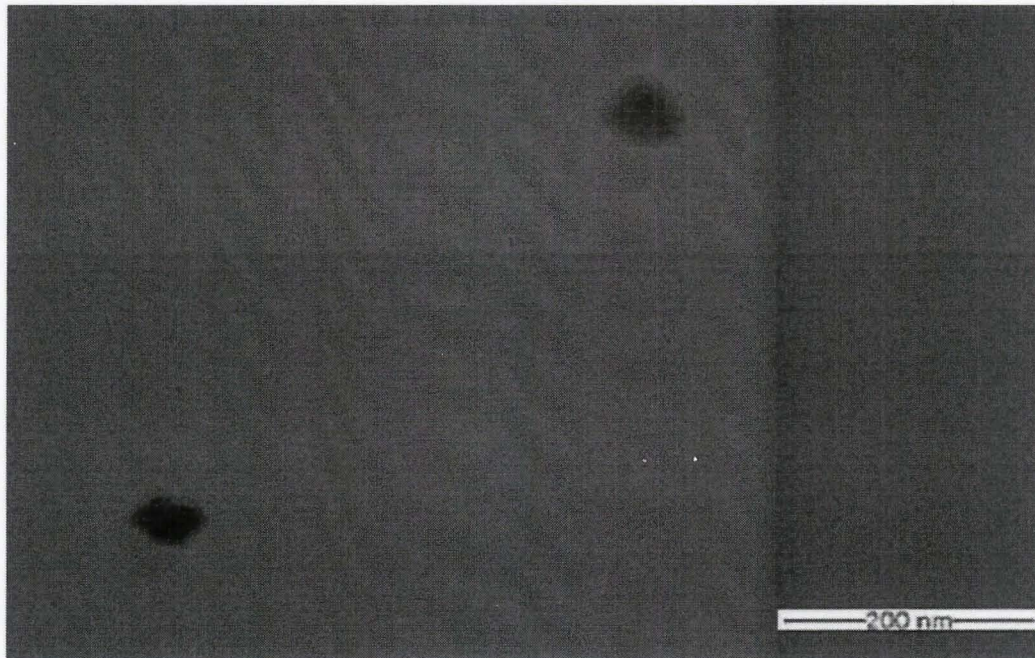
**Realización de masterbatch y
película de Polietileno y Agente
activo**



Preparación de una Película Degradante

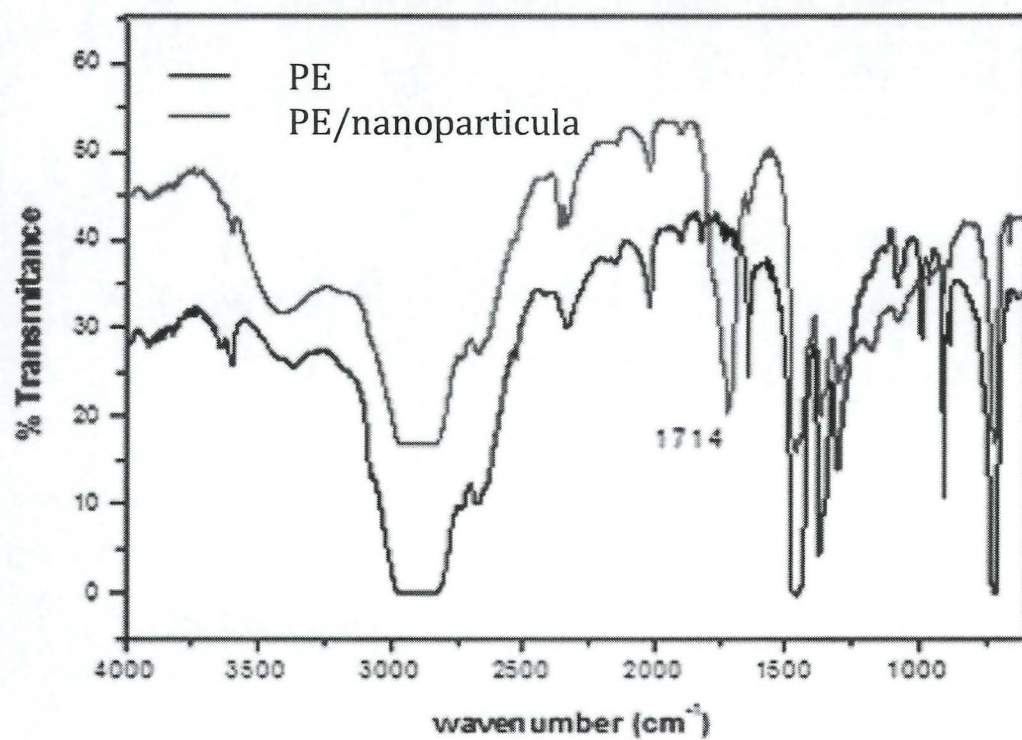
Nanopartículas no tóxicas como agente degradante

Nanopartículas

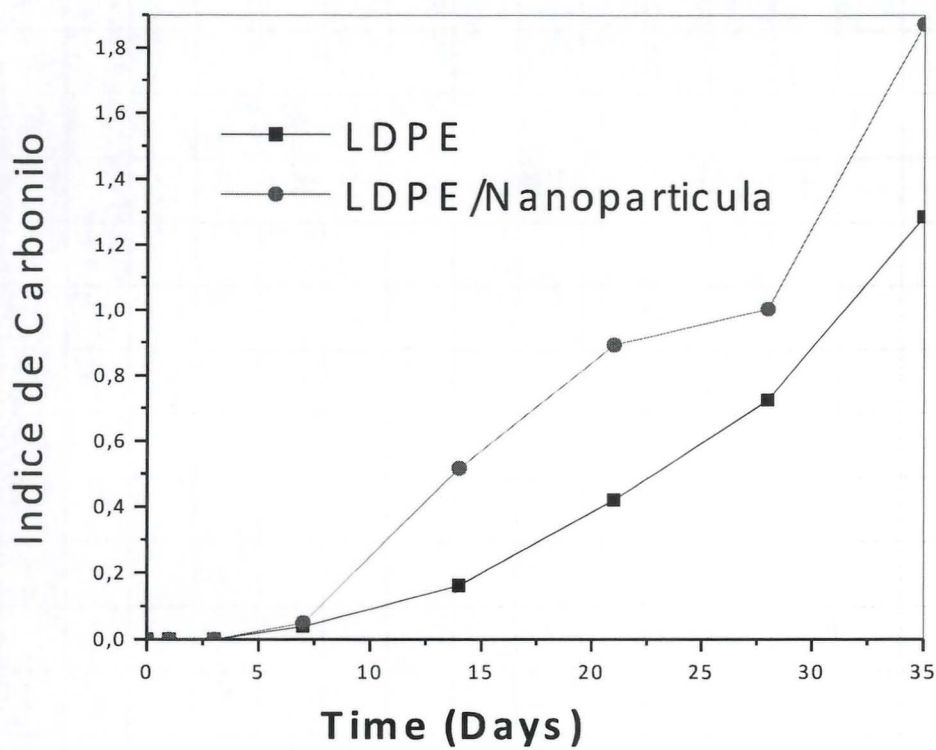


Propiedades mecánicas , Módulo de Young, Límite Elástico, Elongación a la rotura de PE/nanoparticulas

Nanopartículas	Carga	Módulo de Young (E)(Mpa)	Límite Elástico o Punto de fluencia (σ_y) (Mpa)	Elongación en ruptura (%)
S/P	S/N	202 ± 7	7.71 ± 0.03	60 ± 8
Nanoparticulas	3%	230 ± 7	8.38 ± 0.15	59 ± 10
Nanoparticulas	5%	250 ± 4	8.40 ± 0.09	42 ± 3
Nanoparticulas	8%	254 ± 10	8.08 ± 0.14	39 ± 1



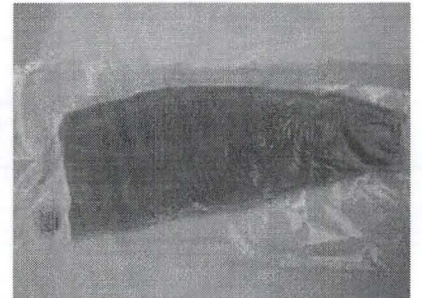
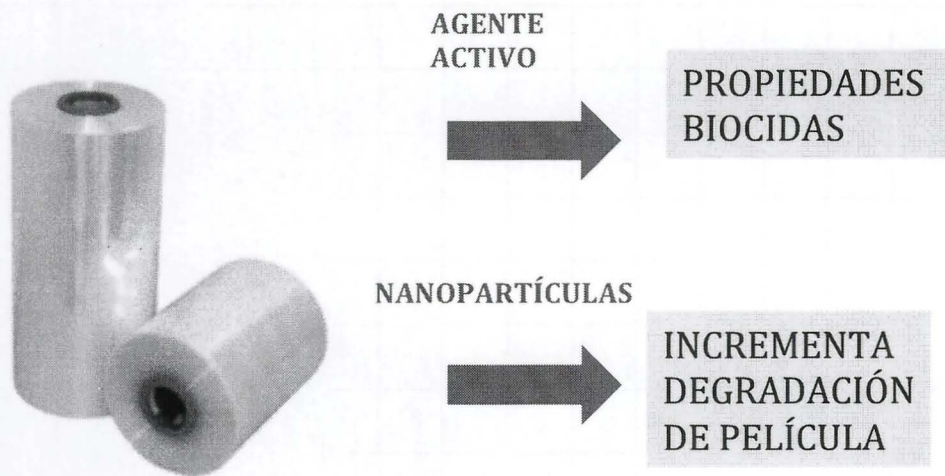
spectro IR of antes y después de la degradación



CI= (Absorbance 1715 cm^{-1} / absorbance 1465 cm^{-1})

Índice de Carbonilo , degradación en el tiempo.

CONCLUSIÓN



FILM INTELIGENTE

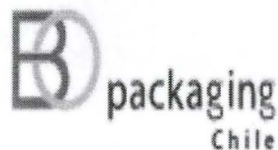
Agradecimientos



Fundación para la
Innovación Agraria



GOBIERNO REGIONAL
METROPOLITANO DE
SANTIAGO



UNIVERSIDAD
DE SANTIAGO
DE CHILE



Dirección de Gestión Tecnológica



Laboratorio de Polímeros

Professor Franco M. Rabagliati

Estudiantes de Pregrado

Luis Sebastián Cruz
Andrés Zenteno
Camila Segovia
Lissette Montoille
Pablo Seura
Boris Díaz
Nicolás Amigo
Cristián Silva
Andrea Armijo
Paula Gálvez
Marcela Saavedra
Felipe Boille
Francisca Rivera
Francческа Sepúlveda
Francisca Rodríguez
Jairo Fuentes

Magister

Daniela Yañez

Ph.D student

Jonathan Andrés Ortiz
Daniel canales

UNIVERSIDAD DE CHILE

Profesora: Maria Teresa Ulloa

Profesor: Eduardo Álvarez

Microbióloga: Lina Rivas



Grupo de Polímeros

GRACIAS POR SU ATENCIÓN

Anexo 11

Lista de Asistentes en el Cierre de Proyecto realizado el 6 de Diciembre

Empresa	Nombre	Cargo
Multiexport	Claudio Vera	Gerente de Plantas y Operaciones
Soprole	Yamilett Muñoz	Ingeniero Desarrollo
Soprole	Alejandro Campos.	Jefe Desarrollo
Watts	Fernando Olguin	Jefe de Desarrollo
Watts	Cesar Giacosa	Gerente Desarrollo
Watts	Juan Puentes	Gerente de Ingeniería
Grupo Empresarial	José Contreras	Gerente General
Grupo Empresarial	Mirella Concha	Innovación & Desarrollo
Grupo Empresarial	Cecilia Alcayaga	Innovación & Desarrollo
BO Packaging	Rigoberto Toro	Gerente Desarrollo
BO Packaging	Carlos Martinez	Jefe Área Técnica
BO Packaging	Juan Carvajal	Ingeniero de Desarrollo
BO Packaging	Loreto Yamal	Gerente Comercial
BO Packaging	Constanza Zuñiga	Ejecutiva Comercial
BO Packaging	Fernando Bustamante	Ejecutivo Comercial Zona Sur
BO Packaging	Roberto Villanueva	Ejecutivo Comercial
BO Packaging	Patricia Zamorano	Ejecutiva Comercial
BO Packaging	Felipe Álvarez	Ejecutivo Comercial
TOPCOLOR	Loreto Contreras	Ejecutiva Técnica
DGT	Saul Carrillo	USACH
DGT	Carlos Abello	USACH
DGT	Rodrigo Morgado	USACH
DGT	Osvaldo Quiroz	USACH
USACH	Paula Zapata	Investigadora principal
USACH	Lisette Montoille	Administradora de Proyecto
USACH	Jaime González	Gestor Comercial
USACH	Daniel Canales	Investigador

Anexo 12



Anexo 13

Manuscript Number: FOOD-D-17-00074R1

Title: Fungicide compound based on inclusion complexes of carvacrol, cinnamaldehyde, oregano and cinnamon with β -CD

Article Type: Full Length Article

Keywords: Essential oil (oregano and cinnamon); Active compound (cinnamaldehyde and carvacrol); β -Cyclodextrin, inclusion complex; *Botrytis cinerea*

Corresponding Author: Dr. Paula Andrea Zapata Ramírez, Ph.D

Corresponding Author's Institution: Universidad Santiago de Chile

First Author: Paula Andrea Zapata Ramírez, Ph.D

Order of Authors: Paula Andrea Zapata Ramírez, Ph.D; Daniel Canales ; Lina M. Rivas ; Lissette Montoille ; Franco M. Rabagliati ; Maria Teresa Ulloa; Eduardo Alvarez

Abstract: An inclusion complex of β -cyclodextrin with two essential oils (oregano and cinnamon) and their corresponding active components (carvacrol and cinnamaldehyde) were prepared by the coprecipitation method. The inclusion complex studied by scanning electron microscopy (SEM) found particles of different sizes around 4 μ m. The interaction between the essential oils or the active compounds with the β -cyclodextrin was confirmed by infrared spectroscopy (IR) and differential scanning calorimetry (DSC). The encapsulation efficiency increased with stirring speed and it was slight higher for oregano and carvacrol (ca. 90%) than for cinnamon and cinnamaldehyde. The inclusion complex enhanced the thermal stability of the essential oil and the active compound. The β -cyclodextrin-cinnamaldehyde complex had a greater effect against *Botrytis cinerea* than β -cyclodextrin-carvacrol.

Santiago, Chile, January, 2016.

Dear Editor,

We are submitting the manuscript "FUNGICIDE COMPOUND BASED ON INCLUSION COMPLEXES OF CARVACROL, CINNAMALDEHYDE, OREGANO AND CINNAMON WITH B-CD for be considered for publication in the "International Journal of Food Microbiology".

In this manuscript we are reporting the inclusion complex of β -cyclodextrin with two essential oils (oregano and cinnamon) and their corresponding active components (carvacrol and cinnamaldehyde). The inclusion complex studied by scanning electron microscopy (SEM) found particles of different sizes around 4 μm . The encapsulation efficiency increased with stirring speed and it was slight higher for oregano and carvacrol (ca. 90%) than for cinnamon and cinnamaldehyde. The inclusion complex enhanced the thermal stability of the essential oil and the active compound. The β -cyclodextrin-cinnamaldehyde complex had a greater effect against *Botrytis cinerea* than β -cyclodextrin-carvacrol.

This submission of this manuscript is original and it had not been under consideration for publication elsewhere, and all authors are aware of the submission and agree to its publication.

Any consideration regarding to this paper will be greatly appreciated.

Sincerely yours

Paula Andrea Zapata Ramírez
Universidad de Santiago de Chile
Chile

13 March 2017, Chile

Dear Editor

Ms. Ref. No.: FOOD-D-17-00074

Title: Fungicide compound based on inclusion complexes of carvacrol, cinnamaldehyde, oregano and cinnamon with β -CD
International Journal of Food Microbiology

Please find enclosed to this note our responses their comments.

1. Your references are in the wrong format. References need to be cited by author and date in the text, and listed alphabetically at the end of the paper. Please reformat your paper to comply with the Journal's requirements as outlined in the 'Guide for Authors' on our website. Once this is done, I am prepared to send you paper out for peer review.

Answer: The References were corrected with the format journal

Best Regards,

Paula Andrea Zapata R

HIGHLIGHTS

An inclusion complex of β -cyclodextrin with essential oils (oregano and cinnamon) and their corresponding active components (carvacrol and cinnamaldehyde) were prepared by the coprecipitation method.

The inclusion complex enhanced the thermal stability of the essential oil and the active compound.

The β -cyclodextrin-cinnamaldehyde complex had a greater effect against *Botrytis cinerea* than β -cyclodextrin-carvacrol

**Fungicide compound based on inclusion complexes of carvacrol, cinnamaldehyde,
oregano and cinnamon with β -CD**

Daniel Canales ^a, Lina M. Rivas ^b, Montoille L ^a, Franco M. Rabagliati ^a, Maria Teresa
Ulloa ^b, Eduardo Alvarez ^b, Paula A. Zapata ^{a*}.

^a. Grupo Polímeros, Facultad de Química y Biología, Universidad de Santiago de
Chile, USACH, Santiago, Chile
^b. Programa de Microbiología y Micología. ICBM Facultad de Medicina Universidad
de Chile, Independencia, Santiago, Chile

Abstract

An inclusion complex of β -cyclodextrin with two essential oils (oregano and cinnamon) and their corresponding active components (carvacrol and cinnamaldehyde) were prepared by the coprecipitation method. The inclusion complex studied by scanning electron microscopy (SEM) found particles of different sizes around 4 μ m. The interaction between the essential oils or the active compounds with the β -cyclodextrin was confirmed by infrared spectroscopy (IR) and differential scanning calorimetry (DSC). The encapsulation efficiency increased with stirring speed and it was slight higher for oregano and carvacrol (ca. 90%) than for cinnamon and cinnamaldehyde. The inclusion complex enhanced the thermal stability of the essential oil and the active compound. The β -cyclodextrin-cinnamaldehyde complex had a greater effect against *Botrytis cinerea* than β -cyclodextrin-carvacrol.

Keywords

Essential oil (oregano and cinnamon), Active compound (cinnamaldehyde and carvacrol), β -Cyclodextrin, inclusion complex, *Botrytis cinerea*

1. Introduction

Food industry challenges are focused on diverse requirements driven by consumers or by the industry itself, and one of the most important is the growing interest in preserving food quality from the sensory and nutritional standpoints without increasing production cost (Clemente et al., 2016). It is important to search for antimicrobial agents like essential oils that can protect food from foreign agents.

Essential oils (EOs) are among the most important raw materials in the food and pharmaceutical industry (Wang et al., 2011). EOs can be extracted from various aromatic plants including that synthesize them (Zhang et al., 2016). These essential oils possess various biological activities, mainly antibacterial, antifungal, and antioxidant properties.

Cinnamon and oregano are two essential oils whose main active principles are cinnamaldehyde and carvacrol, respectively. Cinnamon is a small, 10-15 mtall, evergreen tree belonging to the family *Lauraceae*. It is used mainly in cooking as a condiment and flavoring material. In medicine it has been used to treat diarrhea and other digestive system problems. Cinnamon is high in antioxidant activity and also has antimicrobial properties (Petrovic et al., 2010). The cinnamon compositions is related with the origin, for example the cinnamon from Brazil is composed of (E)-cinnamaldehyde (67.78), (Z)-cinnamaldehyde (7.15) and eugenol (7.47%) (Petrovic et al., 2010). From cinnamon extract, trans-cinnamaldehyde has been found to be one of the most effective antioxidant and antimicrobial agent against foodborne pathogens (Hill et al., 2013). The essential oil of oregano consists mainly of carvacrol and thymol, whose amounts vary according to its origin (Kordali et al., 2008). Carvacrol, a monoterpene phenol, can be found from traces up to 80% in various species (Nostro, Papalia, 2012). It has excellent antioxidant and antimicrobial properties; the antibacterial activity of carvacrol has been attributed to its

considerable effects on the structural and functional properties of cytoplasm membranes (Burt, 2004). A study applied to wine spoilage yeasts shows that the antifungal activity of carvacrol is associated with membrane damage, causing the cytoplasm's content to pour out (Prednya, Santoch, 2014).

However, the essential oil decomposes or is evaporated when exposed to air, light, or heat. One way to stabilize the essential oil is by its inclusion in carrier molecules (Wang et al., 2011). Molecular encapsulation of essential oils upgrades their chemical and thermal stability and facilitates their handling (Petrovic et al., 2010). Encapsulation can be achieved by complexation with cyclodextrins (CD). The inclusion complex guest compound with CD can enhance stability, improve water solubility, protect against oxidation and heat, and reduce volatility (Wang, 2011).

Cyclodextrins are enzymatically modified starch and macrocyclic oligosaccharides, consisting of (α -1,4)-linked α -D-glucopyranose units, with a hydrophilic outer surface and a hollow hydrophobic interior (Szente, Szejtli, 2004). The CD have the ability to form inclusion complexes with hydrophobic molecules such as essential oils, which go partly or entirely into the relative hydrophobic cavity of the CD, expelling at the same time the few high energy water molecules from the inside (Kader, Aggor, 2013), allowing the essential oil to remain as an effective antimicrobial agent under a wide variety of environmental conditions and for longer time periods (Hill et al., 2013). Among the CD, β -cyclodextrin (β -CD) is widely used as suitable for common guests with molecular weights between 200 and 800 g mol⁻¹ and also due to its availability and reasonable price (Waleczek et al., 2003). β -CD has been applied to protect oil volatiles against oxidation, heat and light degradation, evaporation, and moisture, mainly terpene and phenylpropane derivatives.

This protection is due to the fact that the flavor molecules (guest) may involve total inclusion or association only with the hydrophobic part of the molecule.

Petrovic et al. prepared the inclusion complex of cinnamon with β -CD using the coprecipitation method (Petrovic et al., 2010). The authors showed that the main components studied chromatographically were (E)-cinnamaldehyde, (Z)-cinnamaldehyde, and eugenol. The essential oil was complexed with β -CD with 93.77% yield at a 20:80 β -CD ratio. The composition of the oil extracted from the complex was similar qualitatively and quantitatively to that of the initial oil. The authors did not show the biocidal effect the complex.

Cinnamon bark extract, trans-cinnamaldehyde, clove bud extract, eugenol, and a 2:1 trans-eugenol mixture were microencapsulated by the freeze-drying method in β -CD. The cinnamon bark and clove extract β -CD inclusion complex was the most effective antimicrobial system against representative Gram positive (*Listeria innocua*) and Gram negative (*Salmonella enterica*) microorganisms (Hill et al., 2013).

There are no studies on the preparation of the β -CD/carvacrol, β -CD /cinnamaldehyde, β -CD/cinnamon, and β -CD/oregano complexes and their use against *Botrytis cinerea*, which attacks grapes.

2. Experimental

2.1 Materials

The cinnamon and oregano essential oils (cinnamon, oregano) were purchased from a natural products store; β -CD (98%), cinnamaldehyde (99%), and carvacrol (98%) were purchased from Sigma-Aldrich, and dichloromethane (99.9%) from Merck Darmstadt.

2.2 Preparation of the β -CD inclusion complex

The co-precipitation method was used to prepare the inclusion complexes between β -CD and the active agents (cinnamaldehyde and carvacrol) and essential oils (cinnamon and oregano) [Petrović et al., 2010]. Five grams of β -CD and 50 mL of a 2:1 water/ethanol mixture were placed in a reactor, with stirring, and warmed to 55 °C. Ten percent v/v solutions in ethanol of the active agents (essential oil, cinnamaldehyde, or carvacrol) were prepared. The w/w ratio of β -CD to the active agents was 80:20. The solution of the active agents was added dropwise to the β -CD solution, mixing at 55 °C for 30 min. The solution was stirred during 4 h until its temperature decreased to 25 °C. The final solution was cooled to 7 °C during 12 h, and the precipitate was recovered by vacuum filtration and dried in an oven for 24 hours.

2.3 Encapsulation yield and efficiency

The encapsulation yield (E.Y.) and encapsulation efficiency (E.E.) in β -CD were studied for cinnamon, oregano, cinnamaldehyde, and carvacrol. The inclusion complexes were quantified in UV-visible spectrophotometer Weisser SPECORD 100 at 280 nm. The inclusion complex (0.5 g) was dissolved in 20 mL of distilled water and 10 mL of

dichloromethane, the solution was placed in an ultrasonic bath for 30 minutes, and the organic phase was recovered and quantitated by UV-visible spectroscopy. Previously a calibration curve was made to extrapolate the amount of oil present in the inclusion complexes. The E.E. was calculated by the following equation (Hill et al., 2013).

$$E.E. = \frac{\text{amount of active compound entrapped}}{\text{initial amount of active compound}} \times 100$$

Where “amount of active compound entrapped” is the amount of compound present in the inclusion complex particles and “initial amount of active compound” indicates the amount of compound initially used to manufacture the inclusion complex particles.

The encapsulation yield (E.Y.) is a ratio of the mass of inclusion complex obtained and the amount of reagents used. The E.Y. serves to quantify the efficiency of the encapsulation of the active agents. The determination is shown in the following equation:

$$E.Y. = \frac{\text{amount of inclusion complex obtained}}{\text{initial amount of reagents used}} \times 100$$

2.4 Characterizations of inclusion complexes, essential oils, and active compounds

The samples were analyzed by scanning electronic microscopy (SEM) in a Zeiss EVO-MA10 apparatus, with a resolution of 3000 X in a nitrogen atmosphere.

Infrared (IR) spectroscopic analysis was carried out in Perkin Elmer BX-FTIR spectrometer. The IR spectra were collected in the 4000 to 500 cm⁻¹ range, with a resolution of 4 cm⁻¹ at room temperature.

Differential scanning calorimetry (DSC) (Mettler DSC823) was used in order to study the thermal behavior of the samples, which were heated from 25 to 180 °C at a rate of 10 °C/min, and were then cooled to 25 °C in a nitrogen atmosphere.

The thermal stability of the inclusion complex was evaluated by thermogravimetric analysis (TGA) using a Netzsch TG Libra 209 in an inert atmosphere (nitrogen), heating the samples from 25 to 600 °C at a rate of 20 °C/min.

Antifungal activity

The antifungal activity of the essential oils was studied by agar well diffusion tests. *Botrytis cinerea* strain ChFC12 was used. To evaluate the biocidal properties of the inclusion complex, spore suspensions containing 4×10^5 to 5×10^6 spores/mL by microscopic counting with a cell-counting hemacytometer. Sabouraud dextrose agar BBL® was inoculated aseptically with 200 µL of spore suspension. In the center of the culture media a drop of 20 µL of inclusion complex was added (100, 50, 25, 12.5% v/v in ethanol), using β-CD alone as control. The Petri dishes were incubated at 27 °C for 10 days. Three replicates were setup for all concentrations and controls.

3. RESULTS

3.1 Complex inclusion and characterization

All powders produced were of yellow color, while the β -CD powder is white. The color is due to the interaction of the active compound with the β -CD as an inclusion of oil pigments into the β -CD cavity or adsorption on the powder surface.

3.1.1 Morphological analysis of the inclusion complexes

Figure 1 shows the inclusion complex of the active compounds (cinnamaldehyde, carvacrol) and essential oils (cinnamon, oregano) incorporated into β -CD. The inclusion of cinnamaldehyde into β -CD gave different microencapsulated particle sizes. The inclusion of carvacrol presented smaller size encapsulation particles, ca. 4 μm , than cinnamaldehyde. For the essential oils, the microencapsulations were more homogenous and the particles were larger than those of the active compounds. There was some particle agglomeration. A similar behavior was found by [Hill et al. \(2013\)](#), who explained that large particles appear to attract smaller particles. Small clusters of particles were identified in the beginning stages of particle agglomeration. The irregular shape was a consequence of the self-assembly of β -CD.

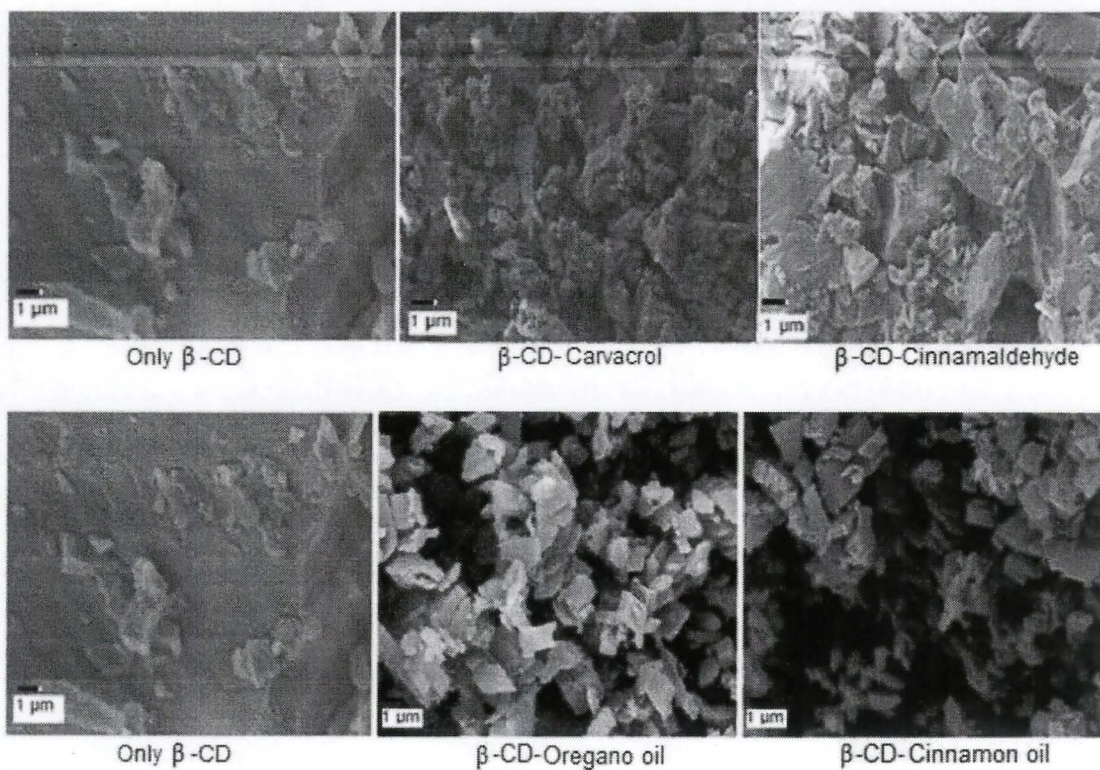


Figure 1. Scanning electron microscopy (SEM) of a) β -CD, b) β -CD-carvacrol, C) β -CD-cinnamaldehyde , d) β -CD, e) β -CD-oregano oil, and f) β -CD-cinammon oil

3.1.2 Fourier transform infrared (FIIR) spectroscopy of the inclusion complexes

FT-IR was used to confirm the formation of the inclusion complexes. **Figures 2 and 3** show the IR spectra of the active compounds (cinnamaldehyde or carvacrol) and the essential oils: cinnamon and oregano, β -CD, and the inclusion complexes: β -CD/cinnamaldehyde and β -CD/carcacrol, β -CD/cinnamon and β -CD/oregano.

For carvacrol encapsulation, the carvacrol did not cause a significant shift of the FTIR bands compared with β -CD. This means that there is no strong interaction between carvacrol and the β -CD groups. After encapsulation small signals appear around 1300-1400

cm⁻¹ for the β-CD/carvacrol complex which correspond to interactions of C-OH from the aromatic ring.

Cinnamaldehyde has a signal at 1670 cm⁻¹ due to the carbonyl C=O band vibration. The β-CD has prominent bands at 3300 cm⁻¹ (O-H stretching vibration), 2929 cm⁻¹ (C-H stretching vibration), 1648 cm⁻¹ (H-O-H), 1150 cm⁻¹ (C-O stretching vibration), and 1030 cm⁻¹ (C-O-C stretching vibration) [Wang et al., 2011]. The β-CD/cinnamaldehyde inclusion complex shows the typical signals for β-CD, and the carbonyl bands (C=O) appear after the inclusion of cinnamaldehyde in β-CD.

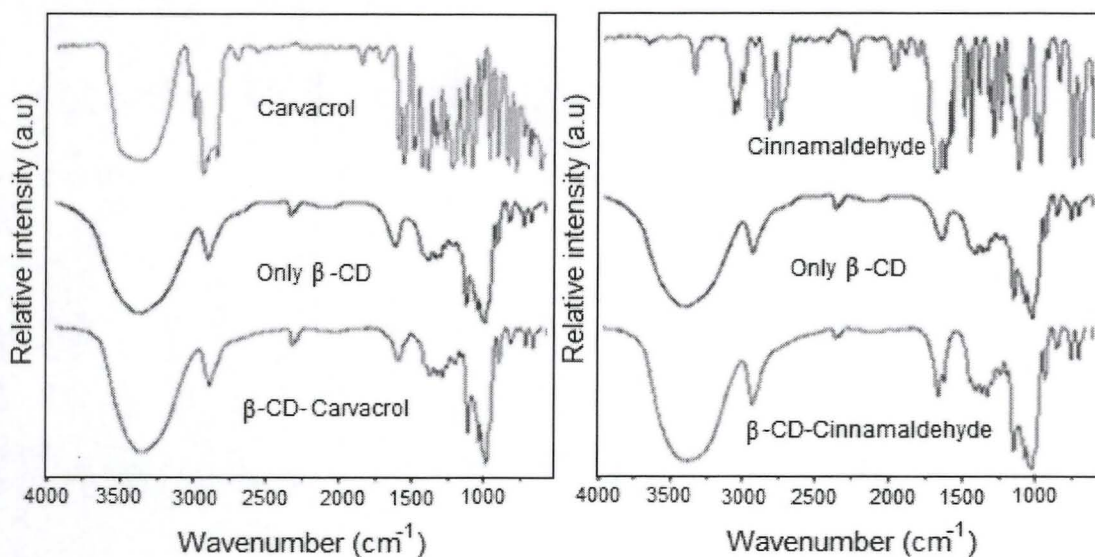


Figure 2 . FTIR spectra of the active compounds (carvacrol and cinnamaldehyde), β-CD, β-CD/carvacrol, and β-CD/cinnamaldehyde.

Figure 3 shows the spectra of microencapsulated oregano and cinnamon oils. Oregano oil shows a band at 1250 cm⁻¹ attributed to C-OH interactions, and cinnamon oil has a strong signal at 1512 cm⁻¹, probably due to the interaction of C=O and β-CD. The

analysis of the essential oil is difficult because of the diverse compounds and band overlap of the essential oils.

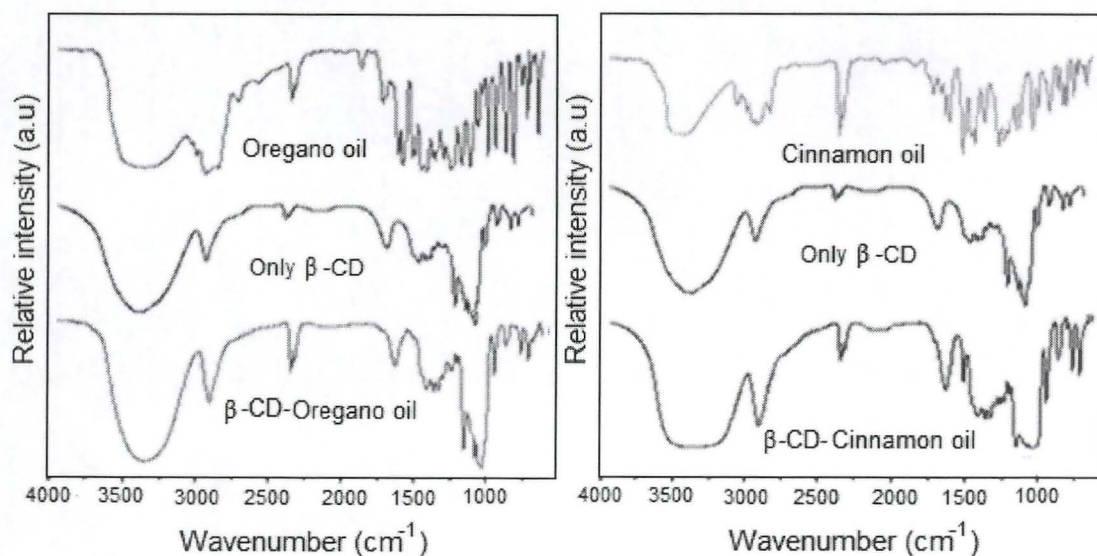


Figure 3 . FTIR spectra of the active compounds (oregano and cinnamon oil), β -CD, and the inclusion complexes (β -CD/oregano oil and β -CD/cinamon oil).

3.1.3 Encapsulation yield (E.Y.) and encapsulation efficiency (E.E.)

Table 1 and Figure 4 show the encapsulation yield (E.Y.) and encapsulation efficiency (E.E.) at different stirring speeds. The E.E. is a quantitative parameter used to calculate the amount of active compound entrapped in the inclusion complex, and it increases with stirring speed. This indicates that the stirring is very important to facilitate the inclusion of the active compounds in the cavities of β -CD. Another study reported the entrapment efficiency of trans-cinnamaldehyde at 84.70% in the β -CD inclusion complex, similar to that reported in the present study (Hill et al., 2013).

The encapsulation yield and efficiency of carvacrol and oregano were slight higher than those of cinnamaldehyde and cinnamon at stirring speeds of 500-750 rpm. This may be due to the hydroxyl group of the active compound (carvacrol or oregano) interacting through hydrogen bridges with the inside of β -CD.

The entrapment efficiency of the active compound for the extracts should be lower than that of the purified compounds since there are other compounds competing for inclusion in β -CD.

Table 1. Encapsulation yield (E.Y.) and encapsulation efficiency (E.E) of β -CD inclusion complexes at 280 nm at different stirring speeds.

Stirring speed (rpm)	β -CD- Cinnamaldehyde		β -CD- Carvacrol		β -CD- Cinnamon		β -CD- Oregano	
	E.Y.	E.E	E.Y.	E.E	E.Y.	E.E	E.Y.	E.E
	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)
250	65	76	67	61	57	64	63	64
500	68	77	68	83	61	74	58	85
750	68	87	63	94	54	77	55	91
1000	70	91	64	90	53	80	61	93

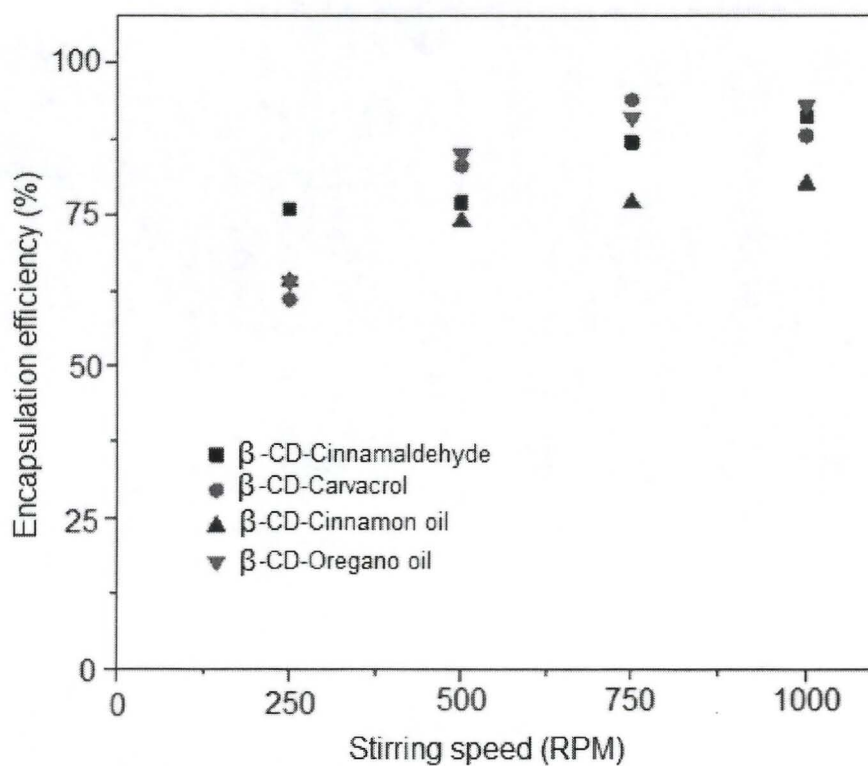


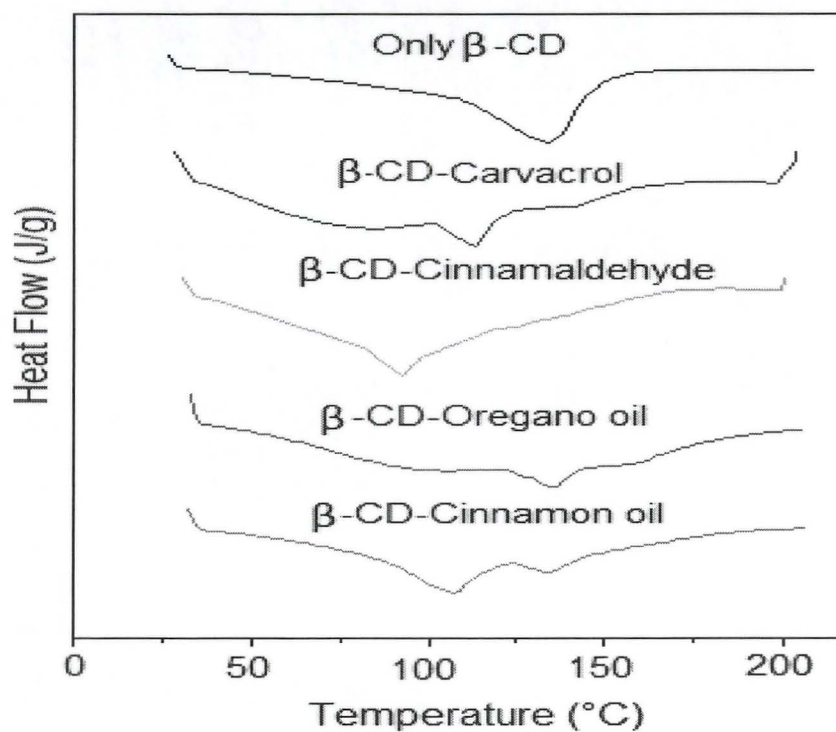
Figure 4. Encapsulation efficiency vs. stirring speed.

3.1.4. Differential scanning calorimetry (DSC)

Figure 5 displays the thermograms obtained for β -CD and the inclusion complexes with cinnamaldehyde and carvacrol. For β -CD there is a broad endothermic peak near 130 °C_s related to the removal of the water molecules that bind to β -CD. The characteristic peak of the cyclodextrin turned broader after the inclusion of carvacrol, cinnamaldehyde, oregano oil and cinnamon oil. It may be due to the interaction of the active agents with β -CD. The change in the peak indicates the inclusion of the active compound in the complex. For carvacrol and cinnamaldehyde the peak decreases at lower temperature than β -CD, in contrast with the behavior observed by **Wang et al. (2011)** who studied the preparation of the inclusion complex of garlic and cyclodextrin, reporting that the endothermic peak of

280 cyclodextrin is shifted to a higher temperature for the inclusion complex system, which can
281 be explained on the basis of an interaction between garlic oil and β -CD.

282



283

284 **Figure 5.** DSC thermograms of β -CD and β -CD/carvacrol, β -CD/cinnamaldehyde, β -CD-
285 oregano oil, and β -CD/cinnamon oil inclusion complexes.

286

287

288

289

290

291

292

3.1.5. Thermogravimetric analysis

Figure 6 shows the TGA thermogram of β -CD, the active compounds (carvacrol and cinnamaldehyde), the essential oils (oregano and cinnamon), and their corresponding inclusion complexes. β -CD has two peaks, one in the range of 50-82 °C that is attributed to the release of water molecules, and another one close to 330 °C corresponding to the decomposition of β -CD. The active compounds (cinnamaldehyde and carvacrol) and the essential oils start decomposing between 120 and 150 °C, and the maximum signal appears at 200-205 °C. The inclusion complex has one signal at ca. 330 °C, therefore the β -CD enhances the thermal stability of the essential oils and the active compounds as described by Wang et al. (2011); Menezes et al. (2016).

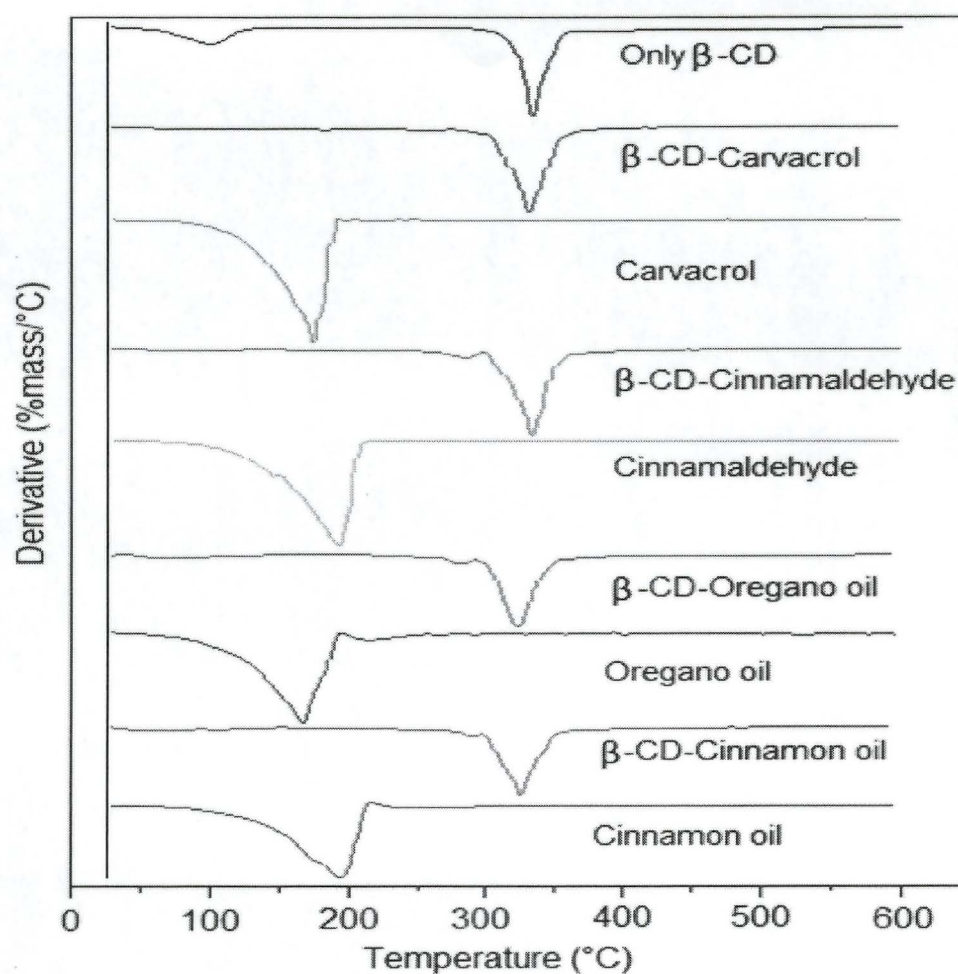
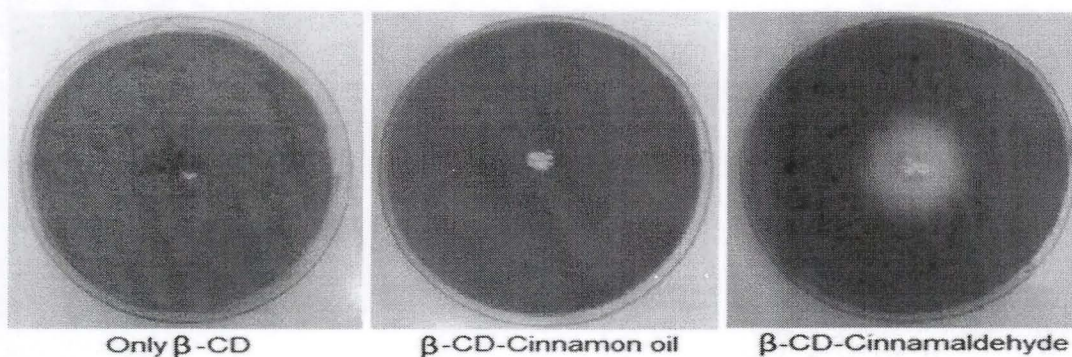


Figure 6. TGA analysis of the active compounds (carvacrol and cinnamon), the essential oils (oregano and cinnamon), β -CD, and the inclusion complexes: β -CD/carvacrol and β -CD/cinnamladehyde, β -CD/oregano oil and β -CD/cinnamon oil.

315 3.1.6 Fungicidal properties of the essential oils and active compounds against *B.*
316 *cinerea*

317
318 Figures 7 and 8 show the results of the screening method used to study the
319 qualitative fungicidal activity of β -CD, β -CD/cinnamaldehyde, β -CD/cinnamon oil, β -
320 CD/oregano oil, and β -CD/carvacrol against *B. cinerea*. The results show an inhibition
321 compared to the β -CD control, confirming that these compounds inhibited fungal growth.



325 Only β -CD β -CD-Cinnamon oil β -CD-Cinnamaldehyde
326
327 Figure 7. Fungicidal activity against *B. cinerea* by the screening method: a) β -CD, b) β -
328 CD/cinnamon oil, and c) β -CD/cinnamaldehyde.

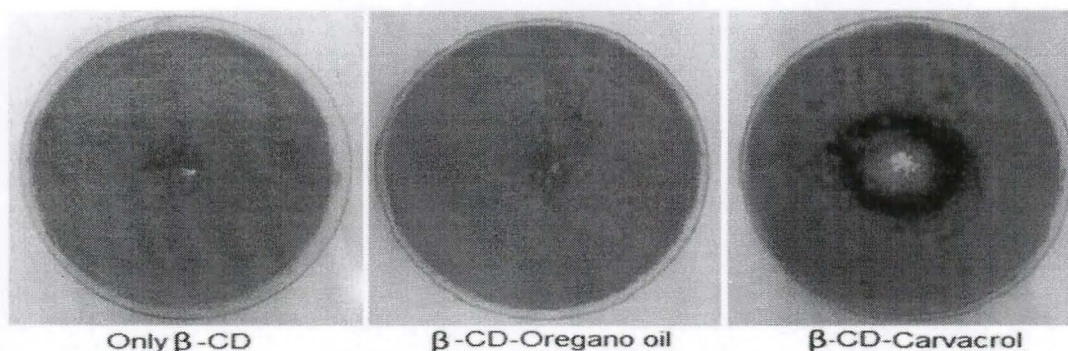


Figure 8 . Fungicidal activity against *B. cinerea* by the screening method: a) carvacrol, b) oregano oil, c) control, d) β -CD, e) β -CD/oregano oil, and f) β -CD/carvacrol.

The essential oil complex did not show an inhibition zone compared to the active substances (cinnamaldehyde and carvacrol). Cinnamaldehyde presented an inhibition halo larger than that of carvacrol [Lawtrakul et al., 2014]. showed that compounds having aromatic rings and OH groups in their structure form strong interactions with β -CD more favorably, indicating that interactions between β -CD and carvacrol are stronger compared to cinnamaldehyde, which makes carvacrol release lower than cinnamaldehyde.

There are some reported about of postulated of fungicide actions active compound [Saad et al., 2013]. Explained that the carvacrol actions result from an ion gradient modification and the effect is due to ability of bonding of active compound, as deprotonated, to cations and transfer them through the cell membrane. Phenolic compound may inhibit decay fungi due to their ability to react with the free radical and oxidant and also because of available hydroxyl groups (-OH) able to interact with metals (Chelator effect) [de Medeiros et al., 2016; Lima et al., 2013].

For cinnamaldehyde, Cheng et al. reported that the activity increases when there are conjugated bonds and aldehyde groups, since electron delocalization and therefore the free radical scavenger potential are increased [Cheng et al, 2006; Cheng et al, 2008].

Chan S-T studied the effect of cinnamaldehyde on the fungus, finding that the cinnamaldehyde interacts with the cell wall and inhibits enzymes such as chitin synthase and β -(1,3) glucan synthase, responsible for the synthesis of chitin and glucan, the main components of the wall, causing irreparable damage to the cell (Yeng, Chang, 2008).

Conclusions

The coprecipitation method was used successfully to complex the active substances (carvacrol or cinnamaldehyde), the essential oil (oregano or cinnamon) with β -CD. The encapsulation efficiency (E.E.) increased with stirring speed. This indicates that stirring is very important because it facilitates the inclusion of the active substances into the cavity of the β -CD, achieving ca. 90% of E.E. at 750 rpm. When the essential oils and active substances were incorporated into β -CD, the inclusion complex led to enhanced thermal stability, with the maximum temperature of the inclusion complex higher (320 °C) than that of the pure compound (200 °C). Cinnamaldehyde presents a higher effect against *B. cinerea* than carvacrol, which could be due to the strong interactions between carvacrol and β -CD, allowing cinnamaldehyde to reach the bacteria more easily than carvacrol.

Acknowledgements

The authors acknowledge the financial support of FIA "Fundación para la Innovación Agraria " under FIA project " nombre" (<http://www.fia.cl/>). And "Gobierno Regional Metropolitano de Santiago" (GORE-RM). The authors are grateful to Professor Sergio Moya for providing the UV equipment.

REFERENCES

- Burt, S., 2004. Essential oils: Their antibacterial properties and potential application in foods. *International Journal of Food Microbiology*. 94, 223-253.
- Cheng, S.S., Liu, J.Y., Hsui, Y.R., Chang, S.T., 2006. Chemical polymorphism and antifungal activity of essential oils from leaves of different provenances of indigenous cinnamon (*Cinnamomum osmophloeum*). *Bioresour. Technol.* 97, 306-312.
- Cheng, S.S., Liu, J.Y., Chang, E.H., Chang, S.T., 2008. Antifungal activity of and eugenol con- geners against wood- rot fungi. *Bioresour. Tecnol.* 99, 5145-5149.
- Clemente, I., Aznar, A., Silva, F., Nerín, C., 2016. Antimicrobial properties and mode of action of mustard and cinnamon essential oils and their combination against foodborne bacteria. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*. 36, 26-33.
- de Medeiros, F.C.M., Gouveia, F.N., Bizzo, H.R., Vieira, R.F., Del Menezzi, C.H.S., 2016. Fungicidal activity essential oil from Brazilian Cerrado Species against wood decay fungi. *International Biodeterioration and Biodegradation*. 114, 87-93.
- Hill, L., Gomez, C., Tylor, T., 2013. Characterization of beta-Cyclodextrin inclusion complex containing essential oils (trans-cinnamaldehyde, eugenol, cinnamon bark, and clove bud extracts) for antimicrobial delivery applications. *Food science and technology*. 51, 86-93.
- Kader, E., Aggor, A., 2013. Microencapsulation of Flaxseed Oil by B-Cyclodextrin. *Journal of Applied Science Research*. 9 (4) 2951-2958.
- Kordali, S., Cakir, A., Ozer, H., Cakmakci, R., Mete, E., 2008. Antifungal phytotoxic and insecticidal properties of essential oils isolated from turkish *origanum acutidens* and its three components, carvacrol, thymol and p-cymene. *Bioresource Technology*. 99, 8788-8795.
- Lawtrakul, L., Inthajak, K., Toochinda, P., 2014. Molecular calculations on b-cyclodextrin inclusion complexes with five essential oil compounds from *Ocimum Basilicum* (Sweet Brasil). *Science Asia*. 40, 145-151.
- Lima, I.O., Pereira, F.O., Oliveira, W.A., Lima, E.O., Menezes, E.A., Cunha, F.A., Formiga Melo Diniz, F.M., 2013. Antifungal and activity and mode of action of carvacrol against *candida albicans* strains. *J.Essen.Oil. Res.* 25, 138-142.
- Menezes, P., Serafini, R., Barbosa, Y., Soares, D., Santos, B., Quintans-Júnior, L., Neves, R., Mendonca, T., Rodrigues, A., Scotti, L., Scotti, M.T., Grangeiro-Júnior, S., Antunes, A., 2016. Kinetic and physical-chemical study of the inclusion complex of B-Cyclodextrin containing carvacrol. *J. Molecular Structure*. 1125, 323-330.

- Nostro, A., Papalia, T., 2012. Antimicrobial activity of carvacrol: Current progress and future prospective. *Recent Pat Antiinfect Drug Discov.* 7 (1), 28-35.
- Pradnya, C., Santoch, T., 2014. Antifungal activity and mechanism of action of carvacrol and thymol against vineyard and wine spoilage yeast. *Food Control.* 46, 115-120.
- Petrovic, G., Stojanovic, G., Radulovic, N., 2010. Encapsulation of cinnamon oil in B-Cyclodextrin. *Journal of medicine plants research.* 4(14), 1382-1390.
- Saad, N.Y., Muller C.D., Lobstein, A., 2013. Major bioactivities and mechanism of action of essential oils and their components. *Flavour Frag. J.* 28, 269-279.
- Szente, L., Szejtli, C., 2004. Cyclodextrin as food ingredients. *Trends in food Science Technology.* 15, 137-142.
- Waleczek, K., Marqus, C., Hempel, B., Schmidt, P.C., 2003. Phase solubility study of puer (-)- α bisabolol and emomile essential oil with b-cyclodextrin. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics.* 55, 247-251.
- Wang, T., Li, B., Si, H., Lin, L., Chen, L., 2011. Release Characteristics and antibacterial activity of solid state eugenol/B-Cyclodextrin inclusion complex. *J.Incl Phen Marcocycl Chem.* 71, 207-213.
- Wang, J., 2011. Physicochemical and release characterization of garlic oil B-Cyclodextrin inclusion complex. *Food chemistry.* 127,1680-1685.
- Yen, T.B., Chang, S.T., 2008. Synergistic effects of cinnamaldehyde in combination with eugenol against wood decay fungi. *Bioresour Technol.* 99, 232-236.
- Zhang, Y., Liu, X., Wang, Y., Jiang, P., Siew Young, Q., 2016. Antibacterial activity and mechanism of cinnamon essential oil against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. *Food Control.* 59, 282-289.