



UNIVERSIDAD ANDINA DE CUSCO
FACULTAD DE INGENIERÍA Y ARQUITECTURA
ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA INDUSTRIAL



TESIS

**Proceso de elaboración de láminas biodegradables
antibacterianas de quitosano conteniendo aceite esencial de
Eucalyptus Globulus L. y su caracterización para uso en la
industria farmacéutica**

TESIS PARA OPTAR AL TÍTULO DE
INGENIERO INDUSTRIAL

Presentado por:

Bach. Ana Lucia Allende Chucya

Bach. Ricardo Aníbal Sánchez Cuba

Asesor:

Dr. Ing. Nicolás Francisco Bolaños Cerrillo

CUSCO – PERÚ

2019



DEDICATORIA

A mis padres por su infinita paciencia.

A mis hermanos por siempre creer.

A Dios por ser causa inmanente.

Ricardo Aníbal Sánchez Cuba

A Dios, por guiar mis pasos para cumplir esta meta. Por cuidar y darme fortaleza para seguir trabajando por cumplir mis objetivos.

A mis padres, Edwin y Haydee, y a mis hermanos Edwin y Daniela, quienes son mi fortaleza principal en cada paso que doy en la vida. Por ser los principales promotores de mis sueños, por confiar y creer siempre en mí. Este logro es por y para ustedes.

Ana Lucia Allende Chucya



AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Andina del Cusco, a la Facultad de Ingeniería y Arquitectura y a los docentes de la Escuela profesional de Ingeniería Industrial. Todo esfuerzo y enseñanza suya se ve reflejada en los logros de cada estudiante.

A nuestro asesor de tesis, el Dr. Nicolás Bolaños Cerrillo, por el tiempo y esfuerzo dedicados a guiarnos en este proceso, que ha sido fundamental para el desarrollo de esta investigación. Gracias por su confianza en nosotros, su paciencia y valiosa dirección.

Al Dr. Ricardo Sánchez Garrafa, por toda la orientación brindada en el proceso de elaboración de la presente tesis y su constante motivación. Gracias por compartir sus conocimientos y por estar siempre dispuesto a resolver nuestras inquietudes.

A los docentes de la Facultad de Ciencias de Salud, en especial al Blgo. Lugo Miranda Barriga y a la Tec. Vilma Bejar Livano, por su guía y paciencia durante la elaboración de las pruebas de laboratorio.

A los laboratorios de Física y Química de la Universidad Andina del Cusco, a la Quím. Carmen Rosa Huallpamaita Ponce y Fis. Rolando Lozano Cusi, por facilitarnos las instalaciones e instrumentos necesarios, además de su guía en las pruebas requeridas para el desarrollo de la presente tesis.



RESUMEN

En este trabajo se evaluó la influencia del proceso (establecido en base a dos operaciones unitarias: La temperatura de secado medida en grados Celsius y el tiempo de agitación medido en horas) de elaboración de las láminas biodegradables antibacterianas de quitosano conteniendo aceite esencial de eucalipto (*Eucalyptus globulus L.*) sobre las características físicas, químicas y microbiológicas de dichas láminas.

Para la preparación de las láminas se preparó una disolución al 8% de quitosano comercial (con un grado de desacetilización del 96%); aceite esencial de Eucalipto que se obtuvo mediante el método de extracción por arrastre de vapor; glicerina, la cual actuó como plastificante; tween 80 para facilitar la miscibilidad del aceite en la mezcla y ácido acético para acidificar el medio y permitir la disolución del quitosano en el agua destilada.

El aceite esencial que se obtuvo se sometió a un análisis cromatográfico para conocer su composición y cantidad de terpenoides antes de ser utilizado en la preparación.

La preparación líquida se sometió a tres diferentes tiempos de agitación: 3, 4 y 5 horas y se vertió en placas Petri para luego ser puestas en el horno de secado a una temperatura de 50, 60 y 70 ° C. Formando 9 combinaciones.

Las láminas seleccionadas fueron sometidas a pruebas de actividad antibacteriana, espesor, resistencia a la tracción y contenido de humedad, para poder evaluar las características de las diferentes combinaciones de láminas.

Los resultados obtenidos indicaron que el tiempo de agitación no es particularmente influyente en las propiedades de la lámina excepto en el caso del contenido de humedad, donde dicha característica si se vio influenciada por el tiempo. Sin embargo, se observó que la temperatura de secado es altamente influyente sobre todas las propiedades, logrando la temperatura de 50 °C los valores más altos de halo de inhibición antibacteriana (30.3767 mm) y contenido de humedad (38.5763), mientras que la temperatura de 60 °C logró los valores



más adecuados de espesor (0.236567 mm) y resistencia a la tracción (2.45571 Mpa). Se encontró que el intervalo entre las temperaturas de 50 y 60 °C permiten obtener mejores propiedades sobre el comportamiento de las láminas, mientras que los valores cercanos a 70 °C entregan valores que no son adecuados para el uso como apósito en caso de quemaduras o heridas.



ABSTRACT

The present research has evaluated the influence of the production process (based in two unit operations: The drying temperature measured in degrees Celsius and the stirring time measured in hours) of the antibacterial chitosan sheets, containers of eucalyptus essential oil (*Eucalyptus globulus* L.); on the physical, chemical and microbiological characteristics of sheet was evaluated.

In order to produce the sheets, a 8% solution of commercial chitosan was prepared (with a 96% degrees of desaturation); Eucalyptus essential oil that was obtained by the steam drag extraction method; glycerin, which acted as a plasticizer; Tween 80 to facilitate the miscibility of the oil in the mixture and acetic acid to acidify the medium and to allow the chitosan to dissolve in distilled water.

The obtained essential oil was subjected to a chromatographic analysis to know its composition and quantity its level of terpenoids before being used.

The liquid preparation was subjected to three different stirring times: 3, 4 and 5 hours and was poured into Petri dishes and then placed in the drying oven at a temperature of 50, 60 and 70 ° C, 9 combinations as a result.

The selected sheets were tested to analyze possible antimicrobial activity, thickness, tensile strength and moisture content, in order to evaluate the characteristics of the different combinations of sheets.

The results obtained indicated that the stirring time is not particularly influential in the properties of the sheet except in the case of moisture content, which was actually influenced by time. However, it was possible to observe that the drying temperature is highly influential on all the properties, with a temperature of 50 ° C, the highest values of halo of antibacterial inhibition (30.3767 mm) and moisture content (38.5763) were achieved; while the temperature 60 ° C achieved the most appropriate values of thickness (0.236567 mm) and



tensile strength (2,457,5 Mpa). The results of the research show that the interval between the temperatures of 50 and 60 ° C allows to obtain better sheets properties, while values close to 70 ° C tend to deliver values that are no longer suitable to use for dressings in case of burns or wounds.



INTRODUCCIÓN

Los biomateriales han cobrado en los últimos años gran importancia pues se ha experimentado un gran avance en su aplicación, incrementando la esperanza de vida mediante la utilización de prótesis, implantes y elementos que trabajan en contacto con el organismo.

Los biopolímeros son un tipo de biomaterial que vienen siendo estudiados ampliamente en aplicaciones en la industria farmacéutica pues facilitan la liberación de principios activos, el sobrepaso de barreras fisiológicas (tisulares y celulares) y la protección frente a agentes externos. Es de gran importancia el uso de biopolímeros para el diseño de los nuevos dispositivos aplicados en la ingeniería.

Este trabajo propone el desarrollo de una lámina biodegradable de quitosano la cual contendrá como principio activo el aceite esencial de *Eucalyptus globulus L.* como un agente antibacteriano natural, el cual se pueda utilizar como material bioadhesivo y biocompatible, previa caracterización y estudio IN VITRO de las propiedades señaladas. Al mismo tiempo presentara los elementos necesarios que debe conocer un ingeniero para obtener un material que pueda ser utilizado en el campo de la salud y pretenda ser un avance en la ingeniería biomédica y de materiales para tratamientos tópicos en la región del Cusco.

EL PRIMER CAPÍTULO: Consta del planteamiento del problema, la formulación del problema, los objetivos, la justificación y la delimitación del estudio

EL SEGUNDO CAPÍTULO: Consta de los antecedentes del estudio, los aspectos teóricos, las definiciones conceptuales, la hipótesis, definición y operacionalización de las variables

EL TERCER CAPÍTULO: Consta de toda la metodología de la investigación.

EL CUARTO CAPÍTULO: Contiene los resultados de la investigación.

EL QUINTO CAPÍTULO: Se desarrolla la discusión de resultados obtenidos de la investigación realizada.



Finalmente se incluyen en el presente trabajo las conclusiones, así como sus respectivas recomendaciones. Se encuentran también adjuntos los anexos pertinentes, como también la evidencia del trabajo realizado.



ÍNDICE

DEDICATORIA	2
AGRADECIMIENTOS	3
RESUMEN	4
ABSTRACT	6
INTRODUCCIÓN	8
ABREVIATURAS	20
CAPITULO PRIMERO	21
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	21
1.1. Planteamiento del problema.	21
1.2. Formulación del problema	23
1.2.1. Problema General	24
1.2.2. Problemas Específicos	24
1.3. Objetivos de la Investigación	24
1.3.1. Objetivo General	24
1.3.2. Objetivos Específicos	24
1.4. Justificación del estudio	25
1.4.1. Conveniencia	25
1.4.2. Relevancia social	25
1.4.3. Implicancias prácticas	26
1.4.4. Valor teórico	26
1.4.5. Utilidad metodológica	26
1.5. Delimitación del estudio	27



1.5.1.	Delimitación Espacial	27
1.5.2.	Delimitación Temporal	27
CAPITULO SEGUNDO		28
MARCO TEÓRICO		28
2.1.	Antecedentes de estudio	28
2.1.1.	Antecedente Internacional	28
2.1.2.	Antecedentes nacionales.	34
2.2.	Aspectos teóricos pertinentes	36
2.2.1.	Eucalyptus globulus Labill	40
2.2.2.	Aceite esencial	42
2.2.3.	Destilación por arrastre de vapor	43
2.2.4.	Quitina y Quitosano	44
2.2.5.	Apósitos para la piel	49
2.2.6.	Quemaduras	53
2.2.7.	Fisiopatología	54
2.2.8.	Aspectos epidemiológicos	54
2.2.9.	Terapéutica	55
2.2.10.	Genero Staphylococcus	57
2.3.	Definiciones conceptuales	59
2.3.1.	Biopolímero.-	59
2.3.2.	Halo de inhibición. –	59
2.3.3.	Lámina biodegradable.	60
2.4.	Hipótesis	60
2.4.1.	Hipótesis General	60
2.4.2.	Hipótesis Específicas	61
2.5.	Definición de variables	61
a.	Variable independiente:	61



b.	Variable dependiente:	61
2.6.	Operacionalización de las variables	62
CAPITULO TERCERO		63
METODOLOGÍA		63
3.1.	Tipo de investigación	63
3.2.	Diseño de investigación	63
3.3.	Población y muestra de estudio	63
3.3.1.	Población vegetal	63
3.3.2.	Muestra arbórea	64
3.3.3.	Población de láminas	64
3.3.4.	Muestras para prueba de sensibilidad antibacteriana	64
3.3.5.	Muestras para prueba de contenido de humedad	67
3.3.6.	Muestras para medir espesor y para prueba de resistencia a la tracción	68
3.3.7.	Población microbiana de <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	70
3.3.8.	Muestra microbiana	71
3.3.9.	Determinación del tamaño de la muestra	71
3.3.10.	Criterios de inclusión y exclusión	71
3.4.	Instrumentos de recolección de datos	71
3.4.1.	Validez y confiabilidad de instrumentos	72
3.5.	Técnicas de recojo, procesamiento y presentación de datos	72
3.5.1.	Proceso de obtención del aceite esencial de <i>Eucalyptus globulus</i> L.	72
3.5.2.	Proceso de elaboración de láminas biodegradables antibacterianas de quitosano conteniendo aceite esencial de <i>Eucalyptus globulus</i> L.	74
3.5.3.	Caracterización de las láminas	75
3.6.	Procedimiento de análisis de datos	78
CAPITULO CUARTO		79
RESULTADOS		79



4.1.	Diagrama de Operaciones del Proceso de Elaboración de Láminas biodegradables antibacterianas de Quitosano conteniendo aceite esencial de <i>Eucalyptus globulus</i> L.	82
4.2.	Resultados de prueba de caracterización microbiológica en las láminas de quitosano al 8%	83
4.2.1.	Resultados del halo de inhibición a 24 horas (mm)	83
4.2.2.	Resultados del halo de inhibición a 48 horas (mm)	87
4.2.3.	Resultados del halo de inhibición a 72 horas (mm)	92
4.3.	Resultados del contenido de humedad	97
4.4.	Resultados del espesor de las láminas	103
4.5.	Resultados de la resistencia a la tracción (Mpa)	107
	CAPITULO QUINTO	113
	DISCUSIÓN DE RESULTADOS	113
	CONCLUSIONES	115
	RECOMENDACIONES	117
	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	119
	ANEXOS	123
	ANEXO N° 1: MATRIZ DE CONSISTENCIA	124
	ANEXO N° 2: PROCESO DE OBTENCIÓN DEL ACEITE ESENCIAL DE <i>Eucalyptus globulus</i> L.	125
	ANEXO N° 3: CERTIFICADO DEL ANÁLISIS CROMATOGRÁFICO DEL ACEITE ESENCIAL DE <i>Eucalyptus globulus</i> L.	126
	ANEXO N° 4: CONTROL DE CALIDAD DEL ACEITE ESENCIAL DE <i>Eucalyptus globulus</i> L.	132



ANEXO N° 5: CERTIFICADO DE CONTROL DE CALIDAD DEL ACEITE ESENCIAL DE <i>Eucalyptus glubulus L.</i>	133
ANEXO N° 6: PREPARACIÓN Y ESTERILIZACIÓN DEL MATERIAL DE VIDRIO	134
ANEXO N° 7: PREPARACIÓN DE LÁMINAS ANTIBACTERIANAS BIODEGRADABLES DE QUITOSANO CONTENIENDO ACEITE ESENCIAL DE <i>Eucalyptus globulus L.</i>	135
ANEXO N° 8: CERTIFICADO DE LA CEPA DE <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	137
ANEXO N° 9: PREPARACIÓN DE AGAR MUELLER HINTON, AGAR SANGRE Y CALDO BHI	138
ANEXO N° 10: REACTIVACIÓN DE CEPA <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	139
ANEXO N° 11: PRUEBA DE SENSIBILIDAD ANTIBACTERIANA <i>Staphylococcus aureus</i>	140
ANEXO N° 12: CONSTANCIA DE TRABAJO EN EL LABORATORIO DE INVESTIGACIÓN	141
ANEXO N° 13: DETERMINACIÓN DEL CONTENIDO DE HUMEDAD DE LAS LÁMINAS	143
ANEXO N° 14: CONSTANCIA DE TRABAJO EN EL LABORATORIO DE QUÍMICA	144
ANEXO N° 15: DETERMINACIÓN DEL ESPESOR Y RESISTENCIA A LA TRACCIÓN DE LAS LÁMINAS	145
ANEXO N° 16: CONSTANCIA DE TRABAJO EN EL LABORATORIO DE FÍSICA	146





ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1: Apósitos Interactivos	50
Tabla 2: Apósitos bioactivos.....	51
Tabla 3: Apósitos mixtos	52
Tabla 4: Operacionalización de las variables.....	62
Tabla 5: Datos de presión y temperatura del proceso de destilación.....	73
Tabla 6: Análisis de Varianza para Halo de inhibición a 24H(mm) - Suma de Cuadrados Tipo III	83
Tabla 7: Medias por Mínimos Cuadrados para Halo de inhibición a 24H (mm) con intervalos de confianza del 95.0%.....	84
Tabla 8: Pruebas de Múltiple Rangos para Halo de inhibición 24H (mm) por Temperatura de Secado (°C) Método: 95.0 porcentaje LSD	85
Tabla 9: Análisis de Varianza para Halo de inhibición a 48H (mm) - Suma de Cuadrados Tipo III.....	87
Tabla 10: Medias por Mínimos Cuadrados para Halo de inhibición a 48H(mm) con intervalos de confianza del 95.0%.....	88
Tabla 11: Pruebas de Múltiple Rangos para Halo de inhibición 48H (mm) por Temperatura de Secado (°C).....	90
Tabla 12: Análisis de Varianza para Halo de inhibición a 72H (mm) - Suma de Cuadrados Tipo III.....	92
Tabla 13: Medias por Mínimos Cuadrados para Halo de inhibición a 72H (mm) con intervalos de confianza del 95.0%	93
Tabla 14: Pruebas de Múltiple Rangos para Halo de inhibición 72H (mm) por Temperatura de Secado (°C).....	95



Tabla 15: Análisis de Varianza para Contenido de Humedad (%) - Suma de Cuadrados Tipo III.....	97
Tabla 16: Medias por Mínimos Cuadrados para Contenido de Humedad (%) con intervalos de confianza del 95.0%.....	98
Tabla 17: Pruebas de Múltiple Rangos para Contenido de Humedad (%) por Temperatura de Secado (°C)	99
Tabla 18: Pruebas de Múltiple Rangos para Contenido de Humedad (%) por Tiempo de Agitación (horas)	101
Tabla 19: Análisis de Varianza para Espesor (mm) - Suma de Cuadrados Tipo III.....	103
Tabla 20: Medias por Mínimos Cuadrados para Espesor (mm) con intervalos de confianza del 95.0%	104
Tabla 21: Pruebas de Múltiple Rangos para Espesor (mm) por Temperatura de Secado (°C)	106
Tabla 22: Análisis de Varianza para Resistencia a la tracción (Mpa) - Suma de Cuadrados Tipo III.....	107
Tabla 23: Medias por Mínimos Cuadrados para Resistencia a la tracción (Mpa) con intervalos de confianza del 95.0%	109
Tabla 24: Pruebas de Múltiple Rangos para Resistencia a la Tracción (Mpa) por Temperatura de Secado (°C)	111



ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA 1. Clasificación taxonómica del Eucalyptus globulus Labill, adaptado por J. García, 2015.....	41
FIGURA 2: (a) Estructura química de la quitina (2Acetilamina-2-desoxi- β -D-(+) Glucopiranos), (b) del quitano (2-amino-2desoxi- β -D-Glucopiranos), (c) del quitosano parcialmente desacetilado (copolímero). Tomada de Marguerite Rinaudo (2006).	47
FIGURA 3: Variables De Medición En El Control De Calidad De Láminas Usadas Como Apósitos	80
FIGURA 4: Variables Influyentes En El Proceso De Elaboración De Lámina Biodegradable.	80
FIGURA 5: Intervalos de confianza al 95% para la media del diámetro de inhibición a las 24 horas para cada nivel de temperatura de secado	85
FIGURA 6: Interacción entre el tiempo de agitación y la temperatura de secado con respecto al diámetro de inhibición a las 24 horas.....	86
FIGURA 7: Intervalos de confianza al 95% para la media del diámetro de inhibición a las 48 horas para cada nivel de temperatura de secado	89
FIGURA 8: Interacción entre el tiempo de agitación y la temperatura de secado con respecto al diámetro de inhibición a las 48 horas.....	91
FIGURA 9: Intervalos de confianza al 95% para la media del diámetro de inhibición a las 72 horas para cada nivel de temperatura de secado	94
FIGURA 10: Interacción entre el tiempo de agitación y la temperatura de secado con respecto al diámetro de inhibición a las 72 horas.....	96
FIGURA 11: Intervalos de confianza al 95% para la media del contenido de humedad para cada nivel de temperatura de secado.....	99



FIGURA 12: Intervalos de confianza al 95% para la media del contenido de humedad para cada nivel de tiempo de agitación.....	100
FIGURA 13: Interacción entre el tiempo de agitación y la temperatura de secado con respecto al contenido de humedad de la lámina.....	102
FIGURA 14: Intervalos de confianza al 95% para la media del espesor para cada nivel de temperatura de secado.....	105
FIGURA 15: Interacción entre el tiempo de agitación y la temperatura de secado con respecto al espesor de la lámina	107
FIGURA 16: Interacción entre el tiempo de agitación y la temperatura de secado con respecto a la resistencia a la tracción de la lámina	110
FIGURA 17: Intervalos de confianza al 95% para la media de la resistencia a la tracción para cada nivel de temperatura de secado.....	111



ABREVIATURAS

°C: Grados centígrados

AE: Aceites esenciales

w: Peso

v: volumen

N: Newton

TVA: Transmisión del vapor de agua

Da: Dalton

PH: grado de acidez

mol: Cantidad de sustancia

SARM: Estafilococo aureus resistente a la meticiclina

CO₂: Dióxido de carbono

ATCC: American Type Culture Collection

BHI: Caldo Infusión Cerebro Corazón

LSD: Diferencia mínima significativa

Gl: Grado de libertad

MPa: Mega pascales



CAPITULO PRIMERO

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

1.1. Planteamiento del problema.

Los traumatismos físicos o químicos son con frecuencia, responsables de lesiones en la piel, con la consecuente ruptura de su fisiología regular; iniciando posteriormente procesos específicos de curación para restaurar la función de los tejidos. Las lesiones graves (laceraciones, quemaduras o irritaciones) o las heridas crónicas (ulceras) afectan a millones de personas anualmente. Se espera que la incidencia de lesiones crónicas se incremente en los próximos años, principalmente por el envejecimiento de la población global, los cambios en el estilo de vida y la contaminación ambiental. Por lo tanto, los avances en dispositivos y materiales para el cuidado de las lesiones se hacen completamente necesarios.

Uno de los objetivos principales en el cuidado de las heridas es la prevención de infecciones, pues es la complicación más común. La colonización de heridas por parte de los microorganismos puede tener consecuencias negativas en el proceso de curación, haciendo difícil su prevención y control. La infección también retrasa la cicatrización, la fisioterapia y la rehabilitación de los pacientes, incrementando las secuelas (Borges H, García R., 1984). Así como también el impacto económico que se genera por la complicación de estas lesiones.

El *Staphylococcus aureus* es reconocido mundialmente por su protagonismo en la sepsis del paciente quemado, no solo por su incidencia, sino también por su resistencia antimicrobiana (Nodarse Hernández CR, Braña Suárez JC, Palacios Alfonso I.: 2009). Solamente en el hospital de Apoyo departamental Cusco se reciben anualmente más de 150 casos de hospitalización por quemaduras y corrosiones, con el promedio más alto de



permanencia en los servicios hospitalarios (20 días). Asimismo, *Staphylococcus aureus* es el microorganismo más frecuente en infecciones intra hospitalarias.

El tratamiento regular sobre *Staphylococcus aureus* ha sido la utilización de antibióticos, entre los cuales destaca la Meticilina. La resistencia de la bacteria a este tratamiento significó el posterior desarrollo de nuevos antibióticos como el linezolid, la daptomicina, la tigeciclina, la ceftarolina.

Sin embargo, en los últimos años, numerosos estudios han demostrado que los aceites esenciales (AE), usualmente extraídos de plantas aromáticas, poseen actividad antibacterial, antifúngica e insecticida (A. E. Edris, *Phytother. Res.*, 2007, 21, 308).

Los aceites esenciales presentan ventajas frente a otros agentes antibacterianos de tipo sintético, pues son compuestos naturales ampliamente disponibles con un bajo grado de toxicidad a dosis bajas. Asimismo, los AE pueden ser eficientemente combinados con matrices poliméricas para crear materiales compuestos con propiedades antibacterianas excepcionales.

Las láminas de quitosano permiten el encapsulamiento de agentes antisépticos que son fundamentales para eliminar y bloquear el crecimiento de microorganismos (como son los AE), y al mismo tiempo funcionan como un material ideal para la ingeniería de tejidos, pues es de fácil manejo, transferencia y aplicación, lo cual favorece la reconstrucción de la piel del paciente en la zona afectada.

El proceso de elaboración de láminas no ha sido establecido de manera clara, en la actualidad se cuenta con escasos estudios sobre este tema. El estudio de los procesos de producción de biomateriales se hace imprescindible puesto que nos permite identificar las operaciones críticas para lograr la estandarización del proceso productivo, con el cual se abren nuevas puertas a la industrialización de polímeros de origen natural.



Las operaciones unitarias en la ingeniería están estrictamente relacionadas a los cambios físicos y químicos de los materiales, las cuales se conectan para crear un proceso general que nos permita obtener el producto deseado. A su vez, esas operaciones dependen de diversos factores, los cuales deben, primero, ser cuantificados en investigaciones en laboratorio, para poder posteriormente realizar el diseño del proceso productivo.

Operaciones como el secado y la agitación, de carácter termodinámico y mecánico, son de uso común y generalizado en la fabricación de diferentes objetos, sin embargo estas deben de operar en parámetros conocidos (como la temperatura y el tiempo de agitación). Es así que el estudio de los pasos a seguir para la elaboración de los materiales y la cuantificación de los factores influyentes dentro de las operaciones unitarias de estos, se hace indispensable para su progreso.

Se espera que el desarrollo de nuevos materiales como es lámina biodegradable de quitosano conteniendo aceite esencial permitirán tratamientos de piel con menos riesgo de infección, dolor y toxicidad, permitiendo la rehabilitación exitosa de un paciente en menos tiempo y disminuyendo el traumatismo ocasionado por la lesión.

Es necesario fomentar la realización de investigaciones en ingeniería que permitan aportar nuevo conocimiento y nuevos desarrollos que lleguen a convertirse en alternativas para la mejora del bienestar de la comunidad no solo en la región sino también en el Perú.

1.2. Formulación del problema

Teniendo en conocimiento cual es la realidad problemática en la realización de la investigación desarrollada en la ciudad del Cusco en el año 2019, podemos deducir el problema general y problemas específicos, los cuales son:



1.2.1. Problema General

¿De qué manera afectará el proceso de elaboración de láminas biodegradables antibacterianas de quitosano conteniendo aceite esencial de *Eucalyptus globulus L.* sobre su caracterización para uso en la industria farmacéutica?

1.2.2. Problemas Específicos

- ¿De qué manera afectará el tiempo de agitación sobre las características físicas, mecánicas y microbiológicas de las láminas biodegradables antibacterianas de quitosano conteniendo aceite esencial de *Eucalyptus globulus L.*?
- ¿De qué manera afectará la temperatura de secado sobre las características físicas, mecánicas y microbiológicas de las láminas biodegradables antibacterianas de quitosano conteniendo aceite esencial de *Eucalyptus globulus L.*?

1.3. Objetivos de la Investigación

1.3.1. Objetivo General

Evaluar la influencia del proceso de elaboración en la caracterización de láminas biodegradables antibacterianas de quitosano conteniendo aceite esencial de *Eucalyptus globulus L.* para uso en la industria farmacéutica.

1.3.2. Objetivos Específicos

- Determinar la influencia del tiempo de agitación sobre las características físicas, mecánicas y microbiológicas de las láminas biodegradables



antibacterianas de quitosano conteniendo aceite esencial de *Eucalyptus globulus* L.

- Determinar la influencia de la temperatura de secado sobre las características físicas, mecánicas y microbiológicas de las láminas biodegradables antibacterianas de quitosano conteniendo aceite esencial de *Eucalyptus globulus* L.

1.4. Justificación del estudio

1.4.1. Conveniencia

Este estudio permitirá establecer la base para el desarrollo de biomateriales que podrían colaborar en el tratamiento tópico de lesiones cutáneas.

1.4.2. Relevancia social

La infección causada por bacterias es la complicación más común que puede ocurrir durante los procesos de recuperación en una lesión cutánea, especialmente quemaduras. La OMS señala que, según los cálculos de la Carga Mundial de Morbilidad OMS del 2004, “fallecieron como consecuencia de quemaduras por fuego algo más de 310.000 personas, el 30% de las cuales eran menores de 20 años. Las quemaduras por fuego son la undécima causa de muerte en los niños de 1 a 9 años. En general, el riesgo de defunción por quemaduras en la niñez es elevado, con una tasa mundial de 3,9 defunciones por 100.000 habitantes. A escala mundial, los lactantes son los que presentan las mayores tasas de mortalidad por quemaduras. Más tarde las tasas



descienden lentamente con la edad, pero vuelven a aumentar en los ancianos”(Peden M, 2008, pág 87). Es necesario el desarrollo de agentes que permitan la recuperación del paciente y que eliminen o bloqueen el crecimiento de microorganismos.

1.4.3. Implicancias prácticas

La prevención de infecciones en lesiones cutáneas sigue siendo un reto para los servicios hospitalarios y es ahí donde los ingenieros tenemos la posibilidad de intervenir oportunamente, aplicando nuestro conocimiento técnico y científico para desarrollar nuevos materiales y métodos que faciliten el proceso médico para la recuperación del paciente.

1.4.4. Valor teórico

Dada la relevancia del tema, toda la información relacionada al mismo posee un valor teórico importante, más aún en nuestra región pues no se ha realizado un estudio de este tipo.

1.4.5. Utilidad metodológica

La investigación permite establecer las bases para la estandarización del proceso de producción de láminas biodegradables de quitosano al establecer la relación existente entre su proceso productivo y las propiedades que tendrá la lámina en función a este. Así se pueden sentar los fundamentos para su producción a escala industrial y comercialización para su aplicación en pacientes con quemaduras y tratamientos dérmicos.



1.5. Delimitación del estudio

1.5.1. Delimitación Espacial

La recolección de *Eucalyptus globulus* L. se realizó en el distrito de Chincheros, provincia de Urubamba, departamento de Cusco y el estudio se realizó en los laboratorios de ciencias básicas de la Facultad de Ciencias de la Salud, laboratorio de química de la Facultad de Ingeniería y Arquitectura y laboratorio de física de la Facultad de Ciencias y Humanidades de la Universidad Andina del Cusco.

1.5.2. Delimitación Temporal

El estudio se realizó desde agosto del 2018 a febrero del 2019.

1.6. Limitaciones

- Carencia de antecedentes sobre investigaciones relacionadas al proceso de elaboración de biopolímeros en base a quitosano.
- Carencia de investigaciones relacionadas a la incorporación de aceites esenciales en matrices poliméricas.
- Falta de accesibilidad para la elaboración de las pruebas para la caracterización de las láminas.
- Falta de disponibilidad de equipos adecuados para la realización de las pruebas de caracterización. En el caso de la presente investigación no se pudo contar con un equipo para ensayos de resistencia a la tracción, tampoco se contó con un horno adecuado para el secado de las láminas.
- Falta de recursos económicos, pues las pruebas de resistencia a la tracción solo se podían realizar en la ciudad de Lima y tenían un costo muy elevado.
- Falta de conocimiento sobre el desarrollo de las pruebas en la parte biológica.



CAPITULO SEGUNDO

MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes de estudio

2.1.1. Antecedente Internacional

Cárcamo Carla, Chile (2005) en la investigación titulada “Preparación de films de complejo polielectrolito quitosano-alginato y comparación de sus propiedades mecánicas y biológicas con films de quitosano” se propuso el objetivo de desarrollar films de Quitosano tomando como fuente primaria el camarón y el cangrejo, Alginato de diferentes pesos moleculares y de Complejo Polielectrico Quitosano – Alginato (CPEQA) con los quitosanos de las diferentes fuentes y los diferentes pesos moleculares de alginato, evaluar sus propiedades físicas y mecánicas para posteriormente elegir las láminas más adecuadas para usarlas como apósitos en tratamiento de quemaduras.

El método usado para analizar las propiedades mecánicas y bioadhesivas fue desarrollado siguiendo la norma chilena NCh1151.of76 y la ASTM D 5458-95 respectivamente. El grado de transmisión de vapor de agua se analizó mediante el método de la copa húmeda según norma chilena NCh2098.Of2000.

Los resultados demostraron que los flims de quitosano de camarón mostraron menor resistencia mecánica, elasticidad y bioadhesión en comparación con los de quitosano de cangrejo, pero en contraparte tuvieron mayor permeabilidad e irritación. En el caso de los films de Alginato se



encontró que los de menor peso molecular fueron más elásticos, pero tuvieron menor resistencia y bioadhesión que los de mayor peso molecular.

Se concluye que los films de CPEQA mostraron las menores propiedades mecánicas y bioadhesivas para su uso en apósitos para la piel.

Monsalve Leidy. Colombia (2014) en la tesis titulada “Evaluación de películas de Quitosano suplementadas con aceites esenciales de Orégano (*Origanum vulgare* L.) y Romero (*Rosmarinus officinalis*) como posibles agentes antimicrobianos y antioxidantes” para optar por el título de ingeniero de materiales en la Universidad de San Buenaventura tuvo como objetivo evaluar el comportamiento como agentes antioxidantes y antimicrobianos de las películas de Quitosano suplementadas con aceites esenciales de orégano y romero a concentraciones de 0.4% y 1.5% (v/v) frente a las bacterias patógenas *E.coli* y *B. subtilis*.

La investigación demostró que la incorporación de aceites esenciales permitió mejorar las propiedades físicas, antimicrobianas y antioxidantes, encontrando que el aceite de romero a la concentración de 1.5% (v/v) fue el que mejor resultados arrojó, con unos valores de inhibición de 11.96% frente a *E. coli* y de 36.29% frente a *B. subtilis*.

Las propiedades antioxidantes y antimicrobianas incrementaron con la adición de aceites esenciales; la capacidad antioxidante el aceite esencial de orégano presentó la mayor capacidad antioxidante en comparación al aceite de romero. En relación con la actividad antimicrobiana se observó mayor porcentaje de inhibición de las películas contra el patógeno *B. subtilis*, en donde el romero brindó la mayor inhibición.



Se concluye que los aceites esenciales cumplieron su papel de agentes antioxidantes y antimicrobianos, lo cual supone un beneficio en la preservación de alimentos.

Liakos Ioannis et al., Inglaterra (2012) en la investigación titulada “Fibrous wound dressings encapsulating essential oils as natural antimicrobial agents” describieron que prevenir las infecciones es uno de los principales objetivos para el tratamiento de heridas, pues la colonización por microorganismos retrasa el proceso de recuperación. El objetivo fue el desarrollo de vendas de fibra de celulosa con aceite esencial encapsulado para inhibir el crecimiento de *E. coli*.

Se utilizaron aceites esenciales de canela, limón y pimienta en una concentración de 5% (w/w) inmersa en celulosa, la cual se sometió al proceso de electro hilado para obtener las fibras.

La caracterización morfológica se realizó con un escaner de microscopia electrónica y en análisis químico mediante espectroscopia de Raman. La actividad antibacteriana se probó mediante el cultivo de la bacteria en placas Petri con agar Luria Bertani a 37°C.

Los resultados arrojaron una completa inhibición de la bacteria *E. coli* gracias a los principios activos de los aceites esenciales. Además, los ensayos de biocompatibilidad en dos líneas celulares diferentes revelaron la no citotoxicidad de los andamios, que, por lo tanto, pueden usarse ventajosamente para prevenir infecciones de heridas.



En conclusión las vendas de fibra antibacterianas propuestas en este estudio, pueden encontrar aplicación como parches o gasas innovadoras para el cuidado de heridas. Con este fin y en vista de una aplicación clínica real, estas son una alternativa práctica y atractiva al proceso convencional de electrohilado.

Hernández-Ochoa et Al, México (2011) en la investigación titulada “Estudio de la actividad antibacteriana de películas elaboradas con quitosano a diferentes pesos moleculares incorporando aceites esenciales y extractos de especias como agentes antimicrobianos” desarrollada en la Universidad Autónoma de Chihuahua se evaluó el efecto del quitosano de bajo, medio y alto peso molecular incorporado con aceite esencial de comino (*Cuminum cyminum* L.) y clavo (*Eugenia caryophyllata*) en la formulación de películas antimicrobianas. Posteriormente se midió la actividad antibacteriana de las películas por la técnica de difusión en agar.

Los resultados que se obtuvieron indicaron que los aceites esenciales que presentaron las mejores propiedades antibacterianas fueron el comino a 750 mg/L y clavo a 500 mg/L. A su vez se determinó que las películas plásticas de quitosano obtenidas a los diferentes pesos moleculares, necesitaron concentraciones mayores a 100 mg/L de aceite esencial para mostrar capacidad inhibitoria frente a las bacterias.

Se concluye que las películas elaboradas con quitosano a los tres pesos moleculares evaluados en este estudio incorporando aceite esencial y extracto funcional de clavo como agente antimicrobiano, fueron las que presentaron actividad biológica contra las bacterias estudiadas, sin embargo, fue a alto peso



molecular que se encontraron los mayores valores de los halos inhibición, esto puede sugerir una compatibilidad entre el quitosano de alto peso molecular, el aceite esencial y extracto funcional de clavo en la elaboración de películas antimicrobianas, las cuales pueden ser consideradas potencialmente para ser utilizadas como material de empaque activo, y para la prevención y control de microorganismos patógenos en alimentos.

Francois y Debandi, Argentina (2016) en el trabajo de investigación titulado “Development of Biodegradable Films Based on Chitosan/Glycerol Blends Suitable for Biomedical Applications.” Se usó una mezcla de quitosano y glicerol para preparar películas biodegradables con aplicación potencial al tratamiento dérmico. Mientras la presencia de glicerol brinda el efecto hidratante, las características del quitosano contribuyen a la regeneración dérmica. El grado de hinchazón, la permeabilidad al vapor de agua, las pruebas mecánicas, la microscopia electrónica de barrido y la espectrometría infrarroja por transformada de Fourier, estudios de biodegradabilidad y análisis termogravimétrico se usaron para analizar la influencia de la incorporación de cantidades significativas de glicerol en las propiedades de las películas.

Para la preparación de la solución se usó un 3% (w/w) de quitosano en polvo en un medio acuoso con ácido láctico al 1% (v/v). La cantidad de glicerol usado fue desde 0% hasta el 200%. Posteriormente se sometió a agitación en un agitador mecánico y puesto en placas Petri que se llevaron al horno a 50°C durante 1 hora y almacenados a temperatura ambiente durante una semana.



Los resultados encontrados mostraron que el espesor de las películas aumento con la adición del glicerol, variando desde 100 a 250 μm . El microscopio de barrido electrónico mostró que la presencia de glicerol como plastificante reduce el número de rupturas estructurales como los poros. Las propiedades mecánicas se vieron afectadas por el glicerol, mostrando un comportamiento típico de los elastómeros, caracterizados por una alta elongación. La espectrometría por la transformada de Fourier mostró picos a 2876 cm^{-1} , lo que posiblemente indicó la formación de grupos de glicerol rodeando las moléculas de quitosano. El análisis de la permeabilidad al vapor de agua mostró que el incremento de glicerol favoreció al aumento de dicho valor debido a un aumento en el espacio libre de las cadenas de polímero. El análisis termogravimétrico mostró que la pérdida de peso varió entre 14.1% (sin glicerol), 15.6% (con 50% glicerol), 17.6% (100% glicerol) y 19.8% (200% glicerol), lo que confirmó la influencia hidrofílica de la molécula de glicerol en la absorción de agua.

Se concluyó que la adición de glicerol brindó a las películas las propiedades necesarias para aplicaciones en tratamientos dérmicos. Incrementando la concentración de glicerol, se produce un efecto de agrupamiento de las moléculas de glicerol alrededor de las cadenas de macromoléculas, estas hacen que las propiedades mecánicas, el grado de hinchamiento y la permeabilidad al vapor de agua se ven favorecidos por la adición de altas cantidades de glicerol.



2.1.2. Antecedentes nacionales.

Fuentes y Pastor, Perú (2009) en su investigación titulada “Preparación, caracterización y evaluación de películas de quitosano proveniente de calamar gigante “*Dosidicus gigas*” para uso médico” plantearon como objetivo desarrollar películas de quitosano obtenido de los desechos del calamar gigante “*Dosidicus gigas*”, evaluar sus propiedades físicas, mecánicas, propiedades de biocompatibilidad y finalmente la bioadhesión para darles uso como apósitos en el tratamiento de heridas por quemaduras.

El proceso para la obtención del quitosano se inició con el aislamiento de la quitina obtenida de las plumas de *Dodisicus gigas*, para luego ser desacetilada obteniéndose el grado de 90%, lo que le confirió una buena solubilidad en medio ácido.

Las películas prepararon con soluciones de quitosano al 8% w/v en ácido láctico al 1% w/v, se filtraron a 40 psi y se moldearon 15 mL de la solución sobre placas Petri de diámetro de 8,8 cm para ser secadas por más de 18 horas.

Los métodos usados para la caracterización fueron basados de acuerdo a la norma chilena NCh1151.Of76 y la ASTM D 5458-95 para las propiedades mecánicas, la ASTM D 1653-93 para las propiedades bioadhesivas y la ASTM F719-81 para la permeabilidad al vapor de agua.

Los resultados encontrados mostraron ser más resistentes las películas de quitosano e hidróxido de sodio y quitosano con valores de ETC de 30,09 2,84



N mm^{-2} y $29,36 \pm 4,50 \text{ N mm}^{-2}$, respectivamente, contra $10,11 \pm 1,78 \text{ N mm}^{-2}$ de las películas de complejo quitosano.

Los resultados de la propiedad de bioadhesión en películas preparadas de quitosano, quitosano e hidróxido de sodio y películas de complejo quitosano, indican que no sería necesaria la adición de adhesivos en ellas.

Las películas de complejo quitosano son significativamente más permeables al vapor de agua que las de quitosano y quitosano e hidróxido de sodio, con valores de TVA de $23,29 \pm 0,37$ contra $20,35 \pm 2,33$ y $21,24 \pm 0,69$ respectivamente (*t- student*; $p < 0,05$; $n=4$).

Para la prueba de biocompatibilidad los resultados encontrados fueron: Las películas de quitosano e hidróxido de sodio y complejo quitosano presentan mínima formación de eritema, sin edema, con valores de $0,167 \pm 0,333$ y $0,167 \pm 0,279$, haciéndolas ideales para su uso como apósito.

Se concluyó que la película de quitosano e hidróxido de sodio y el complejo quitosano mostraron baja irritación (cercana a cero), además de una adecuada permeabilidad, lo cual las hace aptas para ser utilizadas como apósitos gracias a su biocompatibilidad ya que mantienen un ambiente húmedo que promueve la curación de quemaduras.

García, Perú (2013) en su tesis titulada “Estudio de liberación de sulfadiazina de plata desde matrices de quitosano para su uso como apósitos en quemaduras.” Desarrollada en la Pontificia Universidad Católica del Perú se propuso estudiar la obtención del quitosano a partir de la quitina obtenida de *Dosidicus gigas*, para luego preparar películas cargadas de sulfadiazina de plata



(fármaco que se utiliza en el tratamiento de quemaduras) y analizar la cinética de liberación de dicho fármaco.

Se obtuvieron quitosanos de pesos moleculares entre 170 y 490 kDa y grado de desacetilación entre 85% y 90%, con los cuales se prepararon las películas que fueron cargadas con el fármaco y liberadas en un medio buffer fosfato de pH 9 que simuló el ambiente de una quemadura.

Se encontró que todas las películas tuvieron un comportamiento similar, pero que la película de quitosano con las características de 486,2 kDa de peso molecular y 89,55% de grado de desacetilación fue la que liberó la sulfadiazina de plata por un tiempo más prolongado, a una mayor concentración y de forma más sostenida.

2.2. Aspectos teóricos pertinentes

2.2.1. Proceso

Un proceso industrial o proceso de fabricación es el conjunto de operaciones unitarias necesarias para modificar las características de las materias primas (Baca, 2014). Este proceso puede abarcar desde la obtención de las materias primas hasta el transporte de los productos finales.

Entre las fases o etapas del proceso industrial se pueden nombrar: la recepción de las materias primas, la preparación de estas materias, la mezcla de los reactantes en las proporciones adecuadas, la reacción propiamente dicha, la separación de los productos para la obtención del producto final deseado, etc. Esta serie de pasos cumple tanto a nivel de laboratorio como a nivel industrial.

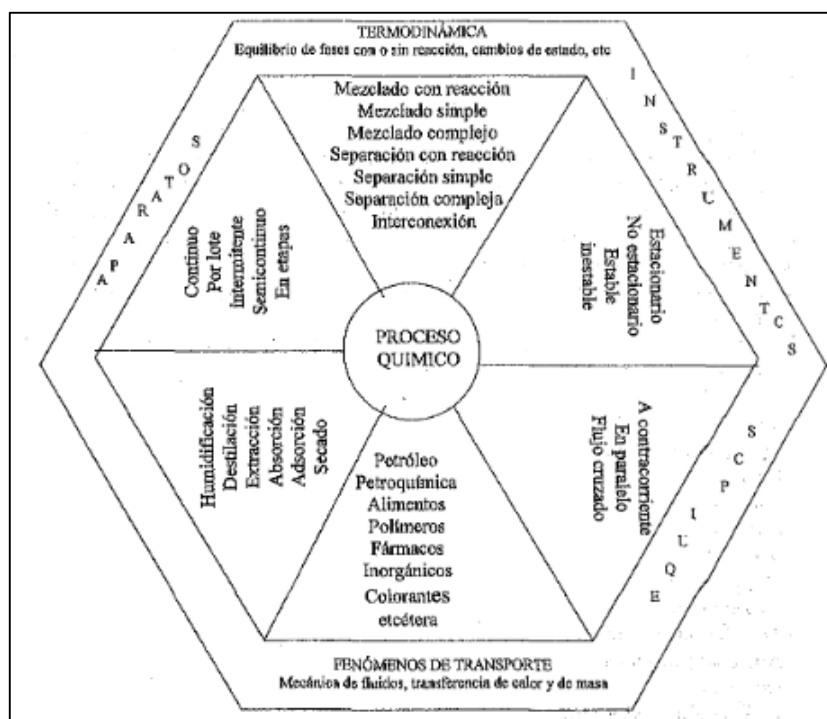
En las fases mencionadas se pueden realizar tanto procesos físicos como químicos.



Las etapas donde se producen cambios netamente físicos se denominan operaciones unitarias y las etapas donde se produce una reacción química se conoce como proceso unitario (Universidad Tecnológica Nacional, 2012).

2.2.2. Características del proceso

Según (Perez, 2009), existe un conjunto de cualidades que permiten asignarles características a los procesos como pueden ser continuos, no continuos, estacionarios, etc. En la siguiente figura se muestra clasificaciones posibles que permiten el estudio y comprensión de los procesos.



2.2.3. Operaciones unitarias

Los procesos se pueden dividir en una serie de etapas, denominadas operaciones, que se repiten a lo largo de los diferentes procesos, estas etapas tienen técnicas comunes y se basan en los mismos principios científicos. Las operaciones unitarias se conocen como el estudio sistemático de estas operaciones individuales (o etapas) para unificar y simplificar el tratamiento de todos los procesos (McCabe et al, 2007).



Según McCabe (2007) existen 13 grupos de operaciones unitarias básicas, los cuales son:

- Mecánica de fluidos.
- Transporte de fluidos.
- Reducción de tamaño.
- Manejo de sólidos.
- Mezclado.
- Separaciones mecánicas.
- Flujo de calor.
- Evaporación.
- Transferencia de masa.
- Absorción de gases.
- Destilación.
- Lixiviación y extracción.
- Cristalización.
- Operaciones de contacto aire agua.
- Secado.

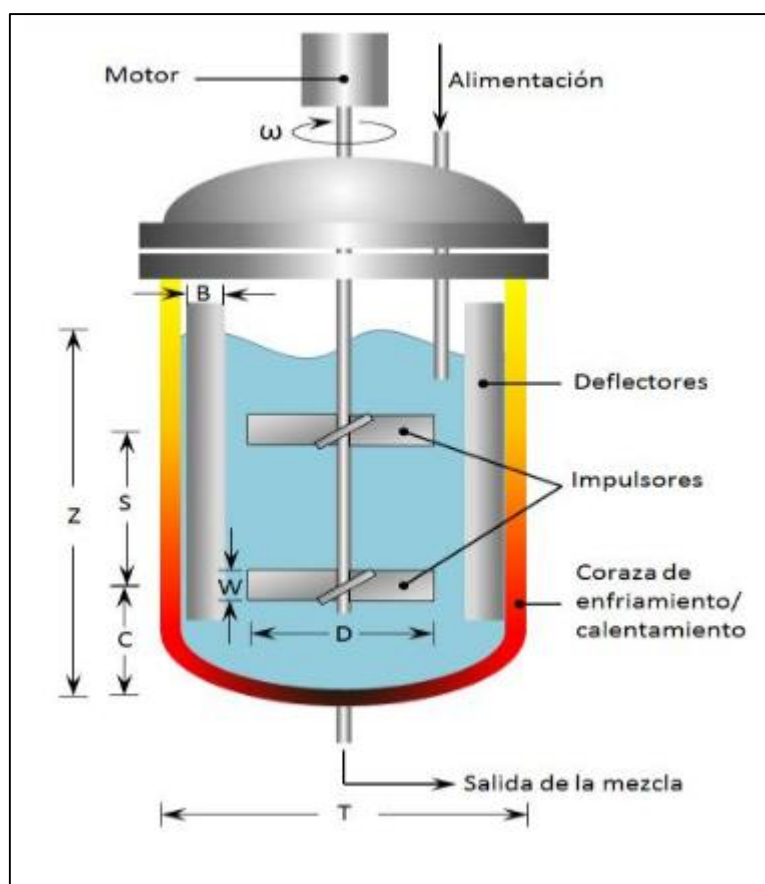
2.2.4. Secado

La operación de secado consiste en la eliminación de un líquido contenido en un sólido, por medios térmicos. Los contenidos de humedad son generalmente bajos en comparación con la cantidad de sólido. El contenido de humedad de una sustancia seca varía de un producto a otro. El término secado es relativo y significa que hay una reducción en el contenido de humedad des un valor inicial hasta un final (Gonzales y Valiente, 1985).



2.2.5. Agitación

Según (McCabe et al 2007) la agitación es una operación unitaria presente en la gran mayoría de procesos industriales. Involucra sistemas de una sola fase o de varias fases ya sean sólidos, líquidos o gaseosos. Es muy difícil encontrar cualquier actividad industrial que no involucre el proceso de mezclado y agitación. Esta operación se usa para promover la homogeneización de las fases, mejorar el contacto entre los reactivos en reactores agitados, dispersar aire en caldos de cultivo, agilizar la rapidez de transferencia de calor en el caso de recipientes con calentamiento externo, realizar operaciones de lixiviación de sólidos y una larga lista en donde la utilización de tanques de agitación es parte fundamental y central de proceso productivo.





2.2.6. Tiempo de agitación

Es el tiempo requerido para lograr algún grado especificado de uniformidad después de la introducción de un trazador. Algunos métodos experimentales para calcular el tiempo de mezclado son: toma sencilla, introducción de tinta, celda de conductividad, indicador ácido-base, etc. (Hicks et al, 1976). Estos métodos miden el tiempo de agitación y mezclado de diferentes maneras, por lo que el tiempo obtenido puede variar de un método a otro. Por esto, además de la dificultad de observar experimentalmente el grado de uniformidad, esa sujeto a la buena manipulación y habilidad del investigador.

2.2.7. *Eucalyptus globulus* Labill

El eucalipto es planta para madera, presenta hojas que contienen esencias, taninos, materia amarga y resinas; utilizadas para aliviar afecciones de vías respiratorias (Aldave y Mostacero 1988, citado por García 2017).
Procede de Tasmania oriental y sur de Australia (Montoya 1995, citado por García 2017), prospera en el Perú entre 2 200 a 3 200 msnm, aunque existen reportes que en la sierra central se encuentra bosques hasta 3 500 msnm; soporta periodos de lluvia entre 800 a 1 500 mm de precipitación y 10,8 - 16,8 °C de temperatura, principalmente en el callejón interandino. Prefiere suelos franco - arenosos, arcillosos, areno – arcillosos, con pH de 5 a 7, bien drenados y no compactados (Pathauer 2005, citado por García 2017). Son factores limitantes de crecimiento y desarrollo la falta de boro (Bo) y fósforo (P); limitan estas características periodos prolongados de, neblina, vientos superiores a 8m/s, sequías prolongadas; los árboles jóvenes son susceptibles al



fuego, pero éste no causa su muerte (COMAFORS 2013, citado por García 2017).

2.2.7.1. Clasificación taxonomía de la especie

Reino: Plantae

División: Magnoliophyta o Angiospermae

Clase: Magnoliopsida

Orden: Myrtales

Familia: Myrtaceae

Género: Eucalyptus

Especie: Eucalyptus globulus Labill.

Nombres comunes: Eucalipto

FIGURA 1. Clasificación taxonómica del Eucalyptus globulus Labill, adaptado por J. García, 2015.

2.2.7.2. Descripción botánica del Eucalyptus globulus L.

Árboles perennifolios de porte recto, pudiendo llegar hasta 60m de altura más o menos resinosos. Corteza exterior con ritidoma marrón claro con manchas grises o parduzcas sobre la corteza interna más lisa. La porción desprendible corteza caduca se llama ritidoma; estas se forma cada año. El color del ritidoma maduro es de color marrón claro; si se lo desprende deja a la corteza de forma lisa y color pardo con manchas. Esta característica se denomina como “gums” en Australia (FAO 1981, citado por García 2017). Hojas cuando jóvenes sésiles, ovaladas, amplexicaules o perfoliadas y cuando maduras, son coriáceas, de color verde azulado brillante, alternas, lanceoladas, falcadas, con aceites esenciales. Inflorescencia umbeliforme en las axilas de las hojas o terminales. Flores blancas y solitarias, con el cáliz y la corola unidos por una especie de tapadora que cubre los estambres y el pistilo, la cual



al abrirse libera una cantidad de estambres de color amarillo. Frutos capsulas dehiscentes de color negro, con gran cantidad de semillas de tamaño pequeño tallo es recto, erguido. Ramas, de acuerdo a la edad, tamaño de planta, considerando a plantas de bosque, éstas presentan ramificaciones a partir del tercio superior cuyos diámetros de mayor espesor en la unión con el tallo principal es de 5 a 8 cm; en cambio en plantas sembradas en líneas o solitario, las ramas son de diferente orden, y varían en diámetro de 5 a 30 cm en relación al tallo principal que lo contiene (Roncal y Roncal 1999, citado por García 2017).

2.2.8. Aceite esencial

Los aceites esenciales (AE) son sustancias aromáticas de base lipídica encontradas prácticamente en todas las plantas; son muy numerosos y están ampliamente distribuidos en las distintas partes de la planta: raíces, tallos, hojas, flores y frutos. Los AE son componentes heterogéneos de terpenos, sesquiterpenos, ácidos, ésteres, fenoles, lactonas; separables por métodos químicos o físicos, como la destilación, la refrigeración, la centrifugación, entre otros (Vasquez et al., 2001).

Los AE son los principales constituyentes del aroma y sabor de las especias. Estos son destilados por arrastre de vapor sencillo, en seco, a vacío u obtenidos por presión en frío (Farrel, 1985). Las especias y sus aceites esenciales presentan la propiedad de inhibir el crecimiento de microorganismos, expresada como actividad antimicrobiana, actuando como agentes bacteriostáticos o antifúngicos. Estas propiedades se han conocido durante siglos. La canela, el comino y el tomillo se utilizaban en el antiguo



Egipto en los embalsamamientos; en India y China para conservar alimentos y como remedios medicinales. Otra propiedad funcional de los aceites esenciales es la de actuar como antioxidantes, retrasando o inhibiendo la oxidación de aceites y lípidos en general. La canela presenta este tipo de actividad, pero no es tan efectiva como la mostrada por los aceites de romero, salvia y orégano (Hirasa y Takemasa, 2002).

Los AE se caracterizan por sus propiedades físicas, como densidad, viscosidad, índice de refracción y actividad óptica. La mayoría de los aceites esenciales tiene una densidad menos a la del agua excepto los aceites de almendras amargas, mostaza, canela, perejil o clavo. El índice de refracción es una propiedad característica de cada aceite esencial y cambia cuando este se diluye o mezcla con otras sustancias (Ortuño, 2006).

2.2.9. Destilación por arrastre de vapor

La destilación por arrastre con vapor se emplea con frecuencia para separar aceites esenciales de tejidos vegetales. Los aceites esenciales son mezclas complejas de hidrocarburos, terpenos, alcoholes, compuestos carbonílicos, aldehídos aromáticos y fenoles y se encuentran en hojas, cáscaras o semillas de algunas plantas. En el vegetal, los aceites esenciales están almacenados en glándulas, conductos, sacos, o simplemente reservorios dentro del vegetal, por lo que es conveniente desmenuzar el material para exponer esos reservorios a la acción del vapor de agua (Chamorro & Prada, 2019).

Esta técnica se utiliza mucho a nivel industrial puesto que posee un alto rendimiento, no requiere alta tecnología, es de bajo costo y produce un aceite de alta pureza. La destilación por arrastre de vapor se emplea para extraer los líquidos inmiscibles que se encuentran en una mezcla. Consiste en una vaporación a temperaturas inferiores a las que tiene los componentes volátiles a presión atmosféricas, puesto que al sumar las presiones parciales del agua y los componentes inmiscibles, se reduce la temperatura de ebullición. Esto permite que los aceites esenciales se separen con mayor facilidad además de evitar su degradación.

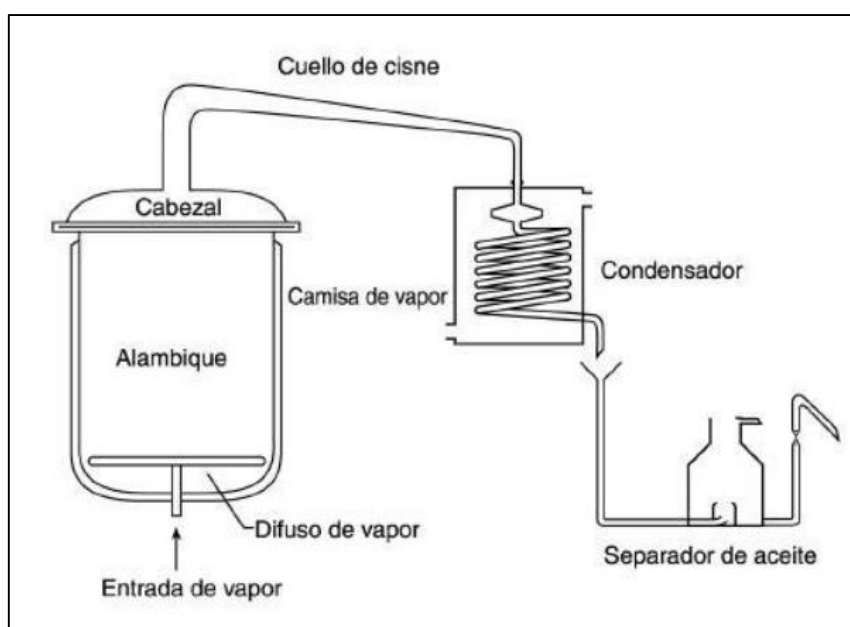


FIGURA 2. Principales componentes de un equipo de extracción mediante arrastre con vapor, Bandoni (2002).

2.2.10. Quitina y Quitosano

La quitina es un polímero natural que se encuentra en los exoesqueletos de insectos y crustáceos, así como también en las paredes celulares de algunos hongos, levaduras y algas. De ella se obtiene el quitosano mediante un proceso de desacetilación, este polisacárido también se puede encontrar directamente en algunos hongos. Su descubrimiento data del siglo XIX cuando Rouget



reporta en 1859 formas desacetiladas de la quitina y en 1894 Hoppe y Seyler lo denominan quitosano (Lárez, 2003).

El quitosano es la forma N-desacetilada de la quitina y posee mejores propiedades de reactividad y solubilidad. (Mármol et al, 2011). Se obtiene al sustituir los grupos acetaminados de esta por grupos amino, al tratar la quitina con álcalis fuertes. (Mármol, Pag. 56, 2003).

Se disuelve fácilmente en soluciones diluidas de la mayoría de los ácidos orgánicos tales como: ácido fórmico, acético, cítrico y tartárico, y también en ácidos minerales diluidos a excepción del ácido sulfúrico. (Gauna & Nuñez, 2004). Su grado de desatilización varía desde un 60% hasta un 90% y los pesos moleculares, se reportan desde 50 hasta 2000 KDa, atribuyéndose esta heterogeneidad a la falta de control durante el procesamiento. (Ramirez, L. et al, 2002).

Como polímero natural tiene un gran potencial en diferentes aplicaciones. En el área de la salud se utiliza en la liberación de medicamentos, piel artificial, refuerzo de uñas y huesos, sutura absorbible y apósito para heridas. En la agroindustria se usa en películas para recubrimiento de frutos, hojas, semillas y vegetales frescos, en la clarificación de jugos de fruta, en la protección de plántulas, en la liberación controlada de agroquímicos, en la estimulación del crecimiento, como inhibidor del oscurecimiento de frutos y tubérculos, en biocidas, como corrector de sustratos de crecimiento y como inductor de mecanismos de defensa (Lárez, 2008). En el tratamiento de aguas se utiliza como floculante, coagulante, en tratamientos de flotación para la



remoción de aceites pesados en agua, como agente filtrante para piscinas y spas, en remoción de metales y surfactantes. (Lárez, 2003)

Estos usos se deben a sus propiedades fisicoquímicas, tales como; su biodegradabilidad, biocompatibilidad, atoxicidad, inmunogenicidad, actividad bactericida, fungicida, antiviral y biocida.

2.2.10.1. Propiedades fisicoquímicas

El quitosano es un copolímero compuesto de unidades de 2-Acetilamina-2-desoxi- β -D-(+) Glucopiranososa y 2-amino-2-desoxi- β -D-Glucopiranososa (Dash, M. et al, 2011). Sus grupos amino permiten que se solubilice fácilmente en medios ácidos, confiriéndole una innumerable cantidad de aplicaciones. En la Figura N°2 se presentan las estructuras químicas de la quitina, el quitano y el quitosano (Rinaudo, 2006).

Normalmente el quitosano comercial tiene un grado de desacetilación del 70 al 90% y en algunas aplicaciones biomédicas se utiliza con un grado de desacetilación mayor al 95% (Khor & Limb, 2003). Para determinar este grado, se han utilizado diferentes técnicas como la espectroscopía infrarroja, la espectroscopía ultravioleta o la titulación potenciométrica que es la más utilizada en la industria.

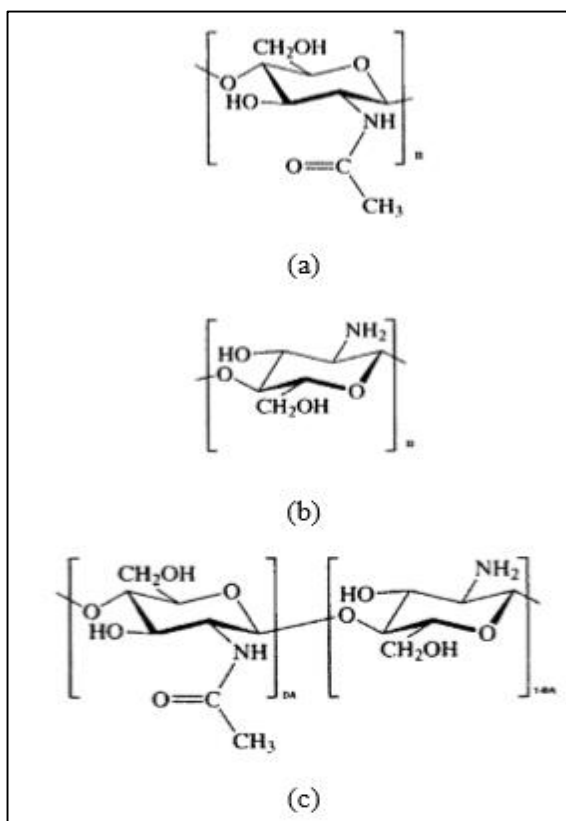


FIGURA 2: (a) Estructura química de la quitina (2Acetilamina-2-desoxi- β -D-(+) Glucopiranososa), (b) del quitano (2-amino-2desoxi- β -D-Glucopiranososa), (c) del quitosano parcialmente desacetilado (copolímero). Tomada de Marguerite Rinaudo (2006).

2.2.10.2. Peso molecular

En cualquier tipo de polímero el Peso Molecular adquiere gran importancia pues de este dependen propiedades como la viscosidad o la solubilidad, sin embargo, para el Quitosano el peso molecular también influye en sus propiedades biológicas, reológicas y mecánicas.

Los pesos moleculares registrados de quitosano promedian el valor de $1,25 \times 10^6$ g/mol. Obtenido mediante análisis viscométricos (Parada, et al., 2004).



2.2.10.3. Solubilidad

El quitosano es normalmente soluble a un pH menor de 6 y los factores que se deben tener en cuenta cuando se solubiliza son, el grado de desacetilación y la distribución de los grupos acetilos y aminos a lo largo de la cadena. El grado de ionización es importante también y generalmente el quitosano se disuelve alrededor de un valor de 0.5 (Rinaudo, 2006).

El mejor solvente para solubilizar el quitosano es el ácido fórmico, el más utilizado es el ácido acético, también es soluble en ácido clorhídrico, ácido nítrico y ácido cítrico, es insoluble en ácido sulfúrico y fosfórico (Ravindra et al, 1998).

2.2.10.4. Toxicidad

El quitosano es considerado no tóxico y como un polímero biológicamente compatible con los seres vivos (Dash, M. et al, 2011). Se ha establecido que este polisacárido no puede ser digerido por los humanos, por lo que se considera como una fibra con cero calorías (F.M. Goycoolea. et al 2000).

El quitosano ha sido aprobado en aplicaciones dietarias en Japón, Italia y Finlandia, este tiene un efecto en los ácidos biliares usados por el cuerpo para emulsificar contenidos insolubles como lípidos y colesterol en el estómago, previniendo su flujo a través de la mucosa intestinal y precipitándolos en el intestino delgado (Aranaz, et al, 2009)



Para el uso biomédico en concreto, la FDA (Food and drug administration) ha aprobado el uso de quitosano en apósitos para el control y tratamiento de heridas.

2.2.11. Apósitos para la piel

Para seleccionar un tratamiento efectivo frente a lesiones cutáneas es necesario evaluar las características de dicha lesión, como la profundidad, el exudado y los signos de infección.

Los apósitos son un tipo de tratamiento tópico que cubre, protege y aísla la úlcera o herida de factores externos perjudiciales al medio y que actúa de manera pasiva adsorbiendo exudados o de manera activa modificando el lecho de la herida e interviniendo en el proceso de cicatrización (Formes et al, 2008).

El objetivo de un apósito es proteger a la herida de agentes microbianos y evitar microtraumatismos, para esto debe mantener la temperatura corporal y una humedad adecuada en la zona de la lesión que no interfiera en los procesos biológicos de cicatrización.

Los beneficios que proporciona un apósito son diversos, pudiendo nombrarse la reducción del tiempo de curación y de hospitalización y la mejora en el cuidado del paciente.

La clasificación más usada para identificar los diferentes tipos de apósitos fue propuesta por el médico norteamericano Turner, que divide los apósitos de la siguiente manera:



2.2.11.1. Apósitos Activos

a) Apósitos Interactivos

Tabla 1: Apósitos Interactivos

Clasificación	Característica	Tipo de apósito	Indicación
Tull	Gasa tejida o lámina impregnada en una emulsión de petrolato o cubierta por silicona.	Tull de petrolato sintético Tull de petrolato natural Silicona	Epitelización y granulación
Espumas	Apósitos compuestos por poliuretano que atraen el agua, por capilaridad a su interior.	Laminas no adhesivas Laminas adhesivas Cojincillo	Protección cizalla y fricción, absorber exudado moderado o abundante
Transparentes no adhesivos	Láminas de contacto formada por una membrana de nylon estéril, no adherente, porosa, hipoalergénica y no irritante	Nylon Poliéster	Epitelización y granulación.
Transparentes adhesivos	Apósitos semipermeables a base de una película de poliuretano, cuyo mecanismo de acción es mantener un ambiente húmedo fisiológico al dejar pasar el vapor de agua y la oxigenación e impedir el paso del agua, bacterias y virus	Apósito transparente	Protección cizalla y fricción Desbridamiento autolítico. Epitelización y granulación.

Fuente: Hospital Dr. Hernán Henríquez Aravena, 2020

b) Apósitos bioactivos

Son apósitos que poseen mayor complejidad pues están diseñados para que la herida reciba suficiente oxigenación y se mantenga húmeda.



Tabla 2: Apósitos bioactivos

Clasificación	Característica	Tipos de apósitos	Indicación
Hidrocolide	Compuestos por carboximetilcelulosa, gelatina y pectina en una base adhesiva. Hay autoadhesivos, semioclusivos u oclusivos	Estándar Extrafino	Epitelización y granulación Desbridamiento autolitico. Protección de cizalla y fricción
Hidrogel	Compuesto por polímeros espesantes y humectantes con un alto contenido de agua.	Amorfo o gel Laminas	Hidratar Debridante autolitico. Epitelización y granulación.
Alginatos y carboximetilcelulosa	Alginato: Polisacáridos naturales biodegradables de fibra no tejida derivados de la sal de calcio del ácido algínico (algas marinas). Carboximetilcelulosa: compuesto por carboximetilcelulosa sódica, polisacárido de alto peso molecular, que al contacto con el agua o el exudado confiere un ph ácido a la solución. Tiene una alta capacidad de absorción y forma un gel viscoso.	Laminas Mechass	Absorber exudado moderado o abundante.

Fuente: Hospital Dr. Hernán Henríquez Aravena, 2020

c)Apósitos Mixtos

Poseen diferentes niveles de permeabilidad combinando las características de los apósitos pasivos, interactivos, bioactivos y otros.



Tabla 3: Apósitos mixtos

Clasificación	Característica	Tipos de apósitos	Indicación
Antimicrobiano o bactericida	Estos apósitos permiten destruir las bacterias (bactericida) o inhibir las bacterias (bacteriotáticos)	Alginato en plata Carboximetilcelulosa con plata Carbón activado con plata Plata nanocrystalina Espuma con plata Gasa con plata Tull con plata Hidrogel con plata	Infección
Antimicrobiano o bacteriostático	Estos apósitos permiten inhibir las bacterias	Gasa con Polihexametileno biguanina (PHMB). Gasa con cloruro de Diakil-carbamoil (DACC)	Colonización crítica.
Osmótico	Tienen la característica de desbridar el tejido esfacelado y necrótico, asociado a exudado abundante. Apósito de cloruro de sodio: contiene altas concentraciones de sodio (20%) en una gasa no tejida prelavada. Utilizar por periodos cortos. Apósitos de miel: actividad antimicrobiana. Apósito de Ringer: apósito saturado de solución ringer, provee un ambiente húmedo, provocando un intercambio de exudado por diferencia de concentraciones, proceso que remueve tejido necrótico o esfacelado.	Gasa con sodio al 20% Apósitos de miel en tull o gel Alginato con miel Ringer PMB	Desbridamiento e heridas con esfacelo o tejido necrótico con o sin infección según corresponda, además en casos de colonización crítica.



Miel grado médico	Fabricado en un 100% con miel de Manuka (Leptospermum scoparium) de calidad médica •Estimula el desbridamiento autolítico mediante la aplicación de altos niveles de azúcar (87%) •Ayuda a reducir rápidamente el olor •Crea un entorno húmedo para la curación de la herida4 •Debe usarse junto con un apósito oclusivo absorbente •Compatible con apósitos de plata y surfactantes para limpieza de heridas	Gel y en láminas	Heridas de espesor parcial o total Heridas con exudación entre nula y mínima Úlceras en la pierna Úlceras por presión Quemaduras de primer y segundo grado Úlceras de pie diabético Heridas quirúrgicas y por traumatismos Leves abrasiones, laceraciones y cortaduras, leves escaldaduras y quemaduras
-------------------	--	------------------	---

Regeneradores	Ayudan a regenerar. Se utilizan en la última fase de la cicatrización con el objetivo de ayudar a la fase proliferativa	Apósitos de colágeno. Apósitos inhibidores de la metaloproteasa.	Regenerar. Colonización baja (100% tejido de granulación)
---------------	---	--	---

Fuente: Hospital Dr. Hernán Henríquez Aravena, 2020

2.2.12. Quemaduras

Una quemadura es una lesión en los tejidos del cuerpo causada por el calor, sustancias químicas, electricidad, el sol o radiación. Las escaldaduras por líquidos calientes y vapor, los incendios en edificios y los líquidos y gases



inflamables son las causas más comunes de las quemaduras. Otro tipo de quemadura es la causada por inhalación de humo o partículas tóxicas. (Biblioteca Nacional de Medicina de Estados Unidos, 2019).

Las quemaduras se clasifican de acuerdo al daño producido en el tejido, encontrando tres tipos:

- Primer Grado: Daño presente en la capa externa de la piel.
- Segundo Grado: Grado presente tanto en la capa externa de la piel como debajo de ella.
- Tercer Grado: Daño tanto en la capa más profunda de la piel como en los tejidos que se encuentran debajo.

2.2.13. Fisiopatología

La piel consta de dos capas, la epidermis y la dermis. En la epidermis hay cuatro estratos: córneo, lúcido, granuloso y germinal. En la dermis se encuentran los folículos pilosos, las glándulas sudoríparas, las fibras nerviosas y el tejido conectivo. La piel es un órgano que protege al organismo frente a las infecciones, regula la temperatura corporal y previene la pérdida de líquidos corporales, por tanto, en el paciente quemado habrá una mayor susceptibilidad a las infecciones, una alteración en el control de la temperatura y una pérdida de líquidos corporales. (Peñalba & Maraño, 2010).

2.2.14. Aspectos epidemiológicos

En el Perú el 40% de las quemaduras se producen en menores de 15 años, siendo los más afectados los niños menores de 4 años y las causas más frecuentes son los accidentes caseros. Aproximadamente el 70% de las



quemaduras pediátricas son producidas por líquidos calientes, siendo el fuego más frecuente en adultos como accidentes de trabajo. (Ministerio de Salud, 2012).

2.2.15. Terapéutica

Según la Guía práctica Clínica para el Diagnóstico y Tratamiento de Lesiones por Quemadura del Instituto Nacional de Salud, se mencionan entre los tratamientos:

2.2.15.1. Tratamiento del quemado leve y moderado

A. Tratamiento ambulatorio

a) Quemaduras de primer grado

- Limpieza con agua y jabón suave.
- Cremas hidratantes con urea y ácido láctico.
- No utilizar corticoides ni antisépticos tópicos.
- Administrar antiinflamatorios no esteroideos a dosis farmacológica.

b) Quemaduras de segundo grado < 10% extensión y 3er grado < 2% de superficie corporal afectada

- Enfriamiento de la lesión con agua fría por 15 minutos o 30 minutos en caso de quemadura clínica.
- Limpieza con agua y jabón suave.
- Aspiración del contenido de flictenas, sin retirar la epidermis.
- Limpieza con suero fisiológico.
- Buen secado de la lesión.
- Aplicación local de sulfadiazina de plata al 1% o nitrofurazona al 0.2%.



- Gasa parafinada.
- Vendaje cómodo y no compresivo.
- Prevención antitetánica.
- No dar antibióticos.
- Remitir a su centro de salud para curas cada 24-48 horas.
- Remitir al hospital si no epiteliza en 10-15 días.

2.2.15.2. Tratamiento del quemado grave Nivel I, II y III.

A) Tratamiento pre hospitalario

- Retire a la víctima de la fuente térmica.
- Eliminar la ropa si no está pegada o la quemadura no es extensa.
- Estabilización de las funciones vitales (ABC).
- Proteja su seguridad personal.
- Evaluar y estabilizar lesiones, traumas recurrentes.
- Evaluar pulsos periféricos.
- Enfriamiento de la lesión con agua que fluya.
- Cubrir con mantas limpias y secas.
- Transportar previa coordinación al centro referencial.

2.2.15.3. Terapia tópica

Las curaciones se realizaran de acuerdo al manual de curaciones y la terapia antimicrobiana se incluirá cualquiera de los siguientes agentes:

- Sulfadiazina de plata 1%.
- Nitrofur.
- Rifamicina.
- Mupirocina.



- Bacitracina.
- Nistatina.
- Yodo povidona 8% espuma.
- Hipoclorito de sodio.
- Calamnia.

Así mismo la guía práctica del Ministerio de Salud recomienda cubrir con gasas estériles y vendas.

2.2.15.4. Tratamiento tópico

Cuando se realiza el tratamiento vía tópica es imperante limitar el crecimiento de microorganismos para poder evitar posibles infecciones que puedan retrasar el proceso de epitelización.

Generalmente en este tipo de tratamiento se utilizan pomadas antimicrobianas o apósitos que tengan efecto antibacteriano de amplio espectro. La elección de uno y otro depende en mayor medida de las características de la zona quemada en cuanto a profundidad, extensión, localización o la necesidad de higiene y curas frecuentes.

2.2.16. Genero Staphylococcus

Son células esféricas gram positivas, generalmente dispuestas en racimos irregulares parecidos a racimos de uvas, crecen con rapidez sobre muchos tipos de medios y son metabólicamente activos, fermentan carbohidratos y producen pigmentos que varían desde el color blanco hasta el amarillo intenso. Algunos son miembros de la flora normal de la piel y mucosa de los humanos;



otras causan supuración formación de abscesos, varias infecciones piógenas e incluso septicemia mortal (Jawetz et al., 2005).

Los *Staphylococcus* patógenos casi siempre causan hemólisis y coagulación del plasma; y producen varias enzimas y toxinas extracelulares (Jawetz et al., 2005).

El género *Staphylococcus* contiene al menos 30 especies. Las tres de importancia clínica son *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* y *Staphylococcus saprofiticus* (Jawetz et al., 2005).

El primero es coagulasa positivo, que lo diferencia de las otras especies. El *S. aureus* es un patógeno importante para los humanos. Casi toda persona padece algún tipo de infección por *S. aureus* en toda su vida (Jawetz et al., 2005).

Los *Staphylococcus* coagulasa negativo son normales en la flora humana y a veces causan infección (Jawetz et al., 2005).

2.2.16.1. Staphylococcus aureus

S. aureus es uno de los patógenos más importantes a nivel mundial, bacteria oportunista que forma parte de la microflora humana: poco después del nacimiento, los neonatos son colonizados por *S. aureus*, los sitios de colonización incluyen el muñón del cordón umbilical, el área perineal, la piel y, a veces, el tracto gastrointestinal. También puede contaminar la vestimenta y la ropa de cama. La colonización más frecuente por *S. aureus* es la mucosa nasal, el principal reservorio lo constituye el hombre enfermo o el portador. Es más frecuente la colonización en el hospital, especialmente en pacientes con



hemodiálisis, diabéticos tipo 1, pacientes con lesiones cutáneas, sujetos infectados con VIH y adictos a las drogas.⁴⁵⁻⁴⁷ El portador nasofaríngeo asintomático es también origen frecuente de *S. aureus* resistente a la meticilina. Las infecciones causadas por los SARM son las mismas a las producidas por cepas sensibles a la meticilina, particularmente las heridas quirúrgicas, bacteriemias a partir de catéter y la neumonía en enfermos ventilados. Un aspecto importante en años recientes en salud pública son las infecciones por *S. aureus* que han reemergido debido a que la bacteria se ha tornado resistente a diversos antibióticos con los que normalmente se les trata. Durante varias décadas se han reportado un gran número brotes epidémicos de *S. aureus* a nivel mundial, sobre todo en los hospitales, centros de atención, clínicas y recientemente ha surgido en la comunidad. Actualmente, estos brotes se dividen como infecciones nosocomiales e infecciones adquiridas en la comunidad (Cervantes et al., 2014).

2.3. Definiciones conceptuales

2.3.1. Biopolímero.-

Los biopolímeros son macromoléculas presentes en o compatibles con los seres vivos.

2.3.2. Halo de inhibición. –

Se puede definir como la zona formada alrededor de un disco con propiedades antibióticas dentro de una placa Petri inoculada con algún germen en la cual no hay crecimiento bacteriano.



2.3.3. Lámina biodegradable. –

Las películas comestibles o plásticos biodegradables son aquellos materiales que cuando son expuestos a condiciones determinadas de humedad, flora microbiana y oxígeno durante un periodo de varios meses, se transforman en sustancias sencillas (como el agua y dióxido de carbono (CO₂)) y en biomasa mediante la acción enzimática de los microorganismos (bacterias, hongos y otros) presentes en el medio ambiente. Las películas se emplean en diferentes áreas (medicina, agricultura, alimentación, envases y embalaje, entre otros) teniendo en cuenta las características funcionales que debe presentar el material según la aplicación específica a la que se destine (Parzanese, Pag. 1, 2003).

2.3.4. ANOVA.-

El análisis de varianza es una prueba en la cual se compara la variabilidad de las medias de dos o más poblaciones, para de esta manera determinar si existen diferencias estadísticamente significativas entre las medias de tres o más grupos.

2.4. Hipótesis

2.4.1. Hipótesis General

El proceso de elaboración afecta la caracterización de las láminas biodegradables antibacterianas de quitosano conteniendo aceite esencial de *Eucalyptus globulus L.*



2.4.2. Hipótesis Específicas

- El tiempo de agitación afecta las características físicas, mecánicas y microbiológicas de las láminas biodegradables antibacterianas de quitosano conteniendo aceite esencial de *Eucalyptus globulus L.*
- La temperatura de secado afecta las características físicas, mecánicas y microbiológicas de las láminas biodegradables antibacterianas de quitosano conteniendo aceite esencial de *Eucalyptus globulus L.*

2.5. Definición de variables

a. Variable independiente:

Proceso de elaboración de las láminas biodegradables antibacterianas de quitosano conteniendo aceite esencial de *Eucalyptus globulus L.*

b. Variable dependiente:

Caracterización de láminas biodegradables antibacterianas de quitosano conteniendo aceite esencial de *Eucalyptus globulus L.*



2.6. Operacionalización de las variables

Tabla 4: Operacionalización de las variables

VARIABLE	DIMENSIONES	INDICADORES	ITEM	TÉCNICA	INSTRUMENTO
Proceso de elaboración de Lamina biodegradable antibacteriana de quitosano conteniendo aceite esencial de <i>Eucalyptus globulus L.</i>	Tiempo de agitación	Tiempo programado en el agitador	Tiempo en horas	Observación experimental	Ficha de recolección de datos
	Temperatura de secado	Temperatura programada en el horno de secado	Temperatura en °C	Observación experimental	Ficha de recolección de datos
Caracterización de láminas biodegradables antibacterianas de quitosano conteniendo aceite esencial de <i>Eucalyptus globulus L.</i>	Propiedad física	Espesor	Medida del espesor en mm	Observación experimental	Ficha de recolección de datos
	Propiedad química	Contenido de humedad	Peso inicial en g Peso final en g	Observación experimental	Ficha de recolección de datos
	Propiedad física	Resistencia a la tracción	Deformación Esfuerzo Módulo de tracción	Observación experimental	Ficha de recolección de datos
	Propiedad microbiológica	Diámetro del halo de inhibición del crecimiento bacteriano	Diámetro del halo de inhibición en mm	Observación experimental	Ficha de recolección de datos



CAPITULO TERCERO

METODOLOGÍA

3.1. Tipo de investigación

Para la realización del presente trabajo de investigación se realizará un estudio de tipo correlacional, ya que se establecerá la influencia del proceso de elaboración de las láminas biodegradables de quitosano conteniendo aceite esencial de *Eucalyptus globulus* L. sobre las características obtenidas de cada tipo de lámina.

3.2. Diseño de investigación

El estudio es de tipo experimental (se trabaja con grupos intactos), prospectivo (por el tiempo de ocurrencia de estudio), transversal (por el periodo de estudio); enfocado a demostrar el efecto que tiene el proceso de elaboración de las láminas biodegradables de quitosano conteniendo aceite esencial de *Eucalyptus globulus* L. frente a las características obtenidas de cada tipo de lámina.

3.3. Población y muestra de estudio

3.3.1. Población vegetal

Se recolectó la especie arbórea *Eucalyptus globulus* Labill del distrito de Chincheros, provincia de Urubamba, departamento de Cusco ubicada a 3.762 msnm. Con una ubicación geográfica: Latitud: 13° 35' Sur; Longitud: 12° 30' Oeste y una superficie de 94.57 km².



3.3.2. Muestra arbórea

Las muestras se seleccionaron de acuerdo a los criterios de inclusión y exclusión.

3.3.3. Población de láminas

Estará compuesta por las láminas biodegradables antibacterianas de quitosano conteniendo aceite esencial de *Eucalyptus globulus L.* preparadas clasificadas de acuerdo a las siguientes condiciones de proceso:

- Tipo 1: temperatura de secado: 50 °C, tiempo de agitación: 3 horas
- Tipo 2: temperatura de secado: 50 °C, tiempo de agitación: 4 horas
- Tipo 3: temperatura de secado: 50 °C, tiempo de agitación: 5 horas
- Tipo 4: temperatura de secado: 60 °C, tiempo de agitación: 3 horas
- Tipo 5: temperatura de secado: 60 °C, tiempo de agitación: 4 horas
- Tipo 6: temperatura de secado: 60 °C, tiempo de agitación: 5 horas
- Tipo 7: temperatura de secado: 70 °C, tiempo de agitación: 3 horas
- Tipo 8: temperatura de secado: 70 °C, tiempo de agitación: 4 horas
- Tipo 9: temperatura de secado: 70 °C, tiempo de agitación: 5 horas

3.3.4. Muestras para prueba de sensibilidad antibacteriana

- Grupo1: 5 placas Petri inoculadas con *Staphylococcus aureus*, cada placa contendrá 3 discos de láminas biodegradables antibacterianas de quitosano conteniendo aceite esencial de *Eucalyptus globulus L.* de condiciones de proceso tipo 1 (temperatura de secado: 50 °C, tiempo de agitación: 3 horas) y 1 disco de sensibilidad control de ceftarolina, dando un total de 15 muestras de las láminas tipo 1.



- Grupo 2: 5 placas Petri inoculadas con *Staphylococcus aureus*, cada placa contendrá 3 discos de láminas biodegradables antibacterianas de quitosano conteniendo aceite esencial de *Eucalyptus globulus L.* de condiciones de proceso tipo 2 (temperatura de secado: 50 °C, tiempo de agitación: 4 horas) y 1 disco de sensibilidad control de ceftarolina, dando un total de 15 muestras de las láminas tipo 2.
- Grupo 3: 5 placas Petri inoculadas con *Staphylococcus aureus*, cada placa contendrá 3 discos de láminas biodegradables antibacterianas de quitosano conteniendo aceite esencial de *Eucalyptus globulus L.* de condiciones de proceso tipo 3 (temperatura de secado: 50 °C, tiempo de agitación: 5 horas) y 1 disco de sensibilidad control de ceftarolina, dando un total de 15 muestras de las láminas tipo 3.
- Grupo 4: 5 placas Petri inoculadas con *Staphylococcus aureus*, cada placa contendrá 3 discos de láminas biodegradables antibacterianas de quitosano conteniendo aceite esencial de *Eucalyptus globulus L.* de condiciones de proceso tipo 4 (temperatura de secado: 60 °C, tiempo de agitación: 3 horas) y 1 disco de sensibilidad control de ceftarolina, dando un total de 15 muestras de las láminas tipo 4.
- Grupo 5: 5 placas Petri inoculadas con *Staphylococcus aureus*, cada placa contendrá 3 discos de láminas biodegradables antibacterianas de quitosano conteniendo aceite esencial de *Eucalyptus globulus L.* de condiciones de proceso tipo 5 (temperatura de secado: 60 °C, tiempo de agitación: 4 horas) y 1 disco de sensibilidad control de ceftarolina, dando un total de 15 muestras de las láminas tipo 5.



- Grupo 6: 5 placas Petri inoculadas con *Staphylococcus aureus*, cada placa contendrá 3 discos de láminas biodegradables antibacterianas de quitosano conteniendo aceite esencial de *Eucalyptus globulus L.* de condiciones de proceso tipo 6 (temperatura de secado: 60 °C, tiempo de agitación: 5 horas) y 1 disco de sensibilidad control de ceftarolina, dando un total de 15 muestras de las láminas tipo 6.
- Grupo 7: 5 placas Petri inoculadas con *Staphylococcus aureus*, cada placa contendrá 3 discos de láminas biodegradables antibacterianas de quitosano conteniendo aceite esencial de *Eucalyptus globulus L.* de condiciones de proceso tipo 7 (temperatura de secado: 70 °C, tiempo de agitación: 3 horas) y 1 disco de sensibilidad control de ceftarolina, dando un total de 15 muestras de las láminas tipo 7.
- Grupo 8: 5 placas Petri inoculadas con *Staphylococcus aureus*, cada placa contendrá 3 discos de láminas biodegradables antibacterianas de quitosano conteniendo aceite esencial de *Eucalyptus globulus L.* de condiciones de proceso tipo 8 (temperatura de secado: 70 °C, tiempo de agitación: 4 horas) y 1 disco de sensibilidad control de ceftarolina, dando un total de 15 muestras de las láminas tipo 8.
- Grupo 9: 5 placas Petri inoculadas con *Staphylococcus aureus*, cada placa contendrá 3 discos de láminas biodegradables antibacterianas de quitosano conteniendo aceite esencial de *Eucalyptus globulus L.* de condiciones de proceso tipo 9 (temperatura de secado: 70 °C, tiempo de agitación: 5 horas) y 1 disco de sensibilidad control de ceftarolina, dando un total de 15 muestras de las láminas tipo 9.



3.3.5. Muestras para prueba de contenido de humedad

- Grupo 10: 10 láminas biodegradables antibacterianas de quitosano conteniendo aceite esencial de *Eucalyptus globulus L.* de condiciones de proceso tipo 1 (temperatura de secado: 50 °C, tiempo de agitación: 3 horas), dando un total de 10 muestras de las láminas tipo 1.
- Grupo 11: 10 láminas biodegradables antibacterianas de quitosano conteniendo aceite esencial de *Eucalyptus globulus L.* de condiciones de proceso tipo 2 (temperatura de secado: 50 °C, tiempo de agitación: 4 horas), dando un total de 10 muestras de las láminas tipo 2.
- Grupo 12: 10 láminas biodegradables antibacterianas de quitosano conteniendo aceite esencial de *Eucalyptus globulus L.* de condiciones de proceso tipo 3 (temperatura de secado: 50 °C, tiempo de agitación: 5 horas), dando un total de 10 muestras de las láminas tipo 3.
- Grupo 13: 10 láminas biodegradables antibacterianas de quitosano conteniendo aceite esencial de *Eucalyptus globulus L.* de condiciones de proceso tipo 4 (temperatura de secado: 60 °C, tiempo de agitación: 3 horas), dando un total de 10 muestras de las láminas tipo 4.
- Grupo 14: 10 láminas biodegradables antibacterianas de quitosano conteniendo aceite esencial de *Eucalyptus globulus L.* de condiciones de proceso tipo 5 (temperatura de secado: 60 °C, tiempo de agitación: 4 horas), dando un total de 10 muestras de las láminas tipo 5.
- Grupo 15: 10 láminas biodegradables antibacterianas de quitosano conteniendo aceite esencial de *Eucalyptus globulus L.* de condiciones de proceso tipo 6 (temperatura de secado: 60 °C, tiempo de agitación: 5 horas), dando un total de 10 muestras de las láminas tipo 6.



- Grupo 16: 10 láminas biodegradables antibacterianas de quitosano conteniendo aceite esencial de *Eucalyptus globulus L.* de condiciones de proceso tipo 7 (temperatura de secado: 70 °C, tiempo de agitación: 3 horas), dando un total de 10 muestras de las láminas tipo 7.
- Grupo 17: 10 láminas biodegradables antibacterianas de quitosano conteniendo aceite esencial de *Eucalyptus globulus L.* de condiciones de proceso tipo 8 (temperatura de secado: 70 °C, tiempo de agitación: 4 horas), dando un total de 10 muestras de las láminas tipo 8.
- Grupo 18: 10 láminas biodegradables antibacterianas de quitosano conteniendo aceite esencial de *Eucalyptus globulus L.* de condiciones de proceso tipo 9 (temperatura de secado: 70 °C, tiempo de agitación: 5 horas), dando un total de 10 muestras de las láminas tipo 9.

3.3.6. Muestras para medir espesor y para prueba de resistencia a la tracción

- Grupo 19: 10 láminas biodegradables antibacterianas de quitosano conteniendo aceite esencial de *Eucalyptus globulus L.* de condiciones de proceso tipo 1 (temperatura de secado: 50 °C, tiempo de agitación: 3 horas), dando un total de 10 muestras para la prueba de medida de espesor. De cada lámina utilizada se obtuvo una probeta para la prueba de resistencia a la tracción, dando un total de 10 muestras de las láminas tipo 1.
- Grupo 20: 10 láminas biodegradables antibacterianas de quitosano conteniendo aceite esencial de *Eucalyptus globulus L.* de condiciones de proceso tipo 2 (temperatura de secado: 50 °C, tiempo de agitación: 4 horas), dando un total de 10 muestras para la prueba de medida de espesor. De cada



lámina utilizada se obtuvo una probeta para la prueba de resistencia a la tracción, dando un total de 10 muestras de las láminas tipo 2.

- Grupo 21: 10 láminas biodegradables antibacterianas de quitosano conteniendo aceite esencial de *Eucalyptus globulus L.* de condiciones de proceso tipo 3 (temperatura de secado: 50 °C, tiempo de agitación: 5 horas), dando un total de 10 muestras para la prueba de medida de espesor. De cada lámina utilizada se obtuvo una probeta para la prueba de resistencia a la tracción, dando un total de 10 muestras de las láminas tipo 3.
- Grupo 22: 10 láminas biodegradables antibacterianas de quitosano conteniendo aceite esencial de *Eucalyptus globulus L.* de condiciones de proceso tipo 4 (temperatura de secado: 60 °C, tiempo de agitación: 3 horas), dando un total de 10 muestras para la prueba de medida de espesor. De cada lámina utilizada se obtuvo una probeta para la prueba de resistencia a la tracción, dando un total de 10 muestras de las láminas tipo 4.
- Grupo 23: 10 láminas biodegradables antibacterianas de quitosano conteniendo aceite esencial de *Eucalyptus globulus L.* de condiciones de proceso tipo 5 (temperatura de secado: 60 °C, tiempo de agitación: 4 horas), dando un total de 10 muestras para la prueba de medida de espesor. De cada lámina utilizada se obtuvo una probeta para la prueba de resistencia a la tracción, dando un total de 10 muestras de las láminas tipo 5.
- Grupo 24: 10 láminas biodegradables antibacterianas de quitosano conteniendo aceite esencial de *Eucalyptus globulus L.* de condiciones de proceso tipo 6 (temperatura de secado: 60 °C, tiempo de agitación: 5 horas), dando un total de 10 muestras para la prueba de medida de espesor. De cada



lámina utilizada se obtuvo una probeta para la prueba de resistencia a la tracción, dando un total de 10 muestras de las láminas tipo 6.

- Grupo 25: 10 láminas biodegradables antibacterianas de quitosano conteniendo aceite esencial de *Eucalyptus globulus L.* de condiciones de proceso tipo 7 (temperatura de secado: 70 °C, tiempo de agitación: 3 horas), dando un total de 10 muestras para la prueba de medida de espesor. De cada lámina utilizada se obtuvo una probeta para la prueba de resistencia a la tracción, dando un total de 10 muestras de las láminas tipo 7.
- Grupo 26: 10 láminas biodegradables antibacterianas de quitosano conteniendo aceite esencial de *Eucalyptus globulus L.* de condiciones de proceso tipo 8 (temperatura de secado: 70 °C, tiempo de agitación: 4 horas), dando un total de 10 muestras para la prueba de medida de espesor. De cada lámina utilizada se obtuvo una probeta para la prueba de resistencia a la tracción, dando un total de 10 muestras de las láminas tipo 8.
- Grupo 27: 10 láminas biodegradables antibacterianas de quitosano conteniendo aceite esencial de *Eucalyptus globulus L.* de condiciones de proceso tipo 9 (temperatura de secado: 70 °C, tiempo de agitación: 5 horas), dando un total de 10 muestras para la prueba de medida de espesor. De cada lámina utilizada se obtuvo una probeta para la prueba de resistencia a la tracción, dando un total de 10 muestras de las láminas tipo 9.

3.3.7. Población microbiana de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

La cepa ATCC 25923 de *Staphylococcus aureus* se obtuvo del laboratorio Microbiologics, se reactivaron para su posterior crecimiento en el caldo de cultivo líquido BHI, agar sangre y agar Mueller Hinton.



3.3.8. Muestra microbiana

Los cultivos se seleccionaron de acuerdo a los criterios de inclusión y exclusión.

3.3.9. Determinación del tamaño de la muestra

Método de muestreo

Tipo de muestreo no probabilístico por conveniencia pues se seleccionó solamente un grupo de la especie arbórea *Eucalyptus globulus* L. que se encontraba en la localidad cercana de Chincheros.

Para el caso del análisis estadístico de las láminas se realizó un muestreo aleatorio simple, pues se seleccionaron las muestras al azar.

3.3.10. Criterios de inclusión y exclusión

- Se utilizaron únicamente las hojas de la especie arbórea *Eucalyptus globulus* L. desechando las ramas y frutos de la especie. Las hojas que presentaban algún cambio en el color por encontrarse marchitas fueron separadas.
- Se utilizó cepa de *Staphylococcus aureus* certificadas de autenticidad por el laboratorio proveedor.
- Se utilizaron cultivos que no presenten ningún tipo de contaminación por el medio externo o que hayan estado expuestas a un ambiente que pueda inhibir su crecimiento.

3.4. Instrumentos de recolección de datos

- Técnica: Observación experimental



- Instrumentos: Fichas de recolección de datos.

3.4.1. Validez y confiabilidad de instrumentos

Para el presente estudio se utilizó fichas de recolección de datos pre elaboradas por los investigadores para cada prueba y según el periodo de realización del estudio.

3.5. Técnicas de recojo, procesamiento y presentación de datos

3.5.1. Proceso de obtención del aceite esencial de *Eucalyptus globulus L.*

3.5.1.1. Obtención y preparación de la materia prima

Las ramas de eucalipto que se recolectaron y almacenaron en los sacos durante 24 h antes del proceso de destilación. Antes de ingresar a la cámara de extracción, se separaron las hojas de las ramas. Las hojas que presentaban algún cambio en el color por encontrarse marchitas fueron separadas.

3.5.1.2. Obtención del aceite esencial de *Eucalyptus globulus L.*

La obtención del aceite esencial de *Eucalyptus globulus L.* se realizó mediante la técnica de extracción por arrastre de vapor. Para lo cual se pesaron 4600 gramos de hojas de eucalipto y se depositaron en la cámara de extracción.

Posteriormente se selló el equipo, evitando el escape de la mezcla de vapor con aceite esencial arrastrado.

Se prendió el generador, que en este caso era una caldera que funcionaba con gas propano obtenido de un balón de gas comercial.



Se dio apertura el flujo de agua, la cual corría de forma continua.

Al alcanzar la cámara de extracción la presión de 1.5 bares se abrió el flujo del vapor hacia el serpentín de condensación.

Se midió la temperatura del agua que ingresó al condensador marcando este 15 grados Celsius y al salir a 25 grados Celsius.

Para recolectar el aceite esencial se colocó una pera de decantación de 1000 ml al final del condensador.

Se dejó fluir el vapor durante aproximadamente una hora, tiempo en el cual se obtuvo 90 ml de aceite esencial. Se repitió el procedimiento hasta obtener 270 ml de aceite esencial.

En la siguiente tabla se muestran los datos de presión y temperatura con los que se realizó el proceso de destilación, así como el rendimiento obtenido:

Tabla 5: Datos de presión y temperatura del proceso de destilación

Datos		
Presión del vapor	P = Bar	1.5
Temperatura del vapor	°C	115
Tiempo de vaporización	Min	60
Temperatura del agua al ingresar al condensador	°C	15
Temperatura del agua al salir del condensador	°C	25
Cantidad de materia prima	Gr	4600
Cantidad de aceite obtenido	ml	90
Rendimiento	%	1.95



3.5.1.3. Análisis cromatográfico

Se realizó el análisis cromatográfico al aceite esencial de *Eucalytus globulus L.* en el laboratorio de cromatografía y espectrometría de la facultad de Ciencias de la Universidad San Antonio Abad del Cusco, con el fin de determinar su composición y cantidad de terpenoides antes de ser utilizado en la preparación (Anexo N° 5).

3.5.2. Proceso de elaboración de láminas biodegradables antibacterianas de quitosano conteniendo aceite esencial de *Eucalyptus globulus L.*

3.5.2.1. Prueba piloto

Esta prueba de desarrollo con el fin de determinar la preparación estándar de las láminas biodegradables antibacterianas de quitosano conteniendo aceite esencial de *Eucalyptus globulus L.* tomando como base los antecedentes ya mencionados.

3.5.2.2. Preparación de láminas biodegradables antibacterianas de quitosano conteniendo aceite esencial de *Eucalyptus globulus L.*

La preparación de las láminas se realizó según lo publicado por Francois et al. (2015) y Fuentes et al. (2009) con algunas modificaciones. Se preparó una solución al 3% w/w de quitosano comercial (con un grado de desatilación del 96%); aceite esencial de Eucalipto al 5% v/v que se obtuvo mediante el método de extracción por arrastre de vapor; glicerina al 8% v/v, la cual actuó como plastificante; tween 80 al 0.5% para facilitar la miscibilidad del aceite en la mezcla y ácido acético al 1% v/v para acidificar el medio y permitir la disolución del quitosano en el agua destilada. La solución se homogeneizó con



un agitador magnético con tres tiempos diferentes e agitación: 3, 4 y 5 horas.

Las soluciones se depositaron en placas Petri, las cuales fueron secadas en el horno de secado a tres diferentes temperatura: 50 °C, 60°C y 70 °C durante 12 horas.

3.5.3. Caracterización de las láminas

Se determinó la caracterización de las láminas en estudio mediante las siguientes propiedades:

3.5.3.1. Sensibilidad antibacteriana

a) Prueba piloto

Esta prueba se desarrolló con el fin de determinar la actividad antibacteriana de las láminas biodegradables antibacterianas de quitosano conteniendo aceite esencial de *Eucalyptus globulus L.* Para determinar la efectividad antibacteriana se observó los halos de inhibición a las 24 horas. Demostrando así que para las láminas biodegradables antibacterianas de quitosano obteniendo aceite esencial de *Eucalyptus globulus L.* de condiciones de proceso tipo 4 (temperatura de secado: 60 °C, tiempo de agitación: 4 horas) si tienen actividad antibacteriana.

b) Prueba de sensibilidad antibacteriana

Bajo condiciones estériles se procedió a la inoculación de 50 uL de la cepa ATCC a cada placa, luego se sembró con la espátula digralsky el inóculo bacteriano en las placas que contenían agar Mueller Hinton.



Con pinzas estériles se procedió a colocar en cada placa 3 discos de las láminas para cada diferente tipo de condiciones de proceso.

Se llevó las placas a la incubadora a 37 °C por un periodo de 24, 48 y 72 horas.

Se procedió a las lecturas de las medidas de los halos de inhibición a las 24, 48 y 72 horas con la ayuda de un vernier digital.

3.5.3.2. Prueba de contenido de humedad

Para determinar el contenido de humedad de las láminas se utilizó una balanza de humedad – Moisture Analyzer. Primero se procedió a realizar la calibración de escala y sensibilidad instrumental. Se procedió a triturar las láminas para su peso en la balanza. Se procedió a determinar el contenido de humedad mediante la cámara de calentamiento de la balanza (lámparas halógenas de hasta 199°C) la cual seca el material y vuelve a pesarlo calculando la diferencia entre ambos pesos y determinado el contenido de humedad en porcentaje. Una vez terminado el proceso de la balanza se pasó a tomar lectura de las muestras.

3.5.3.3. Resistencia a la tracción

a) Prueba piloto

Consistió en someter las láminas biodegradables antibacterianas de quitosano conteniendo aceite esencial de *Eucalyptus globulus* L. de condiciones de proceso tipo 5 (temperatura de secado: 60 °C, tiempo de agitación: 4 horas) a la medición del esfuerzo y deformación, con el fin de determinar el esfuerzo a la tracción de dichas láminas.



Se procedió a realizar una prueba piloto con cera de abeja para la calibración de escalas y sensibilidad instrumental. Posteriormente se realizó la preparación de las probetas de 1.85 cm x 8.5 cm de las láminas biodegradables antibacterianas de quitosano conteniendo aceite esencial de *Eucalyptus globulus L.* de condiciones de proceso tipo 5 (temperatura de secado: 60 °C, tiempo de agitación: 4 horas), las cuales se sometieron a la prueba de resistencia a la tracción usando un sensor de fuerza (Pasco 0 – 10 N), el cual detecta la fuerza aplicada en newton y para el cálculo de la deformación se utilizó un vernier digital (Litz- 0.05 mm).

b) Medida del espesor de láminas

Se realizó la medida del espesor de las láminas utilizando un vernier digital (Litz- 0.05 mm).

c) Medida de la resistencia a la tracción de las láminas

Para esta prueba se acondicionaron las láminas de los diferentes tipos en probetas siguiendo la norma ASTM D882-18. Se procedió a realizar las medidas de ancho, largo y espesor de cada probeta para cálculos posteriores. Posteriormente se procedió a colocar las probetas en las pinzas de sujeción previamente acondicionadas para la prueba. Se realizó el elongamiento hasta el punto de ruptura de las probetas. La medición del esfuerzo se realizó con el sensor de fuerza (Pasco 0 – 10 N) y la deformación con el vernier digital (Litz- 0.05 mm).



3.6. Procedimiento de análisis de datos

Con el fin de evaluar la influencia del proceso de elaboración sobre la caracterización de láminas biodegradables antibacterianas de quitosano para uso en la industria farmacéutica, se utilizará un diseño estadístico experimental en base a los resultados obtenidos para las diferentes formulaciones de las láminas biodegradables. Esta evaluación se realizará utilizando el análisis de varianza multifactorial (ANOVA), seguido por el teste de comparaciones múltiples LSD de Fisher.



CAPITULO CUARTO

RESULTADOS

En los últimos años la industria farmacéutica a nivel mundial se ha enmarcado como un sector con un movimiento económico de más de tres trillones de dólares en ventas anuales, enfocándose en productos que satisfagan las necesidades de cuidado de salud de la población. En la actualidad la industria farmacéutica está experimentando una serie de cambios, especialmente en modernizar y estandarizar sus procesos productivos para lograr fabricar sus bienes un menor tiempo, con un menor costo, con un componente biodegradable y enfatizando sus esfuerzos en garantizar una calidad adecuada.

En este sentido es que se busca relacionar los procesos productivos al control de calidad de los productos finales, como es el caso del presente estudio.

Las complejas regulaciones en el desarrollo de tratamientos biomédicos exigen un cuidadoso planeamiento, reporte y desarrollo del proceso de producción de un medicamento que incluyen las pruebas de laboratorio, las pruebas clínicas, el lanzamiento al mercado, la rutina de producción y finalmente la distribución. El trabajo del Ingeniero en este campo, debe de iniciar relacionando variables que puedan influir en la calidad del producto mucho antes de que este ingrese a pruebas clínicas o se diseñen las operaciones unitarias que cumplan con los requerimientos para cada paso del proceso. Este estudio por lo tanto da el paso previo, abarcando las investigaciones iniciales, para encontrar la correcta definición de las variables influyentes en el proceso productivo (evaluado en laboratorio) y las características necesarias en el control de calidad del producto.

Realizando una cuidadosa revisión sobre las principales variables que intervienen en el control de calidad de los biopolímeros utilizados como apósitos se llegó a la conclusión de



que hay principalmente cuatro características primordiales: El espesor del apósito, el contenido de humedad, la resistencia a la tracción y su capacidad antimicrobiana.

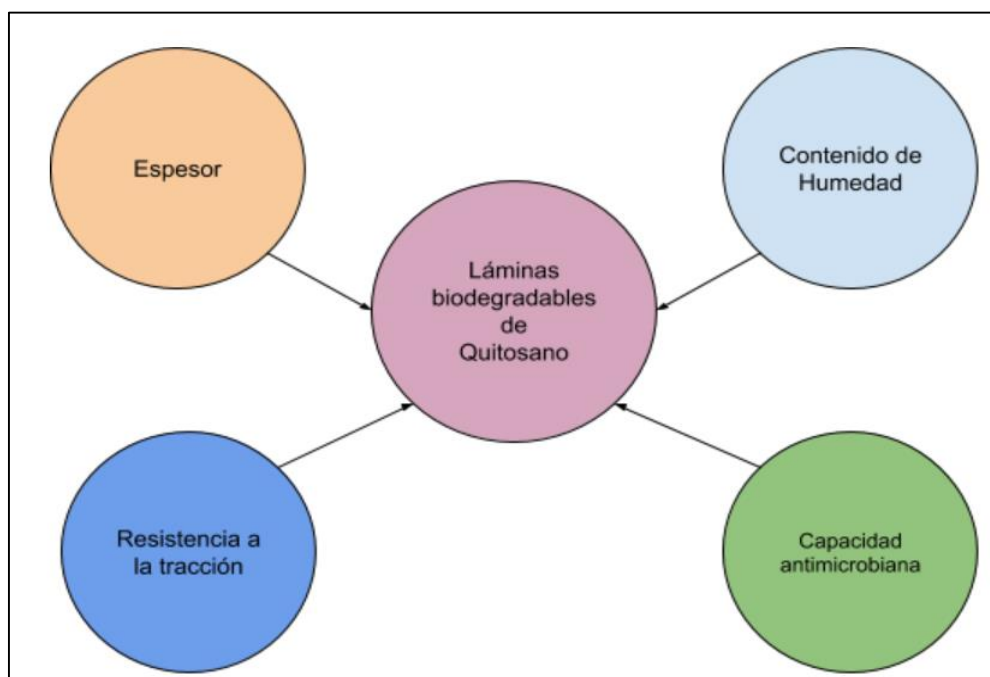


FIGURA 3: Variables De Medición En El Control De Calidad De Láminas Usadas Como Apósitos

De igual manera, al desarrollar las pruebas piloto sobre la preparación de las láminas biodegradables de quitosano, se encontró que existen dos operaciones fundamentales que intervienen en el proceso de elaboración del producto: el tiempo de agitación y la temperatura de secado.

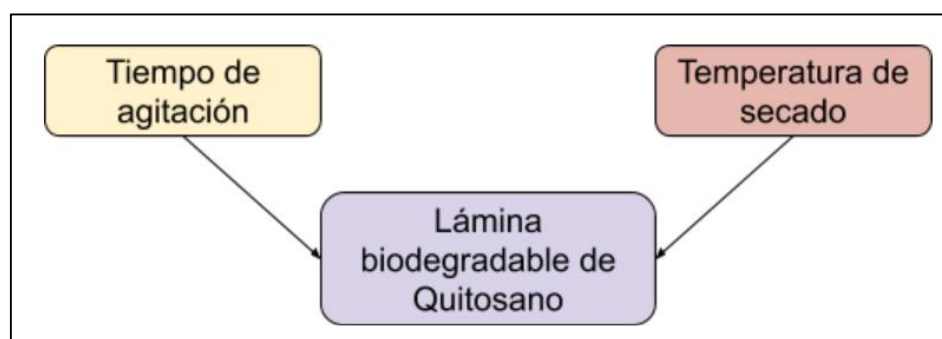


FIGURA 4: Variables Influyentes En El Proceso De Elaboración De Lámina Biodegradable.

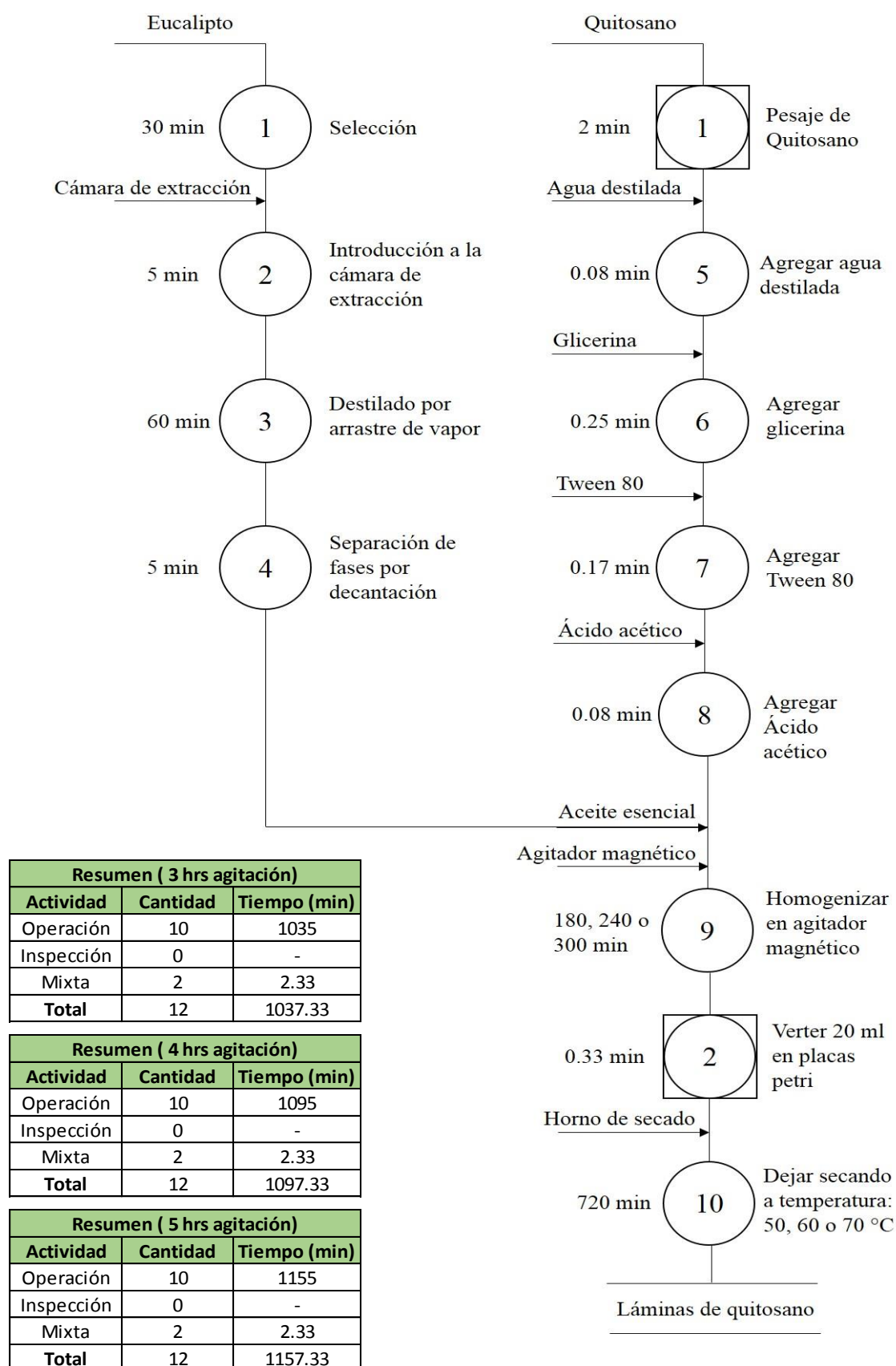


Cualquier operación involucra el diseño de un equipo que permita obtener las transformaciones físicas o químicas deseadas. La propuesta de esta investigación es establecer mediante el estudio preliminar en laboratorio, los valores de tiempo de agitación y temperatura de secado que proporcionen las características más adecuadas para la lámina biodegradable de quitosano conteniendo aceite esencial de *Eucalyptus globulus L.* y sirvan como referencia para posteriormente realizar el diseño de un equipo que cumpla con las condiciones termodinámicas para alcanzar los valores de temperatura y tiempo de agitación sugeridos en el presente estudio de acuerdo a su relación con las características planteadas para el control de calidad.

Una vez preparada la lámina de acuerdo a las condiciones establecidas se obtuvieron diversos valores para cada una de las propiedades de la caracterización en función de las operaciones del proceso, como se puede observar en la presentación de resultados en el presente capítulo.



4.1. Diagrama de Operaciones del Proceso de Elaboración de Láminas biodegradables antibacterianas de Quitosano conteniendo aceite esencial de *Eucalyptus globulus* L.





4.2. Resultados de prueba de caracterización microbiológica en las láminas de quitosano al 8%

4.2.1. Resultados del halo de inhibición a 24 horas (mm)

Tabla 6: Análisis de Varianza para Halo de inhibición a 24H(mm) - Suma de Cuadrados Tipo III

	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
EFECTOS PRINCIPALES					
A:Temperatura de secado (°C)	1687.12	2	843.561	121.24	0.0000
B:Tiempo de agitación (Horas)	1.3153	2	0.657648	0.09	0.9099
INTERACCIONES					
AB	4.79214	4	1.19803	0.17	0.9520
RESIDUOS	563.594	81	6.95795		
TOTAL (CORREGIDO)	2256.82	89			

Considerando un nivel de significación de 2%:

- Respecto a la temperatura de secado: Como $P < 2\%$, entonces, se rechaza la hipótesis nula. Por lo tanto, al menos un par de medias de diámetro del halo inhibición son significativamente distintas la una de la otra. Esto indica que la temperatura de secado influye significativamente en el diámetro del halo inhibición.
- Sin embargo, respecto al tiempo de agitación, como $P > 2\%$, entonces, se acepta la hipótesis nula. Por lo tanto, no hay diferencias entre las medias de diámetro del halo inhibición de los diferentes grupos. Esto indica que el tiempo de agitación no influye significativamente en el diámetro del halo de inhibición.



Tabla 7: Medias por Mínimos Cuadrados para Halo de inhibición a 24H (mm) con intervalos de confianza del 95.0%

Nivel	Casos	Media	Error	Límite	Límite
			Est.	Inferior	Superior
MEDIA GLOBAL	90	26.2638			
Temperatura de secado (°C)					
50	30	30.3767	0.481593	29.4184	31.3349
60	30	28.1357	0.481593	27.1774	29.0939
70	30	20.279	0.481593	19.3208	21.2372
Tiempo de agitación (Horas)					
3	30	26.4163	0.481593	25.4581	27.3746
4	30	26.1207	0.481593	25.1624	27.0789
5	30	26.2543	0.481593	25.2961	27.2126
Temperatura de secado (°C) por Tiempo de agitación (Horas)					
50,3	10	30.759	0.834144	29.0993	32.4187
50,4	10	30.137	0.834144	28.4773	31.7967
50,5	10	30.234	0.834144	28.5743	31.8937
60,3	10	28.518	0.834144	26.8583	30.1777
60,4	10	27.896	0.834144	26.2363	29.5557
60,5	10	27.993	0.834144	26.3333	29.6527
70,3	10	19.972	0.834144	18.3123	21.6317
70,4	10	20.329	0.834144	18.6693	21.9887
70,5	10	20.536	0.834144	18.8763	22.1957

Se construye el intervalo de confianza al 95% para cada media de diámetro del halo inhibición por temperatura de secado, por tiempo de agitación, y cada combinación entre ambas.



El valor más alto (30.759 mm) se da en muestras secadas a una temperatura de 50 °C y agitadas durante 3 horas. El valor más bajo (19.972 mm) se da en muestras secadas a una temperatura de 70 °C y agitadas durante 3 horas.

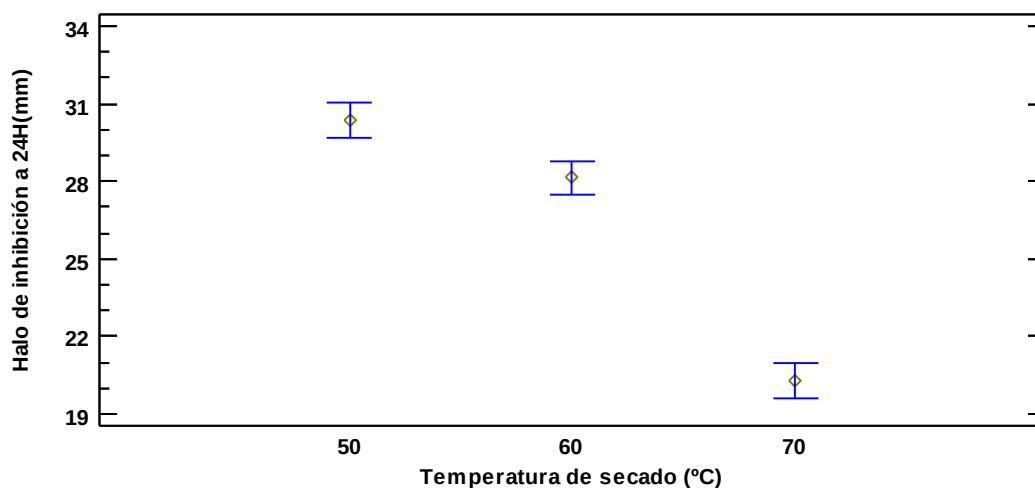


FIGURA 5: Intervalos de confianza al 95% para la media del diámetro de inhibición a las 24 horas para cada nivel de temperatura de secado

Representa los intervalos de confianza al 95% para la media de diámetro del halo inhibición para cada nivel de temperatura de secado, sin considerar los tiempos de agitación. Claramente se observa que a menor temperatura la media de diámetro del halo inhibición es mayor.

Tabla 8: Pruebas de Múltiple Rangos para Halo de inhibición 24H (mm) por Temperatura de Secado (°C) Método: 95.0 porcentaje LSD

Temperatura de secado (°C)	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
70	30	20.279	0.481593	x
60	30	28.1357	0.481593	x
50	30	30.3767	0.481593	x



Para temperatura de secado, según el procedimiento de diferencia mínima significativa (LSD) de Fisher, se muestra diferencia significativa entre las tres temperaturas consideradas, debido a que las X's no están alineadas. Por tanto, podemos deducir que si existe diferencias estadísticamente significativas entre los tres niveles de temperaturas.

Asimismo, se observa una comparación de medias: la media de la temperatura de secado de 50 °C es 30.3767 mm, la media de la temperatura de secado de 70 °C es 20.279 mm y la media de la temperatura de secado de 60 °C es 28.1357 mm. Al comparar el diámetro del halo de inhibición entre la temperatura de secado que logro mayor diámetro (50 °C) y la que logro menor diámetro (70 °C), existe una diferencia de -10.0977 mm lo cual representa un 33.24% menos que la temperatura de secado de 50 °C. Además, nos permite afirmar que existe evidencia estadística para señalar que el diámetro de inhibición es diferente en cada una de las temperaturas de secado.

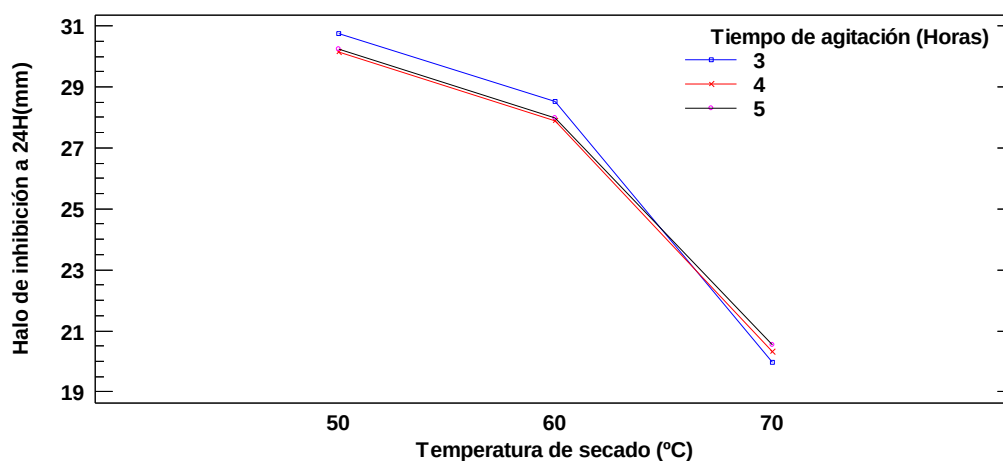


FIGURA 6: Interacción entre el tiempo de agitación y la temperatura de secado con respecto al diámetro de inhibición a las 24 horas

Finalmente se muestra la interacción que existe entre el Tiempo de agitación y la Temperatura de secado con respecto al diámetro de inhibición. Se puede observar que el mayor diámetro de inhibición se obtiene con una temperatura de secado de 50 °C. Sin



embargo, también se observa que el tiempo de agitación no es estadísticamente significativo, es decir, tiempo de agitación no tiene un efecto significativo en el diámetro de inhibición inicial.

4.2.2. Resultados del halo de inhibición a 48 horas (mm)

Tabla 9: Análisis de Varianza para Halo de inhibición a 48H (mm) - Suma de Cuadrados Tipo III

	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
EFECTOS PRINCIPALES					
A:Temperatura de secado (°C)	1711.97	2	855.983	520.41	0.0000
B:Tiempo de agitación (Horas)	1.17453	2	0.587263	0.36	0.7008
INTERACCIONES					
AB	6.13861	4	1.53465	0.93	0.4491
RESIDUOS	133.231	81	1.64483		
TOTAL (CORREGIDO)	1852.51	89			

Todas las razones-F se basan en el cuadrado medio del error residual

Considerando un nivel de significación de 2%:

- Respecto a la temperatura de secado: Como $P < 2\%$, entonces, se rechaza la hipótesis nula. Por lo tanto, al menos un par de medias de diámetro del halo inhibición son significativamente distintas la una de la otra. Esto indica que la temperatura de secado influye significativamente en el diámetro del halo inhibición.
- Sin embargo, respecto al tiempo de agitación, como $P > 2\%$, entonces, se acepta la hipótesis nula. Por lo tanto, no hay diferencias entre las medias de diámetro del halo



inhibición de los diferentes grupos. Esto indica que el tiempo de agitación no influye significativamente en el diámetro del halo de inhibición.

Tabla 10: Medias por Mínimos Cuadrados para Halo de inhibición a 48H(mm) con intervalos de confianza del 95.0%

Nivel	Casos	Media	Error	Límite	Límite
			Est.	Inferior	Superior
MEDIA GLOBAL	90	26.1572			
Temperatura de secado (°C)					
50	30	30.2365	0.234153	29.7706	30.7024
60	30	28.124	0.234153	27.6581	28.5899
70	30	20.111	0.234153	19.6451	20.5769
Tiempo de agitación (Horas)					
3	30	26.2522	0.234153	25.7863	26.7181
4	30	25.9965	0.234153	25.5306	26.4624
5	30	26.2228	0.234153	25.7569	26.6887
Temperatura de secado (°C) por Tiempo de agitación (Horas)					
50,3	10	30.5915	0.405565	29.7846	31.3984
50,4	10	29.9245	0.405565	29.1176	30.7314
50,5	10	30.1935	0.405565	29.3866	31.0004
60,3	10	28.479	0.405565	27.6721	29.2859
60,4	10	27.812	0.405565	27.0051	28.6189
60,5	10	28.081	0.405565	27.2741	28.8879
70,3	10	19.686	0.405565	18.8791	20.4929
70,4	10	20.253	0.405565	19.4461	21.0599
70,5	10	20.394	0.405565	19.5871	21.2009



Se construye el intervalo de confianza al 95% para cada media de diámetro del halo inhibición por temperatura de secado, por tiempo de agitación, y cada combinación entre ambas.

El valor más alto (30.5915 mm) se da en muestras secadas a una temperatura de 50 °C y agitadas durante 3 horas. El valor más bajo (19.686 mm) se da en muestras secadas a una temperatura de 70 °C y agitadas durante 3 horas.

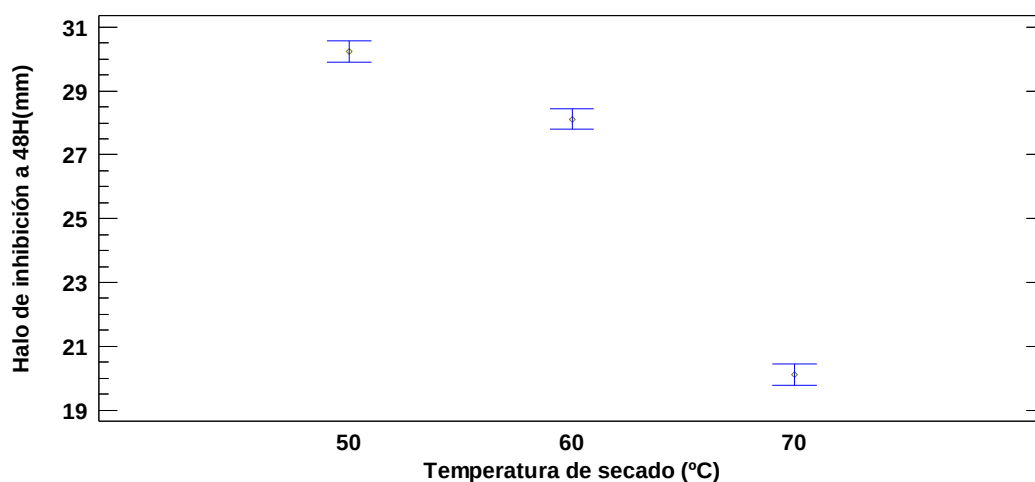


FIGURA 7: Intervalos de confianza al 95% para la media del diámetro de inhibición a las 48 horas para cada nivel de temperatura de secado

Representa los intervalos de confianza al 95% para la media de diámetro del halo inhibición para cada nivel de temperatura de secado, sin considerar los tiempos de agitación. Claramente se observa que a menor temperatura la media de diámetro del halo inhibición es mayor.



Tabla 11: Pruebas de Múltiple Rangos para Halo de inhibición 48H (mm) por Temperatura de Secado (°C)

Método: 95.0 porcentaje LSD

<i>Temperatura de secado (°C)</i>	<i>Casos</i>	<i>Media LS</i>	<i>Sigma LS</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
70	30	20.111	0.234153	x
60	30	28.124	0.234153	x
50	30	30.2365	0.234153	x

Para temperatura de secado, según el procedimiento de diferencia mínima significativa (LSD) de Fisher, se muestra diferencia significativa entre las tres temperaturas consideradas, debido a que las X's no están alineadas. Por tanto, podemos deducir que si existe diferencias estadísticamente significativas entre los tres niveles de temperaturas.

Asimismo, se observa una comparación de medias: la media del halo de inhibición correspondiente a la temperatura de secado de 50 °C es 30.2365 mm, la media del halo de inhibición correspondiente a la temperatura de secado de 70 °C es 20.111 mm y la media del halo de inhibición correspondiente a la temperatura de secado de 60 °C es 28.124 mm. Al comparar el diámetro del halo de inhibición entre la temperatura de secado que logro mayor diámetro (50 °C) y la que logro menor diámetro (70 °C), existe una diferencia de -10.1255 mm lo cual representa un 33.48% menos que la temperatura de secado de 50 °C. Además, nos permite afirmar que existe evidencia estadística para señalar que el diámetro de inhibición es diferente en cada una de las temperaturas de secado.

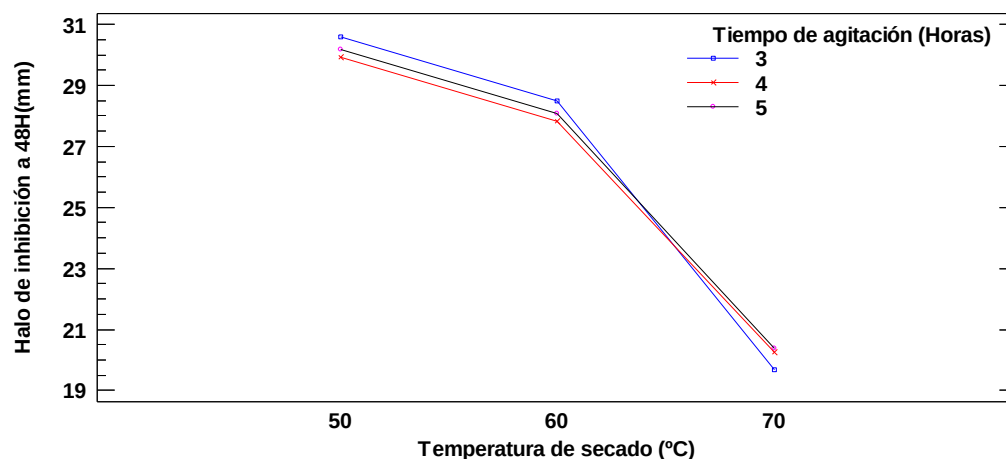


FIGURA 8: Interacción entre el tiempo de agitación y la temperatura de secado con respecto al diámetro de inhibición a las 48 horas

Finalmente se muestra la interacción que existe entre el Tiempo de agitación y la Temperatura de secado con respecto al diámetro de inhibición. Se puede observar que el mayor diámetro de inhibición se obtiene con una temperatura de secado de 50 °C. Sin embargo, también se observa que el tiempo de agitación no es estadísticamente significativo, es decir, tiempo de agitación no tiene un efecto significativo en el diámetro de inhibición inicial.



4.2.3. Resultados del halo de inhibición a 72 horas (mm)

Tabla 12: Análisis de Varianza para Halo de inhibición a 72H (mm) - Suma de Cuadrados Tipo III

	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
EFECTOS PRINCIPALES					
A:Temperatura de secado (°C)	1715.29	2	857.647	363.82	0.0000
B:Tiempo de agitación (Horas)	1.23856	2	0.619278	0.26	0.7696
INTERACCIONES					
AB	4.61761	4	1.1544	0.49	0.7433
RESIDUOS	190.944	81	2.35733		
TOTAL (CORREGIDO)	1912.09	89			

Considerando un nivel de significación de 2%:

- Respecto a la temperatura de secado: Como $P < 2\%$, entonces, se rechaza la hipótesis nula. Por lo tanto, al menos un par de medias de diámetro del halo inhibición son significativamente distintas la una de la otra. Esto indica que la temperatura de secado influye significativamente en el diámetro del halo inhibición.
- Sin embargo, respecto al tiempo de agitación, como $P > 2\%$, entonces, se acepta la hipótesis nula. Por lo tanto, no hay diferencias entre las medias de diámetro del halo inhibición de los diferentes grupos. Esto indica que el tiempo de agitación no influye significativamente en el diámetro del halo de inhibición.



**Tabla 13: Medias por Mínimos Cuadrados para Halo de inhibición a 72H (mm)
con intervalos de confianza del 95.0%**

<i>Nivel</i>	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>Error</i>	<i>Límite</i>	<i>Límite</i>
			<i>Est.</i>	<i>Inferior</i>	<i>Superior</i>
MEDIA GLOBAL	90	26.0632			
Temperatura de secado (°C)					
50	30	30.064	0.280317	29.5063	30.6217
60	30	28.135	0.280317	27.5773	28.6927
70	30	19.9905	0.280317	19.4328	20.5482
Tiempo de agitación (Horas)					
3	30	26.163	0.280317	25.6053	26.7207
4	30	25.8985	0.280317	25.3408	26.4562
5	30	26.128	0.280317	25.5703	26.6857
Temperatura de secado (°C) por Tiempo de agitación (Horas)					
50,3	10	30.37	0.485524	29.404	31.336
50,4	10	29.715	0.485524	28.749	30.681
50,5	10	30.107	0.485524	29.141	31.073
60,3	10	28.441	0.485524	27.475	29.407
60,4	10	27.786	0.485524	26.82	28.752
60,5	10	28.178	0.485524	27.212	29.144
70,3	10	19.678	0.485524	18.712	20.644
70,4	10	20.1945	0.485524	19.2285	21.1605
70,5	10	20.099	0.485524	19.133	21.065



Se construye el intervalo de confianza al 95% para cada media de diámetro del halo inhibición por temperatura de secado, por tiempo de agitación, y cada combinación entre ambas.

El valor más alto (30.37 mm) se da en muestras secadas a una temperatura de 50 °C y agitadas durante 3 horas. El valor más bajo (19.678 mm) se da en muestras secadas a una temperatura de 70 °C y agitadas durante 3 horas.

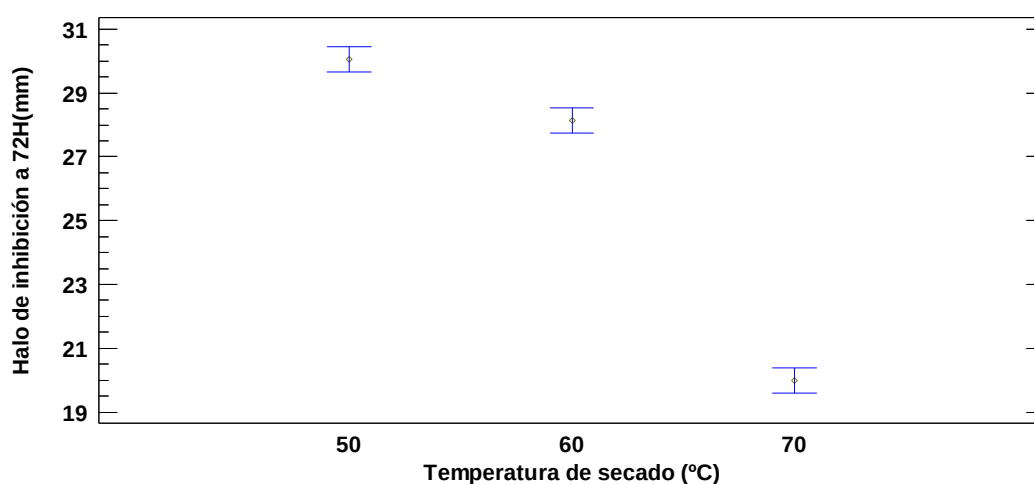


FIGURA 9: Intervalos de confianza al 95% para la media del diámetro de inhibición a las 72 horas para cada nivel de temperatura de secado

Representa los intervalos de confianza al 95% para la media de diámetro del halo inhibición para cada nivel de temperatura de secado, sin considerar los tiempos de agitación. Claramente se observa que a menor temperatura la media de diámetro del halo inhibición es mayor.



Tabla 14: Pruebas de Múltiple Rangos para Halo de inhibición 72H (mm) por Temperatura de Secado (°C)

Método: 95.0 porcentaje LSD

Temperatura de secado (°C)	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
70	30	19.9905	0.280317	x
60	30	28.135	0.280317	x
50	30	30.064	0.280317	x

Para temperatura de secado, según el procedimiento de diferencia mínima significativa (LSD) de Fisher, se muestra diferencia significativa entre las tres temperaturas consideradas, debido a que las X's no están alineadas. Por tanto, podemos deducir que si existe diferencias estadísticamente significativas entre los tres niveles de temperaturas.

Asimismo, se observa una comparación de medias: la media del halo de inhibición correspondiente a la temperatura de secado de 50 °C es 30.064 mm, la media del halo de inhibición correspondiente a la temperatura de secado de 70 °C es 19.9905 mm y la del halo de inhibición correspondiente a la temperatura de secado de 60 °C es 28.135 mm. Al comparar el diámetro del halo de inhibición entre la temperatura de secado que logro mayor diámetro (50 °C) y la que logro menor diámetro (70 °C), existe una diferencia de 10.0735 mm lo cual representa un 33.50% menos que la temperatura de secado de 50 °C. Además, nos permite afirmar que existe evidencia estadística para señalar que el diámetro de inhibición es diferente en cada una de las temperaturas de secado.

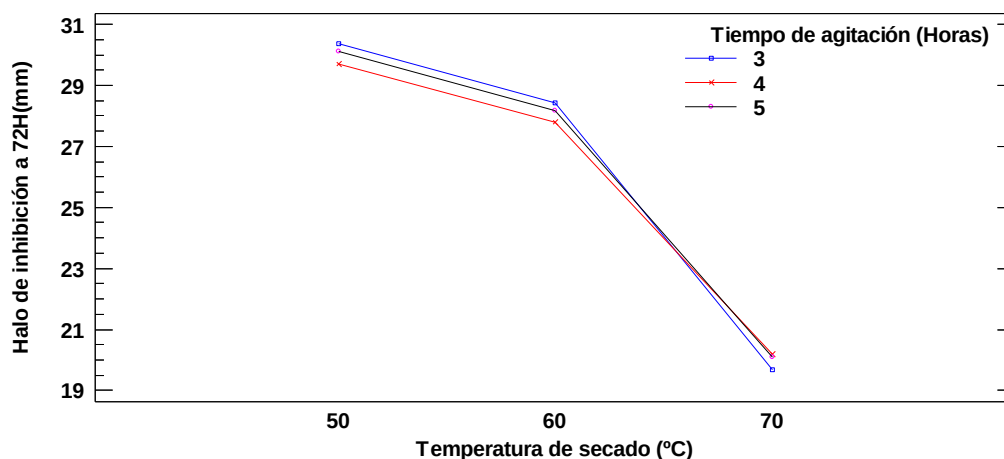


FIGURA 10: Interacción entre el tiempo de agitación y la temperatura de secado con respecto al diámetro de inhibición a las 72 horas

Finalmente se muestra la interacción que existe entre el Tiempo de agitación y la Temperatura de secado con respecto al diámetro de inhibición. Se puede observar que el mayor diámetro de inhibición se obtiene con una temperatura de secado de 50 °C. Sin embargo, también se observa que el tiempo de agitación no es estadísticamente significativo, es decir, tiempo de agitación no tiene un efecto significativo en el diámetro de inhibición inicial.



4.3.Resultados del contenido de humedad

Tabla 15: Análisis de Varianza para Contenido de Humedad (%) - Suma de Cuadrados Tipo III

	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
EFECTOS PRINCIPALES					
A:Temperatura de secado (°C)	5138.62	2	2569.31	454.52	0.0000
B:Tiempo de agitación (Horas)	66.6094	2	33.3047	5.89	0.0041
INTERACCIONES					
AB	160.478	4	40.1194	7.10	0.0001
RESIDUOS	457.873	81	5.65275		
TOTAL (CORREGIDO)	5823.58	89			

Nota: Todas las razones-F se basan en el cuadrado medio del error residual

Considerando un nivel de significación de 2%:

- Respecto a la temperatura de secado: Como $P < 2\%$, entonces, se rechaza la hipótesis nula. Por lo tanto, al menos un par de medias del contenido de humedad son significativamente distintas la una de la otra. Esto indica que la temperatura de secado influye significativamente en el contenido de humedad de la lámina.
- Respecto al tiempo de agitación: Como $P < 2\%$, entonces, se rechaza la hipótesis nula. Por lo tanto, al menos un par de medias del contenido de humedad son significativamente distintas la una de la otra. Esto indica que la temperatura de secado influye significativamente en el contenido de humedad de la lámina.



**Tabla 16: Medias por Mínimos Cuadrados para Contenido de Humedad (%)
con intervalos de confianza del 95.0%**

<i>Nivel</i>	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>Error</i>	<i>Límite</i>	<i>Límite</i>
			<i>Est.</i>	<i>Inferior</i>	<i>Superior</i>
MEDIA GLOBAL	90	30.398			
Temperatura de secado (°C)					
50	30	38.5763	0.434079	37.7126	39.44
60	30	32.2653	0.434079	31.4016	33.129
70	30	20.3523	0.434079	19.4886	21.216
Tiempo de agitación (Horas)					
3	30	29.19	0.434079	28.3263	30.0537
4	30	30.8767	0.434079	30.013	31.7404
5	30	31.1273	0.434079	30.2636	31.991
Temperatura de secado (°C) por Tiempo de agitación (Horas)					
50,3	10	36.112	0.751848	34.6161	37.6079
50,4	10	40.075	0.751848	38.5791	41.5709
50,5	10	39.542	0.751848	38.0461	41.0379
60,3	10	29.801	0.751848	28.3051	31.2969
60,4	10	33.764	0.751848	32.2681	35.2599
60,5	10	33.231	0.751848	31.7351	34.7269
70,3	10	21.657	0.751848	20.1611	23.1529
70,4	10	18.791	0.751848	17.2951	20.2869
70,5	10	20.609	0.751848	19.1131	22.1049

Se construye el intervalo de confianza al 95% para cada media de diámetro del halo inhibición por temperatura de secado, por tiempo de agitación, y cada combinación entre ambas.



El valor más alto (40.075 %) se da en muestras secadas a una temperatura de 50 °C y agitadas durante 4 horas. El valor más bajo (18.791 %) se da en muestras secadas a una temperatura de 70 °C y agitadas durante 4 horas.

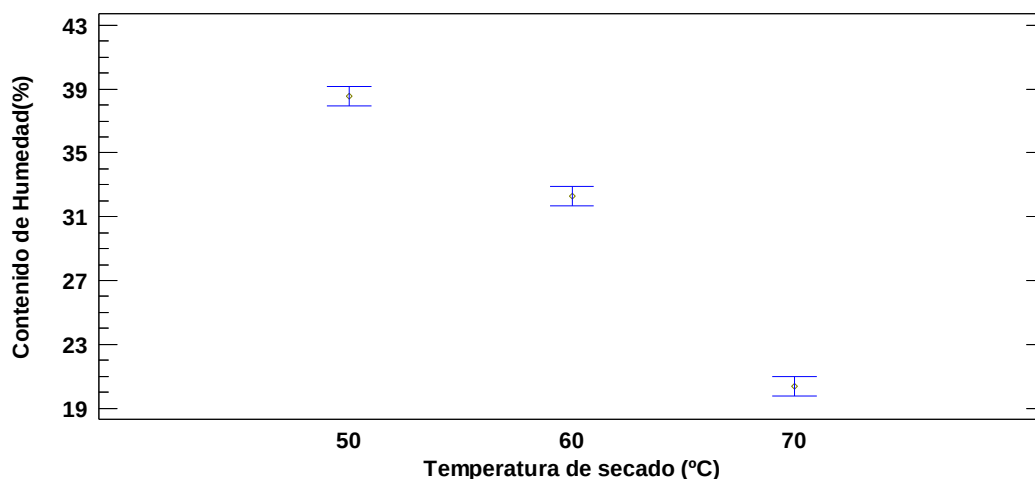


FIGURA 11: Intervalos de confianza al 95% para la media del contenido de humedad para cada nivel de temperatura de secado

Representa los intervalos de confianza al 95% para la media del contenido de humedad para cada nivel de temperatura de secado, sin considerar los tiempos de agitación. Claramente se observa que a menor temperatura la media del contenido de humedad es mayor.

Tabla 17: Pruebas de Múltiple Rangos para Contenido de Humedad (%) por Temperatura de Secado (°C)

Método: 95.0 porcentaje LSD

Temperatura de Secado (°C)	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
70	30	20.3523	0.434079	X
60	30	32.2653	0.434079	X
50	30	38.5763	0.434079	X



Para temperatura de secado, según el procedimiento de diferencia mínima significativa (LSD) de Fisher, se muestra diferencia significativa entre las tres temperaturas consideradas, debido a que las X's no están alineadas. Por tanto, podemos deducir que si existe diferencias estadísticamente significativas entre los tres niveles de temperaturas.

Asimismo, se observa una comparación de medias: la media del contenido de humedad correspondiente a la temperatura de secado de 50 °C es 38.5763 %, la media del contenido de humedad correspondiente a la temperatura de secado de 70 °C es 20.3523 % y la media del halo del contenido de humedad correspondiente a la temperatura de secado de 60 °C es 32.2653 %. Al comparar el contenido de humedad entre la temperatura de secado que logro mayor porcentaje (50 °C) y la que logro menor porcentaje (70 °C), existe una diferencia de 18.224 % lo cual representa un 47.24 % menos que la temperatura de secado de 50 °C. Además, nos permite afirmar que existe evidencia estadística para señalar que el contenido de humedad es diferente en cada una de las temperaturas de secado.

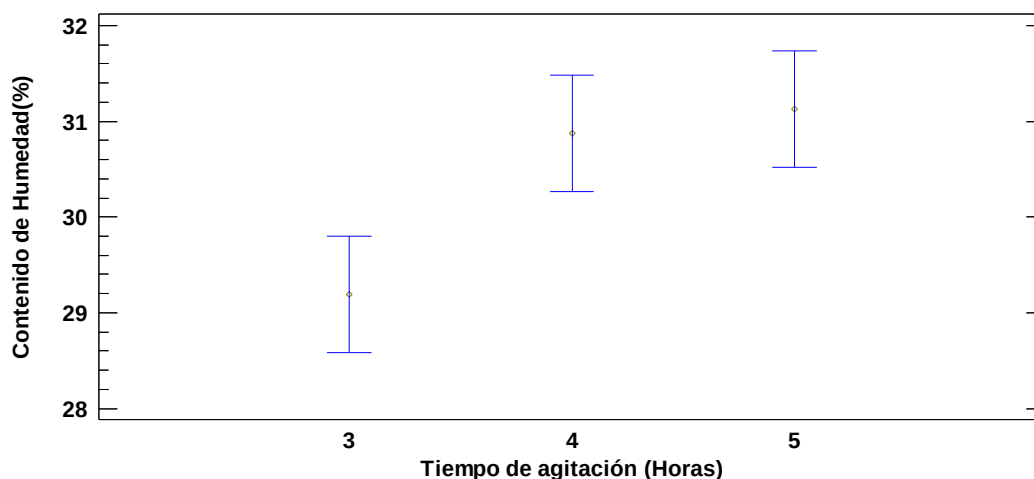


FIGURA 12: Intervalos de confianza al 95% para la media del contenido de humedad para cada nivel de tiempo de agitación



Representa los intervalos de confianza al 95% para la media del contenido de humedad para cada nivel de tiempo de agitación, sin considerar la temperatura de secado. Claramente se observa que a mayor tiempo la media del contenido de humedad es mayor.

Tabla 18: Pruebas de Múltiple Rangos para Contenido de Humedad (%) por Tiempo de Agitación (horas)

Método: 95.0 porcentaje LSD

Tiempo de Agitación (horas)	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
3	30	29.19	0.434079	X
4	30	30.8767	0.434079	X
5	30	31.1273	0.434079	X

Para temperatura de secado, según el procedimiento de diferencia mínima significativa (LSD) de Fisher, se muestra diferencia significativa entre el tiempo de agitación de 4 horas y los tiempos de 4 y 5 horas, debido a que las X's de los dos últimos están alineadas entre sí, pero no están alineadas respecto al primero. Por tanto, podemos deducir que si existe diferencias estadísticamente significativas entre el tiempo de agitación de 3 horas y los dos siguientes.

Asimismo, se observa una comparación de medias: la media del contenido de humedad correspondiente al tiempo de agitación de 5 horas es 31.1273 %, la media del contenido de humedad correspondiente al tiempo de agitación de 3 horas es 29.19 % y la media del contenido de humedad correspondiente al tiempo de agitación de 4 horas es 30.8767 %. Al comparar el contenido de humedad entre el tiempo de agitación que logró mayor porcentaje (5 h) y la que logro menor porcentaje (3 h), existe una diferencia de 1.9373 % lo cual representa un 6.2238 % menos que el tiempo de agitación de 5 horas. Además, nos permite



afirmar que existe evidencia estadística para señalar que el contenido de humedad es diferente con el primer tiempo de agitación respecto a los otros dos.

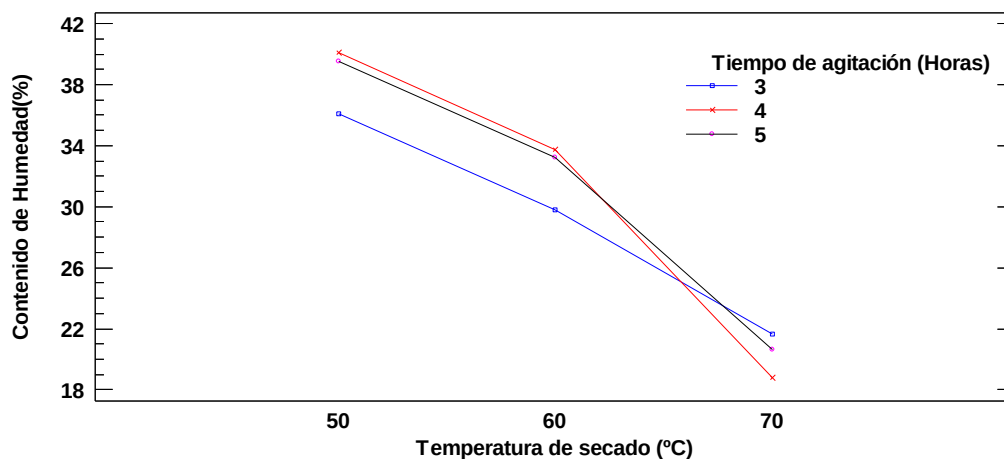


FIGURA 13: Interacción entre el tiempo de agitación y la temperatura de secado con respecto al contenido de humedad de la lámina

Finalmente se muestra la interacción que existe entre el Tiempo de agitación y la Temperatura de secado con respecto al contenido de humedad de la lámina. Se puede observar que el mayor contenido de humedad se obtiene con una temperatura de secado de 50 °C. También se observa que el tiempo de agitación en este caso si influye sobre el contenido de humedad, un tiempo de agitación mayor (4 y 5 horas) repercute en un mayor contenido de humedad, mientras que el tiempo de agitación (3h) produce un menor contenido de humedad. Sin embargo, a una temperatura de 70 °C un tiempo de agitación mejor influye en un mayor contenido de humedad.



4.4.Resultados del espesor de las láminas

Tabla 19: Análisis de Varianza para Espesor (mm) - Suma de Cuadrados Tipo III

	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
EFECTOS PRINCIPALES					
A:Temperatura de secado (°C)	0.409351	2	0.204676	1257.55	0.0000
B:Tiempo de agitación (Horas)	0.0000138667	2	0.00000693333	0.04	0.9583
INTERACCIONES					
AB	0.000214933	4	0.0000537333	0.33	0.8570
RESIDUOS	0.0131834	81	0.000162758		
TOTAL (CORREGIDO)	0.422764	89			

Nota: Todas las razones-F se basan en el cuadrado medio del error residual

Considerando un nivel de significación de 2%:

- Respecto a la temperatura de secado: Como $P < 2\%$, entonces, se rechaza la hipótesis nula. Por lo tanto, al menos un par de medias del espesor son significativamente distintas la una de la otra. Esto indica que la temperatura de secado influye significativamente en el espesor de la lámina.
- Sin embargo, respecto al tiempo de agitación, como $P > 2\%$, entonces, se acepta la hipótesis nula. Por lo tanto, no hay diferencias entre las medias del espesor de los diferentes grupos. Esto indica que el tiempo de agitación no influye significativamente en el espesor de la lámina.



Tabla 20: Medias por Mínimos Cuadrados para Espesor (mm) con intervalos de confianza del 95.0%

<i>Nivel</i>	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>Error</i>	<i>Límite</i>	<i>Límite</i>
			<i>Est.</i>	<i>Inferior</i>	<i>Superior</i>
MEDIA GLOBAL	90	0.196733			
Temperatura de secado (°C)					
50	30	0.251867	0.00232922	0.247232	0.256501
60	30	0.236567	0.00232922	0.231932	0.241201
70	30	0.101767	0.00232922	0.0971322	0.106401
Tiempo de agitación (Horas)					
3	30	0.1962	0.00232922	0.191566	0.200834
4	30	0.196867	0.00232922	0.192232	0.201501
5	30	0.197133	0.00232922	0.192499	0.201768
Temperatura de secado (°C) por Tiempo de agitación (Horas)					
50,3	10	0.2498	0.00403433	0.241773	0.257827
50,4	10	0.2526	0.00403433	0.244573	0.260627
50,5	10	0.2532	0.00403433	0.245173	0.261227
60,3	10	0.2345	0.00403433	0.226473	0.242527
60,4	10	0.2373	0.00403433	0.229273	0.245327
60,5	10	0.2379	0.00403433	0.229873	0.245927
70,3	10	0.1043	0.00403433	0.0962729	0.112327
70,4	10	0.1007	0.00403433	0.0926729	0.108727
70,5	10	0.1003	0.00403433	0.0922729	0.108327



Se construye el intervalo de confianza al 95% para cada media de diámetro del halo inhibición por temperatura de secado, por tiempo de agitación, y cada combinación entre ambas.

El valor más alto (0.2532 mm) se da en muestras secadas a una temperatura de 50 °C y agitadas durante 5 horas. El valor más bajo (0.1003 mm) se da en muestras secadas a una temperatura de 70 °C y agitadas durante 5 horas.

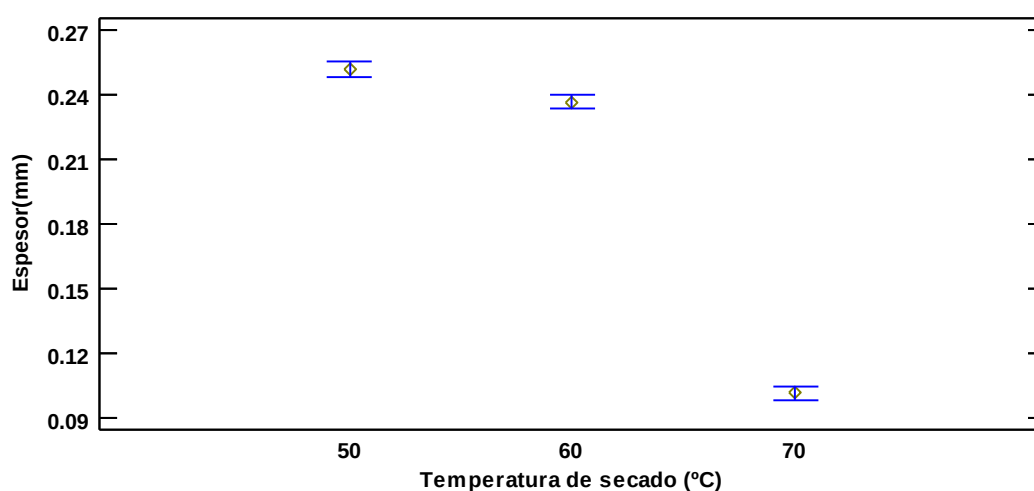


FIGURA 14: Intervalos de confianza al 95% para la media del espesor para cada nivel de temperatura de secado

Representa los intervalos de confianza al 95% para la media del espesor para cada nivel de temperatura de secado, sin considerar los tiempos de agitación. Claramente se observa que a menor temperatura el espesor de la lámina es considerablemente mayor.



Tabla 21: Pruebas de Múltiple Rangos para Espesor (mm) por Temperatura de Secado (°C)

Método: 95.0 porcentaje LSD

<i>Temperatura de secado (°C)</i>	<i>Casos</i>	<i>Media LS</i>	<i>Sigma LS</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
70	30	0.101767	0.00232922	x
60	30	0.236567	0.00232922	x
50	30	0.251867	0.00232922	x

Para temperatura de secado, según el procedimiento de diferencia mínima significativa (LSD) de Fisher, se muestra diferencia significativa entre las tres temperaturas consideradas, debido a que las X's no están alineadas. Por tanto, podemos deducir que si existe diferencias estadísticamente significativas entre los tres niveles de temperaturas.

Asimismo, se observa una comparación de medias: la media del espesor obtenido con una temperatura de secado de 50 °C es 0.261867 mm, la media del espesor obtenido con una temperatura de secado de 70 °C es 0.101767 mm y la media de espesor obtenido con una temperatura de secado de 60 °C es 0.236567 mm. Al comparar el espesor de la lámina entre la temperatura de secado que logro mayor espesor (50 °C) y la que logro menor espesor (70 °C), existe una diferencia de 0.1501 mm lo cual representa un 59.59% menos que la temperatura de secado de 50 °C. Además, nos permite afirmar que existe evidencia estadística para señalar que el espesor de la lámina es diferente en cada una de las temperaturas de secado.

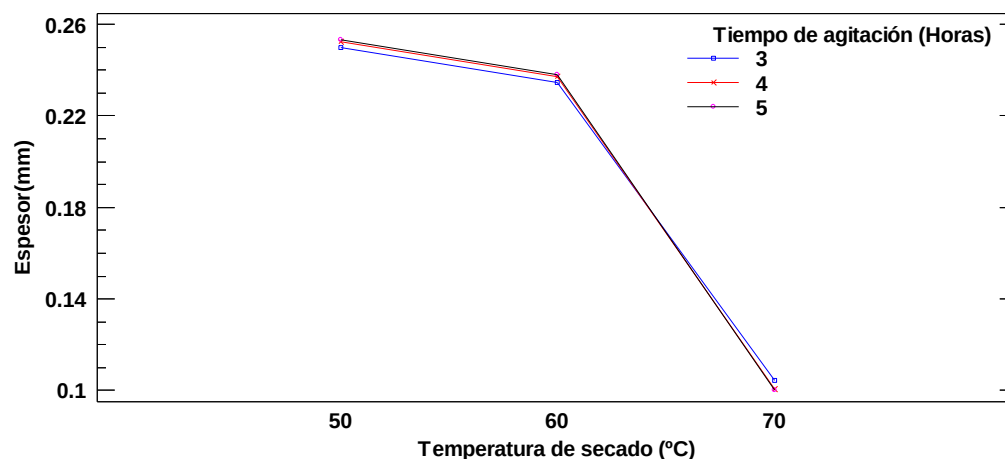


FIGURA 15: Interacción entre el tiempo de agitación y la temperatura de secado con respecto al espesor de la lámina

Finalmente se muestra la interacción que existe entre el Tiempo de agitación y la Temperatura de secado con respecto al espesor de la lámina. Se puede observar que el mayor espesor se obtiene con una temperatura de secado de 50 °C. Sin embargo, también se observa que el tiempo de agitación no es estadísticamente significativo, es decir, el tiempo de agitación no tiene un efecto significativo en el espesor de la lámina.

4.5. Resultados de la resistencia a la tracción (Mpa)

Tabla 22: Análisis de Varianza para Resistencia a la tracción (Mpa) - Suma de Cuadrados Tipo III

	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
EFECTOS PRINCIPALES					
A:Temperatura de secado (°C)	11558.8	2	5779.4	4347.29	0.0000
B:Tiempo de agitación (Horas)	1.28969	2	0.644843	0.49	0.6174
INTERACCIONES					
AB	0.84445	4	0.211112	0.16	0.9585
RESIDUOS	107.683	81	1.32942		
TOTAL (CORREGIDO)	11668.6	89			

Nota: Todas las razones-F se basan en el cuadrado medio del error residual



Considerando un nivel de significación de 2%:

- Respecto a la temperatura de secado: Como $P < 2\%$, entonces, se rechaza la hipótesis nula. Por lo tanto, al menos un par de medias de la resistencia a la tracción de las láminas son significativamente distintas la una de la otra. Esto indica que la temperatura de secado influye significativamente en el diámetro del halo inhibición.
- Sin embargo, respecto al tiempo de agitación, como $P > 2\%$, entonces, se acepta la hipótesis nula. Por lo tanto, no hay diferencias entre las medias de la resistencia a la tracción de las láminas de los diferentes grupos. Esto indica que el tiempo de agitación no influye significativamente en la resistencia a la tracción.



**Tabla 23: Medias por Mínimos Cuadrados para Resistencia a la tracción (Mpa)
con intervalos de confianza del 95.0%**

<i>Nivel</i>	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>Error</i>	<i>Límite</i>	<i>Límite</i>
			<i>Est.</i>	<i>Inferior</i>	<i>Superior</i>
MEDIA GLOBAL	90	10.2561			
Temperatura de secado (°C)					
50	30	2.03148	0.210509	1.61263	2.45032
60	30	2.45571	0.210509	2.03686	2.87456
70	30	26.2812	0.210509	25.8623	26.7
Tiempo de agitación (Horas)					
3	30	10.1016	0.210509	9.68272	10.5204
4	30	10.3932	0.210509	9.97438	10.8121
5	30	10.2736	0.210509	9.85472	10.6924
Temperatura de secado (°C) por Tiempo de agitación (Horas)					
50,3	10	1.96044	0.364613	1.23497	2.6859
50,4	10	2.08433	0.364613	1.35886	2.80979
50,5	10	2.04966	0.364613	1.3242	2.77513
60,3	10	2.38467	0.364613	1.6592	3.11014
60,4	10	2.50856	0.364613	1.7831	3.23403
60,5	10	2.4739	0.364613	1.74843	3.19937
70,3	10	25.9596	0.364613	25.2341	26.685
70,4	10	26.5868	0.364613	25.8613	27.3122
70,5	10	26.2971	0.364613	25.5717	27.0226



Se construye el intervalo de confianza al 95% para cada media de diámetro del halo inhibición por temperatura de secado, por tiempo de agitación, y cada combinación entre ambas.

El valor más alto (26.2971 Mpa) se da en muestras secadas a una temperatura de 70 °C y agitadas durante 5 horas. El valor más bajo (1.96044 Mpa) se da en muestras secadas a una temperatura de 50 °C y agitadas durante 3 horas.

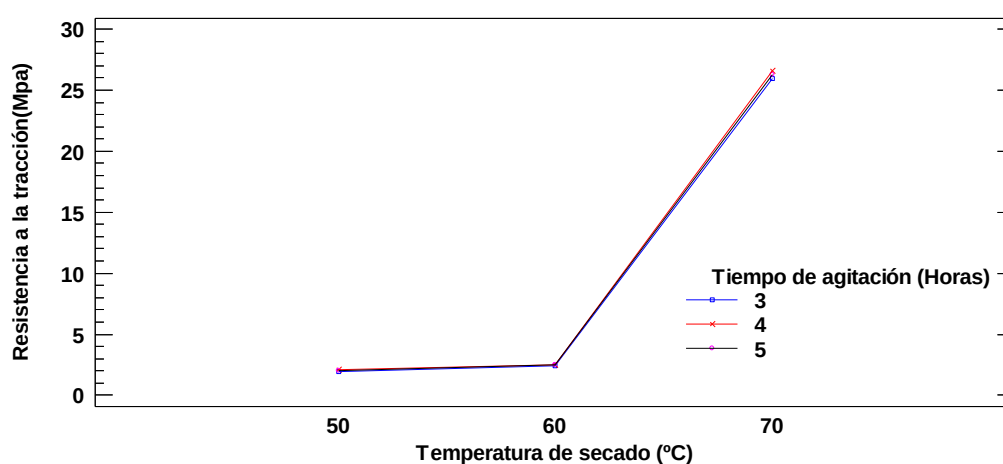


FIGURA 16: Interacción entre el tiempo de agitación y la temperatura de secado con respecto a la resistencia a la tracción de la lámina

Se muestra la interacción que existe entre el Tiempo de agitación y la Temperatura de secado con respecto a la resistencia a la tracción. Se puede observar que el mayor valor de resistencia a la tracción se obtiene con una temperatura de secado de 70 °C. Sin embargo, también se observa que el tiempo de agitación no es estadísticamente significativo, es decir, el tiempo de agitación no tiene un efecto significativo en el valor de la resistencia a la tracción de las láminas.

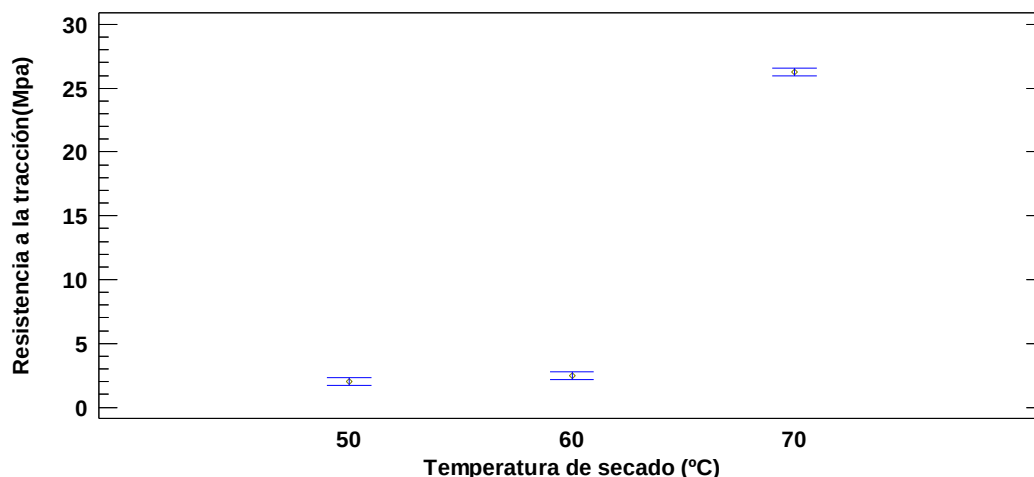


FIGURA 17: Intervalos de confianza al 95% para la media de la resistencia a la tracción para cada nivel de temperatura de secado

Representa los intervalos de confianza al 95% para la media de la resistencia a la tracción de la lámina para cada nivel de temperatura de secado, sin considerar los tiempos de agitación. Claramente se observa que a mayor temperatura la media del valor de la resistencia a la tracción es mayor.

Tabla 24: Pruebas de Múltiple Rangos para Resistencia a la Tracción (Mpa) por Temperatura de Secado (°C)

Método: 95.0 porcentaje LSD

Temperatura de Secado (°C)	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
50	30	2.03148	0.210509	X
60	30	2.45571	0.210509	X
70	30	26.2812	0.210509	X

Para temperatura de secado, según el procedimiento de diferencia mínima significativa (LSD) de Fisher, se muestra diferencia significativa entre la temperatura de 70 °C respecto a las otras dos (50 y 60 °C), debido a que la X de la mayor temperatura no está alineadas



respecto a las otras dos. De igual manera podemos afirmar que entre la temperatura de secado de 50 y 60 °C no existe diferencias significativas.

Asimismo, se observa una comparación de medias: la media de la resistencia a la tracción obtenida con una temperatura de secado de 50 °C es 2.03148 MPa, la media de la resistencia a la tracción obtenida con una temperatura de secado de 70 °C es 26.2812 MPa y la de la resistencia a la tracción obtenida con una temperatura de secado de 60 °C es 2.45571 MPa.

Al comparar la resistencia a la tracción de la lámina entre la temperatura de secado que logro mayor resistencia a la tracción (70 °C) y la que logro menor resistencia a la tracción (50 °C), existe una diferencia de 24.24972 MPa lo cual representa un 92.27 % menos que la temperatura de secado de 50 °C. Además, nos permite afirmar que existe evidencia estadística para señalar que la resistencia a la tracción de la lámina es diferente en cada una de las temperaturas de secado.



CAPITULO QUINTO

DISCUSIÓN DE RESULTADOS

- Se debe tomar en cuenta que en esta prueba de discos se tuvo como control positivo a la ceftarolina (30ug) que alcanzó un promedio total de inhibición de 13.668 a las 24 h, 13.665 a las 48 h y 13.672 a las 72 h mm frente a *S. aureus* ATCC 25923; motivo por el cual se determinó que el *S. aureus* ATCC 25923 es resistente a la ceftarolina. Ante esto se puede decir que la lámina antibacteriana de quitosano conteniendo aceite esencial de *Eucalyptus globulus* L. tiene propiedades antimicrobianas Frente a *S. aureus* ATCC 25923, siendo en los tres casos (24, 48 y 72 horas) el de mayor actividad la lámina secada a 50 °C y con un tiempo de agitación de 3 horas. Al mismo tiempo cabe indicar que el presente estudio no pretende categorizar a la lámina como sensible, intermedio o resistente frente a la bacteria puesto que hasta el día de hoy no existen más estudios que avalen el uso de láminas de quitosano conteniendo aceite esencial como sucede en el caso de los antibióticos.
- No existe mayor evidencia que señale el rango óptimo para un film a base de quitosano. (Fuentes Yalli & Pastor de Abram, 2009) en su estudio “Preparación, caracterización y evaluación de películas de quitosano proveniente de calamar gigante "*Dosidicus gigas*" para uso médico” señala que la disminución en el espesor de las láminas aumenta la resistencia a la transferencia (de vapor de agua) debido a su rugosidad, esto no permitiría que la piel pueda transpirar correctamente. Por otra parte se tomó como referencia el estudio de (Mobed-Miremadi, y otros, 2013) en el cual indica que la preparación de alginato con un espesor de 0.351 mm obtuvo las mejores propiedades elásticas y de tensión. Por lo tanto la muestra secada a una temperatura de 50 °C y con un tiempo de agitación de 5 horas es la que más se acerca a esos valores. Sin embargo, hay que notar



que la variación entre las muestras secadas a 50 °C es mínima, por lo que se podría considerar como la más apta a cualquiera de estas.

- Cabe destacar también que, aunque las láminas secadas a 70 °C presentaban mayor resistencia a la tracción, eran poco adecuadas para uso como apósito, pues presentaban casi nula elasticidad y por su composición se asumía una pobre adhesión a la piel.
- En el mercado existen apósitos húmedos como el 3M Tegaderm ® que tiene un porcentaje aproximado de humedad del 22%. La capa más superficial de la piel o estrato córneo tiene un porcentaje de humedad aproximado de 20%. Sin embargo (Fuentes Yalli & Pastor de Abram, 2009) indican que un apósito para la piel debe de alcanzar un valor de 85 % de humedad. Por lo tanto a nuestra consideración la combinación que presentó mayores condiciones de humedad y que permitiría mantener humectada la piel fue la que tuvo una temperatura de secado de 50 °C y un tiempo de agitación de 5 horas, con un porcentaje de humedad del 40.075 %.



CONCLUSIONES

1. Teniendo los resultados del estudio se evaluó la influencia del proceso de elaboración en la caracterización de láminas biodegradables antibacterianas de quitosano conteniendo aceite esencial de *Eucalyptus globulus L.* para uso en la industria farmacéutica. Encontrándose que entre las dos operaciones consideradas fue la temperatura de secado la que influyó significativamente en todas las propiedades analizadas: espesor de la lámina, contenido de humedad, resistencia a la tracción y diámetro de halo de inhibición. Mientras que el tiempo de agitación solamente fue influyente en el contenido de humedad de la lámina, siendo la lámina correspondiente al tiempo de agitación de 5 horas la más adecuada.
2. Se evaluó la influencia del tiempo de agitación sobre las propiedades físicas, mecánicas y microbiológicas de las láminas. Encontrándose que el tiempo de agitación no es en su mayoría estadísticamente significativo frente a las propiedades físicas, mecánicas ni microbiológicas. Exceptuando el contenido de humedad de la lámina, donde si se encontró influencia por parte del tiempo de agitación. Al comparar el contenido de humedad entre el tiempo de agitación que logró mayor porcentaje (5 h) y la que logro menor porcentaje (3 h), existe una diferencia de 1.9373 % lo cual representa un 6.2238 % menos que el tiempo de agitación de 5 horas. Además, nos permite afirmar que existe evidencia estadística para señalar que el contenido de humedad es diferente con el primer tiempo de agitación respecto a los otros dos.
3. Se evaluó la influencia de la temperatura de secado sobre las propiedades físicas, mecánicas y microbiológicas de las láminas. Encontrándose que la temperatura de secado influye significativamente en todas las propiedades previamente señaladas. Se puede decir que la lámina antibacteriana de quitosano conteniendo aceite esencial de *Eucalyptus globulus L.* tiene propiedades antimicrobianas Frente a *S. aureus* ATCC



25923, siendo en los tres casos (24, 48 y 72 horas) el de mayor actividad la lámina secada a 50 °C y con un tiempo de agitación de 3 horas. Al mismo tiempo, como se señaló en la discusión de resultados, la lámina con espesor más óptimo es la secada a una temperatura de 50 °C con una media de 0.251867 mm. La combinación que presentó mayores condiciones de humedad y que permitiría mantener humectada la piel fue la que tuvo una temperatura de secado de 50 °C y un tiempo de agitación de 5 horas, con un porcentaje de humedad del 40.075 %.



RECOMENDACIONES

- El presente estudio presenta la base para la estandarización del proceso de elaboración de láminas biodegradables antibacterianas conteniendo aceite esencial de *Eucalyptus globulus* L. El diseño de la lámina podrá ser optimizado tomando como referencia los valores aquí planteados. Se recomienda realizar análisis más exhaustivos del proceso tomando en cuenta el tiempo de agitación de cinco horas, al ser el único influyente estadísticamente sobre al menos una de las características de la lámina y la temperatura de secado de 50 °C al ser la que obtuvo valores más adecuados en la mayoría de las características.
- Se recomienda también evaluar la velocidad de disolución de soluto (quitosano) en el solvente en función del tiempo de mezclado o agitación, pues una gráfica nos permitirá conocer el tiempo óptimo de homogeneizado de la mezcla.
- Se recomienda realizar mayor estudio tomando como constante la temperatura de 50°C al ser la que obtuvo valores más adecuados a los deseados en la caracterización del biopolímero.
- Se recomienda continuar con los estudios de caracterización de biopolímeros, para obtener mayor cantidad de datos sobre sus propiedades, pues por limitaciones técnicas y económicas hubo variables que no pudieron ser consideradas en el estudio.
- Se recomienda hacer estudios sobre biopolímeros pues son materiales que tendrán una alta demanda en el futuro próximo y sobre los cuales se puede desarrollar planes de producción.
- Se recomienda continuar con los estudios sobre materiales biodegradables, para poder potenciar el uso de compuestos que reduzcan el índice de desechos sobre el ambiente.



- Se recomienda usar la fórmula de preparación descrita en el presente trabajo como punto de referencia para trabajos relacionados a la preparación de láminas de quitosano. (Margie Peden, 2008)
- Se recomienda continuar con estudios IN-VIVO sobre las propiedades de las láminas de quitosano.
- Se recomienda incluir estudios con otros tipos de aceite esencial de plantas presentes en la región para poder potenciar su utilización y de esta forma revalorarlos al ser generadores de valor agregado.



REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abram, A. P. (2013). *ESTUDIO DE LIBERACIÓN DE SULFADIAZINA DE PLATA DESDE MATRICES DE QUITOSANOS PARA SU USO COMO APÓSITOS EN QUEMADURAS*. Lima.
- Aranaz, I., Mengíbar, R., Harris, R., Paños, I., Miralles, B., Acosta, N., . . . Heras, A. (2009). Functional characterization of chitin and chitosan. *Current chemical biology*, 203-230.
- Baca Urbina, G. (2014). *Introducción a la Ingeniería Industrial*. México: Grupo editorial Patria.
- Biblioteca Nacional de Medicina de Estados Unidos. (13 de Octubre de 2019). *MedlinePlus*.
Obtenido de <https://medlineplus.gov/spanish/ency/article/000030.htm>
- Borges H, G. R. (1984). *Manual de procedimientos y diagnóstico de caumatología*. La Habana: Pueblo y Educación.
- Cárcamo, C. (2005). *Preparación de films de complejo polielectrolito quitosano - alginato y comparación de sus prioridades mecánicas y biológicas con films de quitosano*. Santiago - Chile.
- Carrasquero, F. L. (2004). *Fundamentos de Polímeros*. Mérida: Universidad de Los Andes, Facultad de Ciencias.
- Chamorro, L., & Prada, R. (14 de octubre de 2019). Obtenido de <http://www.iq.uva.es/separacion/archivos/arrastrevapor.pdf>
- Dash, M., Chiellini, F., Ottenbrite, R., & Chiellini, E. (2011). Chitosan - A versatile semi synthetic polymer in biomedical applications. *Progress in Polymer Science*, 981-1014.
- Debandi, F. y. (2016). *Development of Biodegradable films Based on Chitosan / Glycerol Blends Suitable for Biomedical Applications*. Argentina.



- Formes, B., Palomar, F., Díez, P., Muñoz, V., & Lucha, V. (2008). Apósitos en el tratamiento de úlceras y heridas. *Enfermería dermatológica*.
- Gauna, M., & Nuñez, N. (2004). Efecto del ultrasonido en la desatilización de quitina de conchas de camarón. 55.
- Giraldo, J. D. (2015). *Propiedades, obtención, caracterización y aplicaciones del Quitosano*.
- González, A. F. (2012). *Fundamentos de procesos químicos*. Colombia: Dirección de Investigación y Extensión de la Facultad de Ingeniería y Arquitectura.
- H.A. Peredo - Luna*, E. P.-G.-M. (2009). Aceites esenciales: métodos de extracción. En E. P.-G.-M. H.A. Peredo - Luna*, *Temas Selectos de Ingeniería de Alimentos* (págs. 24-32). Puebla.
- Hicks, R. W. (1976). *How to design agitators for desired process response* (Vol. 4).
- Hospital Dr. Hernán Henríquez Aravena. (2020). *Tipos de apósitos*. Obtenido de https://www.hhha.cl/transparencia/heridas/tipos_apositos_udo.pdf
- Khor, E., & Limb, L. (2003). Implantable applications of chitin and chitosan. *Biomaterials*, 1-27.
- L. Hernández-Ochoa, A. G.-G.-M. (2011). *Estudio de la actividad antibacteriana de películas elaboradas con quitosano a diferentes pesos moleculares incorporando aceites esenciales y extractos de especies como agentes antimicrobianos*. México.
- Lárez, C. (2003). Algunos usos del quitosano en sistemas acuosos. *Revista iberoamericana de polímeros*, 91-109.
- Lárez, C. (2008). Algunas de las potencialidades de la quitina y el quitosano para usos relacionados con la agricultura en latinoamérica. 1-22.
- Liakos Ioannis, L. R. (2012). *Fibrous wound dressings encapsulating*. Inglaterra.



- Lina Belén Fuentes Yalli, A. P. (2009). *PREPARACIÓN, CARACTERIZACIÓN Y EVALUACIÓN DE PELÍCULAS DE QUITOSANO PROVENIENTE DE "CALAMAR GIGANTE " PARA USO MÉDICO*. Lima.
- Margie Peden, K. O.-S. (2008). *Informe mundial sobre la prevención de lesiones en los niños*. Obtenido de Organización Mundial de la Salud:
https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/77761/9789275316566_spa.pdf;jsessionid=A992DD579438E58578B6B179DF0F4114?sequence=1
- Mármol, Z. (2003). Alternativas tecnológicas para el aprovechamiento de las conchas de camarón. 56.
- Mármol, Z., Páez, G., Rincón, M., Araujo, K., Aiello, C., Chandler, C., & Gutierrez, E. (2011). Quitina y Quitosano polímeros amigables. Una revisión de sus aplicaciones. *Revista Tecnocientífica URU*, 54.
- McCabe, W. S. (2014). *Operaciones unitarias en ingeniería química*. MacGraw-Hill Interamericana.
- Ministerio de Salud. (2012). *Análisis de la Situación de Salud 2012*. Lima.
- Ministerio de Salud. (2014). *Guía Práctica para el Diagnóstico y Tratamiento de Lesiones por Quemadura*. Lima.
- Moreno, L. V. (2014). *Evaluación de películas de quitosano suplementadas con aceites de orégano (Origanum vulgare L.) y romero (Rosmarinus officinalis) como posibles agentes antimicrobianos y antioxidantes*. Santiago de Cali.
- Nodarse Hernández CR, B. S. (2009). *Determinación del poder bactericida de lla crema de vancomicina al 0,5 % frente a Staphylococcus aureus*. La Habana.
- Parada, L., Crespín, G., Miranda, R., & Katime, I. (2004). Caracterización de Quitosano por viscosimetría capilar y valoración potenciométrica. *Revista Iberoamericana de Polímeros*, 2-16.



Parzanese, M. (2003). Películas y recubrimientos comestibles. *Tecnologías para la industria alimentaria*, 11.

Peñalba, A., & Marañón, R. (2010). Tratamiento de las quemaduras en urgencias. *Protocolos diagnóstico-terapéuticos de Urgencias Pediátricas SEUP-AEP*, 200-203.

Pérez Fernandez, J. (2010). *Gestión por Procesos*. Madrid: Esic Editorial.

R. Cruz- Morfin*, Y. M.-T.-M. (2013). Biopolimeros y su integracion con polimeros convencionales como alternativa de empaque de alimentos. En Y. M.-T.-M. R. Cruz- Morfin*, *Temas Selectos de Ingeniería de Alimentos* (págs. 42-52). Puebla.

Ramirez, L., Plascencia, M., Huerta, S., Vázquez, H., & Shirai, K. (2002). Obtención y caracterización de quitinas parcialmente desacetiladas mediante tratamiento biológico químico. *Simposio Latinoamericano de Quitina*, 593-594.

Ravindra, R., Krovvidi, K., & Khan, A. (1998). Solubility parameter of chitin and chitosan. *Carbohydrate polymers*, 121-127.

Rinaudo, M. (2006). Quitina y Quitosano: Propiedades y aplicaciones. *Progreso en la ciencia de polímeros*, 603-632.

Universidad Tecnológica Nacional. (2012). *Operaciones Unitarias II*. Argentina.

Valiente, A. a. (1985). Prácticas de Laboratorio de Transferencia de Masa. México: Sección de Impresiones de la F.Q. de la UNAM.



ANEXOS