UNIVERSIDAD DE CONCEPCIÓN
FACULTAD DE CIENCIAS FORESTALES
INGENIERÍA EN BIOTECNOLOGÍA VEGETAL

EXPLORANDO EL USO DE SUBPRODUCTOS FORESTALES PARA LA TECNOLOGÍA DEL CAUCHO: COMPUESTOS BASADOS EN HOJAS DE *EUCALYPTUS NITENS* Y CAUCHO NATURAL COMO UNA ALTERNATIVA VALIOSA PARA EL DESARROLLO DE MATERIALES ELASTOMÉRICOS CON BAJO IMPACTO BACTERIOLÓGICO

Tesis presentada a la Facultad de Ciencias Forestales de la Universidad de Concepción para otorgar al título profesional de Ingeniera en Biotecnología Vegetal

POR: Natacha Valeria Rosales Charlin

Profesor Guía: Héctor Aguilar Bolados

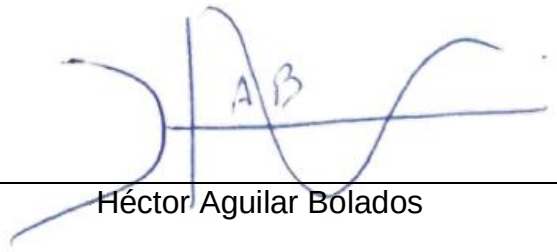
Octubre, 2024

Concepción, Chile

© 2024, Natacha Valeria Rosales Charlin

Se autoriza la reproducción total o parcial, con fines académicos, por cualquier medio o procedimiento, incluyendo la cita bibliográfica del documento

EXPLORANDO EL USO DE SUBPRODUCTOS FORESTALES PARA LA TECNOLOGÍA DEL CAUCHO: COMPUESTOS BASADOS EN HOJAS DE *EUCALYPTUS NITENS* Y CAUCHO NATURAL COMO UNA ALTERNATIVA VALIOSA PARA EL DESARROLLO DE MATERIALES ELASTOMÉRICOS CON BAJO IMPACTO BACTERIOLÓGICO

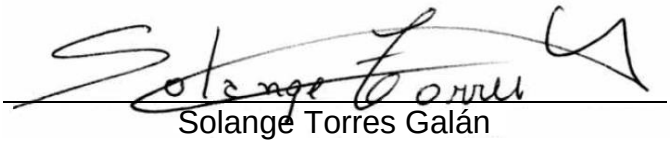


Profesor Guía

Héctor Aguilar Bolados

Profesor Asistente

Químico Industrial, Dr.



Profesora Guía

Solange Torres Galán

Colaboradora externa

Bióloga, Dra.



Profesor Guía

Regis Teixeira Mendonça

Profesor Titular

Ingeniero Químico, Dr.

FINANCIAMIENTO

Este Proyecto de Título fue financiado por el Proyecto FONDECYT de iniciación 11200437

TABLA DE CONTENIDO

TABLA DE CONTENIDO v
ÍNDICE DE TABLAS vii
ÍNDICE DE ILUSTRACIONES viii
RESUMEN ix
ABSTRACT x
I. INTRODUCCIÓN 1
1.1 Descripción de polímero 1
1.2 Tipos de polímeros y clasificaciones 1
1.3 Problemas asociados a la producción de polímeros 2
1.4 Escenario del caucho natural 4
1.5 Vulcanización por azufre 4
1.6 NR dentro de la economía circular 5
1.7 Tipos de rellenos 6
1.8 Biomasa lignocelulósica de *Eucalyptus* spp. 7
1.9 Componentes de las hojas de *Eucalyptus* spp. 8
1.10 Uso de bacterias en la inhibición de compositos elastoméricos 10
II. METODOLOGÍA 14
2.1 Materiales, compuestos y microorganismos utilizados 14
2.2 Adecuación de los rellenos lignocelulósicos 16
2.3 Determinación de los componentes de los rellenos lignocelulósicos 16
2.4 Formación de muestras vulcanizadas 17
2.4.1 Preparación de los compositos elastoméricos 17
2.4.2 Evaluación del tiempo óptimo de vulcanización 19
2.4.3 Vulcanización 19
2.5 Propiedades físicas y mecánicas 20
2.5.1 Ensayo de tracción 20
2.5.2 Dureza 20
2.5.3 Resiliencia 20

2.5.4 Abrasión (ARI) 20
2.6 Caracterización estructural 21
2.6.1 Análisis de espectroscopía infrarroja 21
2.6.2 Microscopía Electrónica de Barrido 21
2.6.3 Propiedades viscoelásticas 21
2.7. Cultivo Bacteriano 21
III. RESULTADOS Y DISCUSIÓN 23
3.1 Determinación de los componentes de los rellenos lignocelulósicos 23
3.2 Curvas de curado y parámetros de vulcanización de los compositos a base de NR 24
3.3 Propiedades mecánicas, dureza, resiliencia y abrasión 26
3.4 Caracterización estructural 29
3.4.1 Análisis de espectroscopía infrarroja 29
3.4.2 Microscopía Electrónica de Barrido 30
3.4.3 Análisis mecánico dinámico del compuesto de NR 33
3.5 Cultivos bacterianos 36
IV. CONCLUSIONES 43
V. GLOSARIO 44
VI. BIBLIOGRAFÍA 54

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1.1. Impactos ambientales de los ingredientes en una receta de caucho..2

Tabla 2.1. Formulación de las muestras en base a NR……..…18

Tabla 3.1. Principales compuestos de las cinco especies en mayor concentración en HE, HST y HT determinados por cromatografía de gases (GC) usando un puntaje de calificación, QUAL, ≥90%. 24

Tabla 3.2. Datos de curado de los compositos de NR 25

Tabla 3.3. Propiedades mecánicas de los compuestos de NR consistentes en módulos al 100% (E100), 200% (E200) y 300% (E300) de alargamiento. 28

Tabla 3.4. Resistencia a la tracción (RT), alargamiento a la rotura (A), dureza Shore A y resiliencia. 28

Tabla 3.5. Diámetro de los halos de inhibición del crecimiento bacteriano (cm) de los compositos elastoméricos. Promedio y desviación estándar. 39

ÍNDICE DE ILUSTRACIONES

Figura 3.1. Espectros FTIR de compuestos de NR con contenido de HST y HT. 30

Figura 3.2. Imágenes SEM de HST (a, b y c) y HT (d, e y f). 31

Figura 3.3. Imagen de SEM de NR (a, b y c), HST20 (d, e y f), y HT20 (g, h y i). 33

Figura 3.4. Análisis mecánico dinámico de NR, HST20 y HT20 que consta de módulo de almacenamiento (E'), módulo de pérdida (E'') y factor de pérdida (tandelta). 35

Figura 3.5. Comparación de la inhibición neta de las muestras de 10 y 20 phr con el control NR. 41

.

RESUMEN

La industria forestal produce diferentes subproductos vegetales de escaso valor que se buscan revalorizar para evitar que permanezcan sin uso en los bosques y aserraderos. Entre estos subproductos se encuentran las hojas, que no sólo contienen fibras de celulosa y lignina, sino también aceites esenciales como los terpenos, los cuales se biosintetizan por rutas metabólicas similares a las del cis-1,4-poliisopreno, conocido como caucho natural. La presencia de estos terpenos aumentaría la afinidad del material lignocelulósico, mejorando el desempeño mecánico del caucho natural. En este contexto, este trabajo evaluó el uso de hojas secas molidas sin tamizar y tamizadas de *Eucalyptus nitens* en caucho natural. Entre los resultados más relevantes destaca un aumento significativo de las propiedades mecánicas, como la resistencia a la tracción y el alargamiento a la rotura, alcanzando valores de 9,45 MPa y 649%, respectivamente. Además, se observó que el contenido de este relleno vegetal disminuye los niveles de toxicidad del caucho natural frente a las bacterias *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli* FT-17, *Escherichia coli* K-12, *Pseudomonas fluorescens* y *Staphylococcus aureus* las cuales son de importancia agroforestal y de salud pública. Los resultados de esta investigación no sólo permiten añadir valor a un subproducto de la industria forestal, mejorando las propiedades mecánicas del caucho natural desde un enfoque sostenible, sino que también permiten reducir el impacto del caucho natural en microorganismos bacterianos.

ABSTRACT

The forestry industry produces various low-value plant by-products that are sought to be revalued to prevent them from remaining unused in forests and sawmills. Among these by-products are the leaves, which not only contain cellulose fibers and lignin, but also essential oils such as terpenes, which are biosynthesized through metabolic pathways similar to those of cis-1,4-polyisoprene, known as natural rubber. The presence of these terpenes would increase the affinity of the lignocellulosic material, improving the mechanical performance of natural rubber. In this context, this work evaluated the use of unscreened and screened dried ground leaves of *Eucalyptus nitens* in natural rubber. Among the most relevant results, a significant increase in mechanical properties, such as tensile strength and elongation at break, reaching values of 9.45 MPa and 649%, respectively, stood out. In addition, it was observed that the content of this plant filler decreased the toxicity levels of natural rubber against *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli* FT-17, *Escherichia coli* K-12, *Pseudomonas fluorescens* and *Staphylococcus aureus* bacteria, which are of agroforestry and public health importance. The results of this research not only allow adding value to a by-product of the forestry industry, improving the mechanical properties of natural rubber from a sustainable approach, but also allow reducing the impact of natural rubber on bacterial microorganisms.

I. INTRODUCCIÓN

1.1 Descripción de polímero

El concepto de polímero se usa para clasificar una muy amplia familia de macromoléculas, que se caracterizan por estar constituidos por unidades repetitivas, denominadas monómeros. Entre las propiedades que destacan a los polímeros sobre otros materiales es su viscoelasticidad, esto les confiere comportamiento mecánico único. Los polímeros, además, presentan propiedades físicas, químicas que permiten su procesamiento mediante métodos sencillos y su obtención es principalmente a partir de recursos fósiles. Sin embargo, se han realizado avances significativos en la obtención a partir de fuentes naturales (Utrera-Barrios et al., 2023).

1.2 Tipos de polímeros y clasificaciones

Los polímeros se clasifican de muchas maneras, entre estas, una manera común es agruparlos en i. polímeros termoplásticos, que al calentarlos funden, adquiriendo un comportamiento plástico, es decir que se le puede dar forma. ii. Resinas termorígidas, que al sintetizarlos adquieren rigidez, y que no pueden fundir al ser calentadas. iii. Elastómeros, estos se caracterizan por presentar un comportamiento elástico excepcional. En general, se obtienen por reacciones de entrecruzamientos, tales como la vulcanización. Los elastómeros

entrecruzados, conocidos como cauchos, al ser calentados no pueden fundir, solo reblandecerse.

1.3 Problemas asociados a la producción de polímeros

Debido a las propiedades físicas y químicas de los polímeros, sumado a su bajo precio, y fácil procesamiento se convirtieron en un material difícil de sustituir, por lo que desde las últimas décadas se generó un crecimiento exponencial en su demanda. Esto devino en que los bienes en base de polímeros, al término de su vida útil, fuesen desechados descontroladamente, en rellenos sanitarios, en fuentes hídricas o quemados, generando problemáticas tanto ambientales como de salud pública (Lozano et al., 2018). Esto extiende las alertas hacia los elastómeros y cauchos sintéticos, los que presentan un grupo importante de polímeros elásticos que no pueden ser reprocesados, además de que los aditivos utilizados para hacer los polímeros más resistentes tienen un gran impacto ambiental. En la tabla 1.1 hay una adaptación de un resumen del análisis de impacto realizado por (Utrera-Barrios et al., 2023).

Tabla 1.1. Impactos ambientales de los ingredientes en una receta de caucho.

Material	Fuente	Impactos potenciales
Caucho natural	Árbol *Hevea brasiliensis*	Pérdida de hábitat de bosques tropicales, impactos del transporte

		a los mercados y del procesamiento.
Caucho sintético	Petroquímica	Agotamiento de los recursos del petróleo. Consumo y desperdicio de energía durante la fabricación.
Negro de carbón	Normalmente proviene del petróleo	En la producción, el transporte, la fabricación, la combustión para recuperar energía, la eliminación de productos de desecho.
Óxido de zinc	Sintético	En la producción, el transporte, la fabricación, la combustión para recuperar energía, la eliminación de productos de desecho.
Azufre (y compuestos)	Sintético	En la producción y la combustión para la recuperación de energía.
Otros aditivos y solventes: resistencia de envejecimiento, aceleradores, agentes de vulcanización, suavizantes y rellenos.	Muy diverso	Durante la fabricación y el transporte. Emisiones de neumáticos en uso.

1.4 Escenario del caucho natural

Dentro de este contexto podemos referirnos al caucho natural (NR), pues es un material sostenible que no procede de fuentes fósiles, de hecho se podría considerar un material carbono-positivo, pues es un polímero que se produce en ciertos tipos de plantas, entre las que destaca el árbol *Hevea brasiliensis*, del que se extrae el látex de NR, que corresponde a una suspensión coloidal acuosa constituidas por partículas esféricas de cis-1,4-poliisopreno (20 a 100 nm), estabilizadas por proteínas y fosfolípidos que les confieren estabilidad coloidal. Mediante la precipitación del látex, se obtienen un sólido compuesto mayoritariamente por cis-1,4-poliisopreno (>95wt.%) (Aguilar-Bolados et al., 2023; Lozano et al., 2018). Los cauchos poseen temperatura de transición vítrea (Tg) por debajo de la temperatura de trabajo, generalmente la temperatura ambiente. Por debajo de su Tg (ca. -62°C), las cadenas poliméricas se encuentran congeladas y sus movimientos restringidos, por sobre esta temperatura, adquieren libertad de movimientos segmentarios (Cowie & Arrighi, 2007).

1.5 Vulcanización por azufre

Al someter al NR a una reacción de entrecruzamiento, se genera una red molecular tridimensional, un proceso irreversible, con esto se mejoran sus características iniciales y se vuelve resistente a temperaturas más altas. El

método de entrecruzamiento de mayor connotación es la vulcanización mediada por azufre, pues hace al caucho mucho más resistente, mejora sus propiedades mecánicas y de elasticidad. Para hacer este procedimiento más rápido y a menor temperatura se adicionan agentes sulfurosos, activadores y aceleradores lo que hace que se reduzca la cantidad de azufre libre y no se genere una degeneración oxidativa, ya que esto tiene un efecto perjudicial en las propiedades mecánicas (Tamási & Kollár, 2018).

1.6 NR dentro de la economía circular

La producción mundial de NR se ha duplicado en estas últimas dos décadas, pasando de tener 6,8 millones de toneladas métricas de producción en el año 2000 a tener casi 13 millones de toneladas métricas de producción en el año 2020 (Ho, C. C. 2014). Por consiguiente, los desechos de bienes fabricados en base de NR constituyen un desafío en términos económicos, sociales y medioambientales. Debido a los nuevos retos que presenta nuestra sociedad actual, han surgido nuevas tendencias, como la economía circular, conceptos de ecodiseño que promueven un enfoque sostenible, priorizando el desarrollo de tecnologías que tengan un menor impacto ambiental basadas en los conceptos de economía circular de 10R, y una huella de carbono reducida (Morseletto, 2020). En este contexto se busca formular productos de NR sustentable que tenga lugar dentro de la economía circular, y que cumplan con los requerimientos comerciales y de precios para usuarios y consumidores, respectivamente.

1.7 Tipos de rellenos

Existen diferentes tipos de rellenos que se utilizan como cargas de compositos poliméricos variados, tales como arcillas, piedra caliza, carbonato de calcio, sílice/silicatos, talco y derivados del petróleo como el negro de humo (Dannenberg, 1982). Sin embargo, varios de estos materiales no son reprocesables y han causado daños irreversibles al medioambiente, por tanto, se busca el uso de materiales más sostenibles. En este contexto, los rellenos de origen natural, principalmente las fibras vegetales, han ganado popularidad como una opción viable para reemplazar los materiales sintéticos e inorgánicos. Esto se debe a sus propiedades mecánicas y físicas, como su baja densidad, flexibilidad de procesamiento, buena resistencia y alta rigidez lo que permite su uso en múltiples aplicaciones industriales (John & Thomas, 2008; Mohanty et al., 2000; R. Lozada et al., 2023; Ramesh, 2016). Además, estos materiales son renovables, biodegradables (Begum & Islam, 2013), reciclables y de bajo costo (Campilho, 2017). Entre las fibras vegetales estudiadas y utilizadas se encuentran el lino, cáñamo, kenaf, yute, sisal, algodón, madera reciclada (Witayakran et al., 2017), ratán (Ismail et al., 2012) y residuos agroindustriales (dos Santos et al., 2014; Qian et al., 2021; Torres et al., 2021). También se han investigado productos de celulosa con diferentes tratamientos y tamaños de partícula tal como microfibra de celulosa, carboximetilcelulosa (Supanakorn et al., 2021), celulosa microcristalina (Harahap et al., 2016), nanocristales de celulosa (Cao et al., 2018; Koeipudsa & Phinyocheep, 2024), etc. Otros rellenos

que son utilizados son de origen animal, como la seda, lana y plumas (Ramamoorthy et al., 2015). *Eucalyptus* spp. también ha tenido incidencia dentro de la industria, pues su madera ha sido usada como relleno en una matriz polimérica de polihidroxialcanoatos y ácido poliláctico en el estudio llevado a cabo por (Loureiro et al., 2014).

1.8 Biomasa lignocelulósica de *Eucalyptus* spp.

El Eucalyptus es un tipo de árbol con flores que pertenece a la familia de las mirtáceas (Myrtaceae), tiene numerosas especies que son utilizadas alrededor del mundo para diferentes fines, entre los que se destaca el uso de su madera para la industria forestal y el de sus aceites esenciales (AE) para la industria farmacéutica, cosmética y alimentaria (Mounchid et al., 2005). Algunas de las más estudiadas y utilizadas son *Eucalyptus camaldulensis*, *Eucalyptus globulus*, *Eucalyptus urophylla*, entre otras. Éstas especies se caracterizan por su capacidad de adaptación a diferentes tipos de ambientes, su rápido crecimiento, la calidad de su madera y sus propiedades medicinales (Asenjo, 2012). Estas características lo hacen ser una de las especies más usadas en las plantaciones forestales lo que deja variados residuos de biomasa lignocelulósica, como las ramas, aserrín, hojas, corteza, etc. y son recursos que quedan en los bosques o industrias de aserradero, por lo que se convierten en un gasto a la hora de moverlos y dejarlos en basurales, pero tienen potencial de transformarse en bioenergía y en productos de valor añadido (de Souza et al., 2020; Zheng et al., 2021) como las hojas, pues han captado la atención por su

contenido de aceites esenciales (García et al., 2017) por lo que tener nuevas y diferentes formas de utilizar estos productos es bastante requerido. Las hojas y ramas contienen bioactivos, antioxidantes, antimicrobianos y fitorremediadores (Elaissi et al., 2012; Liu et al., 2023; Nouri-Ganbalani et al., 2016) y poseen una amplia gama de actividades biológicas, como propiedades antimicrobianas, fungicidas, insecticidas, herbicidas y nematicidas (Brooker et al., 2006; Chandorkar et al., 2021; Shala & Gururani, 2021). El AE tiene un papel biológico basado en la semioquímica, la cual corresponde a los compuestos o mezclas liberadas por un organismo que afectan el comportamiento de otros individuos (Surbhi et al., 2023), por lo cual se utiliza como herbicida y conservante alimentario (Brooker et al., 2006; Elangovan & Mudgil, 2023), además de ser importante para reducir la resistencia a las plagas y minimizar el uso ambiental de los pesticidas sintéticos u otros contaminantes que puedan alterar la microbiota del suelo. En particular, algunos de los compuestos que han reportado propiedades antimicrobianas son el α-pineno, eucalyptol y α-terpineol (Gilles et al., 2010).

1.9 Componentes de las hojas de *Eucalyptus* spp.

Las hojas de *Eucalyptus* spp. contienen una amplia gama de compuestos que desempeñan funciones estructurales, defensivas y metabólicas. Entre los componentes estructurales destacan la celulosa, hemicelulosa, lignina y pectinas, que conforman la base de su estructura física. La celulosa, un polisacárido semicristalino compuesto por una cadena lineal de β-(1-4)-

glucosídicos de d-glucopiranosa, se organiza en microfibrillas cristalinas que proveen rigidez y soporte a la hoja. La hemicelulosa es un heteropolisacárido que actúa como componente de unión entre las microfibrillas de celulosa, mientras que la lignina, un polímero fenólico reticulado, refuerza la rigidez de la hoja, confiriéndole mayor resistencia mecánica. Por su parte, las pectinas otro tipo de heteropolisacárido, otorga flexibilidad y cohesión estructural (Zhou et al., 2016).

Entre los compuestos bioactivos presentes en las hojas se encuentran los compuestos fenólicos, una clase de metabolitos secundarios que poseen un anillo aromático con uno o más sustituyentes hidroxilo. Estos se clasifican en flavonoides, ácidos fenólicos, taninos, estilbenos y lignanos, conocidos por su potencial en la defensa frente a patógenos y estrés ambiental (Moges et al., 2024). Las ceras son una capa de cutícula hidrófoba formada por cutina y cera que se deposita como cristaloides en la superficie de la hoja, contienen mezclas de alcanos primarios y secundarios, los cuales son alcoholes, aldehídos, cetonas, triterpenos y ésteres (Solís et al., 2024). Los AE son mezclas complejas de compuestos aromáticos y volátiles, entre los cuales predominan los monoterpenos, sesquiterpenos, terpenoides y derivados oxigenados (Liu et al., 2023), responsables de sus propiedades de defensa y medicinales. Cabe destacar que los terpenos son derivados de los isoprenoides, al igual que las unidades de poliisopreno del caucho natural, por lo que pueden ser miscibles entre sí (Mosquera et al., 2021). Finalmente, otros constituyentes de las hojas

son las vitaminas, azúcares y ácidos grasos (Guimarães et al., 2009), los cuales son encontrados en menores concentraciones pero son igual de importantes para las funciones biológicas de la planta.

1.10 Uso de bacterias en la inhibición de compositos elastoméricos

Las bacterias se encuentran en una amplia variedad de ambientes, coexistiendo con otros organismos vivos. Entre los medios externos relevantes se encuentran el suelo, el agua y el aire. Los medios externos de especial interés son los suelos de áreas de preservación o aquellos que son destinados para la agricultura extensiva, pues ahí se encuentran diversas especies bacterianas cumpliendo un rol que, eventualmente puede ser beneficioso, inocuo o perjudicial para los seres humanos y plantas. Por ello se usan diferentes estrategias para su control o proliferación, desde los pesticidas, la rotación de cultivos, uso de enzimas, provisión de nutrientes, etc. Entre aquellas bacterias que se utilizan para favorecer el crecimiento vegetal tenemos a *Bacillus subtilis*, las cuales son bacterias del tipo Gram positiva que promueven el crecimiento en plantas especificas (Nunes et al., 2023) y el control de plagas (Hinarejos et al., 2016; San-Lang et al., 2002; Thiruvengadam et al., 2022). Otra bacteria de interés es *Pseudomonas fluorescens*, que es Gram negativa y se encuentra comúnmente en suelos y fuentes de agua. Esta bacteria forma parte de la rizósfera, la cual corresponde a la zona del suelo cercana a las raíces de las plantas, donde coexisten diversos microorganismos. En esta región del suelo sirve como promotora del crecimiento vegetal, pues facilita la disponibilidad de

los nutrientes en el suelo (Garcia-Seco et al., 2013; Pereira et al., 2008), además ayuda al control de plagas, pues compite con los organismos patógenos por nutrientes y espacio, siendo bastante dominante en este aspecto, por lo que se ha utilizado como biofertilizante y biopesticida (Kim et al., 2012; Ran et al., 2005).

Entre las bacterias que pueden llegar a ser perjudiciales para la salud humana se encuentra *Escherichia coli*, una bacteria Gram negativa que forma parte de la flora intestinal de animales de sangre caliente, incluido los seres humanos. Puede encontrarse en fuentes de agua, heces y suelos, pudiendo sobrevivir durante varios meses (Gaitaev et al., 2023; Lauber et al., 2003). Su presencia en estos ambientes representa un riesgo para la salud, ya que puede causar diarrea, infecciones, septicemia, entre otras. (Olsvik et al., 1991; Wang et al., 2022). Otra bacteria perjudicial es *Staphylococcus aureus*, es Gram positiva y forma parte de la microbiota humana. Se considera un patógeno oportunista, ya que puede causar desde leves infecciones hasta septicemia al encontrarse en fuentes de agua y suelos, propagándose a través de las heces (Chua et al., 2013; Economy et al., 2019; G. A. C. Santos et al., 2020).

Las propiedades antibacterianas del AE de *Eucalyptus* spp. han sido evaluadas por variados estudios, determinando que tiene incidencia en las bacterias Gram positivas y negativas (Delaquis et al., 2002), siendo más efectivo controlando las Gram positivas. Este AE inhibe el crecimiento de bacterias patógenas como

E. coli y *S. aureus* (Argote et al., 2017; Batish et al., 2008; Montero-Recalde et al., 2019; B. Santos et al., 2024; Sartorelli et al., 2007), así como de bacterias beneficiosas como *Bacillus* spp. y *Pseudomonas* spp. (Jayadi et al., 2023; Lu et al., 2016; Reda et al., 2017; Takahashi et al., 2004; Tyagi & Malik, 2011). La capacidad del AE de *Eucalyptus* spp. para controlar estas bacterias ayudará en este trabajo a corroborar su presencia dentro de la especie de *Eucalyptus nitens* evaluada, además de comprobar si estas propiedades se presentan al estar dentro de un material compuesto.

Hipótesis

El uso de un material lignocelulósico con trazas de aceites esenciales, tales como el eucaliptol, como relleno en caucho natural promueve un desempeño de propiedades mecánicas superiores al del caucho convencional con una respuesta biológica frente a bacterias de importancia agroforestal y de salud pública.

Objetivo General

Desarrollar compositos en base de caucho natural con contenido lignocelulósico y trazas de aceite esencial de *Eucalyptus nitens* para evaluar sus propiedades mecánicas, térmicas y su impacto en bacterias de importancia agroforestal y de salud pública.

Objetivos Específicos

- Obtener compositos elastoméricos en base de caucho natural con contenido lignocelulósico y trazas de aceites esenciales.
- Caracterizar propiedades mecánicas y térmicas de compositos elastoméricos en base de caucho natural con contenido lignocelulósico y trazas de aceites esenciales.
- Estudiar la influencia de compositos elastoméricos en base de caucho natural con contenido lignocelulósico y trazas de aceites esenciales en bacterias de importancia agroforestal y de salud pública.

II. METODOLOGÍA

2.1 Materiales, compuestos y microorganismos utilizados

Caucho natural (NR) SGR-10, Química Miralles S.A. (Quilicura, Chile).

Azufre CAS-No: 7704-34-9, Sigma Aldrich (St. Louis, Mo, E.E.U.U.).

2-mercaptobenzotiazol (MBT) CAS-No: 149-30-4, Sigma Aldrich (St. Louis, Mo, E.E.U.U.).

Ácido esteárico CAS-No: 57-11-4, Sigma Aldrich (St. Louis, Mo, E.E.U.U.).

Óxido de zinc CAS-No: 1314-13-2, Sigma Aldrich (St. Louis, Mo, E.E.U.U.).

Tetrametiltiuram disulfuro (TMTD) CAS-No: 137-26-8, Sigma Aldrich (St. Louis, Mo, E.E.U.U.).

Hojas de *Eucalyptus nitens*.

Tamiz N°50 #mesh estándar de EE. UU., normado por la A.S.T.M. E-11.

Bolsas de polipropileno.

Aparato Clevenger.

Agua destilada.

Embudo de decantación.

Aluminio.

Sulfato de sodio CAS-No: 7757-82-6 EMSURE®.

Viales con tapa de 20mL.

Molde rectangular de 11,5x13x0,2 cm.

Moldes cilíndricos de 2,8x2,8x1,2 cm y de 1,6x1,6x0,8 cm.

Pieza de corte de 65x9.53 cm, código 220104-17A.

Sacabocado de 5 mm.

Perforadora de un orificio de 6 mm.

Placas Petri de 90x15 mm estéril.

Mechero.

Bisturí estéril.

Pinzas estériles.

Micropipetas de 0,5-10 µL y 100-1000 µL.

Puntas para micropipeta de 10 µL y 1000 µL.

Tubos de ensayo de 16x160 mm estériles.

Tubo de ensayo con tapa de 16x100 mm con patrón 0,5 de McFarland.

Papel filtro grado 1 de 150 mm.

Etanol CAS-No: 64-17-5 EMSURE®.

Medio de cultivo Agar Mueller-Hinton estéril.

Cultivos bacterianos de *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli* FT-17, *Escherichia coli* K-12, *Pseudomonas fluorescens* y *Staphylococcus aureus* en agua destilada contenidas individualmente en tubos de ensayo de 16x160 mm.

Pera de succión.

Pipetas Pasteur.

Asas de siembra.

2.2 Adecuación de los rellenos lignocelulósicos

Las hojas de *E. nitens* fueron recolectadas de «La Cantera y el Guindo» ubicados en Concepción, región del Bio-Bío, Chile. De acuerdo a su morfología foliar, el 85% de la recolección de hojas corresponde a hojas juveniles, mientras que el 15% son hojas adultas (Sánchez, 2017). Se depositaron en un horno de secado a 45°C durante 14 días. Luego se colocaron en un molino automático de laboratorio PRO-02, dejando una porción de hoja entera (HE). La mitad de las hojas molidas se tamizaron (HT) a través de un tamiz de malla # 50, y la otra mitad se dejó sin tamizar (HST).

2.3 Determinación de los componentes de los rellenos lignocelulósicos

Se obtuvo el AE de 3 tipos de muestras, hoja entera (AEHE), hoja tamizada (AEHT) y hoja sin tamizar (AEHST) bajo el método de hidrodestilación con aparato Clevenger. Se usaron las mismas condiciones de agua, temperatura, tiempo y cantidad de muestra. Terminado el tiempo de extracción la solución

acuosa se recolectó en un embudo de decantación envuelto en aluminio y se dejó reposar por unos minutos. Posteriormente, se separó el hidrolato del AE, trasladando este último a un vial limpio. Se añadió sulfato de sodio al vial para eliminar cualquier exceso de agua. Finalmente, el AE se almacenó en un nuevo vial con tapa limpio, envuelto en aluminio y se mantuvo almacenado a temperatura ambiente. Para determinar la proporción y presencia de los AE se usó un Cromatógrafo de gases 7890A Agilent Technologies con un inyector sin división (250 °C) y un detector de masas 5975C Agilent Technologies. Para la separación se utilizó una columna capilar HP-5MS (30 m × 0,25 mm × 0,25 µm) y gas helio (caudal constante 1 ml/min). El programa de temperatura fue: 5 minutos de mantenimiento a 100 °C, 100-275 °C a 13 °C/min, y 32 minutos de mantenimiento a 275 °C. El intervalo de detección fue m/z 50-550. La temperatura del inyector fue de 250 °C. Los componentes se identificaron comparando los espectros de masas con los registros en NIST 17 (NIST/EPA/NIH Mass Spectral Library 2017) y comparando los espectros obtenidos con los reportados en la literatura (Troncoso et al., 2013).

2.4 Formación de muestras vulcanizadas

2.4.1 Preparación de los compositos elastoméricos

El compuesto de caucho se preparó de acuerdo con las formulaciones descritas en la Tabla 2.1, considerando un sistema semi-eficiente (Umunakwe et al., 2019).

Tabla 2.1. Formulación de las muestras en base a NR.

Componentes	Control	HST10	HST20	HST40	HT10	HT20	HT40
Caucho natural	100	100	100	100	100	100	100
Óxido de zinc	5	5	5	5	5	5	5
Ácido esteárico	2	2	2	2	2	2	2
MBT	1	1	1	1	1	1	1
TMTD	2	2	2	2	2	2	2
Hoja sin tamizar (HST)	-	10	20	40	-	-	-
Hoja tamizada (HT)	-	-	-	-	10	20	40
Azufre	2	2	2	2	2	2	2

Para la mezcla se usó un mezclador abierto de tipo molino de dos rodillos de Zhongly Instrument Technology, China y se usó una temperatura de 70°C. Los compuestos se añadieron de manera secuencial, para esto se acondicionó el NR SGR-10 en primera instancia, luego se añadió el óxido de zinc y el ácido esteárico, seguidos del relleno correspondiente. Una vez estos compuestos estuvieron bien integrados en la matriz se adicionó el azufre, el MBT y el TMTD.

La mezcla se homogeneizó durante algunos minutos y finalmente se almacenó en bolsas de polipropileno, conservándose en un refrigerador a 0°C.

2.4.2 Evaluación del tiempo óptimo de vulcanización

Las características de los sistemas de vulcanización, par máximo (MH) y tiempo de vulcanización (t90), se determinaron utilizando un reómetro de matriz móvil ZL-3001 (Zhongli Instrument Technology Co. Ltd., China) a lo menos 15 minutos a 160 °C.

2.4.3 Vulcanización

La vulcanización se efectuó mediante la utilización de una prensa hidráulica de laboratorio equipada con platos calefaccionados ZL-3022 (Zhongli Instrument Technology Co. Ltd, China). Se desarrolló a una temperatura controlada de 160 °C, bajo una presión constante de 35 Kg/cm² y un tiempo de vulcanizado de 15 minutos. Se usaron tres moldes en este proceso:

-Molde rectangular de 11,5x13x0,2 cm.

-Molde cilíndrico de 2,8x2,8x1,2 cm.

-Molde cilíndrico de 1,6x1,6x0,8 cm.

El almacenaje se realizó en bolsas de polipropileno y se colocaron en un refrigerador a 0°C.

2.5 Propiedades físicas y mecánicas

2.5.1 Ensayo de tracción

Para ajustar las muestras al equipo se seleccionaron las provenientes del molde rectangular de 11,5x13x0,2 cm y se cortaron con una pieza de corte de 65x9,53 cm, código 220104-17A en una prensa hidráulica (Zongli Instrument Technology Co. Ltd, China). El ensayo de tensión-deformación se determinó utilizando un instrumento Shimadzu EZ-X L 200 V con una celda de carga de 500 N a 100mm/min según ASTM D 412 (2016).

2.5.2 Dureza

Las muestras preparadas para el ensayo de dureza Shore A corresponden a las obtenidas con el molde rectangular de 11,5x13x0,2 cm. Las muestras se evaluaron según la norma ASTM 2240-15 obteniéndose un cuadruplicado.

2.5.3 Resiliencia

Las muestras preparadas para el ensayo de resiliencia corresponden a las obtenidas con el molde cilíndrico de 2,8x2,8x1,2 cm. Se evaluaron según la norma ASTMD 1054-02, se hicieron 4 réplicas de las muestras y se usó un péndulo de rebote Goodyear-Healey.

2.5.4 Abrasión (ARI)

Las muestras preparadas para la resistencia a la abrasión (ARI) corresponden a las obtenidas con el molde cilíndrico de 1,6x1,6x0,8 cm. Se registró la masa y volumen de cada una de las 4 réplicas de cada muestra antes y después del

ensayo. La distancia recorrida de cada muestra es equivalente a 40 metros a un tiempo constante.

2.6 Caracterización estructural

2.6.1 Análisis de espectroscopía infrarroja

Se usó un espectrómetro modelo FT/IR-4X, Jasco (Tokio, Japón) para el análisis de espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier con reflectancia total atenuada (FTIR-ATR). Los espectros se registraron en el intervalo de 500 a 4000 cm-1.

2.6.2 Microscopía Electrónica de Barrido

La morfología de las muestras se examinó mediante microscopía electrónica de barrido (SEM) utilizando un microscopio electrónico de barrido Zeiss (Oberkocken, Alemania), modelo Gemini SEM 360, equipado con detector EDS de Oxford Instrument (Abingdon, Inglaterra). Las muestras se cubrieron con una película ultrafina de oro (Au). La tensión de aceleración fue de 10 kV.

2.6.3 Propiedades viscoelásticas

El análisis de tensión en función de la deformación se realizó con un analizador mecánico dinámico (DMA) MCR 702e MultiDrive Anton Paar (Graz, Austria).

2.7. Cultivo Bacteriano

Con una perforadora de 6 mm se cortaron papeles filtro grado 1 de 150 mm y réplicas de las 7 muestras, así como muestras de NR sin vulcanizar,

posteriormente se autoclavaron. Los papeles filtro de 6 mm se impregnaron con 8 µL de AE de *E. nitens* mezclado en un 50% con etanol puro, además de los papeles impregnados sólo con etanol puro, y se dejaron secar en una campana cerca de un mechero por 15 minutos. Las muestras de NR con relleno de hoja se cortaron con un sacabocado de 5 mm. Una vez preparadas las muestras se procedió a preparar las diluciones de las bacterias, para esto se tomaron los tubos de ensayo con el crecimiento de colonias bacterianas de *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli* FT-17, *Escherichia coli* K-12, *Pseudomonas fluorescens* y *Staphylococcus aureus* en agua destilada y se transfirieron con una pipeta pasteur a otro tubo de ensayo que contenía agua destilada autoclavada hasta obtener el patrón de turbidez adecuado, por lo que se compararon con el tubo de patrón 0,5 de McFarland. Utilizando asas de siembra, se esparció el cultivo de cada bacteria por la totalidad de las placas que contenían Agar Mueller-Hinton ya rotuladas para cada bacteria. Se colocaron los compositos elastoméricos con relleno de hoja y los papeles filtro ya secados sobre la superficie del Agar. Se incubaron *B. subtilis*, *P. fluorescens* y *S. aureus* a 30°C y las dos cepas de *E. coli* se incubaron a 37°C. El ensayo se realizó por triplicado y las mediciones se efectuaron en los halos de inhibición presentados en las placas al cabo de 48 hrs.

III. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 Determinación de los componentes de los rellenos lignocelulósicos

La proporción y presencia de los compuestos presentes en el AE de *E. nitens* fue determinado por Cromatografía de gases. La tabla 3.1 muestra el nombre de las especies identificadas, su estructura, fórmula, peso molecular aproximado, tipo de compuesto y porcentaje de área para la composición de las principales especies encontradas en el AE extraído de las muestras de AEHE, AEHST y AEHT de *E. nitens*. Es posible observar que durante el procesamiento del polvo de hoja entera, el contenido de las especies cambia, aquellas con menor masa molar y menor punto de ebullición tienden a disminuir su contenido, mientras que aquellas con mayor punto de ebullición tienden a aumentar su contenido. Esto se explica por el hecho de que el proceso de molienda y tamizado facilita la evaporación de los compuestos más volátiles. Esto es evidente, por ejemplo, en el caso del 1R-α-pineno y el eucaliptol (cineol), que es un monoterpeno volátil, frente al aromadendreno y el globulol, que son sesquiterpenos de mayor peso molecular y menos volátiles (Mulyaningsih et al., 2010; Ololade & Olawore, 2017). Los compuestos identificados presentan en su mayoría estructuras relacionadas con el proceso de entrecruzamiento, principalmente por presentar dobles enlaces.

Tabla 3.1. Principales compuestos de las cinco especies en mayor concentración en HE, HST y HT determinados por cromatografía de gases (GC) usando un puntaje de calificación, QUAL, ≥90%.

Nombre del aceite esencial	Punto de ebullición (°C)	Fórmula molecular y Peso molecular	Porcentaje de área (%) AEHE, AEHST y AEHT
1R-α-Pineno	155	$C_{10}H_{16}$, 136	21,1, 8,96 y 5,17
Eucaliptol (Cineol)	177	$C_{10}H_{18}O$, 154	56,93, 38,75 y 37,58
α-Terpineolacetato	219	$C_{12}H_{20}O_2$, 196	5,39, 5,56 y 6,21
Aroma- dendreno	258	$C_{15}H_{24}$, 204	1,6, 14,84 y 15,77
Globulol	283	$C_{15}H_{26}$, 222	5,2, 9,23 y 10,04

3.2 Curvas de curado y parámetros de vulcanización de los compositos a base de NR

Se describieron por reometría los valores de torque mínimo (ML), torque máximo (MH), tiempo de quemado (ts2) y tiempo óptimo de vulcanización (t90), los cuales se encuentran detallados en la Tabla 3.2. Se puede observar que el contenido de polvo de hoja seca de *E. nitens* HST y HT tiene un efecto discreto sobre el par máximo registrado. Del mismo modo, es pertinente mencionar que el par mínimo aumentó ligeramente, lo que se atribuiría al efecto del relleno vegetal sobre el torque, que por efecto hidrodinámico da más rigidez a la matriz

de NR. Sin embargo, la t90 también aumenta a medida que aumenta el contenido de relleno, mientras que la MH no es significativa, siendo inferior a la MH del NR sin relleno. Esto sugiere una ralentización de la velocidad de vulcanización, probablemente debido al efecto del relleno que inhibiría la difusión de los agentes de curado (Aguila-Toledo et al., 2023). Además, probablemente la naturaleza química podría desempeñar un papel en dicho proceso (Aguilar-Bolados et al., 2023). De hecho, es bien sabido que los materiales usados como rellenos de origen vegetal son materiales lignocelulósicos y su pH es inferior a 5,0. Estos tienden a ser higroscópicos, propiedades que podrían interferir en el proceso de vulcanización (Akahori & Kawahara, 2023; Geffert et al., 2019). Además, como la madera se compone principalmente de celulosa y lignina, y esta última se utiliza como material absorbente, es probable que el agente de curado sea adsorbido por el relleno, obstaculizando el proceso de vulcanización Aguilar (Aguilar-Bolados et al., 2023; Fan et al., 2022).

Tabla 3.2. Datos de curado de los compositos de NR

Muestra	ts_2 (min:seg)	t_{90} (min:seg)	Torque mínimo (M_L)	Torque máximo (M_H)
Control	0:55 ± 0:01	1:26 ± 0:08	0,043 ± 0,001	0,886 ± 0,068

HST10	0:59 ± 0:01	2:18 ± 0:13	0,059 ± 0,001	0,800 ± 0,001
HST20	1:09 ± 0:01	2:09 ± 0:08	0,067 ± 0,005	0,852 ± 0,036
HST40	1:15 ± 0:04	2:07 ± 0:03	0,088 ± 0,003	0,821 ± 0,033
HT10	1:13 ± 0:03	2:04 ± 0:07	0,070 ± 0,001	0,774 ± 0,063
HT20	1:16 ± 0:06	2:14 ± 0:08	0,090 ± 0,007	0,780 ± 0,039
HT40	1:17 ± 0:02	2:56 ± 0:20	0,101 ± 0	0,857 ± 0,001

3.3 Propiedades mecánicas, dureza, resiliencia y abrasión

Para comprender mejor cómo la incorporación de material lignocelulósico afecta la estructura y el comportamiento del NR, se llevaron a cabo pruebas mecánicas específicas. A continuación, se presentan los resultados obtenidos para los diferentes parámetros analizados. La tabla 3.3 muestra los valores del módulo a diferentes alargamientos (M100, M300 y M500), la tabla 3.4 muestra la resistencia a la tracción y el alargamiento a la rotura de los compuestos de caucho. La muestra sin relleno tiene un alargamiento máximo de sólo el 145%, y su M100 es de 1,26 MPa. Sin embargo, cuando se añade el relleno, el alargamiento máximo aumenta y alcanza el 699% para la muestra que contiene 40 phr (partes por 100 de caucho) de hoja tamizada. Del mismo modo, las muestras con hoja sin tamizar muestran un aumento del alargamiento. Esto indicaría que este material lignocelulósico, que contiene trazas de terpenos, tiende a ser compatible con el NR y favorecería la cohesión de las cadenas

poliméricas mediante una reticulación discreta. Cabe señalar que los monoterpenos, sesquiterpenos, proceden de una vía metabólica relacionada con la del NR y son estructuralmente similares en polaridad (Mosquera et al., 2021). Además, el mayor alargamiento registrado para los compuestos que contienen fibras tamizadas, menor que el de las no tamizadas, permite que el sistema presente un carácter homogéneo en la distribución del tamaño de partícula, lo que también contribuye a conseguir una distribución homogénea y una continuidad de fase mayor que la de aquellos compositos elastoméricos que contienen cargas no tamizadas (Samal, 2020). La tabla 3.4 también muestra los valores de dureza y resiliencia de los compuestos de caucho. La dureza tiende a mostrar un aumento marginal en los compositos con contenido de hoja tamizada de *E. nitens*, comportamiento atribuido a la composición del compuesto de relleno, al ser un material más duro que el del NR. Mientras tanto, la resiliencia tiende a disminuir gradualmente a medida que aumenta el contenido de relleno. El relleno parece tener un efecto discreto sobre las propiedades viscoelásticas del NR, la pérdida de resiliencia como resultado del aumento del contenido de relleno se atribuye al hecho de que el relleno ocupa el volumen libre del caucho, y esto dificulta el movimiento de las cadenas del NR.

Tabla 3.3. Propiedades mecánicas de los compuestos de NR consistentes en módulos al 100% (E100), 200% (E200) y 300% (E300) de alargamiento.

Muestra	E 100 (MPa)	E 200 (MPa)	E 300 (MPa)
Control	1,260 ± 0,012	-	-
HST10	1,419 ± 0,079	2,398 ± 0,124	-
HST20	1,563 ± 0,072	2,688 ± 0,206	-
HST40	1,155 ± 0,036	1,807 ± 0,061	2,518 ± 0,083
HT10	1,400 ± 0,029	-	-
HT20	1,538 ± 0,029	2,483 ± 0,026	3,552 ± 0,031
HT40	1,532 ± 0,063	2,443 ± 0,080	3,347 ± 0,100

Tabla 3.4. Resistencia a la tracción (RT), alargamiento a la rotura (A), dureza Shore A y resiliencia.

Muestra	RT (MPa)	A (%)	Dureza Shore A	Resiliencia (%)
Control	1,710 ± 0,039	145 ± 3	41,6 ± 0,418	74,1 ± 0,853
HST10	2,842 ± 0,045	240 ± 14	43,6 ± 1,025	69,7 ± 0,500
HST20	2,688 ± 0,206	200 ± 6	46,2 ± 0,274	68,3 ± 0,250
HST40	6,420 ± 0,179	626 ± 21	43,2 ± 0,975	60,7 ± 0,500
HT10	1,982 ± 0,132	170 ± 8	42,7 ± 0,837	70,3 ± 0,853
HT20	11,978 ± 0,808	707 ± 41	44 ± 0,500	67,8 ± 0,853
HT40	9,446 ± 0,292	699 ± 25	44,1 ± 0,548	63,5 ± 3,391

3.4 Caracterización estructural

3.4.1 Análisis de espectroscopía infrarroja

Con el fin de identificar los grupos funcionales que podrían estar involucrados en la interacción entre el NR y los rellenos de hoja de E. nitens, se realizó un análisis mediante espectroscopía FTIR. La Figura 3.1 muestra los espectros FTIR de las muestras de NR y de los compositos elastoméricos con relleno de hoja sin tamizar (HST) y tamizadas (HT). Como puede observarse, todos los espectros presentan señales dominantes características del NR, como las observadas en 2961 cm^{-1}, correspondientes al estiramiento CH, y las de 1447 cm^{-1} y 1375 cm^{-1}, asociadas a las deformaciones CH_2 y CH_3, respectivamente. Mientras que la vista a 842 cm^{-1} corresponde a flexión fuera del plano (Rahmah et al., 2019). No se observan diferencias significativas entre los compositos con relleno y sin relleno.

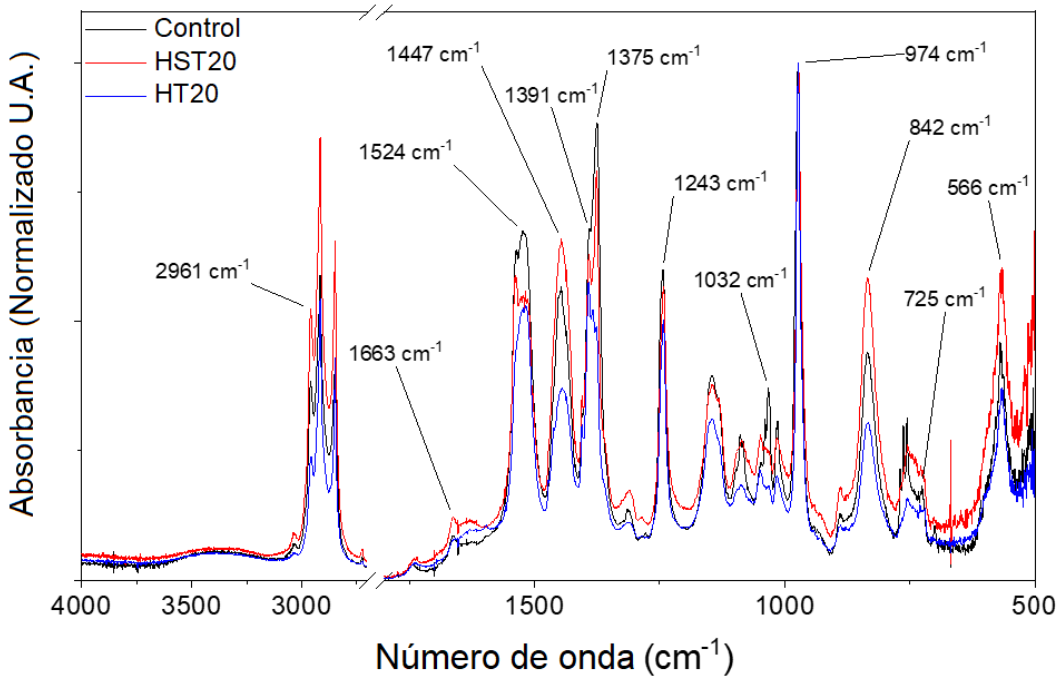
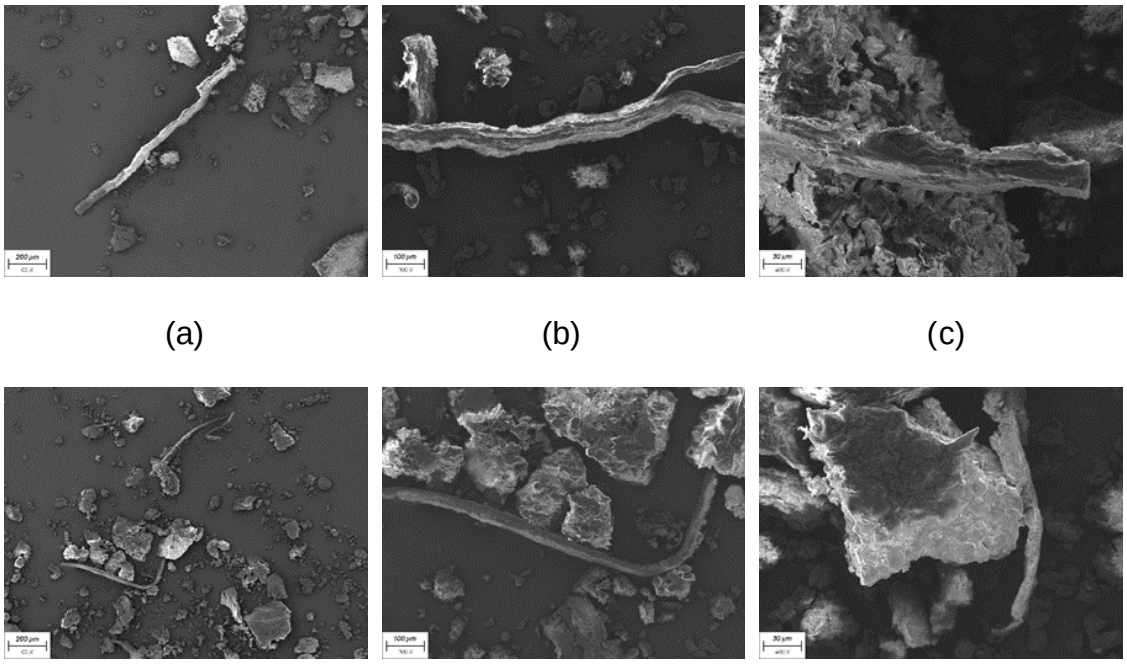


Figura 3.1. Espectros FTIR de compuestos de NR con contenido de HST y HT.

3.4.2 Microscopía Electrónica de Barrido

Se utilizó un microscopio electrónico de barrido (SEM) para observar la morfología de las muestras, obteniendo imágenes de alta resolución. La Figura 3.2 muestra imágenes SEM de los rellenos tamizados y sin tamizar. Como puede verse, en el caso de las cargas sin tamizar, las fibras tienen una amplia distribución de tamaño, teniendo algunas de las fibras vegetales una relación de aspecto alta. Por el contrario, la carga tamizada tiene una distribución de

tamaño más homogénea, lo que demuestra la eficacia del proceso de molienda y tamizado.



(a) (b) (c)

(d) (e) (f)

Figura 3.2. Imágenes SEM de HST (a, b y c) y HT (d, e y f).

La figura 3.3 muestra las micrografías SEM de la sección transversal de fractura de las muestras de propiedades mecánicas del NR y de las muestras compuestas que contienen 20 phr de material de relleno tamizado y sin tamizar. La homogeneidad de fase del NR se ve alterada por la presencia del material de relleno. Por ejemplo, las muestras que contienen HST muestran partículas y

fibras distribuidas aleatoriamente en la matriz de caucho, mientras que las que contienen HT muestran partículas de diámetro comparable distribuidas en la matriz polimérica. Cabe mencionar que, aunque la continuidad de fase se ve modificada por la continuidad del relleno, puede deducirse que el relleno tiene cierta afinidad con la fase polimérica. Esto podría explicar la mejora significativa de las propiedades mecánicas de los compuestos que contienen cargas vegetales en comparación con el NR.

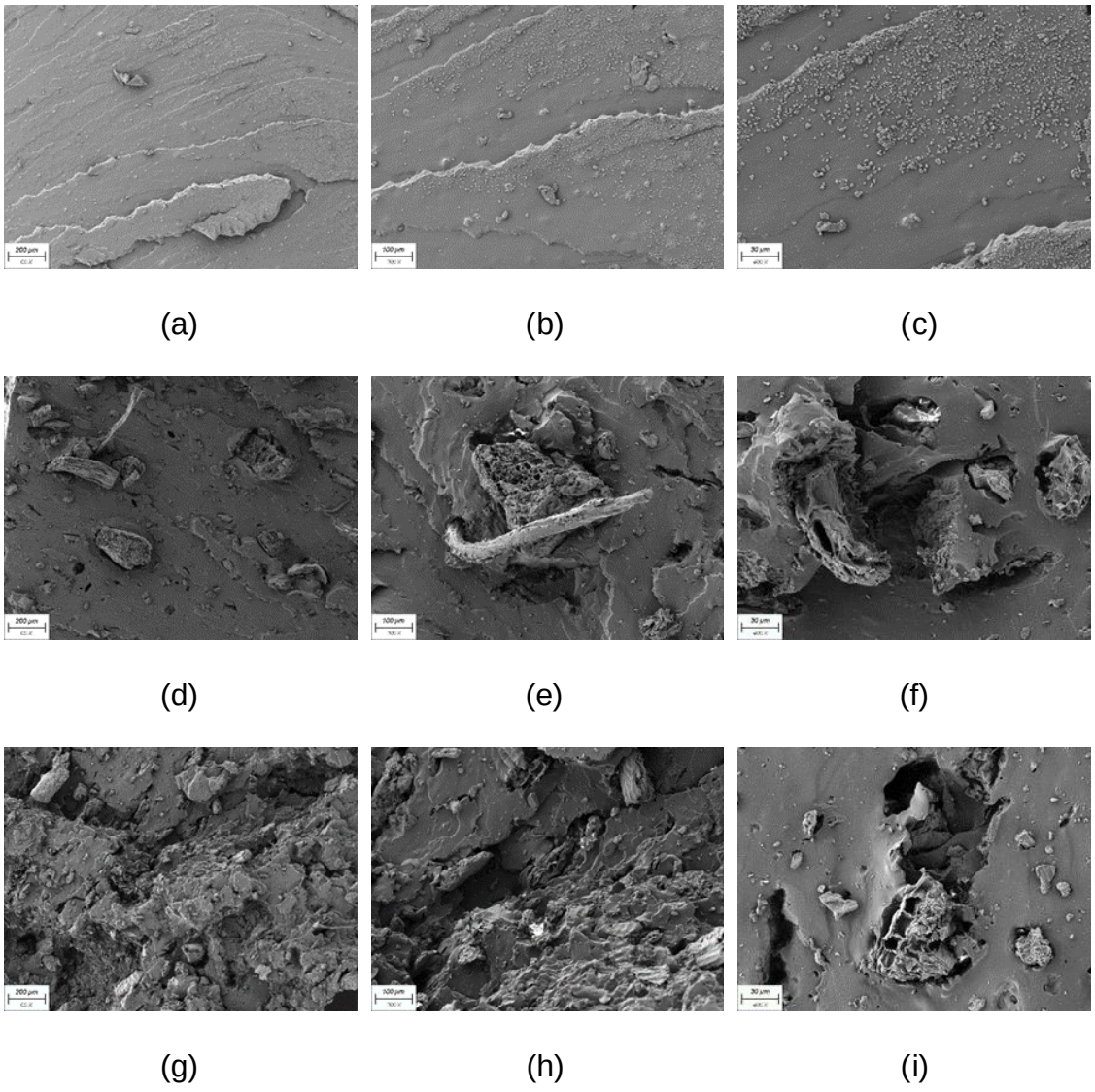
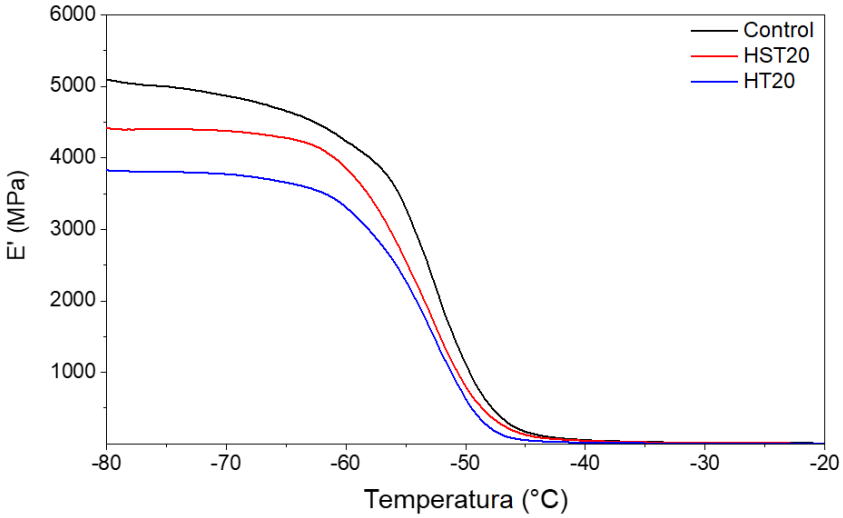


Figura 3.3. Imagen de SEM de NR (a, b y c), HST20 (d, e y f), y HT20 (g, h y i).

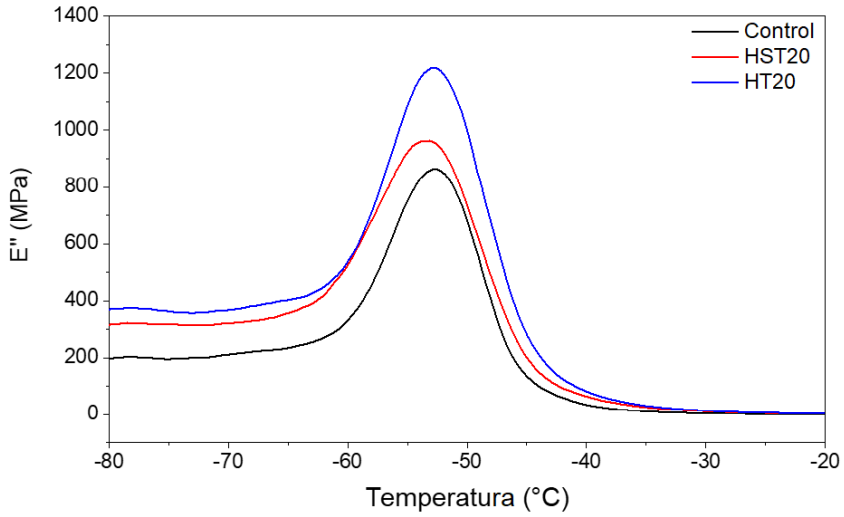
3.4.3 Análisis mecánico dinámico del compuesto de NR

Se llevó a cabo un análisis mecánico dinámico para evaluar el comportamiento viscoelástico de los compuestos de caucho natural y sus respectivos rellenos.

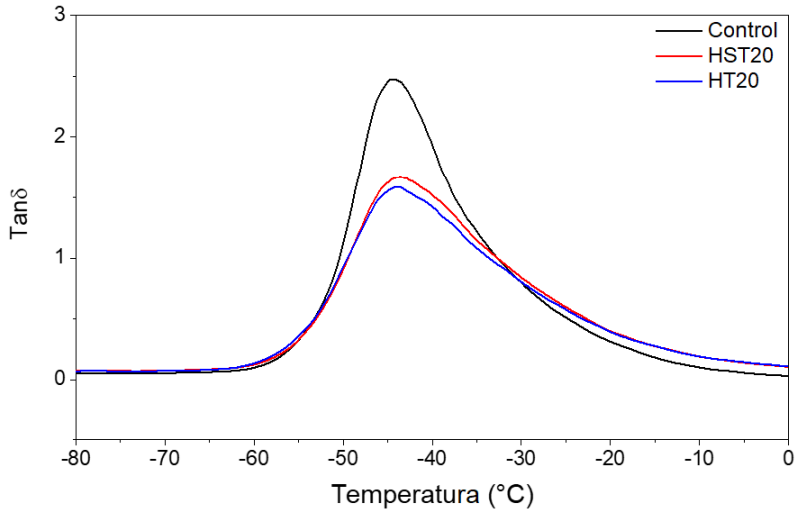
La figura 3.4 muestra los módulos de almacenamiento y de pérdida, así como el factor de pérdida de las muestras a base de NR y de los compuestos que contienen relleno.



(a)



(b)



(c)

Figura 3.4. Análisis mecánico dinámico de NR, HST20 y HT20 que consta de módulo de almacenamiento (E'), módulo de pérdida (E'') y factor de pérdida (tandelta).

En la Figura 3.4 es evidente que el módulo de almacenamiento de las muestras con relleno vegetal aumenta en comparación con el del NR. Este aumento puede atribuirse al papel de refuerzo del material de relleno para el NR y a su compatibilidad específica con él. Además, el mayor aumento observado en la muestra que contiene el relleno HT proporciona una prueba más de esta compatibilidad. Es probable que este aumento se deba a la mayor regularidad en el tamaño y a una menor distribución del tamaño del material de relleno, lo que facilita la interacción entre el polímero y el relleno.

Los módulos de pérdida (Figura 3.4b) de los materiales compuestos con cargas a bajas temperaturas son comparables y superiores a los del NR sin cargas. Sin embargo, existe una diferencia significativa entre los módulos de pérdida de los materiales compuestos con cargas HST y HT. Esto sugiere que la morfología y la distribución del tamaño de las cargas influyen en la disipación de la tensión. Es importante señalar que las curvas alcanzan sus máximos en torno a -53°C, que corresponde a la temperatura de transición vítrea de estos materiales.

3.5 Cultivos bacterianos

La actividad antibacteriana se pudo determinar a través del método de difusión en agar. En la tabla 3.5 se muestran los valores de los diámetros de los halos de inhibición de los crecimientos bacterianos de *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli* FT-17, *Escherichia coli* K-12, *Pseudomonas fluorescens* y *Staphylococcus*

aureus. Se determina que los aditivos del NR, como los sistemas aceleradores y activadores, ejercen un efecto inhibidor sobre el crecimiento bacteriano, lo que indica su toxicidad. La muestra AEHST presenta valores similares a los reportados en el estudio realizado por (Hashemi & Jafarpour, 2020) donde *Bacillus* spp. presenta la mayor zona de inhibición (2,3 cm), seguido de *Staphylococcus* spp. (2,1 cm) y *Escherichia coli* (1,7 cm). Pseudomonas spp. presentó 1,8 cm de inhibición, sin embargo, en los resultados presentados en esta investigación no se presentó inhibición. En el estudio realizado por (Tyagi & Malik, 2011) *Pseudomonas* spp. solo estuvo un poco por debajo de *E. coli* en los valores de inhibición, por lo que la falta de inhibición observada en esta investigación puede estar relacionada con el grado de turbidez de *P. fluorescens*, con la concentración del AE empleada y/o con la especie de *Eucalyptus* spp. utilizada.

Los compuestos presentes en el AEHST tienen pequeñas variaciones en la concentración de compuestos en comparación con el AEHT, siendo más pronunciado en el compuesto 1R-α-Pineno, como se observa en la tabla 3.2. Sin embargo, en los resultados obtenidos en la tabla 3.5 se evidencian diferencias significativas, pues el AEHT no presentó inhibición bacteriana para *B. subtilis* y las *E. coli,* mientras que el AEHST si presentó inhibición frente a estas mismas bacterias. Estos resultados pueden estar relacionados con las pequeñas variaciones en la concentración de los compuestos, con el proceso de tamizado de las muestras o con factores que no están siendo evaluados en

este trabajo, como la densidad del aceite esencial, la cual afectaría en la difusión de los compuestos por el agar. Se observa que las bacterias Gram positivas fueron más susceptibles al composite que las Gram negativas, lo que se podría deber a las diferencias de componentes estructurales entre microorganismos, destacando la presencia de una doble membrana y lipopolisacáridos en las bacterias Gram negativas (Russell, 1991), los cuales son componentes esenciales de estas bacterias, pues desempeñan un papel crucial en la interacción entre las bacterias y el medio externo (Rojas Campos, 1995). En general, las muestras con HT presentaron una mayor inhibición bacteriana en comparación con HST. Por ejemplo, en las muestras de 20phr de *B. subtilis*, una bacteria Gram positiva, se observan valores de inhibición promedio de 1,5 cm para HST y 2,15 cm para HT. Y como ejemplo de bacteria Gram negativa en 20phr está *E. coli* FT-17, con valores de inhibición promedio de 0,817 cm para HST y 1,017 cm para HT. Esta diferencia se puede atribuir al proceso de tamizado, que reduce la cantidad de fibra presente en el relleno, resultando en una menor cantidad de celulosa, hemicelulosa y lignina, lo que limita la cantidad de alimento disponible para las bacterias.

Tabla 3.5. Diámetro de los halos de inhibición del crecimiento bacteriano (cm) de los compositos elastoméricos. Promedio y desviación estándar.

Muestra	*B. subtilis*	*E. coli* FT-17	*E. coli* K-12	*P. fluorescens*	*S. aureus*
Control	2,650 ± 0,695	1,223 ± 0,032	1,217 ± 0,076	0,623 ± 0,025	3,100 ± 0,100
AEHST	1,233 ± 0,058	0,750 ± 0,071	0,825 ± 0,177	0 ± 0	1,067 ± 0,379
HST10	1,650 ± 0,477	1,125 ± 0,096	1,133 ± 0,058	0,620 ± 0,066	2,833 ± 0,289
HST20	1,500 ± 0,624	0,817 ± 0,104	1,083 ± 0,076	0,667 ± 0,047	2,833 ± 0,306
HST40	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	1 ± 0
AEHT	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	1 ± 0,346
HT10	2,033 ± 0,551	1,188 ± 0,063	1,150 ± 0,132	0,710 ± 0,036	2,900 ± 0,100
HT20	2,150 ± 0,973	1,017 ± 0,176	1,033 ± 0,202	0,393 ± 0,341	3,033 ± 0,058
HT40	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	1 ± 0

En la figura 3.5 se aprecia que el halo de inhibición disminuye a medida que la cantidad de relleno aumenta, teniendo de excepción el caso de *B. subtilis* y *S. aureus* en HT20, con valores de 2,150 cm y 3,033 cm respectivamente, lo que podría indicar que las propiedades del relleno de hoja estarían interactuando de manera diferente dentro de la matriz polimérica, considerando además que esta muestra es la que presentó mayor elongación, según lo registrado en la tabla 3.3. Cabe destacar que *Pseudomonas* spp. ha sido utilizada para la degradación biológica del NR (Aboelkheir et al., 2019) y deslignificación

(Priyadarshinee et al., 2015). Esta bacteria presentó más inhibición en las muestras de HST20 y HT10 que en la muestra control, con valores de 0,667 cm, 0,710 cm y 0,623 cm, lo que podría estar relacionado con la turbidez evaluada para esta bacteria, pudiendo ser una concentración bacteriana más baja de la óptima. Al observar los datos obtenidos se demuestra que el contenido de relleno produce un cambio en el comportamiento de las bacterias hacia el composite, alcanzando un máximo de proliferación. Esto indicaría que la naturaleza antimicrobiana del caucho natural vulcanizado disminuye (Sarih & Rashid, 2023), lo que probablemente es promovido por la presencia de biomoléculas como los polisacáridos que actúan como fuente de carbono favoreciendo el crecimiento de las bacterias (Sichert & Cordero, 2021).

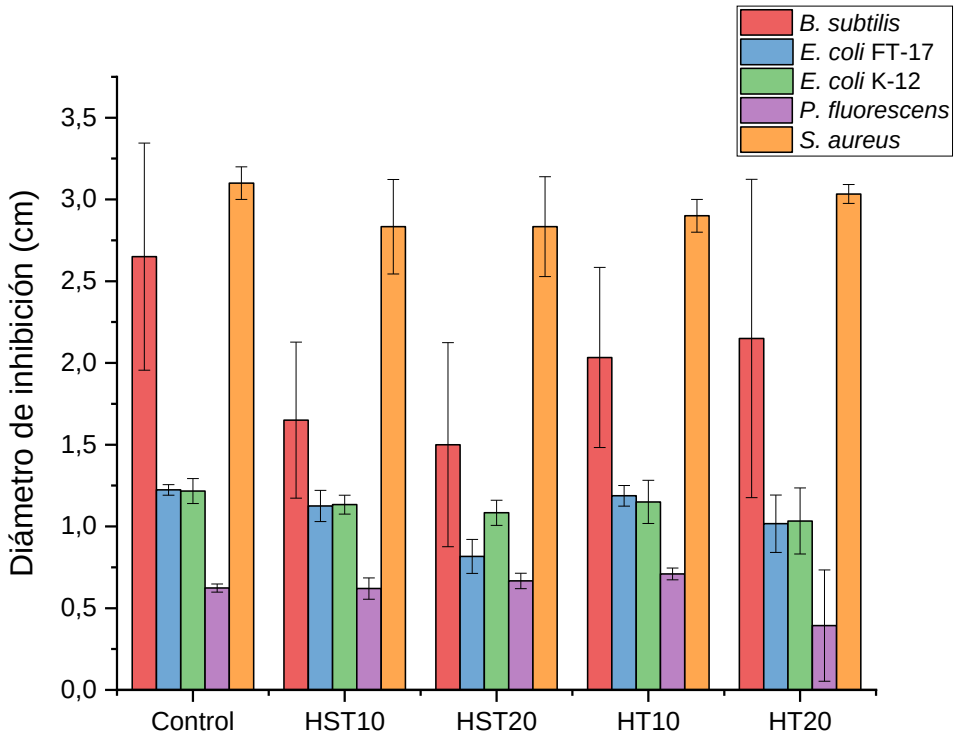


Figura 3.5. Comparación de la inhibición neta de las muestras de 10 y 20 phr con el control NR.

Según los resultados de la evaluación antimicrobiana realizada con diversos microorganismos bacterianos, se determinó que el contenido de relleno de hoja reduce significativamente la toxicidad del material, esto sugiere que, al exponerse a un entorno ambiental, el material no tendría un impacto tan adverso en los microorganismos que coexisten en ese medio, comparado al efecto negativo que sí produce el polímero en base a NR sin relleno. Además, indica que el relleno proporciona una fuente de carbono como la celulosa, lo

que favorece la proliferación de las bacterias. Dado que las hojas de *E. nitens* son un subproducto forestal con una variedad de componentes químicos (celulosa, lignina y aceite esencial), el relleno de hoja no solo puede favorecer la interacción con los microorganismos, sino que también mejora la composición de la matriz de NR. Esto resulta relevante al permitir explorar aplicaciones en las que se requiera proliferación bacteriana o un impacto mínimo en las colonias bacterianas. Este material podría emplearse como estructura de soporte en diversas funciones y ambientes, tales como en biorremediación, compostaje, revestimientos para horticultura o jardinería, biorreactores, estructuras sumergidas, dispositivos en contacto con suelos y en ecosistemas naturales. Además, abre la posibilidad de evaluar la incidencia de este material en múltiples tipos de microorganismos, pudiendo ofrecer nuevas perspectivas sobre su comportamiento en distintos ecosistemas.

IV. CONCLUSIONES

Se prepararon materiales compuestos a base de caucho natural y un relleno derivado de hojas de *Eucalyptus nitens*. Se observó una discreta ralentización del proceso de reticulación y una disminución del módulo máximo, lo que puede atribuirse a la estructura química del relleno vegetal, así como a la adsorción de los agentes reticulantes. La adición de este relleno al caucho promovió un aumento de las propiedades mecánicas, incrementando significativamente el alargamiento a la rotura y la resistencia a la tracción. Se demostró que la presencia de un relleno preparado a partir de hojas secas molidas y tamizadas promovía un mayor aumento de las propiedades mecánicas que el relleno de hojas secas molidas sin tamizar. Por otra parte, el contenido de relleno vegetal facilitó la proliferación bacteriana, aumentando el índice de afinidad del material por estos microorganismos, como las bacterias *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli* FT-17, *Escherichia coli* K-12, *Pseudomonas fluorescens* y *Staphylococcus aureus*. Esta mayor afinidad se atribuyó a la naturaleza química del relleno, compuesto por macromoléculas que actuarían como fuente de carbono para las bacterias. Los resultados son interesantes porque los materiales que tienen una mayor afinidad por microorganismos como las bacterias pueden tener un menor impacto ambiental en diversos ecosistemas.

V. GLOSARIO

10R: Son principios que promueven la sostenibilidad y la gestión responsable de recursos, ayudando a minimizar el impacto ambiental y a promover una economía circular. Estas son: rechazar, replantear, reducir, reutilizar, reparar, reacondicionar, remanufacturar, repropositar, reciclar y recuperar.

β-(1-4)-glucosídicos: Tipo de enlace glicosídico que une unidades de glucosa en una cadena lineal.

Ácido poliláctico: Biopolímero termoplástico derivado del ácido láctico, obtenido de fuentes renovables como el maíz. Es biodegradable y posee propiedades mecánicas similares a los plásticos convencionales.

Alcanos: Hidrocarburos saturados compuestos únicamente por carbono e hidrógeno, con enlaces simples entre sus átomos. Son incoloros e inodoros, y se encuentran comúnmente en el petróleo y el gas natural.

Aldehídos: compuestos orgánicos que contienen un grupo funcional carbonilo en el extremo de una cadena de carbono. Son conocidos por su olor distintivo y se utilizan en la producción de resinas, plásticos y fragancias.

Análisis mecánico dinámico: Técnica que estudia las propiedades viscoelásticas de materiales, sometiéndolos a una fuerza oscilante y midiendo su deformación, obteniendo información sobre su elasticidad y viscosidad.

Carbonato de calcio: Compuesto químico natural que se encuentra en rocas, conchas y cáscaras de huevo. Es un polvo blanco poco soluble en agua y se descompone al calentarse.

Carbono-positivo: Se refiere a la condición en la que una organización o actividad elimina más dióxido de carbono (CO_2) de la atmósfera de lo que emite. Esto implica generar un impacto ambiental positivo al secuestrar más CO_2, contribuyendo a la reducción del cambio climático mediante el uso de energías renovables y prácticas sostenibles.

Cetonas: Compuestos orgánicos que contienen un grupo carbonilo en el interior de su cadena de carbono.

Coloidal: Sistema en el que partículas microscópicas insolubles están dispersas en otra sustancia, formando una mezcla homogénea. Estas partículas, de tamaño entre un nanómetro y un micrómetro, permanecen suspendidas sin sedimentarse.

Cristaloide: Sólido que presenta una estructura ordenada y repetitiva a nivel atómico, similar a los cristales. Contribuyen a la impermeabilidad y protección de la superficie foliar

Cutina: Biopolímero que forma parte de la cutícula de las plantas. Está compuesta principalmente de ácidos grasos y se encuentra en la superficie de las hojas, donde actúa como una barrera protectora contra la pérdida de agua y

contra patógenos. Contribuye a la impermeabilidad de la hoja y ayuda a mantener la integridad estructural de la planta.

D-glucopiranosa: Forma cíclica de la glucosa, caracterizada por su estructura de anillo de seis miembros. Es un monosacárido fundamental en la formación de polisacáridos y en el metabolismo energético de los seres vivos.

Derivados oxigenados: Compuestos orgánicos que contienen uno o más átomos de oxígeno en su estructura. Los derivados oxigenados son comunes en la naturaleza y son esenciales en muchas reacciones biológicas, actuando como metabolitos, fragancias y saborizantes.

Deslignificación: Proceso de eliminación de lignina de materiales lignocelulósicos, como madera y residuos agrícolas, para acceder a la celulosa, se puede llevar a cabo mediante métodos químicos, físicos o biológicos.

Economía circular: Es un modelo de producción y consumo que maximiza la reutilización de recursos, minimizando residuos y contaminación. A diferencia del enfoque lineal de "usar y tirar", promueve prácticas como compartir, reparar y reciclar para extender la vida útil de productos y materiales.

Elasticidad: La capacidad de un material para deformarse bajo carga y luego volver a su forma original cuando se retira la carga.

Entrecruzamiento: La formación de enlaces covalentes entre cadenas poliméricas. Aumenta la rigidez y la resistencia del material.

Espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier con reflectancia total atenuada (FTIR-ATR): Técnica analítica que combina la espectroscopía infrarroja con el método de reflectancia total atenuada. Permite el análisis directo de muestras sólidas y líquidas sin preparación adicional. En FTIR-ATR, un haz de luz infrarroja se refleja dentro de un cristal de alta refracción, generando una onda que penetra en la muestra, proporcionando información molecular.

Ésteres: Compuestos químicos formados a partir de la reacción entre un ácido (generalmente un ácido carboxílico) y un alcohol, con la eliminación de agua. Se caracterizan por su estructura que incluye un grupo carbonilo unido a un oxígeno que, a su vez, está vinculado a un carbono.

Estilbeno: Tipo de compuesto orgánico que pertenece a la familia de los hidrocarburos aromáticos. Se caracteriza por tener dos grupos de fenilo (anillos bencénicos) conectados por un doble enlace de carbono.

Factor de pérdida (tandelta): Parámetro que mide la eficiencia de un sistema aislante, representando la relación entre la potencia disipada como calor y la potencia almacenada en un material. Se expresa como la tangente del ángulo de pérdida (tan δ), donde un valor más bajo indica menor pérdida de energía y mejor desempeño del aislamiento.

Fenoles: Compuestos orgánicos que constan de un anillo bencénico con un grupo hidroxilo. Se presenta como un líquido incoloro o un sólido y es tóxico.

Fitorremediador: Es un organismo, generalmente una planta, que se utiliza para descontaminar suelos, aguas o aire mediante la absorción, degradación o estabilización de contaminantes. Este proceso se basa en la capacidad natural de las plantas y sus microorganismos asociados para eliminar compuestos dañinos, como metales pesados y contaminantes orgánicos.

Flavonoides: Compuestos polifenólicos presentes en plantas, reconocidos por sus propiedades antioxidantes y beneficios para la salud.

Flexión fuera del plano: Tipo de vibración molecular que implica un cambio en el ángulo de enlace de un grupo funcional fuera del plano principal de la molécula.

Hidrolato: Extracto acuoso obtenido por destilación de plantas, que contiene compuestos hidrosolubles como flavonoides, fenoles y ácidos. Estos compuestos son solubles en agua, lo que les permite disolverse en el hidrolato, a diferencia de los aceites esenciales, que son principalmente liposolubles.

Hidroxilo: Grupo funcional compuesto por un átomo de oxígeno unido a un átomo de hidrógeno. Su presencia en compuestos orgánicos influye en sus propiedades químicas y físicas. Son importantes en procesos biológicos y en la formación de enlaces de hidrógeno.

Higroscópico: Propiedad de ciertos materiales de absorber y retener humedad del ambiente formando soluciones o geles, lo que puede afectar su estabilidad y funcionalidad. Esta característica es importante en aplicaciones como la conservación de alimentos, productos farmacéuticos y en la industria química.

Kenaf: Planta fibrosa nativa de África (*Hibiscus cannabinus*) cultivada por su fibra biodegradable, utilizada en la producción de papel, textiles, embalajes y usada como alternativa de la madera.

Lignano: Tipo de compuesto fenólico, se caracterizan por su estructura química, que consiste en dos unidades de fenilpropano unidas por enlaces carbon-carbon.

Masa molar: Es la masa de un mol de una sustancia, expresada en gramos por mol (g/mol). Se calcula sumando las masas atómicas de todos los átomos en una fórmula química.

Metabolitos secundarios: Compuestos no esenciales que producen las plantas y otros organismos para ayudar en la defensa contra depredadores y patógenos. Incluyen grupos como alcaloides, terpenoides y fenoles.

Microscopía electrónica de barrido (SEM): Técnica de imagen que utiliza un haz de electrones para analizar la superficie de muestras, proporcionando imágenes de alta resolución y detalles tridimensionales.

Módulo de almacenamiento (E'): Medida que representa la capacidad de un material viscoelástico para almacenar energía elástica durante la deformación. Se expresa como la relación entre el esfuerzo y la deformación.

Módulo de pérdida (E’’): Medida que representa la energía disipada como calor en un material viscoelástico durante la deformación. Se relaciona con la respuesta viscosa del material.

Monómeros: Moléculas pequeñas que se unen para formar polímeros a través de reacciones químicas. Actúan como unidades básicas en la síntesis de materiales como plásticos, proteínas y carbohidratos.

Patrón de turbidez McFarland: Estándar utilizado en microbiología para medir la densidad de suspensiones bacterianas. Se expresa en una escala que va de 0,5 a 10, donde cada valor corresponde a una concentración específica de unidades formadoras de colonias (UFC) por mililitro. Este método permite estandarizar pruebas de sensibilidad y antibiogramas sin necesidad de incubación.

Peso Molecular: La masa total de una molécula, expresada en unidades de masa atómica (u). En polímeros, el peso molecular influye en sus propiedades físicas y mecánicas.

Polihidroxialcanoatos: Poliésteres biodegradables producidos por microorganismos a través de la fermentación de azúcares o lípidos, una vez extraídos de la célula, presentan propiedades físicas similares a plásticos derivados del petróleo.

Polisacáridos: Carbohidratos complejos formados por largas cadenas de monómeros de monosacáridos. Sirven como reservas de energía y como componentes estructurales.

Ratán: Fibra natural obtenida de palmeras trepadoras del género *Calamus*, que crecen en regiones tropicales. Es conocido por su flexibilidad y resistencia.

Reometría: La medición de la respuesta mecánica de un material ante una fuerza aplicada. Se utiliza para estudiar la viscosidad, elasticidad y flujo de materiales.

Resiliencia: La capacidad de un material o sistema para recuperar su forma original después de ser deformado o sometido a estrés.

Reticulación: La formación de enlaces químicos entre moléculas o cadenas poliméricas. En polímeros, la reticulación mejora la resistencia y estabilidad del material.

Sistema semi-eficiente: Es un método que utiliza proporciones intermedias de azufre y acelerantes en la formulación, optimizando el proceso de entrecruzamiento del caucho. Este sistema busca mejorar la eficiencia de vulcanización en comparación con métodos convencionales, equilibrando costos y propiedades del material final.

Sisal: Fibra natural obtenida de la planta *Agave sisalana*, es conocida por su resistencia, durabilidad y por ser biodegradable.

Silicatos: Compuestos formados por silicio y oxígeno, que constituyen aproximadamente el 95% de la corteza terrestre, son la base de minerales y rocas como cuarzo, feldespatos, micas, piroxenos y anfíboles.

Sílice: Mineral compuesto por dióxido de silicio (SiO_2), que se presenta en formas cristalinas y amorfas. Comúnmente encontrado en arena y rocas, es conocido por su dureza y resistencia a la corrosión.

Tanino: Compuestos fenólicos que precipitan proteínas y se encuentran en diversas partes de las plantas. Tienen propiedades astringentes y son importantes para la defensa de las mismas.

Tiempo de quemado (ts2): Tiempo en que la viscosidad de un compuesto de caucho comienza a aumentar significativamente, indicando el inicio del proceso de vulcanización. Se mide como una medida de seguridad para evaluar la estabilidad del material antes de que se inicie el curado.

Tiempo óptimo de vulcanización (t90): Tiempo necesario para alcanzar el 90% del entrecruzamiento en un compuesto de caucho durante el proceso de vulcanización. Este parámetro es crucial para determinar las condiciones óptimas de curado y asegurar las propiedades mecánicas deseadas del material.

Torque máximo (MH): Valor máximo de torque registrado durante el proceso de vulcanización de un compuesto de caucho. Indica el grado de entrecruzamiento

y la rigidez del material, aumentando a medida que se inicia el curado y alcanzando su punto máximo antes de que comience la reversión del curado.

Torque mínimo (ML): Valor más bajo de torque registrado durante la prueba, que indica la viscosidad y rigidez del compuesto de caucho no vulcanizado. Este parámetro es fundamental para evaluar el comportamiento de procesamiento del material antes de la vulcanización.

Transición vítrea (Tg): Temperatura a la que un polímero amorfo cambia de un estado rígido y quebradizo a uno gomoso y flexible. Este fenómeno es crucial para entender el comportamiento mecánico de los materiales poliméricos.

Viscoelasticidad: Propiedad de ciertos materiales que exhiben tanto características viscosas como elásticas al ser deformados. Al aplicar una fuerza, el material se deforma lentamente (comportamiento viscoso) y, al retirar la fuerza, puede recuperar su forma original (comportamiento elástico).

Yute: Fibra textil natural obtenida de las plantas *Corchorus capsularis* y *Corchorus olitorius*. Es conocida por su resistencia y bajo costo, además de ser cultivada sin necesidad de fertilizantes ni pesticidas, lo que la convierte en una opción sostenible.

VI. BIBLIOGRAFÍA

Aboelkheir, M. G., Bedor, P. B., Leite, S. G., Pal, K., Toledo Filho, R. D., & Gomes de Souza Jr, F. (2019). Biodegradation of Vulcanized SBR: A Comparison between *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Streptomyces* sp. *Scientific reports*, *9*(1), 19304. https://doi.org/10.1038/s41598-019-55530-y

Aguilar-Bolados, H., Bascuñan-Heredia, A., & Alvarez, G. (2023). Sustainable Approach of the Natural Rubber. En F. Avalos Belmontes, F. J. González, & M. Á. López-Manchado (Eds.), *Green-Based Nanocomposite Materials and Applications* (pp. 279-294). Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-031-18428-4_14

Aguila-Toledo, E., Maldonado-Magnere, S., Yazdani-Pedram, M., Bascuñan-Heredia, A., Dahrouch, M. R., Molina, F., Hernández Santana, M., Verdejo, R., Lopez-Manchado, M. A., & Aguilar-Bolados, H. (2023). Fluorosilicone Composites with Functionalized Graphene Oxide for Advanced Applications. *ACS Applied Polymer Materials*, *5*(10), 7755-7765. https://doi.org/10.1021/acsapm.3c00949

Akahori, Y., & Kawahara, S. (2023). Effect of water on the accelerated sulfur vulcanization of natural rubber. *Polymer Testing*, *123*, 108030. https://doi.org/10.1016/j.polymertesting.2023.108030

Argote, F. E., Montenegro, Z. J. S., Delgado, M. E. T., Alvarez, J. A. P., Hurtado, A., & Ospina, J. D. (2017). Evaluación de la capacidad inhibitoria de aceites esenciales en *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*. *Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial: BSAA*, *15*(2), 52-60. https://doi.org/10.18684/bsaa(v15)EdiciónEspecialn2.578

Asenjo, S. B. (2012). El género Eucalyptus. *Ciencia & Investigación Forestal*, *18*(3), Article 3. https://doi.org/10.52904/0718-4646.2012.395

Batish, D. R., Singh, H. P., Kohli, R. K., & Kaur, S. (2008). Eucalyptus essential oil as a natural pesticide. *Forest ecology and management*, *256*(12), 2166-2174. https://doi.org/10.1016/j.foreco.2008.08.008

Begum, K., & Islam, Md. A. (2013). Natural fiber as a substitute to synthetic fiber in polymer composites: A review. *Research Journal of Engineering Sciences*, *2*, 46-53. https://www.isca.me/IJES/Archive/v2/i4/10.ISCA-RJEngS-2013-010.pdf.

Brooker, I., Kleinig, D., & Brooker, M. I. H. (2006). Field Guide to Eucalypts. Volume 1. South-eastern Australia (3rd edition). *Bloomings Books*. https://www.nhbs.com/field-guide-to-eucalypts-volume-1-book

Campilho, R. (2017). Recent innovations in biocomposite products. En *Biocomposites for high-performance applications* (pp. 275-306). Elsevier. https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780081007938000107

Cao, L., Yuan, D., Fu, X., & Chen, Y. (2018). Green method to reinforce natural rubber with tunicate cellulose nanocrystals via one-pot reaction. *CELLULOSE*, *25*(8), 4551-4563. https://doi.org/10.1007/s10570-018-1877-1

Chandorkar, N., Tambe, S., Amin, P., & Madankar, C. (2021). A systematic and comprehensive review on current understanding of the pharmacological actions, molecular mechanisms, and clinical implications of the genus Eucalyptus. *Phytomedicine Plus*, *1*(4), 100089. https://doi.org/10.1016/j.phyplu.2021.100089

Chua, K. Y. L., Stinear, T. P., & Howden, B. P. (2013). Functional genomics of *Staphylococcus aureus*. *BRIEFINGS IN FUNCTIONAL GENOMICS*, *12*(4), 305-315. https://doi.org/10.1093/bfgp/elt006

Cowie, J. M. G., & Arrighi, V. (2007). Polymers: Chemistry and Physics of Modern Materials (3rd edition). *CRC Press*. https://doi.org/10.1201/9781420009873

Dannenberg, E. M. (1982). Filler Choices in the Rubber Industry. *Rubber Chemistry and Technology*, *55*(3), 860-880. https://doi.org/10.5254/1.3535905

de Souza, H. J. P. L., Arantes, M. D. C., Vidaurre, G. B., Andrade, C. R., Carneiro, A. de C. O., de Souza, D. P. L., & Protásio, T. de P. (2020). Pelletization of eucalyptus wood and coffee growing wastes: Strategies for biomass valorization and sustainable bioenergy production. *Renewable Energy*, *149*, 128-140. https://doi.org/10.1016/j.renene.2019.12.015

Delaquis, P. J., Stanich, K., Girard, B., & Mazza, G. (2002). Antimicrobial activity of individual and mixed fractions of dill, cilantro, coriander and eucalyptus essential oils. *International journal of food microbiology*, *74*(1-2), 101-109. https://doi.org/10.1016/S0168-1605(01)00734-6

dos Santos, R. J., da Silva Agostini, D. L., Cabrera, F. C., Aparecido, E., dos Reis, P., Ruiz, M. R., Budemberg, E. R., Teixeira, S. R., & Job, A. E. (2014). Sugarcane Bagasse Ash: New Filler to Natural Rubber Composite. *POLIMEROS-CIENCIA E TECNOLOGIA*, *24*(6), 646-653. https://doi.org/10.1590/0104-1428.1547

Economy, L. M., Wiegner, T. N., Strauch, A. M., Awaya, J. D., & Gerken, T. (2019). Rainfall and Streamflow Effects on Estuarine *Staphylococcus aureus* and Fecal Indicator Bacteria Concentrations. *JOURNAL OF ENVIRONMENTAL QUALITY*, *48*(6), 1711-1721. https://doi.org/10.2134/jeq2019.05.0196

Elaissi, A., Rouis, Z., Mabrouk, S., Salah, K. B. H., Aouni, M., Khouja, M. L., Farhat, F., Chemli, R., & Harzallah-Skhiri, F. (2012). Correlation Between Chemical Composition and Antibacterial Activity of Essential Oils from Fifteen Eucalyptus Species Growing in the Korbous and Jbel Abderrahman Arboreta (North East Tunisia). *Molecules*, *17*(3), Article 3. https://doi.org/10.3390/molecules17033044

Elangovan, S., & Mudgil, P. (2023). Antibacterial properties of *Eucalyptus globulus* essential oil against MRSA: A systematic review. *Antibiotics*, *12*(3), 474. https://doi.org/10.3390/antibiotics12030474

Fan, H., Li, F., Huang, H., Yang, J., Zeng, D., Liu, J., & Mou, H. (2022). pH graded lignin obtained from the by-product of extraction xylan as an adsorbent. *Industrial Crops and Products*, *184*, 114967. https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2022.114967

Gaitaev, A. E., Kiskaeva, A. K.-P., Mutalimov, D. A., Abdulkarimov, D. K., Korkmazova, A. P., & Bekishieva, A. R. (2023). Biological Properties of *Escherichia coli*. Symptoms and Diagnosis of Colibacillosis. *ENTOMOLOGY AND APPLIED SCIENCE LETTERS*, *10*(1), 112-118. https://doi.org/10.51847/KdXtbPD3WD

García, C., Montero, G., Coronado, M. A., Valdez, B., Stoytcheva, M., Rosas, N., Torres, R., & Sagaste, C. A. (2017). Valorization of Eucalyptus Leaves by Essential Oil Extraction as an Added Value Product in Mexico. *Waste and Biomass Valorization*, *8*(4), 1187-1197. https://doi.org/10.1007/s12649-016-9695-x

Garcia-Seco, D., Bonilla, A., Algar, E., Garcia-Villaraco, A., Gutierrez Manero, J., & Ramos-Solano, B. (2013). Enhanced blackberry production using *Pseudomonas fluorescens* as elicitor. *AGRONOMY FOR SUSTAINABLE DEVELOPMENT*, *33*(2), 385-392. https://doi.org/10.1007/s13593-012-0103-z

Geffert, A., Geffertova, J., & Dudiak, M. (2019). Direct method of measuring the pH value of wood. *Forests*, *10*(10), 852. https://doi.org/10.3390/f10100852

Gilles, M., Zhao, J., An, M., & Agboola, S. (2010). Chemical composition and antimicrobial properties of essential oils of three Australian Eucalyptus species.

Food Chemistry, *119*(2), 731-737. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.07.021

Guimarães, R., Barros, L., Carvalho, A. M., Sousa, M. J., Morais, J. S., & Ferreira, I. C. F. R. (2009). Aromatic plants as a source of important phytochemicals: Vitamins, sugars and fatty acids in *Cistus ladanifer*, *Cupressus lusitanica* and *Eucalyptus gunnii* leaves. *Industrial Crops and Products*, *30*(3), 427-430. https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2009.08.002

Harahap, H., Rusli, A., SURYA, T., & Surya, I. (2016). Effect of Microcrystalline Cellulose From Cassava Peel Waste Filler Loading on Natural Rubber Latex Products. *Journal of Polymer Materials*, *33*(1). https://www.researchgate.net/publication/303879414_Effect_of_Microcrystalline_Cellulose_From_Cassava_Peel_Waste_Filler_Loading_on_Natural_Rubber_Latex_Products

Hashemi, S. M. B., & Jafarpour, D. (2020). Synergistic properties of *Eucalyptus caesia* and *Dracocephalum multicaule* Montbr & Auch essential oils: Antimicrobial activity against food borne pathogens and antioxidant activity in pear slices. *Journal of Food Processing and Preservation*, *44*(9), e14651. https://doi.org/10.1111/jfpp.14651

Hinarejos, E., Castellano, M., Rodrigo, I., Maria Belles, J., Conejero, V., Pilar Lopez-Gresa, M., & Lison, P. (2016). *Bacillus subtilis* IAB/BS03 as a potential biological control agent. *EUROPEAN JOURNAL OF PLANT PATHOLOGY*, *146*(3), 597-608. https://doi.org/10.1007/s10658-016-0945-3

Ho, C. C. (2014). The production of natural rubber from *Hevea brasiliensis* latex: Colloidal properties, preservation, purification and processing. *Natural rubber materials*, *1*, 73-106. https://doi.org/10.1039/9781849737647-00073

Ismail, H., Othman, N., & Komethi, M. (2012). Curing characteristics and mechanical properties of rattan-powder-filled natural rubber composites as a function of filler loading and silane coupling agent. *Journal of Applied Polymer Science*, *123*(5), 2805-2811. https://doi.org/10.1002/app.34730

Jayadi, L., Kesuma, S., & Wattiheluw, M. H. (2023). Hand sanitiser activity test of eucalyptus (*Eucalyptus globulus*) oil extract against *Bacillus subtilis* and *Enterococcus faecalis* bacteria. *Pharmacy Education*, *23*(2), Article 2. https://doi.org/10.46542/pe.2023.232.179183

John, M. J., & Thomas, S. (2008). Biofibres and biocomposites. *Carbohydrate Polymers*, *71*(3), 343-364. https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2007.05.040

Kim, S.-D., De La Fuente, L., Weller, D. M., & Thomashow, L. S. (2012). Colonizing Ability of *Pseudomonas fluorescens* 2112, Among Collections of 2,4-Diacetylphloroglucinol-Producing *Pseudomonas fluorescens* spp. In Pea Rhizosphere. *JOURNAL OF MICROBIOLOGY AND BIOTECHNOLOGY*, *22*(6), 763-770. https://doi.org/10.4014/jmb.1112.12039

Koeipudsa, N., & Phinyocheep, P. (2024). Cellulose nanocrystals from oil palm trunk biomass as a bio-reinforcing filler for improved mechanical properties of modified natural rubber composites. *POLYMER COMPOSITES*, *45*(5), 4524-4537. https://doi.org/10.1002/pc.28078

Lauber, C. L., Glatzer, L., & Sinsabaugh, R. L. (2003). Prevalence of pathogenic *Escherichia coli* in recreational waters. *JOURNAL OF GREAT LAKES RESEARCH*, *29*(2), 301-306. https://doi.org/10.1016/S0380-1330(03)70435-3

Liu, S., Zhao, C., Cao, Y., Li, Y., Zhang, Z., Nie, D., Tang, W., & Li, Y. (2023). Comparison of Chemical Compositions and Antioxidant Activity of Essential Oils from *Litsea Cubeba*, Cinnamon, Anise, and Eucalyptus. *Molecules*, *28*(13), Article 13. https://doi.org/10.3390/molecules28135051

Loureiro, N. C., Esteves, J. L., Viana, J. C., & Ghosh, S. (2014). Development of polyhydroxyalkanoates/poly(lactic acid) composites reinforced with cellulosic fibers. *Composites Part B: Engineering*, *60*, 603-611. https://doi.org/10.1016/j.compositesb.2014.01.001

Lozano, A. J. B., Yepes, W. U., Restrepo, S. V., & Vasquez, D. G. (2018). Rheological behaviour assessment of conventional mixtures between natural rubber and leather wastes. *DYNA*, *93*(5), 549-555. https://doi.org/10.6036/8677

Lu, H., Shao, X., Cao, J., Ou, C., & Pan, D. (2016). Antimicrobial activity of eucalyptus essential oil against Pseudomonas in vitro and potential application in refrigerated storage of pork meat. *International Journal of Food Science & Technology*, *51*(4), 994-1001. https://doi.org/10.1111/ijfs.13052

Moges, G. W., Manahelohe, G. M., & Asegie, M. A. (2024). Phenolic, Flavonoid Contents, Antioxidant, and Antibacterial Activity of Selected Eucalyptus Species: Review. *Biology, Medicine, & Natural Product Chemistry*, *13*(1), Article 1. https://doi.org/10.14421/biomedich.2024.131.147-157

Mohanty, A. K., Misra, M., & Hinrichsen, G. (2000). Biofibres, biodegradable polymers and biocomposites: An overview. *Macromolecular Materials and Engineering*, *276-277*(1), 1-24. https://doi.org/10.1002/(SICI)1439-2054(20000301)276:1<1::AID-MAME1>3.0.CO;2-W

Montero-Recalde, M., Jose Morocho-Nunez, M., Aviles-Esquivel, D., Carrasco-Cando, A., & Erazo-Gutierrez, R. (2019). Antimicrobial efficacy of eucalyptus essential oil (*Eucalyptus* spp.) on *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* subsp. *Aureus* strains. *REVISTA DE INVESTIGACIONES VETERINARIAS DEL PERU*, *30*(2), 932-938. https://doi.org/10.15381/rivep.v30i2.16099

Morseletto, P. (2020). Targets for a circular economy. *Resources, Conservation and Recycling*, *153*, 104553. https://doi.org/10.1016/j.resconrec.2019.104553

Mosquera, M. E. G., Jiménez, G., Tabernero, V., Vinueza-Vaca, J., García-Estrada, C., Kosalková, K., Sola-Landa, A., Monje, B., Acosta, C., Alonso, R., & Valera, M. Á. (2021). Terpenes and Terpenoids: Building Blocks to Produce Biopolymers. *Sustainable Chemistry*, *2*(3), Article 3. https://doi.org/10.3390/suschem2030026

Mounchid, K., Bourjilat, F., Dersi, N., Aboussaouira, T., Rachidai, A., Tantaoui-Elaraki, A., & Alaoui-Ismaili, M. (2005). The susceptibility of *Escherichia coli* strains to essential oils of *Rormarinus officinalis* and *Eucalyptus globulus*. *AFRICAN JOURNAL OF BIOTECHNOLOGY*, *4*(10), 1175-1176. https://doi.org/10.4314/ajb.v4i10.71333

Mulyaningsih, S., Sporer, F., Zimmermann, S., Reichling, J., & Wink, M. (2010). Synergistic properties of the terpenoids aromadendrene and 1,8-cineole from the essential oil of *Eucalyptus globulus* against antibiotic-susceptible and antibiotic-resistant pathogens. *Phytomedicine*, *17*(13), 1061-1066. https://doi.org/10.1016/j.phymed.2010.06.018

Nouri-Ganbalani, G., Ebadollahi, A., & Nouri, A. (2016). Chemical Composition of the Essential Oil of *Eucalyptus procera* Dehnh. And Its Insecticidal Effects Against Two Stored Product Insects. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, *19*(5), 1234-1242. https://doi.org/10.1080/0972060X.2016.1178606

Nunes, P. S. de O., de Medeiros, F. H., de Oliveira, T. S., de Almeida Zago, J. R., & Bettiol, W. (2023). *Bacillus subtilis* and *Bacillus licheniformis* promote tomato growth. *BRAZILIAN JOURNAL OF MICROBIOLOGY*, *54*(1), 397-406. https://doi.org/10.1007/s42770-022-00874-3

Ololade, Z. S., & Olawore, N. O. (2017). Characterization of Essential Oil from the Seed of *Eucalyptus cloeziana* and Evaluation of its Modes of Medicinal Potentials. *Edorium Journal of Infectious Diseases*, *3*(1), 1-8. https://doi.org/10.5348/I03-2017-5-OA-4

Olsvik, O., Wasteson, Y., Lund, A., & Hornes, E. (1991). Pathogenic *Escherichia coli* Found in Food. *INTERNATIONAL JOURNAL OF FOOD MICROBIOLOGY*, *12*(1), 103-113. https://doi.org/10.1016/0168-1605(91)90051-P

Pereira, R. M., da Silveira, E. L., Carareto-Alves, L. M., & de Macedo Lemos, E. G. (2008). Evaluation of Possible Rhizobacteria Populations in Soils Under Forest Species. *REVISTA BRASILEIRA DE CIENCIA DO SOLO*, *32*(5), 1921-1927. https://doi.org/10.1590/S0100-06832008000500013

Priyadarshinee, R., Kumar, A., Mandal, T., & Dasguptamandal, D. (2015). Improving the perspective of raw eucalyptus kraft pulp for industrial applications through autochthonous bacterial mediated delignification. *INDUSTRIAL CROPS AND PRODUCTS*, *74*, 293-303. https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2015.05.023

Qian, M., Zou, B., Shi, Y., Zhang, Y., Wang, X., Huang, W., & Zhu, Y. (2021). Enhanced mechanical and dielectric properties of natural rubber using sustainable natural hybrid filler. *APPLIED SURFACE SCIENCE ADVANCES*, *6*, 100171. https://doi.org/10.1016/j.apsadv.2021.100171

R. Lozada, E., Gutiérrez Aguilar, C. M., Jaramillo Carvalho, J. A., Sánchez, J. C., & Barrera Torres, G. (2023). Vegetable Cellulose Fibers in Natural Rubber Composites. *Polymers*, *15*(13), Article 13. https://doi.org/10.3390/polym15132914

Rahmah, M., Khusyairi, A. A., Khairunnisya, H. N., & Nurbalqis, M. S. (2019). Oven Ageing versus UV Ageing Properties of Natural Rubber Cup Lump/EPDM Rubber Blend with Mangosteen Powder (MPP) as Natural Antioxidant. *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*, *548*(1), 012014. https://iopscience.iop.org/article/10.1088/1757-899X/548/1/012014/meta

Ramamoorthy, S. K., Skrifvars, M., & Persson, A. (2015). A Review of Natural Fibers Used in Biocomposites: Plant, Animal and Regenerated Cellulose Fibers. *Polymer Reviews*, *55*(1), 107-162. https://doi.org/10.1080/15583724.2014.971124

Ramesh, M. (2016). Kenaf (*Hibiscus cannabinus* L.) fibre based bio-materials: A review on processing and properties. *Progress in Materials Science*, *78-79*, 1-92. https://doi.org/10.1016/j.pmatsci.2015.11.001

Ran, L. X., Liu, C. Y., Wu, G. J., van Loon, L. C., & Bakker, P. (2005). Suppression of bacterial wilt in *Eucalyptus urophylla* by fluorescent *Pseudomonas* spp. In China. *BIOLOGICAL CONTROL*, *32*(1), 111-120. Antoni Van Leeuwenhoek Symposium. https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2004.08.007

Reda, F. M., El-Zawahry, Y., & Omar, A. (2017). Synergistic Effect of Combined Antibiotic and Methanol Extract of *Eucalyptus camaldulensis* leaf Against *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa*. *International Journal of Applied Sciences and Biotechnology*, *5*(4), 486-497. https://doi.org/10.3126/ijasbt.v5i4.18620

Rojas Campos, N. (1995). El lipopolisacárido bacteriano: Una potente endotoxina con múltiples actividades biológicas, recientes avances en estructura, genética y bioquímica. *Rev. costarric. cienc. méd*, 71-84. https://pesquisa.bvsalud.org/portal/resource/pt/lil-169697

Russell, A. d. (1991). Mechanisms of bacterial resistance to non-antibiotics: Food additives and food and pharmaceutical preservatives. *Journal of Applied Bacteriology*, *71*(3), 191-201. https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.1991.tb04447.x

Samal, S. (2020). Effect of shape and size of filler particle on the aggregation and sedimentation behavior of the polymer composite. *Powder Technology*, *366*, 43-51. https://doi.org/10.1016/j.powtec.2020.02.054

Sánchez, L. G. (2017). Análisis de la ecología de *Eucalyptus nitens* (Deane et Maiden) Maiden y del estado actual de esta especie alóctona en España. https://gciencia.gal/wp-content/uploads/2018/04/Informe-Luis-Gil.pdf

San-Lang, W., Shih, I. L., Wang, C. H., Tseng, K. C., Chang, W. T., Twu, Y. K., Ro, J. J., & Wang, C. L. (2002). Production of antifungal compounds from chitin by *Bacillus subtilis*. *ENZYME AND MICROBIAL TECHNOLOGY*, *31*(3), 321-328. https://doi.org/10.1016/S0141-0229(02)00130-8

Santos, B., Farias, J. H. A., Simões, M. M., Medeiros, M. A. A., Alves, M. S., Diniz, A. F., Soares, A. P. O., Cavalcante, A., Silva, B. J. N., & Almeida, J. C. S. (2024). Evaluation of the antimicrobial activity of *Eucalyptus radiata* essential oil against *Escherichia coli* strains isolated from meat products. *Brazilian Journal of Biology*, *84*, e281361. https://doi.org/10.1590/1519-6984.281361

Santos, G. A. C., Dropa, M., Rocha, S. M., Peternella, F. A. S., & Razzolini, M. T. P. (2020). *Staphylococcus aureus* and methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in drinking water fountains in urban parks. *JOURNAL OF WATER AND HEALTH*, *18*(5), 654-664. https://doi.org/10.2166/wh.2020.042

Sarih, N., & Rashid, A. (2023). Dispersion of Antimicrobial Agent and Its Antimicrobial Activity Assessment Methods: A Mini Review of Antimicrobial Natural Rubber Latex (pp. 69-83). https://doi.org/10.1007/978-981-99-2015-0_6

Sartorelli, P., Marquioreto, A. D., Amaral-Baroli, A., Lima, M. E. L., & Moreno, P. R. H. (2007). Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oils from two species of *Eucalyptus*. *Phytotherapy Research*, *21*(3), 231-233. https://doi.org/10.1002/ptr.2051

Shala, A. Y., & Gururani, M. A. (2021). Phytochemical properties and diverse beneficial roles of *Eucalyptus globulus* Labill.: A review. *Horticulturae*, *7*(11), 450. https://doi.org/10.3390/horticulturae7110450

Sichert, A., & Cordero, O. X. (2021). Polysaccharide-bacteria interactions from the lens of evolutionary ecology. *Frontiers in Microbiology*, *12*, 705082. https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.705082

Solís, M., Naidoo, S., Wingfield, M. J., Joubert, J. C., & Hammerbacher, A. (2024). First line of defence: Eucalyptus leaf waxes influence infection by an aggressive fungal leaf pathogen. *Plant Biology*, plb.13707. https://doi.org/10.1111/plb.13707

Supanakorn, G., Taokaew, S., & Phisalaphong, M. (2021). Ternary composite films of natural rubber, cellulose microfiber, and carboxymethyl cellulose for excellent mechanical properties, biodegradability and chemical resistance. *Cellulose*, *28*(13), 8553-8566. https://doi.org/10.1007/s10570-021-04082-4

Surbhi, Kumar, A., Singh, S., Kumari, P., & Rasane, P. (2023). Eucalyptus: Phytochemical composition, extraction methods and food and medicinal applications. *Advances in Traditional Medicine*, *23*(2), 369-380. https://doi.org/10.1007/s13596-021-00582-7

Takahashi, T., Kokubo, R., & Sakaino, M. (2004). Antimicrobial activities of eucalyptus leaf extracts and flavonoids from *Eucalyptus maculata*. *Letters in Applied Microbiology*, *39*(1), 60-64. https://doi.org/10.1111/j.1472-765X.2004.01538.x

Tamási, K., & Kollár, M. S. (2018). Effect of different sulfur content in Natural Rubber mixtures on their thermo-mechanical and surface properties. *International Journal of Engineering Research & Science*, *4*(2), 28-37. https://es.slideshare.net/slideshow/effect-of-different-sulfur-content-in-natural-rubber-mixtures-on-their-thermomechanical-and-surface-properties/89780665

Thiruvengadam, R., Gandhi, K., Vaithiyanathan, S., Sankarasubramanian, H., Loganathan, K., Lingan, R., Rajagopalan, V. R., Muthurajan, R., Iyadurai, J. E., & Kuppusami, P. (2022). Complete Genome Sequence Analysis of *Bacillus subtilis* Bbv57, a Promising Biocontrol Agent against Phytopathogens.

INTERNATIONAL JOURNAL OF MOLECULAR SCIENCES, *23*(17), 9732. https://doi.org/10.3390/ijms23179732

Torres, L. F., McCaffrey, Z., Washington, W., Williams, T. G., Wood, D. F., Orts, W. J., & McMahan, C. M. (2021). Torrefied agro-industrial residue as filler in natural rubber compounds. *JOURNAL OF APPLIED POLYMER SCIENCE*, *138*(28), e50684. https://doi.org/10.1002/app.50684

Troncoso, C., Perez, C., Hernandez, V., Sanchez-Olate, M., Rios, D., Martin, A. S., & Becerra, J. (2013). Induction of Defensive Response in *Eucalyptus globulus* Plants and its Persistence in Vegetative Propagation. *Natural Product Communications*, *8*(3), 1934578-1300800. https://doi.org/10.1177/1934578X1300800330

Tyagi, A. K., & Malik, A. (2011). Antimicrobial potential and chemical composition of *Eucalyptus globulus* oil in liquid and vapour phase against food spoilage microorganisms. *Food Chemistry*, *126*(1), 228-235. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.11.002

Umunakwe, R., Oyetunji, A., Adewuyi, B. O., Eze, W. U., Nwigwe, U. S., & Umunakwe, I. J. (2019). Mechanical properties and microstructure of hybrid vulcanized natural rubber filled with carbon black and nano-$CaCO_3$ from *Achatina achatina* Shells. *Journal of Metals, Materials and Minerals*, *29*(4). https://doi.org/10.55713/jmmm.v29i4.555

Utrera-Barrios, S., Bascuñan, A., Verdejo, R., López-Manchado, M. Á., Aguilar-Bolados, H., & Hernández Santana, M. (2023). Sustainable Fillers for Elastomeric Compounds. En F. Avalos Belmontes, F. J. González, & M. Á. López-Manchado (Eds.), *Green-Based Nanocomposite Materials and Applications* (pp. 31-61). Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-031-18428-4_3

Wang, L., Tan, Y., Liao, Y., Li, L., Han, K., Bai, H., Cao, Y., Li, J., Gong, Y., Wang, X., & Peng, H. (2022). Isolation, Characterization and Whole Genome Analysis of an Avian Pathogenic *Escherichia coli* Phage vB_EcoS_GN06. *VETERINARY SCIENCES*, *9*(12), 675. https://doi.org/10.3390/vetsci9120675

Witayakran, S., Smitthipong, W., Wangpradid, R., Chollakup, R., & Clouston, P. L. (2017). Natural Fiber Composites: Review of Recent Automotive Trends. En *Encyclopedia of Renewable and Sustainable Materials* (pp. 166-174). Elsevier. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-803581-8.04180-1

Zheng, A., Xia, S., Cao, F., Liu, S., Yang, X., Zhao, Z., Tian, Y., & Li, H. (2021). Directional valorization of eucalyptus waste into value-added chemicals by a

novel two-staged controllable pyrolysis process. *Chemical Engineering Journal*, *404*, 127045. https://doi.org/10.1016/j.cej.2020.127045

Zhou, Y., Fan, M., & Chen, L. (2016). Interface and bonding mechanisms of plant fibre composites: An overview. *Composites Part B: Engineering*, *101*, 31-45. https://doi.org/10.1016/j.compositesb.2016.06.055