

Saltillo, Coahuila a 4 de diciembre de 2020

Programa de Maestría en Tecnología de Polímeros

**Coordinación de Posgrado
Presente**

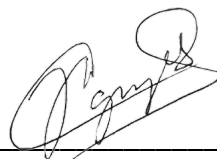
Por este conducto nos permitimos informar a esta coordinación que, el documento de tesis preparado por **AIMEÉ ALEJANDRA HERNÁNDEZ LÓPEZ** titulado Desarrollo de Sistemas Microencapsulados de Aceite Esencial de Cubeba (*Piper Cubeba L.*) en Matrices de Biopolímeros por Spray-Drying: Aplicación Potencial como Sistemas de Liberación Lenta de Atrayentes para el Escarabajo *Xyleborus Glabratus*, el cual fue presentado el día 30 de noviembre de 2020, ha sido modificado de acuerdo a las observaciones, comentarios y sugerencias, realizadas por el Comité Evaluador asignado. Por tal motivo, avalamos que el documento adjunto corresponde a la versión final del documento de tesis.

Atentamente,




Dr. Antonio Serguei Ledezma Pérez
Presidente

Sinodales

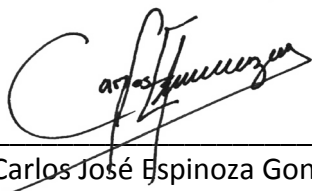


Dr. Francisco Javier Rodríguez González
Secretario

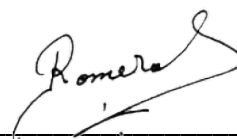


Dra. Heidi Andrea Fonseca Florido
Vocal

Vo. Bo. de los Asesores



Dr. Carlos José Espinoza González



Dr. Jorge Romero García

TESIS CON CARACTER ABIERTO

PROGRAMA: MAESTRÍA EN TECNOLOGÍA DE POLÍMEROS

AUTOR: AIMEÉ ALEJANDRA HERNÁNDEZ LÓPEZ FIRMA 

TITULO: Desarrollo de Sistemas Microencapsulados de Aceite Esencial de Cubeba (*Piper Cubeba L.*) en Matrices de Biopolímeros por Spray-Drying: Aplicación Potencial como Sistemas de Liberación Lenta de Atrayentes para el Escarabajo *Xyleborus Glabratus*.

ASESORES: Dr. Carlos José Espinoza González FIRMA 

Dr. Jorge Romero García FIRMA 

El Centro de Investigación en Química Aplicada clasifica el presente documento de tesis como ABIERTO.

Un documento clasificado como Abierto se expone en los estantes del Centro de Información para su consulta. Dicho documento no puede ser copiado en ninguna modalidad sin autorización por escrito del Titular del Centro de Información o del Director General del CIQA.

Saltillo, Coahuila, a 30 de Noviembre de 2020



Sello de la Institución



Dr. Oliverio Santiago Rodríguez Fernández
Director General del CIQA

CENTRO DE INVESTIGACIÓN EN QUÍMICA APLICADA
Programa de Maestría en Tecnología de Polímeros

TESIS

Desarrollo de Sistemas Microencapsulados de Aceite Esencial de Cubeba (*Piper Cubeba L.*) en Matrices de Biopolímeros por Spray-Drying: Aplicación Potencial como Sistemas de Liberación Lenta de Atrayentes para el Escarabajo *Xyleborus Glabratus*

Presentada por:

AIMEÉ ALEJANDRA HERNÁNDEZ LÓPEZ

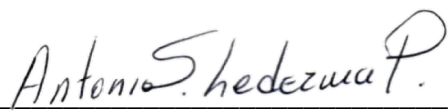
Para obtener el grado de:

Maestro en Tecnología de Polímeros

Asesorada por:

**Dr. Carlos José Espinoza González
Dr. Jorge Romero García**

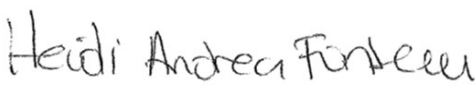
SINODALES



Dr. Antonio Serguei Ledezma Pérez
Presidente



Dr. Francisco Javier Rodríguez González
Secretario



Dra. Heidi Andrea Fonseca Florido
Vocal



CENTRO DE INVESTIGACIÓN EN QUÍMICA APLICADA
Programa de Maestría en Tecnología de Polímeros

TESIS

Desarrollo de Sistemas Microencapsulados de Aceite Esencial de Cubeba (*Piper Cubeba L.*) en Matrices de Biopolímeros por Spray-Drying: Aplicación Potencial como Sistemas de Liberación Lenta de Atrayentes para el Escarabajo *Xyleborus Glabratus*

Presentada por:

AIMEÉ ALEJANDRA HERNÁNDEZ LÓPEZ

Para obtener el grado de:

Maestro en Tecnología de Polímeros

Asesorada por:

Dr. Carlos José Espinoza González
Dr. Jorge Romero García

Saltillo, Coahuila. México.

Noviembre, 2020

DECLARACIÓN

Declaro que la información contenida en la Parte Experimental así como en la Parte de Resultados y Discusiones de este documento y que forman parte de las actividades de investigación y desarrollo realizadas durante el período que se me asignó para llevar a cabo mi trabajo de tesis, será propiedad del Centro de Investigación en Química Aplicada.

Saltillo, Coahuila a 30 de noviembre de 2020



AIMEÉ ALEJANDRA HERNÁNDEZ LÓPEZ

Nombre y Firma

CENTRO DE INVESTIGACIÓN EN QUÍMICA APLICADA



TESIS

DESARROLLO DE SISTEMAS MICROENCAPSULADOS DE
ACEITE ESENCIAL DE CUBEBA (*Piper cubeba* L.) EN
MATRICES DE BIOPOLÍMEROS POR SPRAY-DRYING:
APLICACIÓN POTENCIAL COMO SISTEMAS DE LIBERACIÓN
LENTA DE ATRAYENTES PARA EL ESCARABAJO
XYLEBORUS GLABRATUS

PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

MAESTRA EN TECNOLOGÍA DE POLÍMEROS

PRESENTA

AIMEÉ ALEJANDRA
HERNÁNDEZ LÓPEZ

ASESORES

DR. CARLOS JOSÉ
ESPINOZA GONZÁLEZ

DR. JORGE ROMERO
GARCÍA

INDICE

INDICE	2
AGRADECIMIENTOS	4
DEDICATORIA	5
1. INTRODUCCIÓN	6
2. ANTECEDENTES.....	7
2.1.- Escarabajo Ambrosial <i>Xyleborus glabratus</i> : una amenaza de plaga para el aguacate. 7	
2.1.1.- Hongo <i>Raffaelea lauricola</i>	10
2.1.2.- Planes de Acción y Prevención.....	12
2.2.-Aceites esenciales como plaguicidas naturales atrayentes	13
2.2.1.- Aceites Esenciales Como Atrayentes De <i>Xyleborus glabratus</i>	13
2.2.2.- Encapsulamiento de aceites esenciales utilizando biopolímeros como matriz encapsulante.....	18
2.3.- Trabajos realizados en el grupo de investigación sobre sistemas encapsulados	22
3. MARCO TEORICO	30
3.1.-Plaguicidas	30
3.1.1.- Daños y afecciones causadas por plaguicidas	31
3.2.- Aceites Esenciales.....	32
3.3.- Microencapsulamiento.....	32
3.3.1.- Técnicas De Microencapsulamiento	33
3.3.2.- Spray Drying	34
3.4.- Matrices Encapsulantes.....	37
3.4.1- Polisacáridos como matrices encapsulantes.....	38
3.4.2.- Almidón.....	38
3.4.3.- Cera de Candelilla.....	41
3.5.- Emulsificación de baja energía.....	44
4. HIPÓTESIS.....	46
5. OBJETIVO GENERAL.....	47
5.2. Objetivos Específicos.....	47
6. JUSTIFICACIÓN	48
7. METODOLOGÍA	49

7.1.- Materiales Utilizados	49
7.2.- Formulación de Soluciones Acuosas.....	49
7.2.1.- Preparación de una nanoemulsión de cera de candelilla.....	49
7.2.2.- Preparación y atomización de sistemas microencapsulados almidón/nanopartículas de cera de candelilla/aceite de cubeb	50
7.3.- Caracterización morfológica y térmica de los sistemas microencapsulados	53
7.3.1.- Microscopía Electrónica de Barrido.....	53
7.3.2.- Microscopía Óptica de Luz Polarizada.....	53
7.4.- Evaluación de la capacidad de liberación de compuestos volátiles	53
7.4.1.- Cromatografía de gases	53
7.4.2.- Análisis Termogravimétrico	53
7.4.2.- Análisis con Termobalanza.....	54
8. RESULTADOS	55
8.1.- Análisis Morfológico de los Microencapsulados.....	55
8.1.1.- Microscopía Electrónica de Barrido.....	55
8.1.2.- Microscopía de Luz Polarizada	64
8.2.- Análisis Cualitativo del Aceite de Cubeb.....	68
8.3.- Análisis Térmico.....	68
9. CONCLUSIONES	72
INDICE DE FIGURAS	73
INDICE DE TABLAS	78
REFERENCIAS.....	79

AGRADECIMIENTOS

Agradezco al doctor Carlos Espinoza González y al doctor Jorge Romero García por brindarme la oportunidad y la confianza de trabajar en este proyecto, así como su apoyo durante la realización del mismo, así mismo agradezco el apoyo en laboratorio a la Maestra Layza Arizmendi Galaviz.

Del mismo modo agradezco su apoyo y colaboración al Ing. Jesús Alfonso Mercado y al Laboratorio Nacional de Materiales Grafénicos, a la Maestra Hened Saade, así como a la Maestra Lourdes Guillen y la Maestra Rosa Julia por el apoyo técnico brindado.

Agradezco también al CONACyT por la beca brindada, así como al CIQA por permitirme realizar mis estudios en sus instalaciones, así mismo se agradece por el proyecto FORDECyT No. 292399 “*Generación de estrategias científico-tecnológicas con enfoque multidisciplinario e interinstitucional para afrontar la amenaza que representan los complejos ambrosiales en los sectores agrícola y forestal de México*”.

Quiero agradecer al departamento de posgrado de CIQA, por su apoyo durante la elaboración de este trabajo, así mismo quiero agradecer a Nancy Espinoza, por su apoyo en los trámites necesarios.

Agradezco a mi familia su enorme apoyo durante todo el tiempo de este proyecto sé que sin ustedes no habría sido posible, los amo.

Por último, pero no menos importante a mis amigos, por esos momentos de desestres y platicas, así como su apoyo, sobre todo al MTP Noe Navarro, gracias por tu apoyo y compañía en el laboratorio.

DEDICATORIA

Dedico este trabajo principalmente a mi madre, que sin ella jamás habría llegado a este punto de mi carrera profesional, gracias mamá por enseñarme a jamás darme por vencida, gracias por apoyarme y animarme a seguir mis sueños y mis metas, gracias por reconfortarme en esos momentos difíciles de este camino, por siempre creer en mí, gracias mamá por todo tu esfuerzo, porque sin ti no habría llegado hasta donde estoy ahora, te amo mamá.

También dedico este trabajo a mi mamá Teté, gracias por enseñarme tanto, gracias por enseñarme a valorar todo el cariño y apoyo que siempre me brindaron, donde quiera que estés, quiero que sepas que este logro también es tuyo.

A mi novio Edgar, gracias por apoyarme durante ese periodo difícil, por estar conmigo y animarme a no darme por vencida, gracias por el apoyo tan grande que me has dado durante todo este tiempo, sé que sin ti no lo habría logrado.

También dedico este trabajo a mi hijo Damián, mi vida si algún día lees esto, quiero que sepas que fuiste mi mayor motivación durante todo este tiempo para seguir hasta mi meta, que sepas que esas horas que no compartí contigo no fueron en vano y siempre estabas en mi mente para poder seguir adelante, te amo mi niño.

A mi niña hermosa Amélie, aunque aún no naces mi niña, también te dedico este trabajo, porque desde que supe que venias en camino, fuiste parte de mi inspiración, te amo.

A mis suegros por todo el cariño y apoyo que siempre me han brindado y mas aun en esta etapa de mi carrera profesional, jamás tendré como regresarles todo el cariño que me demuestran, los quiero mucho.

A mis amigos gracias por sus palabras de aliento, por su apoyo, y sobre todo por brindarme su amistad, siempre les estaré demasiado agradecida, gracias por todo, los quiero mucho.

1. INTRODUCCIÓN

México ocupa el primer lugar como exportador de aguacate a nivel mundial, dejando una alta derrama económica. Sin embargo, actualmente la producción de aguacate se ve amenazada por el escarabajo *Xyleborus glabratus*, vector del hongo simbiote *Raffaelea lauricola*. Este hongo causa la enfermedad de marchitez del fruto, así mismo dicho escarabajo se adapta e infesta rápidamente los sembradíos de aguacate como se ha observado en Estados Unidos de América desde el año 2002.

Si bien es posible la aplicación de plaguicidas sintéticos, su uso frecuente es causal de contaminación en el medio ambiente, así como afecciones a la salud humana; esto debido al hecho de que solo el 0.1% de lo que se aplica al cultivo es aprovechado realmente por la planta. La pérdida de los plaguicidas se da debido al drenado con agua, la volatilización y la foto degradación de sus activos, obligando a los agricultores a utilizar cantidades excesivas de estos para controlar las plagas. Una alternativa a dichos plaguicidas sintéticos son los bioplaguicidas los cuales son compuestos derivados de plantas o producidos por microorganismos. Los aceites esenciales se plantean como potenciales pesticidas, así como atrayentes de insectos. El microencapsulamiento de estos activos con biopolímeros aumenta su eficacia al aplicarlos en el campo. El uso de dichos compuestos evitaría la generación de resistencia por parte de las plagas, así como la disminución de la contaminación de suelos y la nula aparición de enfermedades disminuyendo la afección a la salud humana.

El presente trabajo de tesis aborda el desarrollo de sistemas encapsulados de un aceite esencial, como atrayente del escarabajo ambrosial *Xyleborus glabratus*, en matrices híbridas de biopolímeros empleando la técnica de spray drying.

2. ANTECEDENTES

2.1.- Escarabajo Ambrosial *Xyleborus glabratus*: una amenaza de plaga para el aguacate.

El escarabajo ambrosial del laurel rojo (*Xyleborus glabratus*) (Figura 2.1) es nativo de India, Japón, Myanmar y Taiwán. Sin embargo, el origen del hongo de la marchitez del laurel que acompaña al escarabajo es desconocido. Por separados, ambos no constituyen una plaga en su área de distribución nativa. La expansión de la plaga en los Estados Unidos de Norteamérica, presumiblemente tiene su origen en el estado de Georgia mediante la llegada de materiales de empaque contaminados (cajas de madera) con el escarabajo. Esta plaga que constituye el binomio simbiótico insecto y hongo ataca a varias especies de plantas en Asia que incluyen a *Lindera latifolia*, *Litsea elongate* y *Shorea robusta*. Pero a pesar de esto no existe reporte alguno de la presencia de esta plaga en Asia atacando la planta del aguacate (*Persea americana*).¹



Figura 2.1. Escarabajo ambrosial del laurel rojo (*Xyleborus glabratus*) vista dorsal y lateral de un adulto.¹

El *Xyleborus glabratus* se detectó por primera vez en E.U.A, en el puerto de Wentworth, Georgia, en 2002. En 2004 (Figura 2.2), se detectó en Hilton Head, Carolina del Sur en árboles del laurel rojo (*Persea borbonia* L.); posteriormente se detectó en varios condados de Georgia y cerca de Jacksonville, Florida. Estas especies de árboles colonizados por *X. glabratus* en Georgia, Carolina del Sur y Florida murieron en menos de un año a causa del hongo diseminado por el escarabajo. Se ha encontrado que 12 especies de plantas nativas y tres especies introducidas de la familia *Lauraceae* podrían estar en riesgo. A nivel mundial cuatro de estas especies de plantas nativas son consideradas en peligro o vulnerables a la extinción. Así mismo se ha confirmado que esta especie es capaz de colonizar árboles de *Persea americana* (Aguacate),

puesto que se obtuvieron especímenes de escarabajo adulto recién salidos de árboles muertos, por lo cual se considera una gran amenaza para la industria aguacatera en Florida y California.²

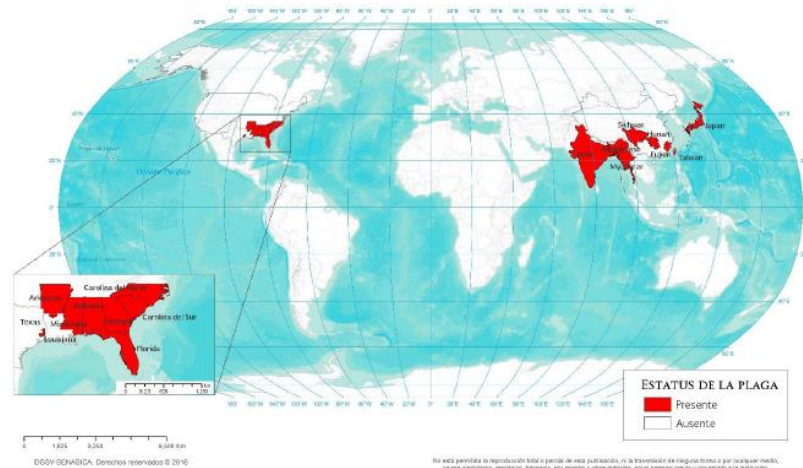


Figura 2.2. Distribución actual del *Xyleborus glabratus* a nivel mundial.³

Por la cercanía de México con los Estados Unidos de Norteamérica, la llegada de estos complejos escarabajos y hongos a México podría traer enormes impactos naturales y económicos en los ecosistemas forestales nativos y cultivados. Por ejemplo, los estados mexicanos de Chiapas, Oaxaca y Veracruz poseen 120 especies de lauráceas (90% de la diversidad de lauráceas del país). Solo en Veracruz se han reportado 55 especies de lauráceas, 19 de ellas endémicas. México también tiene la mayor producción de aguacate en el mundo, representando una industria millonaria.⁴

A nivel mundial, México es el principal productor de aguacate; pues en 2012 concentró cerca del 30.19% de la producción mundial (Figura 2.3), seguido de Indonesia y de Republica Dominicana. Por otra parte, a nivel nacional la producción de aguacate ha crecido de manera importante en los últimos años; pues entre 2002 y 2015 la tasa de crecimiento promedio anual fue del 4.2%, mientras que entre 2011 y 2015 el crecimiento promedio fue del 8.7%. En el 2015 se produjeron un millón 624 mil toneladas de aguacate, y para julio del 2016 la producción alcanzó las 986 mil toneladas.⁵

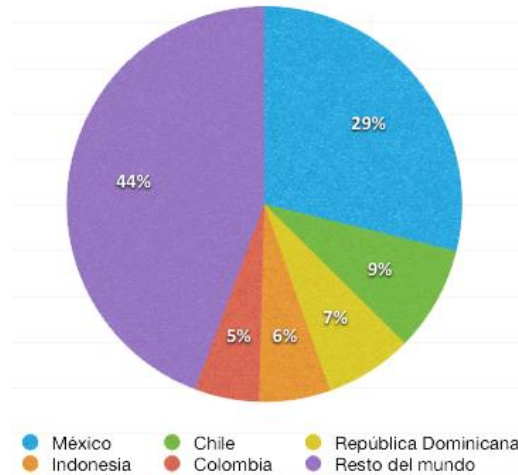


Figura 2.3. Principales países productores de aguacate en 2010, información obtenida de la FAO.

Debido a la cercanía de las áreas afectadas en Estados Unidos de Norteamérica, con la frontera de México (Figura 2.4), en nuestro país se realizan actividades de vigilancia fitosanitaria para la detección oportuna del complejo escarabajo ambrosial del laurel rojo, a través del establecimiento de rutas de trampeo, rutas de vigilancia y exploración.⁶

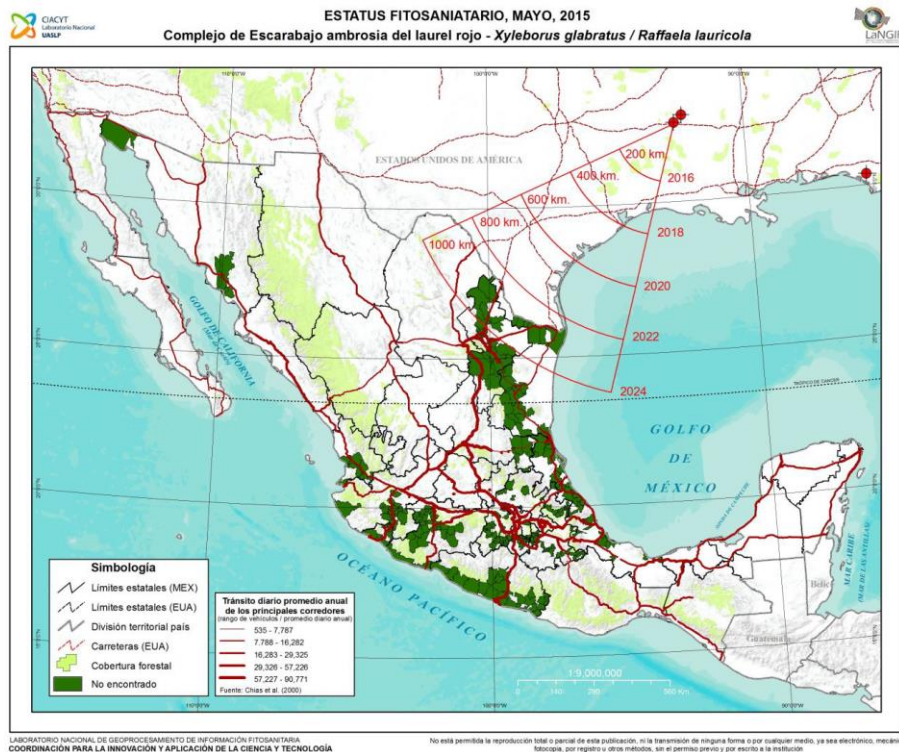


Figura 2.4. Estatus fitosanitario del escarabajo ambrosial del laurel rojo.⁶

2.1.1.- Hongo *Raffaelea lauricola*

En la parte sureste de los EE.UU., la mortalidad generalizada del laurel rojo (*Persea borbonia*) se ha observado desde 2003. La enfermedad se ha denominado “Marchitez del laurel”. La causa de esta mortalidad de árboles y causante de la enfermedad se ha identificado como *Raffaelea lauricola* (Figura 2.5), un hongo que sirve como alimento para el escarabajo ambrosial del laurel rojo *Xyleborus glabratus*.⁷

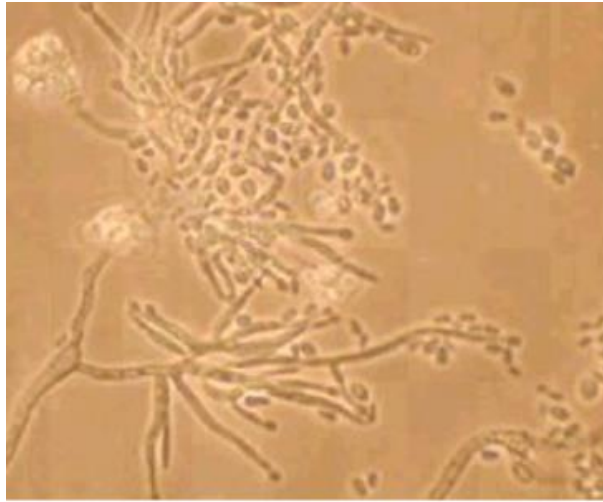


Figura 2.5. Conidióforos y conidios de *Raffaelea lauricola*.⁸

Como en el caso de muchos escarabajos ambrosiales, el *Xyleborus glabratus* tiene una relación simbiótica con este hongo. Mientras es transportado por el escarabajo, el hongo se encuentra en fase de levadura.⁹

La hembra adulta del escarabajo transporta las esporas del hongo (*Raffaelea lauricola*) en una bolsa especial denominada “*micangio*”, que se encuentra en su boca. A medida que el escarabajo taladra el árbol formando galerías, las esporas transportadas en el *micangio* las inoculan, germinan y colonizan la albura de la planta hospedera (Figura 2.6).¹

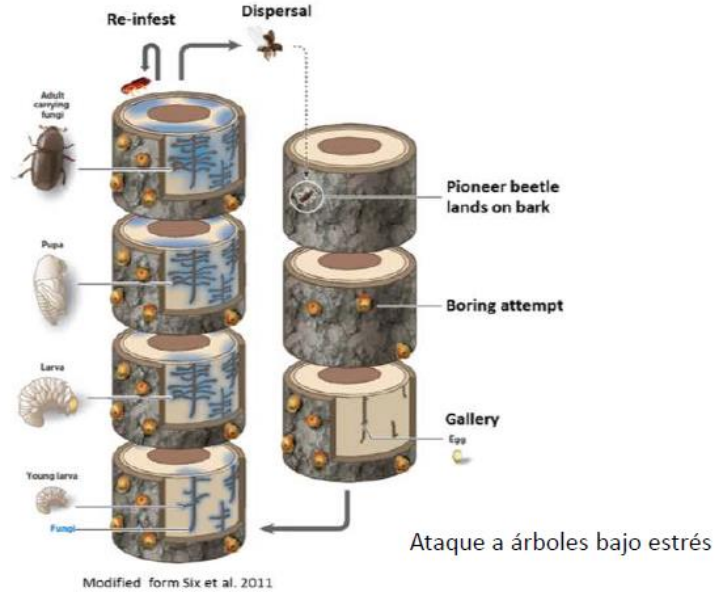


Figura 2.6. Ciclo de la enfermedad de la marchitez del laurel.¹⁰

Las hifas del hongo en la albura colonizada bloquean el movimiento del agua y nutrientes en el árbol (Figura 2.7).¹



Figura 2.7. Tronco infectado con *Raffaelea Lauricola*.⁷

Los síntomas de la marchitez del laurel son típicos de aquellos causados por otros patógenos de marchitamiento vascular; incluyendo la decoloración vascular, marchitamiento rápido, necrosis del follaje y defoliación (Figura 2.8).⁷



Figura 2.8. Árboles dañados a consecuencia de la enfermedad de la marchitez del laurel.⁸

2.1.2.- Planes de Acción y Prevención

En México se llevan a cabo actividades de vigilancia epidemiológica fitosanitaria para la detección oportuna de este complejo escarabajo ambrosial. Como actividades esenciales, se exploran rutas de trampeo así como el establecimiento de rutas de vigilancia en los estados de California, Baja California Sur, Campeche, Colima, Chiapas, Ciudad de México, Michoacán, Morelos, Nayarit, Nuevo León, Oaxaca, Puebla, Querétaro, Quintana Roo, San Luis Potosí, Sinaloa, Sonora, Tamaulipas, Veracruz y Yucatán, a través de la instalación y revisión de plantas centinela en posibles puntos de ingreso del territorio nacional.³

Así mismo en las áreas agrícolas y zonas forestales se realiza monitoreo e inspecciones constantes, con el fin de poder detectar signos en árboles infectados (amarillamientos, decoloraciones, marchitamientos, orificios de entrada, etc.) que puedan hacer sospechar de la presencia del escarabajo ambrosial. En este sentido, una de las técnicas más empleadas para la detección y monitoreo es a través del uso de trampas de “Lindgren” en las cuales se coloca un “cebo” plaguicida con propiedades atrayentes para el escarabajo.⁸

En un principio los cebos utilizados eran tallos del laurel rojo los cuales atraían fácilmente al escarabajo, sin embargo debido a la dificultad para conseguirlos se ha optado por el uso de semioquímicos y aceites esenciales de Manuka y de Phoebe ya que liberan volátiles atrayentes del escarabajo.¹¹

2.2.-Aceites esenciales como plaguicidas naturales atrayentes

Hay muchos organismos que confían y responden a estímulos químicos generando respuestas de comportamiento o del tipo fisiológicas.¹² Esta bien documentado que diversas especies de insectos se ven atraídos a su alimento por los compuestos volátiles que estos despiden como es el caso de las plantas, específicamente.

Se ha demostrado que los aceites esenciales pueden atraer insectos beneficiosos mientras repelen otros insectos perjudiciales (Figura 2.9).¹³ Generalmente esto es atribuido a la presencia de compuestos terpenoides volátiles.¹⁴

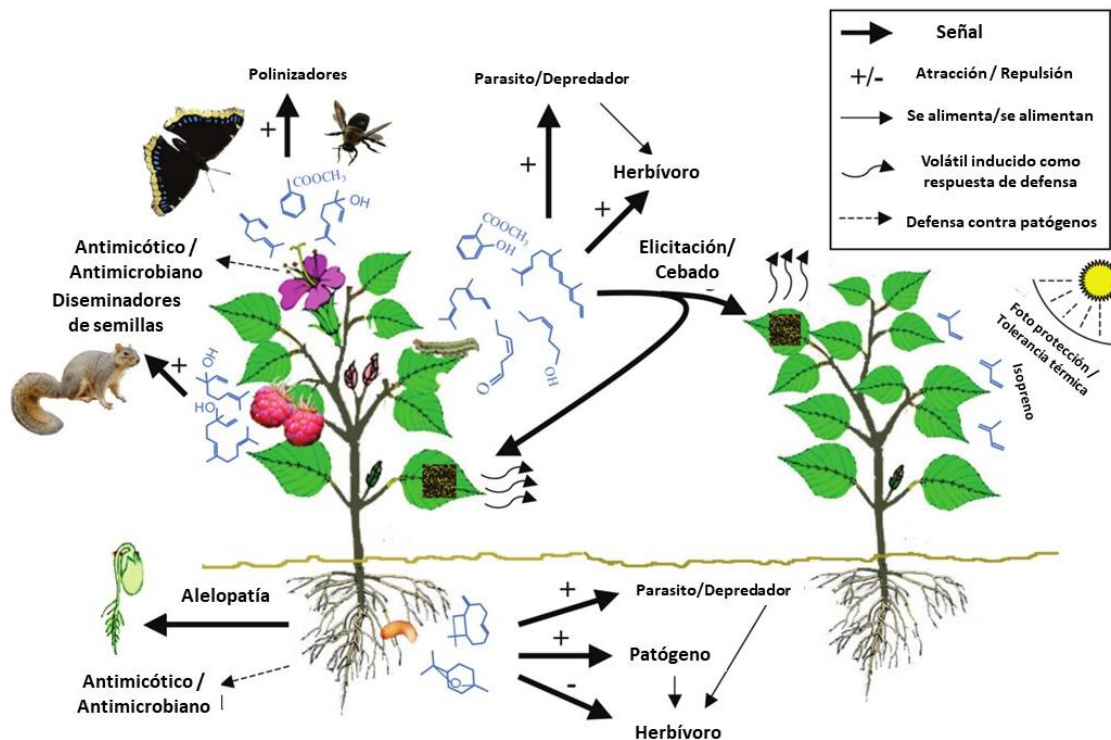


Figura 2.9. Función de los volátiles en una planta (modificada) (Fuente FAO)

2.2.1.- Aceites Esenciales Como Atrayentes De *Xyleborus glabratus*

Hay muchos organismos que confían y responden a estímulos químicos generando respuestas de comportamiento o fisiológicas. Por ejemplo, los animales buscan y encuentran a sus compañeros de apareamiento, o se defienden de posibles agresores, por medio de cierto tipo de señales. De esta manera se establecen relaciones mediadas por sustancias, a las que se les denomina en la literatura técnica como semioquímicos. Dichos estímulos que en general son evolutivamente ventajosos al organismo emisor, pueden ser clasificados como: a) feromonas o como b) alelomonas. En el primer caso, se trata de señales cuyos receptores son miembros de la misma especie que las emite

y son ventajosas para ambos organismos entre los cuales se establece la comunicación. En el segundo caso, se trata de señales beneficiosas para quien las emite, pero perjudiciales para los organismos receptores, los cuales suelen ser miembros de diferentes especies.¹²

El desarrollo de programas eficaces de detección, monitoreo y control basados en semioquímicos para reducir la propagación de *Xyleborus glabratus* requiere una comprensión de la ecología química del insecto y de los comportamientos de búsqueda de hospedadores de este.¹⁵

Para el caso específico del *Xyleborus glabratus*, si bien este tipo de escarabajo no utiliza feromonas para atraer a sus parejas, las hembras generalmente son atípicas en cuanto a su comportamiento de búsqueda de huésped. Estos insectos atacan tanto árboles enfermos como, árboles vivos y no se ven atraídos por el etanol, el cual es un volátil que comúnmente desprenden los árboles en descomposición. La hipótesis actual, es que las hembras dispersantes detectan, a través de receptores olfatorios antenales, una mezcla de terpenoides volátiles, característicos de las lauráceas (Figura 2.10).¹⁶

En un estudio reciente, Paul Kendra et. al. examinó nueve especies dentro de las lauráceas para determinar la atracción del *Xyleborus glabratus* en relación con las emisiones fitoquímicas de la madera anfitriona. Además del α -copaeno, las emisiones de otros tres sesquiterpenos (α -cubebeno, α -humuleno, β -cariofileno y γ -cadineno) se correlacionan positivamente con la atracción a la laurácea.¹⁵

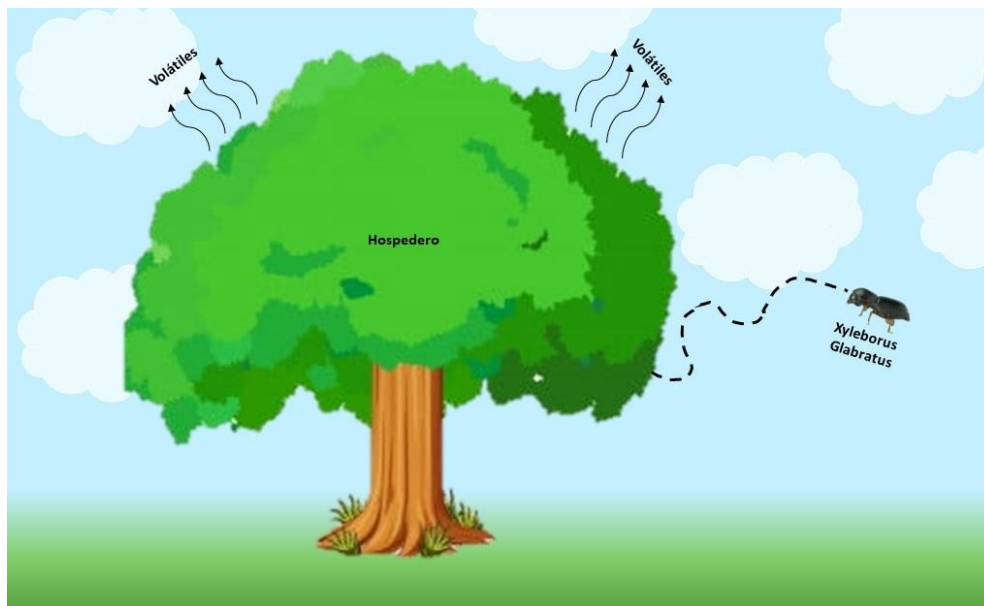


Figura 2.10. El escarabajo se ve atraído al árbol hospedero debido a los volátiles que estos liberan.

Sabiendo el tipo de volátiles que traen al escarabajo ambrosial se ha planteado utilizar estos como señuelos o como cebos atrayentes; los cuales podrían colocarse en un dispositivo trampa, las cuales capturarían al insecto.³ Estas trampas serían ubicadas en puntos clave para la detección del *Xyleborus glabratus* tales como zonas comerciales de aguacate, preferentemente en sitios de riesgo de introducción de la plaga como fronteras, aeropuertos, puertos, viveros, aserraderos, centros de acopio, estacionamientos, sobre carreteras, zonas experimentales, centrales de abasto, parques, áreas naturales, etc.²

Se han realizado estudios donde se ha encontrado que el aceite esencial de *Manuka* y el aceite esencial de *Phoebe* resultan efectivos como fuentes atrayentes para el *Xyleborus glabratus*, los cuales pueden ser utilizados en señuelos en el campo. Sin embargo, también resultaron ser efectivos en atraer a insectos no objetivos, por lo cual no mostraron ser selectivos, aunado al hecho de que su aplicación directa solo presenta una longevidad de 2 a 3 semanas. Lo anterior debido a la fácil volatilización de este tipo de compuestos.¹⁵

En un estudio realizado por Paul Kendra y col. en 2014, se evaluaron otras especies de aceites esenciales como atrayentes, tales como el *aceite de cubeba*, *raíz de jengibre*, *semilla de angélica*, *árbol de té* y *aceite de naranja* (Figura 2.11). En este estudio, se encontró que el aceite de cubeb (*Piper cubebea*) (Figura 2.12) resultó ser efectivo para atraer a la hembra del *Xyleborus glabratus*, por lo cual se tiene como una buena opción como cebo atrayente.¹⁵

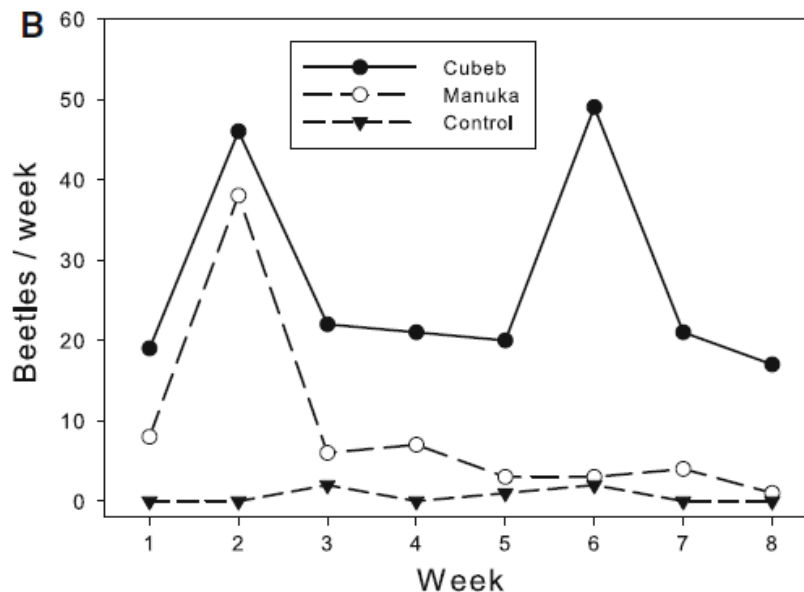


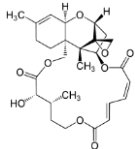
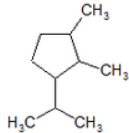
Figura 2.11. Capturas de hembra de *Xyleborus glabratus* usando aceites comerciales en un estudio de campo durante 8 semanas¹⁵

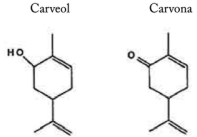
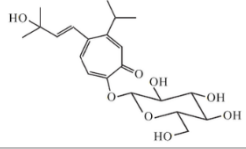
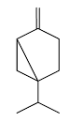
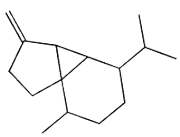
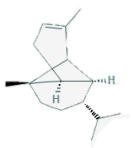
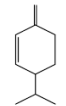
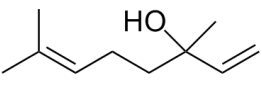
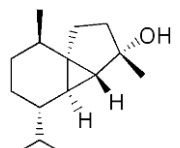


Figura 2.12. Planta *Piper Cubeb* de donde se extrae el aceite esencial de cubeba.

En un análisis cromatográfico realizado por Singh et.al., se encontró que el aceite esencial de cubeb (*Piper cubeb* L.) contiene cerca de 44 componentes volátiles. El aceite se caracterizó por contener grandes cantidades de hidrocarburos sesquiterpenos (48.4%) y monoterpenos (36.3%) acompañados de pequeñas cantidades de monoterpenos oxigenados (7.2%) y sesquiterpenos oxigenados (5.9%). Sabineno (19.4%), β -cubebene (18.3%), α -copaene (8.8%), β -felandreno (5.9%), linalol (4.9%) y cubebol (4.7%) fueron los principales componentes.¹⁷ Las estructuras de estos componentes se pueden observar en la Tabla 2.1.

Tabla 2.1. Componentes detectados en el aceite de cubeb y sus estructuras.

COMPONENTE	ESTRUCTURA
Sesquiterpenos	
Monoterpenos	

Monoterpenos oxigenados	<p>Carveol Carvona</p> 
Sesquiterpenos oxigenados	
Sabineno	 <p>sabineno</p>
β -Cubebene	
α -Copaene	
β -Felandreno	 <p>β-felandreno</p>
Linalol	 <p>Linalol</p>
Cubebol	

A pesar de la efectividad encontrada en los aceites esenciales, una de las desventajas que limitan su aplicación en campo, ha sido su sensibilidad a:

- La degradación por oxidación.

- La degradación por acción de la luz ultra violeta.
- Y la pérdida por volatilización.

Por tanto, los efectos ocasionados por factores externos como la temperatura, la luz y el oxígeno atmosférico deben ser considerados para su aplicación en campo. Además, la presencia de impurezas también pueden regir la estabilidad de estos.¹⁸

Diversas investigaciones han sido realizadas para aumentar la resistencia a la degradación de plaguicidas de aceites esenciales, así como para prolongar su tiempo de acción. Una de las estrategias implementadas ha sido el proceso de microencapsulación en el cual sustancias o agentes activos son recubiertos o atrapados en partículas de tamaños micrométricos. Esta estrategia permite obtener la liberación lenta o controlada de los activos, mejor manejo de las sustancias así como la extensión de vida útil del bioactivo protegiéndolo de los factores externos antes mencionados.¹⁹

2.2.2.- Encapsulamiento de aceites esenciales utilizando biopolímeros como matriz encapsulante

Los aceites esenciales son usados principalmente en el área alimenticia, con el fin de proporcionar sabores u olores a ciertos alimentos, sin embargo, como ya se ha mencionado, estos compuestos son altamente sensibles a diversos estímulos en el entorno, por lo cual la eficiencia de su aplicación puede llegar a ser limitada. Por lo anterior se ha optado por utilizar la microencapsulación, a fin de proteger estos compuestos durante su procesado, garantizando así una mejor eficiencia.

La opción del uso de matrices encapsulantes basadas en biopolímeros para encapsular y liberar agentes activos en el área agrícola ha tomado un gran interés, esto es debido a que los agentes activos, principalmente fertilizantes encapsulados en matrices de polímeros sintéticos suelen dejar residuos no deseados de dicha matriz en el suelo. La mayoría de los polímeros utilizados (poliolefinas, resinas alquídicas y resinas similares al poliuretano, que son las que se usan principalmente) se descomponen de manera muy lenta en suelo sin aportar nada o simplemente no se descomponen en absoluto. El uso de dichas matrices puede llevar a la acumulación indeseable de residuos de hasta 50kg al año.²⁰

Los aceites esenciales han sido mayormente utilizados en la industria alimenticia, por lo que se han utilizado matrices encapsulantes de biopolímeros, entre los cuales se encuentran la goma arábica, maltodextrinas, quitosano, almidones, así como mezclas de estos. La Tabla 2.2 muestra algunos de los biopolímeros más utilizados para el encapsulamiento de aceites esenciales, en la cual se describe el tipo de aceite esencial

encapsulado, el tipo de matriz encapsulante, así como la concentración de aceite en el sistema encapsulado.

Tabla 2.2. Diversos sistemas microencapsulados y su concentración de aceite esencial utilizado como activo.

AUTOR	MATRIZ ENCAPSULANTE	ACEITE ENCAPSULADO	PORCENTAJE en la capsula
<i>Anupam Kujur y col. (2017)²¹</i>	Quitosano/Acido cinámico	Gaultheria procumbens	0.5%
<i>Natalia Barbieri y col. (2018)²²</i>	Ciclodextrinas	Orégano	37.5%
<i>Renata Baranauskiene y col. (2007)²³</i>	Almidón de maíz modificado	Menta	15.25%
<i>Regiane Victoria y col. (2013)²⁴</i>	Goma Arábica	Romero	20%
<i>Idalmis Exposito y col.²⁵</i>	Goma arábica/Maltodextrina	Mandarina	10 – 25%
<i>Stefani Cortes y col. (2017)²⁶</i>	Goma de mezquite/Mucilago de nopal	Limón	10%
<i>Kubra Sultan y col. (2018)²⁷</i>	Goma Arábica/Maltodextrinas	Cascara de bergamota	5%
<i>M. Marquez Gomez y col. (2016)²⁸</i>	Almidón de arroz modificado/Almidón de arroz nativo/Maltodextrinas	Naranja	15%

En un estudio presentado por Renata Baranauskiene y col. en 2017 se investigó el efecto de diferentes materiales portadores de carbohidratos sobre la retención del sabor del aceite esencial de menta durante el encapsulamiento por secado por atomización. En este estudio se utilizaron diferentes almidones modificados tales como: Almidón de maíz modificado químicamente con n-octenil anhídrido (OSAN), refinados con maíz ceroso, almidón con jarabe de maíz añadido, derivados de maíz ceroso y almidones de maíz modificados con ácidos. En dicho estudio, se demostró que la retención de aceite esencial y volátiles dependen en gran medida del tipo de matriz de encapsulamiento utilizada. En estos estudios, las matrices de encapsulamiento mostraron una capacidad de encapsulamiento del 15.25% en peso de aceite esencial, ya que según lo encontrado en la literatura, al sobrepasar un porcentaje del 20% en peso de aceite esencial, la eficiencia se ve afectada, y el aceite suele perderse.²³

Por otra parte, M. Márquez Gómez y col. en 2016, realizaron estudios para el encapsulamiento de aceite esencial de naranja en matrices de mezclas de almidón de arroz nativo, almidón de arroz modificado y maltodextrinas, a fin de analizar cuál era la opción que brindara mayor protección. Se observó que las formulaciones que contenían mayor concentración de almidón de arroz nativo y almidón de arroz modificado mostraron mayor retención de aceite esencial, alcanzado hasta un 15% de encapsulación de aceite esencial. Algunos de los sistemas encapsulados obtenidos en este estudio se muestran en la Figura 2.13.²⁸

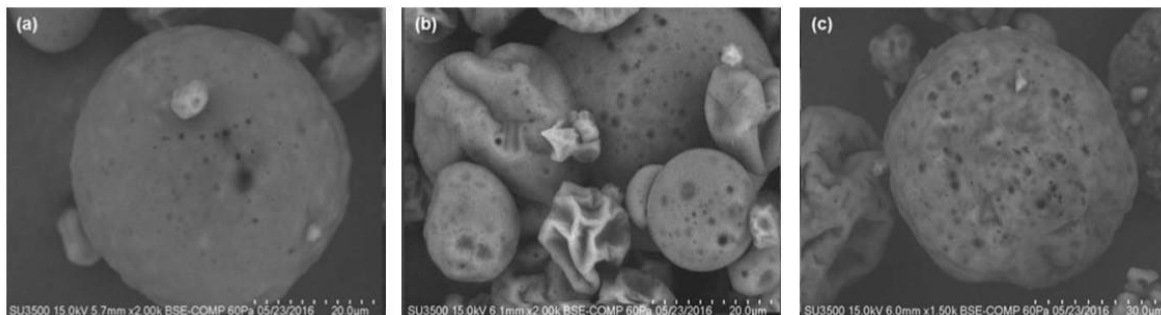


Figura 2.13. Partículas con contenido de aceite esencial de naranja a) Matriz (almidón nativo/almidón modificado/maltodextrina/proteína hidrolizada), b) matriz (almidón modificado/maltodextrina), c) matriz (almidón nativo/almidón modificado).²⁸

El almidón modificado con n-octenilsuccinato, es un almidón conocido para obtener microencapsulados de aceites esenciales, esto gracias a la modificación que tiene. Dicha modificación le permite viscosidades adecuadas para ser utilizado en el proceso de spray drying, así mismo los grupos adicionados le proveen capacidad hidrófoba.²⁹

La atomización de sistemas conteniendo almidón modificado con n-octenilsuccinato genera partículas huecas, cuya coraza varía en el grosor según diferentes factores tales como el contenido de sólidos, la combinación con otras matrices como maltodextrinas, la temperatura de secado y la relajación de las moléculas de la matriz. Debido a las interacciones moleculares entre la fase hidrófoba del almidón y los aceites a encapsular, el aceite esencial no es retenido en el núcleo de la partícula, si no más bien preferentemente en la coraza de la partícula tal como se puede observar en la Figura 2.14.³⁰

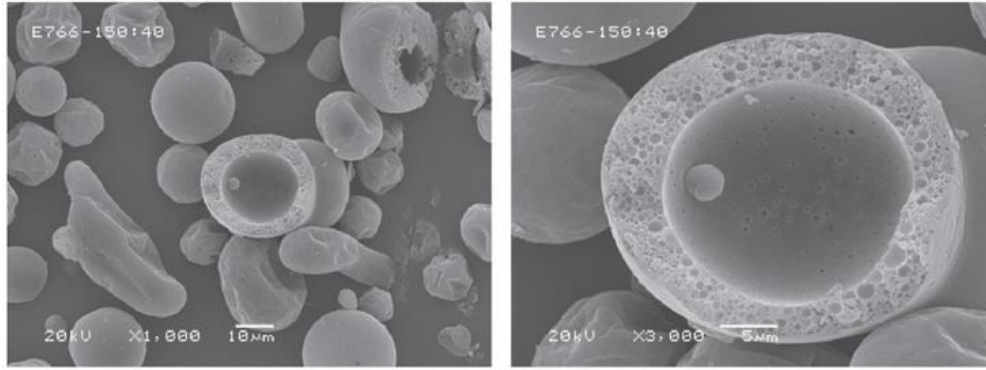


Figura 2.14. Micrografía de corte transversal de las partículas microencapsuladas.³¹

De acuerdo con Jason Z., el proceso de encapsulación de aceites empleando almidón modificado con n-octenisuccinato, ocurre como se muestra en la Figura 15.

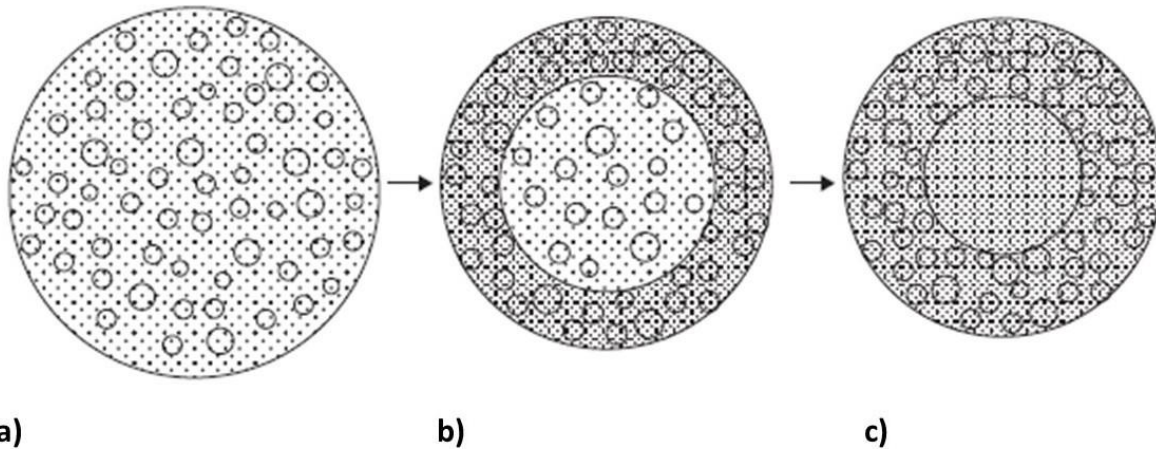


Figura 2.15. Ilustración esquemática de la dinámica de secado por atomización. Los grandes círculos representan gotas de agua atomizadas, los círculos pequeños son gotas de aceite, los puntos son moléculas de carbohidratos solubles, donde a) es una gota de agua recién atomizada, b) la corteza formada por el secado inicial de la superficie exterior y el núcleo permanece teniendo una composición similar a a), c) microcápsula final con un vacío después de secar toda el agua.³¹

En los sistemas de encapsulación desarrollados con n-octenilsuccinato, bajo ciertas condiciones de procesamiento la coraza llegar a plegarse, obteniéndose una morfología como de un balón desinflado, lo que disminuye su capacidad de encapsulación. Algunas de estas partículas pueden observarse en la figura 2.14.³¹

Con base en lo anterior, el hecho de que el agente activo se encapsule preferentemente en la coraza de la partícula podría limitar su capacidad de encapsulamiento y retención

de volátiles; puesto que para lograr una mayor capacidad de encapsulamiento se necesita una mayor cantidad de matriz.

A pesar de la utilización de matrices de biopolímeros para el encapsulamiento de aceites esenciales, especialmente en matrices de almidón estos sistemas solo han sido utilizados para su aplicación mayormente en la industria de alimentos. La aplicación de este tipo de matrices de biopolímeros en aplicaciones en agricultura, requieren que la matriz encapsulante presente propiedades adicionales, tales como:

- Capacidad de dispersabilidad de los polvos, los cuales les permitan ser utilizados en formulaciones acuosas para su asperjado.
- Capacidad de absorber radiación de luz ultravioleta, la cual reduzca los efectos de la foto degradación de los bioactivos.

Para el caso de liberación de activos en agricultura, los polímeros, especialmente en forma de hidrogeles y microesferas, son muy importantes en la formación de sistemas de liberación controlada. Estas formulaciones, además de proporcionar el perfil de liberación lenta del ingrediente activo, también aumenta la capacidad de retención de agua del suelo. Después de su degradación, estos son útiles como abono en el campo. Es por esto que los polímeros naturales están ganando una aceptación considerable sobre los polímeros sintéticos como dispositivos de liberación controlada debido a su naturaleza ecológica, rentabilidad, fácil disponibilidad y su biodegradabilidad. Entre estos polímeros naturales se encuentran los polisacáridos, entre las ventajas de estos se encuentran sus bajos costos y su disponibilidad, lo que facilita la producción a gran escala de productos derivados de estos.³²

Hasta donde se tiene conocimiento, son escasas las formulaciones de matrices encapsulantes de aceites esenciales utilizando biopolímeros, las cuales presentan las características técnicas adicionales requeridas para su aplicación en agricultura.

2.3.- Trabajos realizados en el grupo de investigación sobre sistemas encapsulados

En el grupo de trabajo se han venido desarrollando tecnologías de encapsulamiento de fertilizantes y bioactivos de sólidos solubles en matrices encapsulantes híbridas de almidón modificado de maíz y nanopartículas de cera de candelilla.

En un estudio realizado por Carolina Martínez en 2018 se llevó a cabo el encapsulamiento de un fertilizante base fósforo utilizando una matriz de almidón y nanopartículas de cera de candelilla (Figura 2.16).

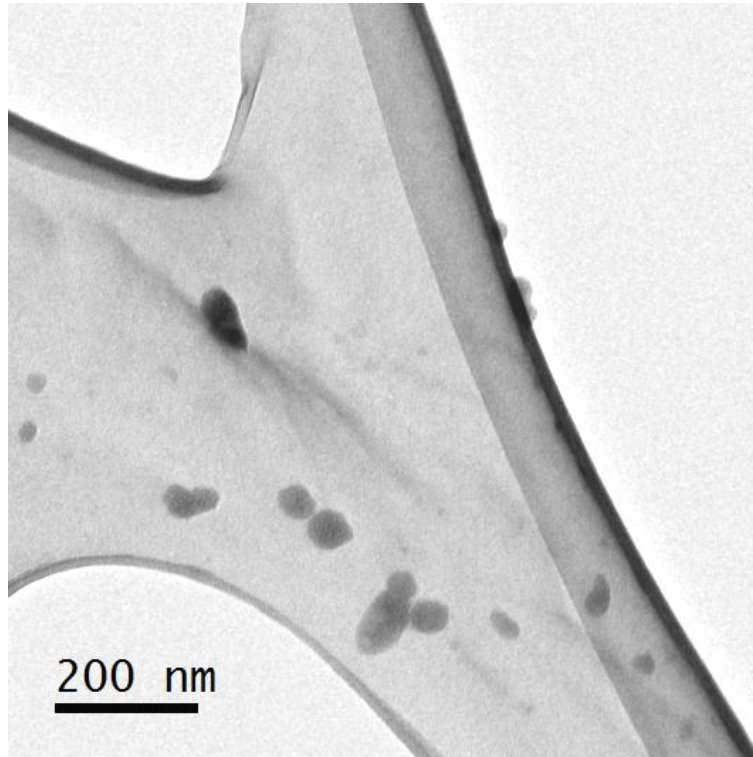


Figura 2.16. Micrografía obtenida por microscopia electrónica de transmisión de nanopartícula de cera de candelilla.

Las partículas obtenidas fueron en su mayoría esféricas, presentando una rugosidad superficial no vista en sistemas de almidón (Figura 2.17).³³ Los sistemas encapsulados desarrollados mostraron tener propiedades de liberación lenta del fertilizante de potasio monoamónico (MAP).³⁴

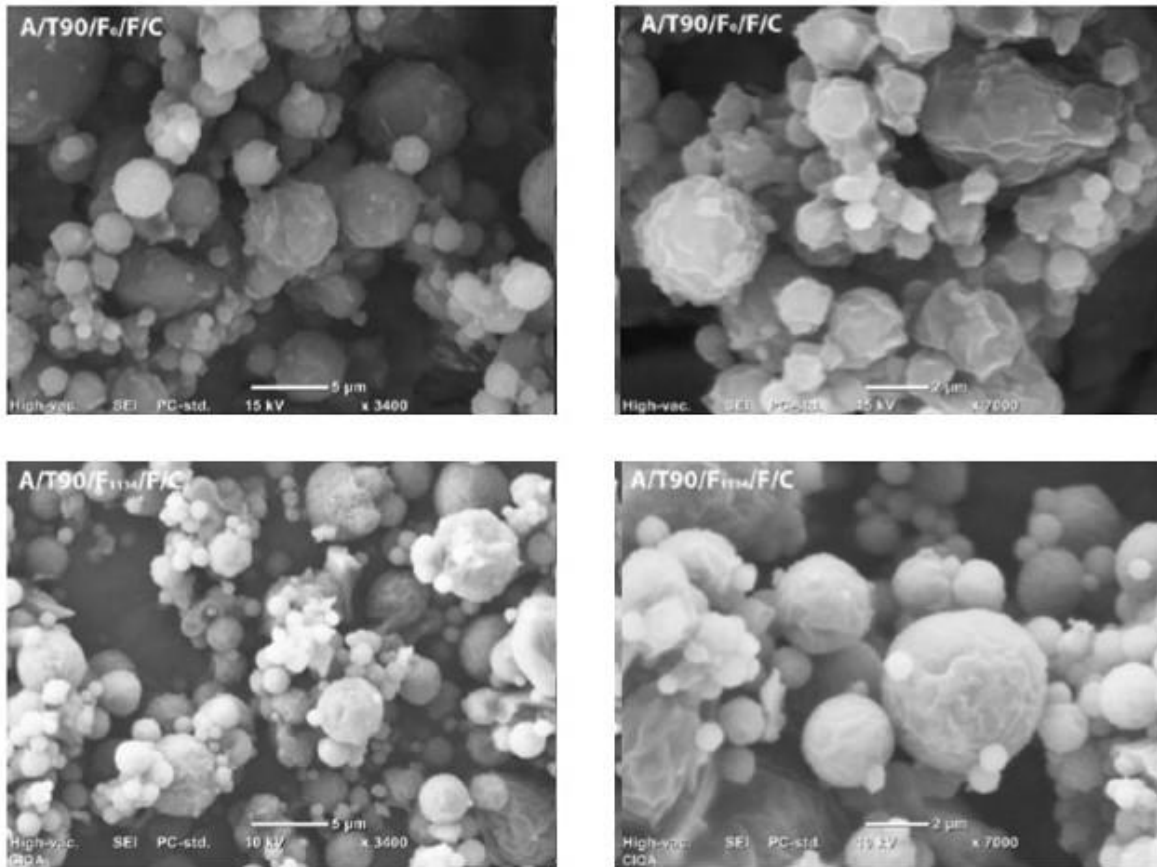


Figura 2.17. Micrografías de sistemas microencapsulados que contienen nanopartículas de candelilla.³³

En otro trabajo llevado a cabo en el grupo de investigación, Noé Navarro, realizó un estudio más a fondo para conocer las propiedades de la matriz híbrida de almidón/nanopartículas de cera de candelilla. En dicho estudio se encontró que la cera de candelilla induce un cambio morfológico a las matrices de polisacáridos (tales como almidón y quitosano), pasando de una morfología característica de partículas colapsadas (sin cera de candelilla) a partículas esféricas y huecas (Figura 2.18).³⁵

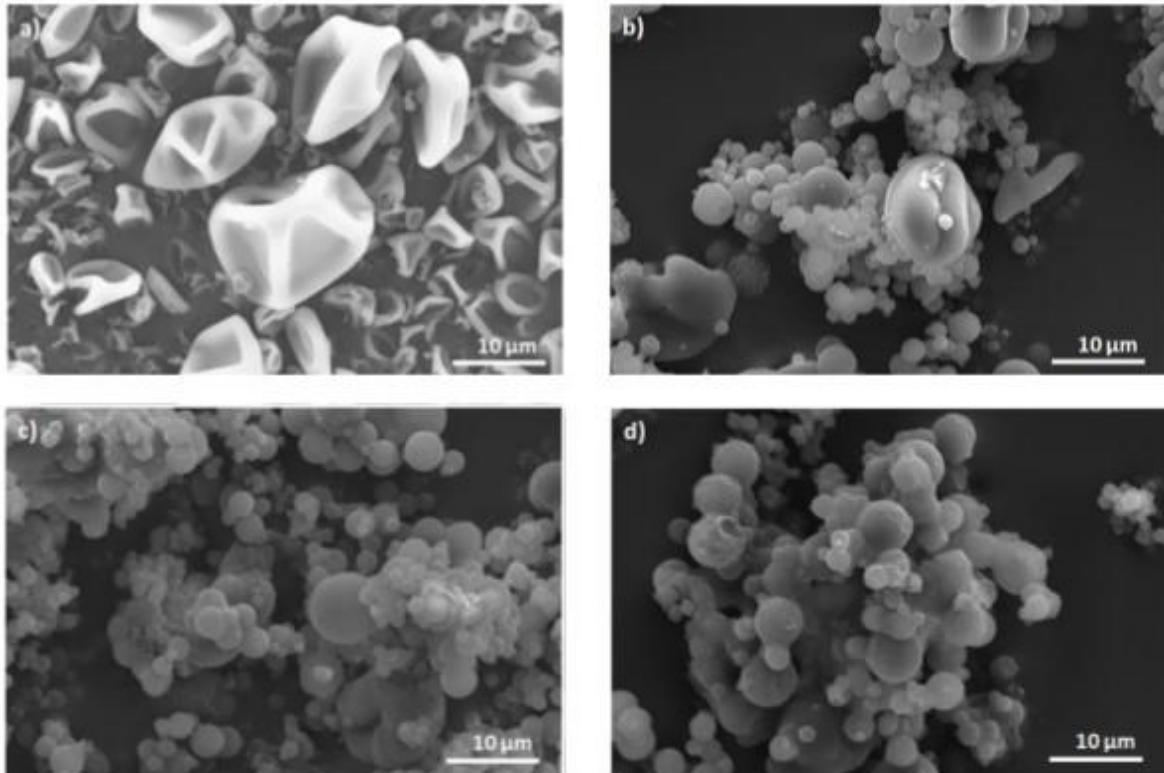


Figura 2.18. Micrografías de los sistemas híbridos, a) Matriz de almidón, sistemas almidón:cera de candelilla b)10, c)20 y d)30.³⁵

También se analizó el carácter hidrófobo, así como la capacidad de absorción de radiación de luz UV de las micropartículas obtenidas. Para analizar la hidrofobicidad de estos sistemas, se llevaron a cabo pruebas de capacidad de hinchamiento, donde se observó que los sistemas de almidón/nanopartículas de cera de candelilla presentaron una considerable reducción en la capacidad de hinchamiento de hasta un 55% en peso de agua (Figura 2.19).³⁵

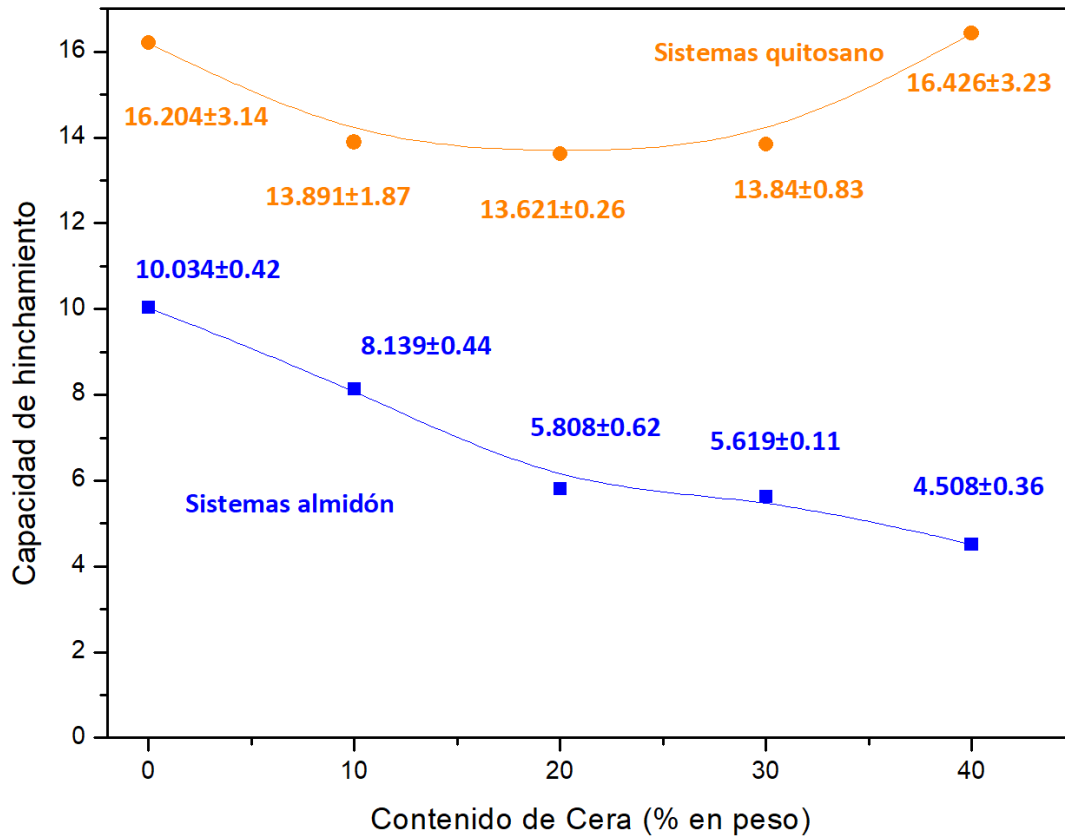


Figura 2.19. Capacidad de hinchamiento de los sistemas híbridos obtenidos con matriz de almidón (Línea azul), comparados con sistemas con matriz de quitosano (línea naranja).³⁵

Así mismo, se realizó una dispersión acuosa de las partículas de sistemas híbridos de almidón/nanopartículas de cera de candelilla al 20% en peso, donde se demostró que la formulación con nanopartículas de cera de candelilla permite generar dispersiones estables de micropartículas, con la ausencia de aglomerados o formación de geles (Figura 2.20).³⁵



Figura 2.20. Dispersiones acuosas de almidón atomizado y almidón: cera de candelilla al 20% en peso.³⁵

En relación con la capacidad de absorción UV, se observó que formulaciones de nanopartículas de cera de candelilla incrementan la capacidad de absorción de radiación UV de la matriz encapsulante de almidón. De este estudio, se determinó que los sistemas conteniendo un 20% en peso de nanopartículas de cera en la composición de matriz es el óptimo para generar micropartículas esféricas, altamente dispersables y con alta capacidad de absorción UV (Figura 2.21).³⁵

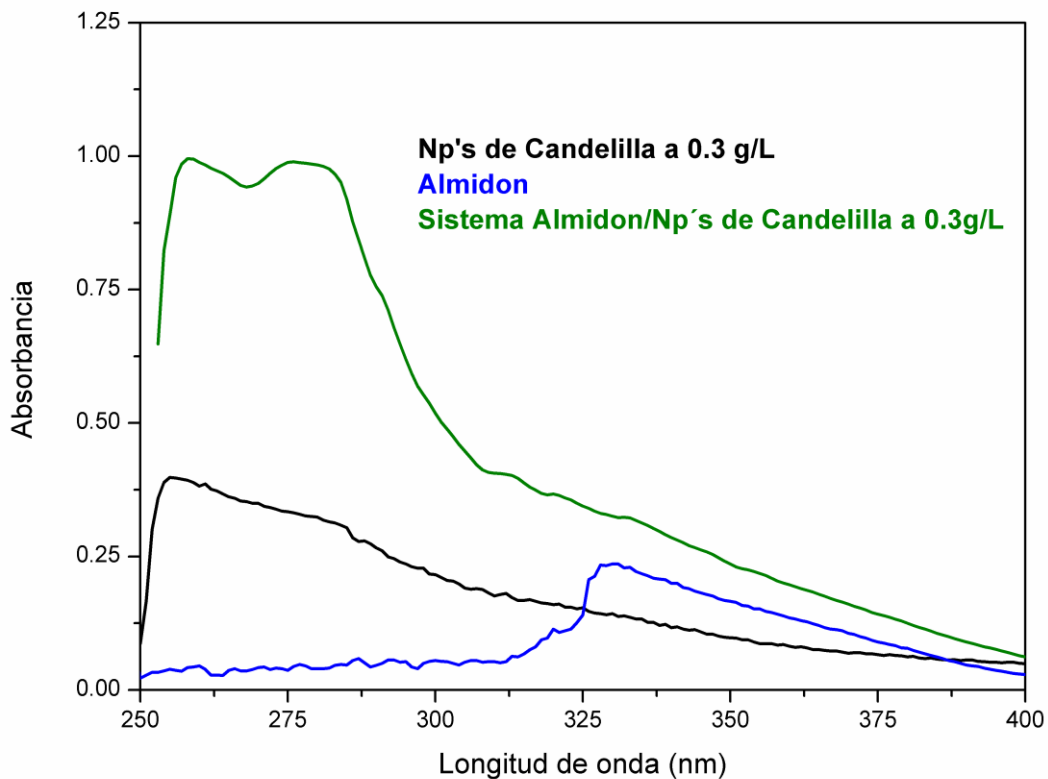


Figura 2.21. Espectrogramas con espectroscopia UV-Vis de los sistemas híbridos con matriz de almidón, suspendidas en etanol a una concentración de 0.3g/L.³⁵

Por otra parte, en dicho estudio realizado por Noé Navarro, se demostró mediante microscopía confocal que las nanopartículas de cera de candelilla se encuentran bien distribuidas en las micropartículas obtenidas. La Figura 22 muestra imágenes por microscopía confocal, en la cual los puntos verdes corresponden a la emisión de luz por fluorescencia de las nanopartículas de cera de candelilla.³⁵

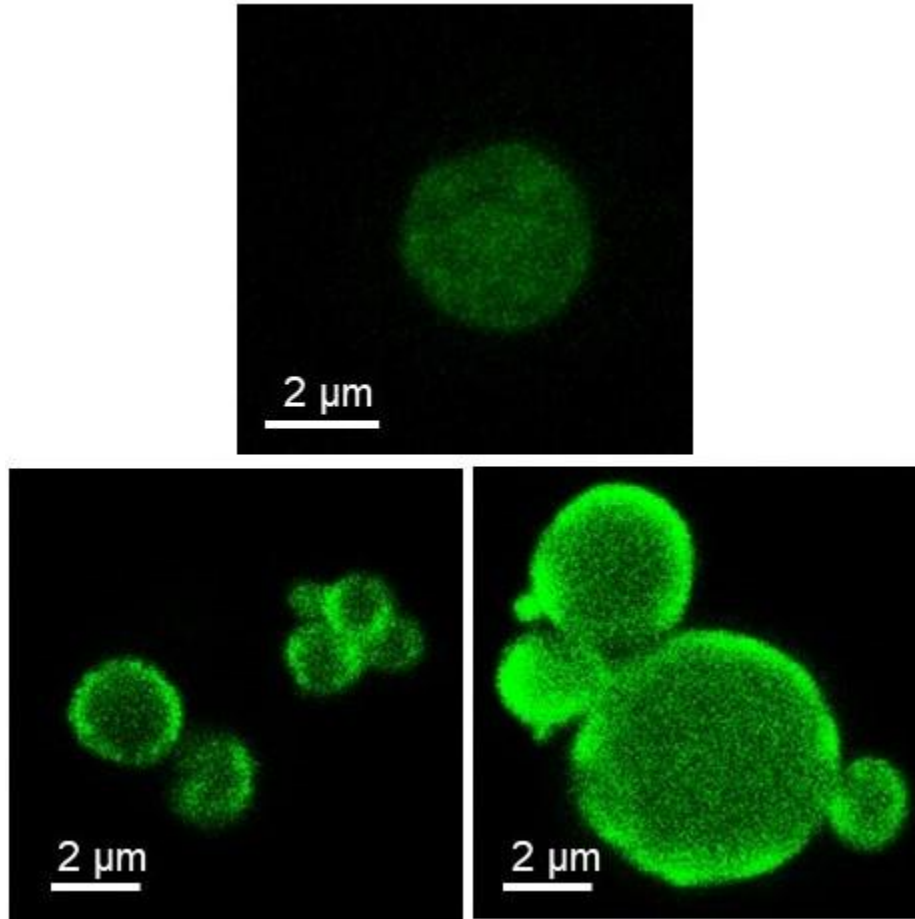


Figura 2.22. Micrografías obtenidas por microscopia confocal del sistema híbrido al 20% en peso de cera. Los puntos verdes refieren a la fluorescencia de las nanopartículas de cera.³⁵

Los trabajos previos desarrollados en el grupo de investigación, han abierto un gran panorama de posibles aplicaciones con las matrices híbridas desarrolladas; sin embargo, no se han realizado trabajos que permitan conocer la capacidad de encapsulamiento de aceites esenciales de las matrices híbridas, y su potencial de ser utilizadas como materiales atrayentes del *Xyleborus glabratus*.

En ambos trabajos las nanopartículas de cera de candelilla se obtuvieron por medio de emulsificación de baja energía, mediante un método de inversión de fase.^{36,37} Dichas emulsiones mostraron tener una buena estabilidad en el tiempo, de hasta 1 año aproximadamente (Figura 2.23).

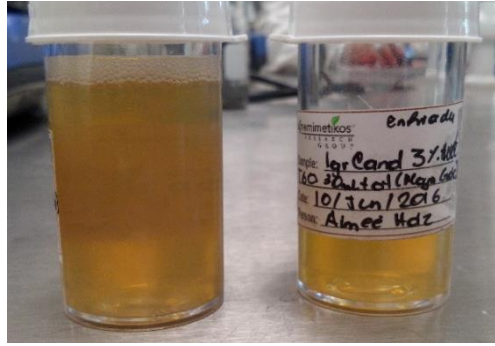


Figura 2.23. Emulsión de candelilla obtenida por emulsificación de baja energía a partir del método de inversión de fase.

Por tanto, si consideramos los resultados obtenidos en los trabajos previos realizados por Noe Navarro y por Carolina Martínez, se podría plantear que la matriz encapsulante híbrida basada en almidón modificado de maíz y nanopartículas de cera de candelilla, podría llegar a presentar mayor capacidad de encapsulación de activos líquidos (aceites esenciales), puesto que el activo pudiera llegar a encapsularse en el núcleo de la partícula. Así mismo, el agente activo llegaría a estar cubierto por una matriz que posee la propiedad de absorción ultravioleta, lo que pudiera abonar una foto-protección del aceite esencial.

3. MARCO TEORICO

3.1.-Plaguicidas

Los plaguicidas son sustancias utilizadas por los seres humanos para matar o disuadir a los organismos (plagas) que amenazan a los cultivos.³⁸ Hoy en día, los agricultores consideran los plaguicidas como una herramienta esencial para garantizar que puedan mantener la producción de cultivos de calidad y cantidad para satisfacer a una creciente población humana.³⁹ Tanto los insecticidas (para controlar insectos) como los herbicidas (para controlar vegetación no deseada) se utilizan en altas cantidades causando que tenga un alto impacto en el medio ambiente.³⁸ Así mismo el uso desmedido de estos ha causado que los organismos desarrollen resistencia a dichos agentes.⁴⁰

La clasificación más común de plaguicidas se basa en su composición química y la naturaleza de los ingredientes activos, siendo esta bastante compleja. En la actualidad, los pesticidas utilizados son derivados de productos químicos orgánicos, incluyendo pesticidas sintéticos y de origen vegetal, así como algunos compuestos inorgánicos.³⁹

Los bioplaguicidas son materiales naturales que funcionan para el control de plagas sin generar toxicidad (Figura 3.1). Algunos ejemplos de este tipo de plaguicidas bioquímicos son las feromonas sexuales de insectos (actúan interfiriendo en el apareamiento), así como una gama de extractos de plantas aromáticas (que trabajan atrayendo plagas de insectos en trampas).⁴¹

La ventaja de estos productos es que presentan baja toxicidad para mamíferos y corta persistencia ambiental que debido a su complejidad química, limita el desarrollo de resistencia por parte de las plagas.⁴⁰

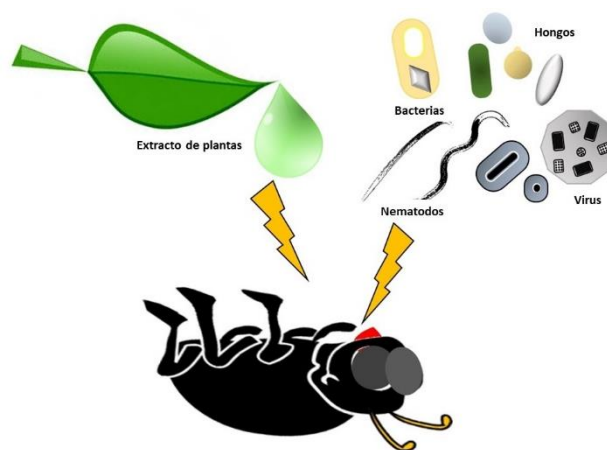


Figura 3.1. Efecto de los bioplaguicidas procedentes de plantas en organismos.

3.1.1.- Daños y afecciones causadas por plaguicidas

El uso de plaguicidas ha contribuido ciertamente a mejorar la producción agrícola, en términos de rendimiento y calidad, aumentando así los ingresos económicos especialmente en los países desarrollados. Sin embargo, el uso desmedido de plaguicidas representa graves riesgos para la salud de los seres humanos, otros organismos vivos y el medio ambiente.⁴² Desde los años 90's se han realizado estudios detallados de la química y la toxicidad de los plaguicidas.³⁸ Estos estudios han demostrado que solo el 1% del producto aplicado en campo alcanza su objetivo (absorbido por la planta o utilizado por la plaga), sugiriendo que el resto permanece en el medio ambiente sin producir el beneficio previsto; más aún, la utilización real de la absorción es solo inferior al 0.1% después del arrastre por escorrentía, lixiviación y absorción del suelo (Figura 3.2), quedando residuos en aire, y agua potable.^{43,44,45}

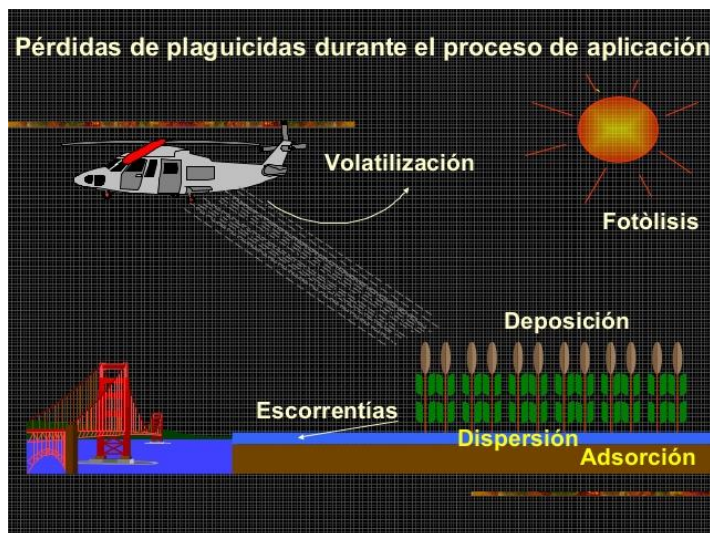


Figura 3.2. Ciclo de pérdidas de los plaguicidas durante su aplicación.

Se ha demostrado que la exposición humana a los plaguicidas puede estar asociada con efectos crónicos no cancerígenos, incluidos los efectos dermatológicos, neurológicos, reproductivos y genotóxicos, así como efectos cancerígenos, como lo es el cáncer de pulmón, mama, páncreas, cerebro, próstata, estómago, ovario y riñón, así como el linfoma de Hodgkin y leucemia.⁴⁴

El uso no eficiente de plaguicidas causa una serie de problemas ambientales ecológicos, como su resistencia a los patógenos y a las plagas, la contaminación no puntual, la eutrofización del agua, la degradación del suelo, la bioacumulación en la cadena alimentaria y la pérdida de biodiversidad. La mayoría de los ingredientes activos de los plaguicidas son compuestos orgánicos insolubles en agua, por lo cual deben añadirse disolventes, emulsionantes y dispersantes, así como otros ingredientes

auxiliares y procesados en una formulación adecuada para facilitar la aplicación por medio de pulverización en el campo. La pérdida y tasa de descomposición del pesticida en el cultivo es de 70% causada por escorrentía y deriva durante la aplicación.⁴⁵

Debido a todos estos problemas, actualmente se estudian alternativas de los plaguicidas, entre las cuales destacan compuestos naturales provenientes de plantas, tales como lo son los aceites esenciales.

3.2.- Aceites Esenciales

Los aceites son mezclas complejas de compuestos volátiles producidos por organismos vivos, alcanzando una masa por debajo de un peso molecular de 300g/mol, que se puede separar físicamente de otros componentes o tejido membranoso de las plantas por procesos como prensado o destilación (Figura 3.3).^{18,46}

Cada aceite esencial volátil es único, pues, la compleja combinación de sustancias orgánicas que forman un aceite esencial tiene una composición, que depende de la especie, el periodo de cosecha, el clima, así como la parte de la planta que se extrae (hojas, tallo, raíz, flor, entre otras).⁴⁷



Figura 3.3. Aceites esenciales, estos productos presentan composiciones complejas.

Debido a estas propiedades es que los aceites esenciales tienen potencial de aplicación en la agricultura como plaguicidas atrayentes, esto debido a que gracias a su compleja y variada composición no es posible que los microorganismos desarrollen resistencia a estos de forma rápida.

3.3.- Microencapsulamiento

El microencapsulamiento es un proceso en el cual sustancias o agentes activos son recubiertos o atrapados en partículas de tamaños micrométricos, con la finalidad de protegerlos de factores externos como la radiación ultravioleta, humedad, fricción, pH, el aire, entre otros; o bien, para incrementar el uso eficiente de estos activos a través de una liberación controlada y/o lenta (Figura 3.4).⁴⁸

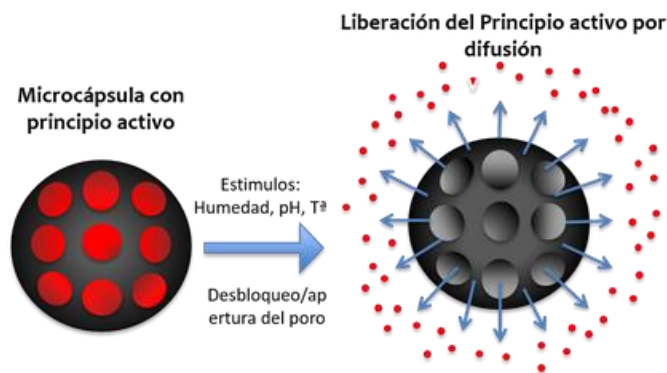


Figura 3.4. Liberación de activo debido a estímulos externos.⁴⁹

3.3.1.- Técnicas De Microencapsulamiento

Existen diversos métodos de encapsulamiento de compuestos activos en matrices de polímeros sintéticos y naturales. Entre los métodos más utilizados se encuentran los siguientes:

Disco Giratorio: Típicamente, el activo se suspende en el material que formará la matriz de encapsulamiento, la cual se deja caer sobre un disco giratorio. Posteriormente, el líquido se desplaza por acción de la fuerza centrífuga, generando así microgotas las cuales solidifican por secado o enfriamiento.⁴⁸

Extrusión y coextrusión: En este caso, el ingrediente activo se dispersa en el material de pared fundido, donde dicha mezcla es extruida para formar un filamento sólido mientras el material se enfría con aire o utilizando un líquido; posteriormente, el filamento es peletizado. En el caso de la coextrusión el ingrediente activo se bombea a través del interior de un dado mientras que la pared de encapsulamiento se bombea por la parte exterior del dado.⁴⁸ Las matrices más utilizadas en esta técnica son matrices de carbohidratos en estado vítreo.⁵⁰

Lecho fluidizado: Consiste en la atomización de una solución de matriz de encapsulamiento (polímero en solución o estado fundido) sobre partículas sólidas del ingrediente activo. Sin embargo, con este proceso se dificulta obtener gránulos con un tamaño menor a 20 micras.⁴⁸ Esta técnica utiliza como matriz encapsulante ceras fundidas, gomas, polímeros sintéticos y maltodextrinas.⁵⁰

Coacervación: Este proceso involucra la segregación de un polímero en solución, donde se forman pequeñas gotas inmiscibles que se adsorben en la superficie de las partículas dispersas en el medio, formando un encapsulamiento de tipo núcleo coraza al endurecer la capa polimérica.⁴⁸ Principalmente se utilizan polímeros como matrices encapsulantes.⁵⁰

Atrapamiento en Liposomas: Los liposomas son partículas microscópicas constituidas principalmente de lípidos y agua. Son estructuras compuestas de una bicapa de lípidos que engloban un volumen acuoso contenido el agente activo.⁴⁸

Secado por atomización (Spray Drying): La tecnología del secado por atomización (spray drying), es ampliamente conocida y utilizada para transformar líquidos a polvos sólidos. Dichos líquidos abarcan desde soluciones, emulsiones, suspensiones, lodos, pastas e incluso fundidos.⁴⁸

Un esquema general de los procesos de microencapsulamiento son mostrados en la Figura 3.5.

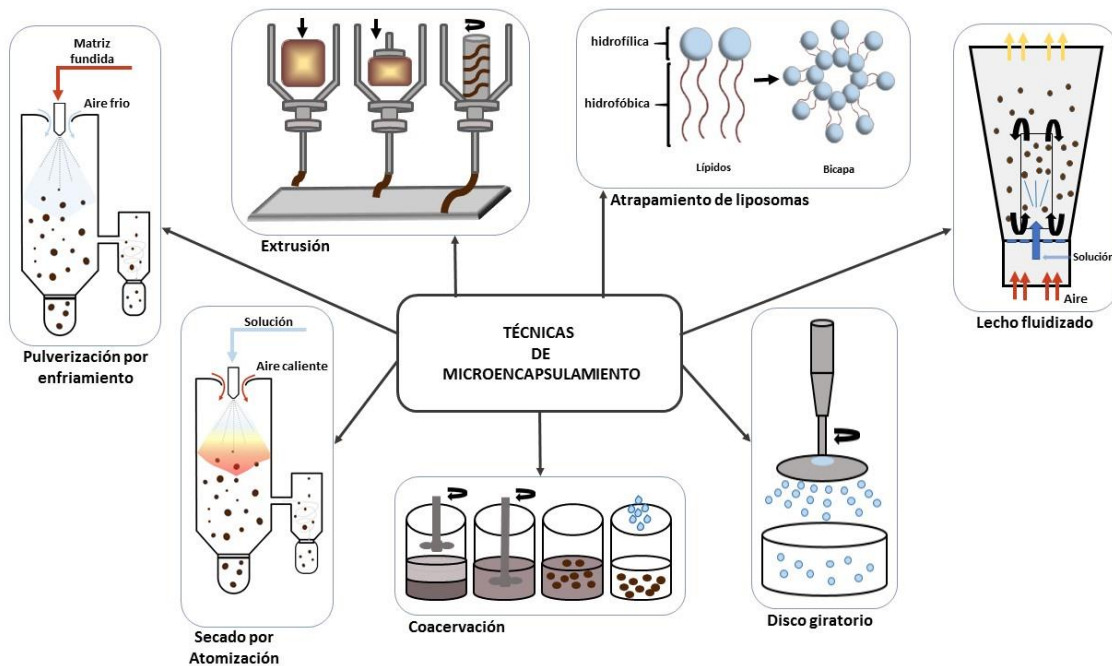


Figura 3.5. Técnicas de microencapsulamiento.⁴⁸

3.3.2.- Spray Drying

El secado por atomización consiste en la transformación de un sistema de alimentación líquido (solución o dispersión) en partículas secas. Algunas ventajas de esta técnica es su capacidad de manejar materias primas de diversa naturaleza, debido a esto el proceso de microencapsulamiento está por sobre otros métodos ya que el proceso conduce directamente y de una manera bastante simple desde una alimentación líquida hasta partículas sólidas. Otro punto crucial es que el secado es rápido y se puede completar en poco tiempo; así mismo esta metodología es más económica en comparación con otros métodos tales como la coacervación.^{51,52}

El principio de trabajo es la eliminación de la humedad por medio de la aplicación de calor y el control de la humedad del medio de secado. La eliminación de la humedad se promueve mediante la extracción de agua del producto (emulsión de alimentación) en una atmósfera de aire caliente (Figura 3.6).⁵²

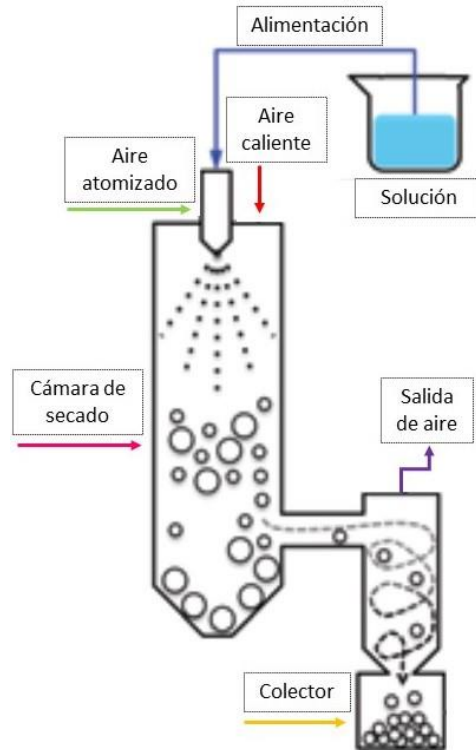


Figura 3.6. Proceso de secado por atomización para la preparación de sistemas microencapsulados (Spray Drying) B-290 imagen adaptada.⁵³

Las etapas del proceso de atomizado se pueden describir de la siguiente manera:⁵²

Atomización: La atomización es el corazón o la parte principal del secado por atomización, y es el primer proceso de transformación que la solución de alimentación sufre durante el secado. Aunque existen varias definiciones de atomización, una de las definiciones principales del proceso es “llevar las sustancias fluidas o sólidas a un estado de división diminuta”. La ruptura del líquido en un gran número de gotas pequeñas impulsa el resto del proceso de secado al reducir las resistencias internas a la transferencia de humedad de la gota al medio circundante. Este paso es crucial ya que influye en la forma, estructura, velocidad y distribución del tamaño de las gotas y a su vez el tamaño de las partículas y la naturaleza del producto final.

Contacto con aire de secado: Esta etapa y los pasos subsecuentes del proceso de secado por atomización, constituyen la fase de formación de las partículas. Con el suministro de las pequeñas gotas atomizadas, el siguiente paso es llevar las gotas a un

contacto estrecho con el aire caliente. Esto permite la rápida evaporación de la humedad de la superficie de las gotas de una manera uniforme. Un punto crítico de esta etapa es que el flujo de aire sea uniforme en todas las partes de la cámara de secado.

Evaporación de la humedad: Este paso del proceso se asocia con la morfología del producto final. Este proceso se puede visualizar en dos etapas:

- *Etapa de velocidad constante y
- *Etapa de bajada

En esta etapa la humedad se elimina de manera constante de la superficie de la gota (etapa de velocidad constante). Debido a la evaporación, la gota se contrae y a medida que el material se va secando, se va formando una capa fina en la superficie de la gota (formación de corteza). Después de este proceso de formación de corteza, la evaporación del agua no ocurre de forma rápida, si no que dependerá de la velocidad de difusión de vapor a través de la corteza (Figura 3.7).



Figura 3.7. Formación de partícula durante la etapa de secado.⁵⁴

Separación de partículas: El producto seco se separa en dos fracciones, generalmente a través de dos secciones del equipo de atomizado conocido como “cámara” y “ciclón”.

La morfología de las partículas obtenidas dependerá de las propiedades fisicoquímicas del núcleo, la composición de la pared o matriz de encapsulamiento, así como las condiciones de proceso empleadas para la microencapsulación (Figura 3.8).

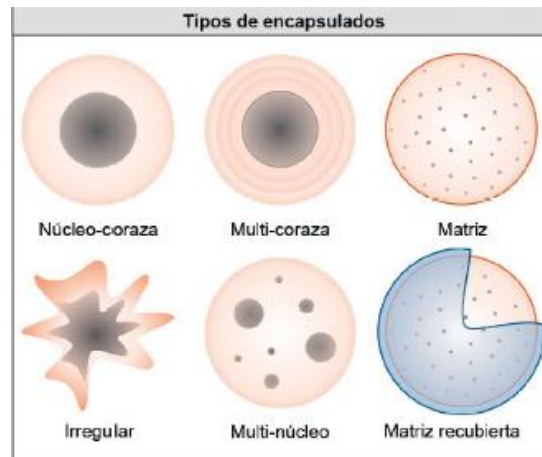


Figura 3.8. Diferentes tipos de morfologías de microencapsulados que se pueden obtener según las condiciones de secado y atomizado.⁵⁵

3.4.- Matrices Encapsulantes

Se conocen diversas matrices poliméricas que se puede utilizar para atrapar, recubrir o encapsular sólidos, líquidos o gases de diferentes tipos, orígenes y propiedades.⁵⁶ El material utilizado como matriz encapsulante puede ser una solución acuosa de biopolímeros derivados de celulosa, dextrinas, proteínas, derivados del almidón; así mismo deben de cumplir con ciertas propiedades dependiendo de la aplicación en la cual se vaya a destinar.⁵⁶

En el caso de los materiales encapsulantes utilizados para el desarrollo de sistemas de liberación controlada de agro-químicos deben cumplir con algunos requerimientos relacionados con la menor difusión, mayor solubilidad y mayor resistencia a la degradación. Los materiales utilizados pueden ser biodegradables o no biodegradables, sintéticos o de origen natural.⁵⁷ Dentro de este tipo de materiales, los polisacáridos desempeñan un papel muy importante y de gran utilidad en la fabricación de microencapsulantes.

La microencapsulación ofrece la posibilidad de modificar sustancias de forma que pueda proporcionar soluciones individuales para problemas específicos comunes a una variedad de áreas de aplicación diferentes. Las ventajas más comunes que se obtienen con el encapsulamiento son:^{58,59}

- ❖ Liberación controlada y activada: Métodos para administrar y garantizar una concentración particular de un activo en un lugar determinado y en un momento determinado.
- ❖ Protección: mediante encapsulación, el material activo puede protegerse contra factores externos como la oxidación, la luz, el agua, la evaporación o el medio ambiente.
- ❖ Combinación de materiales: Mediante encapsulación, los materiales incompatibles pueden combinarse en una formulación como materiales reactivos.

3.4.1- Polisacáridos como matrices encapsulantes

Los polisacáridos son moléculas poliméricas de carbohidratos compuestas de largas cadenas de unidades repetitivas constituidas de monosacáridos unidas por enlaces glucosídicos. Los polisacáridos naturales presentan características estructurales distintas en términos de peso molecular, composición, configuración, grado de ramificación, etc. Estas propiedades estructurales determinan las propiedades funcionales de los polisacáridos, como solubilidad y propiedades reológicas, que a su vez benefician sus amplias aplicaciones tanto en áreas alimentarias, farmacéutica, dermatológica, cosméticos, entre otros.⁶⁰

Los polisacáridos tienen una fuerte afinidad con las moléculas de agua debido a la presencia de múltiples grupos -OH. La presencia de este grupo funcional permite que exista una fuerte interacción intra- e inter- molecular de los polisacáridos vía uniones puente de hidrógeno. Por lo tanto el equilibrio entre la interacción molécula-molécula y la interacción molécula-agua es la clave para entender la solubilidad de estos compuestos.⁶⁰

3.4.2.- Almidón

El almidón es un polisacárido que constituye la principal y mayor reserva de carbohidratos en las plantas. En contraste con la celulosa, el almidón está presente en la dieta alimentaria de humanos y otros animales. Esto debido a que, es digerido por los humanos y presenta una de las principales fuentes de energía para sostener la vida. Además, el almidón ha sido extremadamente importante por siglos en numerosas aplicaciones no alimentarias, como pegamento para papel, madera y como goma para la industria textil. Junto con la madera, fibras naturales y cuero, el almidón ha sido uno de los materiales de elección desde el inicio de la tecnología.⁶¹

El almidón se compone principalmente de dos tipos de polímeros la amilosa predominantemente lineal con un pequeño número de cadenas de glucano largas y la

amilopectina altamente ramificada, que contiene muchos conglomerados de cadenas cortas (Figura 3.9).⁶²

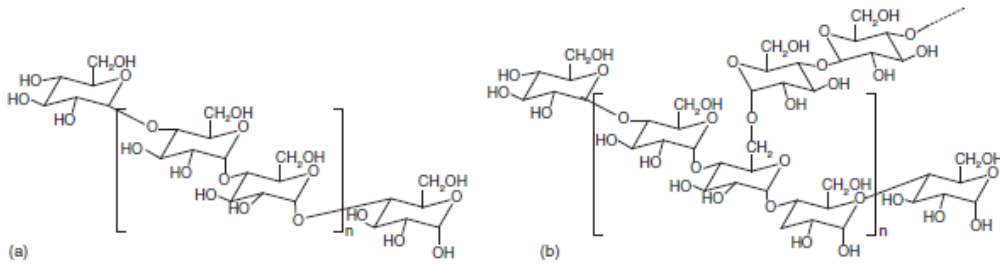


Figura 3.9. Estructuras de la a) amilosa y la b) amilopectina.⁶¹

El almidón nativo se presenta principalmente en forma de gránulos semicristalinos, que tienen una estructura jerárquica específica. Los gránulos de almidón generalmente se componen de un núcleo amorfo rodeado por anillos de crecimiento (conformación) concéntrico semicristalinos, y alternados con anillos de crecimiento amorfo (Figura 3.10).⁶²

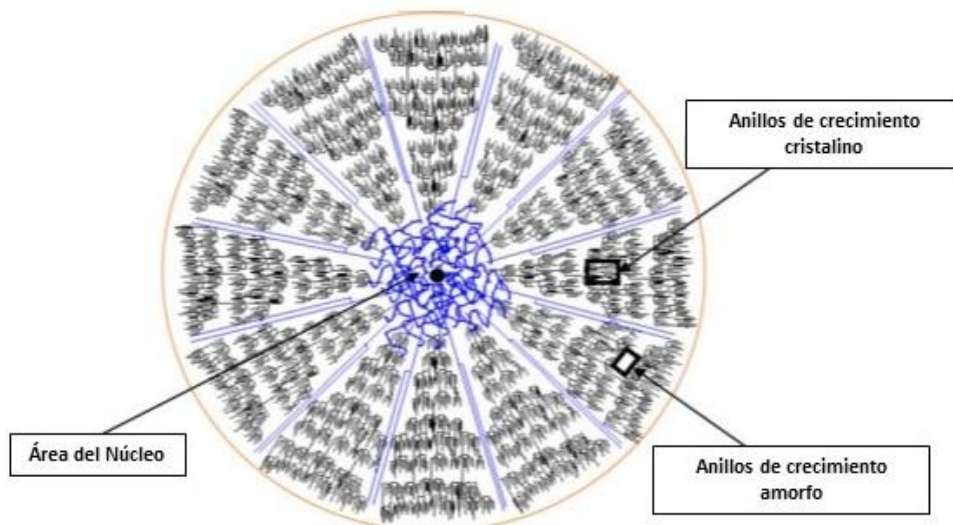


Figura 3.10. Diagrama de la conformación de un granulo de almidon.⁶²

Para el uso de almidón en diversas aplicaciones se requieren almidones con mejores características de comportamiento debido a las limitaciones de las características del almidón, tales como baja resistencia al cizallamiento, resistencia térmica y descomposición térmica durante el procesamiento. Por lo tanto, se emplean diferentes tipos de modificaciones para optimizar las características estructurales y propiedades funcionales para aplicaciones específicas.⁶³

3.4.2.1- Tipos de Modificaciones Del Almidón

Los diferentes métodos utilizados para modificar las características del almidón incluyen la modificación enzimática, física o química.⁶³

Modificación Física: La modificación física del almidón se aplica principalmente para cambiar la estructura granular y convertir el almidón nativo en almidón frío soluble en agua o almidón de cristal pequeño. Estos conjuntos de técnicas generalmente tienden más preferencia, ya que no implican ningún tratamiento químico que puede ser perjudicial para la utilidad humana. Entre estos procedimientos se encuentran: Tratamiento de calor-humedad, recocido, retrogradación, congelación, tratamiento de ultra alta presión, tratamiento con descarga de plasma, tratamiento con presión osmótica, inhibición térmica y gelatinización.⁶⁴

Modificación Química: La modificación química implica la introducción de grupos funcionales en la molécula de almidón, lo que resulta en propiedades fisicoquímicas alteradas. Tales modificaciones de almidones granulares nativos altera profundamente su gelatinización, pegado y retrogradación. Las propiedades químicas y funcionales logradas con la modificación química dependen, entre otras cosas, de la fuente del almidón, las condiciones de reacción (concentración de reactante, tiempo de reacción, pH y presencia de catalizador), tipo de sustituyente, grado de sustitución y la distribución de los sustituyentes en la molécula de almidón. La modificación se logra generalmente a través de la derivación como la esterificación, la eterificación, entrecruzamiento e injerto de almidón, descomposición (hidrólisis ácida o enzimática y oxidación del almidón). A continuación se describen algunas técnicas de modificación y tratamiento de almidón, técnicas que ayudan en su procesamiento en las diferentes aplicaciones comerciales.⁶⁴

Modificación ácida: El tratamiento del almidón con ácido, sin cambiar sustancialmente la forma granular, da como resultado un almidón modificado con propiedades que tienen valor comercial. La modificación ácida del almidón generalmente ocurre por un ataque preferencial del ácido sobre la sección amorfa del gránulo.⁶⁵

Modificación Enzimática: Esto implica la exposición de las suspensiones de almidón a un número de enzimas principalmente incluyendo enzimas hidrolizantes que tienden a producir derivados altamente funcionales. El origen de esta técnica puede ser fechado a los tiempos en que se produjo jarabe de glucosa.⁶⁴

Modificación Genética: Este conjunto de técnicas implica tecnología transgénica que se dirige a las enzimas implicadas en la biosíntesis del almidón, por lo que aprovecha la ventaja sobre las modificaciones químicas o enzimáticas post cosecha ambientalmente peligrosas. La modificación genética puede realizarse mediante las

técnicas tradicionales de fitomejoramiento o mediante biotecnología. Algunas de las técnicas aplicadas son: almidón libre de amilosa, almidón de alta amilosa y estructura de amilopectina alterada.⁶⁴

3.4.2.2- Gelatinización de almidón

La gelatinización del almidón en agua es un proceso de ruptura de la asociación intermolecular entre las moléculas de amilosa y amilopectina en estado sólido (gránulos) con calentamiento.⁶⁶ El proceso de gelatinización causa cambios sustanciales en la naturaleza química y física del almidón granular debido a la reorganización por la unión de hidrógeno entre las moléculas de agua y almidón intramolecular e intermolecular, lo que resulta en el colapso o la interrupción de él orden molecular dentro del gránulo de almidón (Figura 3.11). Esto se traduce en cambios irreversibles en las propiedades del almidón. La evidencia de la pérdida de una estructura organizada se observa por la hinchazón irreversible del gránulo, así como la pérdida de birrefringencia y cristalinidad.⁶⁴

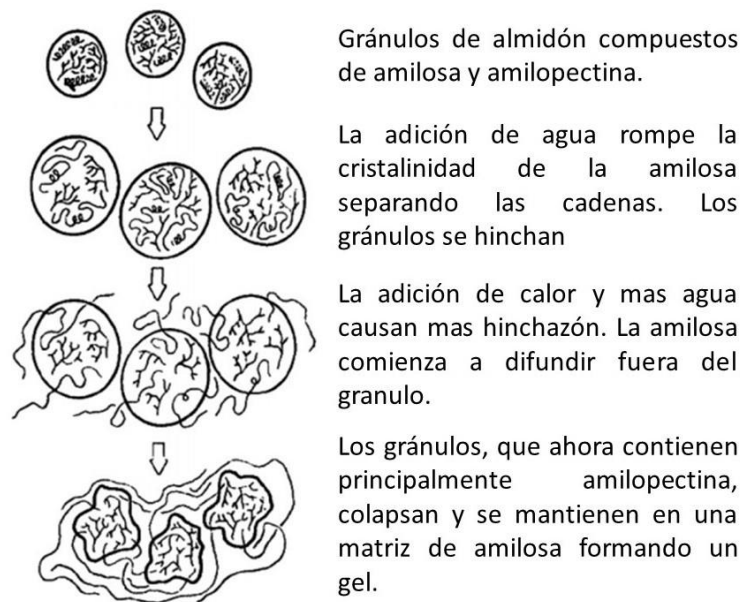


Figura 3.11. Proceso de gelatinización de almidón.⁶⁷

3.4.3.- Cera de Candelilla

La candelilla (*Euphorbia antisiphilitica*) es una planta perenne que se desarrolla en los climas desérticos, casi desprovista de hojas, que se reproduce por semillas o por brotes de tallos aéreos y subterráneos (Figura 3.12).⁶⁸



Figura 3.12. Planta de candelilla.

La recolección de candelilla para la producción de cera natural ha sido una de las actividades económicas más importantes en ciertas regiones del norte de la República Mexicana, siendo Coahuila el principal productor a nivel nacional. Los municipios de Ocampo, Cuatro Ciénegas y Sierra Mojada, son las localidades de mayor importancia para su explotación comercial.⁶⁹

En su forma sin refinar, la cera de canelilla es de color café y cambia a un color amarillo, una vez refinada (Figura 3.13). En cuanto a sus propiedades como la dureza, la cera de candelilla presenta una dureza intermedia entre la de la cera de carnauba y la de abeja.⁷⁰



Figura 3.13. Cera de candelilla en forma de láminas.

La proporción de sus componentes (Tabla 3.1) determina la dureza, impermeabilidad al agua, brillo y otras características propias de la cera como su temperatura de fusión.⁷⁰

Tabla 3.1. Composición típica de la cera de candelilla sin refinar y refinada.⁷¹

Compuesto	Sin refinar (% Peso)	Refinada (% Peso)
Hidrocarburos	46	57
Alcoholes libres	13	14
Ácidos libres	7	7
Ésteres simples	2	21
Ésteres hidroxilados	8	8
Ésteres ácidos	10	0
Diésteres	9	0

Lo cierto es que la cera de candelilla es un material que presenta una gran diversidad de aplicaciones, siendo actualmente utilizada en más de 20 industrias de distintas aplicaciones en todo el mundo, principalmente en los Estados Unidos de Norteamérica, la Unión Europea y Japón. Sus propiedades distintivas le confieren la categoría de materia prima esencial para la fabricación de cosméticos, tintas, adhesivos, recubrimientos, abrillantadores y pulimetros, así como ser reconocida por la FDA como sustancia natural segura, para su aplicación en la industria alimenticia, por lo cual también es ampliamente utilizada en diversos sectores del ramo (Figura 3.14).⁷²



Figura 3.14. Aplicaciones de la cera de candelilla en diversos ámbitos industriales.⁷²

Para que la cera de candelilla pueda ser utilizada para el desarrollo de distintas aplicaciones, generalmente, se prepara una emulsión de cera de candelilla del tipo

aceite-en-agua; la cual permita su incorporación con otros componentes en formulaciones acuosas. Recientemente, la preparación de nanoemulsiones de cera de candelilla está siendo utilizada para su aplicación en distintos campos, debido a la mayor área superficial de las partículas de cera, lo que permite una mayor interacción con otros componentes de una formulación.

3.5.- Emulsificación de baja energía

El método de emulsificación de baja energía se basa en las transiciones de fase que se producen durante el proceso de emulsificación. Estas transiciones de fase son el resultado de cambios en la curvatura espontánea del surfactante y se pueden lograr:

- a) En composición constante cambiando la curvatura espontánea de los surfactantes no iónicos con temperatura, conocida como inversión de fase por temperaturas (PIT)
- b) A temperatura constante variando la composición del sistema por el método emulsión con punto de inversión (EIP).

Los estudios realizados a emulsiones utilizadas para polimerizaciones, mostraron que las nano emulsiones con tamaños de gota muy pequeños pueden obtenerse mediante métodos de baja energía, si durante el proceso de emulsificación, el aceite se disuelve completamente en una sola fase, como una micro emulsión bicontinua o una fase cristalina lamelar.

En el caso del sistema EIP, la evolución de dicho sistema se da de la siguiente manera:

- Primeramente, se tiene el sistema de surfactante con aceite.
- Posteriormente se va añadiendo agua de forma continua, el agua forma pequeñas gotas dentro de la fase aceitosa, formando un sistema agua en aceite.
- Conforme se va añadiendo más cantidad de agua se puede formar un sistema de fase bicontinua o un sistema lamelar.
- Mientras sigue aumentando la cantidad de agua, fase bicontinua o la fase lamelar se interrumpe, y el aceite forma pequeñas gotas, obteniéndose un sistema aceite en agua.

Este fenómeno de cambio de fase se da debido al cambio que se presenta dentro del sistema debido a la presencia del surfactante, conforme el agua va aumentando el grado de hidratación de la cabeza polar del surfactante (Figura 3.15).³⁶

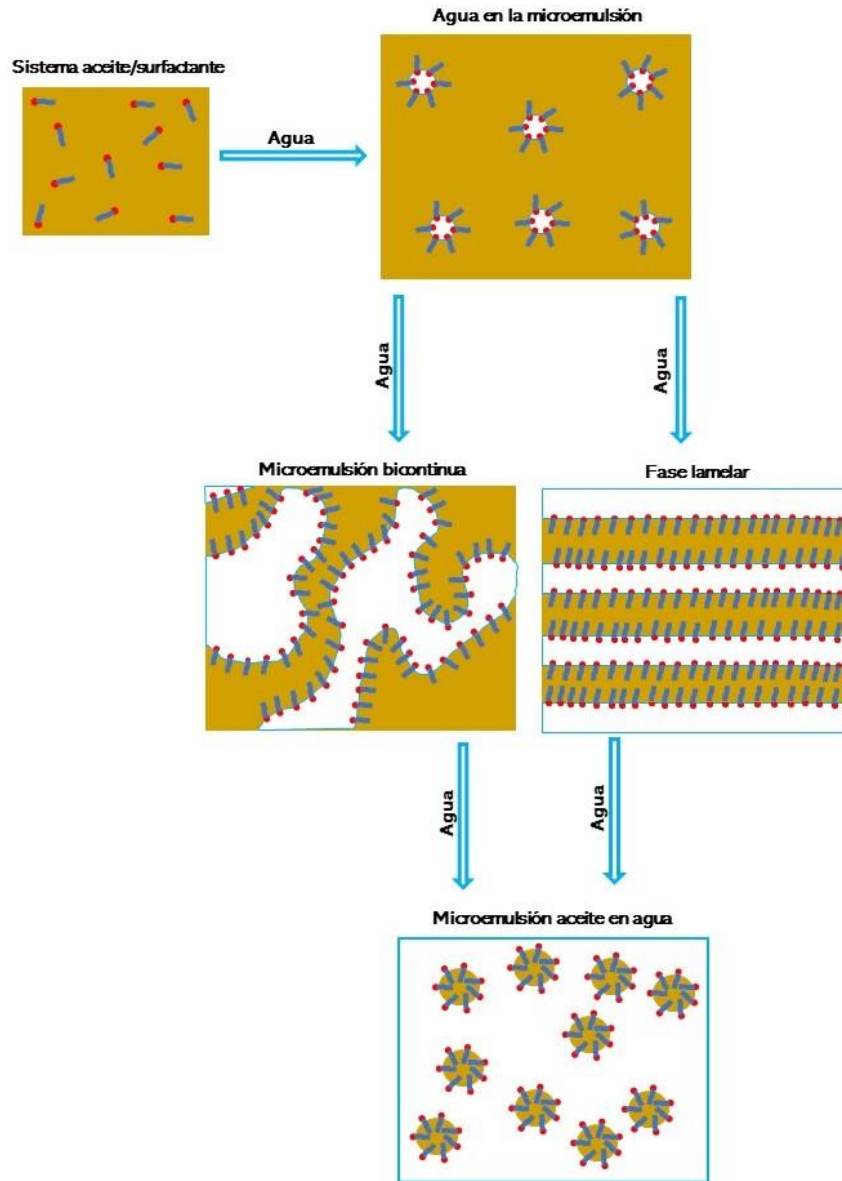


Figura 3.15. Proceso de emulsificación de baja energía (método EIP).

4. HIPÓTESIS

La matriz híbrida de encapsulamiento conformada por la combinación de almidón modificado y nanopartículas de cera de candelilla será capaz de encapsular el aceite esencial de cubeba (*Piper cubeba*) en concentraciones de entre 15 y 30% en peso y generar sistemas microencapsulados de liberación lenta de volátiles del aceite esencial para su utilización potencial como cebo atrayente del *Xyleborus glabratus*.

5. OBJETIVO GENERAL

Evaluar la capacidad de encapsulación de aceite esencial de cubeba (*Piper cubeba*) en matrices híbridas de biopolímeros de almidón de maíz y cera de candelilla mediante el proceso de spray drying, para su potencial aplicación como sistemas de liberación lenta para atracción del escarabajo ambrosial *Xyleborus glabratus*.

5.2. Objetivos Específicos

5.1.- Evaluar la viabilidad técnica en la obtención de sistemas microencapsulados de aceite esencial de cubeba en matrices híbridas, mediante la variación de la relación del aceite esencial de cubeba (*Piper cubeba*) matriz de almidón de maíz-cera de candelilla.

5.2.- Estudiar los efectos de las características morfológicas y térmicas de los sistemas microencapsulados obtenidos.

5.3.- Evaluar la capacidad de liberación de compuestos volátiles de selectos sistemas microencapsulados.

6. JUSTIFICACIÓN

Actualmente la presencia en Estados Unidos de América del escarabajo ambrosial *Xyleborus glabratus*, y su estatus de “amenaza potencial” para México, es sumamente alarmante para la industria aguacatera nacional; representando, además, una amenaza para otras especies hospederas tales como lichi, cacao, mango, entre otros. Este trabajo representa una de las estrategias planteadas en el proyecto FORDECyT No. 292399 “Generación de estrategias científico-tecnológicas con enfoque multitudinario e interinstitucional para afrontar la amenaza que representan los complejos ambrosiales en los sectores agrícola y forestal de México”, en relación al eje estratégico de “prevención”. Este trabajo pretende evaluar la capacidad de encapsulamiento de aceites atrayentes en matrices híbridas de biopolímeros, como una alternativa para proveer sistemas microencapsulados de liberación lenta de atrayentes para el escarabajo *Xyleborus glabratus*.

7.2.2.- Preparación y atomización de sistemas microencapsulados almidón/nanopartículas de cera de candelilla/aceite de cubeb

1. **Gelatinización de almidón:** Se realizó la gelatinización de una solución de almidón al 3.33%, a una temperatura de 90°C durante 45min, con agitación mecánica (450 rpm) utilizando una propela de alto esfuerzo de corte (Figura 7.2).

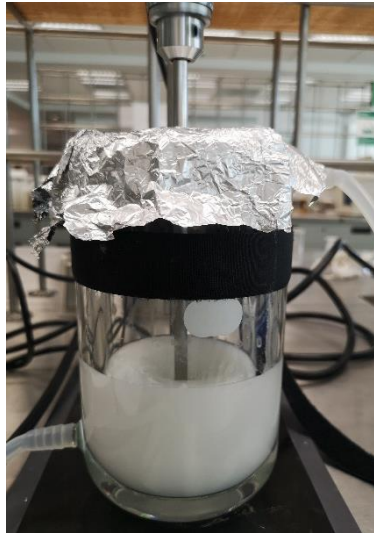


Figura 7.2. Proceso de gelatinización de almidón en reactor enchaquetado.

2. **Enfriamiento de almidón:** Una vez realizada la gelatinización, el almidón se dejó enfriar hasta una temperatura de 60°C.

Una vez obtenida la nanoemulsión de cera de candelilla y el almidón gelatinizado, se procedió a mezclar los componentes a fin de obtener las soluciones que fueron utilizadas para obtener los microencapsulados mediante secado por atomización. Las formulaciones de los diferentes sistemas se resumen en la Tabla 7.1. El porcentaje de aceite está calculado con base a la cantidad de matriz encapsulante (almidón/cera de candelilla).

Tabla 7.1. Formulaciones de las soluciones para obtener los sistemas microencapsulados

FORMULACIÓN DE LA SOLUCIÓN UTILIZADA PARA ATOMIZACIÓN				
SISTEMA ENCAPSULADO (%wt de aceite)	ALMIDÓN	CERA	AGUA (mL)	ACEITE (gr)
AC15%			37.75	2.25
AC20%			37	3
AC30%	360 ml	100ml	35.5	4.5
AC40%	(Solución al	(Emulsión de	34	6
AC50%	3.33% de	cera al 3%)	32.5	7.5
AC60%	almidón)		31	9
AC70%			29.5	10.5
AC80%			28	12

3. Mezcla de aceite y emulsión de cera de candelilla: Utilizando un equipo Ultraturrax Ikea se mezcló el aceite de cubeb y la emulsión de cera de candelilla a 8,000rpm durante 1.50min.
4. Solución de almidón/cera de candelilla/aceite esencial de cubeb: Una vez transcurrido este tiempo, la emulsión resultante se añadió a la solución de almidón gelatinizada y se mezcló por medio de agitación mecánica utilizando una propela de alto esfuerzo de corte a 450rpm durante 1min. Posteriormente la solución se agitó utilizando el equipo Ultraturrax a 8,000rpm durante 1min.
5. Proceso de atomización: La solución obtenida se atomizó en un equipo mini spray dryer Buchi 290. Con la finalidad de evitar la formación de aglomerados o precipitaciones en la solución de alimentación, ésta se mantuvo bajo agitación mecánica. La Figura 7.3 muestra un esquema del proceso general utilizado para la obtención de los sistemas microencapsulados. Para el proceso de secado, se utilizó una velocidad de alimentación de 5mL/min, una temperatura de secado de 140°C, capacidad de aspiración de 90% y un flujo de aire de atomización de 536 L/h.

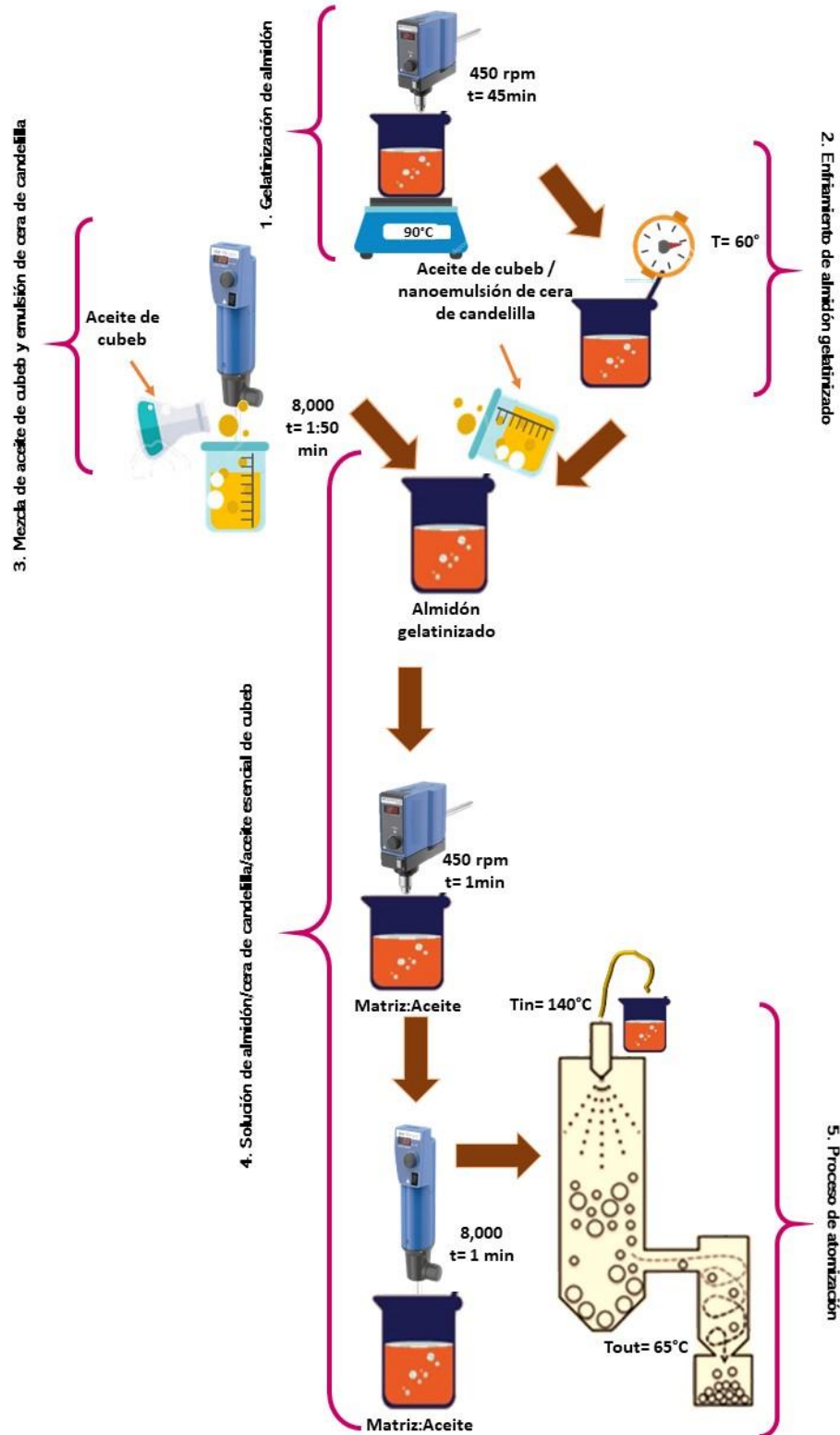


Figura 7.3. Proceso de obtención de microencapsulados de aceite esencial de cubeb.

La metodología de preparación de las emulsiones, así como las condiciones utilizadas en el proceso de atomizado, fueron las mismas para los diversos sistemas, cambiando solamente el contenido de aceite según fuera el caso, de acuerdo con la tabla de composiciones (Tabla 7.1).

7.3.- Caracterización morfológica y térmica de los sistemas microencapsulados

7.3.1.- Microscopía Electrónica de Barrido

Los polvos obtenidos en el proceso de atomización se caracterizaron por medio de microscopía electrónica de barrido (SEM Jeol JCM-6000). Las imágenes fueron capturadas bajo condiciones de alto vacío, utilizando electrones secundarios a magnificaciones de 50 hasta 2000x.

Las muestras fueron montadas sobre un porta muestras utilizando cinta doble cara de cobre, los polvos fueron previamente dispersados en etanol a fin de garantizar una buena dispersión en el portamuestras.

7.3.2.- Microscopía Óptica de Luz Polarizada

Se realizó un análisis por medio de microscopía óptica de luz polarizada, a fin de poder observar la presencia del aceite en los encapsulados, esto debido a los cambios de birrefringencia presentes por la interacción entre componentes.

Para esto se utilizó una solución 50/50 de glicerol y etanol como medio de dispersión de los encapsulados. Se utilizó un equipo Olympus modelo BX53 equipado con un sistema de micrografía digital Micropublisher 3.3 RTV.

7.4.- Evaluación de la capacidad de liberación de compuestos volátiles

7.4.1.- Cromatografía de gases

Primeramente, se realizó un análisis cromatográfico al aceite de cubeb con el fin de conocer los volátiles presentes, así como identificar la presencia de volátiles útiles para la atracción del escarabajo ambrosial *Xyleborus glabratus*.

El análisis se realizó en un intervalo de temperatura de 30°C a 250°C con una rampa de calentamiento de 10°C por minuto, para lo cual se utilizó un equipo Agilent Technologies 7890B con detector selectivo de masas 5977B, provisto de una sonda de separación térmica (TSP) Agilent G4381A, en la cual se depositó la muestra usando una Micro jeringa de 10µl.

7.4.2.- Análisis Termogravimétrico

Se realizó un análisis termogravimétrico isotérmico al aceite de cubeb a 100°C durante 2 horas, con la finalidad de observar la pérdida de la fracción volátil presente en el aceite de cubeb.

El análisis se llevó a cabo utilizando un equipo TA Instruments TGA Q-500.

7.4.2.- Análisis con Termobalanza

Este análisis se llevó a cabo con la finalidad de analizar la liberación del volátil presente en los encapsulados a partir del cambio de peso, así como poder observar la diferencia en comportamiento de pérdida según la concentración de aceite en el encapsulado.

Se analizaron tanto el aceite de cubeb como los sistemas encapsulados AC15% y AC50%, en un ambiente isotérmico. Para esto, la muestra se colocó sobre una parrilla de una termobalanza AND MF-50, previamente calentada hasta una temperatura de 100°C. Posteriormente, se registró la pérdida en peso de la muestra hasta que se alcanzó un peso constante a condiciones atmosféricas.

8. RESULTADOS

8.1.- Análisis Morfológico de los Microencapsulados

8.1.1.- Microscopía Electrónica de Barrido

Las imágenes obtenidas por microscopía electrónica de barrido revelaron que las partículas obtenidas en el colector presentaron una morfología esférica. En la Tabla 8.1 se muestran los porcentajes de rendimiento de los sistemas encapsulados obtenidos en este trabajo.

Como se puede observar en la Tabla 8.1, se lograron obtener sistemas microencapsulados con un contenido de aceite de hasta 60% en peso, superando el contenido de aceite esencial reportado hasta el momento en la literatura (25% en peso). Se obtuvieron también sistemas con un contenido de 70 y 80% en peso, obteniéndose sistemas en polvos; sin embargo, no fue posible obtener imágenes por SEM en el tiempo establecido.

Tabla 8.1. Porcentaje de rendimiento de los sistemas microencapsulados.

Sistema	Rendimiento (%)
AC15%	77.50%
AC20%	74.72%
AC30%	67.23%
AC40%	75.14%
AC50%	55.91%
AC60%	60.54%
*AC70%	71.01%
*AC80%	52%

*No se cuentan con micrografías de SEM.

En la Figura 8.1, se pueden apreciar los polvos obtenidos correspondientes a cada sistema, se logra observar que la morfología de estos es en su mayoría esferoidal.

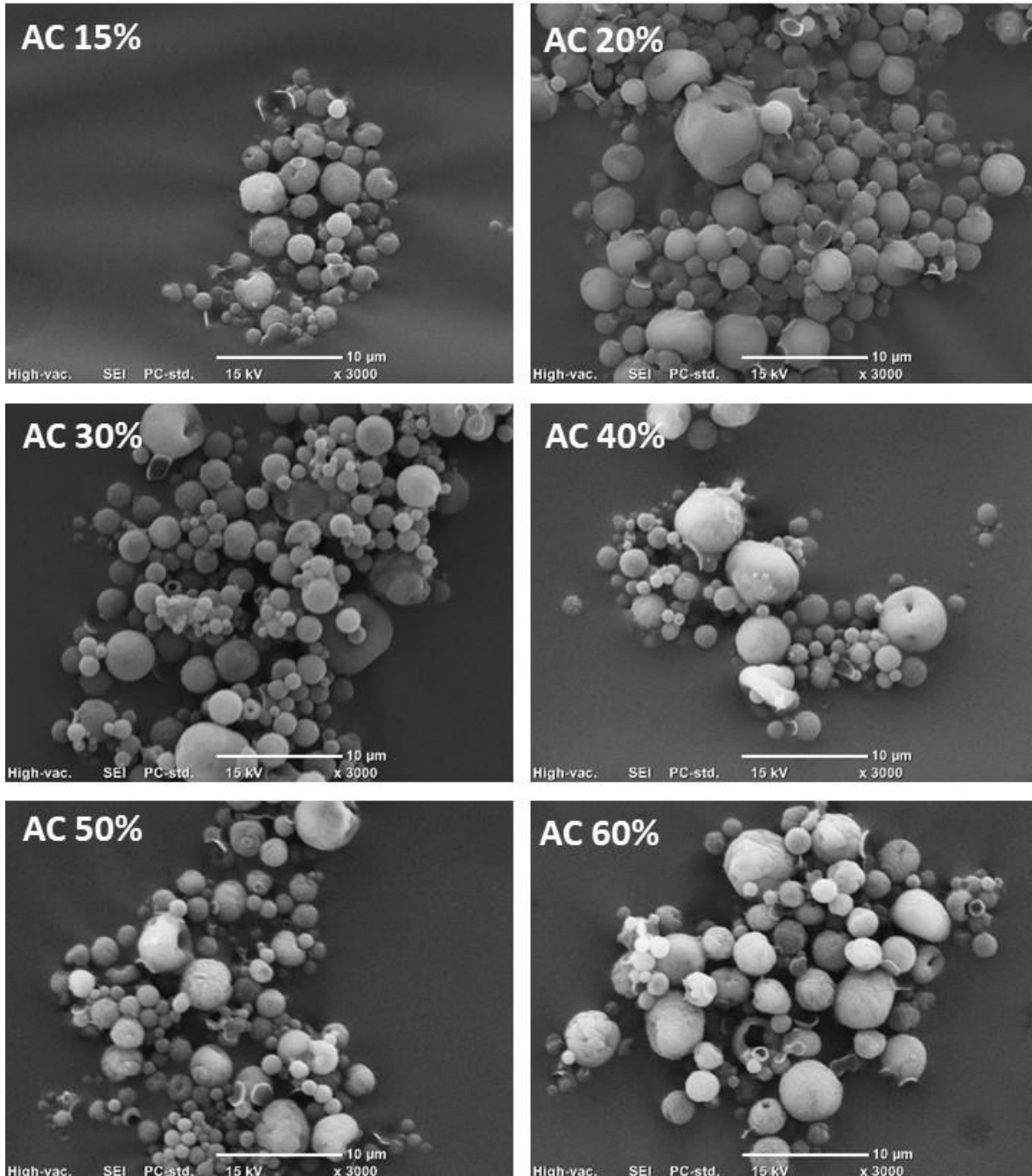


Figura 8.1. Micrografías de sistemas encapsulados.

En la Figura 8.2, de manera general se observa como las distribuciones de tamaño de partícula presentan un desplazamiento hacia poblaciones más grandes (hacia la derecha), conforme aumenta la concentración de aceite esencial.

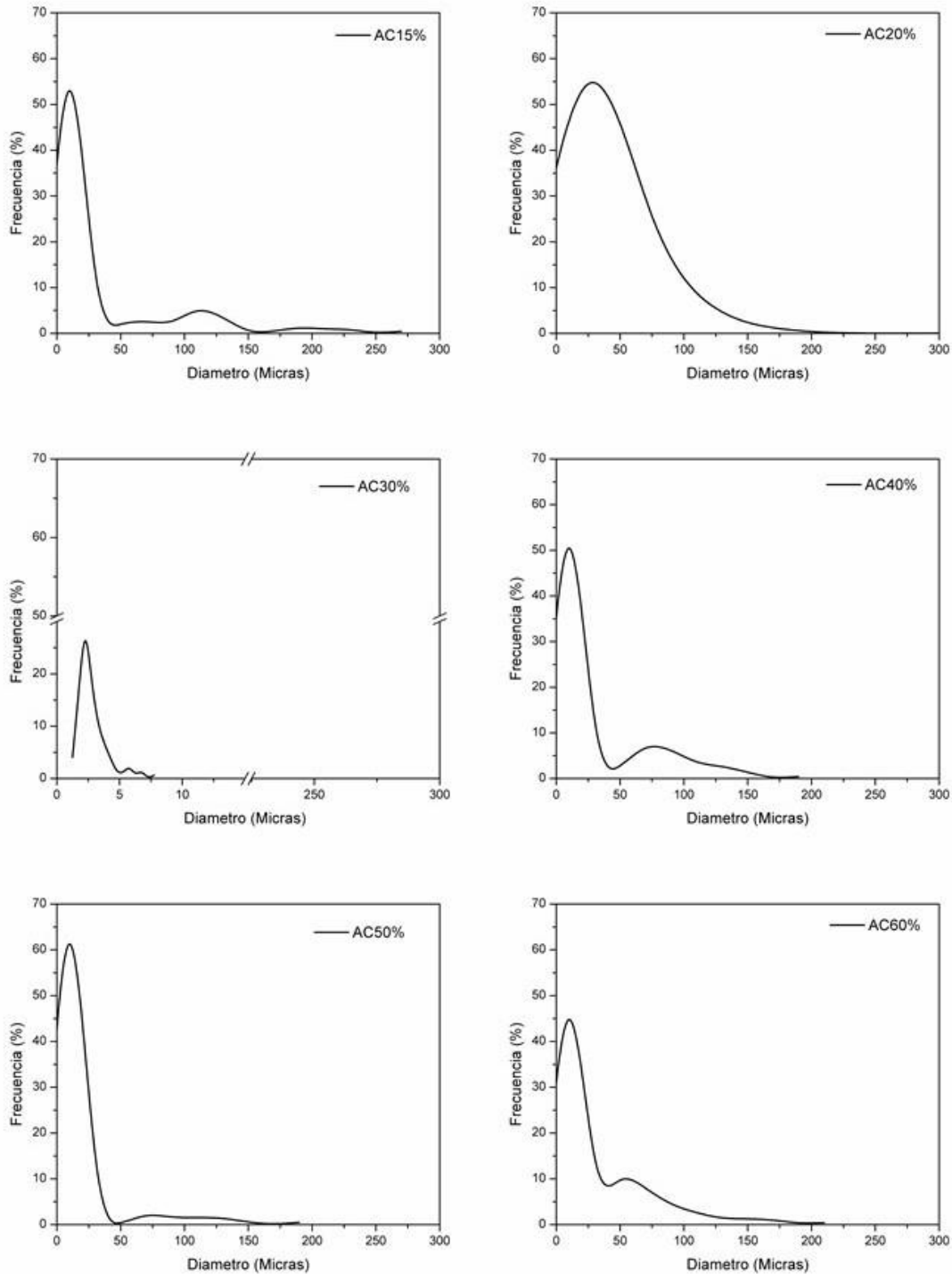


Figura 8.2. Histogramas de distribución de tamaños de los sistemas encapsulados.

El aumento en el tamaño de las partículas puede explicarse de la siguiente manera: A medida que se incrementa la concentración de aceite esencial, la matriz encapsulante

tiene que asimilar un mayor contenido de aceite dentro de cada partícula, lo que podría estar incrementando el tamaño de gota y por ende el aumento de tamaño de partículas secas. Lo anterior, de acuerdo a los estudios realizados por Exposito et.al, quienes observaron que al aumentar la concentración de aceite esencial en sistemas de aceite esencial de mandarina en matrices de goma arábica y maltodextrinas, el tamaño de las partículas encapsuladas aumentó.²⁵

Otro factor que podría estar influyendo en el aumento del tamaño de partícula, es el surfactante presente en el sistema. Como es conocido, la finalidad del surfactante en un sistema en emulsión es reducir la tensión superficial y permitir la interacción entre componentes no afines, permitiendo la creación de emulsiones.⁷³

La cantidad de surfactante en el sistema afectará el tamaño de las gotas de aceite; es decir, si la cantidad de surfactante presente en el sistema no es igual o mayor a la concentración micelar crítica (cantidad mínima de surfactante para crear micelas), el sistema no será estable, por lo que al cabo de un tiempo presentará un crecimiento del tamaño de gotas y una posible separación de fases. Sin embargo, si se rebasa la concentración micelar crítica, la estabilidad del sistema será mayor, permitiendo que la emulsión mantenga un tamaño de gota pequeño. Por tanto, a medida que se aumenta la concentración de aceite en los sistemas microencapsulados, la concentración de surfactante decrece con respecto al aceite, lo que da como resultado la generación de gotas de mayor tamaño.

En la mayoría de los sistemas obtenidos, es posible observar la presencia de algunas partículas huecas (Figura 8.3). Esto demuestra que las partículas obtenidas con este sistema siguen presentando una morfología del tipo núcleo-coraza, lo cual favorece la obtención de sistemas microencapsulados con un mayor contenido de aceite esencial, mismo que explicaría el por qué se alcanzaron altos contenidos de encapsulación de aceite de Cubebe (de hasta 80% en peso). Este tipo de morfologías no se ven reportadas en la literatura en sistemas de encapsulamiento de aceites esenciales en matrices de almidón. Por lo regular las partículas obtenidas que han sido reportadas son partículas colapsadas y porosas una vez que logran encapsular el activo.²⁸

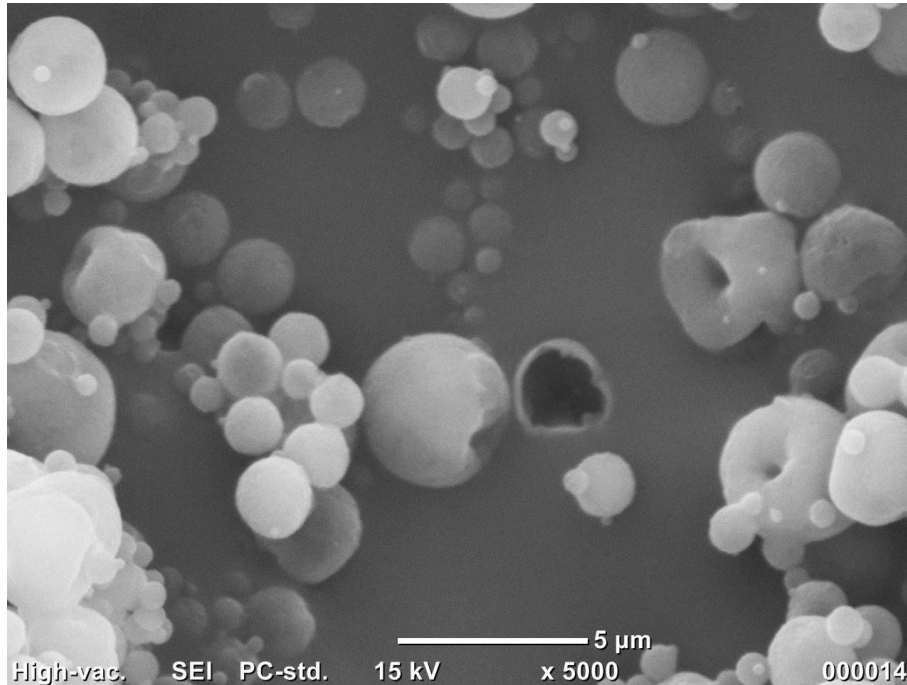


Figura 8.3. Partícula fracturada del sistema AC15%.

La formulación de la matriz encapsulante (nanopartículas de cera de candelilla/almidón) permite que la partícula, aun estando fracturada y sin el activo en el interior, sigue manteniendo su estructura. Como se planteó anteriormente, en los sistemas reportados en la literatura, la morfología de las partículas sin agente activo encapsulado presenta una morfología colapsada. En el caso de los sistemas aquí planteados, la cera de candelilla podría estar actuando como un nanorefuerzo estructural de la matriz de almidón, permitiendo formación de una morfología esférica.

Describir las interacciones que pudieran ocurrir entre el aceite de cubeb y las nanopartículas de cera de candelilla, es un aspecto clave para explicar la morfología de los sistemas encapsulados. En un trabajo previo realizado en el grupo de investigación, se estudió el efecto del balance hidrófilico-hidrófobo del surfactante Tween 60 HLB=14.9 para la generación de nanoemulsiones de cera de candelilla.⁷⁴ En este estudio se concluyó que los componentes hidrófilos e hidrófobos de la cera de candelilla pudieran tener un arreglo molecular, en la interfase entre la cera y el surfactante, en función de la característica polar o no polar dominante del surfactante. Es decir, si el surfactante tiene un carácter hidrófilico HLB>12, los componentes polares de la cera podrían estar ordenados preferentemente sobre la superficie de la nanopartícula; por otra parte, si el surfactante tiene un carácter predominantemente hidrófobo HLB< 10, los componentes no polares de la cera de candelilla podrían estar ordenados sobre la superficie de la nanopartícula.

Con base en lo anterior, se puede argumentar que al llevar a cabo la emulsión de cera con aceite de cubeb, estos podrían estar interactuando similar a un sistema de

emulsión “pickering”. En estos sistemas, las gotas de aceite son estabilizadas por el surfactante en exceso, donde la sección no polar podría estar interaccionando con el aceite; mientras que su sección polar podría estar interaccionando con el medio acuoso. Dado que las nanopartículas de cera fueron obtenidas con condiciones de HLB=14.9 (ambiente hidrófilo), sus componentes polares están preferentemente ordenados en la superficie, por lo que podrían interactuar con la cabeza polar del surfactante, permitiendo una emulsión del tipo pickering (Figura 8.4).⁷⁵

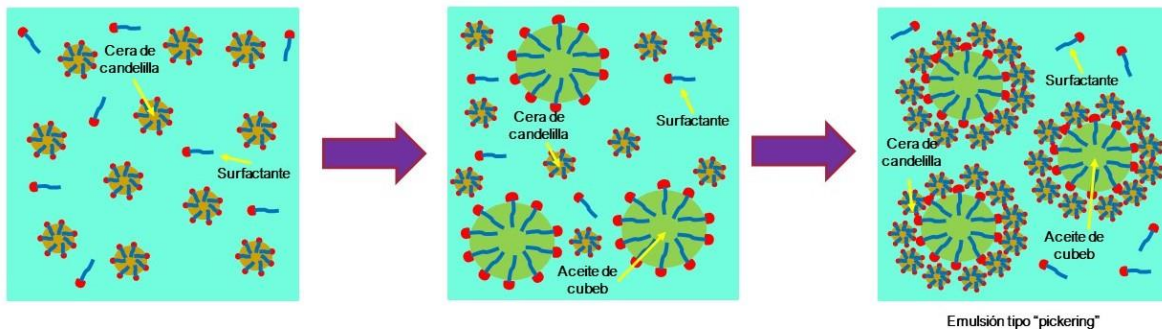


Figura 8.4. Sistema aceite de cubeb/nanopartículas de cera de candelilla.

Como teoría de la formación de las partículas, se plantea lo siguiente:

1. Al realizarse la emulsión de aceite de cubeb con cera de candelilla, las gotas de aceite de cubeb podrían estar siendo estabilizadas en la interfase por el surfactante en exceso, donde las nanopartículas de cera pudieran estar, colocándose alrededor de las gotas de aceite, formando una emulsión tipo “pickering”.
2. Posteriormente, al agregar el almidón gelatinizado, debido a su naturaleza hidrófila este pudiera estar interaccionando mayormente con la cera de candelilla, generando la matriz encapsulante; por lo que el aceite esencial quedaría encapsulado en el núcleo de la partícula. La cera de candelilla se encontrará dispersa por toda la matriz de almidón, tal como lo demostró el estudio realizado por Noé Navarro.³⁵

La explicación grafica de la teoría que se plantea se puede observar en la Figura 8.5.

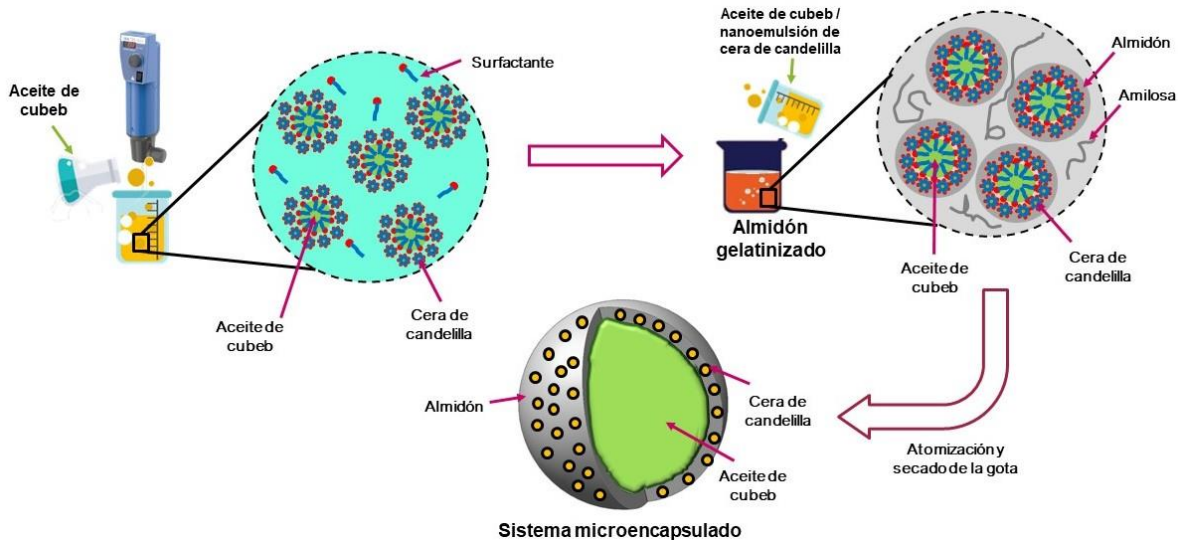


Figura 8.5. Esquema propuesto de la interacción de componentes en la formación de los sistemas encapsulados de aceite de cubeb.

Por otra parte, se observó que a medida que se aumenta la concentración de aceite, por encima de 50% en peso, comienzan a aparecer partículas “huecas” (Figura 8.6). Este hecho sugiere que la matriz encapsulante, tiene un cierto umbral en la resistencia mecánica que le permite retener el aceite esencial a medida que ocurre el proceso de secado, para porcentajes mayores a 50% en peso.

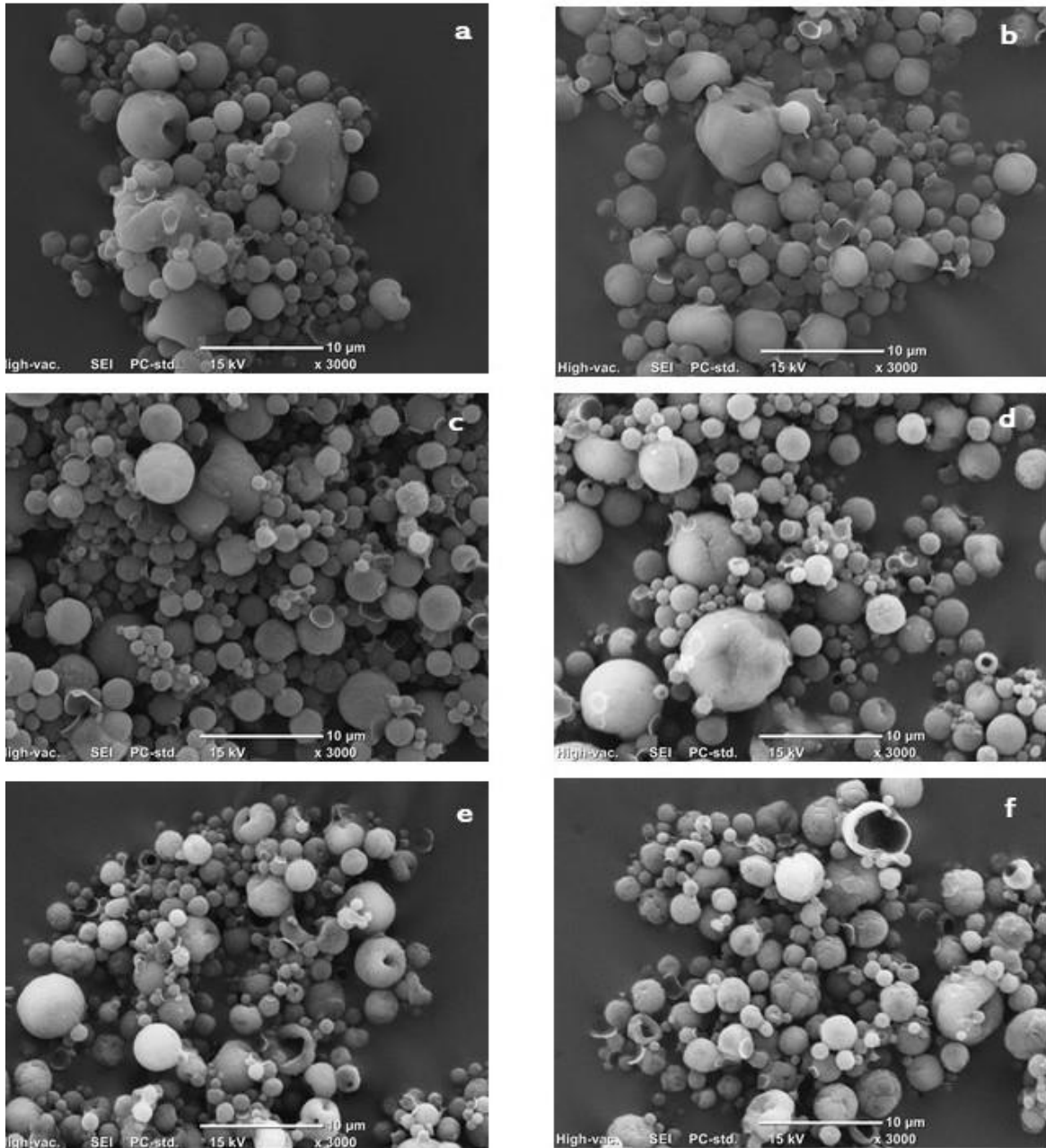


Figura 8.6. Sistemas encapsulados de aceite esencial de cubeb donde se observa como a medida que aumenta la concentración de aceite aumentan las partículas “huecas”. a) AC15%, b) AC20%, c) AC30%, d) AC40%, e) AC50%, f) AC60%.

Un planteamiento que podría explicar la ruptura de las partículas a medida que aumenta la concentración de aceite, hablando de concentraciones bajas, el sistema asimilara la cantidad de aceite con facilidad, del mismo modo pasara con la matriz, la cual lo encapsulara sin problemas, a diferencia de cuando se trata de concentraciones altas de aceite.

Esto se puede explicar tomando en cuenta la formación de las gotas en el sistema antes de ser atomizado (durante la emulsificación), cuando la matriz empieza la interacción con el agente activo, en este caso el aceite esencial de cubeb. El aceite podría concentrarse en el núcleo como pequeñas gotas, las cuales podrían tender o no a la coalescencia, sin embargo, aunque esto ocurriera, la cantidad de aceite dentro de la matriz no es suficiente como para sobrepasar la capacidad de encapsulamiento de la matriz, ni para sobrepasar su resistencia a la fractura. Esta teoría se explica de manera gráfica en la Figura 8.7.

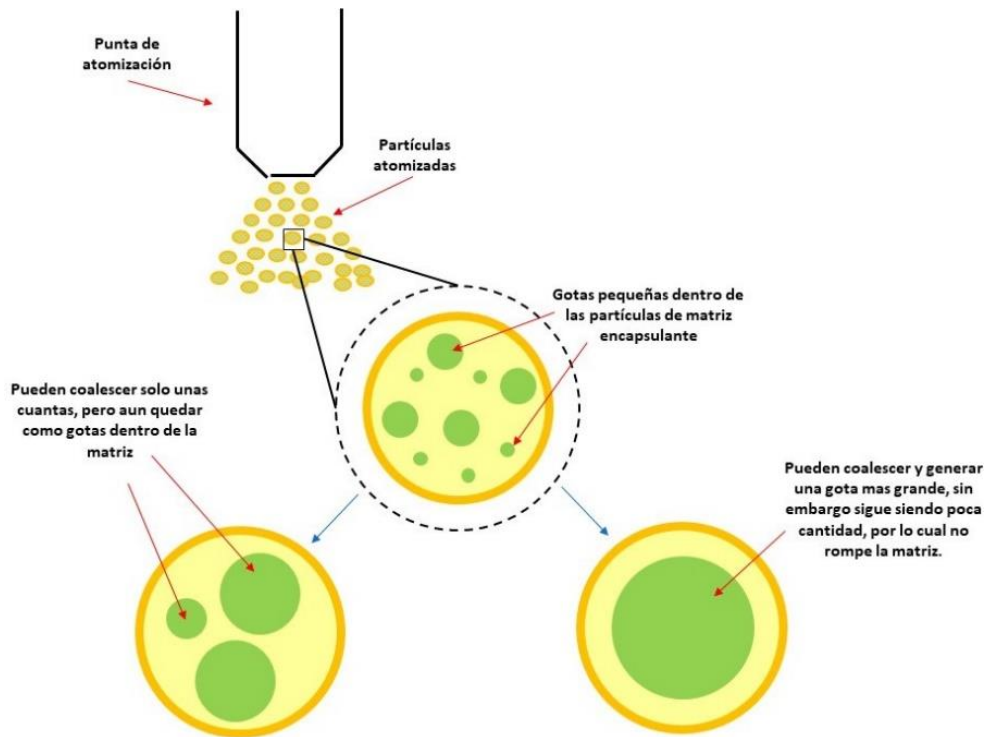


Figura 8.7. Esquema propuesto del proceso de encapsulamiento con bajas concentraciones de aceite.

Basándonos en el planteamiento expuesto anteriormente y asumiendo que el aceite tendrá un comportamiento similar, ya sea formar pequeñas gotas en el núcleo de la partícula o coalescer. En este caso al tratarse de concentraciones más altas, la cantidad de aceite dentro de la partícula podría sobrepasar la capacidad de la matriz (Figura 8.8).

Se debe tomar en cuenta también que durante el secado existe contracción de la pared de encapsulamiento, también se debe tener en cuenta que existen otros fenómenos al momento del secado. Tal como plantea Reinhard Vehring, durante la atomización, las partículas que son secadas a temperaturas de gas superiores al punto de ebullición del disolvente, pueden inflarse después de la formación de la corteza debido a la acumulación de presión de gas interna, causando potencialmente una ruptura.⁷⁶

Este último fenómeno no se ha observado en partículas del orden de $10\mu\text{m}$, del mismo modo se debe especificar que esto puede ocurrir solo antes de que la corteza este totalmente formada y seca.

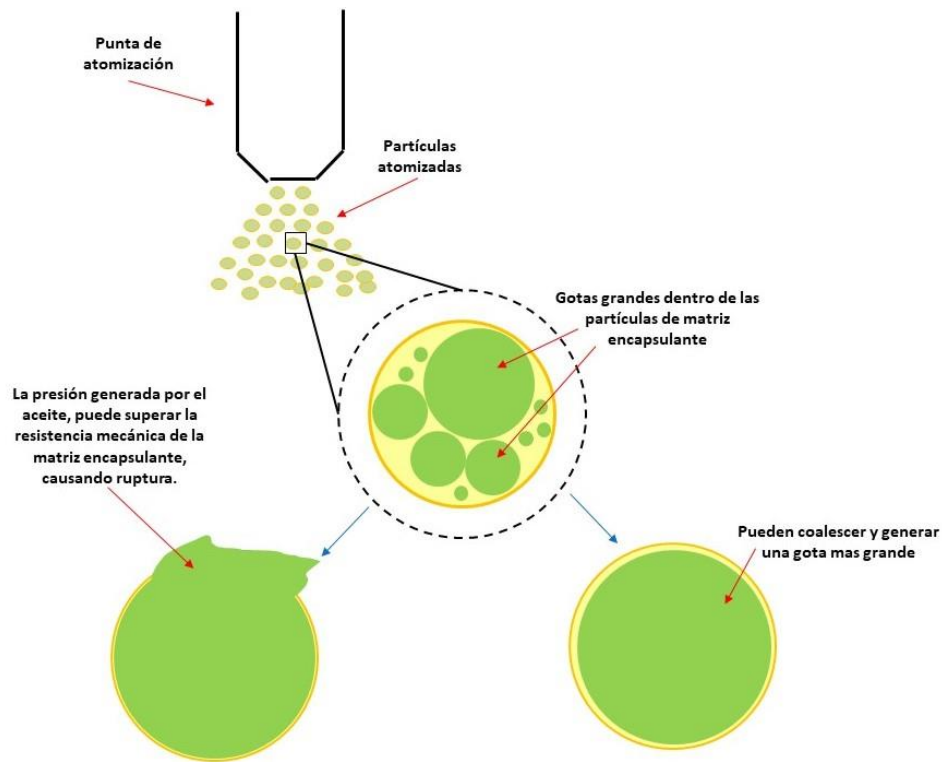


Figura 8.8. Esquema propuesto del proceso de encapsulamiento con altas concentraciones de aceite.

8.1.2.- Microscopía de Luz Polarizada

En las micrografías obtenidas por medio de microscopía de luz polarizada se logró observar que la muestra blanco (sistema almidón/cera de candelilla) no presenta birrefringencia, ni cambio de color (Figura 8.9). Esto se debe a que durante el proceso de gelatinización los gránulos de almidón pierden su morfología, y su estructura semicristalina (que es la que le brinda birrefringencia al almidón), esto debido a que las cadenas de amilosa y amilopectina se reacomodan, es por esto que en este caso de la muestra blanco no logra observarse. ^{77,78,79}

Por otra parte, en esta muestra se logra observar un halo oscuro que corresponde a la corteza de la partícula, mientras que el centro se ve “traslúcido” o claro debido al paso de la luz, deduciendo que la partícula es hueca. Esta deducción es posible, gracias a un estudio realizado por Noé Navarro, donde se demostró mediante un estudio por microscopía confocal, que las micropartículas generadas a partir de matrices híbridas de polisacáridos y nanopartículas de cera de candelilla presentan una morfología hueca.

Corroborando lo observado en las micrografías obtenidas por microscopía electrónica de barrido, debido al proceso de gelatinización llevado a cabo con el almidón este pierde su birrefringencia.

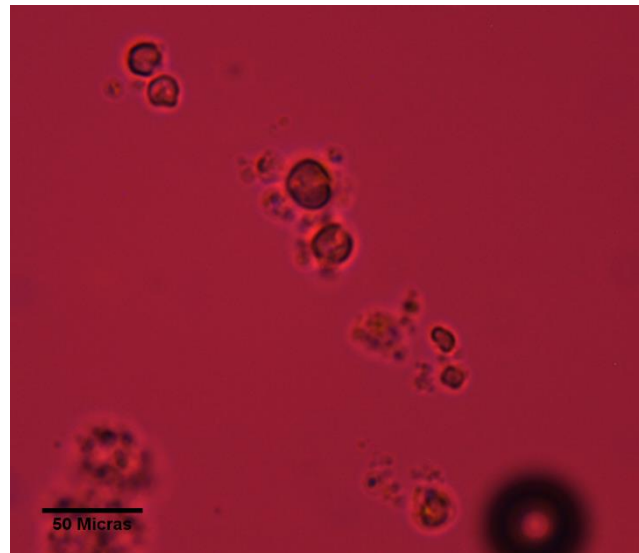


Figura 8.9. Micrografía de luz polarizada, sistema blanco (matriz cera de candelilla/almidón).

En el caso de las partículas con un contenido de aceite del 15% en peso (Figura 8.10a) se puede observar el halo oscuro presente del mismo modo que el en sistema blanco, lo cual indica el grosor o los límites de la capa de matriz híbrida en la partícula. En la Figura 8.10b se presenta un estado de birrefringencia, debido a la presencia del aceite en el interior de la partícula. Este fenómeno de birrefringencia ocurre debido a la interacción del aceite con el medio en el que se encuentra dispersada la partícula (glicerol/etanol). La birrefringencia se da cuando el material analizado presenta componentes con índices de refracción distintos; en este caso, los índices de refracción para las fases líquidas presentes son: etanol (1.361), glicerol (1.4729) y aceite esencial de cubeb (1.4920-1.5020), debido a esto se obtiene un sistema con propiedades anisotrópicas, permitiendo que se presente el efecto de birrefringencia.

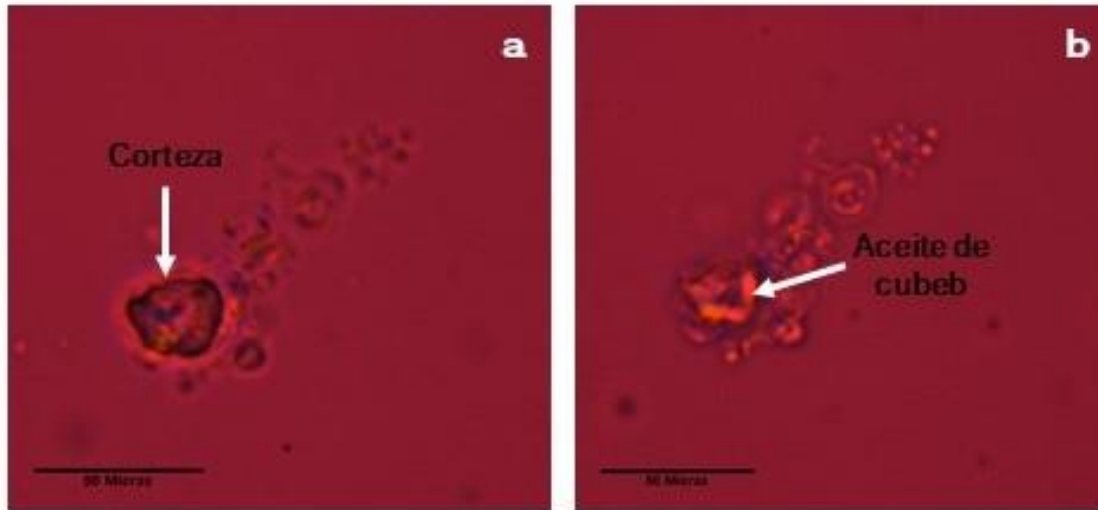


Figura 8.10. a) Enfoque a la superficie de la partícula, b) Enfoque al interior de la partícula que presenta birrefringencia.

De igual manera, en el sistema AC50% se aprecia el halo oscuro indicativo del grosor de la pared de la partícula, mientras que, al realizar el enfoque al interior de ésta, el fenómeno de birrefringencia se hace presente, lo que corrobora la presencia del aceite en el interior de la partícula (Figura 8.11).

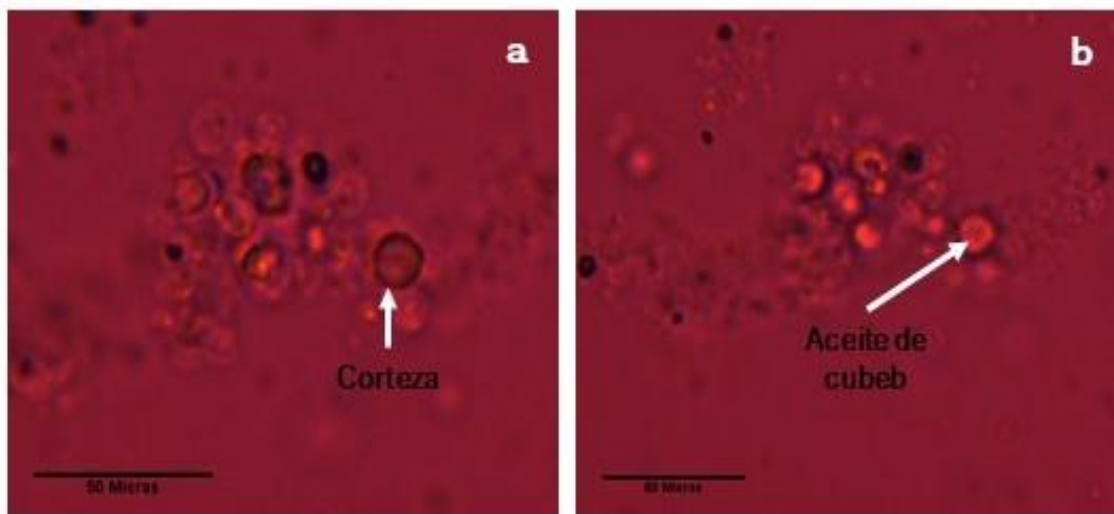


Figura 8.11. a) Enfoque a la superficie de la partícula, b) Enfoque al interior de la partícula que presenta birrefringencia.

Generalmente, durante el encapsulamiento de aceites esenciales mediante spray drying, la ausencia de líquido a simple vista sobre las paredes de la cámara o ciclón corresponde a uno de los indicadores cualitativos de la factibilidad técnica del encapsulamiento. Para todos los sistemas procesados, incluyendo aquellos sistemas

AC60%, AC70% y AC80%, no se observó la presencia de aceite en las paredes de la cámara de secado o del ciclón, por lo cual se puede deducir que existe una factibilidad técnica en el proceso de encapsulación. A fin de soportar este planteamiento, se realizó una prueba de secado con sistemas sin almidón al 15% y 50% en peso de aceite esencial. Al realizar este procedimiento, se observó la presencia de una fase líquida en las paredes del ciclón y cámara. En la Figura 8.12 se muestra una fotografía de la sección del ciclón para el experimento desarrollado con una emulsión de cera de candelilla con una concentración de aceite del 15%.



Figura 8.12. Evidencia de sistema no encapsulado, donde se observa aceite en la pared del ciclón colector.

Este experimento se llevó a cabo utilizando una temperatura del aire de entrada de 140°C, una alimentación de 5mil/min, un flujo de aire de 536L/h, y una capacidad de aspiración de 90%. Las condiciones de operación fueron las mismas utilizadas con los sistemas encapsulados, a fin de poder obtener resultados comparativos.

8.2.- Análisis Cualitativo del Aceite de Cubeb

Se realizó un análisis de cromatografía de gases al aceite esencial de cubeb, el cual reveló la presencia de los compuestos volátiles α -copaene, α -humulene, β -caryophyllene, α -cubebene y γ -cadinene; los cuales, de acuerdo al estudio realizado por Paul Kendra et.al.¹⁵ resultan ser efectivos en la atracción al escarabajo *Xyleborus glabratus*. La Figura 8.13 muestra el espectro de cromatografía de gases en el cual los compuestos antes mencionados corresponden al tiempo de elusión 17.946. El experimento realizado reveló que los activos son liberados completamente hasta alcanzar una temperatura de 180°C. Estos resultados sugieren que bajo las condiciones de secado por atomización (temperatura de aire de secado de 140°C), los compuestos volátiles de interés pueden ser conservados.

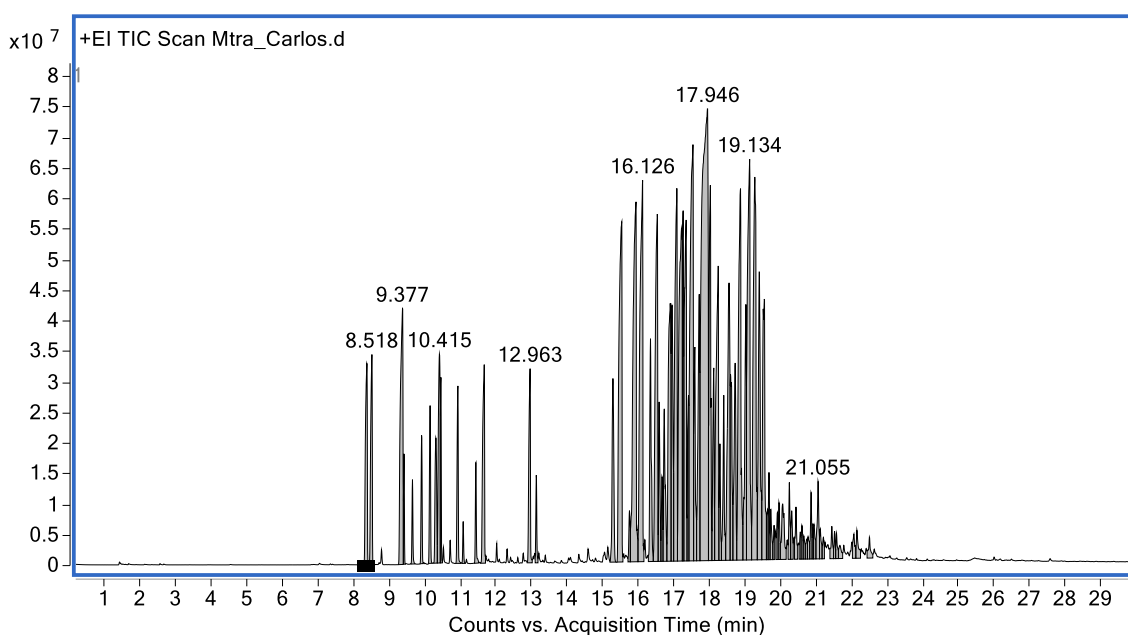


Figura 8.13. Cromatograma de aceite de cubeb.

8.3.- Análisis Térmico

En la búsqueda por comprender el comportamiento de los compuestos volátiles del aceite esencial de cubeb, se realizó un análisis isotérmico por TGA a una temperatura de 100°C, del cual se observó una pérdida en peso de hasta 52% un tiempo de 120min (Figura 8.14). Estos resultados indicaron que el aceite esencial de cubeb contiene una fracción volátil del aceite, de cerca del 52%, los cuales pueden ser desprendidos a una temperatura de 100°C. Dado que en un análisis TGA, las condiciones en las cuales se desarrolla la liberación de los activos ocurre bajo condiciones controladas atmósferas y temperaturas; se desarrolló un análisis térmico utilizando una termobalanza a una temperatura de 100°C, y bajo condiciones atmosféricas (sistema abierto), la cual nos brindara información sobre el comportamiento de liberación de volátiles, mismos que

permitieran ajustar las condiciones para prueba en sistemas encapsulados. Lo anterior, como una manera rápida de evaluar la capacidad de liberación de volátiles en sistemas selectos.

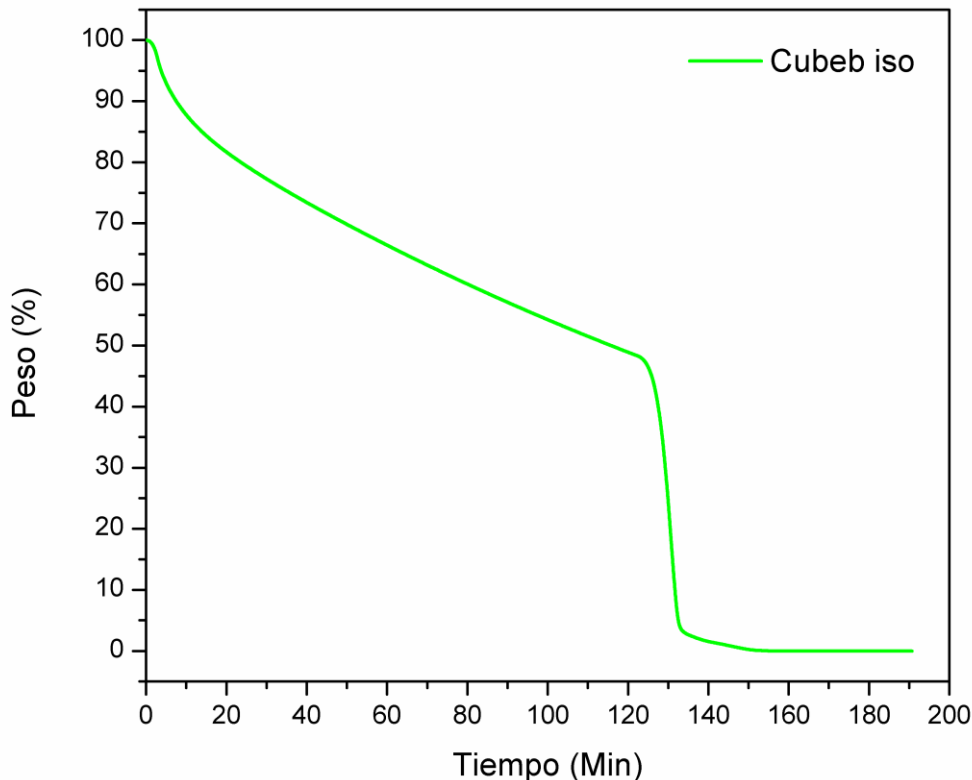


Figura 8.14. Análisis termogravimétrico realizado a condiciones isotérmicas (100°C) al aceite de cubeb.

El análisis térmico realizado en la termobalanza demostró que el aceite esencial de cubeb puede presentar una pérdida en peso del 57.65% después de 56.2 min de exposición a 100°C (Figura 8.15); lo cual, es un resultado similar al obtenido en las pruebas por TGA, por lo que puede considerarse lo suficientemente confiable para emitir una conclusión sobre los sistemas. Considerando lo anterior, se seleccionaron sistemas con bajo y alto contenido de aceite esencial de cubeb, para lo cual se seleccionaron los sistemas AC15% y AC50%.



Figura 8.15. Análisis térmico realizado por medio de termobalanza al aceite esencial de cubeb.

Los resultados de los análisis a los sistemas seleccionados, mostraron en el caso del sistema AC15% una pérdida en peso de 3.65% con una media de pérdida de 0.03%/min en un tiempo de prueba de 2.5min. Por su parte, el sistema AC50% tuvo una pérdida total de peso de 4.40% con una media de pérdida de 0.09%/min en un tiempo de prueba de 3.3min. Una mayor pérdida en peso podría estar relacionada con un menor espesor de la corteza de la partícula, la cual permite mayor permeabilidad a los componentes volátiles del aceite esencial. El incremento en la tasa de liberación, es congruente con el comportamiento esperado para sistemas con mayor contenido de aceite y que presentan una menor capa de material de pared.

Durante el tiempo de la prueba del aceite esencial puro en la termobalanza (56.20 min), no se logró alcanzar un peso constante en la muestra, lo que indica que los volátiles presentes pueden ser liberados de manera gradual o lenta por un tiempo mayor. Es necesario considerar que la termobalanza es un sistema abierto, donde pueden existir fluctuaciones en la temperatura del entorno; además de otros factores tales como una transferencia de calor no homogénea entre las partículas de polvo debido a su distribución en la placa (Figura 8.16), por lo que puede haber zonas más frías. Esto por supuesto, dificulta una completa liberación o eliminación de la fase volátil mediante esta experimentación. Las condiciones experimentales desarrolladas bajo un sistema abierto, podrían ser similares a las que pudieran presentarse en condiciones de ambiente real. Los resultados que emanan de esta experimentación, aún bajo sus limitaciones demuestran que los sistemas encapsulados son capaces de liberar componentes volátiles, las cuales podrían ser candidatos útiles para su experimentación en campo bajo condiciones reales.



Figura 8.16. Microencapsulados analizados en termobalanza.

De acuerdo a los resultados obtenidos, se puede concluir que la interacción de la cera de candelilla con el almidón modificado de maíz, imparte ciertas propiedades que le permiten a la matriz de almidón incrementar su capacidad para encapsular activos en estado líquido, los cuales requieran una liberación controlada.

Como trabajo futuro, se deberá realizar un análisis a los sistemas microencapsulados tanto térmicos como cromatográficos, a fin de conocer de manera exacta la cinética de la liberación de los compuestos volátiles de interés en términos de tasas de liberación. Consecuentemente, esto permitiría seleccionar sistemas modelos para estudiar su desempeño en condiciones de ambiente real utilizando la técnica de electroantenograma, en la cual se utilizan como sensores las antenas de un escarabajo, mismas que son conectadas a un electrodo para medir la respuesta a volátiles.

9. CONCLUSIONES

- La incorporación de nanopartículas de cera de candelilla a una matriz de almidón, permite generar un sistema híbrido con propiedades mejoradas que permiten alcanzar una capacidad de encapsulamiento de aceite esencial de hasta un 80% de aceite esencial (con respecto a la matriz), superando así lo reportado en la literatura donde la mayor concentración reportada es del 25% en peso.
- Se logró corroborar el encapsulamiento del aceite por medio de microscopia óptica de luz polarizada, donde se logra observar la presencia del aceite en el interior de la partícula.
- El análisis térmico llevado a cabo mediante TGA reveló que el aceite tiene una fracción volátil de al menos 52% a una temperatura de 100°C, así mismo, el análisis cromatográfico reveló que la fracción volátil del aceite contiene los terpenos (volátiles) a los cuales se ve atraído el escarabajo ambrosial *Xyleborus Glabratus* α -copaene, α -humulene, β -caryophyllene, α -cubebene y γ -cadinene, por lo cual el potencial de aplicación de estos sistemas como atrayentes de dicho escarabajo es altamente factible.
- Los sistemas encapsulados son capaces de liberar componentes volátiles de manera lenta o gradual a razón de un 0.03 a 0.09% en peso/min bajo condiciones de temperatura de 100°C; lo cual indica que estos sistemas podrían ser candidatos útiles para su experimentación en campo bajo condiciones reales.

INDICE DE FIGURAS	
Figura 2.1. Escarabajo ambrosial del laurel rojo (<i>Xyleborus glabratus</i>) vista dorsal y lateral de un adulto.	7
Figura 2.2. Distribución actual del <i>Xyleborus glabratus</i> a nivel mundial.	8
Figura 2.3. Principales países productores de aguacate en 2010, información obtenida de la FAO.	9
Figura 2.4. Estatus fitosanitario del escarabajo ambrosial del laurel rojo.	9
Figura 2.5. Conidióforos y conidios de <i>Raffaelea lauricola</i> . ⁸	10
Figura 2.6. Ciclo de la enfermedad de la marchitez del laurel. ¹⁰	11
Figura 2.7. Tronco infectado con <i>Raffaelea lauricola</i> . ⁷	11
Figura 2.8. Árboles dañados a consecuencia de la enfermedad de la marchitez del laurel. ⁸	12
Figura 2.9. Función de los volátiles en una planta (modificada) (Fuente FAO)	13
Figura 2.10. El escarabajo se ve atraído al árbol hospedero debido a los volátiles que estos liberan.	14
Figura 2.11. Capturas de hembra de <i>Xyleborus glabratus</i> usando aceites comerciales en un estudio de campo durante 8 semanas ¹⁵	15
Figura 2.12. Planta <i>Piper cubeb</i> de donde se extrae el aceite esencial de cubeba.	16

Figura 2.13. Partículas con contenido de aceite esencial de naranja a) Matriz (almidón nativo/almidón modificado/maltodextrina/proteína hidrolizada), b) matriz (almidón modificado/maltodextrina), c) matriz (almidón nativo/almidón modificado). ²⁸	20
Figura 2.14. Micrografía de corte transversal de las partículas microencapsuladas.	21
Figura 2.15. Ilustración esquemática de la dinámica de secado por atomización. Los grandes círculos representan gotas de agua atomizadas, los círculos pequeños son gotas de aceite, los puntos son moléculas de carbohidratos solubles, donde a) es una gota de agua recién atomizada, b) la corteza formada por el secado inicial de la superficie exterior y el núcleo permanece teniendo una composición similar a a), c) microcápsula final con un vacío después de secar toda el agua.	21
Figura 2.16. Micrografía obtenida por microscopía electrónica de transmisión de nanopartícula de cera de candelilla.	23
Figura 2.17. Micrografías de sistemas microencapsulados que contienen nanopartículas de candelilla.	24
Figura 2.18. Micrografías de los sistemas híbridos, a) Matriz de almidón, sistemas almidón:cera de candelilla b)10, c)20 y d)30.	25
Figura 2.19. Capacidad de hinchamiento de los sistemas híbridos obtenidos con matriz de almidón (Línea azul), comparados con sistemas con matriz de quitosano (línea naranja).	26
Figura 2.20. Dispersiones acuosas de almidón atomizado y almidón: cera de candelilla al 20% en peso.	26

Figura 2.21. Espectrogramas con espectroscopia UV-Vis de los sistemas híbridos con matriz de almidón, suspendidas en etanol a una concentración de 0.3g/L.	27
Figura 2.22. Micrografías obtenidas por microscopia confocal del sistema híbrido al 20% en peso de cera. Los puntos verdes refieren a la fluorescencia de las nanopartículas de cera.	28
Figura 2.23. Emulsión de candelilla obtenida por emulsificación de baja energía a partir del método de inversión de fase.	29
Figura 3.1. Efecto de los bioplaguicidas procedentes de plantas en organismos.	30
Figura 3.2. Ciclo de pérdidas de los plaguicidas durante su aplicación.	31
Figura 3.3. Aceites esenciales, estos productos presentan composiciones complejas.	32
Figura 3.4. Liberación de activo debido a estímulos externos. ⁴⁹	33
Figura 3.5. Técnicas de microencapsulamiento. ⁴⁸	34
Figura 3.6. Proceso de secado por atomización para la preparación de sistemas microencapsulados (Spray Drying) B-290) imagen adaptada. ⁵³	35
Figura 3.7. Formación de partícula durante la etapa de secado. ⁵⁴	36
Figura 3.8. Diferentes tipos de morfologías de microencapsulados que se pueden obtener según las condiciones de secado y atomizado. ⁵⁵	37
Figura 3.9. Estructuras de la a) amilosa y la b) amilopectina. ⁶¹	39

Figura 3.10. Diagrama de la conformación de un granulo de almidon. ⁶²	39
Figura 3.11. Proceso de gelatinización de almidón. ⁶⁷	41
Figura 3.12. Planta de candelilla.	42
Figura 3.13. Cera de candelilla en forma de láminas.	42
Figura 3.14. Aplicaciones de la cera de candelilla en diversos ámbitos industriales. ⁷²	43
Figura 3.15. Proceso de emulsificación de baja energía (método EIP).	45
Figura 7.1. Proceso de producción de nanoemulsión de cera de candelilla mediante el proceso de emulsificación de baja energía.	49
Figura 7.2. Proceso de gelatinización de almidón en reactor enchaquetado.	50
Figura 7.3. Proceso de obtención de microencapsulados de aceite esencial de cubeb.	52
Figura 8.1. Micrografías de sistemas encapsulados.	56
Figura 8.2. Histogramas de distribución de tamaños de los sistemas encapsulados.	57
Figura 8.3. Partícula fracturada del sistema AC15%.	59
Figura 8.4. Sistema aceite de cubeb/nanopartículas de cera de candelilla.	60

Figura 8.5. Esquema propuesto de la interacción de componentes en la formación de los sistemas encapsulados de aceite de cubeb.	61
Figura 8.6. Sistemas encapsulados de aceite esencial de cubeb donde se observa como a medida que aumenta la concentración de aceite aumentan las partículas “huecas”. a) AC15%, b) AC20%, c) AC30%, d) AC40%, e) AC50%, f) AC60%.	62
Figura 8.7. Esquema propuesto del proceso de encapsulamiento con bajas concentraciones de aceite.	63
Figura 8.8. Esquema propuesto del proceso de encapsulamiento con altas concentraciones de aceite.	64
Figura 8.9. Micrografía de luz polarizada, sistema blanco (matriz cera de candelilla/almidón).	65
Figura 8.10. a) Enfoque a la superficie de la partícula, b) Enfoque al interior de la partícula que presenta birrefringencia.	66
Figura 8.11. a) Enfoque a la superficie de la partícula, b) Enfoque al interior de la partícula que presenta birrefringencia.	66
Figura 8.12. Evidencia de sistema no encapsulado, donde se observa aceite en la pared del ciclón colector.	67
Figura 8.13. Cromatograma de aceite de cubeb.	68
Figura 8.14. Análisis termogravimétrico realizado a condiciones isotérmicas (100°C) al aceite de cubeb.	69

Figura 8.15. Análisis térmico realizado por medio de termobalanza al aceite esencial de cubeb.	70
Figura 8.16. Microencapsulados analizados en termobalanza.	71

INDICE DE TABLAS	
Tabla 2.1. Componentes detectados en el aceite de cubeb y sus estructuras.	16
Tabla 2.2. Diversos sistemas microencapsulados y su concentración de aceite esencial utilizado como activo.	19
Tabla 3.1. Composición típica de la cera de candelilla sin refinar y refinada. ⁷¹	43
Tabla 7.1. Formulaciones de las soluciones para obtener los sistemas microencapsulados	51
Tabla 8.1. Porcentaje de rendimiento de los sistemas microencapsulados.	55

REFERENCIAS

- (1) Crane, J. H. El Escarabajo Ambrosia (*Xyleborus glabratus*) del Laurel Rojo y el Hongo de la Marchitez del Laurel (*Raffaelea lauricola*): Un Problema Potencialmente Importante para los Aguacates en Florida. **2008**, No. June 2015.
- (2) Nacional, C.; Fitosanitaria, D. E. R. PLAN DE ACCIÓN PARA LA VIGILANCIA Y APLICACIÓN DE MEDIDAS DE CONTROL CONTRA COMPLEJOS AMBROSIALES REGLAMENTADOS EN MÉXICO : *Xyleborus glabratus*- *Raffaelea lauricola* y *Euwallacea* sp . - *Fusarium euwallaceae* DIRECCION GENERAL DE SANIDAD VEGETAL CENTRO NACIO. **2015**, 52 (55).
- (3) Delgadillo-Villanueva, I. Escarabajo Ambrosia Del Laurel Rojo. **2016**, 1877 (48), 1–24.
- (4) Lira-Noriega, A.; Soberón, J.; Equihua, J. Potential invasion of exotic ambrosia beetles *Xyleborus glabratus* and *Euwallacea* sp. in Mexico: A major threat for native and cultivated forest ecosystems. *Sci. Rep.* **2018**, 8 (1), 1–13.
- (5) Aguacate, P. N. D. E. Contenido.
- (6) UASLP. Riesgo escarabajo ambrosial. **2554**.
- (7) EPPO. and its insect vector (*Xyleborus glabratus*). **2014**, 1–5.
- (8) SAGARPA; SENASICA. Marchitez del laurel Laurel wilt disease (*X. glabratus*-*R. lauricola*). **2014**, 52 (55).
- (9) Harrington', T. C.; Fraedr1ch, S. W.; Aghayeva3, D. N. *Raffaelea lauricola*, a new ambrosia beetle symbiont and pathogen on the Lauraceae. *Mycotaxon* **2008**, 104 (January), 399–404.
- (10) Fitosanitarios, P.; Reglamentadas, P. Identificación, Biología y Hábitos de escarabajos ambrosiales. **2017**.
- (11) Benzel, J.; Itp, U. A. *Xyleborus glabratus* Eichhoff, 1877. **2017**, 1–12.
- (12) Rossini, C.; González, A. Alomonas, feromonas, kairomonas... *Ecol. química* **2010**, 10, 26–27.
- (13) Liu, S.; Zhao, J.; Hamada, C.; Cai, W.; Khan, M.; Zou, Y.; Hua, H. Identification of attractants from plant essential oils for *Cyrtorhinus lividipennis* , an important predator of rice planthoppers. *J. Pest Sci. (2004)*. **2018**, No. 123456789.
- (14) Martínez, A. C. Biological activities of essential oils. *Essent. Oils Prod. Appl. Heal. Benefits* **2018**, No. December 2014, 37–52.
- (15) Kendra, P. E.; Montgomery, W. S.; Niogret, J.; Schnell, E. Q.; Deyrup, M. A.; Epsky, N. D. Evaluation of seven essential oils identifies cubeb oil as most effective attractant for detection of *Xyleborus glabratus*. *J. Pest Sci. (2004)*. **2014**, 87 (4), 681–689.
- (16) Kendra, P. E.; Montgomery, W. S.; Niogret, J.; Tabanca, N.; Owens, D.; Epsky, N. D. Utility of essential oils for development of host-based lures for *Xyleborus glabratus* (Coleoptera:

- Curculionidae: Scolytinae), vector of laurel wilt: Essential oil lures for *Xyleborus glabratus*. *Open Chem.* **2018**, *16* (1), 393–400.
- (17) Singh, G.; Marimuthu, P.; Heluani, C. S. D.; Catalan, C. A. N. Chemical constituents, antioxidative and antimicrobial activities of essential oil and oleoresin of tailed pepper (*Piper Cubeba* L). *Int. J. Food Eng.* **2007**, *3* (6).
- (18) Turek, C.; Stintzing, F. C. Stability of essential oils: A review. *Compr. Rev. Food Sci. Food Saf.* **2013**, *12* (1), 40–53.
- (19) Nuruzzaman, M.; Rahman, M. M.; Liu, Y.; Naidu, R. Nanoencapsulation, Nano-guard for Pesticides: A New Window for Safe Application. *J. Agric. Food Chem.* **2016**, *64* (7), 1447–1483.
- (20) Trenkel, M. E. *Slow and controlled release and stabilized fertilizers: An option for enhancing nutrient use efficiency in agriculture.*
- (21) Kujur, A.; Kiran, S.; Dubey, N. K.; Prakash, B. LWT - Food Science and Technology Microencapsulation of *Gaultheria procumbens* essential oil using chitosan-cinnamic acid microgel : Improvement of antimicrobial activity , stability and mode of action. *LWT - Food Sci. Technol.* **2017**, *86*, 132–138.
- (22) Barbieri, N.; Sanchez-contreras, A.; Canto, A. Industrial Crops & Products Effect of cyclodextrins and Mexican oregano (*Lippia graveolens* Kunth) chemotypes on the microencapsulation of essential oil. *Ind. Crop. Prod.* **2018**, *121* (December 2017), 114–123.
- (23) Baranauskiene, R. Flavor Retention of Peppermint (*Mentha piperita* L.) Essential Oil Spray-Dried in Modified Starches during Encapsulation and Storage. **2007**.
- (24) Fernandes, D. B.; Borges, S. V.; Alvarenga, D.; Silva, E. K.; Maria, J.; Queiroz, F. Microencapsulation of Rosemary Essential Oil : Characterization of Particles. **2013**, 1245–1254.
- (25) Expósito, I.; Bringas, M. Ciencia y Tecnología de Alimentos Tecnología Enero - abril ISSN 0864-4497, pp. 45-48. **2013**, *23* (1), 45–48.
- (26) Cruz-olivares, J.; Barrag, B. E.; Cort, S. Microencapsulation by spray drying of lemon essential oil : Evaluation of mixtures of mesquite gum – nopal mucilage as new wall materials. **2017**, *34* (4), 395–407.
- (27) Azarabadi, N.; Topuz, A. *Gida the journal of food.* **2018**, *43*, 957–970.
- (28) Galicia-garcía, T.; Ruiz-guti, M. Spray-dried microencapsulation of orange essential oil using modified rice starch as wall material. **2018**, No. November 2016.
- (29) Ačkar, D.; Babić, J.; Jozinović, A.; Miličević, B.; Jokić, S.; Miličević, R.; Rajič, M.; Šubarić, D. Starch modification by organic acids and their derivatives: A review. *Molecules* **2015**, *20* (10), 19554–19570.
- (30) Li, J. Z. *The Use of Starch-Based Materials for Microencapsulation*; Elsevier Inc., 2014.
- (31) Li, J. Z. The Use of Starch-Based Materials for Microencapsulation. *Microencapsul. Food Ind.* **2014**, No. March 2013, 195–210.

- (32) Campos, E. V. R.; de Oliveira, J. L.; Fraceto, L. F.; Singh, B. Polysaccharides as safer release systems for agrochemicals. *Agron. Sustain. Dev.* **2014**, 35 (1), 47–66.
- (33) Lara, C. M. Starch and candelilla wax hybrids for slow release of microencapsulated phosphates . **2018**, No. September.
- (34) Carlos Espinoza González, Claudia Pérez Torres, Layza Arizmendi Galaviz, Noé Navarro Guajardo, Aimee Hernández López, Antonio Cárdenas Flores, E. G. I. SOLICITUD DE PATENTE: PARTÍCULAS DE SÓLIDOS SOLUBLES EN AGUA ENCAPSULADOS EN UNA MATRIZ COMPUESTA A BASE DE POLÍMEROS HIDROSOLUBLES Y MÉTODO DE OBTENCIÓN. **2019**, No. 55.
- (35) Guajardo, N.; Jos, C.; Gonz, E.; Ledezma, A. S. Desarrollo de Nuevos Sistemas Híbridos de Biopolímeros como Matriz para Encapsulamiento con Propiedades Mejoradas de Hidrofobicidad y Absorción Ultravioleta. **2019**.
- (36) Sadtler, V.; M., J.; Marie, E. Low Energy Emulsification Methods for Nanoparticles Synthesis. *Deliv. Nanoparticles* **2012**, No. ii, 509–524.
- (37) Fernandez, P.; André, V.; Rieger, J.; Kühnle, A. Nano-emulsion formation by emulsion phase inversion. *Colloids Surfaces A Physicochem. Eng. Asp.* **2004**, 251 (1–3), 53–58.
- (38) Giliomee, J. H. Pesticides. **2014**, No. January 2009.
- (39) Matthews, G. A. *Pesticides: Health, Safety and the Environment*; 2006.
- (40) Sparagano, O.; Khallaayoune, K.; Duvallet, G.; Nayak, S.; George, D. Comparing Terpenes from Plant Essential Oils as Pesticides for the Poultry Red Mite (*Dermanyssus gallinae*). **2013**, 60, 150–153.
- (41) Kaur, R.; Mavi, G. K.; Raghav, S.; Khan, I. Pesticides Classification and its Impact on Environment. *Int. J. Curr. Microbiol. Appl. Sci.* **2019**, 8 (3), 1889–1897.
- (42) Damalas, C. A. Current Status and Recent Developments in Biopesticide Use. *Agriculture* **2018**, 8 (1), 13.
- (43) Ye, M.; Beach, J.; Martin, J. W.; Senthilselvan, A. Pesticide exposures and respiratory health in general populations. *J. Environ. Sci. (China)* **2017**, 51, 361–370.
- (44) Brasil, V. L. M.; Ramos Pinto, M. B.; Bonan, R. F.; Kowalski, L. P.; da Cruz Perez, D. E. Pesticides as risk factors for head and neck cancer: A review. *J. Oral Pathol. Med.* **2018**, 47 (7), 641–651.
- (45) Zhao, X.; Cui, H.; Wang, Y.; Sun, C.; Cui, B.; Zeng, Z. Development Strategies and Prospects of Nano-based Smart Pesticide Formulation. *J. Agric. Food Chem.* **2018**, 66 (26), 6504–6512.
- (46) Can Başer, K. H.; Buchbauer, G. *Handbook of essential oils: Science, technology, and applications, second edition*; 2015.
- (47) Butnariu, M.; Sarac, I. Journal of Biotechnology and Biomedical Science. *J. Biotechnol. Biomed. Sci.* **2018**, 1 (4), 35–43.
- (48) Arizmendi, L. A. Microencapsulacion: Tecnologia de vanguardia para la proteccion liberacion y transporte de activos y aditivos. *Mundo Plast.* **2018**, 1–84.

- (49) Technologies, L. Encapsulacion y liberacion controlada de principios activos
<https://www.laurentia.es/inicio/tecnología/>.
- (50) Poshadri, A.; Kuna, A. Microencapsulation Technology: a Review. **2018**, No. June.
- (51) Walzel, P.; Furuta, T. Morphology and Properties of Spray-Dried Particles. *Mod. Dry. Technol.* **2014**, 3–4 (2001), 231–294.
- (52) Anandharamakrishnan, C.; Ishwarya, S. P. *Spray Drying Techniques for Food Ingredient Encapsulation-Wiley-Blackwell (2015)*; 2015.
- (53) Navarro-guajardo, N.; García-carrillo, E. M.; Espinoza-gonzález, C.; Téllez-zablah, R. Candelilla Wax as Natural Slow-Release Matrix for Fertilizers Encapsulated by Spray Chilling. **2018**, 6 (3).
- (54) Dobry, D. E.; Settell, D. M.; Baumann, J. M.; Ray, R. J.; Graham, L. J.; Beyerinck, R. A. A model-based methodology for spray-drying process development. *J. Pharm. Innov.* **2009**, 4 (3), 133–142.
- (55) Gonzalez, C. J. E. Pulverizacion por enfriamiento: una tecnologia sustentable para el desarrollo de aditivos para plasticos. *PT Mex.* **2017**, 14–17.
- (56) Zuidam, N. J.; Nedović, V. A. Encapsulation technologies for active food ingredients and food processing. *Encapsulation Technol. Act. Food Ingredients Food Process.* **2010**, No. May, 1–400.
- (57) Torres, C. A. P. Liberacion controlada: como los plasticos pueden mejorar el rendimiento de la agricultura. **2018**, 3, 44–47.
- (58) Ibrahim, A. A.; Jibril, B. Y. Controlled Release of Paraffin Wax / Rosin-Coated Fertilizers. **2005**, 2288–2291.
- (59) Hack, B.; Egger, H.; Uhlemann, J.; Henriët, M.; Wirth, W.; Vermeer, A. W. P.; Duff, D. G. Advanced Agrochemical Formulations through Encapsulation Strategies ? **2012**, No. 3, 223–234.
- (60) Guo, M. Q.; Hu, X.; Wang, C.; Ai, L. Polysaccharides: Structure and Solubility. *Solubility of Polysaccharides* **2017**.
- (61) Ebnesajjad, S. *HANDBOOK OF BIOPOLYMERS AND BIODEGRADABLE PLASTICS PROPERTIES, PROCESSING, AND*.
- (62) Wang, S.; Li, C.; Copeland, L.; Niu, Q.; Wang, S. Starch Retrogradation : A Comprehensive Review. **2015**, 14.
- (63) Chen, Y. F.; Kaur, L.; Singh, J. *Chemical Modification of Starch*; Elsevier Ltd, 2017.
- (64) Kavalani, N.; Sharma, V.; Lalit, S. Various techniques for modification of starch and applications of its derivatives. *Int. Res. J. Pharm.* **2012**, 3 (5), 25.
- (65) ROHWER, R. G.; KLEM, R. E. *Acid-Modified Starch: Production and Uses*, Second Edi.; ACADEMIC PRESS, 1984.
- (66) Tako, M.; Tamaki, Y.; Teruya, T.; Takeda, Y. The Principles of Starch Gelatinization and

Retrogradation. *Food Nutr. Sci.* **2014**, 5 (3), 280–291.

- (67) Xie, F.; Pollet, E.; Halley, P. J.; Avérous, L. *Advanced Nano-Biocomposites Based on Starch*; 2021.
- (68) Gold, P.; V, L. A. A. El comercio internacional de candelilla. 8.
- (69) Rodriguez, R. (*Euphorbia antisiphilitica* Zucc). **2010**, No. March.
- (70) Cabello Alvarado, C. J.; Sáenz Galindo, A.; Barajas Bermúdez, L.; Pérez Berumen, C.; Ávila Orta, C.; Valdés Garza, J. A. Cera de Candelilla y sus aplicaciones. *Av. en Quim.* **2013**, 8 (2), 105–110.
- (71) Instituto de la candelilla. Propiedades http://www.candelilla.org/?page_id=534&lang=es (accessed May 19, 2017).
- (72) Candelilla, I. de la. Instituto de la candelilla http://www.candelilla.org/?page_id=87&lang=es (accessed Jul 20, 2016).
- (73) Salager. SURFACTANTS Types and Uses. **2002**, 2.
- (74) Hernandez, A. DESARROLLO DE MICRO Y NANO PARTICULAS DE CERA DE CANDELILLA COMO PLATAFORMA ESTRUCTURAL PARA SU APLICACIÓN EN SISTEMAS “JANUS” Y DE LIBERACION LENTA DE FERTILIZANTES. **2018**.
- (75) Kaewsaneha, C.; Tangboriboonrat, P.; Polpanich, D.; Eissa, M.; Elaissari, A. Preparation of Janus colloidal particles via Pickering emulsion: An overview. *Colloids Surfaces A Physicochem. Eng. Asp.* **2013**, 439, 35–42.
- (76) Vehring, R. Pharmaceutical particle engineering via spray drying. *Pharm. Res.* **2008**, 25 (5), 999–1022.
- (77) Franco, M. Agregación en gránulos de almidón. **2003**, 13–16.
- (78) Garcia, S. F. (Instituto P. N. OBTENCIÓN DE ALMIDÓN CON TAMAÑO DE PARTÍCULA REDUCIDO MEDIANTE PULVERIZADO MEZCLADO CON ALTA ENERGÍA. **2014**.
- (79) Muñoz, L. A.; Pedreschi, F.; Leiva, A.; Aguilera, J. M. Loss of birefringence and swelling behavior in native starch granules: Microstructural and thermal properties. *J. Food Eng.* **2015**, 152, 65–71.