

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS E INGENIERÍA
Maestría y Doctorado en Ciencias e Ingeniería



**EVALUACIÓN DE SISTEMAS NANOENCAPSULADOS BIODEGRADABLES DE
ACEITES ESENCIALES DE PLANTAS, PARA EL CONTROL ORGÁNICO DE
PLAGAS AGRÍCOLAS**

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE
DOCTORA EN CIENCIAS
PRESENTA

M.C. ROCÍO ROSARIO AYLLÓN GUTIÉRREZ

Tijuana, Baja California, 21 de Diciembre de 2023

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS E INGENIERÍA

Folio No.355
Tijuana, B.C., a 08 de diciembre, 2023

C. ROCÍO ROSARIO AYLLÓN GUTIÉRREZ
Pasante de: Doctorado en Ciencias
Presente

El tema de trabajo y/o tesis para su examen profesional, en la
Opción TESIS


Es propuesto, por los C. Dr. Iván Córdova Guerrero y
Dr. Joaquín González Marrero


Quiénes serán los responsables de la calidad del trabajo que usted presente, referido
al tema: "Evaluación De Sistemas Nanoencapsulados Biodegradables De Aceites
Esenciales De Plantas, Para El Control Orgánico De Plagas Agrícolas"

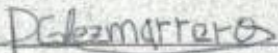
El cual deberá usted desarrollar, de acuerdo con el siguiente orden:

- I. RESUMEN
- II. OBJETIVOS
- III. HIPÓTESIS
- IV. INTRODUCCIÓN
- V. GENERALIDADES
- VI. METODOLOGÍA EXPERIMENTAL
- VII. RESULTADOS Y DISCUSIÓN
- VIII. CONCLUSIONES
- IX. REFERENCIAS
- X. APÉNDICES: TÉCNICAS EXPERIMENTALES
- XI. ANEXOS


M.C. Roberto Alejandro Reyes Martínez
Director


Dra. Ana Alejandra Ramírez Rodríguez
Subdirectora


Dr. Iván Córdova Guerrero
Director De Tesis


Dr. Joaquín González Marrero
Co-Director De Tesis



AGRADECIMIENTOS



AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Autónoma de Baja California y su Facultad de Ciencias Químicas e Ingeniería por recibirme y permitirme continuar con mi preparación académica.

A CONAHCYT, por el apoyo económico brindado a lo largo de estos cuatro años.

Al Dr. Iván Córdova por la confianza depositada en mi, por permitirme desarrollar esta tesis en su laboratorio, bajo su guía y apoyo constantes.

Al Centro de Nanociencias y Nanotecnología de la Universidad Nacional Autónoma de México y al Dr. Gabriel Alonso Núñez, por amablemente facilitarme el uso de sus instalaciones y equipo, que permitieron el desarrollo de esta tesis.

Al comité de evaluación de tesis: Dra. Rufina Hernández, Dr. Gabriel Alonso Núñez, Dr. Héctor Magaña, Dr. José Manuel Cornejo, y Dr. Iván Córdova, por su apoyo y guía constantes a lo largo de este proceso. Expando los agradecimientos al Dr. Héctor Magaña por su invaluable apoyo para la caracterización de los nanosistemas, y a la Dra. Rufina Hernández, reiterando mi profunda admiración y estima y agradeciendo su apoyo constante por más de 12 años.

A la Dra. Kenia Vizcaíno por su apoyo durante el proceso de caracterización de los nanosistemas, siempre con paciencia y disposición para compartir sus

conocimientos. Asimismo, a su tesista Teresa Rodríguez, por resolver mis dudas y ayudarme a comprender mejor mis resultados.

Al Dr. Eduardo López Maldonado, por su invaluable apoyo y confianza, así como su tiempo y conocimientos compartidos que enriquecieron de gran manera no sólo esta tesis, sino también formaron parte importante de mi aprendizaje y crecimiento académicos.

A mis profesores durante mi tiempo como estudiante de doctorado, el Dr. Juan Cruz, Dr. Iván Córdova, Dr. Héctor Magaña, Dra. Lilian Romero, Dr. José Manuel Cornejo y Dr. César Díaz Trujillo, por su guía y enseñanzas.

Al Laboratorio de Productos Naturales, y a mis compañeros Víctor, Manuel, Denise, Lluvia, Tania, Arturo. A Lluvia, gracias por todas las platicas y los ánimos, particularmente en los últimos meses. A Tania, gracias por brindarme tu amistad y apoyo, por estar presente en los buenos momentos y en los no tan agradables, y por la enorme cantidad de plantas de frijol que mantuviste con vida. Arturo, gracias por la amistad por estos seis años, por siempre centrarme y brindarme otra perspectiva, y ser un apoyo constante para todos, siempre con la mejor actitud.

A la Dra. Laura Díaz, por su infinita paciencia, apoyo y guía constantes durante mis seis años en el laboratorio.

Finalmente, agradezco a mi familia. A mi mamá, mi suegra, mis tías, primas, y cuñadas, gracias por ser las mejores nanas para Matilda y permitirme continuar con mi preparación académica con tranquilidad de dejarla bajo su cuidado.

A mi mamá, por ser siempre mi apoyo incondicional, mi fortaleza e inspiración. A Matilda, eres mi más grande motivación para superarme, gracias por recibirme todos los días con un abrazo al llegar a casa. A mi esposo Armando, mi compañero de vida, gracias por todo el apoyo que me brindaste para alcanzar esta meta. Gracias por tolerarme y entenderme en mis momentos de estrés y frustración que inevitablemente forman parte de la vida, sobre todo gracias por su apoyo y amor incondicional.

Tabla de contenidos

Índice de figuras	i
Índice de tablas	iii
Abreviaturas y acrónimos	iv
1. Resumen	1
2. Objetivos	4
2.1 Objetivo general	5
2.2 Objetivos específicos	6
3. Hipótesis	7
4. Introducción	9
5. Generalidades	16
5.1 Aceites esenciales	17
5.2 Aceites esenciales en el control de plagas	19
5.2.1 Los aceites esenciales como pesticidas de origen botánico	19
5.2.2 Mecanismo de acción de los aceites esenciales como insecticidas	26
5.2.3 Actividad repelente y efectos subletales	28
5.3 Nanosistemas de aceites esenciales	29
5.3.1 Técnicas empleadas en la elaboración de nano y micro sistemas de aceites esenciales	32
6. Metodología experimental	34
6.1 Obtención y caracterización de los aceites esenciales	35
6.1.1 Obtención de aceites esenciales	35
6.1.2 Caracterización de los aceites esenciales	38
6.2 Generación y caracterización de nanoemulsiones	40
6.3 Evaluación de actividades biológicas	44
6.3.1 Determinación de la actividad fitotóxica	44
6.3.2 Determinación de la actividad acaricida	47
6.3.3 Determinación de la actividad aficida	49
6.3.4 Determinación de la actividad insecticida	51

7. Resultados y Discusión	53
7.1 Obtención y caracterización de los aceites esenciales.....	54
7.1.1 Rendimiento de aceites esenciales de <i>S. apiana</i> y <i>S. clevelandii</i>	54
7.1.2 Composición del aceite esencial de <i>S. apiana</i>	55
7.1.3 Composición de <i>S. clevelandii</i>	58
7.2 Generación y caracterización de nanoemulsiones.....	61
7.2.1 Nanoemulsión de eucaliptol	61
7.2.1.1 Apariencia visual y tamaño de partícula de nanoemulsión NEE13	64
7.2.1.2 Evaluación de la estabilidad de la nanoemulsión NEE13	67
7.2.2 Nanoemulsión de aceite esencial de <i>S. apiana</i>	70
7.2.2.1 Apariencia visual y tamaño de partícula de nanoemulsión.....	71
7.2.2.2 Evaluación de la estabilidad de la nanoemulsión NESA1	73
7.2.3 Nanoemulsión de aceite esencial de <i>S. clevelandii</i>	76
7.2.3.1. Apariencia visual y tamaño de partícula de nanoemulsión	78
7.2.3.2. Evaluación de la estabilidad de la nanoemulsión NESC14.....	80
7.3 Determinación de actividades biológicas	84
7.3.1 Evaluación de fitotoxicidad	84
7.3.2 Evaluación de actividad acaricida en cajas Petri selladas	92
7.3.3 Evaluación de actividad aficida en cajas Petri selladas.....	96
7.3.4 Evaluación de actividad insecticida de aceites libres.....	98
7.3.5 Evaluación de actividad frente artrópodos de los aceites esenciales libres y en nanoemulsión.	101
7.3.5.1 Eucaliptol	101
7.3.5.2 Aceite esencial de <i>S. apiana</i>	105
7.3.5.3 Aceite esencial de <i>S. clevelandii</i>	107
7.3.5.4 Comparaciones finales de los resultados de actividad biocida	109
8. Conclusiones.....	111
9. Referencias	114

10. Apéndices: Técnicas experimentales.....	137
11. Anexos	140

Índice de figuras

Figura 1. Colonia de <i>T. urticae</i>	10
Figura 2. Daño por fitofagia ocasionado por <i>T. urticae</i>	11
Figura 3. Infestación de <i>B. tabaci</i> en berenjena. Acercamiento a individuos perforando la planta con su estilete para alimentarse.....	13
Figura 4. Componentes de aceites esenciales con actividad biocida y repelente	18
Figura 5. Arbusto de <i>Salvia apiana</i> y acercamiento a las hojas de <i>S. apiana</i>	36
Figura 6. Arbusto de <i>Salvia clevelandii</i> y acercamiento a la flor de <i>S. clevelandii</i>	36
Figura 7. Generación de nanoemulsiones por el método de inversión de fase	40
Figura 8. Ilustración de distribución de semillas y aceite en las cajas Petri	45
Figura 9. Disposición del ensayo acaricida por fumigación	48
Figura 10. Ensayo de actividad aficida por fumigación.....	50
Figura 11. Cromatograma del aceite esencial de <i>S. apiana</i>	56
Figura 12. Componentes mayoritarios del aceite esencial de <i>S. apiana</i>	57
Figura 13. Cromatograma del aceite esencial de <i>S. clevelandii</i>	58
Figura 14. Componentes mayoritarios del aceite esencial de <i>S. clevelandii</i>	60
Figura 15. Estructura del 2-fenieltanol.....	60
Figura 16. Diagrama pseudoternario.....	61
Figura 17. Formulación NEE13 (inspección visual).....	65
Figura 18. Distribución de tamaño de diámetro de partículas de NEE13	66
Figura 19. Perfiles de delta de transmisión y retrodispersión de la nanoemulsion NEE13.....	68
Figura 20. Formulación NESA1 contra una superficie blanca	71
Figura 21. Distribución de tamaño de la nanoemulsión NESA1	72
Figura 22. Perfiles de delta de transmisión y retrodispersión de la nanoemulsion NESA1	75
Figura 23. Comparación entre emulsión con ruptura y estable tras proceso de centrifugado	76
Figura 24. Formulación NESC14 (inspección visual).....	79
Figura 25. Distribución de tamaño de diámetro de partículas de la nanoemulsión NESC14.....	80
Figura 26. Perfiles de delta de transmisión y retrodispersión de la nanoemulsion NESC14	82
Figura 27. Patrones característicos de análisis en Turbiscan	83
Figura 28. Comparación del crecimiento radicular de <i>C. quinoa</i>	89
Figura 29. Porcentaje de reducción del índice de vigor de semillas de <i>C. quinoa</i>	91
Figura 30. Actividad acaricida de eucaliptol, AESA y AESC	93

Figura 31. Comparación de los efectos acaricidas de eucaliptol en cajas selladas, libre, y en nanoemulsión	103
Figura 32. Comparación de los efectos acaricidas del aceite esencial de <i>S. apiana</i> en cajas selladas, libre, y en nanoemulsión	103
Figura 33. Comparación acaricidas de los efectos del aceite esencial de <i>S. clevelandii</i> en cajas selladas, libre, y en nanoemulsión	104
Figura 34. Comparación de los efectos aficidas del monoterpeno eucaliptol en cajas selladas, libre, y en nanoemulsión	106
Figura 35. Comparación de los efectos insecticidas del monoterpeno eucaliptol libre y en nanoemulsión	106
Figura 36. Comparación de los efectos insecticidas del aceite esencial de <i>S. apiana</i> libre y en nanoemulsión en la mortalidad	108
Figura 37. Comparación de los efectos insecticidas del aceite esencial de <i>S. clevelandii</i> libre y en nanoemulsión	108

Índice de tablas

Tabla 1. Actividad biocida, repelente, y efectos subletales de aceites esenciales frente a diversas plagas agrícolas	22
Tabla 2. Matrices para encapsulado de aceites esenciales.....	30
Tabla 3. Condiciones para los experimentos de cromatografía de gases	39
Tabla 4. Condiciones de experimento para el análisis de estabilidad en Turbiscan	43
Tabla 5. Componentes mayoritarios <i>S. apiana</i>	57
Tabla 6. Componentes mayoritarios del aceite esencial de <i>S. clevelandii</i>	60
Tabla 7. Condiciones para las formulaciones del monoterpeno eucaliptol.....	63
Tabla 8. Condiciones para las formulaciones del aceite esencial de <i>S. apiana</i>	70
Tabla 9. Condiciones para las formulaciones del aceite esencial de <i>S. clevelandii</i>	77
Tabla 10. Efecto de los aceites esenciales libres y encapsulados sobre la germinación de semillas de <i>C. quinoa</i>	86
Tabla 11. Concentraciones medias efectivas de inhibición de germinación de <i>C. quinoa</i>	87
Tabla 12. Efecto de los aceites esenciales libres y encapsulados sobre la elongación radicular sobre <i>C. quinoa</i>	88
Tabla 13. Índice de vigor de la semilla observado bajo los distintos tratamientos	90
Tabla 14. Actividad acaricida por fumigación de aceites esenciales y eucaliptol frente a hembras de <i>T. urticae</i>	95
Tabla 15. Actividad aficida por fumigación de eucaliptol frente a <i>R. maidis</i>	97
Tabla 16. Actividad acaricida por fumigación de aceites esenciales y eucaliptol frente a <i>B. tabaci</i>	100

Abreviaturas y acrónimos

°	Grados
'	Minutos
“	Segundos
%	Porcentaje
±	Más - menos
≤	Menor o igual
≥	Mayor o igual
™	Marca registrada
®	Registrado
α	Alfa
β	Beta
Δ	Delta
γ	Gama
AChE	Acetilcolinesterasa
AE	Aceite esencial
AESA	Aceite esencial de <i>Salvia apiana</i>
AESC	Aceite esencial de <i>Salvia clevelandii</i>
B.C.	Baja California
°C	Grados Celsius
CG-EM	Cromatografía de gases-Espectrometría de masas
CL₅₀	Concentración letal media, concentración media efectiva
CL₉₅	Concentración letal 95%, concentración efectiva 95%
cm	Centímetros
cm²	Centímetros cuadrados
col.	Colaboradores
Der.	Derecha
EE	Error estándar

E.E.U.U.	Estados Unidos de América
ej.	Ejemplo
<i>et al.</i>	Et alias, y otros
FCQI	Facultad de Ciencias Químicas e ingeniería
Fig.	Figura
g	Gramos
GABA	Ácido γ -aminobutírico
h	Hora
H_v	Entalpia de vaporización
HLB	Balance hidrofílico – lipofílico
H.R.	Humedad relativa
hrs.	Horas
IC	Intervalo de confianza
l_{zq.}	Izquierda
kg	Kilogramos
kJ	KiloJoules
L.	Linneo
L:O	Luz:Oscuridad
μg	Microgramos
μl	Microlitro
μm	Micrometros
μM	Micromolar
m	Metro
mg	Miligramo
min	Minuto
ml	Mililitro
ml/min	Mililitro por minuto
mm	Milímetro
msnm	Metros sobre el nivel del mar

N	Norte
N/A	No aplica
NEE	Nanoemulsión de eucaliptol
NESA	Nanoemulsión de AESA
NESC	Nanoemulsión de AESC
nm	Nanómetros
no.	Número
O	Oeste
o:s:w	Proporción aceite:surfactante:agua
o/w	Fase dispersa: aceite/ Fase continua: agua
p-	Para (en estructuras aromáticas)
PDI	índice de polidispersión
pH	Potencial de hidrógeno
ppm	Partes por millón
rpm	Revoluciones por minuto
s	Segundo
S.	Salvia
SMIX	Mezcla de surfactantes
spp.	Especies
T.	Temperatura
UABC	Universidad Autónoma de Baja California
w/o	Fase dispersa: agua/ Fase continua: aceite

1. RESUMEN



1. RESUMEN

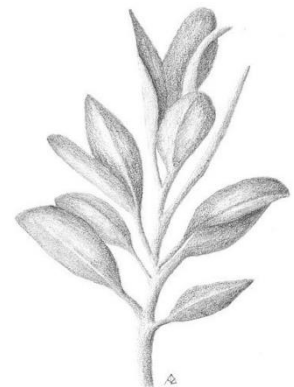
Uno de los principales retos para el sector agrícola es el control de plagas. La aplicación indiscriminada de pesticidas sintéticos ha impactado de forma negativa al medio ambiente y a la salud humana, así como facilitado el desarrollo de resistencia en plagas de cultivo y producto almacenado. Los metabolitos secundarios de plantas son una alternativa más segura a los pesticidas convencionales. Los aceites esenciales han sido ampliamente estudiados por sus múltiples actividades biológicas frente a plagas de importancia económica, no obstante, su uso se ha visto limitada dada su alta volatilidad, baja solubilidad en agua, e inestabilidad química,. Los nanosistemas representan una posible solución, fungiendo como vehículo y protección para su aplicación.

En este trabajo de tesis, los aceites esenciales de *Salvia apiana* y *Salvia clevelandii*, nativas de Baja California, fueron extraídos por hidrodestilación por arrastre de vapor. Posteriormente, se prepararon nanoemulsiones tanto de los aceites como del monoterpeno aislado eucaliptol, presente en ambos aceites, mediante el método de baja energía de inversión catastrófica de fase, y se determinaron los tamaños de partícula e índice de polidispersión por dispersión de luz dinámica. La estabilidad de las emulsiones se determinó por sometimiento a estrés gravitacional por centrifugación, así como por un análisis en el equipo Turbiscan. Las actividades biocidas fueron evaluadas frente a tres artrópodos, plagas agrícolas, *Tetranychus urticae*, *Rhopalosiphum maidis*, y *Bemisia tabaci*.

Se generaron nanoemulsiones con proporciones aceite:surfactante:agua de 0.5:1:0.8 para eucaliptol y el aceite de *S. apiana*, *S. apiana*, y de 0.5:0.5:9 para el aceite esencial de *S. clevelandii*, con tamaños promedio de partícula entre 14.7 y 44.5 nm. Las formulaciones se mostraron estables después de centrifugación, y el análisis por Turbiscan mostró ausencia de migración de partículas y variaciones en las señales de retrodispersión de máximo ± 4 .

Las nanoemulsiones mostraron un incremento en la bioactividad como fumigantes frente a los artrópodos, en comparación con los compuestos libres. Estos resultados sugieren que los nanosistemas pueden proveer a los compuestos volátiles de protección frente a la volatilización, mejorando su actividad biológica.

2. OBJETIVOS



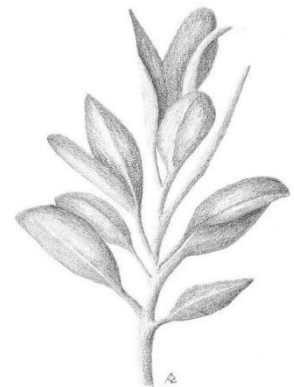
2.1 OBJETIVO GENERAL

Evaluar la actividad biocida y repelente de los aceites esenciales encapsulados de plantas del género *Salvia* frente a plagas agrícolas.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Obtener aceites esenciales de las especies vegetales *S. apiana* y *S. clevelandii* mediante la técnica de extracción por hidrodestilación.
2. Generar y caracterizar micro y nano sistemas de los aceites esenciales obtenidos de *S. apiana* y *S. clevelandii*.
3. Reproducir en invernadero al ácaro *Tetranychus urticae*, el pulgón del maíz *Rhopalosiphum maidis*, y la mosca blanca *Bemisia tabaco*, que serán utilizado como modelos experimentales para los ensayos de tipo acaricida, aficida, e insecticida.
4. Evaluar la actividad biocida de los aceites esenciales de *S. apiana* y *S. clevelandii* libres y encapsulados frente a plagas agrícolas.
5. Comparar el potencial fitotóxico de los aceites esenciales encapsulados en comparación con el efecto de los aceites esenciales en estado libre.

3. HIPÓTESIS



3. HIPÓTESIS

Los sistemas encapsulantes favorecen el uso de aceites esenciales volátiles obtenidos de las plantas del género *Salvia*, como pesticidas frente a plagas agrícolas.

4. INTRODUCCIÓN



4. INTRODUCCIÓN

Uno de los principales problemas a los que se enfrenta el sector agrícola es la reducción del rendimiento ocasionado por las plagas de cultivo y producto almacenado. Se calcula que, actualmente, cerca del 40% del producto agrícola global se pierde por insectos y fitopatógenos ([Fu, et al., 2023](#)). Algunos insectos considerados plagas destructivas en múltiples hospederos son: la araña roja, el pulgón del maíz, y la mosca blanca.

El ácaro *Tetranychus urticae* Koch ([Fig. 1](#)) es una plaga agrícola de distribución global con más de 200 plantas hospederas, responsable de pérdidas significativas en cultivos de hortalizas y plantas ornamentales de importancia económica ([Agut, et al., 2018](#); [Taghizadeh & Chi, 2022](#)). Estos ácaros se desarrollan en el envés de las hojas, perforando el mesófilo de las células con su estilete para alimentarse, causando los puntos cloróticos característicos ([Fig. 2](#)) ([Harris, et al., 2017](#); [Jonckheere, et al., 2016](#)).



[Figura 1](#). Colonia de *T. urticae*. Fuente: *Aleksey Gnilenkov. Flickr*

En los últimos años, se ha registrado un incremento en los reportes de desarrollo de resistencia de esta plaga a acaricidas sintéticos, tales como organofosfatos, dicofol, hexitiazox, clofentezina, fenpiroximato y abamectina ([Cárdenas-Ortega, et al., 2015](#); [Adesanya, et al., 2021](#); [Sun, et al., 2022](#)).



[Figura 2](#). Daño por fitofagia ocasionado por *T. urticae*. Fuente: Kansas State University. June 2016 – Extension Entomology (k-state.edu)

Rhopalosiphum maidis Fitch, también conocido como el pulgón del maíz, es una de las plagas más comunes en maíz, así como en diversos cultivos de cereales como cebada, avena, centeno, y sorgo alrededor del mundo ([Capinera, 2001](#)). Este áfido genera pérdidas anuales de hasta el 15% de maíz para consumo humano ([Alam, et al., 2015](#)) al ocasionar daño directo y al alimentarse de la savia, así como afectaciones indirectas al promover el crecimiento de hongos o como vector de virus fitopatógenos ([Straub & Emmet, 1992](#); [Fuchsberg, et al., 2007](#)), incluyendo el virus del mosaico enanizante del maíz, virus clorótico del maíz, y el virus de la hoja amarilla de la caña de azúcar ([Edde, 2022](#); [Carena & Glogoza, 2004](#)).

Bemisia tabaci Gennadius, comúnmente llamada mosca blanca, engloba por lo menos 44 especies gemelas que son morfológicamente indistinguibles ([Guo, et al., 2020](#)), y es considerada una de las plagas agrícolas más destructivas ([Johnston, et al., 2022](#)) para más de 600 plantas hospederas en el mundo, ocasionando pérdidas de importancia en cultivos comerciales como camote, tomates, y cucurbitáceas ([Shah, et al., 2020](#); [Zhang, et al., 2021](#); [Li, et al., 2022](#)). Tanto los estadios ninfales como las adultas, se alimentan del floema, excretando una mielecilla que puede propiciar el crecimiento de hongos tipo fumagina en las plantas, dificultando la fotosíntesis ([Fig. 3](#)) ([Onstad, 2014](#); [Edde, 2022](#)). Aunado a esto, *B. tabaci* funge como vector en la transmisión de, por lo menos, 100 virus fitopatógenos ([Roy, et al., 2022](#)), incluido el virus de la hoja amarilla del tomate (TYLCV) ([Hogenhout, et al., 2008](#); [Czosnek, et al., 2021](#)).

El rápido desarrollo y reproducción de estas plagas favorece un acelerado incremento poblacional, que es traducido en un rápido decline de los hospederos ([Padjama, 2016](#); [Johnston, et al., 2022](#); [Tehri, et al., 2014](#)); asimismo, el papel de estos artrópodos en la transmisión de virus fitopatógenos, así como los crecientes reportes de resistencia a pesticidas han convertido su control en una prioridad para los agricultores, que dependen principalmente de productos agroquímicos sintéticos ([Nauen & Konanz, 2005](#); [Satar, et al., 2018](#); [Alam, et al., 2020](#); [Toledo, et al., 2020](#); [Rabbi, et al., 2021](#)).

Actualmente el uso de agroquímicos constituye un elemento integral de la producción en la agricultura moderna. Desde los años cuarenta, su uso ha aumentado

de manera continua, y aunque hoy en día se observa una tendencia a la reducción de estas sustancias en países desarrollados, éstos se siguen aplicando en forma intensiva en países en vías de desarrollo como México ([Sato, et al., 2005](#)).



Figura 3. (Arriba) infestación de *B. tabaci* en berenjena. (Abajo) Acercamiento a individuos perforando la planta con su estilete para alimentarse. Fuente: Natalia Barboza, <http://dx.doi.org/10.15517/rbt.v67i3.33457>

La FAO ([FAO, 1995](#)) define plaguicida como cualquier sustancia o mezcla de sustancias destinadas a prevenir, destruir o controlar cualquier plaga, incluyendo los vectores de enfermedades humanas o de los animales, las especies no deseadas de plantas o animales que causan perjuicio o que interfieren de cualquier forma en la producción, elaboración, almacenamiento, transporte y comercialización de los alimentos, productos agrícolas, madera y productos de madera o alimentos para animales, o que pueden administrarse a los animales para combatir insectos, arácnidos u otras plagas en o sobre sus cuerpos ([Okwute, 2012](#)).

Durante los últimos años el combate a los insectos, nematodos, y ácaros que son plagas en la agricultura y medio rural, ha recaído principalmente en el uso de insecticidas sintéticos. En las últimas décadas existe una creciente preocupación por el impacto negativo del uso indiscriminado de pesticidas sintéticos tanto en la salud humana, como en el ambiente. Los compuestos derivados del metabolismo secundario de las plantas han sido propuestos como alternativas más seguras y sustentables al enfoque convencional en el control de plagas. Existen múltiples reportes de fitoquímicos con actividad biológica frente a insectos, entre estos compuestos, destacan los monoterpenoides, componentes principales de los aceites esenciales encontrados en plantas aromáticas, y que son parte de los mecanismos químicos de defensa natural vegetal frente a patógenos, insectos, y otros herbívoros ([Hallahan, 2000](#)).

Los productos o extractos naturales, como los aceites esenciales, pueden ser agentes ideales para el control plagas, dado que, en general, son como una alternativa

segura y de bajo impacto ambiental, además, están conformados por más de un compuesto activo, por lo que la resistencia tiende a desarrollarse lentamente. Una gran ventaja de la investigación de principios activos provenientes de fuentes naturales es que dichos compuestos son susceptibles a modificaciones químicas con la finalidad de potencializar la actividad biológica, desarrollando productos más potentes y seguros.

Alrededor del mundo se han llevado a cabo estudios de actividad insecticida del aceite esencial de salvias frente a patógenos agrícolas, encontrando que algunos de los componentes mayoritarios de dichos aceites como β -cariofileno, óxido de cariofileno, tujona, alcanfor, eucaliptol y canfeno presentan potencial contra plagas ([Lamari, et al., 2014](#); [Cárdenas-Ortega, et al., 2015](#)). El principal reto para el empleo de aceites esenciales en el control de plagas es la volatilidad de los compuestos presentes en estos aceites, así como su alta oxidabilidad. El nanoencapsulamiento se plantea como un vehículo que permita la protección de los aceites esenciales a la exposición al oxígeno ambiental, así como propiciar una liberación más paulatina de los mismos.

5. GENERALIDADES



5. GENERALIDADES

5.1 ACEITES ESENCIALES

Los aceites esenciales son líquidos hidrofóbicos, volátiles, compuestos de metabolitos secundarios, principalmente monoterpenoides, sesquiterpenoides, y fenilpropanoides ([Fig. 4](#)). Sin embargo, su composición presenta variaciones cualitativas y cuantitativas en función de la genética de la planta, su locación geográfica, clima, exposición solar, precipitación fluvial, edad, y la presencia de plagas, por nombrar algunas causas ([Rios, 2016](#); [Pereira dos Santos, et al., 2015](#)).

La bioproducción de aceites esenciales se ve limitada a un número reducido de familias botánicas: Apiaceae, Asteraceae, Lamiaceae, Lauraceae, Myrtaceae, Piperaceae, Rutaceae, y Zingiberaceae ([Tripathi, et al., 2009](#)). La producción de estos compuestos en plantas aromáticas es llevada a cabo por células especializadas presentes en flores (geranio, rosa), hojas (eucalipto, menta), madera (sándalo), corteza (canela), raíz (valeriana), o rizoma (jengibre), entre otros.

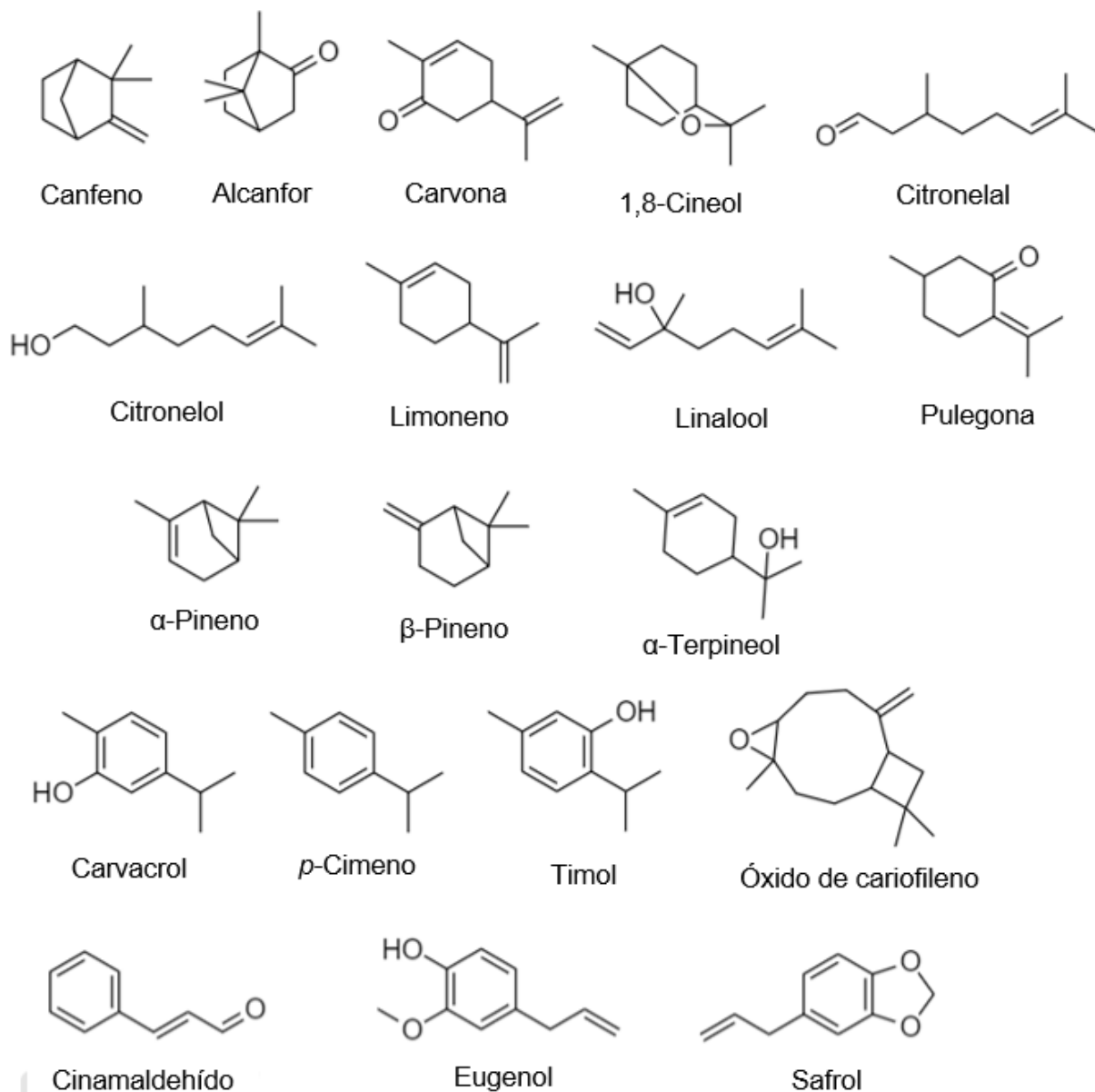


Figura 4. Componentes de aceites esenciales con actividad biocida y repelente. *Primeras tres filas:* monoterpenoides. *Cuarta fila:* Monoterpenoides y sesquiterpeno. *Fila inferior:* Fenilpropanoides.

([Lerdau, et al., 1994](#); [Franzios, et al., 1997](#); [Katiki, et al., 2017](#); [Kim, et al., 2013](#); [Andrés, et al., 2017](#); [Cao, et al., 2018](#); [Plata-Rueda, et al., 2018](#); [Abdelgaleil, et al., 2019](#); [Wang, et al., 2019](#); [De Andrade Brito, et al., 2020](#); [Li, et al., 2020](#))

5.2 ACEITES ESENCIALES EN EL CONTROL DE PLAGAS

El término *plaga* engloba a todos aquellos organismos considerados no deseables, como lo son nematodos, ácaros, insectos, y algunos vertebrados tales como los roedores ([Walker & Frederick, 2011](#)). Las plagas agrícolas son aquellas especies que ocasionan daño o reducción en el rendimiento de productos agroforestales, así como a los productos agrícolas en almacén ([Sawika & Egbuna, 2020](#)), ocasionando la pérdida de cerca de una tercera parte de la producción anual. El uso de pesticidas de origen sintético es el método más empleado para el control de plagas, sin embargo, en los últimos años se ha visto un incremento en el interés por la implementación de prácticas agrícolas más seguras y sostenibles, postulando a los pesticidas de origen botánico como alternativas a los pesticidas sintéticos tradicionales.

5.2.1 Los aceites esenciales como pesticidas de origen botánico

Los aceites esenciales son clasificados como seguros para vertebrados por la Administración de Alimentos y Medicamentos de E.E.U.U. (FDA, por sus siglas en inglés) ([FDA, 2019](#)), y su actividad biocida, repelente y efectos subletales sobre insectos han sido ampliamente estudiadas y reportadas ([Tabla 1](#)). El aceite esencial de Citronela (*Cymbopogon* spp.) es ampliamente utilizado como repelente de mosquitos, a la vez que

exhibe actividad biológica frente a otros organismos como nematodos ([Pereira da Silva, et al., 2019](#); [De Freitas Silva, et al., 2020](#)), hongos fitopatógenos ([Ali, et al., 2017](#); [Regnier, et al., 2014](#)) y actividad biocida sobre el áfido del eneldo (*Hyadaphis foeniculi*), esta última, además, es potencializada por el efecto atrayente que este aceite volátil presenta sobre *Cycloneda sanguinea* L., principal depredador de este áfido ([Abramson, et al., 2006](#)).

Además del aceite de citronela, se ha reportado actividad acaricida frente a ácaros fitófagos para una variedad de aceites esenciales, incluidos los aceites de *Chamomilla recuitita*, *Majorana hortensis* ([Afify, et al., 2012](#)), *Rosmarinus officinalis*, *Salvia officinalis* ([Laborda, et al., 2013](#)), *Salvia fruticosa*, *Lavandula angustifolia* ([Chrysargyris, et al., 2016](#)), y *Senecio glaucus* ([Basaid, et al., 2020](#)). Estos han mostrado actividad frente a la araña roja, *Tetranychus urticae*; *Zataria multiflora*, y *Satureja hortensis* son efectivos frente al ácaro de la fresa *Tetranychus turkestanii* ([Zandi-Sohani & Ramezani, 2015](#)). Mientras que *Thymbra spicata*, *Origanum*, *onites*, *Mentha spicata*, así como *Lavandula stoechas* son efectivos frente a la arañita roja carmín, *Tetranychus cinnabarinus* ([Sertkaya, et al., 2010](#)).

También ha sido reportada la efectividad de aceites esenciales de sasafrás (*Piper hispidinervum*), senecio (*Senecio glaucus*), eucalipto azul (*Eucalyptus globulus*), ajowán (*Carum capticum*), *Haplophyllum tuberculatum* y *Plectranthus cylindraceus*, frente a nematodos fitófagos, como biocidas, supresores de oviposición y viabilidad de

huevecillos, disminución de capacidad de infección y capacidad nematostática ([Andres, et al., 2017](#); [Basaid, et al., 2020](#); [Kalaiselvi, et al., 2019](#); [Gupta, et al., 2011](#); [Onifade, et al., 2008](#); [Kang, et al., 2013](#)).

Tabla 1. Actividad biocida, repelente, y efectos subletales de aceites esenciales frente a diversas plagas agrícolas.

Orden	Especie plaga	Familia botánica del AE	AE	Sección de la planta	Aplicación del AE	Referencia
Acari	<i>Tetranychus cinnabarinus</i> (arañita roja carmín)	Lamiaceae	<i>Lavandula stoechas</i> (Lavanda)	Hoja y tallo	Fumigación	
		Lamiaceae	<i>Mentha spicata</i> (Yerbabuena)	Hoja y tallo	Fumigación	
		Lamiaceae	<i>Origanum onites</i> (Orégano)	Hoja y tallo	Fumigación	Sertkaya, et al., 2010
		Lamiaceae	<i>Thymbra spicata</i> (Tomillo)	Hoja y tallo	Fumigación	
		Zingiberaceae	<i>Curcuma longa</i> (Cúrcuma)	Rizoma	Asperjado	Cheng, et al., 2020
Acari	<i>Tetranychus turkestanii</i> (ácaro de la fresa)	Lamiaceae	<i>Satureja hortensis</i> (Satureja)	Hojas	Fumigación	
		Lamiaceae	<i>Zataria multiflora</i>	Hojas	Fumigación	Zandi-Sohani & Ramezani, 2015
Acari	<i>Tetranychus urticae</i> (araña roja)	Asteraceae	<i>Chamomilla recutita</i> (Manzanilla)	Planta completa	Asperjado en hospedero	Afify, et al., 2012
		Lamiaceae	<i>Majorana hortensis</i> (Mejorana)	Planta completa	Asperjado en hospedero	
		Lamiaceae	<i>Rosmarinus officinalis</i> (Romero)	Parte aérea	Contacto	Laborda, et al., 2013
		Lamiaceae	<i>Salvia officinalis</i> (Salvia)	Parte aérea	Contacto	
		Lamiaceae	<i>Lavandula angustifolia</i> (Lavanda)	Hojas	Fumigación	
		Lamiaceae	<i>Salvia fruticose</i> (Salvia griega)	hojas	Fumigación	Chrysargyri, et al., 2016
		Lamiaceae	<i>Mentha spicata</i> (Yerbabuena)	Comercial, NE	Fumigación	
		Lamiaceae	<i>Ocimum basilicum</i> (Albahaca)	Comercial, NE	Fumigación	Pavela, et al., 2016
		Myrtaceae	<i>Callistemon viminalis</i> (Calistemon)	Hojas y tallos	Contacto	

		Myrtaceae	<i>Eucalyptus bicostata</i>	Hojas	Contacto	
		Myrtaceae	<i>Eucalyptus maidenii</i>	Hojas	Contacto	Roh, et al., 2013
		Myrtaceae	<i>Eucalyptus sideroxylm</i>	Hojas	Contacto	
		Myrtaceae	<i>Eucalyptus approximans</i>	Hojas	Contacto	
		Verbenaceae	<i>Lippia origanoides</i> (Orégano colombiano)	Hojas	Fumigación	Mar, et al., 2018
		Verbenaceae	<i>Lippia sidoides</i> (Orégano)	Hojas	Fumigación	Cavalcanti, et al., 2010
Coleoptera	<i>Callosobruchus chinensis</i> (gorgojo del frijol)	Apiaceae	<i>Coriandrum sativum</i> (Cilantro)	Comercial, NE	Fumigación /contacto	
		Myrtaceae	<i>Eucalyptus obliqua</i> (Eucalipto)	Comercial, NE	Fumigación /contacto	Rani, 2012
		Pinaceae	<i>Pinus langifolia</i> (Pino)	Comercial, NE	Fumigación /contacto	
Coleoptera	<i>Callosobruchus maculatus</i> (gorgojo del caupí)	Lamiaceae	<i>Rosmarinus officinalis</i> (Romero)	Parte aérea	Fumigación	Mahmoudvand, et al., 2011
		Lamiaceae	<i>Mentha piperita</i> (Menta)	Parte aérea	Fumigación	
		Rutaceae	<i>Citrus sinensis</i> (Naranja dulce)	Cáscara	Fumigación	Oyedeeji, et al., 2020
Coleoptera	<i>Lasioderma serricone</i> (escarabajo del tabaco)	Cruciferae	<i>Cochleria armoracia</i> (Rábano picante)	Comercial, NE	Fumigación	Kim, et al., 2003
		Lauraceae	<i>Cinnamomum cassia</i> (Canela)	Comercial, NE	Contacto	
Coleoptera	<i>Sitophilus granarius</i> (gorgojo del trigo o gorgojo del grano)	Lauraceae	<i>Cinnamomum zeylanicum</i> (Canela)	Comercial, NE	Contacto	Plata-Rueda, et al., 2018
		Myrtaceae	<i>Syzygium aromaticum</i> (Clavo de olor)	Comercial, NE	Contacto	
Coleoptera	<i>Ulomoides dermestoides</i> (escarabajo del maní)	Poaceae	<i>Cymbopogon citratus</i> (Limoncillo)	Comercial, NE	Contacto	Plata-Rueda, et al., 2020
Diptera	<i>Ceratitis capitata</i> (mosca de la fruta del Mediterráneo)	Lamiaceae	<i>Rosmarinus officinalis</i> (Romero)	Hojas	Fumigación /Topica	Benelli, et al., 2012
		Lamiaceae	<i>Lavandula angustifolia</i> (Lavanda)	Hojas	Fumigación /Topica	
		Lamiaceae	<i>Mentha pulegium</i> (Poleo)	NE	Contacto	

Diptera	<i>Drosophila melanogaster</i> (mosca de la fruta)	Lamiaceae	<i>Mentha spicata</i> (Yerbabuena)	NE	Contacto	Franzios, et al., 1997	
Diptera	<i>Drosophila suzukii</i> (Drosófila de alas manchadas)	Lamiaceae	<i>Mentha piperita</i> (Menta)	Flores	Fumigación	Park, et al., 2016	
		Lamiaceae	<i>Perilla frutescens</i> (perilla)	Hojas	Fumigación		
Hemiptera	<i>Aphis forbesi</i> (Áfido de la fresa)	Fabaceae	<i>Tephrosia vogelii</i>	Flores	Asperjado	Bravim dos Santos, et al., 2021	
Hemiptera	<i>Bemisia tabaci</i> (Mosca blanca)	Amaryllidaceae	<i>Allium sativum</i>	NE	Fumigación /contacto	Kim, et al., 2011	
		Lamiaceae	<i>Micromeria fruticosa</i> (Ajedrea blanca)	Parte aérea	Fumigación	Calmaşur, et al., 2006	
		Lamiaceae	<i>Nepeta racemose</i> (Hierba gatera)	Parte aérea	Fumigación		
		Lamiaceae	<i>Origanum vulgare</i> (Orégano)	Parte aérea	Fumigación		
		Lamiaceae	<i>Thymus vulgaris</i> (Tomillo)	Hojas	Contacto	Yang, et al., 2010	
		Rutaceae	<i>Citrus aurantium</i> (Naranja amargo)	Cáscara	Fumigación	Zarrad, et al., 2015	
Hemiptera	<i>Hyadaphis foeniculi</i> (Pulgón)	Lamiaceae	<i>Hyptis suaveolens</i> (Planta de Chan)	NE	Tópica	Abramson, et al., 2006	
Hemiptera	<i>Myzus persicae</i> (Pulgón del melocotonero)	Apiaceae	<i>Cuminum cyminum</i> (Comino)	Esquizocarpo	Asperjado en hospedero	Benelli, et al., 2018	
		Asteraceae	<i>Santolina chamaecyparissus</i> (Abrótano hembra)	Parte aérea	Asperjado	Czerniewicz, et al., 2018	
		Asteraceae	<i>Achillea millefolium</i> (Milenrama)	Parte aérea	Asperjado		
		Cannabaceae	<i>Cannabis sativa</i> (Marihuana)	Flores	Asperjado en hospedero	Benelli, et al., 2018-2	
					Parte aérea	Fumigación	Kimbaris, 2010;
		Lamiaceae	<i>Mentha pulegium</i> (Poleo)	Parte aérea	Asperjado		
		Lamiaceae	<i>Origanum majorana</i> (Mejorana)	Parte aérea	Asperjado	Petraakis, et al., 2014	
		Lamiaceae	<i>Melissa officinalis</i> (Toronjil)	Parte aérea	Asperjado		
Hemiptera	<i>Rhoplasiphum maidis</i> (Pulgón del cogollo)	Myrtaceae	<i>Syzygium aromaticum</i> (Clavo)	Flores	Fumigación	Toledo, et al., 2020	

Hemiptera	<i>Trialeurodes vaporariorum</i> (Mosca blanca de invernadero)	Asteraceae	<i>Eupatorium buniifolium</i> (Chilca negra)	NE	Asperjado en hospedero	Umpiérrez, et al., 2017
		Atherospermataceae	<i>Laurelia sempervirens</i> (Laurel chileno)	Hojas	Fumigación	Zapata, et al., 2016
Hymenoptera	<i>Acromyrmex balzani</i> (Hormiga podadora)	Lamiaceae	<i>Eplingiella fruticosa</i>	Hojas	Fumigación	Silva, et al., 2019
		Myrtaceae	<i>Myrcia lundiana</i>	Hojas	Fumigación	Melo, et al., 2021
Lepidoptera	Polilla mediterránea de la harina	Lamiaceae	<i>Origanum onites</i> L. (Orégano)	Hojas	Fumigación	
		Lamiaceae	<i>Satureja thymbra</i> L.	Hojas	Fumigación	Ayvaz, et al., 2010
Lepidoptera	Polilla india de la harina	Lamiaceae	<i>Origanum onites</i> L. (Orégano)	Hojas	Fumigación	
		Lamiaceae	<i>Satureja thymbra</i> L.	Hojas	Fumigación	
Lepidoptera	<i>Spodoptera littoralis</i> (Rosquilla verde y negra)	Lamiaceae	<i>Thymus algeriensis</i> (Tomillo)	Parte aérea	Fumigación	Ali, et al., 2015
		Apiaceae	<i>Pimpinella anisum</i> (Anís)	Esquizocarpo	Tópica	Benelli, et al., 2018
		Apiaceae	<i>Crithmum maritimum</i> (Hinojo marino)	Semillas/ Parte aérea	Tópica	Pavela, et al., 2017
		Euphorbiaceae	<i>Ricinus communis</i> (Ricino)	Comercial, NE	Fumigación	Ali & Ibrahim, 2018
		Lamiaceae	<i>Ocimum gratissimum</i> (Albahaca de clavo)	Parte aérea	Tópica	Benelli, et al., 2019
		Amaryllidaceae	<i>Allium cepa</i> (Cebolla)	Hojas	Tópica	
Orthoptera	<i>Schistocerca gregaria</i> (Langosta voladora)	Apiaceae	<i>Petroselinum sativum</i> (Perejil)	Semillas	Tópica	Mansour, et al., 2015
		Geraniaceae	<i>Pelargonium radula</i> (Geranio)	Planta completa	Tópica	
		Amaryllidaceae	<i>Allium sativum</i> (Ajo)	Comercial, NE	Asperjado	Abdelatti & Hartbauer, 2020

AE = Aceite esencial NE=No especificado

5.2.2 Mecanismo de acción de los aceites esenciales como insecticidas

A la fecha, el mecanismo de acción biocida de los aceites esenciales y sus componentes no ha sido confirmado, sin embargo, su rápido efecto sobre los insectos, así como los patrones de conducta observados en los individuos expuestos, apuntan a un efecto neurotóxico ([Enan, 2001](#)). Además, los reportes de efectos sinérgicos y antagónicos en sistemas binarios o múltiples de aceites esenciales, así las divergencias en las actividades biológicas exhibidas por un aceite esencial y sus componentes individuales, apuntan a la existencia de diferentes mecanismos de acción insecticida. Existen tres principales mecanismos de acción insecticida propuestos para los aceites esenciales: inhibición de la enzima acetilcolinesterasa, modificaciones de los receptores del ácido γ -aminobutírico (GABA, por sus siglas en inglés), y activación de los receptores octopaminérgicos.

a) Inhibición de la enzima acetilcolinesterasa (AChE)

La acetilcolinesterasa es una enzima neuronal, esencial en las sinapsis colinérgicas y en la unión neuromuscular y neuro-glandular en vertebrados e invertebrados ([Jankowska, et al., 2017](#); [Fishel, 2018](#); [Kim & Lee, 2018](#)).

Diversos estudios han determinado el potencial inhibidor de AChE por parte de aceites esenciales, incluidos los producidos por *Salvia officinalis* ([Castillo-](#)

[Morales, et al., 2019](#); [Euch, et al., 2019](#)), *Salvia lavanduleifolia* ([Perry, et al., 2002](#)) y *Rosmarinus officinalis* ([Kiran & Prakash, 2015](#)).

b) Modificación de los receptores GABA

El aminoácido GABA actúa como neurotransmisor en invertebradas. A la fecha, existen múltiples estudios que demuestran la actividad de compuestos monoterpénicos en los canales GABAérgicos de cloro, que son los principales objetivos moleculares de los insecticidas comerciales.

Algunos monoterpenos con actividad reportada son timol, carvacrol, pulegona, linalool, 1,8-cineol, citronelal, α -pineno, limoneno, eugenol, y β -cariofileo ([Lummis & Sattelle, 1985](#); [Robinson, et al., 1986](#); [Priestley, et al., 2003](#); [Abdelgaleil, et al., 2019](#); [Gashout, et al., 2020](#); [Li, et al., 2020](#); [Toledo, et al., 2020](#)).

c) Interferencia con receptores octopaminérgicos

La octopamina es una amina biogénica que, en invertebrados funge como neurotransmisor, neuromodulador, neurohormona, transmisor neuromuscular, y desarrolla un papel importante en la regulación de los procesos biológicos y fisiológicos, incluida la regulación cardíaca, locomoción, reproducción, y memoria ([Enan, 2001](#); [Atwood & Klose, 2009](#); [Hana & Lange, 2017](#)).

Existen múltiples reportes que atribuyen la actividad pesticida de los aceites esenciales y sus componentes a una posible activación competitiva de los receptores octopaminérgicos ([Kostyukovsky, et al., 2002](#); [Prince & Berry, 2006](#); [Jankowska, et al., 2019](#)). Esta interferencia también se ha sido relacionado a efectos subletales que los aceites esenciales han demostrado sobre plagas, tales como esterilidad reproductiva y modificaciones a las conductas alimentarias ([Hana & Lange 2017](#); [Neckameyer & Leal, 2017](#); [Mizunami & Nishino, 2013](#)).

5.2.3 Actividad repelente y efectos subletales

Un grupo amplio de actividades biológicas que posee una gran importancia en el control y manejo de plagas son los efectos subletales, es decir, aquellas modificaciones a la conducta de los invertebrados que impacta su capacidad de supervivencia, como lo son la locomoción, alimentación, y reproducción.

Las propiedades repelentes de los aceites esenciales han sido explotadas frente a plagas domesticas desde hace muchos años, como el ampliamente utilizado aceite de citronela como repelente de mosquitos. No obstante, los aceites esenciales han demostrado, también, potencial como repelentes frente a plagas agrícolas de gran importancia, como la mosca blanca *B. tabaci*, el picudo del arroz *Sitophilus oryzae*, entre

múltiples otras ([Liu, et al., 2006](#); [Costa, et al., 2017](#); [Hussein, et al., 2017](#); [Chiluwal, et al., 2017](#); [Taban, et al., 2017](#); [Reyes, et al., 2019](#)). Asimismo, en un estudio realizado por [Tak e Isman \(2017\)](#), se evaluó el efecto de 20 monoterpenoides frente al ácaro *T. urticae*, plaga cosmopolita, responsable de grandes pérdidas anuales de cultivo.

5.3 Nanosistemas de aceites esenciales

Pese a la efectividad que demuestran los aceites esenciales, su uso ha sido sumamente limitada debido al carácter volátil, oxidable, y termolábil de los componentes de estas mezclas aromáticas. En los últimos años se ha hecho uso de la nanotecnología para proponer sistemas de nanocápsulas que puedan proveer a los aceites esenciales de protección frente a las condiciones ambientales y paralelamente favorecer su liberación paulatina, extendiendo su actividad biológica ([Tabla 2](#)).

Existe una amplia gama de matrices disponibles para el encapsulado de productos naturales, con una diversa variedad de propiedades fisicoquímicas para adaptarse a los requerimientos específicos, desde polímeros sintéticos hasta alternativas biodegradables incluidas proteínas (ej. gelatina), carbohidratos (ej. quitosano), gomas (ej. goma acacia) ([Jafari, 2017](#)).

La selección de una matriz para el encapsulado de aceites esenciales debe considerar una serie de parámetros, principalmente la composición del aceite esencial pues de ella depende la interacción que se mantendrá con el material encapsulante; además es importante definir los rangos de liberación deseados, detonadores de liberación, como temperatura o pH. Por último, es importante consultar las legislaciones pertinentes al área de aplicación para corroborar si los materiales seleccionados son permitidos. La matriz adecuada puede proveer a los aceites esenciales de la protección y retención necesarias para exacerbar su actividad biológica, como ha sido reportado por diversos autores ([Tabla 2](#)).

[Tabla 2](#). Matrices para encapsulado de aceites esenciales.

Material	Aceite esencial	Método	Tamaño de partícula	Observaciones	Referencias
Biopolímeros					
Quitosano	<i>Satureja hortensis</i>	Gelación iónica	192 nm	Liberación paulatina Bioactividad prolongada	Ahmadi, et al., 2018
	<i>Coriandrum sativum</i>	Gelación iónica	50-80nm	Liberación paulatina Bioactividad mejorada	Das, et al., 2019
	<i>Eugenia caryophyllata</i>	Gelación iónica	40-100 nm	Liberación paulatina Bioactividad mejorada	Hasheminejad, et al., 2019
	<i>Mentha piperita</i>	Gelación iónica	≤563.3 nm	Actividad fumigante e IChE mejorada	Rajkumar, et al., 2020
	<i>Piper nigrum</i>	Gelación iónica	Prom. 527.5 nm	Actividad insecticida e IChE mejorada	Rajkumar, et al., 2020-2
	<i>Eryngium campestre</i>	Gelación iónica	Prom. 157.8 nm	Bioactividad mejorada	Arabpoor, et al., 2021
	Aceite de tomillo	Complejación (amasado)		582.9 nm	

β - ciclodextrina	comercial (<i>Thymus</i> spp.)	Complejación (liofilización)	3226.7 nm	Aumento de actividad antimicrobiana	
β - ciclodextrina	<i>Piper nigrum</i>	Complejación	-	Mayor estabilidad Actividad antioxidante incrementada	Rakmai, et al., 2016
Gelatina- goma Persa, goma Persa, goma Arabiga,	<i>Satureja</i> <i>hortensis</i>	Coacervación compleja	81-208 nm	Actividad herbicida incrementada	Taban, et al., 2020
Maltodextrin a-goma Arabiga	<i>Schinus</i> <i>molle</i>	Secado por atomización	0.2- 40 μ m	Liberación paulatina, Actividad insecticida prolongada	López, et al., 2014
Alginato de sodio (entrelazante CaCl ₂)	<i>Satureja</i> <i>hortensis</i>	Gelación iónica	47 – 117 μ m	Bioactividad aumentada	Hosseini, et al., 2013
Emulsiones					
o/w/o Aceite de girasol Lecitina de soya como surfactante	Mezcla de terpenos	Homogenización a alta presión	75 – 175 nm	Incremento de bioactividad	Donsi, et al., 2012
Nanoacarreadores					
SiO ₂	<i>Crithmum</i> <i>maritimum</i>	Carga a cápsula hueca	20- 78 nm	Aumento de actividad insecticida	Suresh, et al., 2020

Prom.= Tamaño promedio IChE= Inhibición de acetilcolinesterasa

5.3.1 Técnicas empleadas en la elaboración de nano y micro sistemas de aceites esenciales

De entre las técnicas reportadas para la generación de micro y nanosistemas de aceites esenciales, para la generación de aceites esenciales, resaltan la emulsificación, gelación iónica y coacervación compleja.

a) Emulsificación

Las micro y nanoemulsiones son ampliamente empleadas para promover la solubilidad en agua de los aceites esenciales ([Zhang, et al., 2020](#)). La generación de estos sistemas estables puede realizarse por una variedad de métodos como la homogenización a alta presión, que es un método mecánico de alta energía ([Li, et al., 2018](#)), la microfluidización, donde una solución burda se hace pasar a través de microcanales que reducen el tamaño de partícula ([Bai, et al., 2016](#)), y el método de inversión de fase, referente al fenómeno de reversión de fase o/w (aceite/agua) a w/o (agua/aceite) ocurrida por variaciones de temperatura ([Preziosi, et al., 2013](#)).

Las nanoemulsiones son generalmente empleadas en la industria alimenticia, como conservadores de alimentos ([Xiong, et al., 2020](#)), o bien, como precursores de otros tipos de nanosistemas como nanogeles o nanocápsulas.

b) Gelación iónica

La gelación iónica se basa en las interacciones iónicas entre polímeros cargados de manera opuesta, por lo general un polímero catiónico, usualmente quitosano o alginatos, y una molécula entrelazante aniónica, como tripolifosfato (TPP) o cloruro de calcio ([Fan, et al., 2012](#); [Pant & Singh Negi, 2018](#)).

c) Coacervación compleja

De manera semejante a la gelación iónica, la coacervación compleja se basa en interacciones electrostáticas entre polímeros de cargas opuestas, usualmente una proteína y un polisacárido ([Zhang, et al., 2012](#)). La coacervación compleja ha exhibido algunas ventajas en su implementación con aceites esenciales: presenta alta eficiencia de encapsulado, bajo requerimiento de material, y compatibilidad con una amplia variedad de materiales como matrices ([Heckert-Bastos, et al., 2020](#)).

Para esta tesis, se optó por la generación nanoemulsiones, ya que ésta técnica es adecuada para la generación sistemas de núcleos lípidos, favoreciendo la solubilidad en agua, además de bajo requerimiento de reactivos, mínima toxicidad, alta estabilidad y bajo requerimiento energético ([Bouchemal, et al., 2004](#); [Jaiswal, et al., 2014](#)).

6. METODOLOGÍA EXPERIMENTAL



6.1 OBTENCIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE LOS ACEITES ESENCIALES

6.1.1 Obtención de aceites esenciales

Recolección del material vegetal

La parte aérea (tallo, hoja, y flores) de especies del género *Salvia* fueron recolectadas en su hábitat natural, ubicado en el municipio de Ensenada, en el estado de Baja California. Las especies seleccionadas para esta tesis fueron *Salvia apiana* ([Fig. 5](#)) y *Salvia clevelandii* ([Fig. 6](#)).

Salvia apiana

- *Fecha y hora de recolección:* 22 de agosto de 2019, 10:30 h
- *Lugar de recolección:* San Antonio de las Minas, Ensenada, B.C.
- *Altura:* 290 msnm
- *Coordenadas:* 31°59'32" N 116°38'7" O



Figura 5. (Izq.) Arbusto de *Salvia apiana*. (Der.) Acercamiento a las hojas de *S. apiana*.

Salvia clevelandii

- *Fecha y hora de recolección:* 22 de agosto de 2019, 13:00 h
- *Lugar de recolección:* San Antonio de las Minas, Ensenada, B.C.
- *Altura:* 330 msnm
- *Coordenadas:* 31°58'9" N 116°37'26" O



Figura 6. (Izq.) Arbusto de *Salvia clevelandii*. (Der.) Acercamiento a la flor de *S. clevelandii*.

Tratamiento del material vegetal

El material vegetal recolectado se trasladó, en bolsas de papel al Laboratorio de Productos Naturales, FCQI, UABC. Las hojas y las flores se separaron de los tallos manualmente, y fueron colocadas sobre una superficie plana, sin exposición a luz solar directa, para su secado a temperatura ambiente por un periodo de dos semanas. Previo a los procedimientos de obtención de aceite, el material seco fue triturado a trozos de aproximadamente 1 cm de largo por 1 cm de ancho con el objetivo de incrementar el área de contacto con el agua.

Obtención de aceites esenciales por hidrodestilación

Para la obtención de aceites esenciales a partir de la parte aérea de las especies vegetales, se llevaron a cabo procedimientos de hidrodestilación por arrastre de vapor. Para el estudio, se pesaron 300 g del material vegetal, los cuales fueron colocados en un matraz con agua destilada en proporción 1L por 100g de material vegetal. La hidrodestilación se llevó a cabo por 3 h, consideradas a partir del momento de ebullición del agua.

El aceite recuperado se separó del agua remanente mediante decantación. Para eliminar cualquier residuo de agua, se realizó un secado con sulfato de sodio anhidro (Na_2SO_4), con el propósito de reducir al máximo la actividad de agua. Una vez eliminada el agua, los aceites esenciales se colocaron en frascos ámbar bajo atmósfera inerte de nitrógeno, sellados con *parafilm* y envueltos en papel aluminio, limitando la exposición a la luz solar y el contacto con el aire. Las muestras fueron almacenadas en dichas condiciones, a 4°C hasta su posterior empleo.

6.1.2 Caracterización de los aceites esenciales

Caracterización de los aceites esenciales por CG-EM

El análisis cromatográfico y caracterización química de los aceites esenciales obtenidos se llevó a cabo en un cromatógrafo de gases acoplado a un espectrómetro de masas (CG-EM) (cromatógrafo de gases Thermo Scientific modelo TRACE 1310 y espectrómetro de masas Thermo Scientific modelo ISQ LT). Una dilución de la muestra en metanol fue inyectada en el equipo, utilizando para el análisis, una columna de 30 m de largo y diámetro interno de 0.25 mm, con grosor de capa de 0.25 μm , empleando helio como gas acarreador. Las condiciones cromatográficas del experimento, se observan en la [Tabla 3](#).

Tabla 3. Condiciones para los experimentos de cromatografía de gases

Parámetro	Condiciones
Temperatura del inyector	280°C
Flujo de helio	1 ml/min
Split	50:1
Temperatura inicial del horno	70°C
Gradiente de temperatura	2, 10, y 50 °C/min
Temperatura final del horno	280°C
Tiempo a la temperatura final	5 min

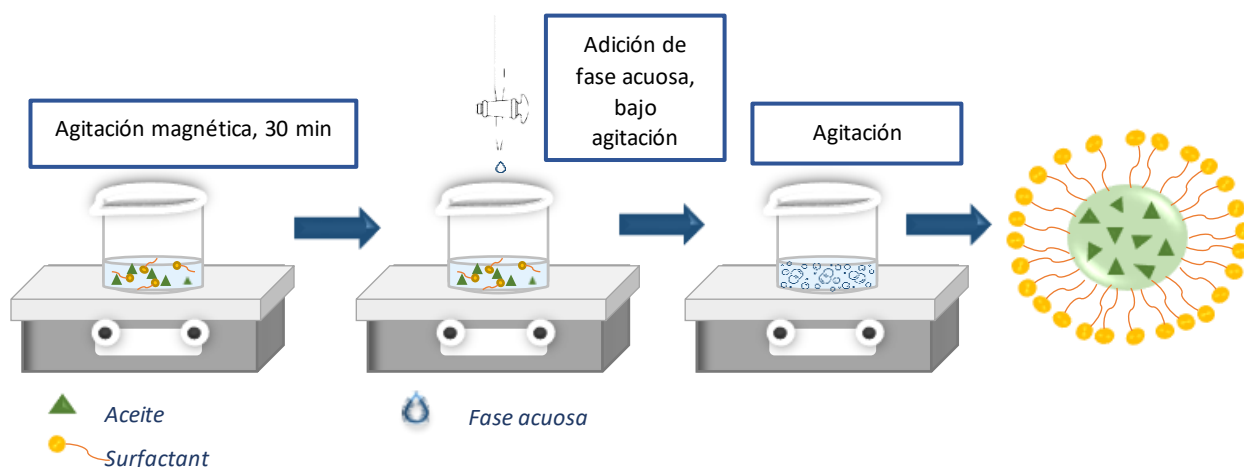
Para la obtención de los espectros de masas, se utilizó la técnica de ionización por impacto electrónico en un espectrómetro de masas de cuádruplo sencillo.

Los componentes presentes en el aceite fueron identificados por comparación con la librería NIST98 del espectrómetro de masas.

6.2 GENERACIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE NANOEMULSIONES

a) Generación de las emulsiones

Para la generación de nano y micro emulsiones de los aceites esenciales, así como del monoterpeno Eucaliptol comercial (1,8-cineol) ($\geq 99\%$, AFC[®] Sigma-Aldrich), se siguieron modificaciones a la metodología propuesta por Ostertag y colaboradores ([Ostertag, et al., 2012](#)) que consiste en la formación de un sistema nanomicelar por un proceso de bajo consumo energético conocido como emulsificación por inversión catastrófica de fase (CPI por sus siglas en inglés) ([Fig. 7](#)), en el cual se parte de una emulsión inestable de agua en aceite (w/o) a la que se adiciona gradualmente la fase acuosa hasta lograr una inversión en las fases, dando como resultado una emulsión aceite en agua (o/w).



[Figura 7](#). Generación de nanoemulsiones por el método de inversión de fase (*Imagen: elaboración propia*)

Inicialmente el surfactante y la fase oleosa se combinaron en agitación magnética por 30 minutos. Posteriormente, se realizó la adición gota a gota de la fase acuosa manteniendo agitación magnética constante. Una vez adicionada, se permitió un periodo de agitación adicional para la formación de la emulsión. La emulsión fue almacenada a temperatura ambiente (25 ± 2 °C) para su posterior caracterización y evaluación de actividad biológica.

b) Determinación de tamaño de partícula e índice de polidispersión (PDI)

La determinación de la distribución de tamaño de partícula para las microcápsulas se realizó mediante el método de dispersión de luz dinámica (*DLS* por sus siglas en inglés), cuyo fundamento es la medición e interpretación de la dispersión de la luz como consecuencia del movimiento browniano de las partículas en suspensión, en un equipo ZetasizerNano, modelo Zs-90, marca Malvern Instrument. Las muestras fueron analizadas 24 h después de su generación, sin dilución ni tratamiento previo.

c) Evaluación de estabilidad

La estabilidad de las emulsiones frente a la separación por efecto de la gravedad, se determinó por dos análisis:

- *Centrifugación.* 15 ml de las formulaciones se centrifugaron a temperatura ambiente, a 3500 rpm por un periodo de 30 minutos, estas condiciones equivalen a 30 días de anaquel ([Lachman & DeLuca, 1976](#)). Se consideraron como estables a aquellas formulaciones que no presentaron separación visible ni cambios en la turbidez tras ser sometidas a centrifugación.

- *Análisis de estabilidad en equipo Turbiscan.* Las formulaciones que resultaron estables en la prueba por centrifugación fueron sometidas a un análisis en el equipo Turbiscan™ Lab Stability Analyzer de Formulacion, que permite un análisis rápido y sensible, sin estrés externo ni efecto mecánico, de los principales mecanismos de desestabilización que pueden presentarse en una formulación de esta naturaleza, como lo son sedimentación, floculación, coalescencia, o formación de nata; de esta manera, se observó el comportamiento de la muestra en condiciones normales. Para esta evaluación, se evaluaron tres parámetros, la intensidad transmitida (T), la intensidad de retrodispersión (BS), y el índice de estabilidad de Turbiscan (TSI) para la recopilación de información sobre los fenómenos de desestabilización que pudieran presentarse en las formulaciones. Los experimentos se realizaron bajo las condiciones estipuladas en la [Tabla 4](#). Para la visualización y procesamiento de resultados, se empleó el software TurbiSoftLab versión 2.3.1.125.

[Tabla 4.](#) Condiciones de experimento para el análisis de estabilidad en Turbiscan™ Lab Stability

Analizer

Condiciones del experimento	
<i>Tiempo</i>	1 h
<i>Intervalos de lecturas</i>	25 s
<i>Escaneos</i>	145
<i>Temperatura</i>	Ambiente

6.3 EVALUACIÓN DE ACTIVIDADES BIOLÓGICAS

6.3.1 Determinación de la actividad fitotóxica

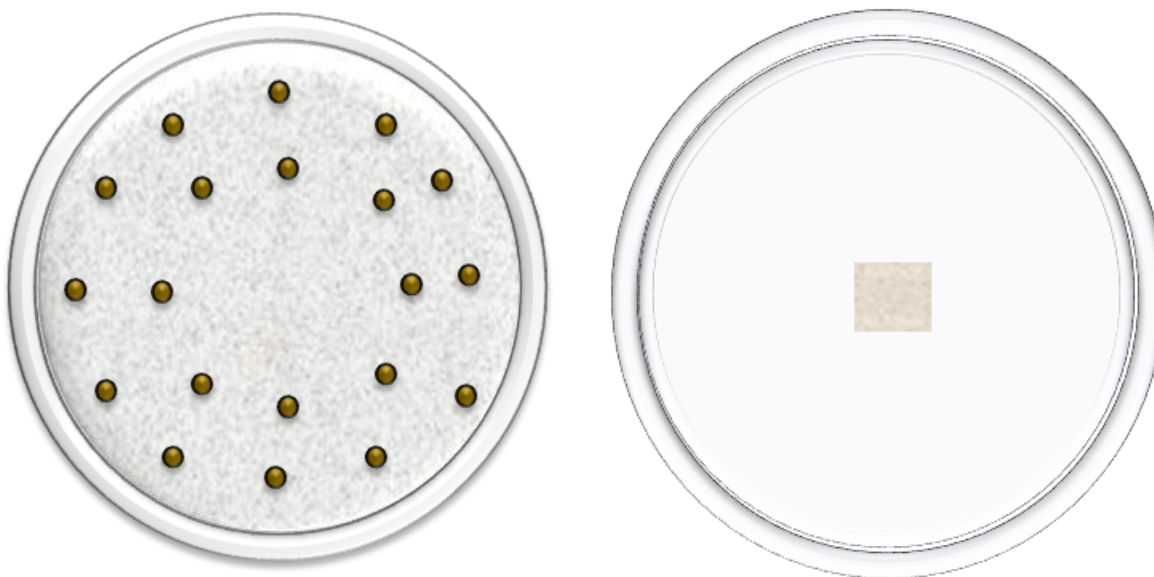
La determinación de la fitotoxicidad de los aceites esenciales y el monoterpeno eucaliptol como fumigantes, se realizó mediante un ensayo de alelopatía utilizando como modelo semillas de quinoa (*Chenopodium quinoa*). Para medir el efecto fitotóxico de los aceites se evaluaron diversos parámetros: inhibición de la germinación, elongación radicular, y vigor de la semilla.

Para el experimento, se utilizaron almohadillas redondas de algodón de 7 cm que fueron humedecidas con 8 ml de agua destilada y colocadas sobre la base de cajas Petri de 9 cm. Posteriormente, se colocaron 20 semillas de quinoa previamente sanitizadas superficialmente por inmersión en etanol.

Un primer ensayo, tipo ventana biológica, se llevó a cabo evaluando los aceites esenciales a concentraciones de 7, 10, 100, y 1000 ppm para determinar el rango de efectividad de estos sobre la germinación de las semillas y elongación de la radícula. Partiendo de los resultados obtenidos, se procedió a evaluar a concentraciones en el intervalo de 10 a 150 ppm, en función del desempeño de cada muestra, para ello se

impregnaron cuadros de 1 x 1 cm de papel filtro Whatman™ no. 2, con volúmenes definidos de los aceites esenciales, los cuales fueron calculados en función del volumen de aire contenido en la caja Petri. El papel filtro impregnado se colocó sobre las tapas de la caja Petri, evitando contacto directo con las semillas, y permitiendo que los componentes volátiles de los aceites esenciales se difundieran en el aire generando un efecto fumigante ([Fig. 8](#)).

Las cajas fueron selladas con *parafilm* y colocadas por 7 días en una superficie plana con exposición a la luz y temperaturas naturales, para permitir el fotoperiodo natural 16/8 y las variaciones térmicas de día y noche.



[Figura 8](#). Ilustración de distribución de semillas y aceite en las cajas Petri. (Izq.) Base de la caja, conteniendo la almohadilla de algodón y las semillas. (Der.) Tapa de la caja con papel filtro impregnado de muestra. (*Imagen: elaboración propia*)

La germinación de las semillas se evaluó diariamente y la elongación radicular fue medida transcurridos los 10 días. Los cálculos de porcentaje de germinación, porcentaje de inhibición de germinación, e índice de vigor se realizaron utilizando las siguientes fórmulas:

$$\text{Germinación (\%)} = \frac{\text{Semillas germinadas}}{\text{Total de semillas evaluadas}} \times 100$$

$$\text{Inhibición de germinación (\%)} = \frac{\% \text{ germinación en el control} - \% \text{ germinación en el tratamiento}}{\% \text{ germinación en el control}} \times 100$$

$$\text{Índice de vigor se la semilla} = \frac{(\text{Longitud de la radícula*}) (\% \text{ de germinación})}{100}$$

**Longitud de la radícula, en cm*

Cada ensayo se llevó a cabo por triplicado, utilizando agua destilada como control negativo, para los aceites esenciales libres, y una mezcla de agua con surfactante en la proporción correspondiente a cada nanoemulsión para la evaluación de los aceites encapsulado.

6.3.2 Determinación de la actividad acaricida

Para la determinación de la actividad acaricida por parte de los aceites esenciales y eucaliptol, se empleó una adaptación de la técnica de “Inmersión de círculos de hoja” reportada por Elbert ([Elbert, et al., 1996](#)) que permitiera la evaluación de las muestras volátiles a modo de fumigantes.

Como modelo biológico, se utilizó el ácaro *Tetranychus urticae*, conocido como araña roja, recolectado de cultivos de tomate de un huerto urbano de la ciudad de Tijuana, y reproducido en plantas de frijol (*Phaseolus vulgaris*) a temperaturas de 26 ± 2 °C y $70 \pm 5\%$ H. R., con un fotoperiodo natural 16:8 h (L:O) en el laboratorio de Química de Productos Naturales de la facultad.

En la base de cajas Petri de 4 cm, se colocaron discos del mismo tamaño de papel secante humedecido con agua destilada, sobre ellos, se colocaron discos de hojas de frijol limpias y secas con el envés de la hoja hacia arriba. Sobre las hojas, fueron colocados 20 ácaros hembra adultas (3 a 5 días) con la ayuda de un pincel delgado. Las cajas fueron cubiertas con un disco de papel filtro para evitar que los ácaros salieran de ellas. Las cajas de 4 cm fueron, a su vez, depositadas dentro de cajas Petri de 9 cm, dentro de las cuales se colocaron cuadros de 1 cm^2 de papel filtro impregnado de las muestras a las concentraciones determinadas ([Fig. 9](#)). Como control negativo, se utilizó agua destilada en los ensayos con los aceites libres, y una mezcla de agua con

surfactante para los ensayos con las nanoemulsiones. Las cajas de 9 cm se dejaron sin sellar para permitir la volatilización de los compuestos volátiles en condiciones no controladas. Como control positivo en esta tesis comparativa, se realizaron ensayos con los aceites en cajas selladas con cinta aislante, para evaluar su toxicidad en un ambiente de baja volatilización.

El tratamiento se realizó a temperatura de 25 ± 2 °C por en fotoperiodo 16/8 por 24 horas ([Badawy, et al., 2010](#)). Transcurrido el periodo de incubación, se llevó a cabo un conteo de los ácaros muertos bajo microscopio estereoscopio para determinar el porcentaje de mortalidad, considerando como muertos a aquellos ácaros que no presentaron respuesta a estimulación mecánica. Para cada tratamiento, se llevaron a cabo tres experimentos independientes, por triplicado.

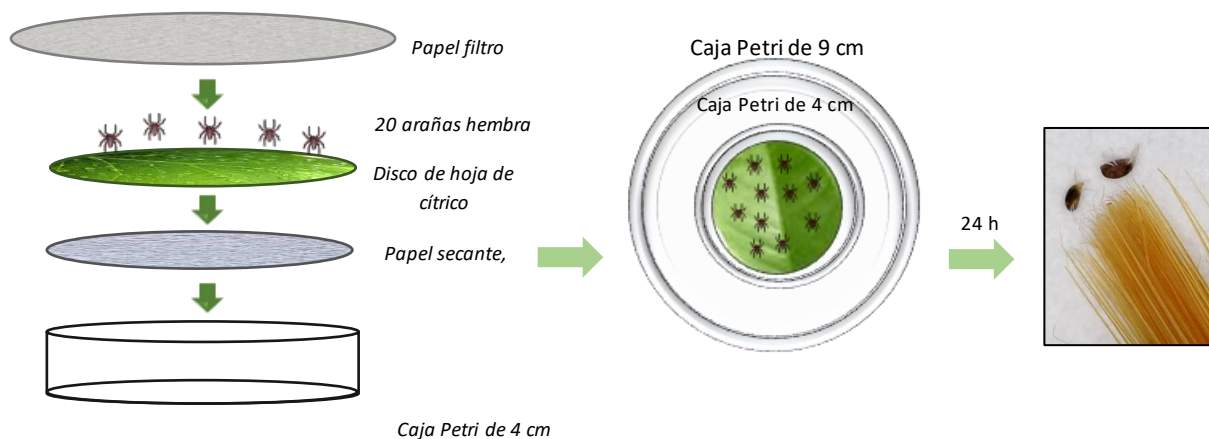


Figura 9. Disposición del ensayo acaricida por fumigación. Un total de 180 individuos fueron evaluados para cada concentración. (Imagen: elaboración propia).

Para el cálculo de mortalidad corregida, se utilizó la fórmula de Abbott, y la concentración letal media (CL₅₀) fue determinada por medio de un análisis estadístico PROBIT.

6.3.3 Determinación de la actividad aficida

Siguiendo las adaptaciones llevadas a cabo para la evaluación acaricida, se determinó la capacidad biocida de las muestras frente a áfidos fitófagos. Como modelo, se seleccionó el áfido *Rhopalosiphum maidis*, conocido como pulgón de maíz, o pulgón de la espiga, responsable de disminución de la calidad y pérdidas en cultivos de maíz. La reproducción del áfido se llevo a cabo en plantas de maíz (*Zea mays* L.), en el Laboratorio de Productos Naturales, de la Facultad de Ciencias Químicas e ingeniería, en condiciones de $26 \pm 2^\circ$ C y $70 \pm 5\%$ H. R., con un fotoperiodo natural 16:8 h (L:O). Los áfidos no fueron previamente expuestos a ningún pesticida.

En ensayo se dispuso en la misma forma que el ensayo acaricida en la sección [6.3.2](#) con algunas modificaciones ([Fig. 10](#)). Se colocaron 20 pulgones hembra adultas (3 a 6 días), sin alas, sobre cuadros de hoja de maíz de 3 x 3 cm. Se permitió la exposición de los áfidos a los tratamientos por un periodo de 48 h, a $26 \pm 2^\circ$ C con fotoperiodo natural 16/8 h

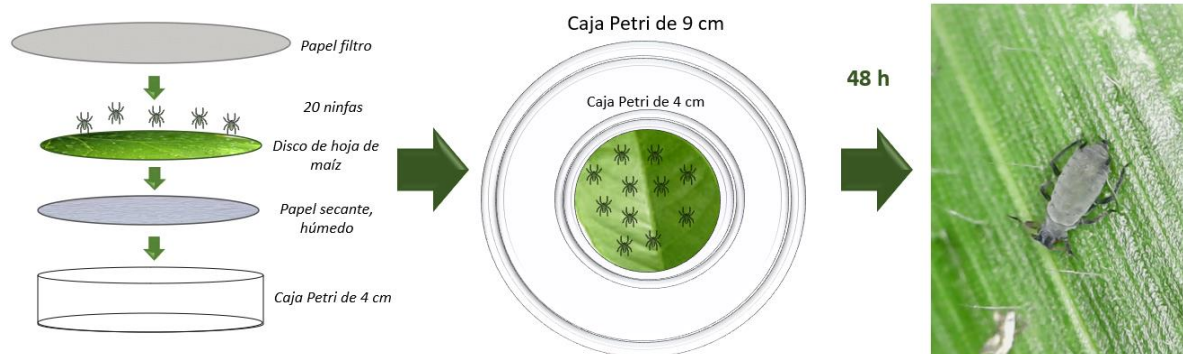


Figura 10. Ensayo de actividad aficida por fumigación, sobre *R. maidis*. (Imagen: elaboración propia)

Para cada una de las muestras evaluadas, se realizaron tres experimentos independientes por triplicado. Los áfidos se consideraron muertos si, al ser estimulados en el abdomen con un pincel, no exhibí movimiento en sus extremidades, y fueron contabilizados con ayuda de un microscopio estereoscopio, tras 48 h de exposición ([Zhou. et al., 2010](#)). Como control negativo, se utilizó agua destilada en los ensayos con los aceites libres, y una mezcla de agua con surfactante para los ensayos con las nanoemulsiones. Las cajas de 9 cm se dejaron sin sellar para permitir la volatilización de los compuestos volátiles en condiciones no controladas. Como control positivo en esta tesis comparativa, se realizaron ensayos con los aceites en cajas selladas con cinta aislante, para evaluar su toxicidad en un ambiente de baja volatilización.

Para el cálculo de mortalidad corregida, se utilizó la fórmula de Abbott, y la concentración letal media (CL₅₀) fue determinada por medio de un análisis estadístico PROBIT.

6.3.4 Determinación de la actividad insecticida

La evaluación de la capacidad insecticida se realizó empleando como modelo a *B. tabaci*, conocido como mosca blanca. La reproducción de los insectos se llevo a cabo en hojas de calabaza (*Cucurbita máxima* L.) en el Laboratorio de Productos Naturales de la Facultad de Ciencias Químicas e ingeniería. Las condiciones para la reproducción fueron $26 \pm 2^\circ$ C y $70 \pm 5\%$ H. R. y fueron expuestas o fotoperiodos naturales 16:8 h (L:O). Los insectos no fueron previamente expuestos a ningún pesticida.

Para la evaluación de toxicidad por fumigación de los aceites, se diseñó un experimento similar al descrito en la sección [6.3.2](#) para la evaluación de actividad acaricida. Discos de 8 cm de diámetro de hoja de calabaza fueron colocados en una caja Petri de 9 cm. Entre 20-30 moscas blancas adultas (2 a 4 días) fueron recolectadas con una pipeta transfer modificada, y colocadas sobre la hoja de calabaza. Posteriormente, se cubrieron con tela muselina para evitar que los insectos escaparan, pero permitir la adecuada transferencia de gases ([Belay, et al., 2012](#)). Alícuotas de aceites

esenciales/eucaliptol, fueron colocadas en una pieza de papel filtro y adheridas a la superficie inferior de la tapa de la caja Petri. Para cada experimento se realizaron tres repeticiones. Transcurridas 9 h de exposición ([Wagan, et al., 2018](#)), se realizó el conteo de moscas muertas bajo microscopio estereoscopio; las moscas se consideraron muertas si sus extremidades no presentaron movimiento tras ser estimuladas en el abdomen con un pincel fino.

7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN



7.1 OBTENCIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE LOS ACEITES ESENCIALES

7.1.1 Rendimiento de aceites esenciales de *S. apiana* y *S. clevelandii*

Para la obtención de los aceites esenciales de *S. apiana* y *S. clevelandii*, se partió de 1.1 y 1.5 kg de material vegetal seco, respectivamente. Para *S. apiana*, se obtuvo un rendimiento de 4.86% y con *S. clevelandii* se observó un rendimiento de 2.76%. Estos valores representan la proporción del aceite esencial en relación al peso seco del material vegetal utilizado.

$$\text{Rendimiento de aceites esenciales} = \frac{\text{masa aceite esencial obtenido (g)}}{\text{masa material vegetal de partida (g)}} \times 100$$

Al momento de redacción de este documento tesis, no se encontraron publicaciones científicas previas que indicaran rendimientos de aceites esenciales, obtenidos por hidrodestilación, de estas salvias, sin embargo, los resultados si presentan concordancia con trabajos de tesis previamente desarrollados en nuestro laboratorio, donde se obtuvieron rendimientos de 4.93% y 3.03% para *S. apiana* y *S. clevelandii* *S. clevelandii*, respectivamente ([Cruz Gasca, 2018](#)). Es importante remarcar que el rendimiento y la composición de aceites esenciales, particularmente de plantas

silvestres, puede presentar variaciones significativas de una cosecha a otro, pues la producción de compuestos volátiles se ve directamente afectada por condiciones climáticas y estrés biótico al que la planta es sometida, los cuales afectan el metabolismo vegetal, resultando en variaciones significativas en la cantidad y calidad de los aceites esenciales ([Mehalaine & Chenchouni, 2021](#)).

7.1.2 Composición del aceite esencial de *S. apiana*

En el cromatograma obtenido tras el análisis del aceite esencial de *S. apiana* ([Fig. 11](#)) se observa la presencia de dos compuestos en mayor proporción, alcanfor y eucaliptol, con tiempos de retención de 17.35 y 10.98 minutos, respectivamente, así como canfeno (7.57 min) y α -pineno (6.96 min). Los tiempos de retención obtenidos, coinciden con los observados para los mismos compuestos en trabajos llevados a cabo previamente en este laboratorio ([Cruz Gasca, 2018](#)), los cuales fueron realizados en el mismo equipo y bajo las mismas condiciones de experimento. Los espectros de masa de los compuestos presentes en el AESA, fueron comparados con la base de datos del sistema, NIST 98 para su identificación.

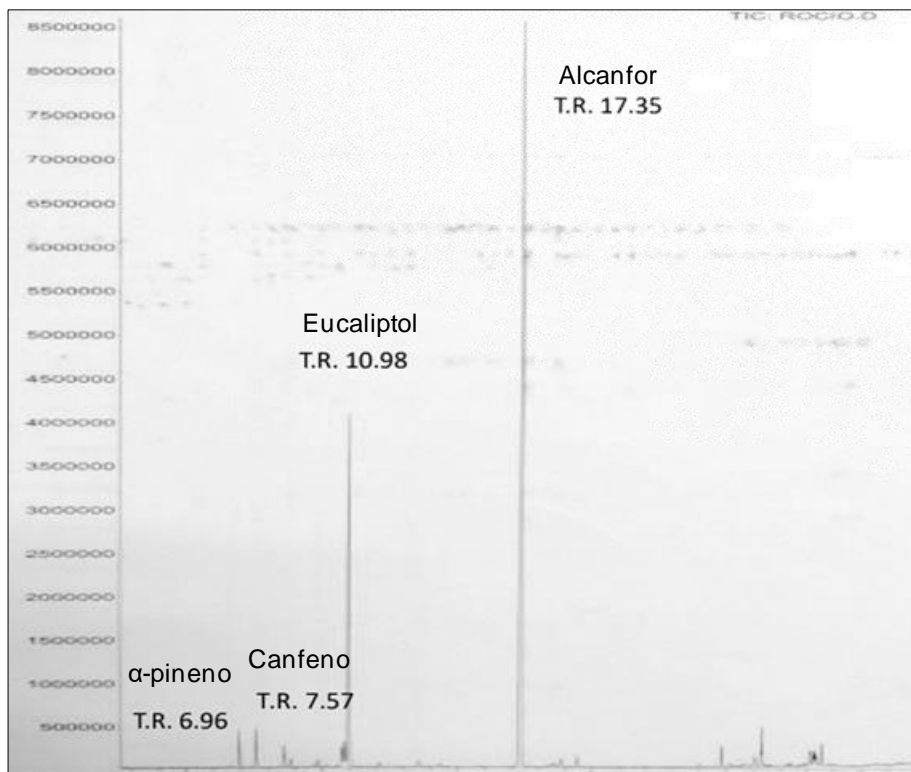


Figura 11. Cromatograma del aceite esencial de *S. apiana*

Los compuestos de mayor abundancia presentes en el aceite esencial de *S. apiana*, se encuentran resumidos en la [Tabla 5](#).

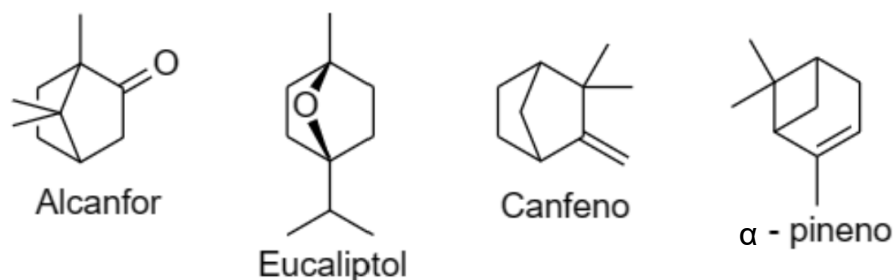
Los monoterpenos oxigenados: alcanfor y eucaliptol ([Fig. 12](#)), representaron un 83.5% de la composición total, con alcanfor presentando una abundancia relativa de 58.29%. Reportes previos mencionan como componente mayoritario del aceite esencial de *S. apiana* al eucaliptol, o 1,8-cineol, el cual representa más del 70% de la composición de los aceites obtenidos ([Borek, et al., 2006](#); [Krol, et al., 2023](#)), incluyendo en análisis realizados previamente en el Laboratorio de Productos Naturales, empleando material vegetal de la misma región. Una de las principales funciones del eucaliptol es disuadir

fitófagos, estas variaciones en las composiciones previamente reportadas con la obtenida en este estudio podrían estar relacionadas una baja exposición a plagas, o bien, la sobreproducción de alcanfor podría explicarse por presencia de hongos fitopatógenos o una alta competencia por recursos con otras plantas, esto en función del papel de este monoterpeno como fungicida y alelopático ([Okamoto, et al., 2011](#)).

[Tabla 5](#). Componentes mayoritarios *S. apiana*

Compuesto	Tipo de compuesto	Tiempo de retención (min)	% Abundancia*
Alcanfor	MO	17.35	58.29
Eucaliptol	MO	10.98	25.22
Canfeno	MH	7.57	2.02
α -pineno	MH	6.96	1.78

MO= monoterpeno oxigenado, MH= monoterpeno.hidrocarbonado *El 12.69% restante corresponde al resto de los componentes presentes en el AESA en menor abundancia: β -felandreno, limoneno, β -pineno, naftaleno, cariofileno, α -terpineol, β -mirceno, α -bisabolol.



[Figura 12](#). Componentes mayoritarios del aceite esencial de *S. apiana*

Los cromatogramas y espectros de masas se encuentran en la sección 11. Anexos.

7.1.3 Composición de *S. clevelandii*

En el cromatograma del aceite esencial de *S. clevelandii* (Fig. 13) muestra la presencia de un compuesto mayoritario con tiempo de retención de 31.2 minutos, este compuesto fue identificado como acetato de 2-feniletilo, por comparación del espectro de masas obtenido con el de la base de datos NIST (ver Anexos) . Nuevamente, los tiempos de retención observados para los componentes del AESC, coinciden con los observados en trabajos previamente realizados en este laboratorio (Cruz Gasca, 2018), bajo las mismas condiciones de experimento y en el mismo equipo. Los espectros de masa de los compuestos presentes en el AESC, fueron comparados con la base de datos del sistema, NIST 98 para su identificación.

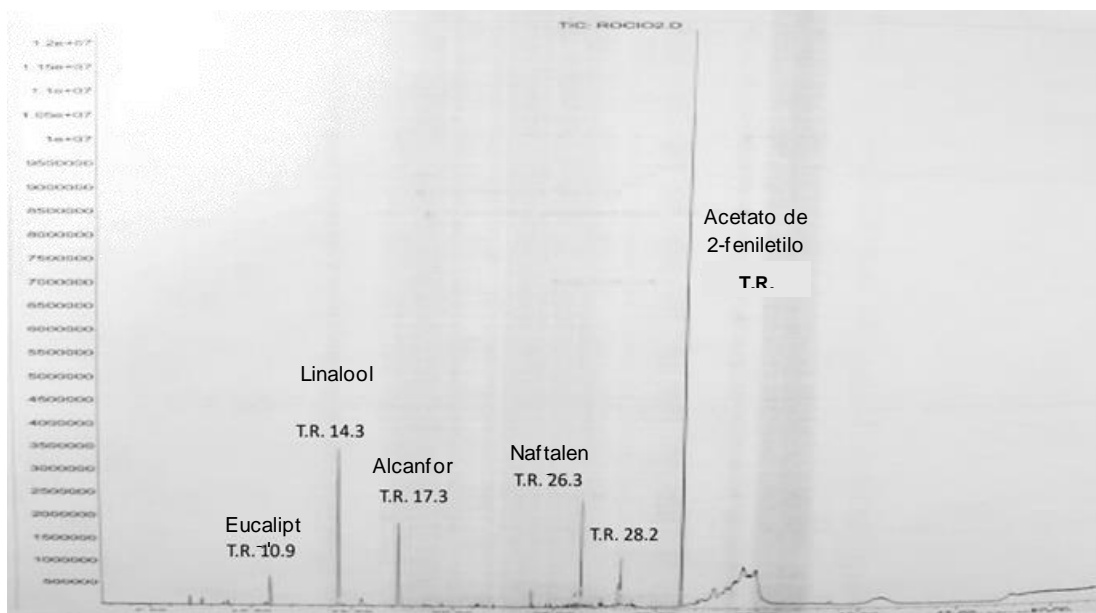


Figura 13. Cromatograma del aceite esencial de *S. clevelandii*.

Los componentes mayoritarios del aceite esencial de *S. clevelandii* se detallan en la [Tabla 6](#). Al momento de la redacción de este documento tesis, no fueron encontradas publicaciones científicas con reportes de la composición del aceite esencial de *S. clevelandii*.

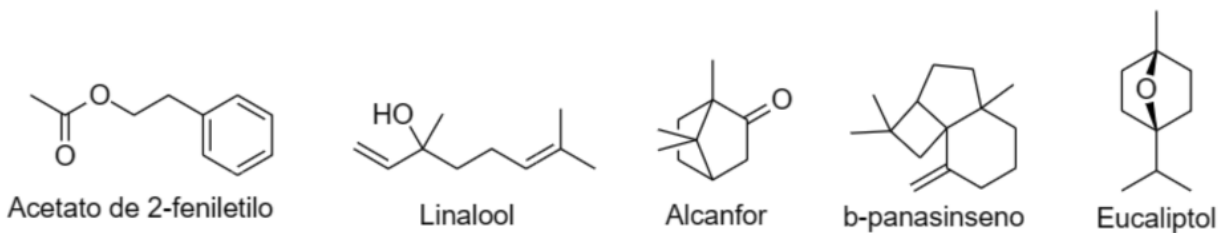
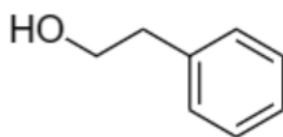
El compuesto de mayor presencia es el acetato de 2-feniletilo ([Fig. 14](#)), con un tiempo de retención de 31.1 minutos, este éster volátil presenta un intenso aroma floral y a miel, que podría ser el responsable de la fragancia característica de *S. clevelandii*. Es un compuesto derivado del 2-feniletanol ([Fig. 15](#)), que también se encuentra presente en este aceite esencial como compuesto minoritario, con una abundancia relativa de 1.8% y un tiempo de retención de 15.4 minutos, y que presenta actividad biocida documentada ([Martínez-Ávila, et al., 2018](#)).

El monoterpeno acíclico linalool, representó el 21% de la composición del aceite esencial de *S. clevelandii*, este alcohol está presente mayoritariamente en el aceite esencial de lavanda y ha sido reportado por sus múltiples actividades biológicas, incluyendo antimicrobiana e insecticida ([Beier, et al., 2014](#); [Souto, et al., 2018](#)).

Tabla 6. Componentes mayoritarios del aceite esencial de *S. clevelandii*

Compuesto	Tipo de compuesto	Tiempo de retención (min)	% Abundancia*
Acetato de 2-feniletilo	Éster volátil	31.24	32.68
Linalool	MO	14.37	21.01
Alcanfor	MO	17.31	12.80
β -panasinseno	SH	26.33	7.47
Eucaliptol	MO	10.97	3.90

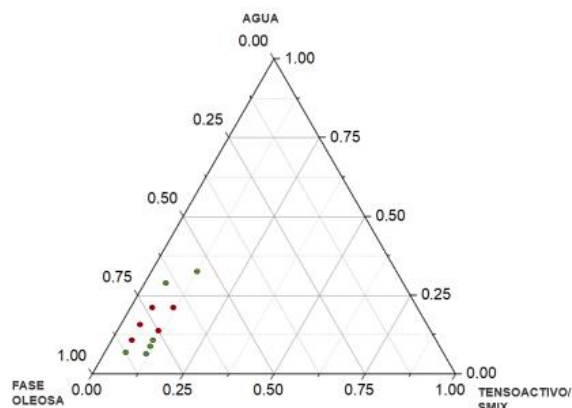
MO= monoterpeno oxigenado, SH= sesquiterpeno hidrocarbonado. *El 12.69% restante corresponde al resto de los componentes presentes en el AESC en menor abundancia: α -cadinol, isoaromadendreno, 2-feniletanol, geraniol, D-germacreno. .

**Figura 14.** Componentes mayoritarios del aceite esencial de *S. clevelandii***Figura 15.** Estructura del 2-feniletanol

7.2 GENERACIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE NANOEMULSIONES

7.2.1 Nanoemulsión de eucaliptol

Inicialmente se elaboró un diagrama pseudoternario ([Fig. 16](#)), con la finalidad de discernir las proporciones entre los tres componentes de la emulsión que favorecen la formación de un sistema homogéneo. Para la generación del diagrama, se generaron emulsiones con atención a las variaciones en la proporción de fase oleosa y surfactante, empleando el método de titulación, en el cual una mezcla compuesta por la fase oleosa y el surfactante es combinada con la fase acuosa gota a gota hasta obtener una mezcla isotrópica, transparente, y con homogeneidad visual ([Schmidts, et al., 2009](#)). Como surfactante, se seleccionó el tensoactivo no-iónico Triton X-100, ya que, en un ensayo preliminar, se observó que la interacción entre Tween 20 y Tween 80 con la fase oleosa interrumpía el punto crítico de inversión de fases.



[Figura 16](#). Diagrama pseudoternario de eucaliptol y AESC. Los puntos rojos corresponden a la región de nanoemulsión, mientras que los verdes a macroemulsiones.

Las formulaciones generadas para la construcción del diagrama, si bien mostraban características adecuadas de homogeneidad y transparencia, no demostraron alta estabilidad frente a la separación por estrés gravitacional, por ende, se procedió a realizar un análisis del efecto de los diferentes parámetros en la estabilidad de las emulsiones. Las condiciones para cada una de las 14 formulaciones generadas a partir del monoterpeno eucaliptol, que serán discutidas en esta sección, se detallan en la [Tabla 7](#). Como punto de partida, se seleccionó la composición fase oleosa:surfactante:fase acuosa, que será referida como o:s:w, 0.5:1:8.5 (NEE1) , pues presentó menor separación de fases tras ser sometida a centrifugación, en comparación con las formulaciones con código alfanumérico NEE2 y NEE3.

Posteriormente se planteó un sistema binario con un tensoactivo de mayor balance hidrofílico-lipofílico (HLB) para favorecer la solubilización de las micelas en la fase acuosa, seleccionándose el Tween 20 en distintas proporciones (NEE4 a NEE8), siendo Triton-x100:Tween 20 en proporción 7:3 la más adecuada para el favorecer un sistema estable. No obstante, se observó una alta heterogeneidad en el tamaño de partícula, por lo que se procedió a realizar ligeras variaciones en el resto de los parámetros para encontrar las condiciones optimizadas para una emulsión uniforme además de estable.

Tabla 7. Condiciones para las formulaciones del monoterpeno eucaliptol

Formulación	Composición (o:s:w)	Surfactante	Sistema binario Triton: Tween20	HLB	Tiempo de agitación	Vel. adición de agua	Estabilidad a T. Ambiente
NEE1	0.5:1:8.5	T X-100	N/A	13.51	1 h	1 ml/ min	NO*
NEE2	0.25:0.5:8.75	T X-100	N/A	13.51	1 h	1 ml/ min	NO
NEE3	1:2:7	T X-100	N/A	13.51	1 h	1 ml/ min	NO
NEE4	0.5:1:8.5	T X-100 : T20	9:1	13.83	1 h	1 ml/ min	NO
NEE5	0.5:1:8.5	T X-100 : T20	8:2	14.15	1 h	1 ml/ min	NO
NEE6	0.5:1:8.5	T X-100 : T20	7:3	14.47	1 h	1 ml/ min	SI
NEE7	0.5:1:8.5	T X-100 : T20	6:4	14.79	1 h	1 ml/ min	SI
NEE8	0.5:1:8.5	T X-100 : T20	5:5	15.10	1 h	1 ml/ min	NO
NEE9	0.5:1:8.5	T X-100 : T20	7:3	14.47	2 h	1 ml/ min	SI
NEE10	0.5:1:8.5	T X-100 : T20	7:3	14.47	24 h	1 ml/ min	SI
NEE11	0.5:1:8.5	T X-100 : T20	7:3	14.47	2 h	0.25 ml/ min	SI
NEE12	0.5:1:8.5	T X-100 : T20	7:3	14.47	2 h	0.5 ml/ min	SI
NEE13	0.5:1:8.5	T X-100 : T20	7:3	14.47	2 h	1.5 ml/ min	SI
NEE14	0.5:1:8.5	T X-100 : T20	7:3	14.47	2 h	4 ml/ min	SI

NME = Nanoemulsión de eucaliptol O:S:W = Aceite:Surfactante:Fase acuosa HLB = Balance hidrofílico-lipofílico *menor separación de componentes tras centrifugación

TX100 = Triton X-100 T20 = Tween 20

Se determinó que una emulsión (NEE13) con composición o:s:w de 0.5:1:8.5, con un sistema binario de tensoactivo Triton x-100:Tween20 7:3, con una velocidad de adición de la fase acuosa de 1.5 ml/min y un posterior periodo de agitación de 2 h, favorecieron una emulsión con características de estabilidad y homogeneidad.

Para todas las formulaciones discutidas, se observaron tamaños de partícula de entre 9.0 y 16.5 nm, sin embargo, a excepción de la emulsión NEE13, todos los sistemas mostraron una alta polidispersión de tamaño.

7.2.1.1 Apariencia visual y tamaño de partícula de nanoemulsión NEE13

La evaluación visual de las nanoemulsiones se llevó a cabo tras 24 de su generación, esto con el propósito de permitir la eliminación de burbujas generadas por el movimiento de agitación. En inspección visual detallada, la nanoemulsión de eucaliptol NEE13 mostró una alta transparencia al ser observada contra una superficie sólida, sin embargo, al incidir luz sobre ella, podía apreciarse una ligera coloración azul ([Fig. 17](#)). La formulación no exhibió separación de fases ni partículas flotantes visibles al ojo.



Figura 17. (Izq.) Formulación NEE13 contra una superficie blanca. La nanoemulsión no mostró separación de fase o perturbación en la inspección visual, y se observaba altamente transparente. (Der.) La luz natural atravesando la emulsión permitía observar una ligera coloración azul.

El tamaño promedio de partícula de la emulsión NEE13 fue 14.73 ± 0.203 nm ([Fig. 18](#)), y un índice de polidispersión (PDI) de 0.178 ± 0.01 , indicando un sistema monodisperso. Si bien los tamaños de partícula en nanoemulsiones usualmente se encuentran en intervalos de 20 a 200 nm ([Ren, et al., 2019](#)), para emulsiones de monoterpenoides generadas mediante el método de inversión de fase, se han reportado partículas de tamaños de 17 y 19 nm ([Miastkowska & Śliwa, 2020](#)) y tan pequeñas como 7 nm al emplear un sonicador ([Badawy et al. 2018](#)).

Si bien, los tamaños de partículas en sistemas destinados a aplicación de agroquímicos, se reportan desde nm hasta algunas micras, para las nanoemulsiones desarrollados en esta tesis, se priorizó la estabilidad del sistema, pues, al tratarse de

aceites volátiles, la separación de los componentes de la emulsión resultaría en la pérdida de los compuestos activos. En estudios previos, se ha observado la relación entre menores tamaños de partícula en nanoemulsiones, así como de un menor índice de polidispersión, y el incremento en la estabilidad y vida de anaquel de las mismas ([Sneha & Kumar, 2022](#); [Shi, et al., 2021](#)), esto debido a que menores tamaños de partícula y menor diversidad de tamaños reducen la presencia de mecanismos de desestabilización como floculación y coalescencia ([Marzuki, et al., 2019](#)), que pueden ocasionar la ruptura de la emulsión por migración de partículas.

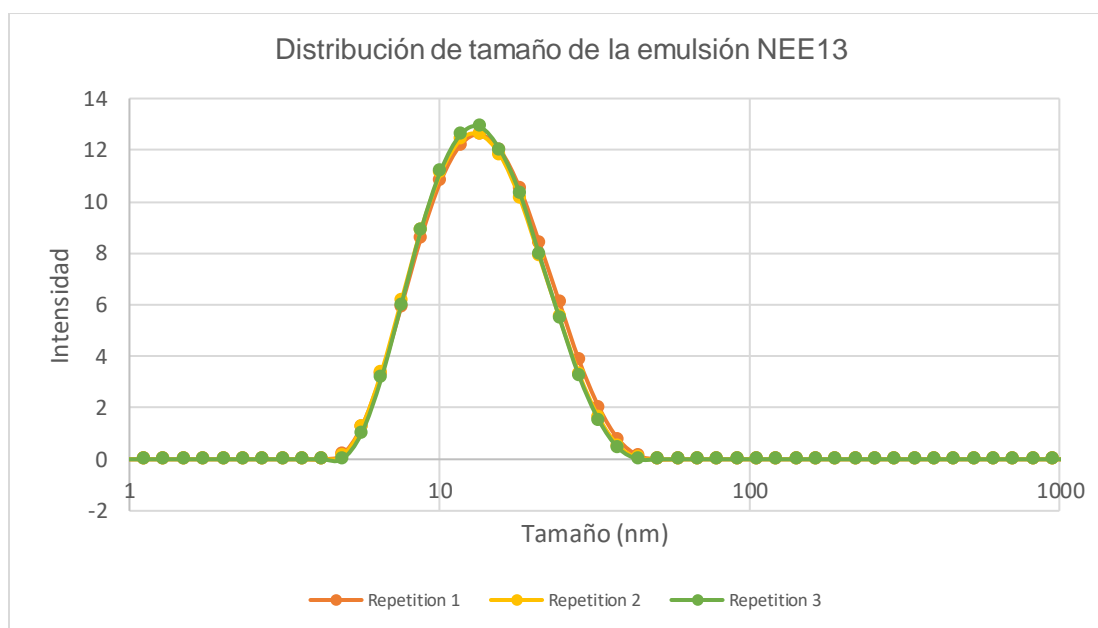


Figura 18. Distribución de tamaño de diámetro de partículas (en nm) por intensidad, de la nanoemulsión NEE13, observaciones por triplicado de uno de tres experimentos independientes.

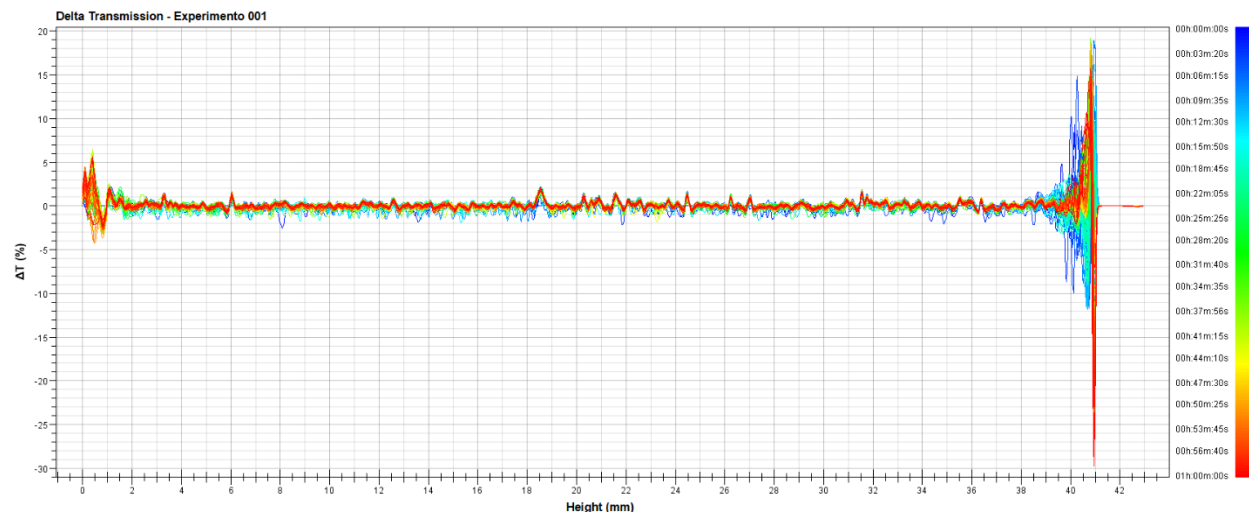
7.2.1.2 Evaluación de la estabilidad de la nanoemulsión NEE13

a) Estabilidad frente a centrifugación

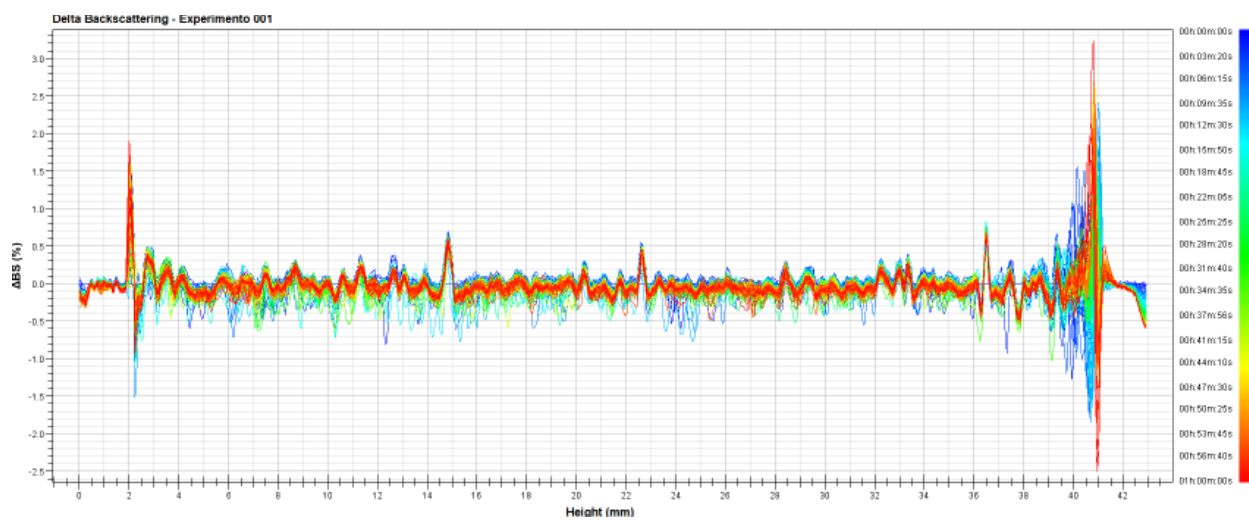
Las formulaciones, NEE13 elaborada por triplicado, almacenadas a temperatura ambiente por 24 h, fueron expuestas a centrifugación para determinar su estabilidad frente a la fuerza gravitacional. La centrifugación puede acelerar los mecanismos de desestabilización que, en condiciones normales, ocurren de manera paulatina. Las nanoemulsiones NEE13 no mostraron signos de separación o modificación en su aspecto, además de no mostrar modificaciones en la distribución de tamaño de partícula tras la centrifugación, por el contrario, las emulsiones previamente evaluadas que demostraron no ser estables, mostraban claros signos de ruptura de la emulsión.

b) Evaluación de la estabilidad en el equipo Turbiscan LAB®

Para estudiar los mecanismos de desestabilización que pueden resultar en una ruptura de la emulsión, la emulsión NEE13 fue analizada en Turbiscan LAB® ([Fig. 19](#)), que proporciona predicciones en tiempo real de los mecanismos más comunes, como lo son formación de nata, floculación, coalescencia, y sedimentación. Las mediciones de estabilidad se basan en la variación en las señales de transmisión y retrodispersión, como resultado de la migración o coalescencia de las partículas.



(A)



(B)



Figura 19. (A) Perfil de delta de transmisión (B) Perfil de delta de retrodispersión de la nanoemulsión NEE13. Los datos se reportan en función de tiempo (1 h) y altura de la muestra (mm).

Todas las muestras evaluadas en Turbiscan fueron analizadas sin dilución o mayor preparación. Los perfiles de deltas de transmisión y retrodispersión durante escaneos por 1 hora ([Fig. 19 A, B](#)) fueron estudiados para determinar posibles patrones de inestabilidad en las formulaciones.

Las señales de transmisión se mostraron uniformes durante la totalidad del análisis, con variaciones de $\pm 0.3\%$, y sin presencia de fenómenos de desestabilización detectables.

La retrodispersión proporciona información sobre la homogeneidad en la distribución de las partículas: un aumento en la retrodispersión en el fondo de la muestra se traduce en migración de partículas desde la parte superior hasta el fondo (sedimentación), mientras que un incremento de la retrodispersión en la parte superior, indica la formación de nata.

La variación en la retrodispersión de la emulsión NEE13 se encontró dentro del intervalo $\pm 1\%$, indicando la ausencia de migración, coalescencia, o floculación en la muestra durante el experimento, además de que no se detectó variación en el tamaño de glóbulos, lo que sugiere que la nanoemulsión es altamente estable ([Celia, et al., 2009](#); [Mancuso, et al., 2021](#)).

Las variaciones en los perfiles de transmisión y retrodispersión observadas en la [Figura 20](#) (A, B) por debajo de los 2.5 mm y por encima de los 39 mm, están relacionados a distorsiones en el fondo del vial de vidrio, y al menisco y aire en la parte superior del recipiente, y no son resultado de procesos de desestabilización.

7.2.2 Nanoemulsión de aceite esencial de *S. apiana*

Para la generación de la nanoemulsión del aceite esencial de *S. apiana*, se seleccionaron, como punto de partida, las mismas condiciones empleadas en la elaboración de la nanoemulsión de eucaliptol, dado su alto contenido de este monoterpeno. Se observó que la nanoemulsión obtenida bajo estas condiciones ([Tabla 8](#)) cumplió con las características deseadas de transparencia, homogeneidad en la distribución de tamaño de partícula, y estabilidad.

[Tabla 8](#). Condiciones para las formulaciones del aceite esencial de *S. apiana*

Formulación	Composición (o:s:w)	Surfactante	Sistema binario Triton: Tween20	HLB	Tiempo de agitación	Vel. adición de agua	Estabilidad a T. Ambiente
NESA1	0.5:1:8.5	T X-100: T20	7:3	14.47	2 h	1.5 ml/ min	SI

NESA = Nanoemulsión de aceite esencial de *S. apiana* O:S:W = Aceite:Surfactante:Fase acuosa

HLB = Balance hidrofílico-lipofílico TX100 = Triton X-100 T20 = Tween 20

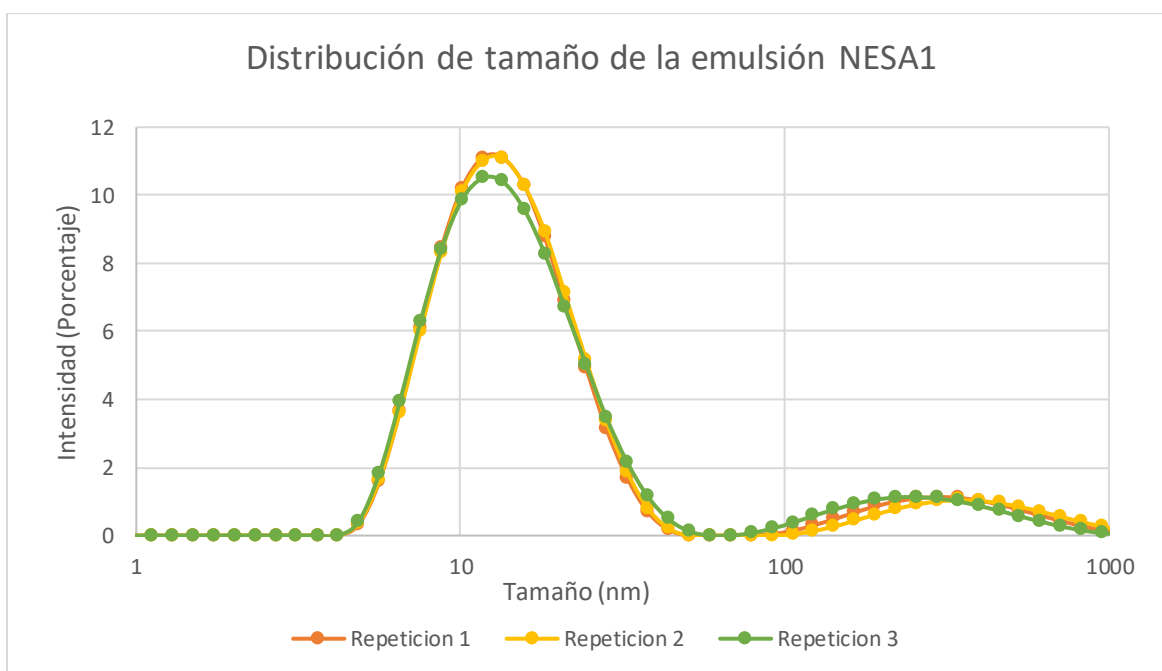
7.2.2.1 Apariencia visual y tamaño de partícula de nanoemulsión

Transcurridas 24 h de la generación de la nanoemulsión NESA1, se realizó una evaluación visual en la que se pudo observar un alto grado de transparencia, así como la ausencia de separación o partículas suspendidas detectables a simple vista ([Fig. 20](#)).



[Figura 20](#). Formulación NESA1 contra una superficie blanca. La nanoemulsión no mostró separación de fase o perturbación en la inspección visual, y se observaba altamente transparente.

El tamaño de partícula de la emulsión NES A1 fue 14.78 ± 0.15 nm ([Fig. 21](#)), y un PDI de 0.271 ± 0.003 , presentando un tamaño de partícula similar al encontrado para la nanoemulsión de eucaliptol NEE13, sin embargo, se observó mayor polidispersión. Esto podría explicarse por la presencia de múltiples componentes en un aceite esencial, que en comparación con un único monoterpeno, presentan distintas interacciones con el tensoactivo, generando ligeras variaciones en los tamaños de micelas. Si bien, el intervalo aceptable de polidispersión, está en función de la naturaleza del sistema y de su aplicación, algunos autores señalan, que para las nanoemulsiones, se puede considerar monodispersión cuando se observan PDI en el intervalo de 0.08 hasta 0.3 ([Danaei, et al., 2018](#); [Choradiya & Patil, 2021](#)).



[Figura 21](#). Distribución de tamaño de la nanoemulsión NES A1, observaciones por triplicado de uno de tres experimentos independientes.

7.2.2.2 Evaluación de la estabilidad de la nanoemulsión NES A1

a) Estabilidad frente a centrifugación

Las formulaciones, NES A1 elaborada por triplicado, almacenadas a temperatura ambiente por 24 h, fueron expuestas a centrifugación para determinar su estabilidad frente a la fuerza gravitacional. La nanoemulsión NES A1 no mostró signos de separación o modificación en su aspecto.

b) Evaluación de la estabilidad en el equipo Turbiscan LAB®

La nanoemulsión NES A1 fue analizada en Turbiscan LAB®, para visualizar la presencia de posibles de mecanismos de desestabilización. Los perfiles de deltas de transmisión y retrodispersión durante escaneos por 1 hora ([Fig. 22 A,B](#)) fueron estudiados para determinar posibles patrones de inestabilidad en las formulaciones.

Las señales de transmisión se mostraron uniformes durante la totalidad del análisis, con variaciones de $\pm 3\%$, y sin presencia de fenómenos de desestabilización detectables ni migración de partículas.

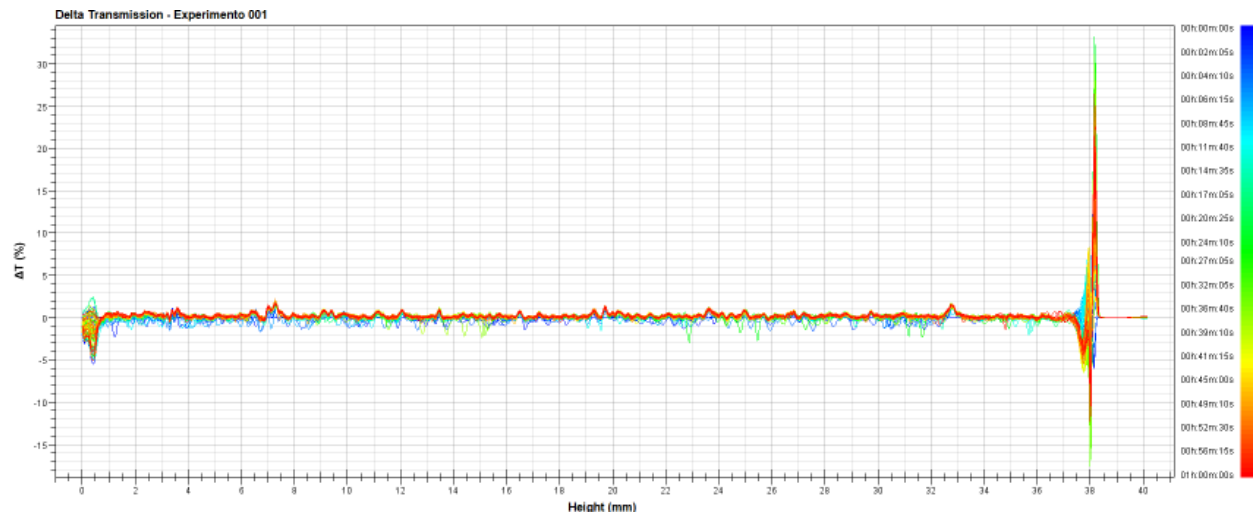
La variación en la retrodispersión de la emulsión NESA1 se encontró dentro del intervalo $\pm 2\%$, indicando la ausencia de migración, coalescencia, o floculación en la muestra durante el experimento, mostrando estabilidad en la formulación.

Las variaciones en los perfiles de transmisión y retrodispersión observadas en la [Figura 22](#) (A, B) por debajo de los 2.5 mm y por encima de los 39 mm, están relacionados a distorsiones en el fondo del vial de vidrio, y al menisco y aire en la parte superior del recipiente, y no son resultado de procesos de desestabilización.

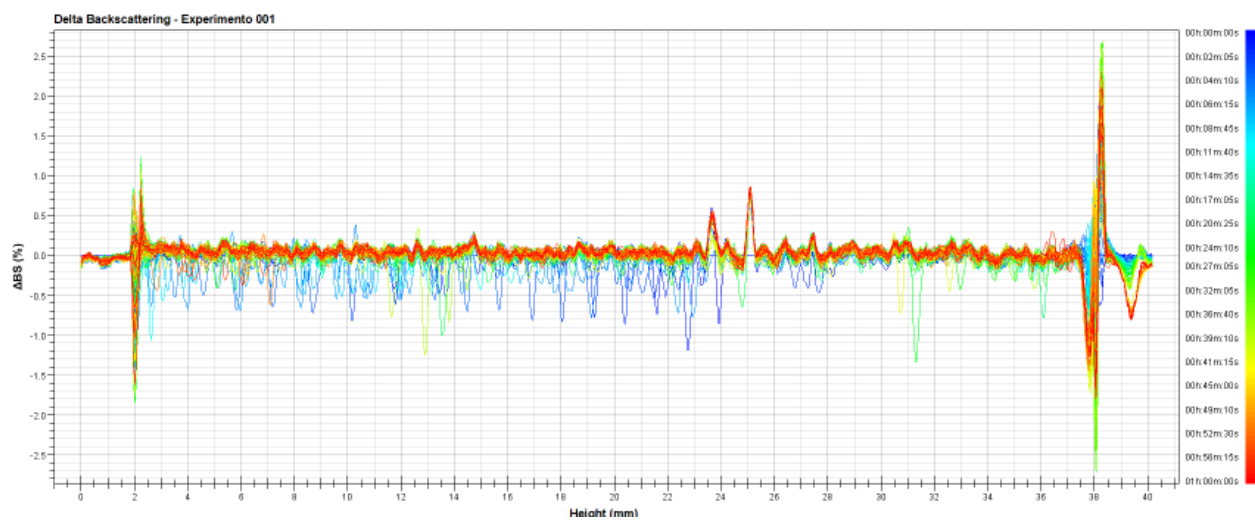
La nanoemulsión de aceite esencial de *S. apiana* (NESA1) mostró similitudes con la formulación de eucaliptol (NEE13), tanto en la caracterización de distribución de tamaño de la partícula, como en el comportamiento de migración en las muestras. Ambas emulsiones mostraron tamaños de partícula de alrededor de 14 nm, y variaciones mínimas en los perfiles de transmisión y retrodispersión.

Cabe destacar que se observó mayor variación en las señales, principalmente en retrodispersión, durante los primeros escaneos (color azul), lo cual podría estar relacionado a movimiento asociado al verter la muestra en el vial empleado para los análisis en el equipo, sin embargo, no es una afirmación concluyente.

(A)



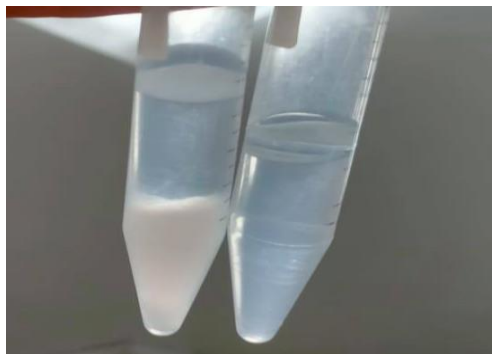
(B)



[Figura 22](#). (A) Perfil de delta de transmisión (B) Perfil de delta de retrodispersión de la nanoemulsión NES1. Los datos se reportan en función de tiempo (1 h) y altura de la muestra (mm).

7.2.3 Nanoemulsión de aceite esencial de *S. clevelandii*

Para la generación de la nanoemulsión del aceite esencial de *S. clevelandii*, inicialmente se emplearon las mismas condiciones que en la elaboración de la nanoemulsión de eucaliptol NEE13, sin embargo, se observó que estas condiciones daban como resultado una macroemulsión inestable ([Fig. 23](#)), por lo que se procedió a realizar un trabajo detallado para encontrar las condiciones optimizadas que dieran lugar a un a nanoemulsión estable, tal como se detalla en la [Tabla 9](#).



[Figura 23](#). Izquierda: Ruptura de la emulsión tras proceso de centrifugado. Derecha: Emulsión estable tras centrifugado, como comparación.

Se determinó que utilizando Tween20, observándose, en consecuencia, un aumento en el HLB , se ocasionaban una interrupción de la agitación en el punto crítico de la generación de la emulsión, ya que la interacción entre la fase oleosa y este tensoactivo daban lugar a un gel espeso que no permitía la continuidad del proceso. Posteriormente se realizaron formulaciones empleando Triton X-100 ([NESC7](#)), con resultados similares, con una formación de emulsión macroscópica.

Tabla 9. Condiciones para las formulaciones del aceite esencial de *S. clevelandii*

Formulación	Composición (o:s:w)	Surfactante	Sistema binario Triton: Tween20	HLB	Tiempo de agitación	Vel. adición de agua	Estabilidad a T. Ambiente
NESC1	0.5:1:8.5	Triton : Tween 20	7:3	14.47	2 h	1.5 ml/ min	NO
NESC2	0.5:1:8.5	Triton : Tween 20	5:5	15.10	2 h	1.5 ml/ min	NO
NESC3	0.5:1:8.5	Tween 20	N/A	16.7	1 h	1.5 ml/ min	NO
NESC4	0.5:1:8.5	Triton : Tween 20	7:3	14.47	1 h	0.75 ml/ min**	NO
NESC5	0.5:0.5:9	Triton : Tween 20	7:3	14.47	1 h	1.5 ml/ min	NO
NESC6	0.5:0.5:9	Triton : Tween 20	7:3	14.47	1 h	0.75 ml/ min**	NO
NESC7	0.5:0.5:9	Triton X-100	N/A	13.51	1 h	0.75 ml/ min**	NO
NESC8	0.5:1:8.5	Tween 80	N/A	15	N/A	1.5 ml/ min	NO
NESC9	0.5:1:8.5	Tween 80	N/A	15	1 h	0.75 ml/ min**	NO
NESC10	0.5:1.5:8	Triton : Tween 80	7:3	13.95	1 h	1.5 ml/ min	NO
NESC11	0.5:1:8.5	Triton : Tween 80	7:3	13.95	2 h	1.5 ml/ min	NO
NESC12	0.5:1:8.5	Triton : Tween 80	5:5	14.25	2 h	1.5 ml/ min	NO
NESC13	0.5:0.5:9	Triton : Tween 80	7:3	13.95	1 h	0.75 ml/ min**	SI
NESC14	0.5:0.5:9	Triton : Tween 80	7:3	13.95	1 h	1.5 ml/ min	SI

NESC = Nanoemulsión de aceite esencial de *S. clevelandii* O:S:W = Aceite:Surfactante:Fase acuosa
HLB = Balance hidrofílico-lipofílico TX100 = Triton X-100 T20 = Tween 20

**Adición con aguja hipodérmica

Al utilizar Tween80 ([NESC8](#)) se observó, nuevamente, una macroemulsión, sin embargo, se pudo apreciar una menor interrupción del agitado en comparación con los sistemas previamente generados.

Para las formulaciones [NESC10](#) a NESC12 se utilizó un sistema binario de surfactante Triton x-100:Tween80 en proporción 7:3, obteniéndose emulsiones con mayor transparencia pero carentes de estabilidad. Por último se propuso utilizar una proporción 1:1 de fase oleosa y tensoactivo, generando una formulación con composición o:s:w de 0.5:0.5:9 ([NESC13](#) y [NESC14](#)), dando como resultado emulsiones con mayor transparencia y logrando las estabilidad de los sistemas, además se observó que la adición de fase acuosa a mayor velocidad ([NESC14](#)) propiciaba una distribución de tamaño más uniforme.

7.2.3.1 Apariencia visual y tamaño de partícula de nanoemulsión

Transcurridas 24 h de la generación de la nanoemulsión NESC14, se realizó la inspección visual. De los tres sistemas diferentes generados, NEE13, NESA1 y NESC14, la emulsión del aceite esencial de *S. clevelandii* mostró la menor transparencia ([Fig. 24](#)) no obstante, continuó mostrando una ligera coloración azul, además de no observarse separación de fases ni migración visible de partículas.



Figura 24. (Izq.) Formulaci3n NESC14 contra una superficie negra. Se observ3 una mayor opacidad en la nanoemulsi3n, sin embargo, no mostr3 separaci3n de fase o perturbaci3n en la inspecci3n visual. (Der.) La luz natural atravesando la emulsi3n permitía observar una ligera coloraci3n azul.

Para la nanoemulsi3n NESC14, se observ3 un tamaño promedio de partícula de 44.51 ± 8.11 nm ([Fig. 25](#)) y un PDI de 0.348 ± 0.01 , siendo el mayor tamaño de partícula de las tres nanoemulsiones generadas, así como la mayor variaci3n en los tamaños promedio de las poblaciones; dichas variaciones pueden deberse a los distintos componentes presentes en el aceite esencial de *S. clavelandii* y sus distintas interacciones con la matriz, como se discute en la secci3n 7.2.2.1.

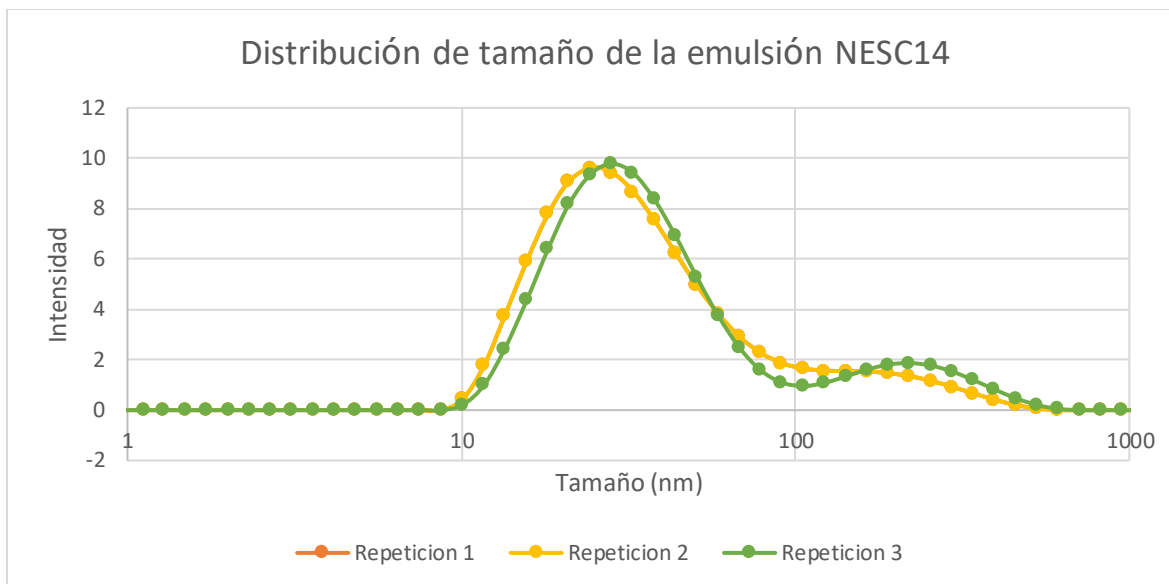


Figura 25. Distribución de tamaño de diámetro de partículas (en nm) por intensidad, de la nanoemulsión NESC14, observaciones por triplicado de uno de tres experimentos independientes.

7.2.3.2 Evaluación de la estabilidad de la nanoemulsión NESC14

a) Estabilidad frente a centrifugación

Las formulaciones, NESC14 elaborada por triplicado, almacenadas a temperatura ambiente por 24 h, fueron expuestas a centrifugación para determinar su estabilidad frente a la fuerza gravitacional. La nanoemulsión NESC14 no mostró signos de separación o modificación en su aspecto.

b) Evaluación de la estabilidad en el equipo Turbiscan LAB®

La nanoemulsión NESC14 fue analizada en Turbiscan LAB®, para visualizar la presencia posible de mecanismos de desestabilización. Los perfiles de deltas de transmisión y retrodispersión durante escaneos por 1 hora ([Fig. 26 A, B](#)) fueron estudiados para determinar patrones de inestabilidad presentes en las formulaciones.

Las señales de transmisión ([Fig. 26, A](#)) mostraron un incremento respecto al tiempo en la parte superior de la muestra, observándose hasta un 8% de aumento en la transmisión en los últimos escaneos (rojo). Por su parte, el análisis de retrodispersión ([Fig. 26, B](#)) de la muestra, mostró una disminución en la intensidad de las señales en la parte superior de la muestra hacia el final del análisis. Estas variaciones pueden interpretarse como migración de partículas, observándose una similitud a los patrones de Turbiscan ([Fig. 27](#)) mostrados tanto en los fenómenos de coalescencia/floculación, y de sedimentación de partículas, sugiriendo que el movimiento propio del sistema provoca la coalición y formación de partículas de mayor tamaño, ya sea como agregados o por la fusión de las micelas, que a su vez tienden a precipitarse.

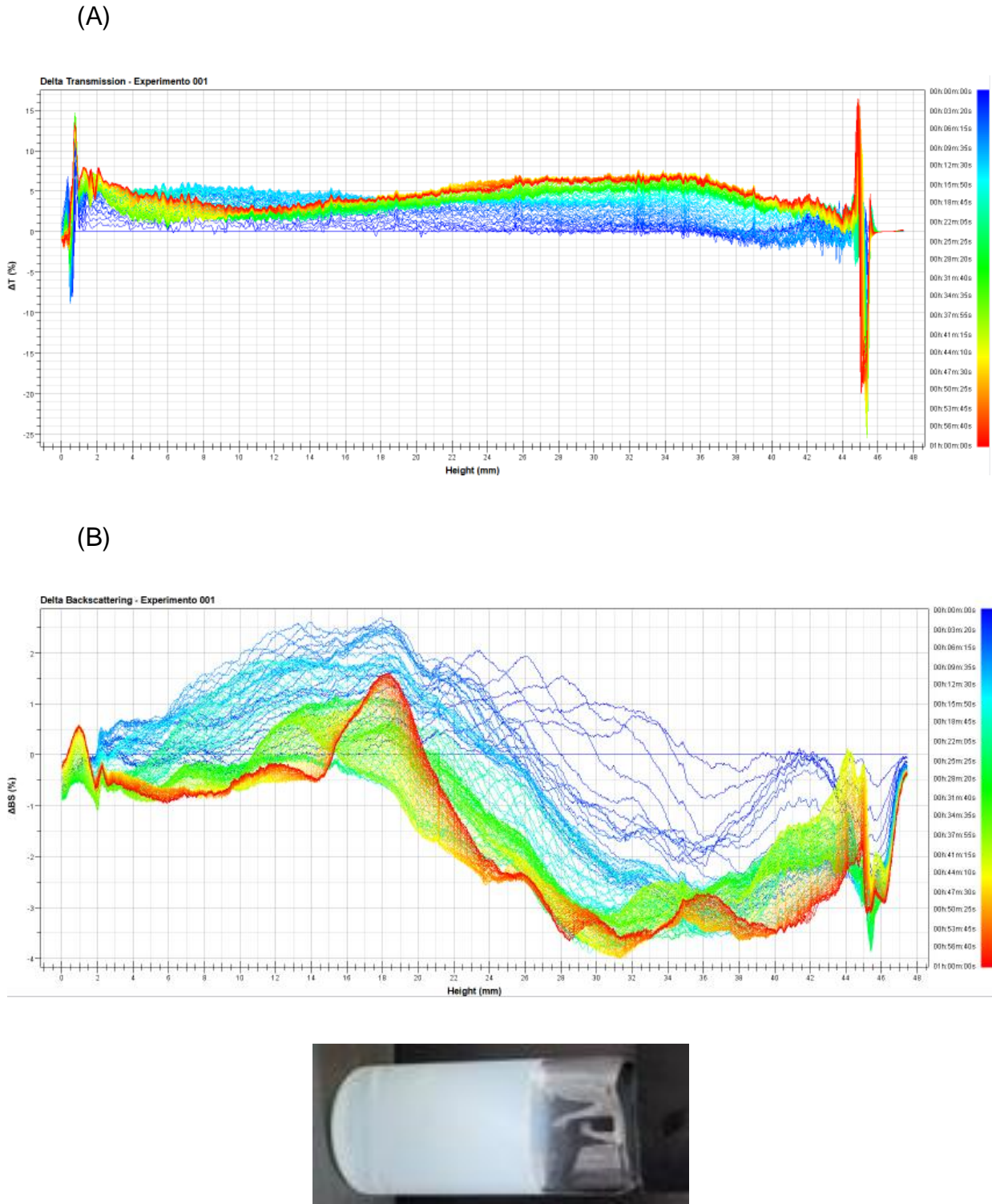
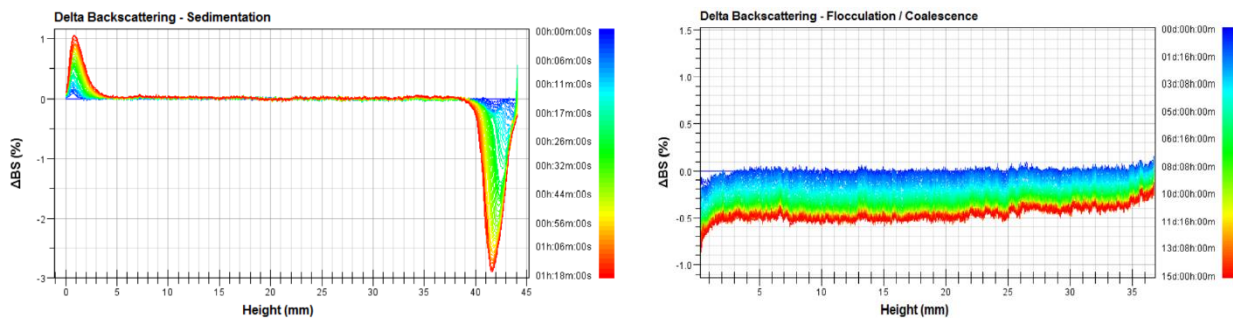


Figura 26. (A) Perfil de delta de transmisión (B) Perfil de delta de retrodispersión de la nanoemulsión NES1. Los datos se reportan en función de tiempo (1 h) y altura de la muestra (mm).

Las variaciones en los perfiles de transmisión y retrodispersión observadas en la [Figura 26 \(A,B\)](#) por debajo de los 2.5 mm y por encima de los 44.5 mm, están relacionados a distorsiones en el fondo del vial de vidrio, y al menisco y aire en la parte superior del recipiente, y no son resultado de procesos de desestabilización.



[Figura 27.](#) Patrones característicos de análisis en Turbiscan para los fenómenos de sedimentación (Izq.) y floculación/coalescencia (Der.)

7.3 Determinación de actividades biológicas

7.3.1 Evaluación de fitotoxicidad por alelopatía

El término alelopatía se emplea para definir aquel fenómeno en el que una especie vegetal libera compuestos químicos al ambiente que afectan el crecimiento y desarrollo de otras plantas ([Nishida, et al., 2005](#)). Uno de los ejemplos más conocidos de este suceso es el “fenómeno Salvia”, que describe la presencia de zonas de inhibición de crecimiento vegetal rodeando a los arbustos de *Salvia leucophylla*, efecto que ha sido atribuido a la liberación de monoterpenos volátiles, principalmente 1,8-cineol (eucaliptol) y alcanfor ([Muller, 1966](#)).

En este ensayo, se evaluó de manera comparativa el efecto como fumigante de los compuestos libres y en emulsión sobre el vigor de semillas de *Chenopodium quinoa*, el cual se calcula en función de la capacidad de germinación de las semillas y de la longitud alcanzada por la radícula.

En la evaluación del impacto sobre la capacidad de germinación de las semillas, se observó mayor efecto inhibitorio ([Tabla 10](#)) por parte del eucaliptol libre, no obstante, en nanoemulsión, su efecto tóxico sobre las semillas disminuyó notoriamente, reduciendo el porcentaje de inhibición en un 70%, sugiriendo un mayor efecto fitotóxico por exposición aguda. Por el contrario, para el aceite esencial de *S. clevelandii* se apreció

un incremento de la toxicidad por parte de las nanoemulsiones, mientras que para *S. apiana* no se observó diferencia significativa entre los dos sistemas evaluados.

Los parámetros de toxicidad ([Tabla 11](#)) muestran la menor concentración media efectiva (CE_{50}) para el monoterpeno eucaliptol libre, con 178.6 mg/L aire para causar el 50% de inhibición en la germinación, observándose un incremento importante de esta concentración requerida al encontrarse en nanoemulsión. Para AESA y AESC, tanto libres como en nanoemulsión, se observan concentraciones CE_{50} altas, por encima de los 2000 mg/L aire. Estos resultados indican que a las concentraciones evaluadas para actividad biocida, los aceites esenciales no muestran un efecto importante en la germinación de las semillas de *C. quinoa*.

Si bien, todos los sistemas presentaron inhibición de la germinación menor a 50% hasta la concentración máxima evaluada, puede observarse que, notoriamente, la mayor actividad correspondió al monoterpeno eucaliptol. Reportes previos han demostrado que algunos monoterpenos volátiles, entre los que destacan eucaliptol y alcanfor, tienen un efecto sobre la germinación y crecimiento de especies vegetales ([Nishida, et al., 2005](#)).

Tabla 10. Efecto de los aceites esenciales libres y encapsulados sobre la germinación de semillas de *C. quinoa*

Concentración (mg/L aire)	%Inhibición de germinación corregido					
	Eucaliptol libre	NEE13	AESA libre	NESA1	AESC libre	NESC14
Control*	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
25	0.0 ± 0.0	4.3 ± 1.9	5.7 ± 2.9	6.3 ± 3.2	0.0 ± 0.0	4.5 ± 1.6
50	5.0 ± 0.0	9.3 ± 4.4	8.0 ± 4.9	7.1 ± 5.0	3.3 ± 2.3	6.8 ± 2.3
75	3.9 ± 1.1	11.8 ± 3.6	9.2 ± 4.0	9.2 ± 4.0	3.3 ± 2.3	7.9 ± 2.4
100	4.2 ± 1.2	12.7 ± 2.3	9.2 ± 3.2	9.2 ± 3.0	5.0 ± 0.0	8.5 ± 2.3
125	42.3 ± 1.1	14.4 ± 1.7	8.5 ± 1.7	6.8 ± 2.3	5.0 ± 0.0	9.6 ± 1.5
150	49.4 ± 2.1	14.4 ± 1.7	19.5 ± 5.3	19.5 ± 3.4	5.0 ± 0.0	18.6 ± 2.2

mg/L aire en caja Petri. Valores promedio ± desviación estándar, de tres experimentos independientes por triplicado, evaluando un total de 180 semillas por tratamiento. * Las diferencias observadas en los controles son debidas a las variaciones climáticas y de exposición solar. Los nueve ensayos de un sistema se realizaron en el mismo día, bajo las mismas condiciones de luz y temperatura.

Si bien, el efecto sobre la germinación, principalmente para los aceites esenciales, no superó el 50% de inhibición, se observó un efecto mayor sobre el crecimiento de la radícula, tanto por parte de los aceites libre como de las nanoemulsiones ([Tabla 12](#)). Para el monoterpeno eucaliptol libre se observó hasta un 61% de reducción en el tamaño de las radículas, mientras que la nanoemulsión alcanzó un 43%.

Tabla 11. Concentraciones medias efectivas de inhibición de germinación de *C. quinoa*.
Para cada tratamiento, se evaluaron un total de 180 semillas.

Condiciones de experimento	^a CE ₅₀ (IC) mg/L aire	^a CE ₉₅ (IC) mg/L aire	Slope ± EE	p-value
Eucaliptol				
Libre	178.6 (136.8 – 233.2)	557.2 (426.1 – 727.6)	3.73 ± 0.059	0.000
Nanoemulsion	2120.9 (595.2 – 5772.0)	Dato no calculado	0.86 ± 0.252	0.098
AE <i>S. apiana</i>				
Libre	2507.7 (734.4 – 8562.6)	Dato no calculado	0.803 ± 0.272	0.000
Nanoemulsion	6088.9 (1391.865 – N/A)	Dato no calculado	0.696 ± 0.319	0.164
AE <i>S. clevelandii</i>				
Libre		Datos no calculado		
Nanoemulsion	2328.1 (714.6 – 7584.7)	Dato no calculado	0.867 ± 0.262	0.464

^aCE₅₀ y CE₉₅ representan las concentraciones en mg/L aire (en caja Petri) requeridas para causar 50% y 95% de inhibición de germinación de semillas de *C. quinoa*; los intervalos de confianza (IC) se muestran entre paréntesis. El valor CE₅₀ de cada tratamiento que se encuentre entre los límites de confianza de otro tratamiento indica que no hay diferencia significativa, sin embargo, si los intervalos de confianza (95%) no se traslapan, hay diferencia significativa. Los datos no calculados corresponden a concentraciones, no pudieron determinarse de manera confiable.

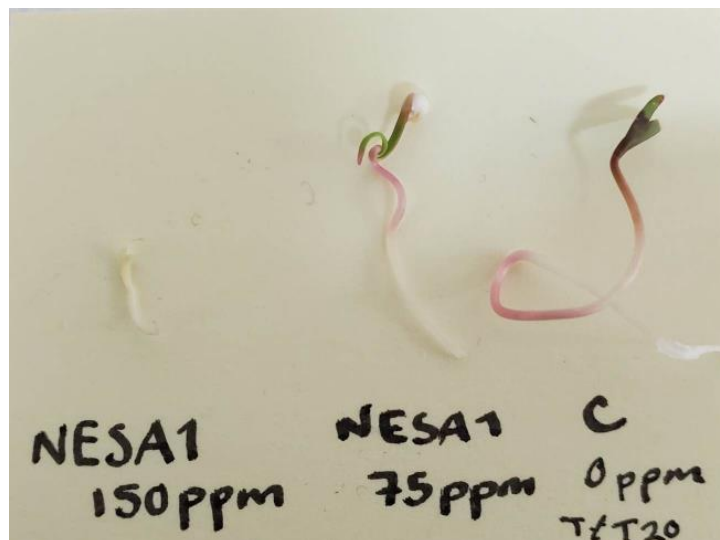
Para el AESA se registró el mayor efecto en el desarrollo de la radícula, con cerca de 70% en la reducción de crecimiento radicular ([Fig. 28](#)), tanto para el sistema libre como su nanoemulsión. Por su parte, el AESC, libre y encapsulado, alcanzó una reducción de 68%. Todos los resultados discutidos corresponden a las concentraciones máximas evaluadas.

En un estudio publicado en 2015 por Ali y colaboradores ([Ali, et al., 2015](#)), se reportó un importante efecto fitotóxico del aceite esencial de la hoja de *Thymus algeriensis*, con eucaliptol, alcanfor y α -pineno como componentes mayoritarios, observado en hasta un 100% de inhibición (a 1mg/ml) en el crecimiento radicular en alfalfa y trigo. Estos resultados respaldan la capacidad fitotóxica del monoterpeno eucaliptol y de algunos de los componentes mayoritarios de los AESA y AESC.

Tabla 12. Efecto de los aceites esenciales libres y encapsulados sobre la elongación radicular sobre *C. quinoa*.

Concentración (mg/L aire)	Elongación radicular (mm)					
	Eucaliptol libre	NEE13	AESA libre	NESA1	AESC libre	NESC14
Control*	42.2 ± 4.2	52.0 ± 8.7	29.8 ± 4.1	34.5 ± 1.0	41.2 ± 10.8	41.0 ± 3.9
25	33.1 ± 1.4	51.8 ± 9.0	23.1 ± 2.5	29.0 ± 1.6	27.1 ± 8.9	26.9 ± 4.0
50	32.6 ± 2.4	41.4 ± 9.0	21.2 ± 3.7	22.6 ± 1.6	25.8 ± 7.8	25.7 ± 2.5
75	24.3 ± 2.5	43.3 ± 6.6	16.2 ± 4.2	21.3 ± 0.9	22.7 ± 6.7	22.5 ± 2.6
100	20.7 ± 1.3	39.3 ± 7.4	13.4 ± 2.7	14.9 ± 0.5	18.9 ± 7.4	19.2 ± 2.4
125	18.8 ± 2.5	32.1 ± 5.6	14.0 ± 0.6	14.8 ± 1.1	16.4 ± 5.6	16.3 ± 1.3
150	16.4 ± 2.5	29.7 ± 4.5	7.9 ± 2.0	9.9 ± 1.1	13.2 ± 5.0	13.1 ± 2.2

mg/L aire en caja Petri. Valores promedio \pm desviación estándar, de tres experimentos independientes por triplicado, evaluando un total de 180 semillas por tratamiento. * Las diferencias observadas en los controles son debidas a las variaciones climáticas y de exposición solar. Los nueve ensayos de un sistema se realizaron en el mismo día, bajo las mismas condiciones de luz y temperatura.



[Figura 28](#). Comparación del crecimiento radicular de *C. quinoa* a 150, 75, y 0 mg/L aire en caja Petri.

Como se mencionó en la sección de metodologías, el índice de vigor es un parámetro que relaciona la capacidad de germinación y de desarrollo de la semilla, proporcionando un panorama más claro de la capacidad de la semilla de convertirse en una planta.

El mayor impacto sobre el vigor de la semilla ([Tabla 13](#)) se observó para eucaliptol libre, reduciendo el índice en un 80% respecto al control, seguido, muy de cerca por AESA libre con 78% de reducción del índice de vigor, y la nanoemulsión de AESC con 74% de reducción, esto a las máximas concentraciones evaluadas. Nuevamente, la mayor discrepancia de resultados entre sistema libre y encapsulado, corresponde al eucaliptol, con la nanoemulsión alcanzando un 51% de reducción a 150 mg/L. Los resultados para eucaliptol parecen sugerir que la exposición aguda inicial a los

compuestos volátiles provoca un efecto negativo en la capacidad de desarrollo de las semillas tratadas.

Tabla 13. Índice de vigor de la semilla observado bajo los distintos tratamientos.

Concentración (mg/L aire)	Índice de vigor observado*					
	Eucaliptol libre	NEE13	AESA libre	NESA1	AESC libre	NESC14
Control*	4.22 ± 0.58	5.20 ± 0.12	2.98 ± 0.19	3.35 ± 0.34	4.12 ± 0.31	4.03 ± 0.30
25	3.31 ± 0.48	4.95 ± 0.38	2.17 ± 0.10	2.64 ± 0.16	2.71 ± 0.17	2.52 ± 0.31
50	3.10 ± 0.67	3.75 ± 0.25	1.95 ± 0.07	1.08 ± 0.29	2.49 ± 0.11	2.35 ± 0.27
75	2.33 ± 0.06	3.82 ± 0.12	1.47 ± 0.10	1.88 ± 0.12	2.19 ± 0.09	2.03 ± 0.26
100	1.98 ± 0.70	3.43 ± 0.07	1.22 ± 0.11	1.31 ± 0.17	1.79 ± 0.08	1.73 ± 0.23
125	1.08 ± 0.14	2.74 ± 0.21	1.28 ± 0.07	1.35 ± 0.07	1.55 ± 0.06	1.45 ± 0.11
150	0.83 ± 0.51	2.54 ± 0.24	0.63 ± 0.11	0.77 ± 0.19	1.25 ± 0.14	1.05 ± 0.20

mg/L aire en caja Petri. Valores promedio de tres experimentos independientes por triplicado, evaluando un total de 180 semillas por tratamiento (\pm desviación estándar). * Las diferencias observadas en los controles son debidas a las variaciones climáticas y de exposición solar. Los nueve ensayos de un sistema se realizaron en el mismo día, bajo las mismas condiciones de luz y temperatura.

De manera general, se observó una respuesta efecto- dosis en los ensayos de fitotoxicidad ([Fig. 29](#)), y es posible que una evaluación a mayores concentraciones resulte en un mayor impacto sobre la germinación y desarrollo de las semillas, planteando la posibilidad de considerar, principalmente al eucaliptol, como un potencial herbicida de origen botánico.

Cabe mencionar que los ensayos de fitotoxicidad se llevaron a cabo en sistemas sellados para evitar la contaminación de las radículas, lo cual afectó directamente la permanencia de los compuestos volátiles en las cajas, evitando su permeación al exterior, sin embargo, un estudio fitotóxico era necesario para determinar el posible efecto negativo de un sistema a nanoescala así como de los componentes emulsificantes sobre el desarrollo vegetal.

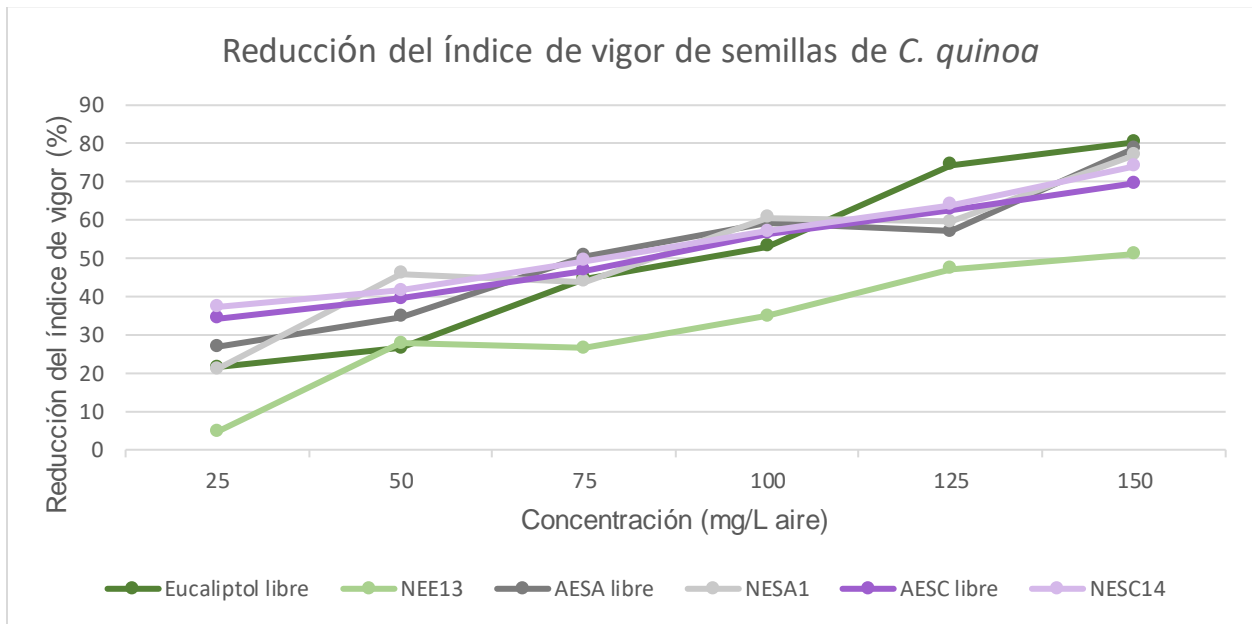


Figura 29. Porcentaje de reducción del índice de vigor de semillas de *C. quinoa*.

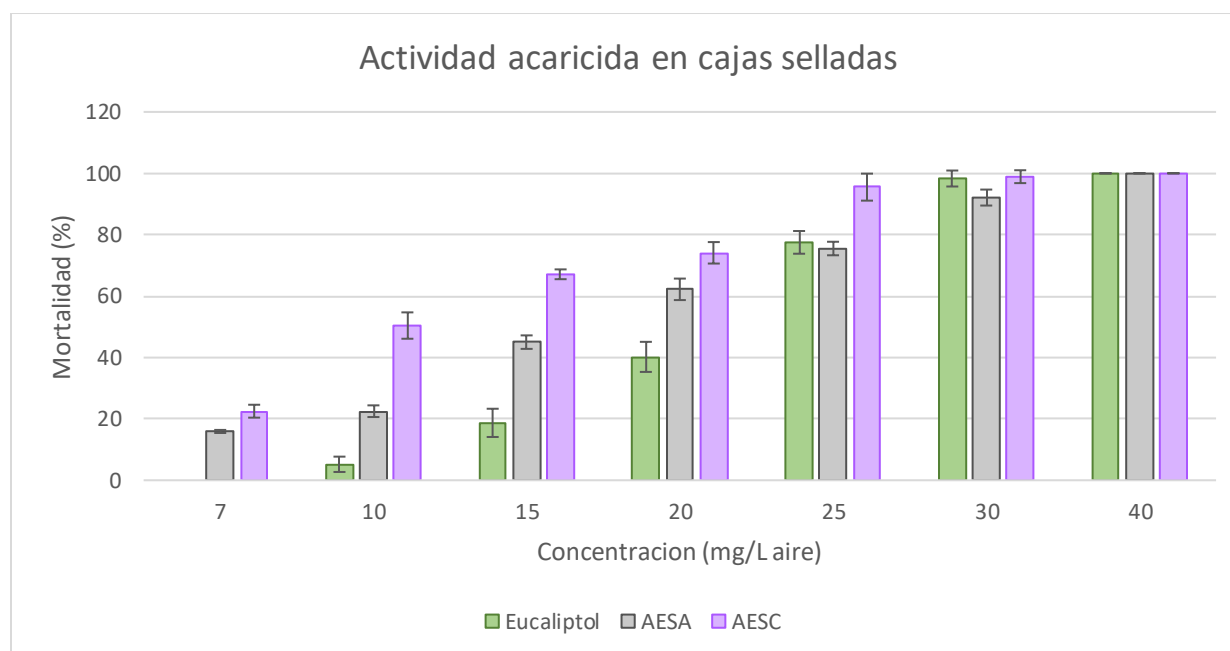
7.3.2 Evaluación de actividad acaricida en cajas Petri selladas

Para evitar redundancia en la discusión de los resultados de actividades biológicas, la discusión de los resultados comparativos entre las actividades observadas para los aceites esenciales libres y la nanoemulsión frente a los diferentes modelos biológicos, se condensó en una sección separada (7.3.5). En las secciones 7.3.2 a 7.3.4, se discutirán de manera independiente las actividades biológicas observadas para los aceites esenciales evaluados en cajas Petri selladas, las cuales se consideraron como control positivo en este estudio comparativo del compuesto encapsulado y libre.

Previo a la realización de los ensayos de actividades biológicas, se realizaron ensayos de tipo ventaja biológica, la cual consiste en la identificación del intervalo de efectividad mediante la evaluación de rangos amplios de dosis. Se evaluaron las concentraciones 10 ppm, 40 ppm, 70 ppm, 100 ppm, 150 y 250 ppm, registrando los valores de concentraciones de ambos aceites esenciales, así como de eucaliptol en condiciones selladas, necesarios para alcanzar 100% de mortalidad, dicho valor se empleó como concentración máxima en los ensayos presentados.

La toxicidad de los vapores de los aceites esenciales de *S. apiana*, *S. clevelandii*, así como del monoterpeno eucaliptol fueron evaluadas frente a la araña roja, *Tetranychus urticae*, bajo tres condiciones diferentes: cajas selladas, aceites libres, y nanoemulsiones. Los parámetro de toxicidad para cada uno de los tratamientos se

muestran en la [Tabla 14](#). Después de 24 horas de tratamiento, se observó que la mayor actividad fue por parte de los tres aceites en cajas selladas, con 100% de mortalidad a las concentraciones de entre 30 y 40 mg/L aire ([Fig. 30](#)) y CL_{50} de 19.5, 15.6 y 11.0 para eucaliptol, aceite esencial de *S. apiana*, y aceite esencial de *S. clevelandii*, respectivamente. El aceite esencial de *S. clevelandii* mostró la mayor bioactividad, requiriendo una menor concentración para ocasionar 50% de mortalidad (11 mg/L aire), seguido por el aceite esencial de *S. apiana* con 15.6 mg/L aire, por último, el monoterpeno eucaliptol requirió 19.5 mg/L aire.



[Figura 30](#). Actividad acaricida de eucaliptol, AESA y AESC en cajas Petri selladas sobre poblaciones de *T. urticae*. Concentraciones en mg/L aire en caja Petri. Media \pm desviación estándar.

Al tratarse de una mezcla de compuestos distintos, los aceites esenciales presentaron mayor toxicidad hacia la araña roja, esto podría explicarse por una sinergia entre las diferentes estructuras, o bien, la posible presencia de compuestos con mayor capacidad biocida que el eucaliptol.

Por su parte, los resultados obtenidos para el monoterpeno eucaliptol, que ha sido previamente estudiado frente a este ácaro, indican una menor actividad como fumigante que aquella reportada por [Badawy et al.](#) (2010), con 4.80 mg/L aire, y por [Abdelgaleil et al.](#) (2019) quien reportó una LC₅₀ de 6.67 mg/L aire. Adicionalmente, estos resultados son concordantes con reportes de bioactividad fumigante del eucaliptol frente a ácaros plaga de producto almacenado, con [Sanchez-Ramos & Castañera](#) (2000) reportando más de 90% de mortalidad en el ácaro *Tyrophagous putrescentiae* a concentraciones de 66.7 µL/L y una CL₅₀ de 14.9 µL/L.

Al momento de la redacción de esta tesis, no se encontraron reportes de evaluación de los aceites esenciales de *S. apiana* y *S. clevelandii* frente a ácaros fitófagos. Aceites esenciales de otras especies de *Salvia*, principalmente *S. officinalis*, han sido reportadas con actividad acaricida, no obstante, la composición de los aceites esenciales entre especies de *Salvia* difiere en gran medida, tanto cualitativa como cuantitativamente, por ende, los resultados obtenidos en dichos estudios no son comparables con los obtenidos en esta tesis.

Tabla 14. Actividad acaricida por fumigación de aceites esenciales y eucaliptol frente a hembras de *T. urticae*. Para cada tratamiento, se realizaron tres ensayos independientes por triplicado, evaluando un total de 180 individuos por tratamiento.

Condiciones de experimento	^a CL ₅₀ (IC) mg/L aire	^a CL ₉₅ (IC) mg/L aire	Slope ± EE	p-value
Eucaliptol				
Sellado	19.5 (16.4 – 22.7)	32.34 (26.72 – 50.14)	7.84 ± 0.387	0.518
Libre	137.5 (117.1 – 210.1)	329.49 (189.4 – 615.4)	4.33 ± 0.593	0.177
Nanoemulsion	55.2 (43.6 – 64.6)	140.9 (108.1 – 233.6)	4.04 ± 0.218	0.072
AE <i>S. apiana</i>				
Sellado	15.6 (12.7 – 19.2)	45.9 (37.3 – 56.5)	3.56 ± 0.046	0.557
Libre	56.9 (48.5 – 66.7)	130.9 (111.6 – 153.4)	4.56 ± 0.035	0.744
Nanoemulsion	26.3 (22.0 – 31.4)	49.9 (41.9 – 59.6)	5.95 ± 0.039	0.148
AE <i>S. clevelandii</i>				
Sellado	11.0 (8.8 – 13.7)	28.9 (23.1 – 36.1)	3.83 ± 0.050	0.480
Libre	32.1 (24.0 – 42.8)	173.3 (170.1 – 231.1)	2.27 ± 0.064	0.120
Nanoemulsion	27.42 (20.3 – 32.1)	135.6 (100.3 – 183.3)	2.37 ± 0.067	0.022

^aCL₅₀ y CL₉₅ representan las concentraciones en mg/L aire (en caja Petri) requeridas para causar 50% y 95% de mortalidad en hembras adultas de *T. urticae*, respectivamente; los intervalos de confianza (IC) se muestran entre paréntesis. El valor CL₅₀ de cada tratamiento que se encuentre entre los límites de confianza de otro tratamiento indica que no hay diferencia significativa, sin embargo, si los intervalos de confianza (95%) no se traslapan, hay diferencia significativa.

7.3.3 Evaluación de actividad aficida en cajas Petri selladas

La actividad aficida fue evaluada únicamente para el monoterpeno eucaliptol, esto debido a la presencia de una temporada invernal anormal y la alta susceptibilidad del pulgón del maíz a la caída de temperaturas, que interfirió con la realización de los ensayos para los aceites esenciales. No obstante, los resultados obtenidos para eucaliptol serán discutidos en esta sección.

Los vapores de eucaliptol demostraron actividad aficida frente a *R. maidis* en los tres distintos tratamientos. El eucaliptol en condiciones herméticas mostró la mayor actividad biológica tras 48 horas de exposición, con una CL₅₀ de 31.9 mg/L aire y una CL₉₅ de 59.2 mg/L aire. Esta concentración fue considerablemente mayor a la requerida para causar el efecto acaricida, sugiriendo una menor capacidad aficida, no obstante, el 100% de mortalidad se alcanzó a los 80 mg/L aire, además de observarse que a concentraciones menores, de 60 mg/L aire, los áfidos vivos se mostraron letárgicos por varios minutos posteriores a la exposición, lo que podría ser posteriormente estudiado a detalle.

Al momento de la redacción de esta tesis, no se encontraron estudios previos sobre la toxicidad del eucaliptol frente a *Rhopalosiphum maidis*, no obstante, se encontraron algunos reportes de actividad frente a este áfido por parte de aceites

esenciales con eucaliptol como componente. [Benddine, et al. \(2022\)](#) reportaron toxicidad aguda del aceite esencial de *Myrtus communis*, con un 28% de su composición siendo eucaliptol, con mortalidades corregidas de 88.13% y 81.47% a concentraciones de 6 ml/L y 5 ml/L respectivamente, tras 5 días de exposición. El aceite esencial de *Tanacetum vulgare* (17% de eucaliptol) también demostró actividad biológica frente al pulgón del melocotero *Myzus persicae* (Sulzer) ([Czerniewicz, et al., 2018](#)).

Los parámetros de toxicidad para los tres tratamientos se muestran en la [Tabla 15](#).

[Tabla 15](#). Actividad aficida por fumigación de eucaliptol frente a *R. maidis*. Para cada tratamiento, se realizaron tres ensayos independientes por triplicado, evaluando un total de 180 individuos por tratamiento.

Condiciones de experimento	^a CL ₅₀ (IC) mg/L aire	^a CL ₉₅ (IC) mg/L aire	Slope ± EE	p-value
Sellado	31.9 (23.9-39.5)	58.2 (46.6 – 101.2)	6.15 ± 0.367	0.029
Libre	140.3 (118.4 – 207.7)	240.4 (185.1 – 430.6)	0.016 ± 0.002	0.086
Nanoemulsión	73.0 (58.9 – 86.5)	118.01 (96.5 – 212.3)	7.89 ± 0.445	0.000

^aCL₅₀ y CL₉₅ representan las concentraciones en mg/L aire (en caja Petri) requeridas para causar 50% y 95% de mortalidad en hembras adultas de *R. maidis*, respectivamente; los intervalos de confianza (IC) se muestran entre paréntesis. El valor CL₅₀ de cada tratamiento que se encuentre entre los límites de confianza de otro tratamiento indican que no hay diferencia significativa, sin embargo, si los intervalos de confianza (95%) no se traslapan, hay diferencia significativa.

7.3.4 Evaluación de actividad insecticida de aceites libres

El efecto tóxico de eucaliptol y los aceites esenciales de ambas salvias, se evaluó usando como modelo biológico a la mosca blanca *Bemisia tabaci*. Las condiciones en caja sellada no fueron toleradas por este organismo, con 100% de mortalidad tras 9 h de tratamiento, incluyendo los controles negativos.

Para los ensayos con los compuestos libres, eucaliptol mostró la mayor actividad de los tres compuestos frente a *B. tabaci*, con una CL₅₀ de 61.3 mg/L aire, siendo también el mejor resultado para eucaliptol de los tres modelos biológicos evaluados. El aceite esencial de *S. apiana* requirió una CL₅₀ de 61.7 mg/L aire, mientras que la menor actividad en el ensayo de compuestos libres correspondió al aceite esencial de *S. clevelandii*, requiriendo una concentración de 79.9 mg/L aire para alcanzar el mismo nivel de mortalidad ([Tabla 16](#)).

La susceptibilidad de *B. tabaci* a compuestos volátiles de aceites esenciales ha sido establecida por diversos estudios, como ejemplo, el aceite esencial de *Thymus vulgaris* a concentraciones de 0.5% causantes de 79% de mortalidad en un estudio realizado a diferentes etapas de desarrollo ([Yang, et al., 2010](#)). Adicionalmente, [Liu, et al.](#) (2014) reportó una sobresaliente actividad fumigante de 16 aceites esenciales frente a *B. tabaci* con CL₅₀ en el intervalo de 0.11 µg/L a 13.54 µg/L.

La actividad insecticida de eucaliptol en diversas plagas de cultivo y producto almacenado, también ha sido estudiada. [Liu, et al.](#) (2021) reportó toxicidad aguda de los vapores de eucaliptol en larvas en tercer estadio de *Spodoptera litura*, observando CL₅₀ de 7 µl/L tras 24 h de tratamiento. El eucaliptol es el componente principal del aceite esencial de *Lavandula dentata*, del cual existen reportes de actividad insecticida frente a *Sitophilus zeamais*, *Tribolium castaneum*, y *Epicauta atomaria*, con concentraciones CL₅₀ desde 11.3 a 26.9 µl/L aire ([Wagner, et al., 2021](#)). Si bien, la actividad biocida de un aceite esencial se explica en función de su composición, sinergia y antagonismo entre sus componentes, y otros factores, que no existen en uno de sus componentes aislados, la actividad exhibida tanto por el eucaliptol como por el aceite de *L. dentata*, sugiere que, en gran medida, la actividad como insecticida de este último, se ve influenciada por su alto contenido de eucaliptol.

Al momento de redacción de este documento, no se encontraron estudios previos de actividad insecticida sobre *B. tabaci* por parte de los aceites esenciales de *S. apiana* y *S. clevelandii*, no obstante, existe evaluación de la actividad insecticida del primero sobre *Aedes aegypti*, mostrando inactividad total a la concentración máxima evaluada de 122 ppm ([Ali, et al., 2015b](#)). Además, se han reportado actividades de salvias con algunos componentes mayoritarios en común con los aceites evaluados en este estudio, tal es el caso de *S. lavandulaefolia* (α y β - pineno, eucaliptol, y alcanfor, como componentes mayoritarios) que ha demostrado actividad inhibitoria de la enzima acetilcolinesterasa en estudios *in vivo* ([Perry, et al., 2002](#)), siendo la inhibición de esta enzima el principal método de control de la mosca blanca ([Zarrad, et al., 2017](#)). Por su

parte, el aceite esencial de *S. tormentosa*, con constituyentes mayoritarios α y β - pineno, presentó actividad insecticida frente a adultos de las plagas agrícolas *Acanthoscelides obtectus* y *Tribolium castaneum* (Ulukanli, et al., 2012).

Tabla 16. Actividad insecticida por fumigación de aceites esenciales y eucaliptol frente a *B. tabaci*. Para cada tratamiento, se realizaron tres ensayos independientes por triplicado.

Condiciones de experimento	^a CL ₅₀ (IC) mg/L aire	^a CL ₉₅ (IC) mg/L aire	Slope \pm EE	p-value
Eucaliptol				
Libre	58.8 (47.4 - 72.9)	178.1 (143.4 - 220.2)	3.80 \pm 0.048	0.015
Nanoemulsion	30.9 (24.1 - 40.4)	95.5 (72.8 - 124.6)	3.38 \pm 0.059	0.928
AE <i>S. apiana</i>				
Libre	61.7 (48.7 - 78.0)	187.9 (148.4 - 237.9)	3.40 \pm 0.052	0.898
Nanoemulsion	12.4 (7.4 - 20.7)	100.3 (59.8 - 168.3)	1.84 \pm 0.115	0.217
AE <i>S. clevelandii</i>				
Libre	79.9 (49.1 - 130.1)	460.1 (420.4 - 502.7)	1.55 \pm 0.108	0.164
Nanoemulsion	18.0 (13.3 - 24.0)	51.5 (38.1 - 69.6)	3.61 \pm 0.067	0.300

^aCL₅₀ y CL₉₅ representan las concentraciones en mg/L aire (en caja Petri) requeridas para causar 50% y 95% de mortalidad en hembras adultas de *R. maidis*, respectivamente; los intervalos de confianza (IC) se muestran entre paréntesis. El valor CL₅₀ de cada tratamiento que se encuentre entre los límites de confianza de otro tratamiento indica que no hay diferencia significativa, sin embargo, si los intervalos de confianza (95%) no se traslapan, hay diferencia significativa.

Si bien, las concentraciones obtenidas en este trabajo de tesis, son considerablemente mayores que las reportadas en los estudios mencionados, es importante resaltar que el diseño de este ensayo *in vitro* está enfocado a simular la volatilización de los compuestos bajo condiciones no controladas para establecer si existe una mejora en la actividad con nanoformulaciones (sección 7.3.5).

7.3.5 Evaluación de actividad frente artrópodos de los aceites esenciales libres y en nanoemulsión.

7.3.5.1 Eucaliptol

Dado que las condiciones en campo difieren bastante del ambiente controlado *in vitro*, el enfoque de esta sección será discutir, de manera comparativa, las toxicidades exhibidas por los aceites esenciales puros y libres, y las nanoemulsiones. Para este ensayo, se evaluaron las actividades biocidas de los compuestos libres, en cajas Petri sin sellar, permitiendo el intercambio de gases y en consecuencia, la permeación de los compuestos volátiles; de igual manera se evaluó el compuesto activo encapsulado en nanoemulsión, permitiendo su difusión al exterior de la caja sin sellar.

El monoterpeno eucaliptol libre mostró toxicidad significativamente menor que su contraparte sellada frente a *T. urticae* y *R. maidis*, requiriendo cerca de 7 y 5 veces mayor concentración para alcanzar el 50% de mortalidad ([Fig. 31](#) y [32](#)), esto es un indicador de

que una gran parte del monoterpeno se pierde debido a volatilización o degradación, resultando en una disminución de la bioactividad. El compuesto libre exhibió CL_{50} de 156.9, 166.8. y 58.8 mg/L aire, frente a ácaros, áfidos, e insectos, respectivamente; mientras que la nanoemulsión mostró mayor actividad biocida con CL_{50} de 53.1, 74.4, y 30.9 mg/L aire en el mismo orden, cerca de la mitad de la concentración requerida por el monoterpeno libre. Si bien, la nanoemulsión no mostró el mismo grado de toxicidad que el compuesto en condiciones selladas, lo cual puede ser el resultado de la retención del compuesto en las micelas, en condiciones normales, de campo o invernadero, esta misma característica podría proveer al compuesto volátil de estabilidad química, lo que se traduciría en una bioactividad mejorada en comparación con el compuesto libre. Resultados similares se han reportado para otras nanoemulsiones de monoterpenos y aceites esenciales frente a artrópodos plaga. [Almadiy](#) (2021), reportó una mejorada bioactividad de una nanoemulsión de *Achillea biebersteinii* frente al gorgojo de la harina *Tribolium castaneum*, en comparación con el aceite esencial libre y sus componentes monoterpénicos mayoritarios. De manera similar, [Suresh, et al.](#) (2020) encontraron que una nanoemulsión de aceite esencial de hinojo marino, *Crithmum maritimum*, fue cerca de 2 veces más activa que su contraparte libre. Siguiendo este patrón, múltiples nanoemulsiones de aceites esenciales han demostrado un incremento en la efectividad frente a plagas de campo y producto almacenado en comparación con sus formas libres, esto se aprecia en menores concentraciones en los parámetros de toxicidad CL_{50} y CL_{95} en ensayos *in vitro* ([Almadiy, et al., 2022](#); [Gharsan, et al., 2022](#); [Salazar, et al., 2022](#)).

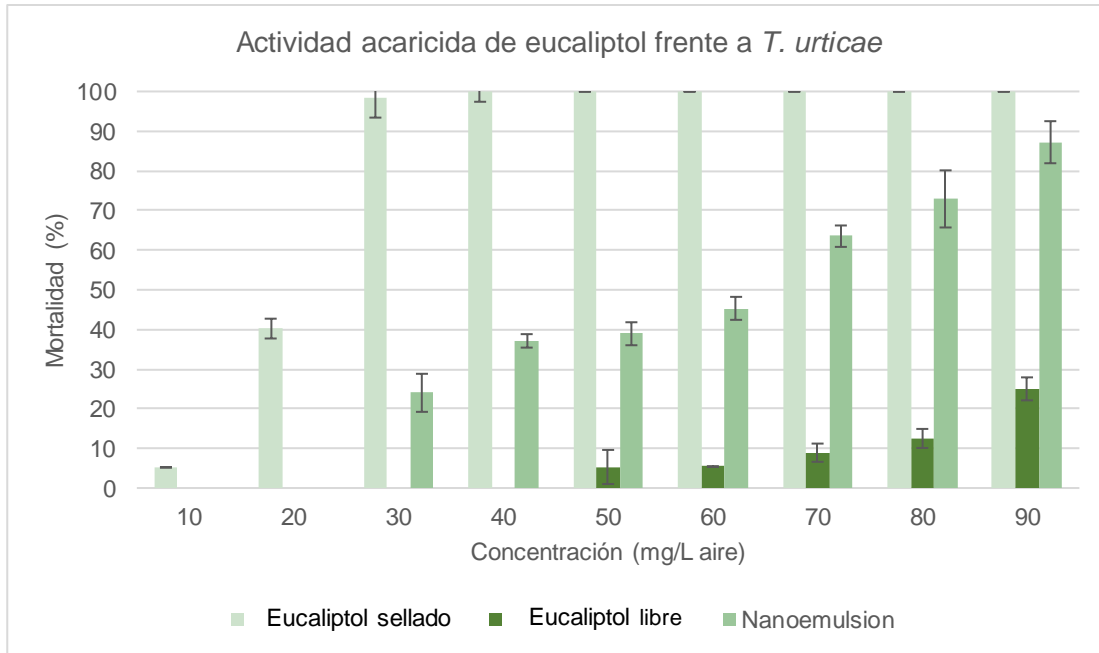


Figura 31. Comparación de los efectos de eucaliptol en cajas selladas, libre, y en nanoemulsión en la mortalidad de poblaciones de *T. urticae*. Media \pm desviación estándar.

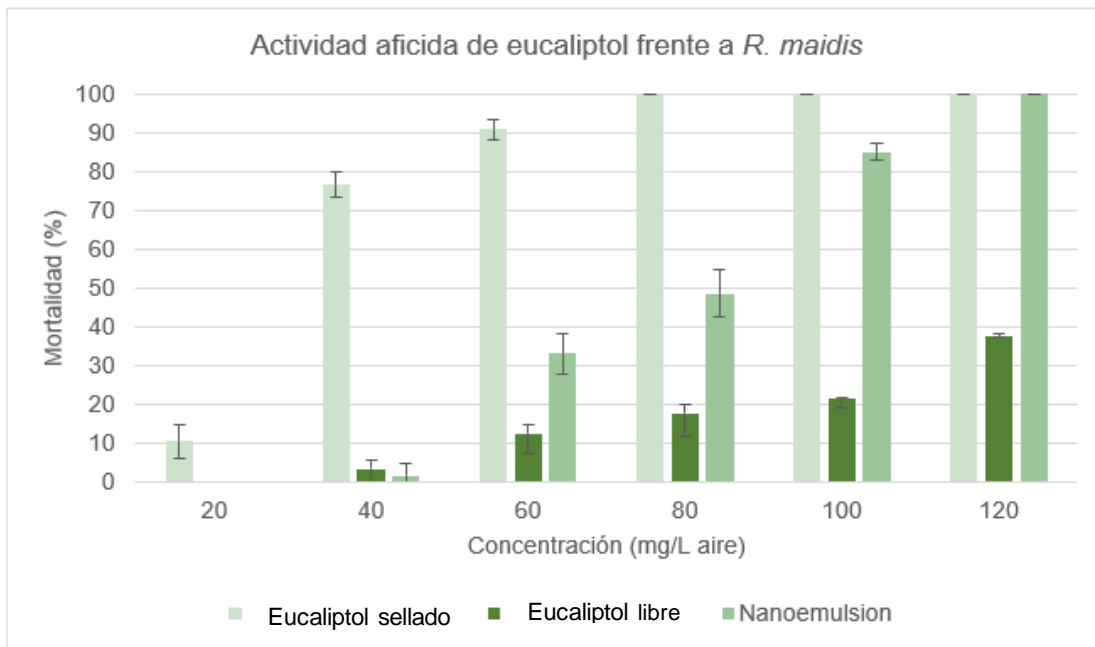
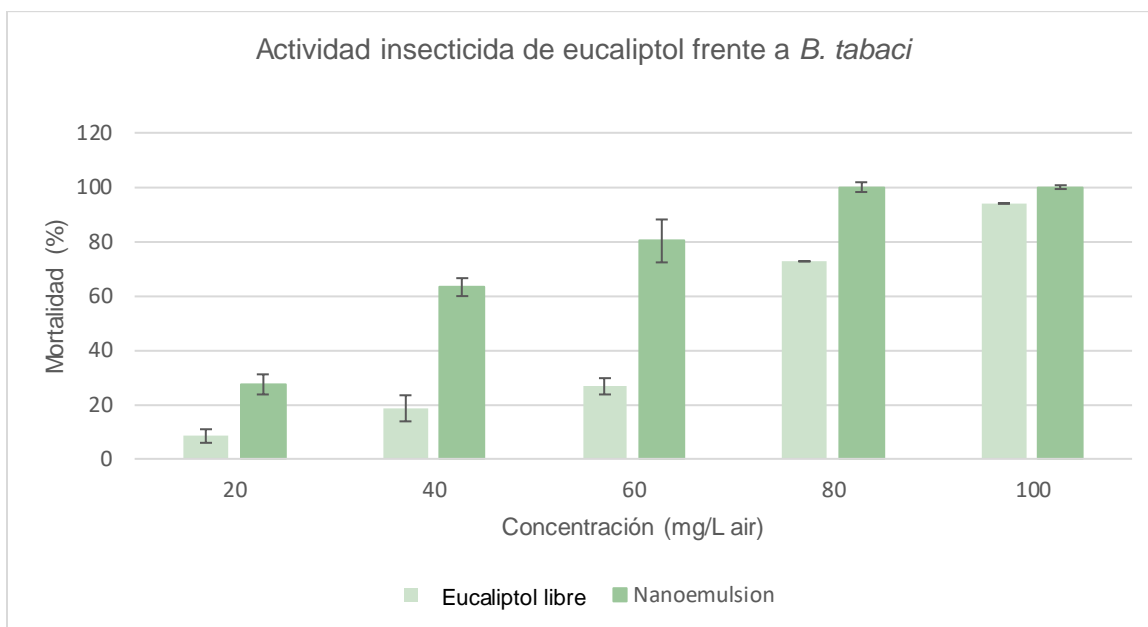


Figura 32. Comparación de los efectos de eucaliptol en cajas selladas, libre, y en nanoemulsión en la mortalidad de poblaciones de *R. maidis*. Media \pm desviación estándar.

De las tres actividades biocidas evaluadas para eucaliptol, *B. tabaci* mostró la mayor susceptibilidad al eucaliptol libre y en nanoemulsión, requiriendo menores concentraciones para alcanzar el 50% de mortalidad (Fig. 33), además de un menor tiempo de exposición. El monoterpeno mostró la menor actividad biocida frente a *R. maidis*, en un ensayo con mayor tiempo de exposición, se requirió la concentración más alta del compuesto, tanto libre como encapsulado.



[Figura 33](#). Comparación de los efectos del monoterpeno eucaliptol libre y en nanoemulsión en la mortalidad de poblaciones de *B. tabaci*. Media \pm desviación estándar.

7.3.5.2 Aceite esencial de *Salvia apiana*

Similar al comportamiento observado para eucaliptol, el aceite esencial de *S. apiana* libre mostró considerablemente menos actividad biocida que al ser evaluado en condiciones selladas, dando muestra del efecto de la volatilización ([Fig. 34](#) y [35](#)).

La nanoemulsión de AESA demostró ser más efectiva que el aceite esencial libre frente a las plagas *T. urticae* y *B. tabaci*, reduciendo la concentración CL_{50} en más de un 50% para la araña roja y cerca de 80% para la mosca blanca. Si bien para *T. urticae* la nanoemulsión no alcanzó la efectividad del control positivo (AESA en condiciones selladas) al comparar las concentraciones medias efectivas, puede observarse que sus CL_{95} indican que no existe diferencia significativa entre la nanoemulsión y el control, mostrando una paridad de actividad biocida ([Tabla 14](#)).

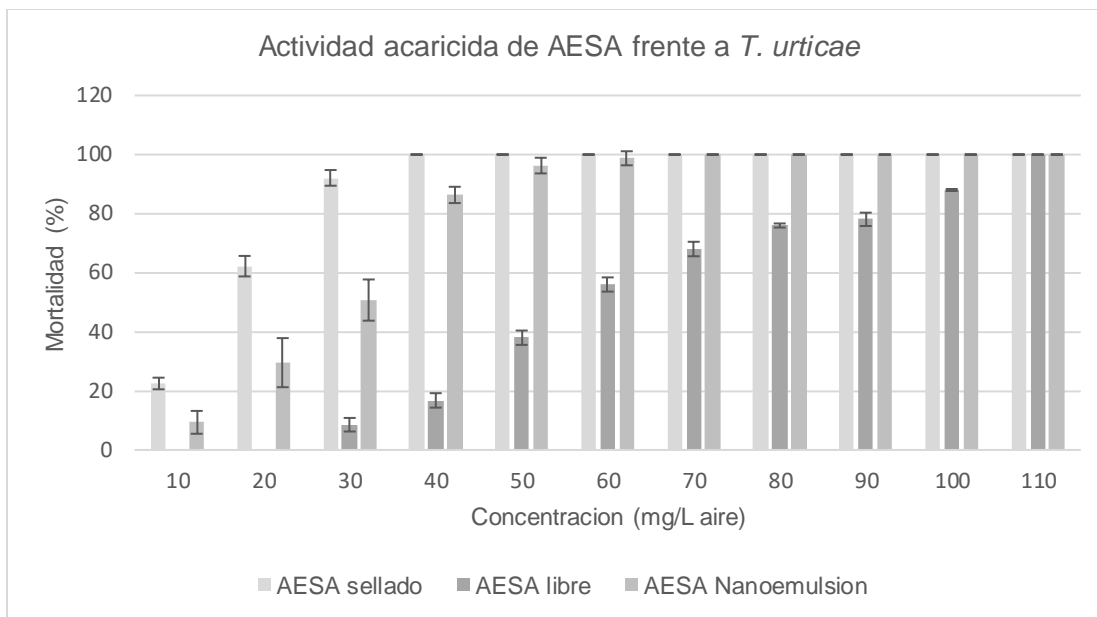


Figura 34. Comparación de los efectos del aceite esencial de *S. apiana* en cajas selladas, libre, y en nanoemulsión en la mortalidad de poblaciones de *T. urticae*. Media \pm desviación estándar.

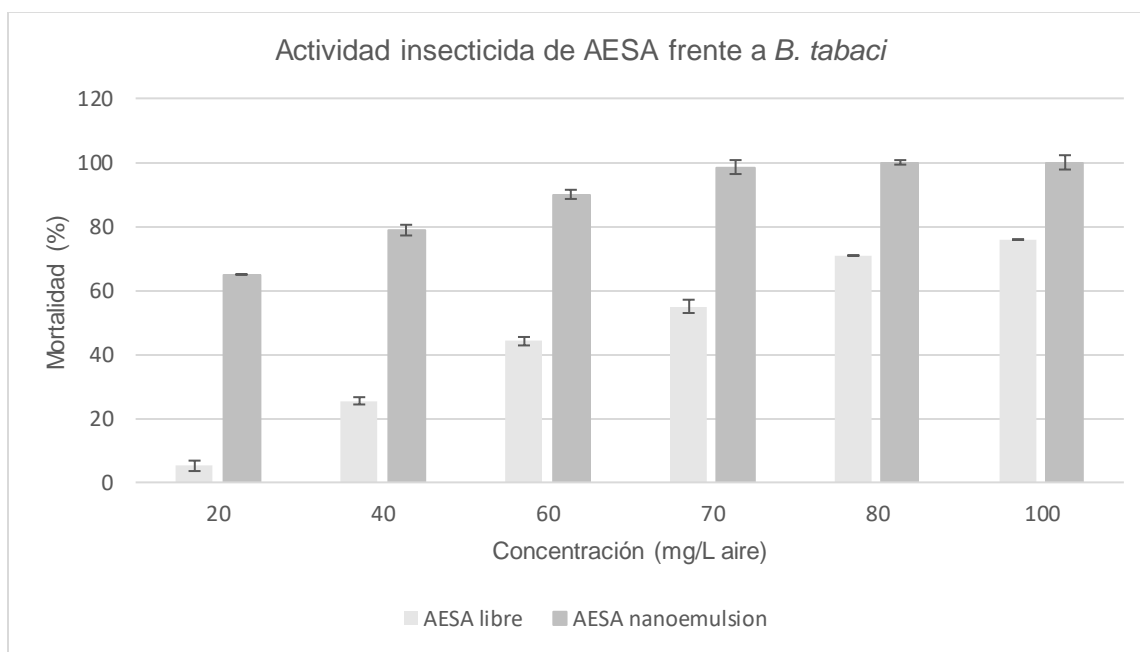


Figura 35. Comparación de los efectos del aceite esencial de *S. apiana* libre y en nanoemulsión en la mortalidad de poblaciones de *B. tabaci*. Media \pm desviación estándar.

7.3.5.3 Aceite esencial de *Salvia clevelandii*

De los tres aceites evaluados, el AESC exhibió la menor diferencia en actividad biocida entre el aceite libre y su nanoemulsión en el ensayo acaricida ([Fig. 36](#)), esta última requiriendo 14% menos concentración para ocasionar el 50% de mortalidad en la araña roja. No obstante, en la determinación de actividad insecticida, la concentración media efectiva de la nanoemulsión fue 77.5% menor que la requerida por el AESC libre ([Fig. 37](#)).

Los resultados de actividad biológica para AESC muestran la misma inclinación que el resto de los sistemas: bajo condiciones normales, la nanoemulsión presentó un desempeño superior al aceite libre, indicando, nuevamente, el potencial del nanosistema como vehículo de aplicación de sistemas volátiles e inestables.

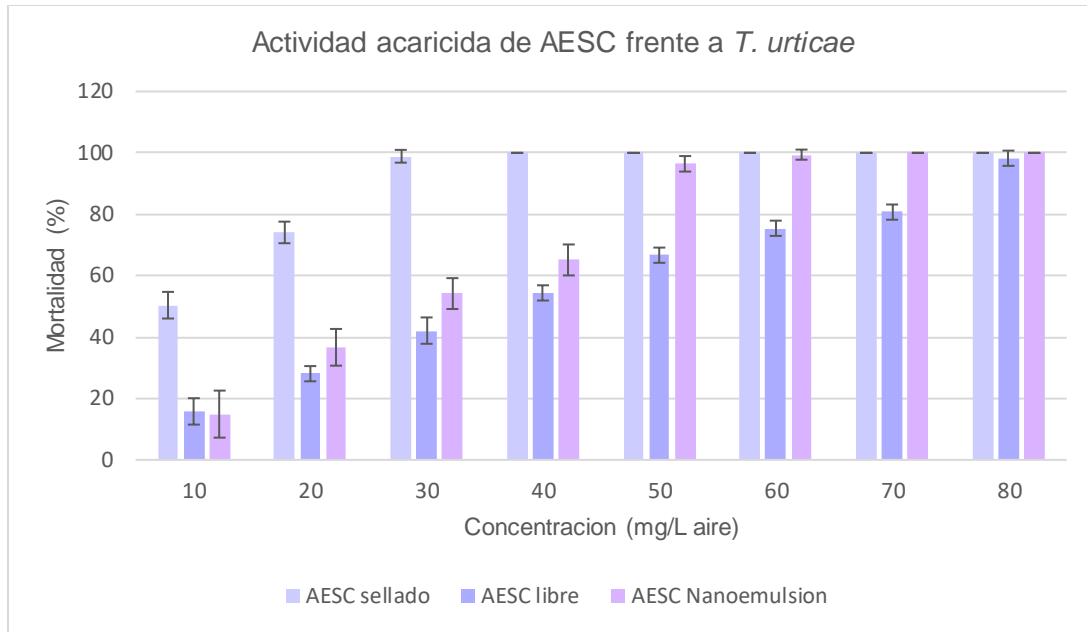


Figura 36. Comparación de los efectos del aceite esencial de *S. clevelandii* en cajas selladas, libre, y en nanoemulsión en la mortalidad de poblaciones de *T. urticae*. Media \pm desviación estándar.

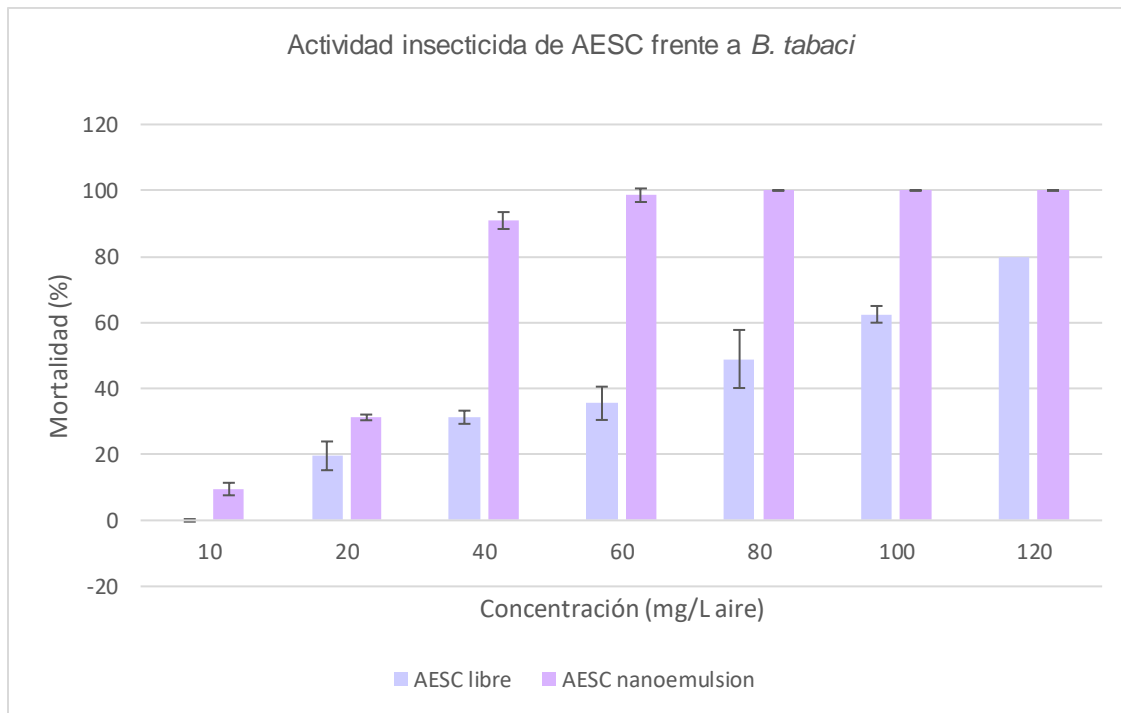


Figura 37. Comparación de los efectos del aceite esencial de *S. clevelandii* libre y en nanoemulsión en la mortalidad de poblaciones de *B. tabaci*. Media \pm desviación estándar.

7.3.5.4 Comparaciones finales de los resultados de actividad biocida

A manera de recapitulación, la actividad aficida se evaluó únicamente para eucaliptol. En los ensayos de actividad acaricida en condiciones selladas, AESC presentó mayor actividad, sin embargo, para los tres aceites, la CL₅₀ se encontró en el intervalo de 10 a 20 mg/ L aire en caja Petri. En condiciones libres, eucaliptol mostró una marcada disminución de su actividad biocida, que no se observó de la misma magnitud en los aceites esenciales. Los tres sistemas en nanoemulsión lograron retener mayor capacidad biocida que los sistemas libres.

En los ensayos de actividad insecticida en condiciones libres, si bien el monoterpeno eucaliptol exhibió su menor CL₅₀, no se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los tres aceites. Todos los aceites encapsulados en nanoemulsión requirieron menor concentración para causar mortalidad en los modelos biológicos.

La presencia de componentes potencialmente con mayor actividad biocida, la sinergia entre los componentes individuales, y las diferentes velocidades de volatilización pueden explicar los resultados aquí expuestos, con los aceites esenciales de *Salvia clevelandii* y *Salvia apiana* presentando una mayor capacidad acaricida en comparación con el monoterpeno aislado Eucaliptol.

De los tres aceites volátiles evaluados, eucaliptol presentó las mayores divergencias entre los sistemas sellado y libre, uno de los factores que podría explicar esta conducta es que este monoterpenoide es el compuesto más volátil de los evaluados, con una entalpia de vaporización (ΔH_{vap}) de 39.4 kJ/mol. AESA tiene como componentes mayoritarios a alcanfor con una ΔH_{vap} de 44.4 kJ/mol; por su parte los componentes mayoritarios del AESC presentan las menores velocidades de volatilización teóricas, con ΔH_{vap} de 47.0 kJ/mol y 50.6 kJ/mol para acetato de 2-feniletilo y linalool, respectivamente, coincidentemente, este sistema presentó las menores variaciones entre condiciones selladas y libre en la evaluación de actividad acaricida (24 h), aunque esto no fue observable en el ensayo de actividad insecticida con menor tiempo de exposición (9 h).

8. CONCLUSIONES



8. CONCLUSIONES

- Se generaron 3 nanoemulsiones de aceites volátiles mediante el método de baja energía de inversión catastrófica de fase. La nanoemulsión del monoterpeno eucaliptol, con una proporción o:s:w de 0.5:1:8.5, presentó tamaño promedio de partícula de 14.73 nm; la nanoemulsión de AESA con la misma proporción de componentes, arrojó un tamaño promedio de partícula de 14.78 nm, y para la nanoemulsión de AESC, con proporción o:s:w de 0.5:0.5:9, se observó un tamaño de partícula de 44.5 nm.
- Se evaluó la estabilidad de las nanoemulsiones frente al efecto de la gravedad por centrifugación y por análisis en el equipo Turbiscan. Las formulaciones finales NEE13, NESA1, y NESC14, no mostraron ningún signo de separación de fases ni migración importante de partículas, y presentaron variaciones en las señales de retrodispersión de máximo ± 4 .
- En la evaluación del efecto fitotóxico por fumigación, los tres aceites y sus respectivas nanoemulsiones mostraron mayor efecto en el crecimiento de la radícula que en la germinación de las semillas, y se observó una reducción en el índice de vigor de las semillas de hasta un 80%. La nanoemulsión de eucaliptol NEE13 presentó una reducción considerable en la fitotoxicidad en comparación con su contraparte libre, mientras que para los aceites esenciales y sus nanoemulsiones no se observaron diferencias importantes.

- La evaluación del efecto fitotóxico permitió descartar un incremento en la toxicidad por parte del sistema nanoencapsulado y de los componentes propios de las formulaciones.
- La aplicación fumigante de las nanoemulsiones de eucaliptol y los aceites esenciales resultó en una mayor mortalidad en la araña roja *T. urticae*, el pulgón del maíz *R. maidis*, y la mosquita blanca *B. tabaci*, en comparación con los aceites libres, disminuyendo hasta en un 79% la CL₅₀.
- Los resultados comparativos obtenidos en esta tesis sugieren que las nanoemulsiones proporcionan protección frente a la volatilización y degradación a compuestos volátiles como los monoterpenoides y aceites esenciales, permitiendo una adecuada exposición de las plagas, en tiempo y dosis, resultando en una mejora en la bioactividad.
- El incremento en la mortalidad de los tres artrópodos evaluados, perfila a los nanosistemas de aceites esenciales como potenciales vehículos para la aplicación de pesticidas botánicos. Se requieren estudios posteriores que permitan la evaluación del desempeño de estas formulaciones en condiciones de campo abierto y/o invernadero, y ensayos enzimáticos que ayuden en la elucidación de los mecanismos de acción como insecticidas.

9. REFERENCIAS



9. REFERENCIAS

1. Abdelatti, Z. A. S., & Hartbauer, M. (2020). "Plant oil mixtures as a novel botanical pesticide to control gregarious locusts". *Journal of Pest Science*. 93, 341–353. <https://doi.org/10.1007/s10340-019-01169-7>
2. Abdelgaleil, S. A. M., Badawy, M. E. I., Mahmoud, N. F., & Marei, A. E.-S. M. (2019). "Acaricidal activity, biochemical effects and molecular docking of some monoterpenes against two-spotted spider mite (*Tetranychus urticae* Koch)". *Pesticide Biochemistry and Physiology*. 156, 105-115. <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2019.02.006>
3. Abramson, C. I., Wanderley, P. A., Wanderley, M. J. A., Miná, A. J. S., & Baracho de Souza, O. (2006). "Effect of Essential Oil from Citronella and Alfazema on Fennel Aphids *Hyadaphis foeniculi* Passerini (Hemiptera: Aphididae) and its Predator *Cycloneda sanguinea* L. (Coleoptera: Coccinelidae)". *American Journal of Environmental Sciences*. 3, 9-10. <http://dx.doi.org/10.3844/ajessp.2007.9.10>
4. Adesanya, A. W., Lavine, M. D., Moural, T. W., Lavine, L. C., Zhu, F., & Walsh, D. B. (2021). Mechanisms and management of acaricide resistance for *Tetranychus urticae* in agroecosystems. *Journal of Pest Science*, 94(3), 639-663. <https://doi.org/10.1007/s10340-021-01342-x>
5. Afify, A. E. M., Ali, F., & Turkey, A. F. (2012). Control of *Tetranychus urticae* Koch by extracts of three essential oils of chamomile, marjoram and Eucalyptus. *Asian pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 2(1), 24-30. [https://doi.org/10.1016/s2221-1691\(11\)60184-6](https://doi.org/10.1016/s2221-1691(11)60184-6)
6. Agut, B., Pastor, V., Jaques, J. A., & Flors, V. (2018). Can Plant Defence Mechanisms Provide New Approaches for the Sustainable Control of the Two-Spotted Spider Mite *Tetranychus urticae*?. *International journal of molecular sciences*, 19(2), 614. <https://doi.org/10.3390/ijms19020614>
7. Ahmadi, Z., Saber, M., Akbari, A., & Mahdavinia, G. R. (2018). "Encapsulation of *Satureja hortensis* L. (Lamiaceae) in chitosan/TPP nanoparticles with enhanced acaricide activity against *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae)". *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 161, 111–119. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2018.05.051>
8. Alam, M. J., Ahmed, K. S., Mollah, M. R. A., Tareq, M. Z. and Chowdhury, M. M. I. (2015). Effect of spacing on mustard yield at Shibganj and Sadar upazila of Bogra district. *Bangladesh Journal of Environmental Science*, 28, 133-136.

9. Alam, Md., Mukta, L., Nahar, N., Haque, M., & Razib, S. (2020). Management practices of aphid (*Rhopalosiphum maidis*) in infested maize field. *Bangladesh Journal of Environmental Science*, Vol. 38, 2 23-28.
10. Ali, I. B. E. H., Chaouachi, M., Bahri, R., Chaieb, I., Boussaid, M., & Harzallah-Skhiri, F. (2015). Chemical composition and antioxidant, antibacterial, allelopathic and insecticidal activities of essential oil of *Thymus algeriensis* Boiss. et Reut. *Industrial Crops and Products*, 77, 631-639. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2015.09.046>
11. Ali, A. J., Tabanca, N., Demirci, B., Blythe, E. K., Ali, Z., Başer, K. H. C., & Khan, I. A. (2015). Chemical Composition and Biological Activity of Four *Salvia* Essential Oils and Individual Compounds against Two Species of Mosquitoes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 63(2), 447–456. <https://doi.org/10.1021/jf504976f>
12. Ali, E. O. M, Shakil, N. A., Rana, V. S., Sarkar, D. J., Majumder, S., Kaushik, P., Bhushan Singh, B., Kumar, J. (2017). “Antifungal activity of nano emulsions of neem and citronella oils against phytopathogenic fungi, *Rhizoctonia solani* and *Sclerotium rolfsii*”. *Industrial Crops and Products*. 108, 379-387. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2017.06.061>
13. Ali, A. M., & Ibrahim, A. M. A. (2018). “Castor and camphor essential oils alter hemocyte populations and induce biochemical changes in larvae of *Spodoptera littoralis* (Boisduval) (Lepidoptera: Noctuidae)”. *Journal of Asia-Pacific Entomology*. 21, 631–637. <https://doi.org/10.1016/j.aspen.2018.04.005>
14. Almadiy, A. A. (2021). Insecticidal and acetylcholinesterase inhibitory activities of *Achillea biebersteinii* essential oil and its nanoemulsion and major monoterpenes against *Tribolium castaneum*. *Journal of Asia-pacific Entomology*, 24(4), 1170–1178. <https://doi.org/10.1016/j.aspen.2021.11.002>
15. Almadiy, A. A., Nenaah, G. E., & Albogami, B. (2022). Bioactivity of *Deverra tortuosa* essential oil, its nanoemulsion, and phenylpropanoids against the cowpea weevil, a stored grain pest with eco-toxicological evaluations. *Environmental Science and Pollution Research*, 29(43), 65112-65127. <https://doi.org/10.1007/s11356-022-20404-w>
16. Andrés, M. F., Rossa, G. E., Cassel, E., Vargas, R. M. F., Santana, O., Díaz, C. E., & González-Coloma, A. (2017). “Biocidal effects of *Piper hispidinervum* (Piperaceae) essential oil and synergism among its main components”. *Food and Chemical Toxicology*. 109, 1086–1092. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2017.04.017>
17. Arabpoor, B., Yousefi, S., Weisany, W., & Ghasemlou, M. (2020). “Multifunctional coating composed of *Eryngium campestre* L. essential oil encapsulated in nano-chitosan to prolong

- the shelf-life of fresh cherry fruits”. *Food Hydrocolloids*. 111, 106394. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2020.106394>
18. Atwood, H. L., Klose, M. K. (2009). “Neuromuscular Transmission Modulation at Invertebrate Neuromuscular Junctions”. *Encyclopedia of Neuroscience*, 671–690. <http://dx.doi.org/10.1016/B978-008045046-9.01262-6>
 19. Ayvaz, A., Sagdic, O., Karaborklu, S., & Ozturk, I. (2010). “Insecticidal activity of the essential oils from different plants against three stored-product insects”. *Journal of Insect Science*. 10, 1-13. <https://doi.org/10.1673/031.010.2101>
 20. Badawy, M. E. I., El-Arami, S. a. A., & Abdelgaleil, S. a. M. (2010). Acaricidal and quantitative structure activity relationship of monoterpenes against the two-spotted spider mite, *Tetranychus urticae*. *Experimental and Applied Acarology*, 52(3), 261–274. <https://doi.org/10.1007/s10493-010-9363-y>
 21. Badawy, M. E. I., Abdelgaleil, S. A. M., Mahmoud, N. F., & Marei, A. E. S. M. (2018). Preparation and characterizations of essential oil and monoterpene nanoemulsions and acaricidal activity against two-spotted spider mite (*Tetranychus urticae* Koch). *International Journal of Acarology*, 44(7), 330-340. <https://doi.org/10.1080/01647954.2018.1523225>
 22. Bai, L., Huan, S., Gu, J., & McClements, D. J. (2016). “Fabrication of oil-in-water nanoemulsions by dual-channel microfluidization using natural emulsifiers: Saponins, phospholipids, proteins, and polysaccharides”. *Food Hydrocolloids*. 61, 703–711. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2016.06.035>
 23. Basaid, K., Mayad, E. H., Bouharroud, R., Furze, J. N., Benjlil, H., de Oliveira, A. L., & Chebli, B. (2020). “Biopesticidal value of *Senecio glaucus* subsp. *coronopifolius* essential oil against pathogenic fungi, nematodes, and mites”. *Materials Today: Proceedings*. 27, 3082-3090. <https://doi.org/10.1016/j.matpr.2020.03.588>
 24. Beier, R. C., Byrd, J. C., Kubena, L. F., Hume, M. E., McReynolds, J. L., Anderson, R. L., & Nisbet, D. J. (2014). Evaluation of linalool, a natural antimicrobial and insecticidal essential oil from basil: Effects on poultry. *Poultry Science*, 93(2), 267–272. <https://doi.org/10.3382/ps.2013-03254>
 25. Belay, D. K., Huckaba, R. M., Ramirez, A. M., Rodrigues, J. C. V. & Foster, J. E. (2012). Insecticidal Control of Bemisia tabaci (Hemiptera: Aleyrodidae) Transmitting Carlavirus on Soybeans and Detection of the Virus in Alternate Hosts. *Crop Protection*, 35, 53-57.
 26. Benddine, H., Zaid, R., Babaali, D., & Daoudi-Hacini, S. (2022). “Biological activity of essential oils of *Myrtus communis* (Myrtaceae, Family) and *Foeniculum vulgare* (Apiaceae, Family) on open fields conditions against corn aphids *Rhopalosiphum maidis* (Fitch, 1856)

- in western Algeria. *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences*, 22(2), 78-88. <https://doi.org/10.1016/j.jssas.2022.07.001>
27. Benelli, G., Flamini, G., Canale, A., Cioni, P. L., & Conti, B. (2012). "Toxicity of some essential oil formulations against the Mediterranean fruit fly *Ceratitis capitata* (Wiedemann) (Diptera Tephritidae)". *Crop Protection*. 42, 223-229. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2012.05.024>
28. Benelli, G., Pavela, R., Petrelli, R., Cappellacci, L., Canale, A., Senthil-Nathan, S., & Maggi, F. (2018). "Not just popular spices! Essential oils from *Cuminum cyminum* and *Pimpinella anisum* are toxic to insect pests and vectors without affecting non-target invertebrates". *Industrial Crops and Products*. 124, 236–243. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.07.048>
29. (2)Benelli, G., Pavela, R., Petrelli, R., Cappellacci, L., Santini, G., Fiorini, D., Sut, S., Dall'Acqua, S., Canale, A., & Maggi, F. (2018). "The essential oil from industrial hemp (*Cannabis sativa* L.) by-products as an effective tool for insect pest management in organic crops". *Industrial Crops and Products*. 122, 308–315. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.05.032>
30. Benelli, G., Pavela, R., Maggi, F., Nkuimi Wandjou, J. G., Yvette Fofie, N. G. B., Koné-Bamba, D., Sagratini, G., Vittorid, S., & Caprioli, G. (2019). "Insecticidal activity of the essential oil and polar extracts from *Ocimum gratissimum* grown in Ivory Coast: Efficacy on insect pests and vectors and impact on non-target species". *Industrial Crops and Products*. 132, 377–385. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.02.047>
31. Borek, T. T., Hochrien, J. M., & Irwin, A. N. (2006). Composition of the essential oil of white sage, *Salvia apiana*. *Flavour and Fragrance Journal*, 21(3), 571–572. <https://doi.org/10.1002/ffj.1618>
32. Bouchemal, K., Briançon, S., Perrier, É., & Fessi, H. (2004). Nano-emulsion formulation using spontaneous emulsification: solvent, oil and surfactant optimisation. *International Journal of Pharmaceutics*, 280(1–2), 241–251. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2004.05.016>
33. Bravim dos Santos, A. T., Zanuncio Junior, J. S., Parreira, L. A., Pedra de Abreu, K. M., de Oliveira Bernardes, C., Romário de Carvalho, J., Menini, L. (2021). "Chemical identification and insecticidal effect of *Tephrosia vogelii* essential oil against *Cerosipha forbesi* in strawberry crop". *Crop Protection*. 139, 105405. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2020.105405>

34. Çalmaşur, Ö., Aslan, İ., & Şahin, F. (2006). "Insecticidal and acaricidal effect of three Lamiaceae plant essential oils against *Tetranychus urticae* Koch and *Bemisia tabaci* Genn.". *Industrial Crops and Products*. 23, 140–146. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2005.05.003>
35. Cao, J.-Q., Guo, S.-S., Wang, Y., Pang, X., Geng, Z.-F., & Du, S.-S. (2018). "Toxicity and repellency of essential oil from *Evodia lenticellata* Huang fruits and its major monoterpenes against three stored-product insects". *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 160, 342–348. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2018.05.054>
36. Capinera, J. L. (2001). Order Homoptera—Aphids, Leaf- and Planthoppers, Psyllids and Whiteflies. In J. L. Capinera (Ed.) *Handbook of Vegetable Pests*, (pp. 279–346). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-012158861-8/50009-0>
37. Cárdenas-Ortega, N. C., González-Chávez, M. M., Figueroa-Brito, R., Flores-Macías, A., Romo-Asunción, D., Martínez-González, D. E., Pérez-Moreno, V., & Ramos-López, M. A. (2015). Composition of the Essential Oil of *Salvia ballotiflora* (Lamiaceae) and Its Insecticidal Activity. *Molecules*, 20(5), 8048-8059. <https://doi.org/10.3390/molecules20058048>
38. Carena, M. J., & Glogoza, P. (2004). Resistance of maize to the corn leaf aphid: A review. *Maydica*, 49(4), 241-254.
39. Castillo-Morales, R. M., Carreño Otero, A. L., Mendez-Sanchez, S. C., Da Silva, M. A. N., Stashenko, E. E., & Duque, J. E. (2019). "Mitochondrial affectation, DNA damage and AChE inhibition induced by *Salvia officinalis* essential oil on *Aedes aegypti* larvae". *Comparative Biochemistry and Physiology Part C*. 221, 29–37. <https://doi.org/10.1016/j.cbpc.2019.03.006>
40. Cavalcanti, S.C.H., Niculau, E. dos S., Blank, A.F., Câmara, C.A.G., Araújo, I.N., & Alves, P.B. (2010). "Composition and acaricidal activity of *Lippia sidoides* essential oil against two-spotted spider mite (*Tetranychus urticae* Koch)". *Bioresource Technology*. 101, 829–832. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2009.08.053>
41. Celia, C., Trapasso, E., Cosco, D., Paolino, D., & Fresta, M. (2009). "Turbiscan Lab® Expert analysis of the stability of ethosomes® and ultradeformable liposomes containing a bilayer fluidizing agent". *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 72(1), 155-160. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2009.03.007>
42. Cheng, Z.-H., Fan, F.-F., Zhao, J.-Z., Li, R., Li, S.-C., Zhang, E.-J., Liu, Y.-K., Wang, J.-Y., Zhu, X.-R., & Tian, Y.-M. (2020). "Optimization of the microemulsion formulation of curcuma oil and evaluation of its acaricidal efficacy against *Tetranychus cinnabarinus* (Boisduval) (Acari: Tetranychidae)". *Journal of Asia-Pacific Entomology*. 23, 1014-1022. <https://doi.org/10.1016/j.aspen.2020.08.003>

43. Chiluwal, K., Kim, J., Bae, S. D., & Park, C. G. (2017). "Essential oils from selected wooden species and their major components as repellents and oviposition deterrents of *Callosobruchus chinensis* (L.)". *Journal of Asia-Pacific Entomology*. 20, 1447–1453. <https://doi.org/10.1016/j.aspen.2017.11.011>
44. Choradiya, B., & Patil, S. B. (2021). A comprehensive review on nanoemulsion as an ophthalmic drug delivery system. *Journal of Molecular Liquids*, 339, 116751. <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2021.116751>
45. Chrysargyris, A., Laoutari, S., Litskas, V. D., Stavrinides, M.C., & Tzortzakis, N. (2016). "Effects of water stress on lavender and sage biomass production, essential oil composition and biocidal properties against *Tetranychus urticae* (Koch)". *Scientia Horticulturae*. 213, 96–103. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2016.10.024>
46. Costa, E. C. C., Christofoli, M., Costa, G. C. de S., Peixoto, M. F., Fernandes, J. B., Forim, M. R., de Castro Pereira, K., Guimarães Silva, F., & Cazal, C. de M. (2017). "Essential oil repellent action of plants of the genus *Zanthoxylum* against *Bemisia tabaci* biotype B (Homoptera: Aleyrodidae)". *Scientia Horticulturae*. 226, 327–332. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2017.08.041>
47. Cruz Gasca, I. E. (2018). "Evaluación de extractos y aceites esenciales de plantas del género salvia para el control de plagas agrícolas". Universidad Autónoma de Baja California. Tijuana, B.C., México.
48. Czerniewicz, P., Chrzanowski, G., Sprawka, I., & Sytykiewicz, H. (2018). "Aphicidal activity of selected Asteraceae essential oils and their effect on enzyme activities of the green peach aphid, *Myzus persicae* (Sulzer)". *Pesticide Biochemistry and Physiology*. 145, 84–92. <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2018.01.010>
49. Czosnek, H., Gorovits, R., & Ghanim, M. (2021). Chapter 8- Factors controlling the fate of tomato yellow leaf curl virus (TYLCV) in its vector, the whitefly vector *Bemisia tabaci*. In R. K. Gaur, S. M. P. Khurana, P. Sharma, T. Hohn (Eds.) *Plant Virus-Host Interaction* (2nd, pp. 231–266). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-821629-3.00001-4>
50. Danaei, M., Dehghankhold, M., Ataie, S., Davarani, F. H., Javanmard, R., Dokhani, A., Khorasani, S., & Mozafari, M. (2018). Impact of Particle Size and Polydispersity Index on the Clinical Applications of Lipidic Nanocarrier Systems. *Pharmaceutics*, 10(2), 57. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics10020057>
51. Das, S., Singh, V. K., Dwivedy, A. K., Chaudhari, A. K., Upadhyay, N., Singh, P., Sharma, S., & Dubey, N. K. (2019). "Encapsulation in chitosan-based nanomatrix as an efficient green technology to boost the antimicrobial, antioxidant and in situ efficacy of *Coriandrum*

- sativum* essential oil". *International Journal of Biological Macromolecules*. 133, 294-305. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.04.070>
52. De Andrade Brito, F., Bacci, L., da Silva Santana, A., Elias da Silva, J., Aparecida de Castro Nizio, D., Cesar de Lima Nogueira, P., Arrigoni-Blank, M. de F., Ramos Melo, C., Oliveira de Melo, J., & Blank, A. F. (2020). "Toxicity and behavioral alterations caused by essential oils of *Croton tetradenius* and their major compounds on *Acromyrmex balzani*". *Crop Protection*. 137, 105259. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2020.105259>
 53. De Freitas Silva, M., Paulo Campos, V., Barros, A. F., Pereira da Silva, J. C., Pedroso, M. P., Silva, F. de J., Alves Gomez, V., & Justino, J. C. (2020). "Medicinal plant volatiles applied against the root-knot nematode *Meloidogyne incognita*". *Crop Protection*. 130, 105057. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2019.105057>
 54. Donsì, F., Annunziata, M., Sessa, M., & Ferrari, G. (2011). "Nanoencapsulation of essential oils to enhance their antimicrobial activity in foods". *LWT - Food Science and Technology*. 44, 1908–1914. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2011.03.003>
 55. Edde, P. A. (2022). Arthropod pests of maize *Zea mays* (L.). *Field Crop Arthropod Pests of Economic Importance*, 410-465. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-818621-3.00008-2>
 56. Elbert, A., Nauen, R., Cahill, M., Devonshire, A.L., Scarr, A.W., Sone, S., & Steffens, R.J. (1996). Resistance management with chloronicotinyl insecticides using imidacloprid as an example. *Pflanzenschutz-Nachrichten Bayer*. 270. 49: 5-54.
 57. Enan, E. (2001). "Insecticidal activity of essential oils: octopaminergic sites of action". *Comparative Biochemistry and Physiology Part C*. 130, 325-337. [https://doi.org/10.1016/S1532-0456\(01\)00255-1](https://doi.org/10.1016/S1532-0456(01)00255-1)
 58. Euch, S. K. E, Hassine, D. B., Cazaux, S., Bouzouita, N., & Bouajila, J. (2018). "*Salvia officinalis* essential oil: Chemical analysis and evaluation of anti-enzymatic and antioxidant bioactivities". *South African Journal of Botany*. 120, 253–260. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2018.07.010>
 59. FAO (1995). *Principles of plant quarantine as related to international trade*, 1995. ISPM Pub. No. 1, FAO, Rome.
 60. Fan, W., Yan, W., Xu, Z., & Ni, H. (2012). "Formation mechanism of monodisperse, low molecular weight chitosan nanoparticles by ionic gelation technique". *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. 90, 21–27. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2011.09.042>
 61. FDA, U.S. Food and Drug Administration. (2019). "Substances generally recognized as safe". Retrieved on October 11 2020 from:
 62. <http://www.accessdata.fda.gov/scripts/cdrh/cfdocs/CFRSearch.cfm?fr=182.20>

63. Fishel., F. M. (2018) "Pesticides and Cholinesterase". *IFAS Extension. University of Florida*. Publication #PI242.
64. Franzios, G., Mirotsoy, M., Hatzia Apostolou, E., Kral, J., Scouras, Z. G., & Mavragani-Tsipidou, P. (1997). "Insecticidal and Genotoxic Activities of Mint Essential Oils". *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 45, 2690-2694, <https://doi.org/10.1021/jf960685f>
65. Fu, X., Ma, Q., Yang, F., Zhang, C., Zhao, X., Chang, F., & Han, L. (2023) Crop pest image recognition based on the improved ViT method, *Information Processing in Agriculture*, <https://doi.org/10.1016/j.inpa.2023.02.007>
66. Fuchsberg, J. D., Yong, T., Losey, J. E., Carter, M., & Hoffmann, M. R. (2007). Evaluation of corn leaf aphid (*Rhopalosiphum maidis*; Homoptera: Aphididae) honeydew as a food source for the egg parasitoid *Trichogramma ostrinae* (Hymenoptera: Trichogrammatidae). *Biological Control*, 40(2), 230-236. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2006.10.009>
67. Gashout, H. A., Guzman-Novoa, E., Goodwin, P. H., Correa-Benítez, A. (2020). "Impact of sublethal exposure to synthetic and natural acaricides on honey bee (*Apis mellifera*) memory and expression of genes related to memory". *Journal of Insect Physiology*. 121, 104014. <https://doi.org/10.1016/j.jinsphys.2020.104014>
68. Gharsan, F. N., Kamel, W. M., AlGhamdi, T. M., Alghamdi, A. A., Althagafi, A. O., Aljassim, F., & Al-Ghamdi, S. N. (2022). Toxicity of citronella essential oil and its nanoemulsion against the sawtoothed grain beetle *Oryzaephilus surinamensis* (Coleoptera: Silvanidae). *Industrial Crops and Products*, 184, 115024. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2022.115024>
69. Guo, L., Lv, H., Tan, D., Liang, N., Guo, C., & Chu, D. (2020). Resistance to insecticides in the field and baseline susceptibility to cyaniliprole of whitefly *Bemisia tabaci* (Gennadius) in China. *Crop Protection*, 130, 105065. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2019.105065>
70. Gupta, A., Sharma, S., & Naik, S. N. (2011). "Biopesticidal value of selected essential oils against pathogenic fungus, termites, and nematodes". *International Biodeterioration & Biodegradation*. 65, 703–707. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2010.11.018>
71. Hallahan, D. (2000). Monoterpenoid biosynthesis in glandular trichomes of labiate plants. *Advances in Botanical Research*, 77-120. [https://doi.org/10.1016/s0065-2296\(00\)31007-2](https://doi.org/10.1016/s0065-2296(00)31007-2)
72. Hana, S., & Lange, A. B. (2017). "Octopamine and tyramine regulate the activity of reproductive visceral muscles in the adult female blood-feeding bug, *Rhodnius prolixus*". *The Journal of Experimental Biology*. 220(10), 1830–1836. <https://doi.org/10.1242/jeb.156307>

73. Harris, A. L., Ullah, R., & Fountain, M. T. (2017). The evaluation of extraction techniques for *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae) from apple (*Malus domestica*) and cherry (*Prunus avium*) leaves. *Experimental & applied acarology*, 72(4), 367–377. <https://doi.org/10.1007/s10493-017-0154-6>
74. Hasheminejad, N., Khodaiyan, F., Safari, M. (2018). “Improving the antifungal activity of clove essential oil encapsulated by chitosan nanoparticles”. *Food Chemistry*. 275, 113-122. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.09.085>
75. Heckert-Bastos, L. P., Vicente, J., Corrêa dos Santos, C. H., Geraldo de Carvalho, M., & Garcia-Rojas, E. E. (2019). “Encapsulation of black pepper (*Piper nigrum* L.) essential oil with gelatin and sodium alginate by complex coacervation”. *Food Hydrocolloids*. 102, 105605. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.126345>
76. Hogenhout, S. A., Ammar, El-D., Whitefield, A. E. & Redinaugh, M. G. (2008) Insect vector interactions with persistently transmitted viruses. *Annual Review of Phytopathology*, 46:327–359.
77. Hosseini, S. M., Hosseini, H., Mohammadifar, M. A., Mortazavian, A. M., Mohammadi, A., Khosravi-Darani, K., Shojaee-Aliabadi, S., Dehghan, S., Khaksar, R. (2013). “Incorporation of essential oil in alginate microparticles by multiple emulsion/ionic gelation process”. *International Journal of Biological Macromolecules*. 62, 582–588. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2013.09.054>
78. Hussein, H. S., Salem, M. Z. M., & Soliman, A. M. (2017). “Repellent, attractive, and insecticidal effects of essential oils from *Schinus terebinthifolius* fruits and *Corymbia citriodora* leaves on two whitefly species, *Bemisia tabaci*, and *Trialeurodes ricini*”. *Scientia Horticulturae*. 216, 111–119. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2017.01.004>
79. Jafari, S. M. (2017). “An overview of encapsulation techniques and their classification”. *Nanoencapsulation Technologies for the Food and Nutraceuticals Industries*. 1-34. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-809436-5.00001-X>
80. Jaiswal, M., Dudhe, R., & Sharma, P. K. (2014). Nanoemulsion: an advanced mode of drug delivery system. *3 Biotech*, 5(2), 123–127. <https://doi.org/10.1007/s13205-014-0214-0>
81. Jankowska, M., Rogalska, J., Wyszowska, J., & Stankiewicz, M. (2017). “Molecular Targets for Components of Essential Oils in the Insect Nervous System—A Review”. *Molecules*. 23, 34. <https://doi.org/10.3390/molecules23010034>
82. Johnston, N., Paris, T., Paret, M. L., Freeman, J., & Martini, X. (2022). Repelling whitefly (*Bemisia tabaci*) using limonene-scented kaolin: A novel pest management strategy. *Crop Protection*, 154, 105905. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2022.105905>

83. Jonckheere, W., Dermauw, W., Zhurov, V. V., Wybouw, N., Van Den Bulcke, J., Villarroel, C. A., Greenhalgh, R., Grbic, M., Schuurink, R. C., Tirry, L., Baggerman, G., Clark, R. F., Kant, M. R., Vanholme, B., Menschaert, G., & Van Leeuwen, T. (2016). The Salivary Protein Repertoire of the Polyphagous Spider Mite *Tetranychus urticae*: A Quest for Effectors. *Molecular & Cellular Proteomics*, 15(12), 3594–3613. <https://doi.org/10.1074/mcp.m116.058081>
84. Kalaiselvi, D., Mohankumar, A., Shanmugam, G., Thirupathi, G., Nivitha, S., & Sundararaj, P. (2019). “Altitude-related changes in the phytochemical profile of essential oils extracted from *Artemisia nilagirica* and their nematocidal activity against *Meloidogyne incognita*”. *Industrial Crops and Products*. 139, 111472. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.111472>
85. Kang, J. S., Kim, E., Lee, S. H., & Park, I.-K. (2013). “Inhibition of acetylcholinesterases of the pinewood nematode, *Bursaphelenchus xylophilus*, by phytochemicals from plant essential oils”. *Pesticide Biochemistry and Physiology*. 105, 50–56. <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2012.11.007>
86. Katiki, L. M., Barbieri, A. M. E., Araujo, R. C., Veríssimo, C. J., Louvandini, H., & Ferreira, J. F. S. (2017). “Synergistic interaction of ten essential oils against *Haemonchus contortus* *in vitro*”. *Veterinary Parasitology*. 243, 47-51. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2017.06.008>
87. Kim, S.-I., Park, C., Ohh, M.-H., Cho, H.-C., Ahn, Y.-J. (2003). “Contact and fumigant activities of aromatic plant extracts and essential oils against *Lasioderma serricorne* (Coleoptera: Anobiidae)”. *Journal of Stored Products Research*. 39, 11–19. [https://doi.org/10.1016/s0022-474x\(02\)00013-9](https://doi.org/10.1016/s0022-474x(02)00013-9)
88. Kim, S.I., Chae, S.H., Youn, H.S., Yeon, S.H., & Ahn, Y.J., (2011). “Contact and fumigant toxicity of plant essential oils and efficacy of spray formulations containing the oils against B- and Q-biotypes of *Bemisia tabaci*”. *Pest Management Science*. 67, 1093–1099. <https://doi.org/10.1002/ps.2152>
89. Kim, S.-W., Kang, J., & Park, I.-K. (2013). “Fumigant toxicity of *Apiaceae* essential oils and their constituents against *Sitophilus oryzae* and their acetylcholinesterase inhibitory activity”. *Journal of Asia-Pacific Entomology*. 16, 443-448. <https://doi.org/10.1016/j.aspen.2013.07.002>
90. Kim, Y. H., Lee, S. H. (2018). “Invertebrate acetylcholinesterase: insights into their evolution and non-classical functions”. *Journal of Asia-Pacific Entomology*. 21, 186-195.
91. Kimbaris, A.C., Papachristos, D.P., Michaelakis, A., Martinou, A.F., & Polissiou, M.G. (2010). “Toxicity of plant essential oil vapours to aphid pests and their coccinellid predators”.

- Biocontrol Science and Technology*. 20, 411–422.
<https://doi.org/10.1080/09583150903569407>
92. Kiran, S., & Prakash, B. (2015). Toxicity and biochemical efficacy of chemically characterized *Rosmarinus officinalis* essential oil against *Sitophilus oryzae* and *Oryzaephilus surinamensis*. *Industrial Crops and Products*, 74, 817-823. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2015.05.073>
93. Kostyukovsky, M., Rafaeli, A., Gileadi, C., Demchenko, N., & Shaaya, E. (2002). “Activation of octopaminergic receptors by essential oil constituents isolated from aromatic plants: possible mode of action against insect pests”. *Pest Management Science*. 58, 1101-1106. <https://doi.org/10.1002/ps.548>
94. Krol, A., Kokotkiewicz, A., & Luczkiewicz, M. (2021). White Sage (*Salvia apiana*)—a Ritual and Medicinal Plant of the Chaparral: Plant Characteristics in Comparison with Other *Salvia* Species. *Planta Medica*, 88(08), 604–627. <https://doi.org/10.1055/a-1453-0964>
95. Laborda, R., Manzano, I., Gamón, M., Gavidia, I., & Pérez-Bermúdez, P., Boluda, R. (2013). “Effects of *Rosmarinus officinalis* and *Salvia officinalis* essential oils on *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae)”. *Industrial Crops and Products*. 48, 106–110. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2013.04.011>
96. Lachman L., DeLuca P. (1976) Kinetic principles and stability testing. The theory and practice of industrial pharmacy, 2nd ed. Philadelphia. Lea and Febiger.
97. Lamari, A., Teyeb, H., Cheikh, H. B., Douki, W., & Neffati, M. (2014). Chemical Composition and Insecticidal Activity of Essential Oil of *Salvia officinalis*L. Cultivated in Tunisia. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 17(3), 506-512. <https://doi.org/10.1080/0972060x.2013.764197>
98. Lerda, M., Litvak, M., & Monson, R. (1994). “Plant chemical defense: monoterpenes and the growth-differentiation balance hypothesis”. *Trends in Ecology & Evolution*. 9, 58–61. [https://doi.org/10.1016/0169-5347\(94\)90269-0](https://doi.org/10.1016/0169-5347(94)90269-0)
99. Li, Y., Wu, C.-L., Liu, J., Zhu, Y., Zhang, X.-Y., Jiang, L.-Z., Qi, B.-K., Zhang, X.-N., Wang, Z.-J., & Teng, F. (2018). “Soy Protein Isolate-Phosphatidylcholine Nanoemulsions Prepared Using High-Pressure Homogenization”. *Nanomaterials*. 8, 307. <https://doi.org/10.3390/nano8050307>
100. Li, A. S., Iijima, A., Huang, J., Li, Q. X., & Chen, Y. (2020). “Putative Mode of Action of the Monoterpenoids Linalool, Methyl Eugenol, Estragole, and Citronellal on Ligand-Gated Ion Channels”. *Engineering*. 6, 541-545. <https://doi.org/10.1016/j.eng.2019.07.027>

101. Li, Y., Mbata, G. N., Simmons, A. M., & Punnuri, S. (2022). Susceptibility of snap bean cultivars to the sweetpotato whitefly, *Bemisia tabaci*, in the southern United States. *Crop Protection*, 106022. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2022.106022>
102. Liu, C. H., Mishra, A. K., Tan, R. X., Tang, C., Yang, H., & Shen, Y. F. (2006). "Repellent and insecticidal activities of essential oils from *Artemisia princeps* and *Cinnamomum camphora* and their effect on seed germination of wheat and broad bean". *Bioresource Technology*. 97, 1969–1973. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2005.09.002>
103. Liu, X. C., Hu, J. F., Zhou, L., & Liu, Z. L. (2014). Evaluation of fumigant toxicity of essential oils of Chinese medicinal herbs against *Bemisia tabaci*. . . *Journal of Entomology and Zoology Studies*, 2, 164-169.
104. Liu, J., Hua, J., Qu, B., Guo, X., Wang, Y., Meini, S., & Luo, S. (2021). Insecticidal Terpenes From the Essential Oils of *Artemisia nakaii* and Their Inhibitory Effects on Acetylcholinesterase. *Frontiers in Plant Science*, 12. <https://doi.org/10.3389/fpls.2021.720816>
105. López, A., Castro, S., Andina, M. J., Ures, X., Munguía, B., Llabot, J. M., Elder, H., Dellacassa, E., Palma, S., & Domínguez, L. (2014). "Insecticidal activity of microencapsulated *Schinus molle* essential oil". *Industrial Crops and Products*. 53, 209–216. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2013.12.038>
106. Lummis, S. C. R., & Sattelle, D. B. (1985). "Insect central nervous system γ -aminobutyric acid". *Neuroscience Letters*. 60, 13–18. [https://doi.org/10.1016/0304-3940\(85\)90374-X](https://doi.org/10.1016/0304-3940(85)90374-X)
107. Mahmoudvand, M., Abbasipour, H., Hosseinpour, M. H., Rastegar, F., Basij, M. (2011). "USING SOME PLANT ESSENTIAL OILS AS NATURAL FUMIGANTS AGAINST ADULTS OF *CALLOSOBRUCHUS MACULATUS* (F.) (COLEOPTERA: BRUCHIDAE)". *Munis Entomology & Zoology Journal*. 6, 150-154.
108. Mancuso, A., Cristiano, M. C., Fresta, M., Torella, D., & Paolino, D. (2021). "Positively Charged Lipid as Potential Tool to Influence the Fate of Ethosomes". *Applied Sciences*, 11(15), 7060. <https://doi.org/10.3390/app11157060>
109. Mansour, S. A., El-Sharkawy, A. Z., & Abdel-Hamid, N. A. (2015). "Toxicity of essential plant oils, in comparison with conventional insecticides, against the desert locust, *Schistocerca gregaria* (Forskål)". *Industrial Crops and Products*. 63, 92–99. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2014.10.038>
110. Mar, J. M., Silva, L. S., Azevedo, S. G., França, L. P., Goesa, A. F. F., dos Santos, A. L., Bezerra, J. de A., Nunomura, R. de C. S., Machado, M. B., & Sanches, A. A. (2018). "*Lippia organoides* essential oil: An efficient alternative to control *Aedes aegypti*, *Tetranychus*

- urticae* and *Cerataphis lataniae*". *Industrial Crops & Products*. 111, 292–297. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2017.10.033>
111. Martínez-Avila, O., Sánchez, A., Font, X., & Barrena, R. (2018). Bioprocesses for 2-phenylethanol and 2-phenylethyl acetate production: current state and perspectives. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 102(23), 9991-10004. <https://doi.org/10.1007/s00253-018-9384-8>
112. Marzuki, N. H. C., Wahab, R. A., & Hamid, M. A. (2019). An overview of nanoemulsion: concepts of development and cosmeceutical applications. *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, 33(1), 779–797. <https://doi.org/10.1080/13102818.2019.1620124>
113. Mbata, G. N., & Payton, M. E. (2013). "Effect of monoterpenoids on oviposition and mortality of *Callosobruchus maculatus* (F.) (Coleoptera: Bruchidae) under hermetic conditions". *Journal of Stored Products Research*. 53, 43–47. <https://doi.org/10.1016/j.jspr.2013.02.001>
114. Mehalaine, S., & Chenchouni, H. (2021). Quantifying how climatic factors influence essential oil yield in wild-growing plants. *Arabian Journal of Geosciences*, 14(13). <https://doi.org/10.1007/s12517-021-07582-6>
115. Melo, C. R., Blank, A. F., Oliveira, B. M. S., Santos, A. C. C., Cristaldo, P. F., Araújo, A. P. A., Bacci, L. (2021). "Formicidal activity of essential oils of *Myrcia lundiana* chemotypes on *Acromyrmex balzan*". *Crop Protection*. 139, 105343. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2020.105343>
116. Miastkowska, M., & Śliwa, P. (2020). "Influence of Terpene Type on the Release from an O/W Nanoemulsion". *Experimental and Theoretical Studies*. *Molecules*, 25(12), 2747. <https://doi.org/10.3390/molecules25122747>
117. Mizunami, M., & Nishino, H. (2013). "Invertebrate Learning and Memory". *Handbook of Behavioral Neuroscience*.
118. Muller, C.H. The role of chemical inhibition (allelopathy) in vegetational composition. *Bull. Torrey Bot. Club*, 1966, 93, 332-351.
119. Nachon, F., Rosenberry, T. L., Silman, I., & Sussman, J. L. (2020). A Second Look at the Crystal Structures of *Drosophila melanogaster* Acetylcholinesterase in Complex with Tacrine Derivatives Provides Insights Concerning Catalytic Intermediates and the Design of Specific Insecticides. *Molecules*, 25(5), 1198. <https://doi.org/10.3390/molecules25051198>

120. Nauen, R., Konanz, S. (2005). Spiromesifen as a new chemical option for resistance management in whiteflies and spider mites. *Pflanzenschutz-Nachr Bayer*, 58 (2005), pp. 485-502.
121. Neckameyer, W. S., & Leal, S. M. (2017). "Non-Mammalian Hormone-Behavior Systems". *Hormones, Brain and Behavior*. 3rd edition.
122. Nishida, N., Tamotsu, S., Nagata, N., Saito, C., & Sakai, A. (2005). Allelopathic Effects of Volatile Monoterpenoids Produced by *Salvia leucophylla*: Inhibition of Cell Proliferation and DNA Synthesis in the Root Apical Meristem of *Brassica campestris* Seedlings. *Journal of Chemical Ecology*, 31(5), 1187–1203. <https://doi.org/10.1007/s10886-005-4256-y>
123. Okamoto, Y., Yamaji, K. & Kobayashi, K. (2011). "Allelopathic activity of camphor released from camphor tree (*Cinnamomum camphora*)". *Allelopathy Journal*. 27. 123-132.
124. Okwute, S. K. (2012). Plants as Potential Sources of Pesticidal Agents: A Review. En *InTech eBooks*. <https://doi.org/10.5772/46225>
125. Onifade, A. K., Fatope, M. O., Deadman, M. L., & Al-Kindy, S. M. Z. (2008). "Nematicidal activity of *Haplophyllum tuberculatum* and *Plectranthus cylindraceus* oils against *Meloidogyne javanica*". *Biochemical Systematics and Ecology*. 36, 679–683. <https://doi.org/10.1016/j.bse.2008.05.005>
126. Onstad, D. W. (2014). IPM and Insect Resistance Management. In D. W. Onstad (Ed.) *Insect Resistance Management*, (Second edition, 515–532). <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-396955-2.00016-3>
127. Ostertag, F., Weiss, J., & McClements, D. J. (2012). Low-energy formation of edible nanoemulsions: factors influencing droplet size produced by emulsion phase inversion. *Journal of colloid and interface science*, 388(1), 95–102. <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2012.07.089>
128. Oyedele, A. O., Okunowo, W. O., Osuntoki, A. A., Olabode, T. B., & Ayo-folorunso, F. (2020). "Insecticidal and biochemical activity of essential oil from *Citrus sinensis* peel and constituents on *Callosobruchus maculatus* and *Sitophilus zeamais*". *Pesticide Biochemistry and Physiology*. 168, 104643. <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2020.104643>
129. Padmaja, P. G. (2016). Insect Pest Resistance in Sorghum. In I.K. Das and P.G. Padmaja (Eds.) *Biotic Stress Resistance in Millets* (pp. 105–145). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-804549-7.00004-4>
130. Park, C. G., Jang, M., Yoon, K. A., & Kim, J. (2016). "Insecticidal and acetylcholinesterase inhibitory activities of Lamiaceae plant essential oils and their major components against

- Drosophila suzukii* (Diptera: Drosophilidae)". *Industrial Crops and Products*. 89, 507–513. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2016.06.008>
131. Pant, A., & Singh Negi, J. (2018). "Novel controlled ionic gelation strategy for chitosan nanoparticles preparation using TPP- β -CD inclusion complex". *European Journal of Pharmaceutical Sciences*. 112, 180–185. <https://doi.org/10.1016/j.ejps.2017.11.020>
132. Pavela, K. R., Stepanycheva, E., Shchenikova, A., Chermenskaya, T., & Petrova, M. (2016). "Essential oils as prospective fumigants against *Tetranychus urticae* Koch". *Industrial Crops and Products*. 94, 755–761. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2016.09.050>
133. Pavela, R., Maggi, F., Lupidi, G., Cianfaglione, K., Dauvergne, X., Bruno, M., & Benelli, G. (2017). "Efficacy of sea fennel (*Crithmum maritimum* L., Apiaceae) essential oils against *Culex quinquefasciatus* Say and *Spodoptera littoralis* (Boisd.)". *Industrial Crops and Products*. 109, 603–610. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2017.09.013>
134. Plata-Rueda, A., Campos, J. M., da Silva Rolim, G., Martínez, L. C., Dos Santos, M. H., Fernandes, F. L., Serrão, J. E., & Zanuncio, J. C. (2018). "Terpenoid constituents of cinnamon and clove essential oils cause toxic effects and behavior repellency response on granary weevil, *Sitophilus granaries*". *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 156, 263–270. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2018.03.033>
135. Plata-Rueda, A., Martínez, L. C., da Silva Rolim, G., Pereira Coelho, R., Santos, M. H., de Souza Tavares, W., Cola Zanuncio, J., & Serrão, J. E. (2020). "Insecticidal and repellent activities of *Cymbopogon citratus* (Poaceae) essential oil and its terpenoids (citral and geranyl acetate) against *Ulomoides dermestoides*". *Crop Protection*. 137, 105299. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2020.105299>
136. Pereira da Silva, J. C., Campos, V. P., Barros, A. F., Pedroso, L. A., Silva, M. de F., de Souza, J. T., Pozzobon Pedroso, M., & de Medeiros, F. H. V. (2019). "Performance of volatiles emitted from different plant species against juveniles and eggs of *Meloidogyne incognita*". *Crop Protection*. 116, 196–203. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2018.11.006>
137. Pereira dos Santos, C., Oliveira, T. C. de, Oliveira Pinto, J. A., Santos Fontes, S., Oliveira Cruz, E. M., Arrigoni-Blank, M. F., Matos Andrade, T., Lisboa de Matos, I., Barreto Alves, P., Innecco, R., Blank, A. F. (2015). "Chemical diversity and influence of plant age on the essential oil from *Lippia sidoides* Cham. germplasm". *Industrial Crops and Products*. 76, 416–421. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2015.07.017>
138. Perry, N.S.L., Houghton, P.J., Jenner, P., Keith, A., & Perry, E.K. (2002). "*Salvia lavandulaefolia* essential oil inhibits cholinesterase *in vivo*". *Phytomedicine*. 9, 48–51. <https://doi.org/10.1078/0944-7113-00082>

139. Petrakis, E. A., Kimbaris, A. C., Perdakis, D. C., Lykouressis, D. P., Tarantilis, P. A., & Polissiou, M. G. (2014). "Responses of *Myzus persicae* (Sulzer) to three Lamiaceae essential oils obtained by microwave-assisted and conventional hydrodistillation". *Industrial Crops and Products*. 62, 272–279. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2014.08.041>
140. Preziosi, V., Perazzo, A., Caserta, S., Tomaiuolo, G., Guido, S. (2013). "Phase inversión Emulsification". *Chemical Engineering Transactions*. 32, 1585-1590.
141. Price, D. N., & Berry, M. S. (2006). "Comparison of effects of octopamine and insecticidal essential oils on activity in the nerve cord, foregut, and dorsal unpaired median neurons of cockroaches". *Journal of Insect Physiology*. 52, 309–319. <https://doi.org/10.1016/j.jinsphys.2005.11.010>
142. Priestley, C. M., Williamson, E. M., Wafford, K. A., & Sattelle, D. B. (2003). "Thymol, a constituent of thyme essential oil, is a positive allosteric modulator of human GABAA receptors and a homo-oligomeric GABA receptor from *Drosophila melanogaster*". *British Journal of Pharmacology*. 140, 1363–1372. <https://doi.org/10.1038/sj.bjp.0705542>
143. Rabbi, A., Uddin, M. N., Alim, M. A., Al Bachchu, M. A., Bhuyain, M. M. H., & Akter, S. (2021). Efficacy of some pesticides against *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae) and their residual effects on *Coccinella septempunctata* (L.) (Coleoptera: Coccinellidae). *International Journal of Tropical Insect Science*, 42(1), 615-626. <https://doi.org/10.1007/s42690-021-00581-w>
144. Rajkumar, V., Gunasekaran, C., Paul, C. A., & Dharmaraj, J. (2020). "Development of encapsulated peppermint essential oil in chitosan nanoparticles: Characterization and biological efficacy against stored-grain pest control". *Pesticide Biochemistry and Physiology*. 170, 104679. <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2020.104679>
145. Rajkumar [2], V., Gunasekaran, C., Dharmaraj, J., Chinnaraj, P., Paul, C. A., Kanithachristy, I. (2020). "Structural characterization of chitosan nanoparticle loaded with *Piper nigrum* essential oil for biological efficacy against the stored grain pest control". *Pesticide Biochemistry and Physiology*. 166, 104566. <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2020.104566>
146. Rakmai, J., Cheirsilp, B., Mejuto, J. C., Torrado-Agrasar, A., Simal-Gándara, J. (2017). "Physico-chemical characterization and evaluation of bio-efficacies of black pepper essential oil encapsulated in hydroxypropyl-beta-cyclodextrin". *Food Hydrocolloids*, 65, 157–164. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2016.11.014>
147. Rani, P. U. (2012). "Fumigant and contact toxic potential of essential oils from plant extracts against stored product pests". *Journal of Biopesticides*. 5, 120-128.

148. Regnier, T., Combrinck, S., Veldman, W., & Du Plooy, W. (2014). "Application of essential oils as multi-target fungicides for the control of *Geotrichum citri-aurantii* and other postharvest pathogens of citrus". *Industrial Crops and Products*. 61, 151–159. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2014.05.052>
149. Ren, G., Sun, Z., Wang, Z., Zheng, X., Xu, Z., & Sun, D. (2019). "Nanoemulsion formation by the phase inversion temperature method using polyoxypropylene surfactants". *Journal of Colloid and Interface Science*, 540, 177-184. <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2019.01.018>
150. Reyes, E. I. M., Farias, E. S., Silva, E. M. P., Filomeno, C. A., Plata, M. A. B., Picanço, M. C., & Barbosa, L. C. A. (2019). "Eucalyptus resinifera essential oils have fumigant and repellent action against *Hypothenemus hampei*". *Crop Protection*. 116, 49–55. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2018.09.018>
151. Ríos, J.-L. (2016). "Essential Oils: What They Are and How the Terms Are Used and Defined". In V. R. Preedy (Ed.), *Essential Oils in Food Preservation, Flavor and Safety* (pp. 3-10). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-416641-7.00001-8>
152. Robinson, T., MacAllan, D., Lunt, G., & Battersby, M. (1986). "γ-Aminobutyric Acid Receptor Complex of Insect CNS: Characterization of a Benzodiazepine Binding Site". *Journal of Neurochemistry*. 47, 1955–1962. <https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.1986.tb13114.x>
153. Roh, H. S., Lee, B. H., & Park, C. G. (2013). "Acaricidal and repellent effects of myrtacean essential oils and their major constituents against *Tetranychus urticae* (Tetranychidae)". *Journal of Asia-Pacific Entomology*. 16, 245–249. <https://doi.org/10.1016/j.aspen.2013.03.001>
154. Roy, D., Biswas, S., Biswas, A., Chakraborty, G., & Sarkar, P. K. (2022). Can insecticide mixtures be considered to surmount neonicotinoid resistance in *Bemisia tabaci*? *Journal of Asia-Pacific Entomology*, 25(2), 101901. <https://doi.org/10.1016/j.aspen.2022.101901>
155. Salazar, A. M., Arismendi, N., López, M. G. V., Vargas, M., Schoebitz, M., Palacio, D. A., Becerra, J., Cedeño, B., & Zapata, N. (2022). Stability of the oil-based nanoemulsion of *Laureliopsis philippiana* (Looser) and its insecticidal activity against tomato borer (*Tuta absoluta* Meyrick). *Industrial Crops and Products*, 188, 115635. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2022.115635>
156. Sánchez-Ramos, I., & Castañera, P. (2000). "Acaricidal activity of natural monoterpenes on *Tyrophagus putrescentiae* (Schrank), a mite of stored food". *Journal of Stored Products Research*, 37(1), 93-101. [https://doi.org/10.1016/s0022-474x\(00\)00012-6](https://doi.org/10.1016/s0022-474x(00)00012-6)

157. Satar, G., Ulusoy, M.R., Nauen, R., Dong, K. (2018). Neonicotinoid insecticide resistance among populations of *Bemisia tabaci* in the Mediterranean region of Turkey. *Bulletin of Insectology*, 71,171-177.
158. Sato, M. E., Da Silva, M. J., Raga, A., & De Souza Filho, M. F. (2005). Abamectin resistance in *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae): selection, cross-resistance and stability of resistance. *Neotropical Entomology*, 34(6), 991-998. <https://doi.org/10.1590/s1519-566x2005000600016>
159. Sawicka, B., & Egbuna, C. (2020). “Pests of Agricultural Crops and Control Measures”. *Natural Remedies for Pest, Disease and Weed Control*.1–16. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-819304-4.00001-4>
160. Schmidts, T., Nocker, P., Lavi, G., Jn, K., Czermak, P., & Runkel, F. (2009). Development of an alternative, time and cost saving method of creating pseudoternary diagrams using the example of a microemulsion. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 340(1-3), 187-192. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2009.03.029>
161. Sertkaya, E., Kaya, K., & Soylu, S. (2010). “Acaricidal activities of the essential oils from several medicinal plants against the carmine spider mite (*Tetranychus cinnabarinus* Boisd.) (Acarina: Tetranychidae)”. *Industrial Crops and Products*. 31, 107–112. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2009.09.009>
162. Shah, R. A., Al-Sadi, A. M., Scott, I. A., Al-Raeesi, A., & Al-Jahdhami, A. (2020). Insecticide resistance monitoring in whitefly (*Bemisia tabaci*) (Hemiptera: Aleyrodidae) in Oman. *Journal of Asia-Pacific Entomology*, 23(4), 1248–1254. <https://doi.org/10.1016/j.aspen.2020.09.018>
163. Shi, X., Cao, Y., Li, N., Zhu, N., Chen, Y., & Ma, B. (2021). Composition, physicochemical properties, preparation methods and application research status on Functional oils and fats of nanoemulsion: A comprehensive review. *IOP Conference Series*, 792(1), 012021. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/792/1/012021>
164. Silva, D. C., Arrigoni-Blank, M. de F., Bacci, L., Blank, A. F., Nunes Faro, R. R., Oliveira Pinto, J. A., Garcia Pereira, K. L. (2019). “Toxicity and behavioral alterations of essential oils of *Eplingiella fruticosa* genotypes and their major compounds to *Acromyrmex balzani*”. *Crop Protection*. 116, 181–187. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2018.11.002>
165. Sneha, K., & Kumar, A. (2022). Nanoemulsions: Techniques for the preparation and the recent advances in their food applications. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 76, 102914. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2021.102914>

166. Souto, E. B., Severino, P., Santos, A. J., & Silva, A. M. (2018). Linalool bioactive properties and potential applicability in drug delivery systems. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 171, 566–578. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2018.08.001>
167. Storici, P., De Biase, D., Bossa, F., Bruno, S., Mozzarelli, A., Peneff, C. M., Silverman, R. B., & Schirmer, T. (2004). Structures of γ -Aminobutyric Acid (GABA) Aminotransferase, a Pyridoxal 5'-Phosphate, and [2Fe-2S] Cluster-containing Enzyme, Complexed with γ -Ethynyl-GABA and with the Antiepilepsy Drug Vigabatrin. *Journal of Biological Chemistry*, 279(1), 363–373. <https://doi.org/10.1074/jbc.m305884200>
168. Straub, R. H., & Emmett, B. A. (1992). Pests of Monocotyledon Crops. En *Palgrave Macmillan UK eBooks* (pp. 213-262). Palgrave Macmillan. https://doi.org/10.1007/978-1-349-09924-5_7
169. Sun, J., Li, C., Jiang, J., Song, C., Wang, C., Feng, K., Wei, P., & He, L. (2022). Cross resistance, inheritance and fitness advantage of cyetpyrafen resistance in two-spotted spider mite, *Tetranychus urticae*. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 183, 105062. <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2022.105062>
170. Suresh, U., Murugan, K., Panneerselvam, C., Aziz, A. T., Cianfaglione, K., Wang, L., & Maggi, F. (2020). “Encapsulation of sea fennel (*Crithmum maritimum*) essential oil in nanoemulsion and SiO₂ nanoparticles for treatment of the crop pest *Spodoptera litura* and the dengue vector *Aedes aegypti*”. *Industrial Crops and Products*. 158, 113033. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2020.113033>
171. Taban, A., Saharkhiz, M. J., & Khorram, M. (2020). “Formulation and assessment of nano-encapsulated bioherbicides based on biopolymers and essential oil”. *Industrial Crops and Products*. 149, 112348. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2020.112348>
172. Taghizadeh, R., & Chi, H. (2022). Demography of *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae) under different nitrogen regimes with estimations of confidence intervals, *Crop Protection*, 155. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2022.105920>
173. Tak, J.-H., & Isman, M. B. (2017). “Acaricidal and repellent activity of plant essential oil-derived terpenes and the effect of binary mixtures against *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae)”. *Industrial Crops and Products*. 108, 786–792. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2017.08.003>
174. Tao, F., Hill, L. E., Peng, Y., & Gomes, C. L. (2014). “Synthesis and characterization of β -cyclodextrin inclusion complexes of thymol and thyme oil for antimicrobial delivery applications”. *LWT - Food Science and Technology*. 59, 247–255. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2014.05.037>

175. Tehri, K., Gulati, R., & Geroh, M. (2014). Host plant responses, biotic stress and management strategies for the control of *Tetranychus urticae* Koch (Acarina: Tetranychidae). *Agricultural Reviews*, 35(4), 250. <https://doi.org/10.5958/0976-0741.2014.00912.x>
176. Toledo, P. F., Viteri Jumbo, L. O., Rezende, S. M., Haddi, K., Silva, B. A., Mello, T. S., Della Lucia, T. M., Aguiar, R. W., Smagghe, G., & Oliveira, E. E. (2020). Disentangling the ecotoxicological selectivity of clove essential oil against aphids and non-target ladybeetles. *Science of The Total Environment*, 718, 137328. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.137328>
177. Tripathi, A. K., Upadhyay, S., Bhuiyan, M., Bhattacharya, P. R. (2009). "A review on prospects of essential oils as biopesticides in insect-pest management". *Journal of Pharmacognosy and Phytotherapy*. 1, 0-0.
178. Ulukanli, Z., Karabörklü, S., Cenet, M., Sagdic, O., Ozturk, I., & Balcilar, M. (2012). "Essential oil composition, insecticidal and antibacterial activities of *Salvia tomentosa* Miller". *Medicinal Chemistry Research*, 22(2), 832–840. <https://doi.org/10.1007/s00044-012-0075-1>
179. Umpiérrez, M. L., Paullier, J., Porrini, M., Garrido, M., Santos, E., & Rossini, C. (2017). "Potential botanical pesticides from Asteraceae essential oils for tomato production: Activity against whiteflies, plants and bees". *Industrial Crops and Products*. 109, 686–692. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2017.09.025>
180. Wagan, T.A., Cai, W. & Hua, H. (2018). Repellency, toxicity, and anti-oviposition of essential oil of *Gardenia jasminoides* and its four major chemical components against whiteflies and mites. *Scientific Reports*, 8, 9375. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-27366-5>
181. Wagner, L. S., Sequin, C. J., Foti, N., & Campos-Soldini, M. P. (2021). Insecticidal, fungicidal, phytotoxic activity and chemical composition of *Lavandula dentata* essential oil. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 35, 102092. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2021.102092>
182. Walker, K., & Frederick, R. (2011). "Entomological Risks of Genetically Engineered Crops". *Encyclopedia of Environmental Health*. 306–314. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-52272-6.00172-0>
183. Wang, J., Wang, W., Kollman, P. A., & Case, D. A. (2006). Automatic atom type and bond type perception in molecular mechanical calculations. *Journal of Molecular Graphics & Modelling*, 25(2), 247–260. <https://doi.org/10.1016/j.jmgm.2005.12.005>

184. Wang, Y., Zhang, L.-T., Feng, Y.-X., Zhang, D., Guo, S.-S., Pang, X., Geng, Z.-F., Xi, C., & Du, S.-S. (2019). "Comparative evaluation of the chemical composition and bioactivities of essential oils from four spice plants (Lauraceae) against stored-product insects". *Industrial Crops and Products*, 140, 111640. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.111640>
185. Xiong, Y., Li, S., Warner, R. D., & Fang, Z. (2020). "Effect of oregano essential oil and resveratrol nanoemulsion loaded pectin edible coating on the preservation of pork loin in modified atmosphere packaging". *Food Control*. 114, 107226. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2020.107226>
186. Yang, N.-W., Li, A.-L., Wan, F.-H., Liu, W.-X., & Johnson, D. (2010). "Effects of plant essential oils on immature and adult sweetpotato whitefly, *Bemisia tabaci* biotype B.". *Crop Protection*. 29, 1200–1207. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2010.05.006>
187. Zandi-Sohani, N., & Ramezani, L. (2015). "Evaluation of five essential oils as botanical acaricides against the strawberry spider mite *Tetranychus turkestani* Ugarov and Nikolskii". *International Biodeterioration & Biodegradation*. 98, 101–106. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2014.12.007>
188. Zapata, N., Vargas, M., Latorre, E., Roudergue, X., & Ceballos, R. (2016). "The essential oil of *Laurelia sempervirens* is toxic to *Trialeurodes vaporariorum* and *Encarsia formosa*". *Industrial Crops and Products*. 84, 418–422. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2016.02.030>
189. Zarrad, K., Laarif, Asma, Ben Hamouda, Amel, Chaieb, Ikbal & Mediouni Ben Jemâa, Jouda. (2017). "Anticholinesterase potential of monoterpenoids on the whitefly *Bemisia tabaci* and their kinetic studies". *Journal of Agricultural Science and Technology*. 19. 643-652.
190. Zarrad, K., Hamouda, A. B., Chaieb, I., Laarif, A., & Jemâa, J. M.-B. (2015). "Chemical composition, fumigant and anti-acetylcholinesterase activity of the Tunisian *Citrus aurantium* L. essential oils". *Industrial Crops and Products*. 76, 121–127. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2015.06.039>
191. Zhang, K., Zhang, H., Hu, X., Bao, S., & Huang, H. (2012). "Synthesis and release studies of microalgal oil-containing microcapsules prepared by complex coacervation". *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. 89, 61–66. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2011.08.023>
192. Zhang, L., Liang, X., Wang, B., Lin, Z., Ye, M., Ma, R., Zheng, M., Xiang, H., & Xu, P. (2020). "Six herbs essential oils suppressing inflammatory responses via inhibiting COX-2/TNF- α /IL-6/NF- κ B activation". *Microchemical Journal*. 156, 104769. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2020.104769>
193. Zhang, Q., Yang, F., Tong, H., Hu, Y., Zhang, X., Tian, T., Zhang, Y., & Su, Q. (2021). Plant flavonoids enhance the tolerance to thiamethoxam and flupyradifurone in whitefly *Bemisia*

- tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae). *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 171, 104744. <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2020.104744>
194. Zhou, B. G., Wang, S., Dou, T. T., Liu, S., Li, M. Y., Hua, R. M., Li, S. G., & Lin, H. F. (2016). Aphicidal Activity of *Illicium verum* Fruit Extracts and Their Effects on the Acetylcholinesterase and Glutathione S-transferases Activities in *Myzus persicae* (Hemiptera: Aphididae). *Journal of insect science (Online)*, 16(1), 11. <https://doi.org/10.1093/jisesa/iev163>

10. APÉNDICES: TÉCNICAS EXPERIMENTALES



10. TÉCNICAS EXPERIMENTALES

Instrumentación

Cromatografía de gases acoplado a espectrometría de masas

La caracterización de los aceites esenciales se llevó a cabo en un equipo compuesto CG-EM, utilizando un cromatógrafo de Gases Thermo Scientific modelo TRACE 1310 y un espectrómetro de masas de ionización por impacto electrónico, de cuadrupolo sencillo Thermo Scientific modelo ISQ LT.

Dispersión de luz dinámica

La determinación de distribuciones de tamaño de partícula e índices de polidispersión se realizó en un equipo ZetasizerNano ZS-90, Malvern Instrument, Malvern, UK. Las muestras se evaluaron sin ninguna dilución ni tratamiento previo al análisis.

Evaluación de estabilidad con Turbiscan

La evaluación de estabilidad de las formulaciones se realizó en un equipo Turbiscan LAB Stability Analyzer (Formulacion Scientific Instruments, Toulouse, France).

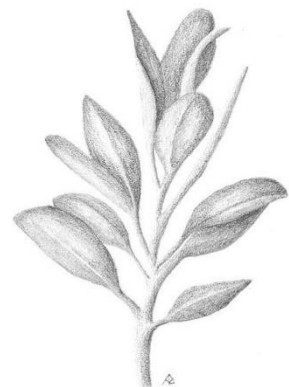
Programas informáticos

Para la realización y nomenclatura de las estructuras incluidas en el documento tesis, se utilizó el programa ChemDraw Professional 16.0 de Perkin Elmer.

Para el procesamiento de datos obtenidos en Turbiscan se empleó el software TurbiSoft Lab (2.3.1.125).

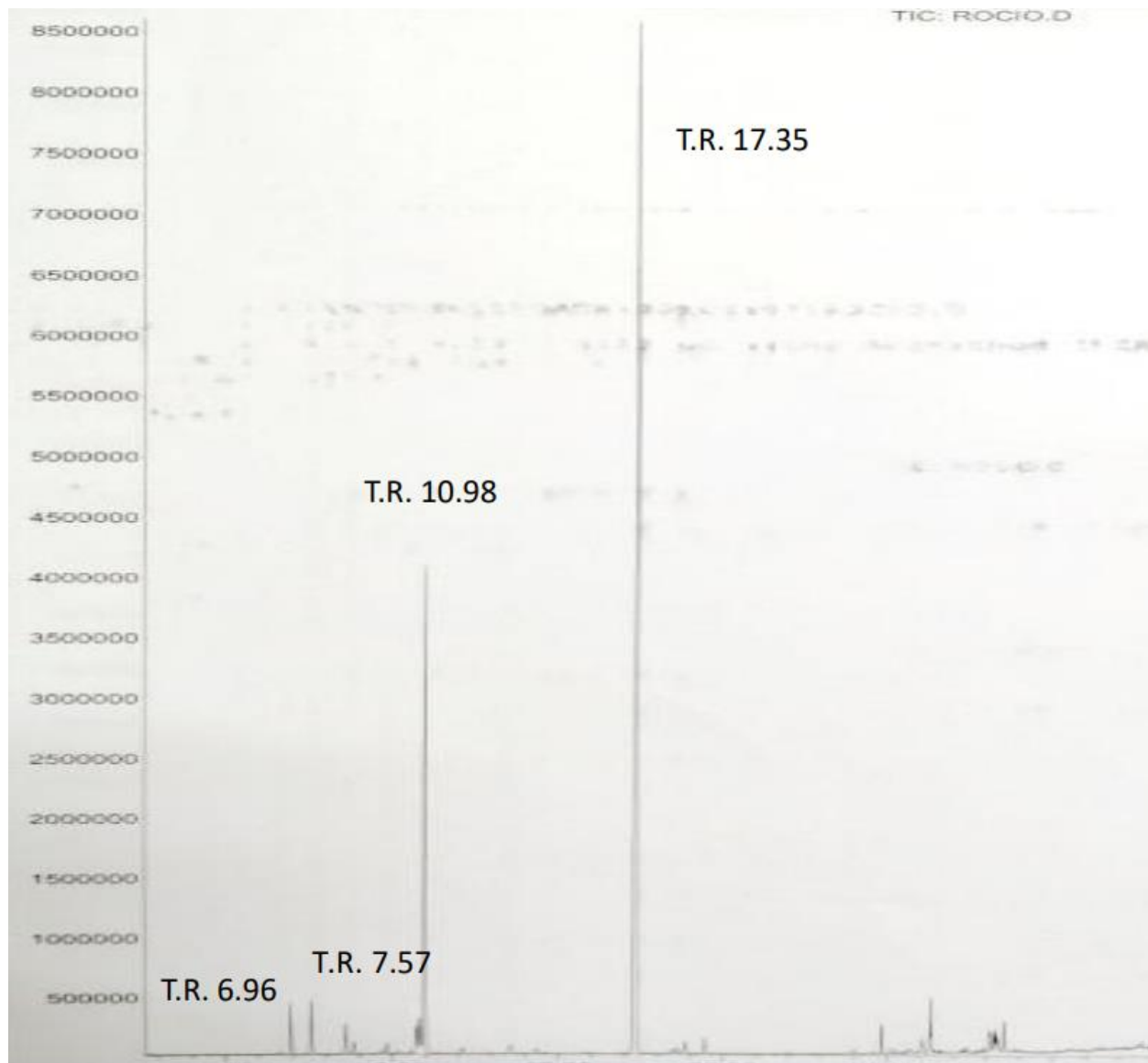
La obtención de gráficas de distribución de tamaños de partículas se realizó en el programa Zetasizer Software de Malvern.

11. ANEXOS

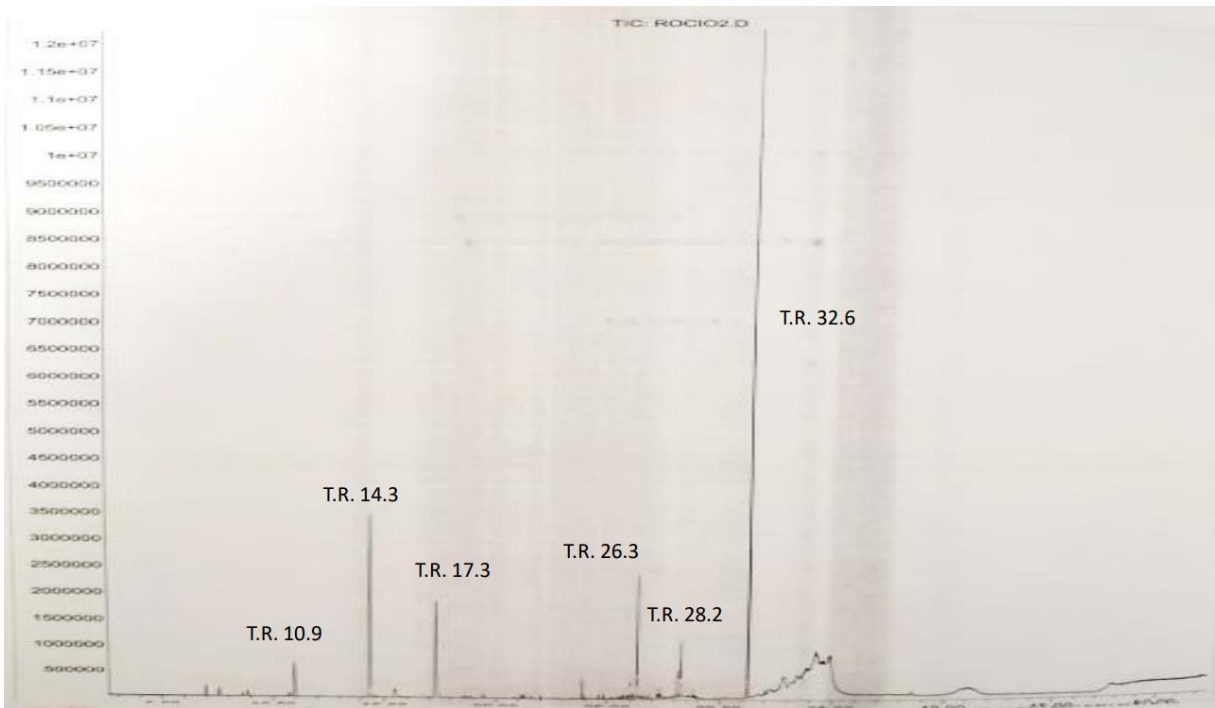


11. ANEXOS

CROMATOGRAMA AESA



CROMATOGRAMA AESC

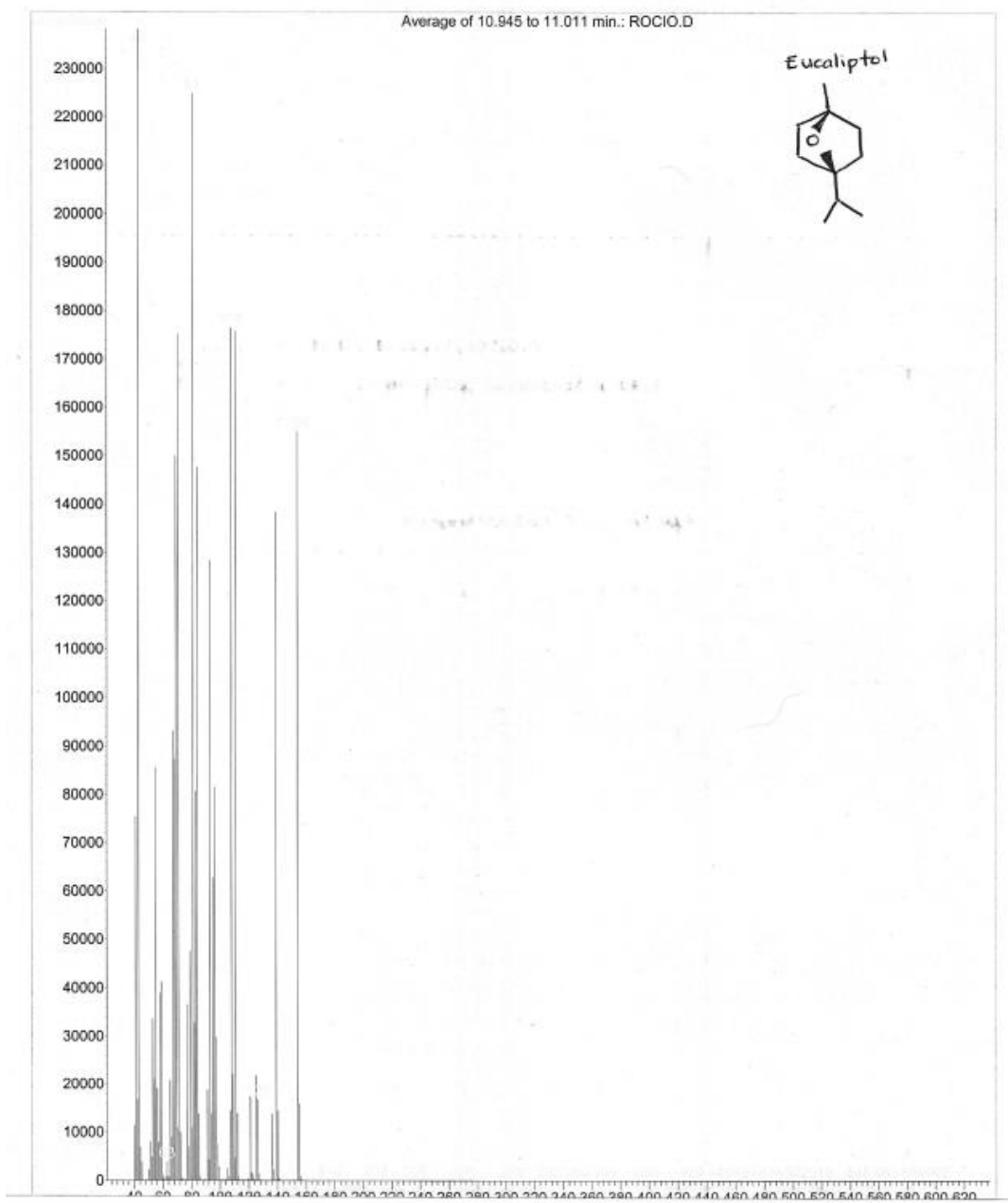


ESPECTROS DE MASAS DE COMPONENTES MAYORITARIOS**Eucaliptol**

File : C:\HPCHEM\1\DATA\20100507\ROCIO.D
Operator : Arturo
Acquired : 16 Oct 2019 3:12 pm using AcqMethod IECRUZ
Instrument : GC/MS Ins
Sample Name: AESAR
Misc Info :
Vial Number: 1

S. opiana

2

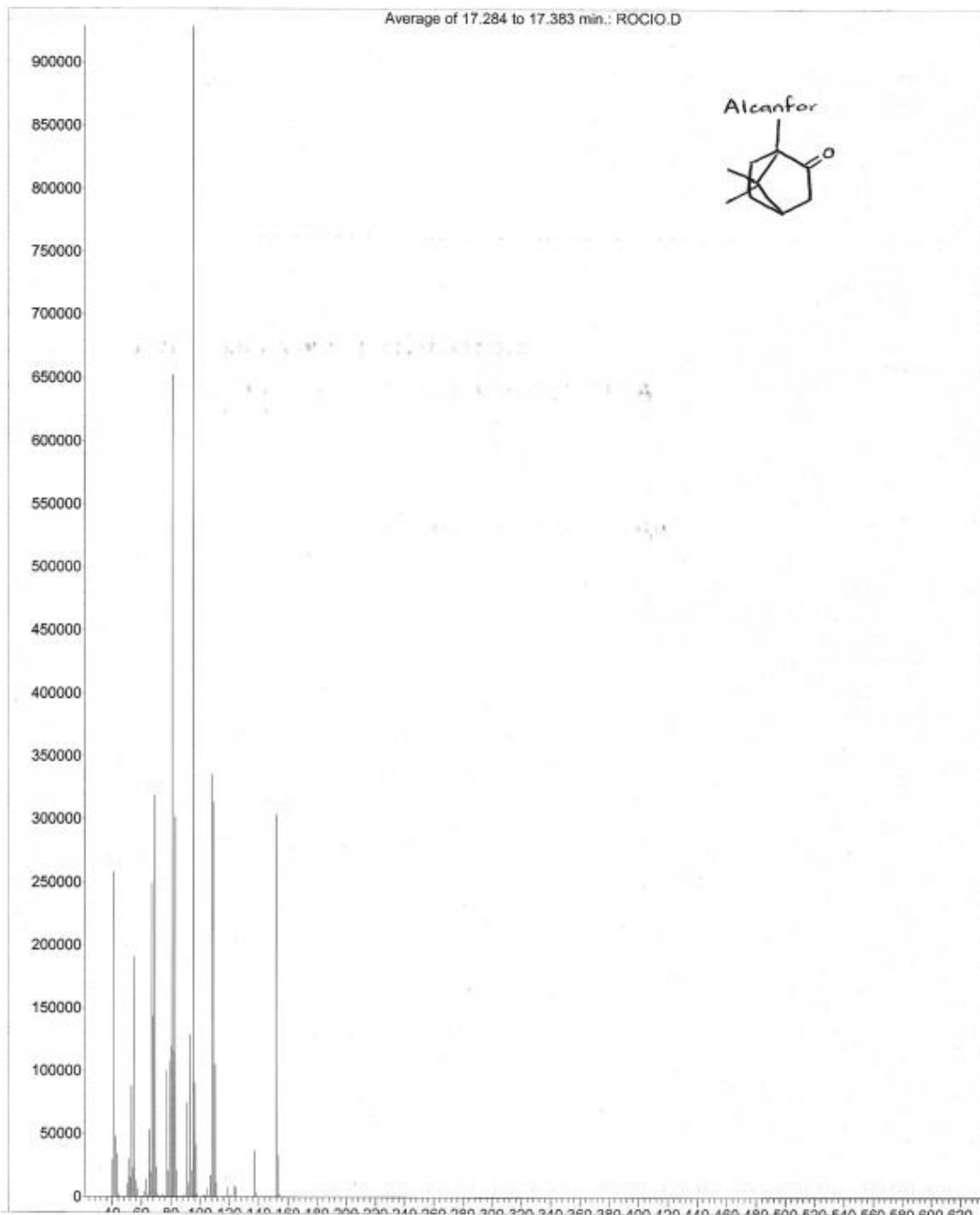


Alcanfor

File : C:\HPCHEM\1\DATA\20100507\ROCIO.D
Operator : Arturo
Acquired : 16 Oct 2019 3:12 pm using AcqMethod IECRUZ
Instrument : GC/MS Ins
Sample Name: AESAR
Misc Info :
Vial Number: 1

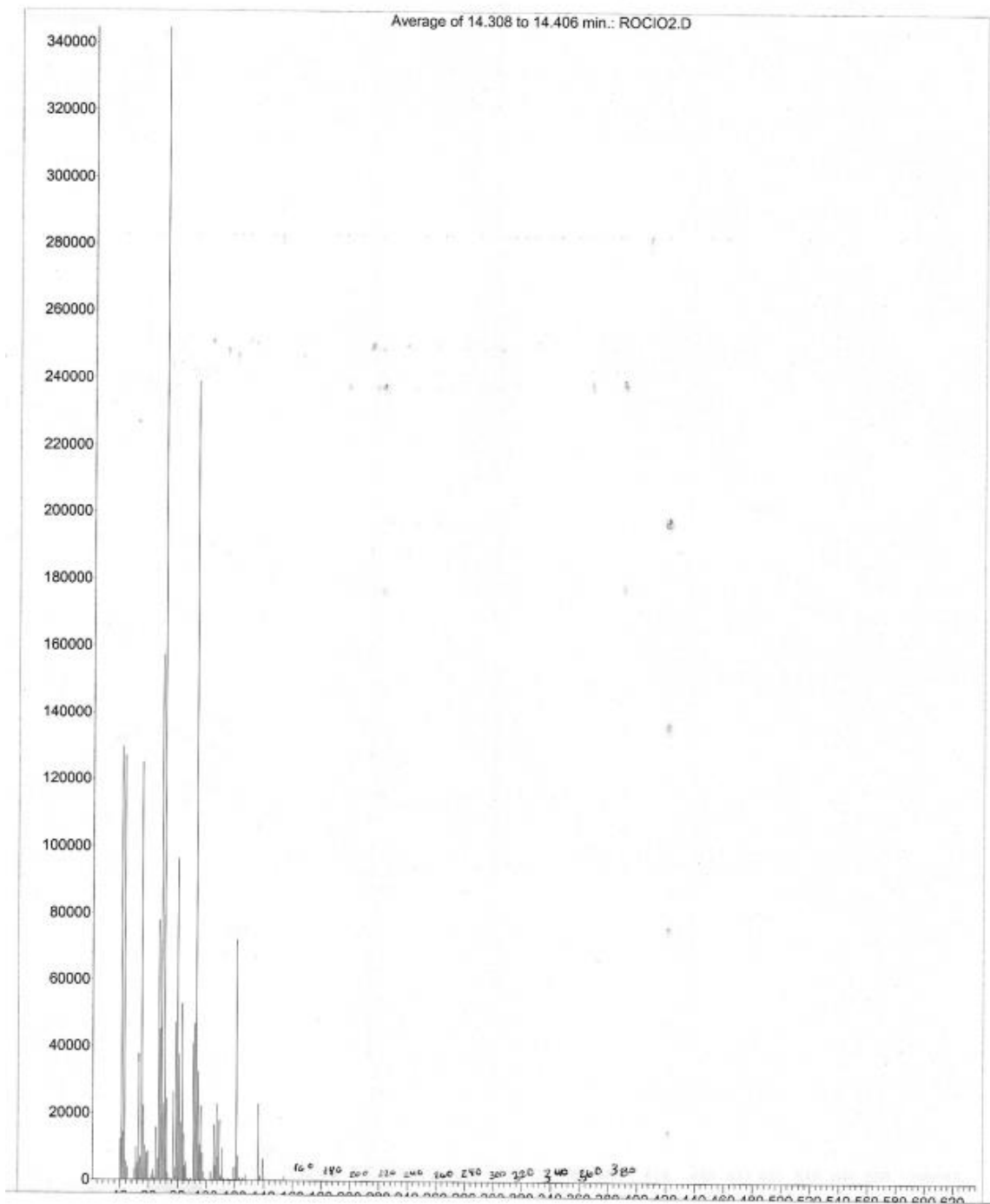
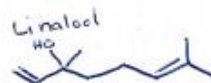
S. apiana

1



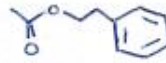
Linalool

File : C:\HPCHEM\1\DATA\20100507\ROCIO2.D
Operator : Arturo
Acquired : 16 Oct 2019 4:11 pm using AcqMethod IECRUZ
Instrument : GC/MS Ins
Sample Name: AESCR
Misc Info :
Vial Number: 4

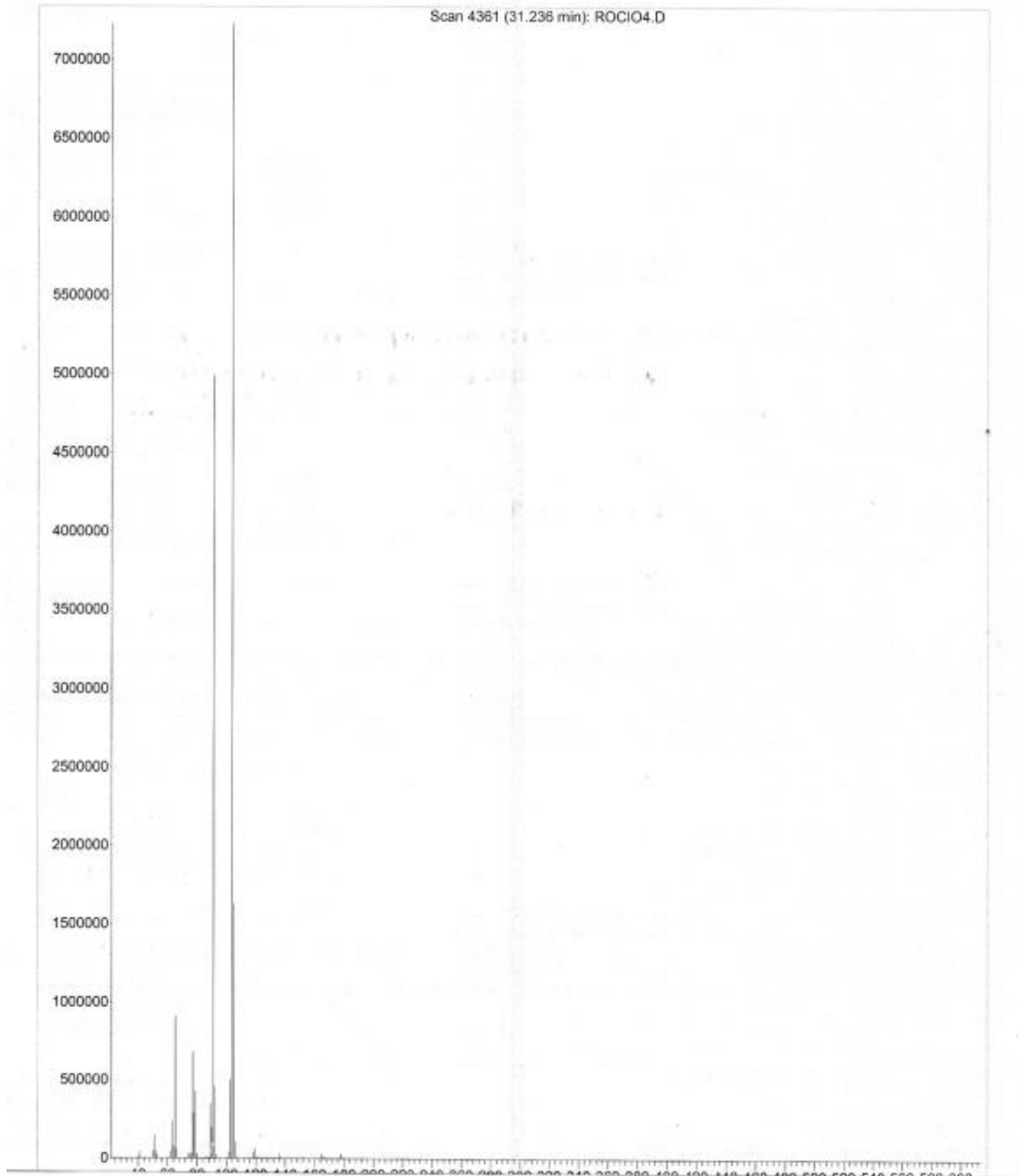


Acetato de 2-feniletilo

File : C:\HPCHEM\1\DATA\20100507\ROCIO4.D
Operator :
Acquired : 26 Nov 2019 5:51 pm using AcqMethod IBCRUZ
Instrument : GC/MS Ins
Sample Name: AE S clevelandii
Misc Info :
Vial Number: 5



Acetato de 2-feniletilo

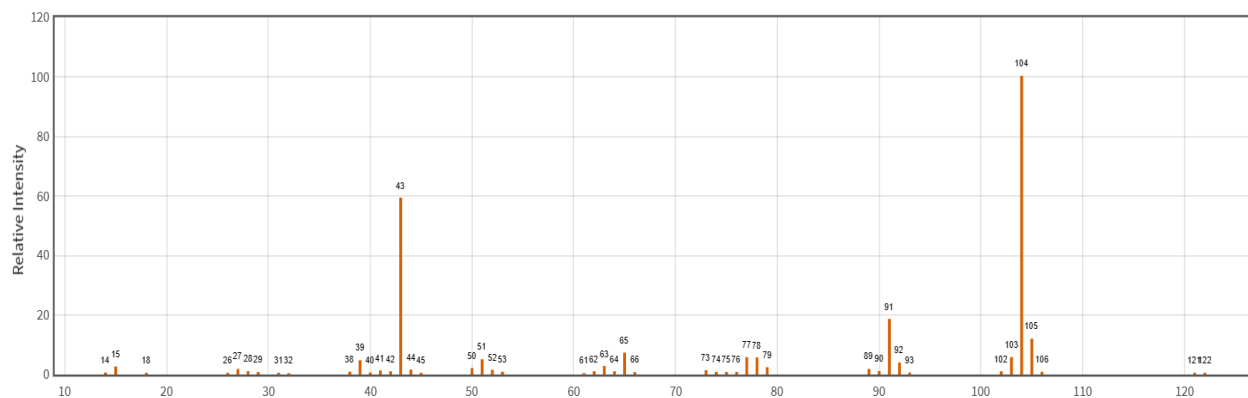


Acetato de 2-feniletilo

Espectro de masas de Biblioteca NIST (*National Institute of Standards and Technology*)

Acetic acid, 2-phenylethyl ester

Mass Spectrum



DISTRIBUCIONES DE TAMAÑO DE PARTÍCULAS

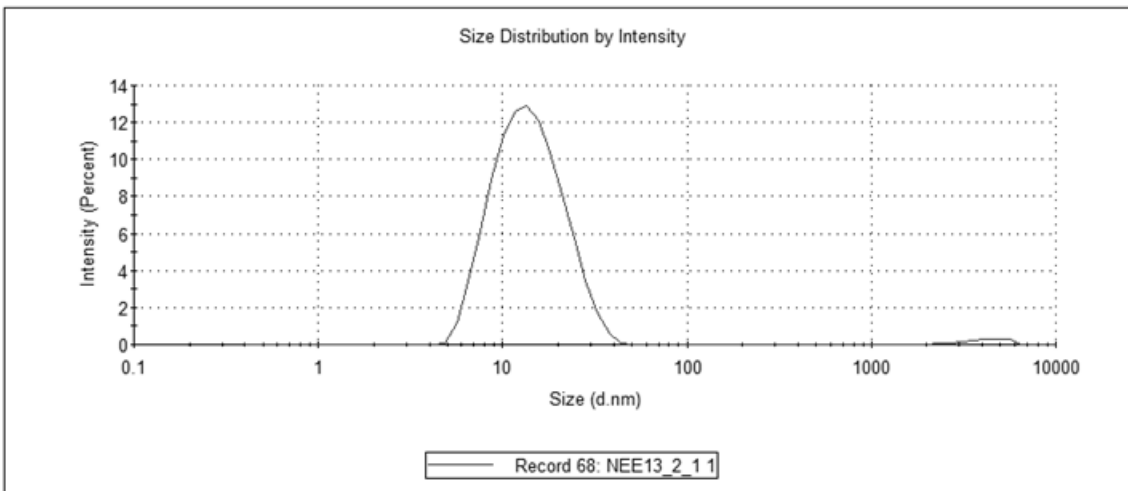
NEE13 (Triplicado)

Sample Name: NEE13_2_1 1	
SOP Name: Rocío sop.sop	
File Name: Rocío.dts	Dispersant Name: Water
Record Number: 68	Dispersant RI: 1.330
Material RI: 1.33	Viscosity (cP): 0.8872
Material Absorbtion: 0.010	Measurement Date and Time: Thursday, April 27, 2023 2:20:17 PM

Temperature (°C): 25.0	Duration Used (s): 60
Count Rate (kcps): 285.9	Measurement Position (mm): 4.65
Cell Description: Disposable sizing cuvette	Attenuator: 6

	Size (d.nm):	% Intensity:	St Dev (d.nm):
Z-Average (d.nm): 12.81	Peak 1: 14.76	98.6	6.279
Pd: 0.167	Peak 2: 4116	1.4	1039
Intercept: 0.948	Peak 3: 0.000	0.0	0.000

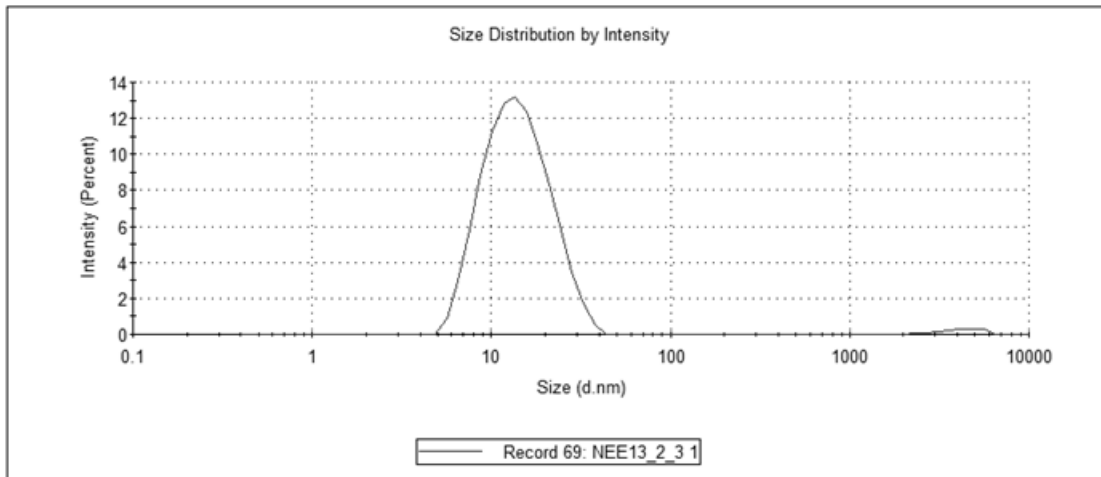
Result quality : Good



Sample Name: NEE13_2_3 1
SOP Name: Rocío sop.sop
File Name: Rocío.dts
Record Number: 69
Material RI: 1.33
Material Absorbtion: 0.010
Dispersant Name: Water
Dispersant RI: 1.330
Viscosity (cP): 0.8872
Measurement Date and Time: Thursday, April 27, 2023 2:26:23 PM

Temperature (°C): 25.0
Count Rate (kcps): 318.2
Cell Description: Disposable sizing cuvette
Duration Used (s): 60
Measurement Position (mm): 4.65
Attenuator: 6

	Size (d.nm):	% Intensity:	St Dev (d.nm):
Z-Average (d.nm): 12.99	Peak 1: 14.85	98.5	6.161
Pdl: 0.164	Peak 2: 4142	1.5	1028
Intercept: 0.943	Peak 3: 0.000	0.0	0.000
Result quality : Good			

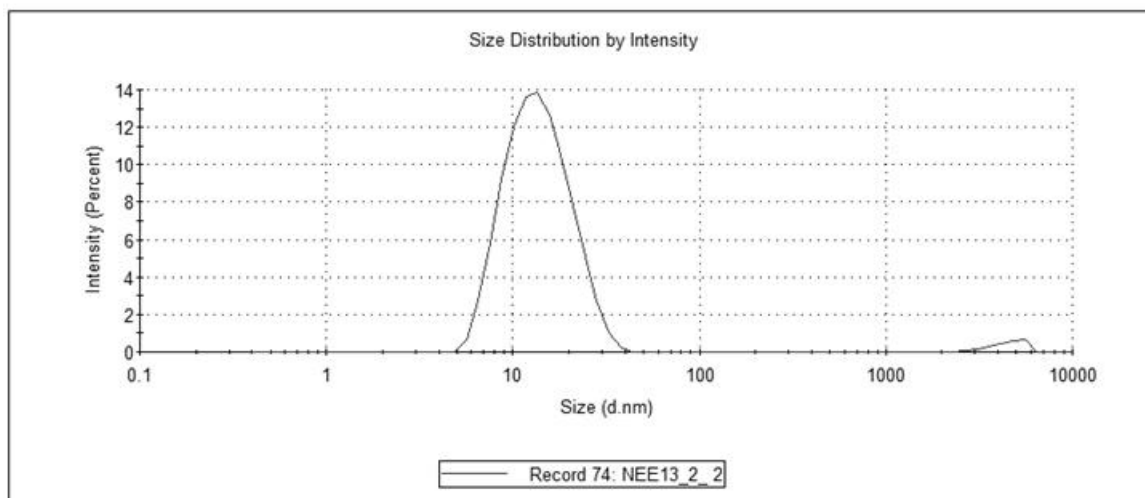


Sample Name: NEE13_2_2	
SOP Name: Rocio sop.sop	
File Name: Rocio.dts	Dispersant Name: Water
Record Number: 74	Dispersant RI: 1.330
Material RI: 1.33	Viscosity (cP): 0.8872
Material Absorbtion: 0.010	Measurement Date and Time: Thursday, April 27, 2023 2:10:23 PM

Temperature (°C): 25.0	Duration Used (s): 60
Count Rate (kcps): 285.7	Measurement Position (mm): 4.65
Cell Description: Disposable sizing cuvette	Attenuator: 6

	Size (d.nm):	% Intensity:	St Dev (d.nm):
Z-Average (d.nm): 13.00	Peak 1: 14.39	97.9	5.633
PdI: 0.180	Peak 2: 4603	2.1	830.1
Intercept: 0.957	Peak 3: 0.000	0.0	0.000

Result quality : Refer to quality report

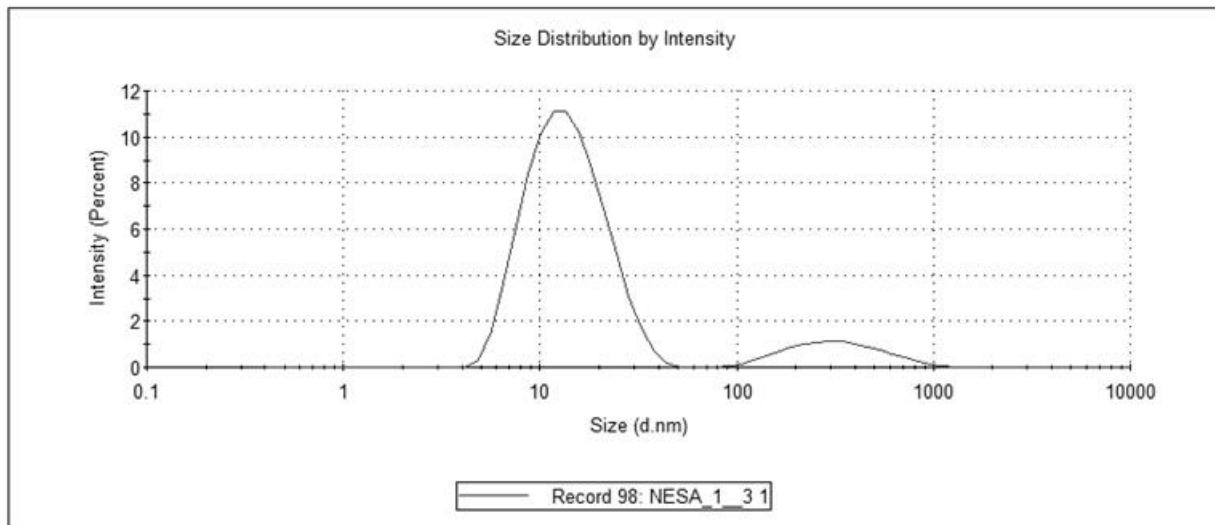


NESA1 (Triplicado)

Sample Name: NESA_1__3 1
SOP Name: Rocio sop.sop
File Name: Rocio.dts
Record Number: 98
Material RI: 1.33
Material Absorbtion: 0.010
Dispersant Name: Water
Dispersant RI: 1.330
Viscosity (cP): 0.8872
Measurement Date and Time: Tuesday, May 2, 2023 1:45:05 PM

Temperature (°C): 25.0
Count Rate (kcps): 293.1
Cell Description: Disposable sizing cuvette
Duration Used (s): 60
Measurement Position (mm): 4.65
Attenuator: 7

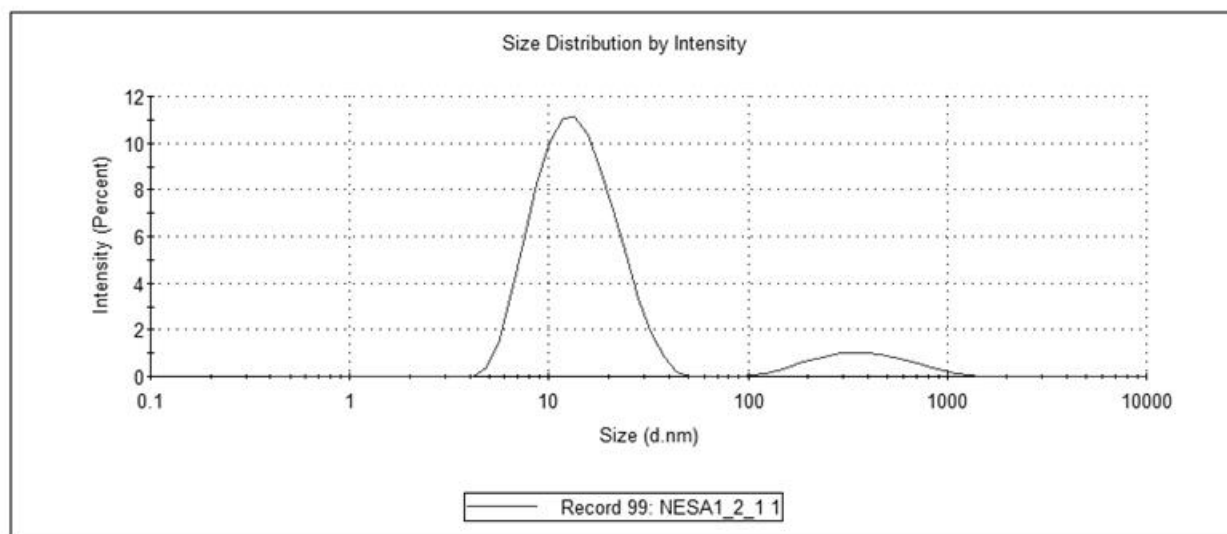
	Size (d.nm):	% Intensity:	St Dev (d.nm):
Z-Average (d.nm): 13.76	Peak 1: 14.60	89.0	6.567
Pdl: 0.271	Peak 2: 360.6	11.0	198.1
Intercept: 0.942	Peak 3: 0.000	0.0	0.000
Result quality : Good			



Sample Name: NESA1_2_1 1
SOP Name: Rocío sop.sop
File Name: Rocío.dts
Record Number: 99
Material RI: 1.33
Material Absorbtion: 0.010
Dispersant Name: Water
Dispersant RI: 1.330
Viscosity (cP): 0.8872
Measurement Date and Time: Tuesday, May 2, 2023 1:50:37 PM

Temperature (°C): 25.0
Count Rate (kcps): 305.4
Cell Description: Disposable sizing cuvette
Duration Used (s): 60
Measurement Position (mm): 4.65
Attenuator: 7

	Size (d.nm):	% Intensity:	St Dev (d.nm):
Z-Average (d.nm): 13.72	Peak 1: 14.78	89.8	6.713
Pdl: 0.267	Peak 2: 419.8	10.2	230.3
Intercept: 0.940	Peak 3: 0.000	0.0	0.000
Result quality : Good			

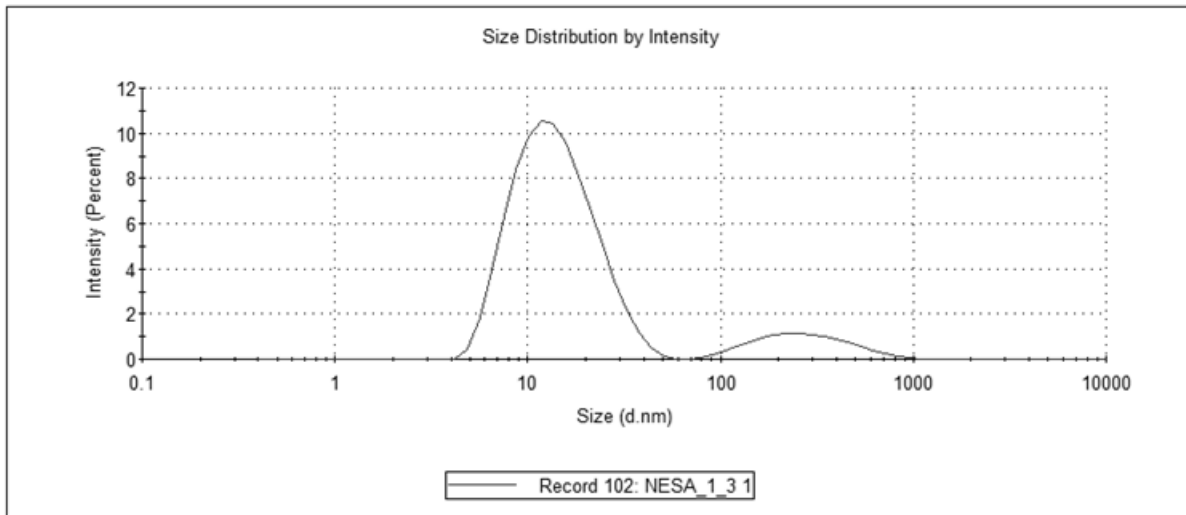


Sample Name: NESA_1_3 1
SOP Name: Rocío sop.sop
File Name: Rocío.dts
Record Number: 102
Material RI: 1.33
Material Absorbtion: 0.010
Dispersant Name: Water
Dispersant RI: 1.330
Viscosity (cP): 0.8872
Measurement Date and Time: Tuesday, May 2, 2023 2:08:26 PM

Temperature (°C): 25.0
Count Rate (kcps): 300.1
Cell Description: Disposable sizing cuvette
Duration Used (s): 60
Measurement Position (mm): 4.65
Attenuator: 7

	Size (d.nm):	% Intensity:	St Dev (d.nm):
Z-Average (d.nm): 13.89	Peak 1: 14.96	88.6	7.327
Pdl: 0.276	Peak 2: 301.8	11.4	171.6
Intercept: 0.942	Peak 3: 0.000	0.0	0.000

Result quality : Good



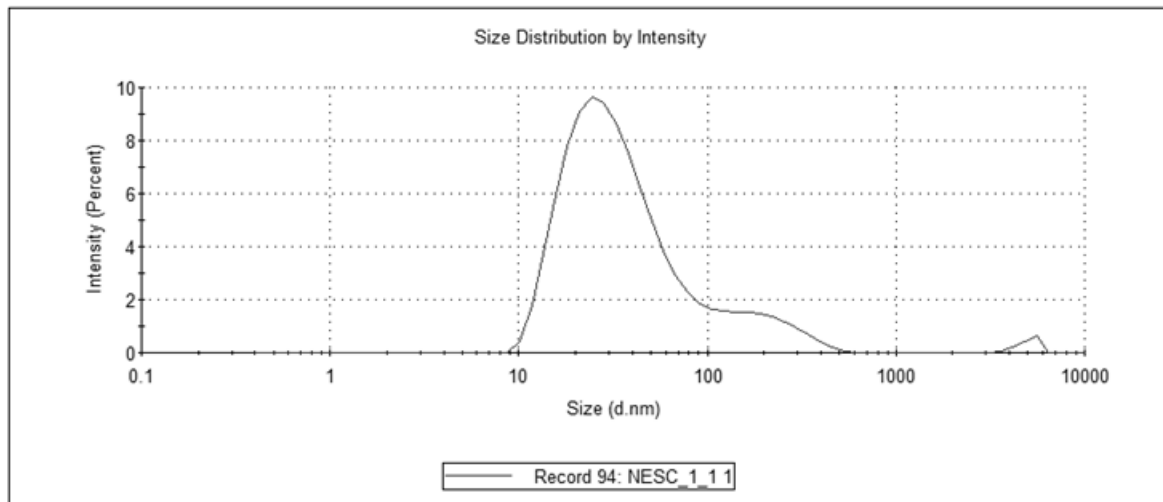
NESC14 (Triplicado)

Sample Name: NESC_1_1 1
SOP Name: Rocío sop.sop
File Name: Rocío.dts
Record Number: 94
Material RI: 1.33
Material Absorbtion: 0.010
Dispersant Name: Water
Dispersant RI: 1.330
Viscosity (cP): 0.8872
Measurement Date and Time: Tuesday, May 2, 2023 1:17:28 PM

Temperature (°C): 24.9
Count Rate (kcps): 118.4
Cell Description: Disposable sizing cuvette
Duration Used (s): 30
Measurement Position (mm): 1.25
Attenuator: 3

	Size (d.nm):	% Intensity:	St Dev (d.nm):
Z-Average (d.nm): 30.49	Peak 1: 54.39	98.7	65.49
Pdl: 0.333	Peak 2: 4982	1.3	619.0
Intercept: 0.956	Peak 3: 0.000	0.0	0.000

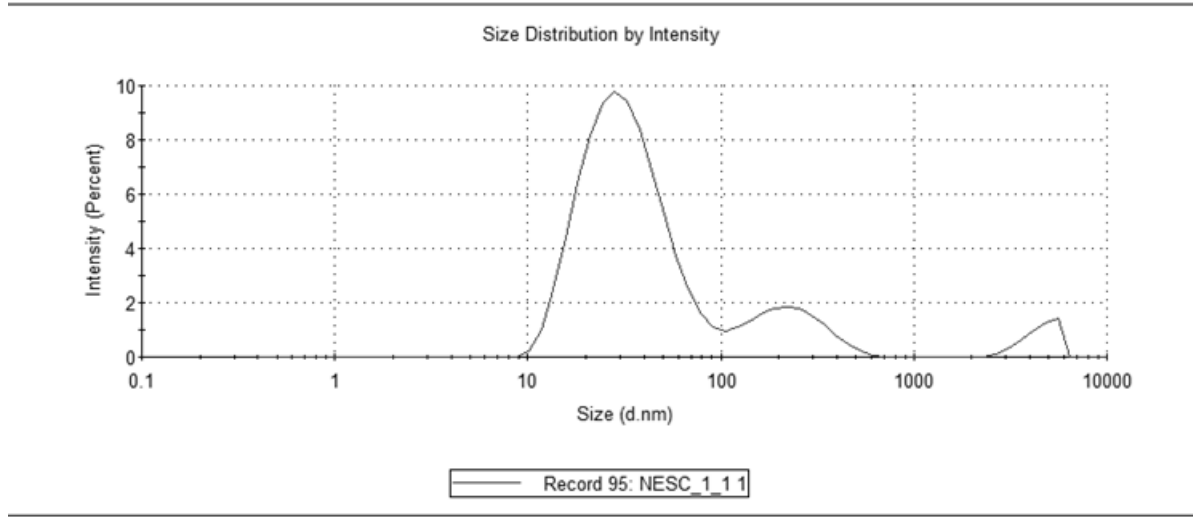
Result quality : Good



Sample Name: NESC_1_1 1
SOP Name: Rocio sop.sop
File Name: Rocio.dts
Record Number: 95
Material RI: 1.33
Material Absorbtion: 0.010
Dispersant Name: Water
Dispersant RI: 1.330
Viscosity (cP): 0.8872
Measurement Date and Time: Tuesday, May 2, 2023 1:23:36 PM

Temperature (°C): 25.0
Count Rate (kcps): 162.7
Cell Description: Disposable sizing cuvette
Duration Used (s): 40
Measurement Position (mm): 1.05
Attenuator: 3

	Size (d.nm):	% Intensity:	St Dev (d.nm):
Z-Average (d.nm): 35.75	Peak 1: 34.52	80.8	17.99
Pdl: 0.347	Peak 2: 233.2	14.5	98.45
Intercept: 0.932	Peak 3: 4575	4.7	847.4
Result quality : Good			

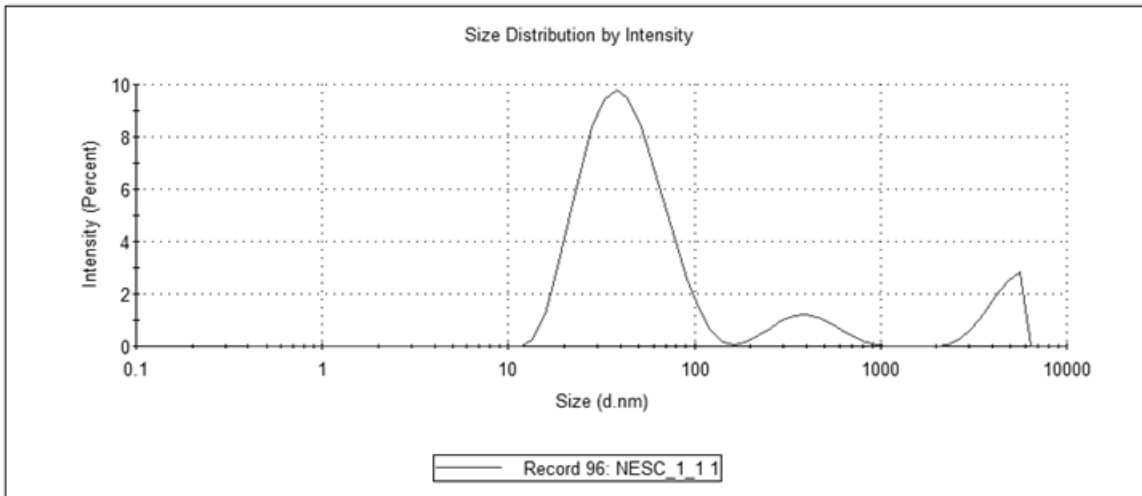


Sample Name: NESC_1_1 1
SOP Name: Rocío sop.sop
File Name: Rocío.dts
Record Number: 96
Material RI: 1.33
Material Absorbtion: 0.010
Dispersant Name: Water
Dispersant RI: 1.330
Viscosity (cP): 0.8872
Measurement Date and Time: Tuesday, May 2, 2023 1:30:28 PM

Temperature (°C): 25.0
Count Rate (kcps): 336.9
Cell Description: Disposable sizing cuvette
Duration Used (s): 60
Measurement Position (mm): 0.85
Attenuator: 3

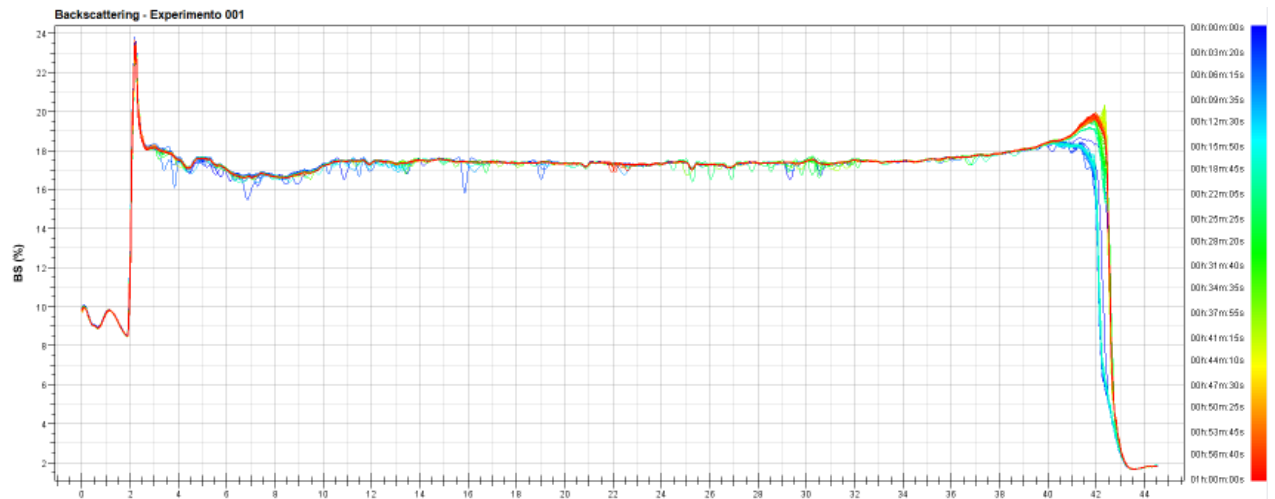
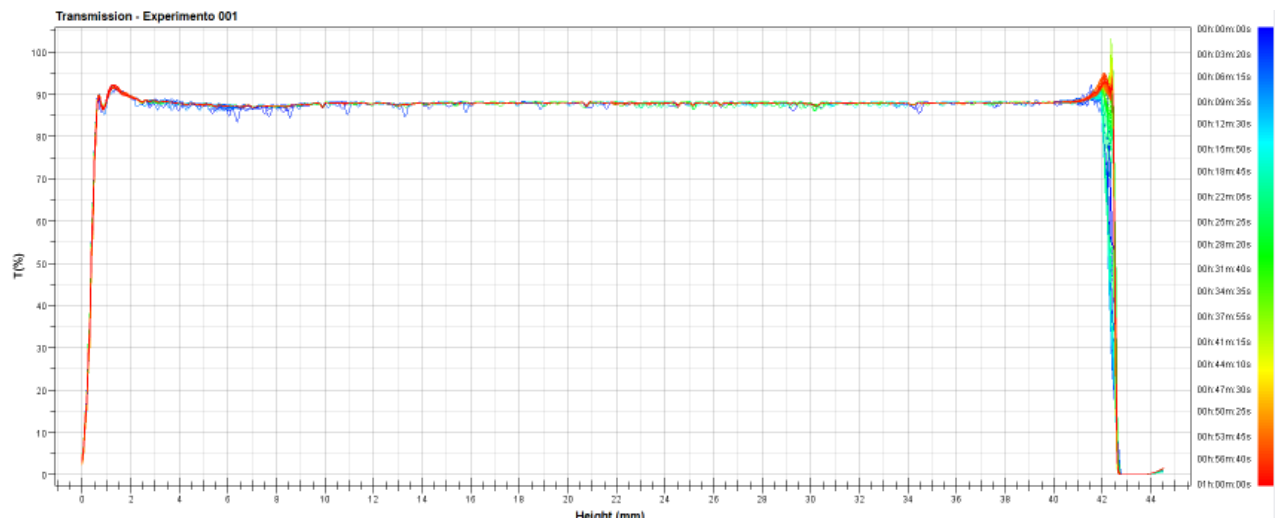
	Size (d.nm):	% Intensity:	St Dev (d.nm):
Z-Average (d.nm): 49.03	Peak 1: 44.62	82.9	21.60
Pdl: 0.362	Peak 2: 4544	9.4	866.6
Intercept: 0.711	Peak 3: 416.3	7.7	147.1

Result quality : Good



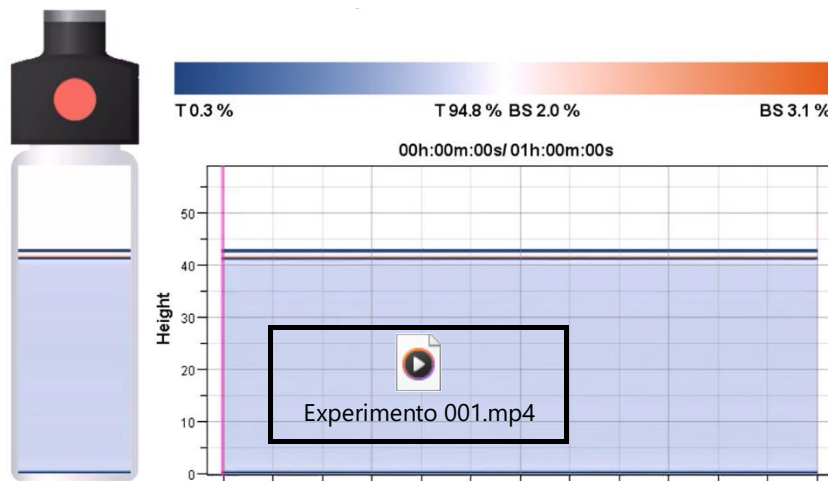
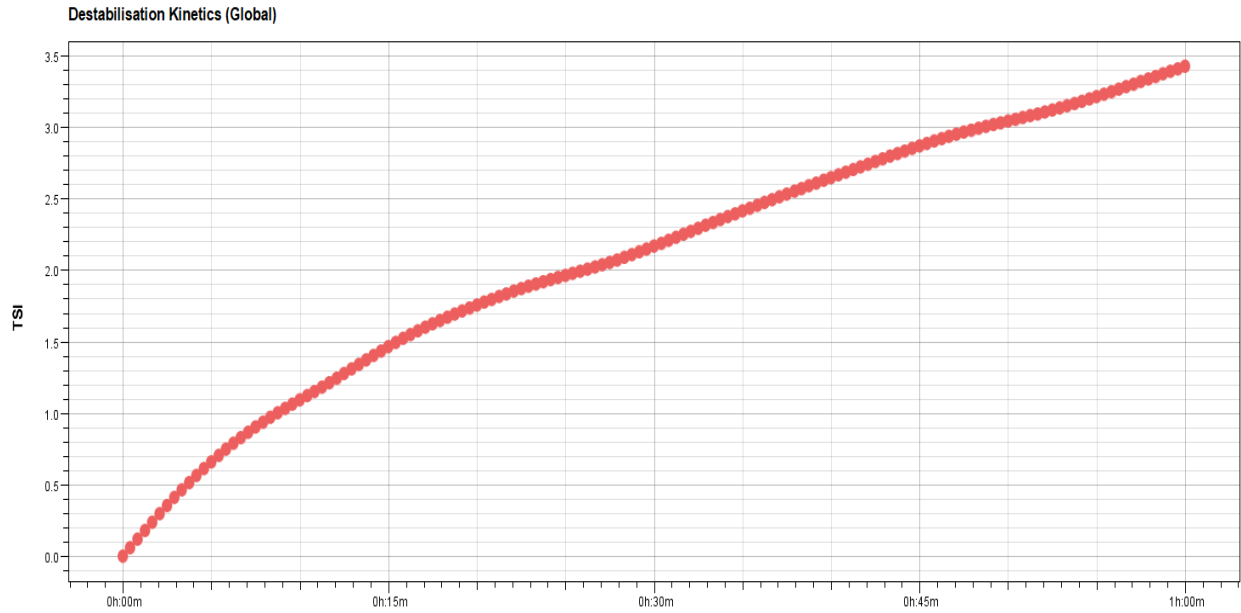
ANÁLISIS EN TURBISCAN, INFORMACIÓN ADICIONAL

Análisis de sistema binario de tensoactivos Triton x100/Tween 20

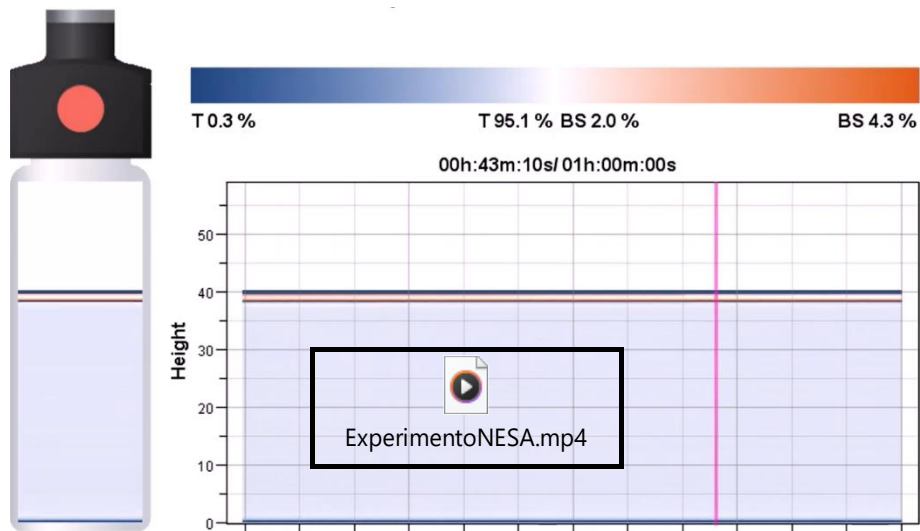
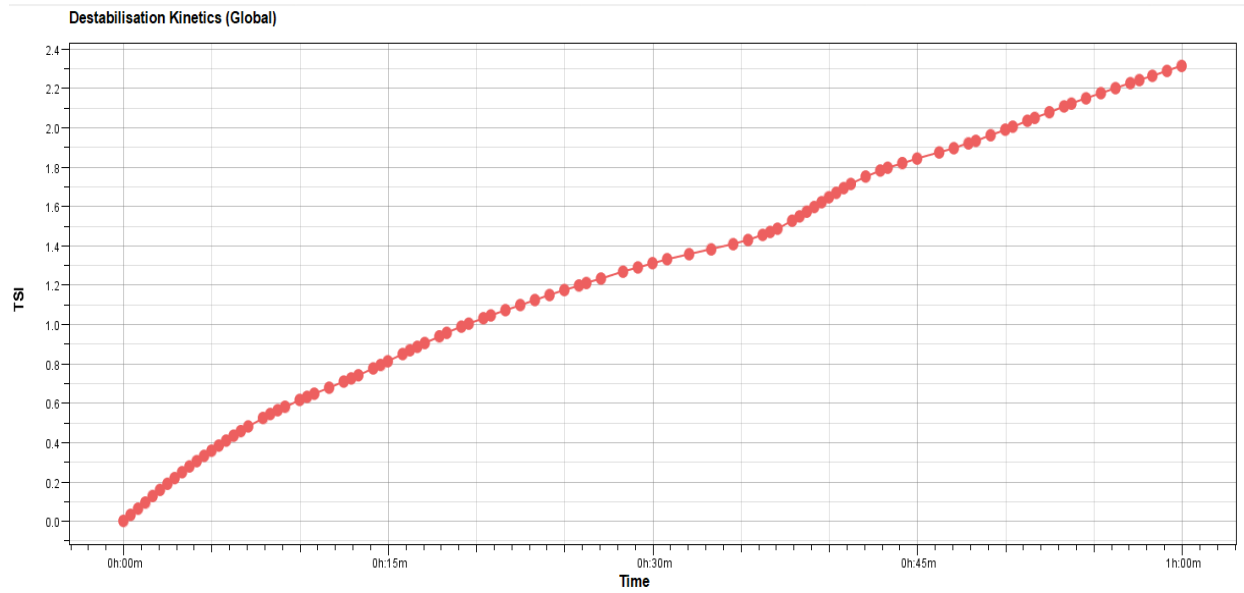


índices de estabilidad global de Turbiscan

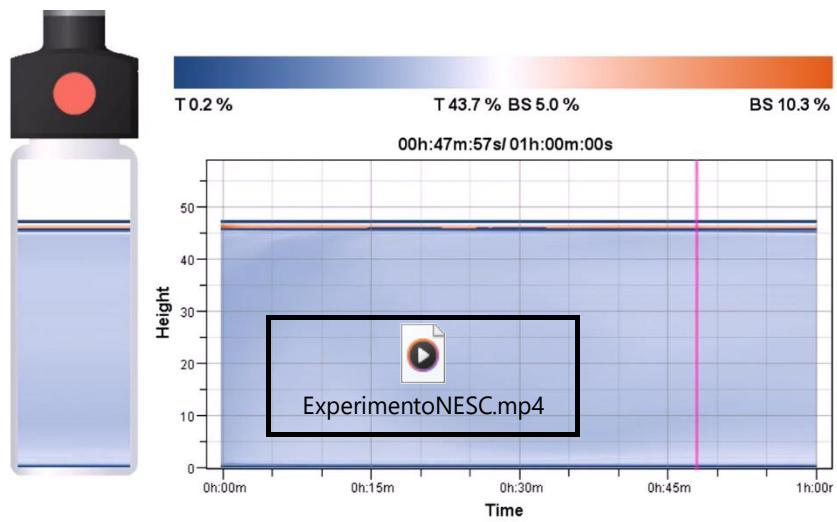
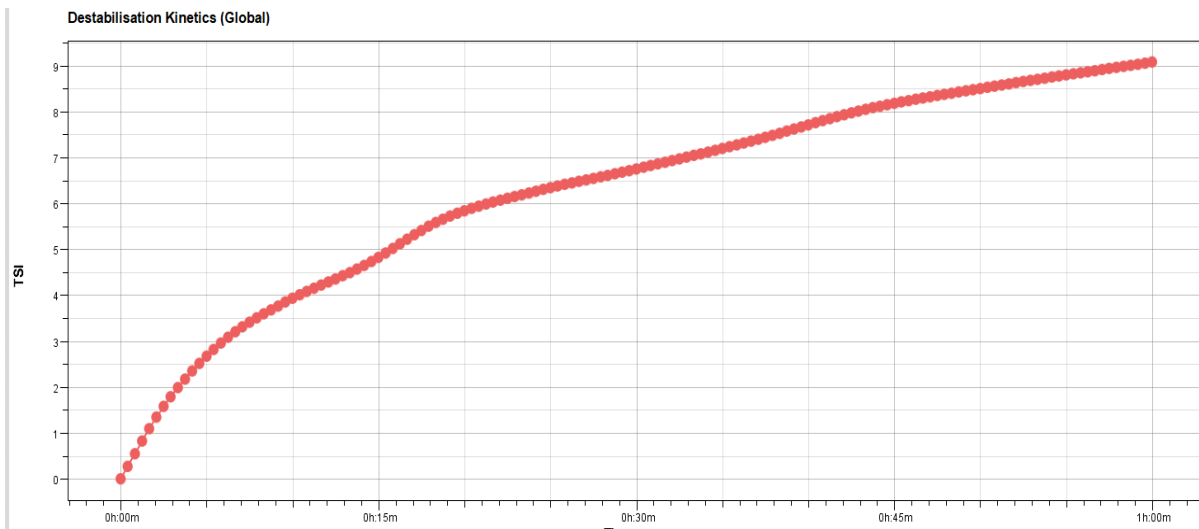
NEE13



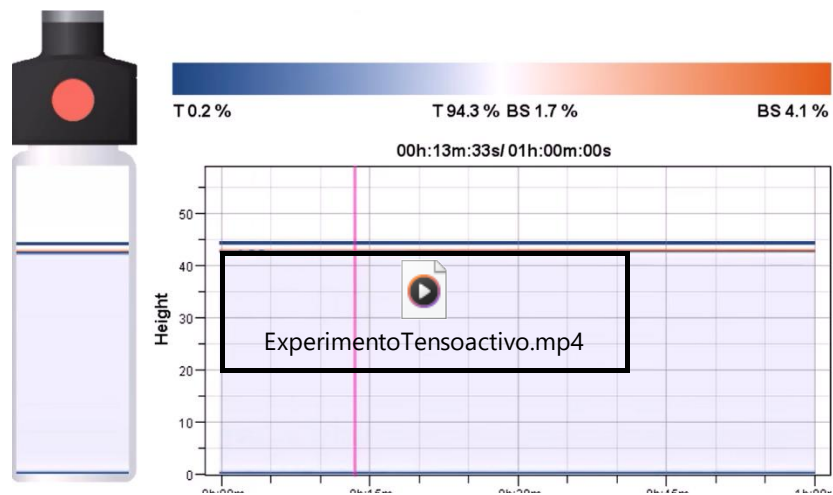
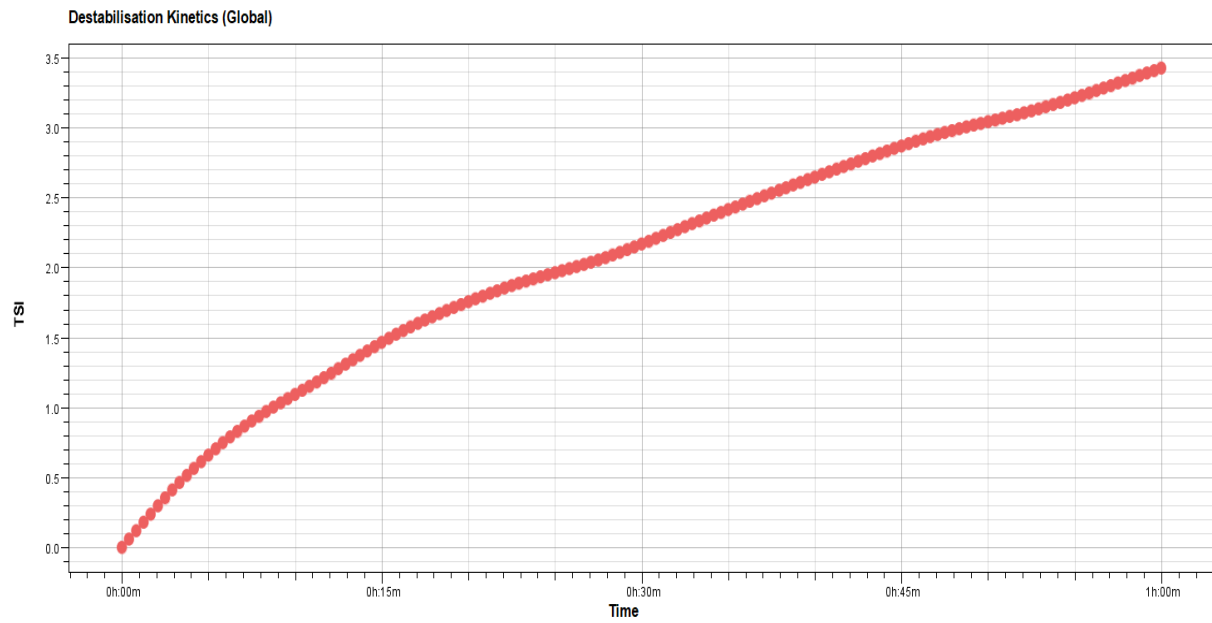
NESA1



NESC14

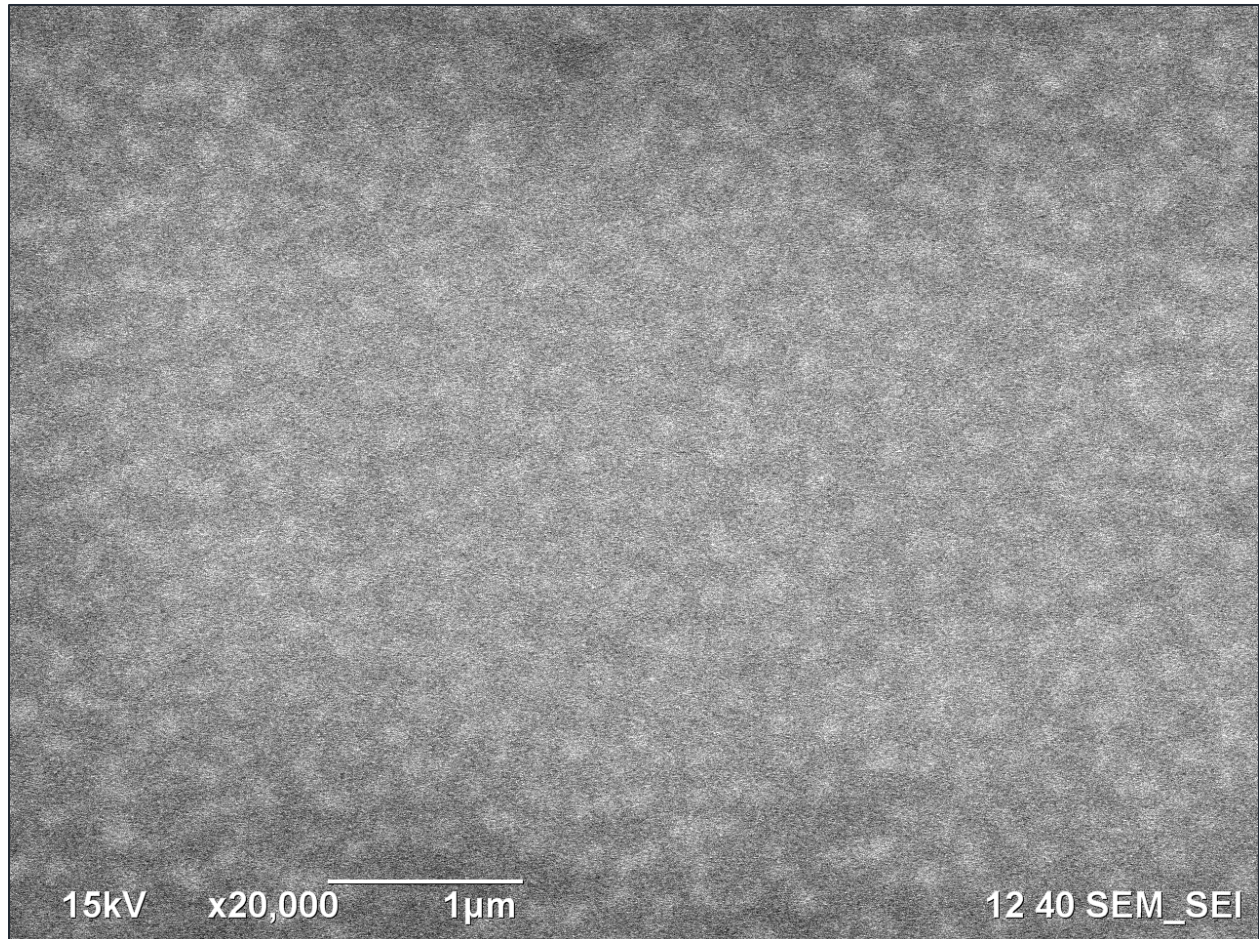


Tensoactivos



MICROSCOPIAS

SEM NESC14



Condiciones de experimento:

- Barrido a 15kV
- Magnificación
10 000X a 20 000X

