

UNIVERSITAT POLITÈCNICA DE VALÈNCIA



TEXTILES FUNCIONALES DE REPELENCIA CONTRA *Aedes aegypti* A PARTIR DE LA MICROENCAPSULACIÓN DE ACEITES ESENCIALES

TRABAJO FINAL DE MAESTRÍA PREPARADO PARA EL DEPARTAMENTO

INGENIERÍA TEXTIL Y PAPELERA
ESCUELA POLITÉCNICA SUPERIOR DE ALCOY

PARA OPTAR AL TÍTULO DE

MAESTRÍA EN INGENIERÍA TEXTIL

POR: ZICRI AZIEL MONTIEL VAQUIZ

Tutor: JAIME GISBERT PAYÁ
Co-Tutor: PABLO MONLLOR PÉREZ

SEPTIEMBRE 2015

ALCOY, ALICANTE. ESPAÑA

RECTOR

FRANCISCO JOSÉ MORA MÁS

DIRECTOR DE LA ESCUELA POLITÉCNICA SUPERIOR DE ALCOY

JUAN IGNACIO TORREGROSA LÓPEZ

DIRECTOR ACADÉMICO DEL MÁSTER UNIVERSITARIO EN INGENIERÍA TEXTIL

IGNACIO MONTAVA SEGUÍ

TUTOR TRABAJO FINAL DE MAESTRÍA

JAIME GISBERT PAYÁ

CO-TUTOR TRABAJO FINAL DE MAESTRÍA

PABLO MONLLOR PÉREZ

CURSO ACADÉMICO 2014-2015

AGRADECIMIENTOS

El alcance del presente trabajo de fin de maestría no hubiese sido posible sin el apoyo de personas que generosamente tuvieron disposición en colaborar, a quienes menciono a continuación:

A la Universidad Politécnica de Valencia y los profesores del Departamento de Ingeniería Textil y Papelera de la Escuela Politécnica Superior de Alcoy. Por su disponibilidad para el uso de equipo, insumos e instalaciones del laboratorio, facilitar los medios para movilizarme al Centro de Microscopía del Campus de Vera así como también por la asignación de presupuesto para la adquisición de las esencias utilizadas en la fase experimental.

A Jaime Gisbert y Pablo Monllor del Departamento de Ingeniería Textil y Papelera en su calidad de tutores de este trabajo de fin de maestría, por su valioso acompañamiento, apoyo y orientación a lo largo de estos meses; por haber creído en esta línea de trabajo y aceptar que fuera desarrollada junto a Ustedes.

A INNOVATEC S&C, institución que formó parte del proyecto financiando la realización del ensayo para evaluación de la actividad de repelencia del textil funcional en un laboratorio certificado en Francia. Esa evaluación es, sin duda, el principal entregable de este proyecto y sin cuyo apoyo el estudio no tuviese la relevancia alcanzada.

A Eva Bou Belda, quien amable y proactivamente se involucró en la fase experimental de mi trabajo de fin de maestría y colaboró en la obtención de las microcápsulas que significó tiempo y dedicación de su parte.

Un fraterno agradecimiento a todos Ustedes, y exhortarles a seguir con la noble labor de desarrollar mentes para el sector textil y químico,

DEDICATORIA

A lo largo de estos meses muchos han sido partícipes de mi etapa de estudios de posgrado, su genuino apoyo me permite hoy sentirme realizado de haber culminado mis estudios de maestría en Europa. A ellos les dedico este importante paso en mi formación profesional:

Ante todo, **A Dios** por hacerme sentir su fortaleza a lo largo de todo este curso académico en la que su bendición hace siempre posible llevar a cabo planes en búsqueda de nuevas y grandes oportunidades.

A mis queridos papás, a quienes no encuentro a lo largo de mi vida manera de retribuirles todo ese esfuerzo invaluable que hacen para permitir mi superación personal y profesional.

A mis queridos hermanos, quienes son soporte, guías y modelos a seguir, fuente de inspiración y superación personal y profesional sin fronteras.

A mi demás familia, quienes son un respaldo incondicional, en quienes encuentro siempre motivación y estímulo para seguir siempre adelante: Sé que se llenan de júbilo y orgullo por el término de mis estudios de maestría.

A España, País anfitrión que a través de su gente, cultura y oportunidades de desarrollo profesional me han hecho sentir como uno de los suyos, muy cómodo y acogido en esta tierra.

A todos ellos ¡Un Beso!

RESUMEN EJECUTIVO

“TEXTILES FUNCIONALES DE REPELENCIA CONTRA *Aedes aegypti* A PARTIR DE LA MICROENCAPSULACIÓN DE ACEITES ESENCIALES”^(a)

^(a)Departamento de Ingeniería Textil y Papelera, Escuela Politécnica Superior de Alcoy. Universitat Politècnica de València, España.

Palabras Clave: *Aedes aegypti*, funcionalización de textiles, aceites esenciales, repelencia, microencapsulación, polimerización interfacial.

Keywords: *Aedes aegypti*, textiles functionalization, essential oils, repellency, microencapsulation, interfacial polymerization.

La funcionalización de sustratos textiles con propiedades de repelencia contra mosquitos cobra especial relevancia en la medida que responde a una necesidad en regiones constantemente afectadas a picaduras de mosquitos transmisores de graves enfermedades, a tal punto de convertirse en alertas epidemiológicas y problemas de sanidad pública. Tal es el caso de los mosquitos del género *Aedes* (*aegypti* y *albopictus*), transmisores del *dengue clásico*, *dengue hemorrágico* y *fiebre chikungunya*, las cuales afectan severamente a comunidades ubicadas geográficamente en el trópico.

A lo largo de este estudio, se busca proponer una alternativa factible de funcionalización de textiles considerando variables fundamentales tales como: la composición y estructura del sustrato textil, la incorporación de aceites esenciales con una actividad de repelencia en su estructura química, la técnica de micro-encapsulación por polimerización interfacial a través de la cual se incorpora dicho principio activo, la caracterización de las microcápsulas y estudio del tamaño y morfología de las partículas, así como la efectividad de su potencial repelente. La efectividad del fenómeno de repelencia será medida a través de los ensayos de repelencia o excito-repelencia propuestos por la Organización Mundial de la Salud (OMS-2013) y ensayos de durabilidad ante la abrasión de ciclos de lavado y evaluación de la presencia de la estructura química en el principio activo mediante cromatografía y su respectiva caracterización física mediante microscopía y análisis estadístico de los resultados de repelencia y tiempos de protección.

La incorporación de principios activos provenientes de extractos naturales de aceites esenciales surge como alternativa a principios activos de origen sintéticos ampliamente usados a nivel mundial, tales como el DEET e IR3535 que según un amplio número de estudios han demostrado

un potente y duradero efecto repelente, pero cuya exposición prolongada podría generar efectos secundarios al estar en contacto directo con la piel. Es por ello, que este estudio se une a una línea global de búsqueda de alternativas naturales, específicamente evaluando el efecto individual de los aceites individuales seleccionados, así como también el efecto sinérgico de estos y su interacción con el solvente y la emulsión que los contiene.

El presente estudio lleva a la aplicación en sustratos textiles estudios que previamente fueron realizados sobre aplicación directa en la piel y cuyos resultados fueron comparables e incluso llegando a superar bajo determinadas condiciones de aplicación a los principios activos sintéticos (Amer y Mehlhorn, 2006).

Por tanto, el presente trabajo de fin de master buscará proponer una técnica efectiva y de una durabilidad aceptable y de una forma eco-amigable a través de la incorporación de extractos naturales de aceites esenciales con propiedades repelentes, sin que esto afecte la confortabilidad ni genere riesgo de toxicidad y que cumpla con los requerimientos mínimos de funcionalidad como producto textil que es: confeccionable, vestible, resistencia a la abrasión por lavado, fricción, roce, sudoración, humedad, luz y temperaturas ambientales.

Por ello en el presente estudio se preparan microcápsulas obtenidas a partir de polimerización interfacial conteniendo como principios activos aceites esenciales de *Melaleuca leucadendron* y *Litsea cubeba*, las cuales son posteriormente aplicadas al tejido de algodón por impregnación para conferir al textil la funcionalización de repulsión de mosquitos. Se realiza un análisis por cromatografía para determinar la composición química de los aceites esenciales.

La actividad de repelencia fue evaluada en un laboratorio certificado siguiendo un protocolo bajo la normativa de la directiva europea en el que se miden las propiedades de repelencia directa e indirecta contra el vector *Aedes aegypti*, habiendo alcanzado niveles de repelencia intrínseca superiores al 90% durante 60 minutos de exposición continua, lo cual da lugar a inferir que su efecto podría prolongarse más allá de este período con niveles elevados de efectividad. Más allá de atribuirle las propiedades repelentes antimosquitos a la planta de la cual han sido extraídos los aceites esenciales, es importante prestar la atención a los constituyentes *1,8 Cineol*, *Limoneno*, *Citral (Geranial y Neral)* y *α -Terpineol* cuya presencia en la composición química de los extractos de la mezcla *Melaleuca leucadendron* y *Litsea cubeba* es la mayoritaria.

CONTENIDO

CAPÍTULO 1. INTRODUCCIÓN	
1.1 ANTECEDENTES.	09
1.2 DEFINICIÓN Y JUSTIFICACIÓN DEL PROBLEMA.	11
1.3 OBJETIVOS.	13
CAPÍTULO 2. ESTADO DEL ARTE	
2.1 MECANISMO DE BÚSQUEDA.	14
2.2 RESULTADOS DE LA BÚSQUEDA.	16
2.3 CONCLUSIONES DE LA BÚSQUEDA.	20
CAPÍTULO 3. INNOVACIÓN DEL ESTUDIO	
3.1 NOVEDAD DEL ESTUDIO.	27
CAPÍTULO 4. LA FIEBRE DEL DENGUE Y CHIKUNGUNYA. CONCEPTOS Y GENERALIDADES	
4.1 VECTOR TRANSMISOR DEL VIRUS: <i>Aedes -aegypti y albopictus-</i>	29
4.2 LOS VIRUS DEL DENGUE Y CHIKUNGUYA.	30
4.3 ESTADÍSTICAS Y DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA.	33
CAPÍTULO 5. ACEITES ESENCIALES. CONCEPTOS Y GENERALIDADES	
5.1 ACTIVIDAD QUÍMICA: LOS TERPENOS.	38
5.2 EFECTO INDIVIDUAL Y SINÉRGICO.	39
5.3 REPELENTES SINTÉTICOS.	41
CAPÍTULO 6. TEXTIL COMO SUSTRATO A FUNCIONALIZAR	
6.1 FUNCIONALIZACIÓN. CONCEPTOS Y GENERALIDADES.	43
6.2 CARACTERÍSTICAS DEL TEXTIL COMO SUSTRATO A FUNCIONALIZAR.	44
CAPÍTULO 7. MICROENCAPSULACIÓN COMO TÉCNICA DE FUNCIONALIZACIÓN	
7.1 MICROENCAPSULACIÓN. CONCEPTOS Y GENERALIDADES.	45
7.2 MICROENCAPSULACIÓN POR POLIMERIZACIÓN INTERFACIAL.	47
7.3 MICROENCAPSULACIÓN COMO FUNCIONALIZACIÓN DE TEXTILES.	49
CAPÍTULO 8. MATERIALES, MÉTODOS Y TÉCNICAS INSTRUMENTALES EMPLEADAS	
8.1 ACEITES ESENCIALES SELECCIONADOS. DETERMINACIÓN DE LA COMPOSICIÓN QUÍMICA POR CROMATOGRAFÍA DE GASES.	51
8.2 PROPIEDADES FÍSICOQUÍMICAS DE ACEITES ESENCIALES SELECCIONADOS.	55
8.3 CARACTERÍSTICAS DEL SUSTRATO TEXTIL.	56
8.4 MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE BARRIDO COMO TÉCNICA DE CARACTERIZACIÓN.	58
8.5 DETERMINACIÓN DEL TAMAÑO DE LAS MICROCAPSULAS.	59
8.6 DURABILIDAD DE LAS MICROCAPSULAS.	60
8.7 ENSAYO EVALUACIÓN DE LA EFECTIVIDAD DE LA CAPACIDAD DE REPELENCIA.	63
8.8 MECANISMO DE INCORPORACIÓN AL TEXTIL.	68

CAPÍTULO 9. RESULTADOS	
9.1 DATOS OBTENIDOS.	71
9.2 RESULTADOS.	74
9.2.1 ANÁLISIS DE SUPERFICIE POR MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE BARRIDO.	
9.2.2 DURABILIDAD: SOLIDEZ AL LAVADO Y ROCE.	
9.2.3 EFECTIVIDAD DE LA CAPACIDAD DE REPELENCIA.	
9.2.4 DETERMINACIÓN DE TAMAÑO DE MICROCAPSULAS.	
9.3 DISCUSIÓN DE RESULTADOS.	85
CAPÍTULO 10. CONCLUSIONES Y LÍNEAS FUTURAS DE TRABAJO	
10.1 CONCLUSIONES	89
10.2 LÍNEAS FUTURAS DE TRABAJO	92
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	94
ANEXOS	98

CAPÍTULO 1: INTRODUCCIÓN

1.1 ANTECEDENTES

Los mosquitos son insectos de interés público para las instituciones gubernamentales de muchos estados a nivel mundial ya que son vectores causantes de la transmisión de diversas enfermedades, entre las cuales cobra especial atención la fiebre del dengue y fiebre chikungunya (nombrada simplemente *chik* de ahora en adelante) que es transmitida por los vectores del género *Aedes*, específicamente los *Aedes aegypti* y *Aedes albopictus*.

El dengue es considerada de las infecciones mayormente esparcidas por el mundo ocasionadas por el virus transmitido por artrópodos, afectando enormemente amplias regiones geográficas tropicales en todas las latitudes, principalmente en Asia, Centro y Sudamérica, en las que las condiciones climáticas y actividades antropogénicas ejercen una combinación favorable para la llegada y rápida propagación del vector transmisor, principalmente en la estación lluviosa a pesar de los esfuerzos por parte de las autoridades en enfrentar las epidemias.

Solo en América, hacia el final de 2014 se tenían 1,176,529 casos de dengue, de los cuales 16,238 representaban el tipo hemorrágico cuya tasa de fatalidad es elevada, fueron registradas 761 muertes a causa de esta enfermedad, lo cual se traduce en 194 casos por cada 100 mil habitantes. Para 2015 y al cierre de la semana epidemiológica 25, un total de 1,206,172 casos habían sido registrados ya en el continente americano, lo cual excede el total de los registros del año anterior; sin embargo, el número de casos que representan la enfermedad en fase de riesgo mortal ha sido 2,824 y 459 muertes, lo cual aún está por debajo de los casos registrados en 2014 [34].

La fiebre chik ha sido históricamente una enfermedad que ha afectado a regiones de Asia y África. Desde el año 2004, esta se ha ido expandiendo en su distribución geográfica generando epidemias sin precedentes en países como Filipinas, India y Tailandia y registrando casos en nuevos territorios del Océano Índico e Italia. En diciembre de 2013 fue confirmado el primer caso de esta enfermedad en territorio americano, en la isla San Martín y para finales de enero 2014, se había expandido a otras de las Antillas menores como Guadalupe, Islas Vírgenes Británicas, Martinica, San Bartolomé y San Martín por lo que despierta alarmas en el caribe y los territorios continentales en América.

Además del riesgo y complicaciones graves que puedan contribuir a la muerte de los afectados, el avance de estas enfermedades llega a convertirse en una epidemia de grandes proporciones llegando a convertirse en problemas de salud pública y llega a afectar la normalidad de las actividades productivas del país. A manera de ejemplo y solamente para dimensionar el impacto

epidemiológico de estas enfermedades, desde el primer caso en Junio de 2014 y hasta Diciembre del mismo año, el Ministerio de Salud de El Salvador en América Central [28] había confirmado 168,472 casos sospechosos de fiebre chik y 53,381 casos sospechosos de dengue y registrado 12 fallecimientos por causa de estas enfermedades (6 por causa de fiebre chik y 6 por causa de dengue), lo cual representó para el Instituto Salvadoreño de Seguro Social (ISSS) un desembolso de \$1.1 millones en concepto de incapacidades y para el Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social (MINSAL) la asignación de \$40 millones en jornadas de combate y/o control de las enfermedades, por lo que el 2014 pasó a ser un año con niveles de epidemia por causa de estos vectores transmisores sin precedentes, superando las cifras históricas de dengue clásico y hemorrágico en el invierno de 2010 [29].

A lo largo de las últimas décadas han sido ampliamente exploradas las propiedades repelentes antimosquitos que poseen una diversidad de aceites esenciales y ha cobrado especial atención debido a su naturaleza biodegradable y por su procesamiento amigable con el medio ambiente. Así lo demuestra una serie de estudios realizados y presentados en el capítulo 2 en los que más de 100 aceites esenciales han sido objeto de estudios como alternativa a por lo menos una decena de repelentes sintéticos utilizados hoy en día.

El reto consiste en conseguir que estos aceites esenciales puedan convertirse en alternativas factibles a los repelentes sintéticos como el DEET, el más ampliamente utilizado hasta la fecha. Por ello, se exploran las propiedades de repelencia que poseen tres aceites esenciales: *melaleuca leucadendron*, *cinnamomum camphora* y *litsea cubeba*, cuyos nombres comunes son *cajeput*, *alcánfor* y *litsea* respectivamente.

La incorporación de estos aceites esenciales a sustratos textiles se convierten en una opción que amerita ser explorado, valiéndose de mecanismos de funcionalización tales como la microencapsulación, que permite extender y regular la forma de liberación de la esencia alojada en el núcleo protegido por una pared de polímero que se irá rompiendo en la medida se vea expuesta gradualmente a la agresión del tejido, por lo que la microencapsulación puede convertirse en un mecanismo de incorporación a través de procesos de acabados a sustratos textiles.

Previamente ha sido posible la funcionalización de textiles por microencapsulación de aceites esenciales comercialmente conocidos como la citronela, e incluso el mismo DEET por mecanismos de coacervación o incrustación en ciclodextrinas [18]; sin embargo, acá se busca explorar tres esencias cuyos efectos al ser aplicados directamente sobre la piel son elevados y además explorar efectos sinérgicos entre los componentes que nivel de su composición química le confieren estas posibles propiedades biológicas.

Por tanto, este trabajo de fin de maestría pretende estudiar el efecto repelente (tanto individual como sinérgico) de los tres aceites esenciales incorporados a sustratos textiles de algodón mediante su microencapsulación por polimerización interfacial y evaluar sus propiedades de repelencia siguiendo un protocolo certificado con mosquitos hembra de *Aedes aegypti* aplicado a textiles tratados y sin tratar.

1.2 DEFINICIÓN Y JUSTIFICACIÓN DEL PROBLEMA

Las acciones orientadas a enfrentar las epidemias del dengue o fiebre chik tienen diferentes componentes cuyo éxito está fuertemente condicionado por el nivel de control territorial por parte de las autoridades y organismos encargados del control de epidemias como estas. Así por ejemplo, las acciones que invierno tras invierno se realizan para mitigar en alguna medida el impacto de los contagios son las siguientes:

- a) *Control físico*. Comprende la eliminación, modificación, depuración y reducción de potenciales criaderos de mosquitos y consiste en eliminar todo tipo de huecos, asentamientos en jardines, utensilios de hogar, depósitos naturales o artificiales de agua en árboles, plantas, rocas, reducir a su mínima expresión la exposición innecesaria de objetos y depósitos a la lluvia. También comprende la colocación de mallas en puertas y ventanas como mecanismo de barrera del interior de una vivienda y el exterior.
- b) *Control biológico*. Consiste en valerse de especies animales encargadas de alimentarse del vector transmisor en su fase larvaria y adultez.
- c) *Control químico*. 1) Consiste en aplicar larvicidas granulados, bolsas matalarvas en depósitos útiles, inservibles o naturales. 2) Fumigación de un aerosol insecticida casero en áreas específicas en cualquier momento se observe la presencia de zancudos (se acude a este mecanismo en interiores de viviendas). 3) Fumigación masiva que pretende un alto alcance tanto en áreas de interior como exterior propagado por un vehículo que se desplaza por las zonas a primeras horas de la mañana o inicios de la noche. La fumigación es por tierra y en casos de alertas máximas por medio aéreo.
- d) *Fase educativa*. Las autoridades sanitarias despliegan un plan de capacitación y educación de la población en torno a tareas caseras necesarias para prevenir el brote dentro del radio de responsabilidad aplicando las medidas expuestas anteriormente.
- e) *Uso tópico de repelentes*. La aplicación de repelentes directamente sobre la piel no constituye una medida ampliamente practicada por la población debido a que la exposición a los mosquitos es permanente y por un período extenso en el año, por lo que

el uso de repelentes por tiempos prolongado es inviable entre la población y únicamente se práctica ante exposiciones específicas de y por tiempo limitado: actividades en la playa, laguna, trabajo en estanques, etc.

- f) *Uso de tecnología repelente.* No es una medida común, debido al limitado poder adquisitivo de la población no es fácil poder acceder a lámparas repelentes, espirales, emisiones de baja frecuencia, etc.

- g) Evitar la exposición de la piel llevando vestuario que cubra las extremidades. Esta medida al igual que la medida E, se realiza en situaciones muy específicas pues las temperaturas en las regiones afectadas son superiores a los 30 grados Celsius con elevados niveles de humedad ambiental (es temporada lluviosa y se prolonga por 6 meses), por lo que llevar camisas manga larga no garantiza confort.

De las medidas expuestas anteriormente, A, C y D son las principales apuestas por parte de la política oficial de prevención y control de la epidemia [26]. La medida D es fomentar cultura y no arroja resultados efectivos en sí misma, al menos en una fase en el que aún no existe una plena consciencia del abordaje de la enfermedad; por lo que debe ir de la mano de otras medidas técnicas, tales como A y C, las cuales son muy efectivas si y solo si existe un control territorial por parte de las autoridades sobre las comunidades para facilitar el control químico que contenga el brote de la mano de una función auditora e inspección para garantizar que la población siga y acate las normas; si no hay un control de territorio por parte de la autoridad, las medidas pierden efectividad, debido a que el riesgo es permanente y la velocidad de desarrollo larvario de la cepa y muy rápido.

Por ello, es necesario pensar en medidas que complementen las ya existentes, sobretodo en áreas de interior y que no requieran un mantenimiento tan continuo por parte de las personas para que sea efectivo y desde esta perspectiva, pensar en textiles con propiedades duraderas de repelencia son una opción viable; aunque también deberá ir acompañada de un componente de educación a la población.

Aunque en el presente trabajo de fin de maestría se explora una pequeña parte, la posibilidad de explorar diferentes concentraciones, formulaciones, tipos de tejido, formas de incorporación y tipos de aceites esenciales es muy amplia.

Según el análisis de estado del arte presentado en el capítulo 2, se refleja que la mayor parte de los aceites esenciales estudiados hasta la fecha han sido incorporados en formulaciones para aplicación directa a la piel en cremas o lociones por lo que su durabilidad es de corta duración; por ello en este estudio se busca primero explorar las propiedades fisicoquímicas de tres aceites

esenciales, estudiar su factibilidad por ser microencapsulados y finalmente incorporarlos a un sustrato textil que tenga capacidad de repeler mosquitos.

Con ello, se pretende proponer un producto que asegure la efectividad de repelencia sin llegar a afectar ni paralizar la normalidad en el desempeño de las actividades cotidianas de las personas.

1.3 OBJETIVOS

En el presente trabajo de fin de maestría, se plantea un objetivo general y tres objetivos específicos, siendo estos últimos los medios para alcanzar el primero:

1.3.1 OBJETIVO GENERAL

Desarrollar un textil funcional con actividad de repelencia contra mosquito *Aedes aegypti* mediante la microencapsulación de aceites esenciales determinados.

1.3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Conseguir la microencapsulación de aceites esenciales con propiedades de repelencia como principios activos a partir del estudio de sus propiedades fisicoquímicas.
- Estudiar la actividad de repelencia a partir de posibles efectos sinérgicos entre la composición química de dos o más aceites esenciales.
- Evaluar la eficacia de la actividad repelente mediante la realización de ensayos siguiendo protocolos acorde a normativa vigente europea.
- Utilizar diferentes técnicas instrumentales así como sus respectivos protocolos de ensayos para la correcta determinación de propiedades en los materiales.

CAPÍTULO 2: ESTUDIO DE ESTADO DEL ARTE

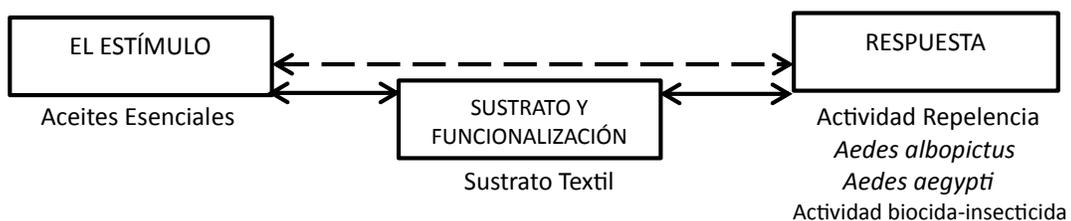
La etapa de búsqueda de la revisión bibliográfica es fundamental para realizar un estudio del estado del arte completo, veraz, actualizado y preciso. Para ello se requiere tener claridad en el alcance de la búsqueda y valerse de plataformas potentes que se convertirán en fuentes consultadas que garanticen la mayor calidad y diversidad posible de artículos científicos en torno al tema que se pretende desarrollar. A continuación se presentan los criterios utilizados para la búsqueda:

2.1 MECANISMO DE BÚSQUEDA

Las fuentes consultadas han sido principalmente plataformas virtuales conocidas por aglutinar una amplia cantidad de artículos científicos de importantes instituciones de investigación y desarrollo a nivel global. Estas son: *web of science*, *espacenet*, *science direct*, *scopus*, *elsevier*; así como también plataformas institucionales de organismos multilaterales tales como la *Organización Mundial de la Salud (OMS)*, su dependencia regional *Organización Panamericana de la Salud (OPS)* y *The royal association of tropical medicine and hygiene*.

2.1.2 Palabras clave

Las palabras claves seleccionadas para llevar a cabo la búsqueda tienen la siguiente lógica de forma general: *el estímulo*, *el sustrato a funcionalizar* y *la respuesta deseada con tal funcionalización*. Bajo esta lógica, el planteamiento de las palabras clave se ilustra a continuación, siendo *la respuesta* la mayormente acotada.



2.1.3 Criterios de búsqueda y selección por relevancia

Resultó fundamental acotar en mayor manera la variable *respuesta*, debido a que con esto se responde a “¿El qué?”; la variable *sustrato y funcionalización* que responde a “¿Cómo?” se limitó más a una sola palabra cuyo cumplimiento es mandatorio y es acá donde se pretende identificar potenciales brechas en las líneas de investigación actuales y desde esta perspectiva plantear una propuesta innovadora, por tanto es donde más flexibilidad de búsqueda se pretende. La variable *estímulo* está limitada a *aceites esenciales*, pero interesa una interacción directa de búsqueda

tanto con la variable *sustrato y funcionalización* como con la variable *respuesta*, tal como se representa en el esquema.

Una vez definidas las palabras claves y la interacción entre las variables, entonces resulta más claro establecer filtros, por tanto serán de utilidad los artículos científicos, revistas, patentes y normativas que necesariamente respondan a las siguientes interacciones:

- a) <<aceites esenciales and textiles and (Aedes albopictus or/and Aedes aegypti) and/or actividad repelencia and/or actividad biocida>>, es decir, necesariamente debe contener dos de los siguientes elementos: repelencia-biocida-insecticida vs. Aedes aegypti-Aedes albopictus siendo mandatorio al menos uno del género de mosquito en cuestión siendo estos últimos suficientes y necesarios y los primeros necesarios más no suficientes.
- b) <<aceites esenciales and repelencia-Aedes-biocida>>.
- c) <<aceites esenciales and textiles>>.
- d) <<textiles and repelencia-Aedes-biocida>>.

La interacción *a* es la más acotada posible, la *b* resulta interesante porque abre la posibilidad de desarrollar completamente una funcionalización en sustratos textiles a partir de experiencias aceptables mediante otras aplicaciones, la interacción *c* también es de interés porque si bien no vincula la variable *respuesta* arroja información de potenciales técnicas de incorporación y funcionalización de aceites esenciales a sustratos textiles y finalmente la interacción *d* arroja información interesante para conocer no solo la experiencia de funcionalización a través de aceites esenciales, sino también abre la búsqueda a principios activos de origen sintéticos a través de lo que es posible establecer parámetros de comparación cuando la variable *estímulo* responde a lo tradicionalmente conocido y existente y la innovación a proponer y además arroja información de la normativa de ensayos estándar realizados para evaluar la conformidad de la variable *respuesta*. Todas las búsquedas han sido realizadas en inglés.

Un tercer criterio ha sido definir la relevancia de los artículos encontrados, el cual ha consistido en revisar el número de veces en las que ha sido citado posterior a su publicación, así como las citas utilizadas en retrospectiva. Este criterio junto a los años de publicación han definido el criterio *relevancia* en la búsqueda de información en las plataformas, interesan publicaciones desde 1981, año en que la OMS propone tipos protocolos de evaluación y ensayos específicos para medir la capacidad repelente-insecticida de principios activos, aunque 1996 marca nuevamente un punto de inflexión, ya que la OMS propone versiones revisadas y mecanismos más completos de caracterización y ensayos de evaluación de la capacidad repelente de principios activos y lo comienza a relacionar a los tipos de superficie sobre los cuales son aplicados.

2.2 RESULTADOS DE LA BÚSQUEDA

Partiendo de lo general a lo específico, abajo se presentan los resultados de la búsqueda en las diferentes plataformas al introducir las palabras claves siguiendo las 4 interacciones de interés descritas en la sección 2.3.

Plataforma de búsqueda	Palabras clave (interacción a)	Resultados
Espacenet	<<essential oil, textiles, aedes albopictus, aedes aegypti, repellency, biocidal, insecticidal>>	0
Web of science		2
Science direct		2
Scopus		2
Elsevier		0
Total		6

Plataforma de búsqueda	Palabras clave (interacción b)	Resultados
Espacenet	<<essential oil, aedes albopictus, aedes aegypti, repellency, biocidal, insecticidal>>	0
Web of science		134
Science direct		46
Scopus		335
Elsevier		3
Total		518

Plataforma de búsqueda	Palabras clave (interacción c)	Resultados
Espacenet	<<essential oil, textiles>>	2
Web of science		25
Science direct		20
Scopus		91
Elsevier		20
Total		158

Plataforma de búsqueda	Palabras clave (interacción d)	Resultados
Espacenet	<< textiles, aedes albopictus, aedes aegypti, repellency, biocidal, insecticidal>>	0
Web of science		1
Science direct		2
Scopus		16
Elsevier		0
Total		19

La interacción entre las variables estímulo-respuesta concentra el 73,8% de los hallazgos, las variables estímulo-sustrato el 22,5%, la interacción sustrato-respuesta el 2,7% y la interacción más acotada estímulo-sustrato-respuesta se limita a un 0,9%. Luego, se procedió a seleccionar un grupo de artículos científicos en función de su contenido, resultados y número de veces que han sido citados. Este conjunto de artículos será el insumo para construir el estado del arte y poder identificar la situación actual, las líneas de estudio, analizar los recursos en términos de reactivos,

equipos y materiales utilizados, estudiar la robustez de la técnica y los resultados en términos de protocolos implementados, identificar brechas y proponer elementos que complementen el conocimiento generado y que tenga la viabilidad de incluirse en el Trabajo de Fin de Maestría.

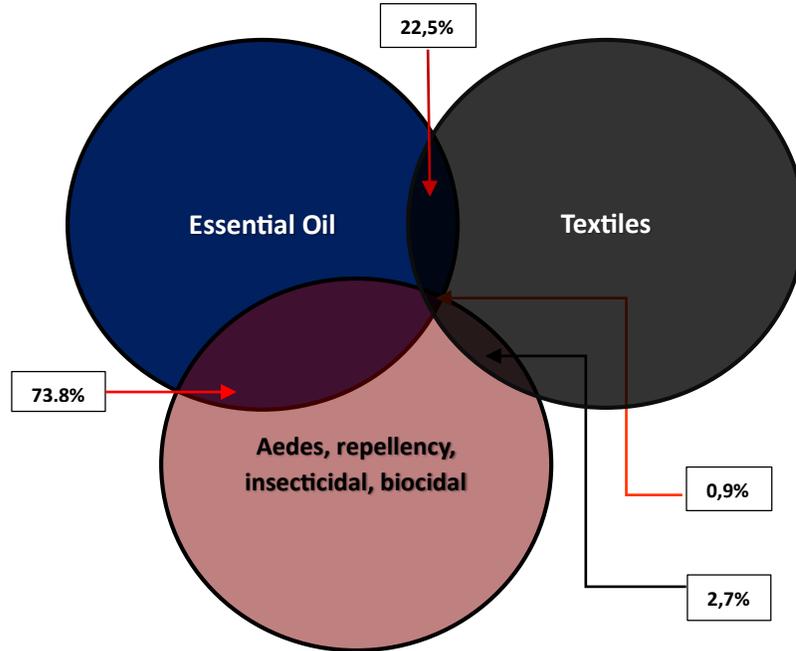


Imagen 2.1 Interacción de las variables en plataformas de búsqueda

La tabla 2.1 muestra el directorio de 24 publicaciones relevantes, de las que 6 (las sombreadas) son consideradas referentes para cada tipo de interacción de búsqueda realizada, en función de su contenido y número de veces que han sido citados. La imagen 2.2 es una gráfica que compara el número de citas utilizadas y las que han surgido posteriormente [16] [5] [10] [9] [6] [15]:

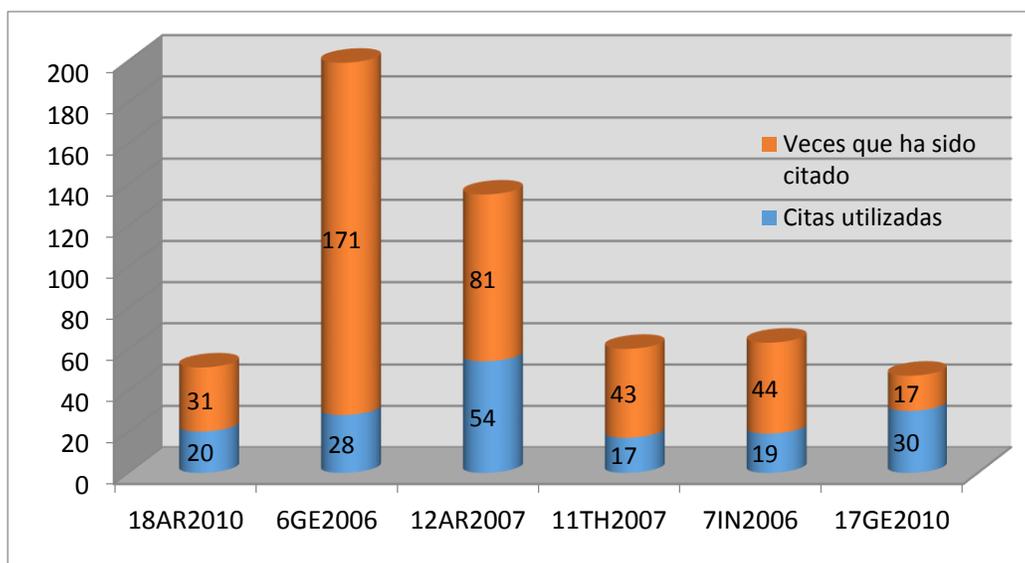


Imagen 2.2 Citas utilizadas y generadas de las 5 publicaciones más relevantes (Fuente: Web of science)

No. REF	PAÍS	NOMBRE DE LA INVESTIGACIÓN	AUTOR (et al.)	AÑO PUBL	TIPO DE INVESTIGACIÓN	GÉNERO DE MOSQUITO ESTUDIADO	ETAPA DESARROLLO DEL MOSQUITO	TIPO DE ENSAYO	METODOLOGÍA/NORMATIVA	MECANISMO DE INCORPORACIÓN
1UK2001	United Kingdom	Application of microencapsulation in textiles [1]	N. Gordon	2001	Overview	Not Applicable	Not Applicable	Not Applicable	Not Applicable	Microencapsulation
2KO2004	Korea	REPELLENCY OF AROMATIC MEDICINAL PLANT EXTRACTS AND A STEAM DISTILLATE TO AEADES AEGYPTI [2]	Y. Yang	2004	Experimental	A. aegypti	Adult	Human skin test	Frances et al. (1996) Modified	Solubilized and direct application
3IN2005	India	Composition and larvicidal activity of leaves and stem essential oils of Chloroxylon swietenia DC against Aedes aegypti and Anopheles stephensi [3]	S. Ravi	2005	Experimental	A. aegypti / A. stephensi	Larvae	Aquous breeding	WHO (1981)	Solubilized
4CH2005	China	Repellent effect of plant essential oils against Aedes albopictus [4]	P. Yang	2005	Experimental	A. albopictus	Adult (proboscis amputated)	Mice skin test / Human skin test	Own / Frances et al. (1996) Modified	Solubilized and direct application
5GE2006	Germany-Lybia	Larvicidal effects of various essential oils against Aedes, Anopheles, and Culex larvae (Diptera, Culicidae)	A. Amer	2006	Experimental	A. aegypti / A. stephensi / C. quinquefasciatus	Larvae	Aquous breeding	Mohtar et al. (1999) Modified	Solubilized
6GE2006	Germany	Repellency effect of forty-one essential oils against Aedes, Anopheles, and Culex mosquitoes [5]	A. Amer	2006	Experimental	A. aegypti / A. stephensi / C. quinquefasciatus	Adult	Human skin test	Human-Bait. Schreck and McGovern (1989); WHO (1996)	Solubilized and direct application
7IN2006	India	Microencapsulation of Zanthoxylum limonella oil (ZLO) in glutaraldehyde crosslinked gelatin for mosquito repellent application [6]	T. Maji	2006	Experimental	Not Applicable	Not Applicable	Not Applicable	Not Applicable	Microencapsulation
8TH2006	Thailand-USA	REPELLENCY OF ESSENTIAL OILS EXTRACTED FROM PLANTS IN THAILAND AGAINST FOUR MOSQUITO VECTORS (DIPTERA: CULICIDAE) AND OVIPOSITION DETERRENT EFFECTS AGAINST AEADES AEGYPTI (DIPTERA: CULICIDAE) [7]	A. Tawatsin	2006	Experimental	A. aegypti / A. albopictus / A. dirus / C. quinquefasciatus	Adult (Air repellency and eggs-laid deterrent effect)	Human skin test / Aquous breeding	Human-Bait. Tawatsin et al. (2001) / Own	Solubilized and direct application
9TH2007	Thailand	Aromatic plant-derived essential oil: An alternative larvicide for mosquito control	B. Pitasawat	2007	Experimental	A. dirus / A. aegypti	Larvae	Aquous breeding	WHO (1981)	Solubilized
10FR2007	France-Morocco	Biological effects of essential oils – A review [8]	F. Bakkali	2007	Overview	Various diptera organisms: A. aegypti / A. albopictus	Adult	Not Applicable	Not Applicable	Not Applicable
11TH2007	Thailand	Repellent activity of selected essential oils against Aedes aegypti [9]	W. Choochote	2007	Experimental	A. aegypti	Adult	Human skin test	Human-Bait. WHO (1996)	Solubilized and direct application
12AR2007	Argentina	Mosquito repellent activity of essential oils of aromatic plants growing in Argentina [10]	Y. Gillij	2007	Experimental	A. Aegypti	Adult	Human skin test	Human-Bait. WHO (1996)	Solubilized and direct application
13SP2008	Spain	Estudio comparativo del acabado antimosquitos por microencapsulación [11]	R. Cortes	2008	Experimental	<u>Not specified</u>	Adult	Arm in-cage test: textile surface	Modification of Human-Bait set up-Confinde cage. WHO (1996)	Microencapsulation

No. REF	PAÍS	NOMBRE DE LA INVESTIGACIÓN	AUTOR (et al.)	AÑO PUBL	TIPO DE INVESTIGACIÓN	GÉNERO DE MOSQUITO ESTUDIADO	ETAPA DESARROLLO DEL MOSQUITO	TIPO DE ENSAYO	METODOLOGÍA/NORMATIVA	MECANISMO DE INCORPORACIÓN
14TH2008	Thailand	Characterization and mosquito repellent activity of citronella oil nanoemulsion (NR) [12]	U. Sakulku	2008	Experimental	A. aegypti	Adult	Human skin test	Human-Bait. WHO (1996); Tawatsin et al. (2001)	Solubilized and direct application
15CO2009	Colombia	Repellent activity of essential oils: A review [13]	L. Nerio	2009	Overview	Various diptera organisms: A. aegypti / A. albopictus	Adult	Mice skin test / Human skin test	Yang (2005) / WHO (1996)	Solubilized and direct application
16IN2009	India-Ethiopia	Field trials on the efficacy of DEET-impregnated anklets, wristbands, shoulder and pocket strips against mosquito vectors of disease [14]	K. Karunamoorthi	2009	Experimental	C. quinquefasciatus / C. whitmorei / A. subalbatus / A. subpictus / C. gelidus / C. vishnui	Adult	Outdoor textile surface test	Own Method (Outdoor Exposure)	Solubilized and Direct application to textile
17GE2010	Germany	Insecticidal, acaricidal and repellent effects of DEET- and IR3535-impregnated bed nets using a novel long-lasting polymer-coating technique [15]	M. Faulde	2010	Experimental	A. aegypti / I. ricinus	Adult	Arm in-cage test for repellency and cone test for insecticidal: textile surface	Modification of Human-Bait set up-Confining cage. WHO (2005). Adapted by A. Masetti (2006) and Lagakos (2008).	Polymer coating
18AR2010	Argentina	Microencapsulated citronella oil for mosquito repellent finishing of cotton textiles [16]	M. Miró	2010	Experimental	A. aegypti	Adult	Arm in-cage test: textile surface	Modification of Human-Bait set up-Confining cage. WHO (1996)	Microencapsulation
19US2011	USA	Effects of Irritant Chemicals on Aedes aegypti Resting Behavior: Is There a Simple Shift to Untreated "Safe Sites"? (NR) [17]	H. Manda	2011	Experimental	A. aegypti	Adult	Excito-repellency test: Surface textiles	Chareonviriyaphap (2002).	Solubilized and Direct application to textile
20EG2011	Egypt	Development of Longer-Lasting Insect Repellence Cellulosic Based Curtain Fabrics [18]	A. Farag	2011	Experimental	A. aegypti	Adult	Cone Test	WHO 2001, Modification by N. Kapoor (2003)	Ciclodextrin
21GE2011	Germany-Ethiopia	Microencapsulation of citronella oil for mosquito-repellent application: Formulation and in vitro permeation studies [19]	B. Solomon	2011	Experimental	Not Applicable	Not Applicable	Not Applicable	Not Applicable	Microencapsulation
22EG2013	Egypt	New textiles of biocidal activity by introduce insecticide in cotton-poly (GMA) copolymer containing -Cd (NR) [20]	A. Hebeish	2013	Experimental	Not specified	Adult	Cone Test	Ansari (1998), WHO 2001, Modification by N. Kapoor (2003)	Ciclodextrin/GMA by Electron beam grafting
23TH2014	Thailand	Comparative Behavioral Responses of Pyrethroid-Susceptible and -Resistant Aedes aegypti (Diptera: Culicidae) Populations to Citronella and Eucalyptus Oils [21]	S. Sathantriphop	2014	Experimental	A. aegypti (laboratory colony) / A. aegypti (field colony)	Adult	Excito-repellency test: Surface Paper	Roberts et al. (1997); WHO 1998; Chareonviriyaphap (2004)	Solubilized and Direct application to paper
24GE2015	Germany-Belgium	Insect repellent finishes for textiles: An overview. [27]	L. Van Langehove	2015	Overview	Various diptera organisms: A. aegypti / A. albopictus	Adult	Not Applicable	Not Applicable	Not Applicable

Tabla 2.1 Directorio de bibliografía más relevante obtenida a partir de las cuatro interacciones de búsqueda.

2.3 CONCLUSIONES DE LA BÚSQUEDA

El mayor número de publicaciones ha ocurrido posterior a 2010, de las cuales la gran mayoría están orientadas en las variables *estímulo-respuesta (anteriormente definida)* y muy pocas en *estímulo-textil-respuesta*. Para esta última interacción, la investigación que es referente en todas las plataformas de búsqueda es la investigación argentina de M. Miró Specos et al y para *estímulo-respuesta* el principal referente es la investigación libia-alemana de Abdelkrim Amer et al.

Durante esta fase, se ha identificado que si bien hay una amplia gama de aceites esenciales que han sido objeto de estudio en cuanto a su capacidad de repelencia contra mosquitos de diferente género, aún existe una brecha en cuanto a la exploración de mecanismos que favorezcan durabilidad de su efecto con el tiempo. Efectividad y durabilidad son dos variables fundamentales a explorar para que un principio activo de origen natural pueda convertirse en una alternativa viable a los componentes químicos utilizados hoy en día. Por tanto, se toma como insumo importante los resultados de aquellos aceites esenciales que han sido evaluados previamente por investigaciones que han utilizado metodologías de gran rigor y se buscará saldar las adaptaciones que deban realizarse para llevar a explorar la durabilidad de estos principios activos a través de la microencapsulación y respectiva incorporación al sustrato textil, lo cual se resume en la tabla 2.2 con 8 posibles principios activos a estudiar.

Prioridad Sugerida	Aceite Esencial	Indicadores y Observaciones
1	Catnip (<i>Nepeta cataria</i>)	82%R y PP 480 min individual – 100%R y PP 480 min junto a Litsea, Cajeput y Violeta contra <i>A. aegypti</i> ¹ .
2	Litsea (<i>Litsea cubeba</i>)	75%R y PP 480 min individual - 100%R y PP 480 min junto a Catnip, Cajeput y Violeta contra <i>A. aegypti</i> ¹ y PP 372 min contra <i>A. albopictus</i> ² .
3	Cajeput (<i>Melaleuca leucadendron</i>)	78%R y PP 350 min individual - 100%R y PP 480 min junto a Litsea, Catnip y Violeta contra <i>A. aegypti</i> ¹ .
4	Violeta (<i>Viola odorata</i>)	70%R y PP 370 min individual - 100%R y PP 480 min junto a Litsea, Catnip y Cajeput contra <i>A. aegypti</i> ¹ .
5	<i>Cinnamomum camphora</i>	94%R y PP≥60 min contra <i>A. aegypti</i> ³ .
6	<i>Cinnamomum cassia</i>	91%R y PP≥60 min contra <i>A. aegypti</i> ³ .
7	Piper Nigrum	PP 480 min contra <i>A. albopictus</i> y 170 min contra <i>A. aegypti</i> ² .
8	Citronella (<i>Cymbopogon nardus</i>)	95%R por 21 días (microcapsulas) ⁴ , 87%R ⁵ y PP 168 min ⁶ contra <i>A. aegypti</i> .

Tabla 2.2 Aceites Esenciales sugeridos para microencapsulación fase experimental. (⁵A. Amer et al., 2006 ⁷A. Tawatsin et al., 2006 ⁴Y. Yang et al., 2004 ¹²U. Sakulku et al., 2008 ¹⁶M. Miró et al., 2010 ²¹S. Sathantriphop et al., 2014).

La tabla 2.3 reúne todas las publicaciones en función de los principios activos estudiados, totalizando pruebas con 102 aceites esenciales y 13 sintéticos incluyendo controles positivos, blancos negativos y fijadores, sombreando en gris oscuro los que mejor resultado en actividad de repelencia y/o insecticida arrojaron según las conclusiones en cada investigación. De esta manera ha sido posible establecer diferencias y similitudes en estas investigaciones y se ha procedido a crear un directorio maestro en el que se confrontan los elementos considerados de rigor con miras a identificar metodologías de análisis y ensayos usadas, protocolos sistemas de medición y criterios de pasa-falla (tabla 2.4), recursos utilizados (tabla 2.5), resultados obtenidos (tabla 2.6), y finalmente evaluar las adaptaciones realizables para proponer y justificar un trabajo propio.

ORIGEN DEL ACEITE ESENCIAL	2KO2004	3IN2005	4CH2005	6GE2006	7IN2006	8TH2006	9TH2007	11TH2007	12AR2007	13SP2008	14TH2008	16IN2009	17GE2010	18AR2010	19US2011	20EG2011	22EG2013
<i>Angelica dahurica</i>																	
<i>Acorus calamus var. angustatus</i>																	
<i>Acorus gramineus</i>																	
<i>Artemisia princeps var. orientalis</i>																	
<i>Inula helenium</i>																	
<i>Dioscorea batatas</i>																	
<i>Gleditsia horrida</i>																	
<i>Glycyrrhiza glabra</i>																	
<i>Agastache rugosa</i>																	
<i>Schizonepeta tenuifolia</i>																	
<i>Cinnamomum camphora</i>																	
<i>Cinnamomum cassia</i>																	
<i>Magnolia obovata</i>																	
<i>Eugenia caryophyllata</i>																	
<i>Paeonia suffruticosa</i>																	
<i>Piper nigrum</i>																	
<i>Rheum coreanum</i>																	
<i>Lysimachia davurica</i>																	
<i>Chaenomeles sinensis</i>																	
<i>Evodia mtaecarpa</i>																	
<i>Solanum melongena</i>																	
<i>Stemona japonica</i>																	
<i>Aquilaria agallocha</i>																	
<i>Nardostachys chinensis</i>																	
<i>Chloroxylon swietenia</i>																	
<i>Ajania tenuifolia</i>																	
<i>Citrus sinensis</i>																	
<i>Mentha piperita</i>																	
<i>Mentha spicata</i>																	
<i>Cymbopogon citratus</i>																	
<i>Eucalyptus globulus</i>																	
<i>Citronella (Cymbopogon winterianus)</i>																	
<i>Rosewood (Aniba rosaeodora)</i>																	
<i>Lavender (Lavandula angustifolia)</i>																	
<i>Catnip (Nepeta cataria)</i>																	
<i>Geranium (Pelargonium graveolens)</i>																	
<i>Thyme (Thymus serpyllum)</i>																	
<i>Jasmine (Jasminum grandiflorum)</i>																	
<i>Broad-leaved eucalyptus (Eucalyptus dives)</i>																	
<i>Lemonscented eucalyptus (Eucalyptus citriodora)</i>																	
<i>Fichtennadel (Picea excelsa)</i>																	
<i>Amyris (Amyris balsamifera)</i>																	

<i>Curcuma zedoaria (zedoary)</i>																	
<i>Apium graveolens (celery)</i>																	
<i>Foeniculum vulgare (fennel)</i>																	
<i>Kaempferia galanga</i>																	
<i>Amomum xanthioides</i>																	
<i>Piper longum</i>																	
<i>Zanthoxylum piperitum</i>																	
<i>Achyrocline satureioides</i>																	
<i>Tagetes pusilla</i>																	
<i>Hyptis mutabilis</i>																	
<i>Aloysia citriodora</i>																	
<i>Anemia tomentosa</i>																	
<i>Chenopodium ambrosioides</i>																	
<i>Acantholippia seriphioides</i>																	
<i>Baccharis spartioides</i>																	
<i>Eucalyptus saligna</i>																	
<i>Mintostachys mollis</i>																	
REPELENTE SINTÉTICO	2KO2004	3IN2005	4CH2005	6GE2006	7IN2006	8TH2006	9TH2007	11TH2007	12AR2007	13SP2008	14TH2008	16IN2009	17GE2010	18AR2010	19US2011	20EG2011	22EG2013
<i>N,N-diethyl-m-toluamide (DEET)-Active compound</i>																	
<i>N,N-diethyl-m-toluamide (DEET)-Positive blank</i>																	
<i>IR 3535-Positive Blank</i>																	
<i>IR 3535-Active compound</i>																	
<i>Permetrina-Positive blank</i>																	
<i>Alphacypermethrin</i>																	
<i>Dichlorodiphenyltrichloroethane (DDT)</i>																	
<i>Permethrin-Active compound</i>																	
<i>Bio-Allethrin-Active compound</i>																	
<i>Malathion-Positive blank</i>																	
<i>Vanillin-Fixation</i>																	
<i>Synthetic pyrethroids-Active compounds</i>																	
<i>1-piperidinecarboxylic acid, 2-(2-hydroxyethyl)-1-methylpropylester (BAYREPEL)-Positive Blank</i>																	

Tabla 2.3 Principios activos (aceites esenciales y sintéticos) con propiedades repelentes estudiadas por la bibliografía más relevante.

ASSESSMENT REMARKS	1UK2001	2KO2004	3IN2005	4CH2005	5GE2006	6GE2006	7IN2006	8TH2006	9TH2007	10FR2007	11TH2007	12AR2007	13SP2008	14TH2008	15CO2009	16IN2009	17GE2010	18AR2010	19US2011	20EG2011	21GE2011	22EG2013	23TH2014
Protocol		Frances et al. (1996) Modified	WHO (1981)	Frances et al. (1996) Modified-mice		Schreck and McGovern (1989); WHO (1996)		Human-Bait. Tawatsin et al. (2001)	WHO (1981)		Human-Bait. WHO (1996)	Human-Bait. WHO (1996)	Modification of Human-Bait set up- Confined cage. WHO (1996)	Human-Bait. Tawatsin et al. (2001)		Field Protocol (Own)	Repellency: In-cage arm (WHO 2005). Insecticidal: Cone Test	Repellency: In-cage arm (WHO 2005). Release by GC	Excito-Repellency test WHO 2005 modification. Chareonviriyaphap (2002)	Cone Test Method. WHO 2001, Modification by N. Kapoor (2003)		Cone Test. Ansari (1998), WHO 2001, Modification by N. Kapoor (2003)	Susceptibility test (using perythroids) and Insecticide test. Roberts et al. (1997); WHO 1998; Chareonviriyaphap (2004)
Cage size (cmxcmxcm)		30x30x30		40x30x30		48.5x40x30		30x30x30	124 cm2		30x30x30	30x22x22	30x30x30	40x40x40		NA	40x60x40	50x50x50	30x30x30				
Exposure time (min)		5	1440	2		2		3	1440		3	5	2	3		Permanent	5	1	10 (data every 2 min)			60	60
Interval time (min)		30		60		30		30			30	30		30		30	5	5					
No. Replicates		3	5	3		3		3	4		4	3		3		0	10	3	6				4
Quantity of mosquitoes		300	Larvae	300		250		250	25 per set (100)		250	50	30	250			400	200	10			15	25
Mosquitoes age (days-old)		6 to 8	Larvae	4 to 5		5 to 15		4 to 5	Larvae		5 to 7	3 to 10		3 to 5			5 to 20		5 to 7				3 to 5
Type of mosquito colony: lab-field		lab colony	lab colony	lab colony		lab colony		lab colony	lab colony		lab colony	lab colony		lab colony		field colony	lab colony	lab colony	field colony				lab / field colony
Day time-Night time		12h-17h	24h	Day time		08h-16h		09h-17h	24h		08h-16h	1,5h		NA		18h-06h (Night)	24h	44 days (arm in-cage and release tests)		60 min		Follow-up after 24 hours	Follow-up after 24 hours

Tabla 2.4 Información acerca de características de la evaluación realizada por las investigaciones referenciadas.

PREPARATION REMARKS	1UK2001	2KO2004	3IN2005	4CH2005	5GE2006	6GE2006	7IN2006	8TH2006	9TH2007	10FR2007	11TH2007	12AR2007	13SP2008	14TH2008	15CO2009	16IN2009	17GE2010	18AR2010	19US2011	20EG2011	21GE2011	22EG2013	23TH2014
Solvent		Ethanol	Water	Ethanol		20%Genapol, 20%Ethanol, 10%PEG, 50%Water	Aqueous solution of glutardialdehyde	Ethanol, Vanillin, PEG, PPG	Dimethylsulphoxide (DMSO)		Absolute Ethanol-10% Vanillin	Ethanol		Deionized-Water		Methanol		Aqueous solution of glutardialdehyde	Acetone	Aqueous solution-R-β-CD		Aqueous solution-R-β-CD and GMA	Absolute Ethanol
Concentration-Dilution		0.1mg-cm2/20µL	50-100 µg/mL	15%E.O.+5%vanillin		20%E.O.	40-55%w/w E.O. versus microcapsule weight	10%E.O.				90%E.O.		20%E.O.-Nanoemulsion		2 mg/cm2		80%w/w E.O. (5:1) polymer ratio	2.5, 25, 250 nmoles/cm2	20 g/L of active compound			2.5% E.O. in Ethanol
Control		Ethanol	Water	Ethanol		Complex solvent		Ethanol, Vanillin, PEG, PPG	Dimethylsulphoxide (DMSO) and distilled water		Ethanol-Vanillin	Ethanol				Methanol	Non-treated fabric	10%w-w E.O./Ethanol Spray-treated fabric	Acetone Non-treated fabric	CD-treated fabric			
Origin of Essential Oil (if applicable)		Natural extracts and steam distillate	Natural extracts	Steam distillate (purchased)		Steam distillate (purchased)	Natural extracts	Natural extracts	Natural extracts		Natural extracts	Natural extracts		Steam distillate (purchased)				Steam distillate (purchased)	purchased	purchased			Steam distillate (purchased)
Other reagents		Methanol	Anhydrous sodium sulfate				Type A gelatin, arabic gum, glutardialdehyde 25%w/v, anhydrous sodium sulfate, tween 80		Anhydrous sodium sulfate				polymer used on micro is not mentioned	Glycerol, surfactant, deionized water				Type A gelatin, arabic gum, glutardialdehyde		β-cyclodextrin (R-β-CD), Sodium hydroxide, acetic acid, sodium carbonate, wetting agents Egyptol-Espyon		GMA/CD	
Embedded Technique		Direct to skin	Solubilized	Direct to skin		Direct to skin	NA	Direct to skin	Solubilized		Direct to skin	Direct to skin	Microcapsules	Direct to skin		Direct to substrate		Microencapsulated-Coacervation	Direct to substrate (Using micropipette)	Reactive Cyclodextrin Modification		Radiation grafting method	
Incorporation to the substrate (if applicable)		NA	NA	NA		NA	NA	NA	NA		NA	NA	Impregnation	NA		Impregnation	One single hit Polymer-coating	Double hit Pad-Dry (Aqueous bath 16%w/w microcapsules)	Impregnation	Pad-Dry-Cure method		Radiation grafting method	
Substrate/ Material based		NA	NA	NA		NA	NA	NA	NA		NA	NA	Cotton 100% TFT	NA		Cotton, Terry	Cotton 100% bed net 170mesh/cm2 and 210 g/m2 grammage	Cotton 100% TFT (140 g/m2 grammage)	Cotton and Polyester fabric strips	Cotton/Linen Fabric		Cotton	Whatman Plier paper No. 1 (2.8mL test solution/257.3cm2)

Tabla 2.5 Insumos utilizados por los estudios referenciados en formulaciones para retener los aceites esenciales

La tabla 2.2 muestra en orden de prioridad de los aceites esenciales que podrían ser utilizados para la incorporación a sustratos textiles a través de micro-capsulas después de confrontar versus los lineamientos establecidos en los protocolos de la Organización Mundial de la Salud y que igualan o superan los niveles de efectividad del blanco positivo utilizado (DEET) a través de una fórmula para aplicación directa en la piel y al combinarse, incluso en bajas concentraciones, se consiguen efectos sinérgicos superiores al blanco positivo usado contra el mosquito *A. aegypti* prolongando el efecto de repelencia y periodo de protección hasta 8h y %R de 100% en el mismo período de análisis con *Nepeta cataria*, *Litsea cubeba*, *Melaleuca leucadendron* y *Viola odorata* [5].

Aunque no fue evaluado su efecto contra *A. albopictus* se parte del hecho que puede ser efectivo en vista que este último es más susceptible que *A. aegypti* (como se explica en el capítulo 4) otros estudios con *A. albopictus* coinciden con A. Amer et al., 2006 al conseguir con extractos de *Litsea cubeba* un periodo de protección de aproximadamente 6h [7] levemente menor capacidad de repelencia que el DEET e IR3535, asimismo demuestra que el periodo de protección contra *A. albopictus* puede ser hasta 8h con extractos de *Piper Nigrum*.

CAPÍTULO 3: INNOVACIÓN DEL ESTUDIO

Es sabido que el tema de funcionalización de textiles con propiedades repelentes de mosquitos ha sido estudiado en los últimos años y no cabe duda que existen algunos extractos naturales de aceites esenciales con capacidad de repeler mosquitos.

Lo que aún resulta retador es la exploración de mecanismos que permitan prolongar consistentemente el efecto repelente en un nivel lo suficientemente aceptable como para considerarse una opción viable de uso masivo entre los grupos poblacionales expuestos al ataque de tales vectores transmisores, lo cual pasa por explorar los efectos sinérgicos de un principio activo compuesto por una mezcla de aceites esenciales con propiedades superiores en contraste a componentes individuales, siendo este último el caso mayormente estudiado en las investigaciones referenciadas.

Después de hacer un análisis en el estado del arte, no es posible encontrar equivalencias entre los resultados de los diferentes estudios, debido a que se no se ha seguido una aplicación estándar de los protocolos, mecanismo de evaluación y medición de las variables relacionadas con la respuesta del vector ante el estímulo. Por lo que este estudio representa en sí mismo ya el consumo de conocimiento generado y la aportación de nuevas líneas de conocimiento.

El fenómeno estudiado ha demostrado que el efecto es una realidad, ahora es necesario entrar a un estudio detallado de los elementos que incidirán directamente en la retención y longevidad de la capacidad repelente: una emulsión de gran estabilidad y que potencie las propiedades repelentes del principio activo, una pared de microcápsulas con espesor y composición óptima, un sustrato textil con alta capacidad de anclaje y un principio activo con una capacidad igual o superior a los componentes sintéticos producto del efecto sinérgico por la mezcla de aceites esenciales.

La capacidad repelente de un aceite esencial proveniente de un extracto natural no siempre es relacionada con la composición química, es decir, aún hay una oportunidad de ligar las propiedades repelentes antimosquitos al estudio de su estructura química y no necesariamente a la planta de la cual proviene. A continuación se enumeran los frentes desde los cuales este estudio pretende aportar conocimiento, y por tanto, pretende convertirse en novedoso:

- Los aceites esenciales objetos de estudio serán tres: *Melaleuca leucadendron* (cajeput), *Cinnamomum camphora* (alcánfor) y *Litsea cubeba* (litsea).

- Estos aceites esenciales han sido estudiados en formulaciones para aplicación directa en la piel en forma de lociones o cremas. Aquí se busca explorar la factibilidad de ser microencapsulados por lo que se reduciría el riesgo de sensibilidad y representaría un mecanismo para una liberación gradual y prolongada de su actividad repelente.
- Por polimerización interfacial se explorará la factibilidad de las esencias a formar emulsiones capaces de ser encapsuladas por polimerización interfacial.
- Se explora el potencial efecto sinérgico al funcionalizar el textil con una mezcla de microcápsulas proveniente de estos principios activos.
- La capacidad repelente que se obtenga podrá ser directamente vinculada a la propiedad biológica que le confieren su composición química analizada mediante cromatografía de gases en la que será posible determinar la presencia de terpenos.
- Mediante un ensayo en un laboratorio certificado y bajo un procedimiento reconocido por la normativa europea, se medirá la eficacia no sólo en términos de repelencia directa sobre el textil sino también la repelencia indirecta como una forma aproximada de medir el radio de incidencia de la actividad repelente.
- Incorporación de técnicas de caracterización de microcápsulas como metodologías para explicar la funcionalización conferida al textil.

Resulta necesario establecer alcances en función de la disponibilidad de tiempo y recursos. Por ello y aunque la oportunidad de recorrido es larga, en el capítulo 8 se presenta la ruta de trabajo trazada.

De ser los anteriores apartados una realidad, este estudio podría significar un aporte en tres grandes áreas:

1. Efecto sinérgico entre dos o más aceites esenciales producto de mezclas en sus formulaciones.
2. Microencapsulación como mecanismo capaz de procesar aceites esenciales con propiedades fisicoquímicas muy heterogéneas entre sí y su factibilidad de funcionalizar textiles.
3. Vincular la actividad repelente a la composición de terpenos más que a la planta de origen.

CAPÍTULO 4: EL VIRUS DEL DENGUE Y CHIKUNGUNYA. CONCEPTOS Y GENERALIDADES

4.1 VECTOR TRANSMISOR: MOSQUITOS *Aedes aegypti* y *Aedes albopictus*.

Son dos los mosquitos del género *Aedes* los transmisores de estos virus siendo *A. aegypti* el vector más común y el más adaptado a las actividades antropogénicas, razón por la cual se desarrolla, cría y reproduce en ambientes artificiales y de interior en viviendas.

A. aegypti (también conocido como el mosquito de la fiebre amarilla) tiene mayor presencia en regiones tropicales y subtropicales su propagación está limitada por el hecho que no sobrevive a bajas temperaturas, *A. albopictus* tiene mayor presencia en zonas templadas, e incluso templadas-frías y puede prosperar en una mayor gama de hábitats y acumulaciones de agua que *A. aegypti* tales como charcos, vainas, huecos, cascaras hojas, etc. Razón por la cual tiene mucha presencia en zonas rurales y de campo. De ambas especies, *A. aegypti* está distribuida naturalmente en la región centroamericana mientras que *A. albopictus* ha sido introducida en los últimos años, su hábitat natural es Asia.

Ambos mosquitos transmiten el virus del chikungunya, aunque el mosquito *A. aegypti* es el principal vector que transmite el virus causante del dengue. El virus se transmite hacia las personas a través de las picaduras de un mosquito hembra infectada, la cual a su vez lo ha adquirido al succionar sangre de una persona portadora del virus, siendo *A. albopictus* un vector secundario.

Las picaduras son más frecuentes a primera hora de la mañana y al caer la tarde, observándose por la noche una menor actividad y al ser *A. aegypti* una especie que ha se ha adaptado a las actividades del hombre, ha desarrollado una alta resistencia algunos insecticidas y vive principalmente en áreas interiores ya que implica un hábitat más estable ante las variaciones climáticas lo cual incrementa su longevidad. *A. albopictus* tiene mayor capacidad de adaptación a climas de diferentes latitudes, pero al tener más presencia en zonas rurales es aún susceptible a los efectos de repelencia e insecticidas [33].



Imagen 4.1 Mosquito *Aedes aegypti* (izquierda) y *Aedes albopictus* (derecha) ^[33]

Los estudios demuestran que las hembras de *A. aegypti* pasan su ciclo de vida dentro o en los alrededores de los lugares donde emergieron hasta alcanzar su adultez, volando un promedio de 400 metros; lo cual significa que el virus será más rápidamente propagado por las personas que por los mosquitos entre las comunidades vecinas.

También se ha identificado otros mosquitos del género *Aedes* que transmiten este virus, tales como *Aedes polynesiensis* y *Aedes scutellaris*; sin embargo estas especies pertenecen a ecosistemas y distribución geográfica muy reducidos.

Por otro lado, *Aedes albopictus* (comúnmente llamado mosquito tigre) es una especie originaria de los bosques tropicales asiáticos que se ha venido adaptando a entornos rurales, suburbanos y urbanos y su presencia se ha propagado de Asia a África y más tarde hacia América y el sur de Europa facilitadas por el comercio exterior a través de la importación de mercancías usadas en el que se transportan los mosquitos adultos o sus huevos depositados, los cuales dicho sea de paso, pueden soportar las inclemencias de un entorno en ausencia absoluta de agua y permanecer vivos por meses, y en Europa han llegado a limitar su desarrollo durante el invierno, sin que esto implique que lleguen a morir mostrando cada vez más adaptabilidad a climas fríos.

El hecho que *A. albopictus* sea la mayoría de veces un vector secundario en la transmisión del virus del dengue es que a diferencia de *A. aegypti*, este tiene mucha afinidad no solo por el hombre sino también por otros mamíferos y otros vertebrados salvajes, los cuales no son portadores del virus [33].

4.2 LOS VIRUS DEL DENGUE Y CHIKUNGUNYA

4.2.1 Virus del dengue.

El dengue es una enfermedad causada por el virus del dengue (DENV). Este pertenece al género *flavivirus* de la familia *flaviviridae*, la cual a su vez pertenece al grupo conocido como los *arbovirus*

(del inglés *arthropod-borne viruses – virus transmitidos por artrópodos*). Existen 4 serotipos llamados DENV-1, DENV-2, DENV-3 y DENV-4. El contagio de un serotipo produce una inmunidad permanente ante una nueva infección del mismo serotipo; sin embargo contraer un segundo serotipo de forma sucesiva podría representar el riesgo de desarrollar la enfermedad de forma severa.

Todos los serotipos circulan simultáneamente por América, lo cual representa un riesgo elevado de salud pública al convertirse en una epidemia.

Después que el mosquito ha succionado sangre con el virus del dengue de una persona portadora, este incubará en el mosquito por un período de 8 a 12 días, después de este tiempo el mosquito comienza a ser portador y transmite el virus a otros. Por su parte, la persona infectada puede tener síntomas después de 5 a 7 días de haber sido picada. Además se ha detectado una vía inmediata de transmisión, la cual tiene lugar cuando un mosquito interrumpe súbitamente la ingestión de sangre con el virus e inmediatamente pica a un nuevo individuo, esta vía no requiere de incubación del virus pues el contagio ocurre instantáneamente.

Sus síntomas son fiebre alta (llegando a ser incapacitante) con fuerte dolor de cabeza, dolor en los ojos, músculos y articulaciones así como brotes en la piel. No hay una vacuna o tratamiento específico para tratar el dengue; en su cuadro *dengue clásico* (el cual no representa riesgo de mortalidad), se trata con reposo, paracetamol y la ingesta de abundante líquido después de haber sido confirmado por exámenes de laboratorio.

El *dengue hemorrágico* es caracterizado por fiebre, dolor abdominal, vomito persistente, sangramiento y dificultad para respirar y es potencialmente mortal.

4.2.2 *Virus del chikungunya.*

La palabra *chikungunya* proviene del idioma makonde que significa “doblarse” en alusión a que los enfermos se doblan o encorvan por el intenso dolor en las articulaciones. La enfermedad aparece de 3 a 7 días después de la picadura del mosquito infectado y puede durar el mismo tiempo en fase aguda, es una enfermedad difícilmente mortal. Aunque sus síntomas llegan a ser muy similares a los del dengue le diferencian los intensos dolores en las articulaciones, los cuales permanecen por meses después de haber superado el cuadro de la enfermedad y una vez se ha padecido la enfermedad se es inmune a contraerla nuevamente.

4.2.3 *La estrategia de los mosquitos.*

Un estudio realizado por el Instituto Tecnológico de California y publicado en la revista científica *Current Biology* [32] demuestra la estrategia utilizada por los mosquitos al seleccionar sus

posibles víctimas; la cual se basa en el uso de tres de sus sentidos a partir de estímulos sensoriales por parte de su entorno a través del olfato, vista y detección del calor corporal.

A una distancia superior a los 10 metros, son capaces de percibir el olor mediante la exhalación continua de dióxido de carbono en la respiración, este es el primero de los sentidos por los cuales se dejan llevar y conforme se van acercando (entre 5 y 10 metros) es a través de la visión que identifican altos contrastes principalmente cuando la superficie es oscura, al tiempo que se ven continuamente atraídos por el olfato. En la medida se acercan más son capaces de identificar el calor corporal y otros olores como la humedad, etc.

El estímulo olfativo y visual está relacionado, probablemente al identificar el dióxido de carbono se incrementa la probabilidad de verse atraídos por superficies oscuras; sin embargo estos no guardan ninguna relación con su sensibilidad ante el calor corporal. Aunque se sabe que a largas distancias serían incapaces de detectar calor corporal, razón por la cual se considera que primero se dejan guiar por el olfato y la vista y finalmente por la detección térmica, como se muestra en la imagen 4.2 que es una adaptación de la publicada en la revista arriba mencionada.

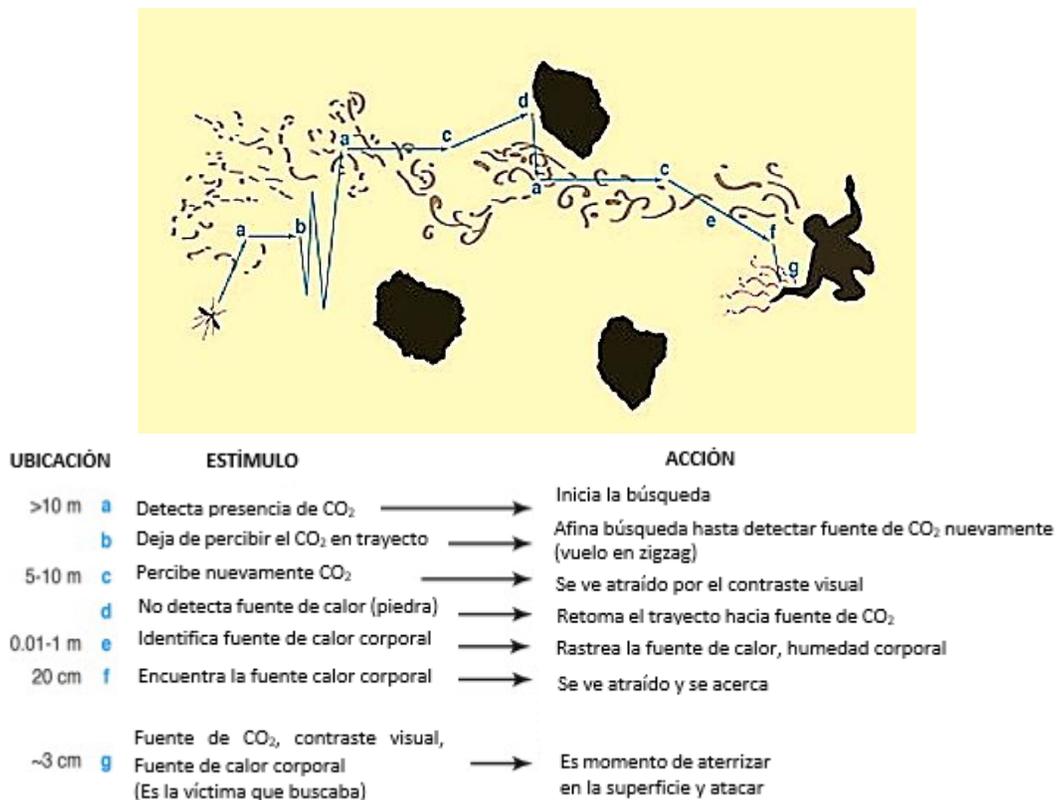


Imagen 4.2 Estrategia de ataque del mosquito. Adaptación de Current Biology Magazine [32]

La información anterior ha sido tomada muy en cuenta al momento de someter el textil al ensayo que evaluaría la efectividad de repelencia, para poder determinar un nivel de repelencia directo e indirecto, el primero garantizaría que el mosquito no aterrizaría directamente sobre el sustrato textil y el segundo permitirá determinar hacia qué perímetro de acción se extiende el efecto (Ver capítulo 8, sección 8.7).

4.3 ESTADÍSTICAS Y DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA

La fiebre chikungunya ha sido históricamente una enfermedad que ha afectado a regiones de Asia y África. Desde el año 2004, esta se ha ido expandiendo en su distribución geográfica generando epidemias sin precedentes en países como Filipinas, India y Tailandia y registrando casos en nuevos territorios del Océano Índico e Italia. En diciembre de 2013 fue confirmado el primer caso de esta enfermedad en América, específicamente en la isla San Martín y para finales de Enero 2014, se había expandido a otras de las Antillas menores como Guadalupe, Islas Vírgenes Británicas, Martinica, San Bartolomé y San Martín por lo que despierta alarmas en el caribe, para mediados de 2014 el virus se había propagado ya por Centroamérica.

La imagen 4.3 es un mapa que muestra las áreas afectadas por el chikungunya, este representa únicamente los casos autóctonos (es decir, no importados) de esta enfermedad hasta Marzo de 2015 [35]. En la parte inferior del mapa principal se ha anexado la situación del chikungunya antes de haberse registrado el primer caso autóctono en el caribe en 2013 [38], lo cual refleja las características invasivas del vector y la rápida expansión en pocos meses.

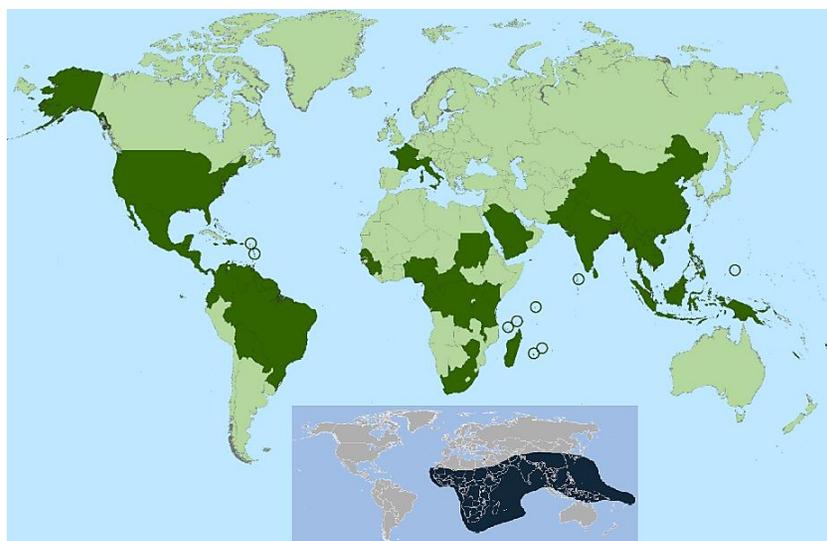


Imagen 4.3 Distribución geográfica del virus chikungunya a Marzo 2015 (verde)^[35] y 2013 (azul)^[38]

En Agosto de 2015, España (no reflejado en el mapa) registraba el primer caso autóctono de chikungunya dentro de su territorio, esto puede explicarse a partir del ciclo de contagio (sección 4.1) por lo que el mapa anterior da lugar a otro que refleja el riesgo de expansión hacia otros territorios por el flujo comercial y de pasajeros, lo cual se representa en la imagen 4.4, que es un ejercicio estadístico que estima la probabilidad que tienen los países de estar recibiendo al menos 1 persona portadora del virus, siendo Madrid, París y Londres los centros con mayor riesgo de importar la enfermedad dentro de Europa (Máxima probabilidad en la escala de 0 a 1) [36].

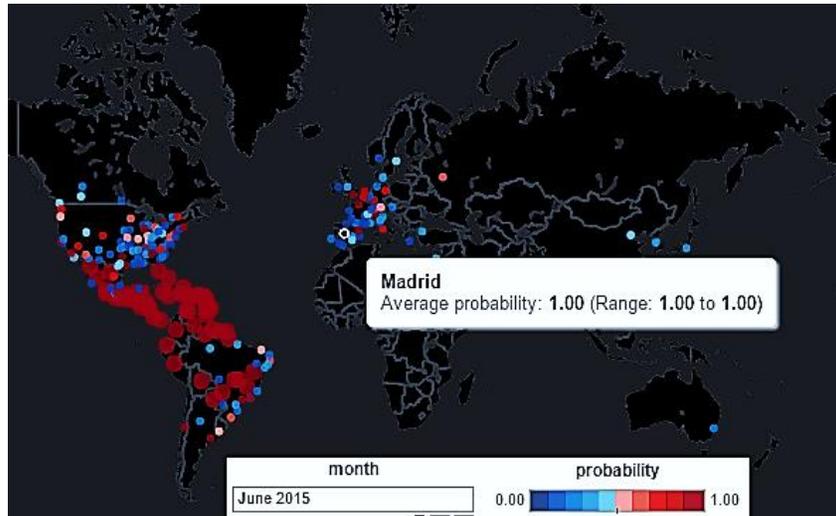


Imagen 4.4 Potencial de riesgo de expansión a Junio de 2015^[36].

La imagen 4.5 son las cifras de casos sospechosos y confirmados de chikungunya en América, la expansión ha sido rápida desde diciembre de 2013 en miles de personas según los datos del Centro para el Control y Prevención de Enfermedades (*Center for Disease Control and Prevention CDC*) [36].

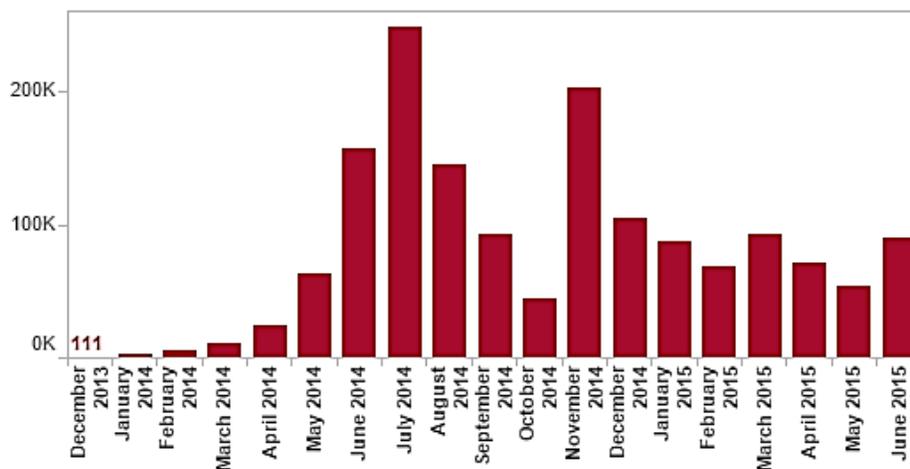


Imagen 4.5 Informe mensual de casos de chikungunya en América^[36].

El dengue por tanto, ha sido un virus presente permanentemente en América tropical y subtropical como lo muestra la imagen 4.6 [38], esto debido a que el vector principal es el *Aedes aegypti* y cuya presencia en Europa es reducida debido a que no se adapta a las bajas temperaturas. Año con año, los casos de dengue son una amenaza en una región en la que circulan los 4 serotipos existentes de esta enfermedad en sus formas como *dengue clásico* y *dengue hemorrágico*, siendo este último mortal. En la tabla 4.1 las cifras del calendario epidemiológico 2014 con el 2015 en curso [34].



Imagen 4.6 Distribución geográfica del virus del dengue [38]

Sub-región	Dengue Clásico		Dengue Hemorrágico		Muertes	
	2014	2015 (Hasta semana epidemiológica 28)	2014	2015 (Hasta semana epidemiológica 28)	2014	2015 (Hasta semana epidemiológica 28)
Norte y Centroamérica	287,480	131,622	11,753	2,135	109	16
Región Andina	235,269	139,182	3,322	932	209	86
Cono Sur	603,696	1,358,289	694	1,097	415	602
Caribe Hispano	17,250	3,924	426	40	62	40
Caribe Anglosajón	16,596	2,105	43	0	3	0
TOTAL	1,160,291	1,635,122	16,238	4,244	798	744

Tabla 4.1 Casos de dengue en América 2014-2015. Adaptación de Portal Organización Panamericana de la Salud [34]

A continuación de muestra claramente la marcada diferencia entre la distribución geográfica de la presencia de los dos vectores transmisores de estas enfermedades en Europa. El mosquito *Aedes albopictus* plenamente establecido en las costas del mediterráneo, a diferencia del *Aedes*

aegypti cuya presencia establecida se ha identificado en algunos territorios de Europa Oriental en torno al mar negro. Los sectores marcados en rojo indican el establecimiento de estos mosquitos, en verde regiones en las que se han realizado estudios y no se ha identificado presencia del vector, en amarillo que se ha identificado que el mosquito ha sido introducido más no establecido y en gris zonas aún no estudiadas según las imágenes 4.7 y 4.8 actualizadas hasta Julio de 2015.

Estos mapas han sido publicados por el Centro Europeo para el Control y Prevención de Enfermedades (CEDC) y forma parte del proyecto *VectorNet* basado en el estudio regional de la presencia de mosquitos invasivos de acuerdo a estudios realizados por expertos en cada uno de los países miembros [37].

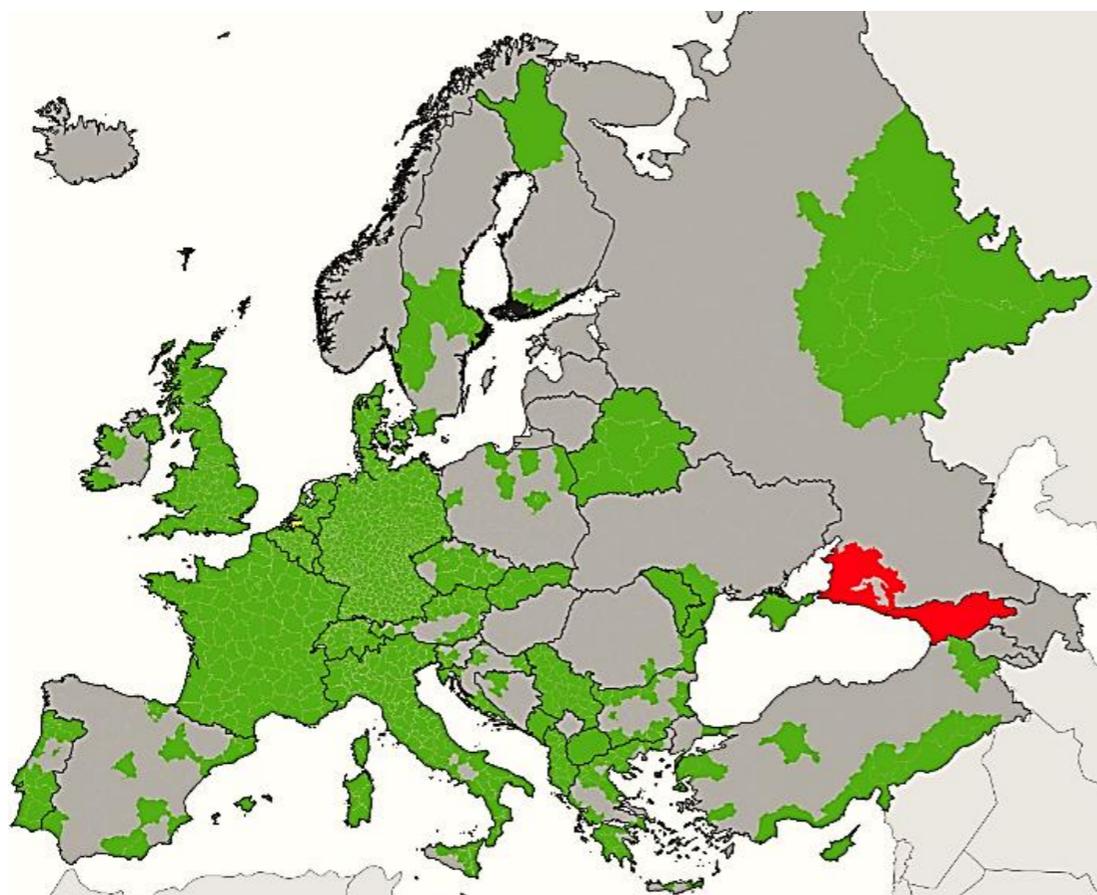


Imagen 4.7 Distribución geográfica del mosquito *Aedes aegypti* en Europa (Hasta Julio 2015)

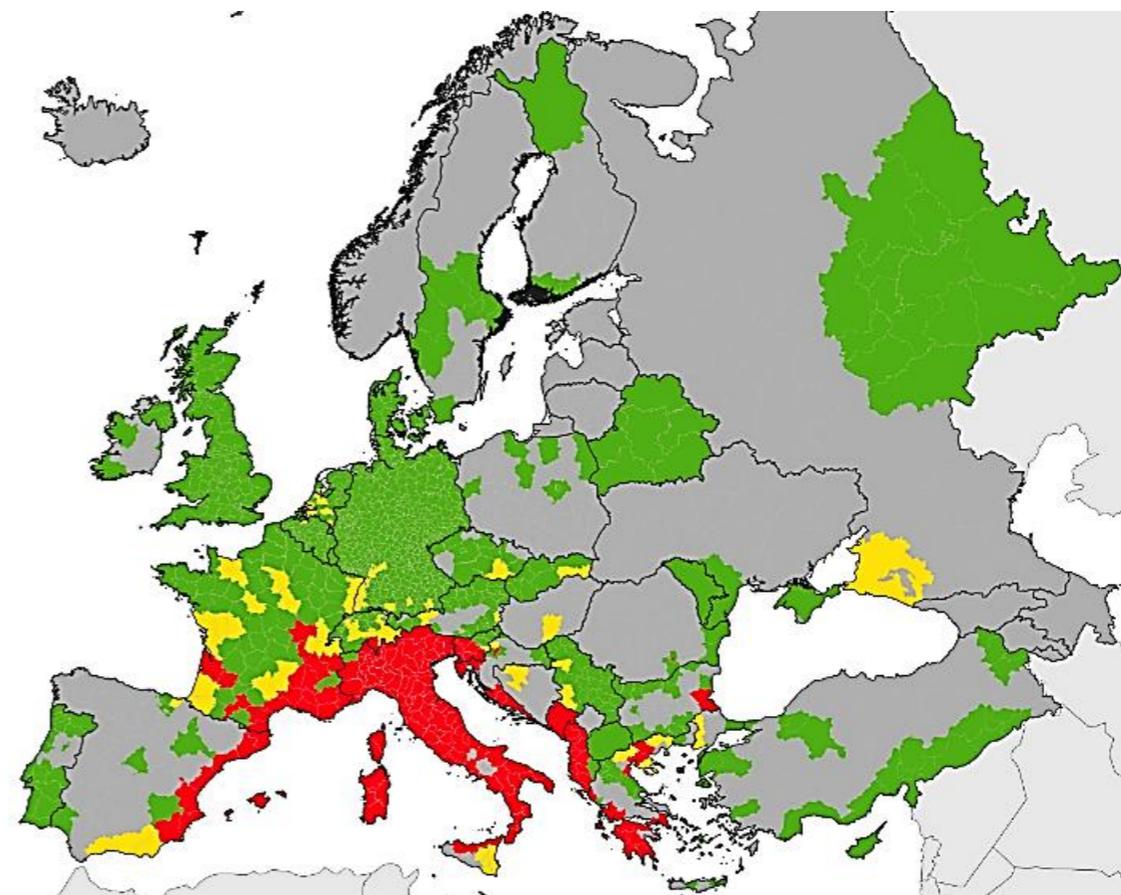


Imagen 4.8 Distribución geográfica del mosquito *Aedes albopictus* en Europa (Hasta Julio 2015)

Gris	No hay información disponible.
Verde	Ausencia del vector invasivo.
Amarillo	Introducido, se ha identificado presencia en por lo menos una ocasión en los últimos 5 años más no establecidos.
Rojo	Establecimiento permanente (no estacional) en al menos una de las municipalidades de los territorios administrativos en los últimos 5 años.

CAPÍTULO 5: ACEITES ESENCIALES. CONCEPTOS Y GENERALIDADES

5.1 ACTIVIDAD QUÍMICA: LOS TERPENOS.

Los aceites esenciales (AE) son mezclas naturales de elevada complejidad caracterizados por su aroma fuerte llegando a ser penetrante en algunos casos, el cual es generado por metabolitos secundarios característicos de algunas plantas aromáticas. Su estructura química está compuesta por constituyentes de diferente naturaleza: terpenos, sesquiterpenos, alcoholes, ésteres, éteres, aldehídos, cetonas y estructuras fenólicas. Pueden llegar a contener entre 20 y 60 constituyentes químicos, de los cuales generalmente son dos, tres o cuatro los que se encuentran siempre en mayores proporciones representando entre el 20 y 70% de la composición total, quedando los componentes restantes relegados a bajas concentraciones llegando incluso a estar presentes en trazas, por lo que los constituyentes mayoritarios determinan la actividad biológica de estos aceites esenciales, siendo generalmente *los terpenos* estos componentes mayoritarios [8] [13].

La ciencia conoce cerca de 3,000 aceites esenciales, de los cuales un 10% son considerados de elevada importancia comercial para la industria cosmética, farmacéutica y alimentaria y cuyos componentes están reconocidos por la FAO como seguros de ser aplicados [13], su composición química no solo está determinada por la naturaleza de la planta de la cual provienen sino también de las zonas geográficas donde estas han sido cultivadas, por lo que no es extraño encontrar una misma variedad de planta con extractos de aceites esenciales de diferente composición química.

Los terpenos constituyen cerca del 90% de la estructura química de un aceite esencial y son compuestos orgánicos aromáticos y volátiles que pueden llegar a ser estructural y funcionalmente de diferentes clases, siendo su unidad química una cadena formada por 5 átomos de carbono la cual es llamada *isopreno*.

Los compuestos más pequeños y más volátiles son los *monoterpenos*, los cuales están biosintetizados por la unión de dos moléculas de isopreno (10 átomos de carbono), mientras que los compuestos más grandes y menos volátiles están biosintetizados por la unión de tres o más moléculas de isopreno; por ejemplo, los *sesquiterpenos* son los siguientes en orden creciente y están formados por la unión de tres moléculas de isopreno [8]. Sí bien, los *monoterpenos* y *sesquiterpenos* son los más abundantes, existen también los hemiterpenos, diterpenos, triterpenos y tetraterpenos existen con 5, 20, 30 y 40 átomos de carbono respectivamente.

La biosíntesis de los terpenos ocurre a partir del *isopentenil difosfato* (IPP) como precursor, adiciones repetitivas de IPPs forman el *prenildifosfato*, el cual a su vez se convierte en precursor

de muchas otras clases de terpenos que por una serie de modificaciones enzimáticas secundarias de tipo REDOX terminan confiriéndole las propiedades físicas, químicas y biológicas propias de algunas plantas en su interacción con el entorno, en el que estos cumplen con la función de disuadir a sus depredadores, atraer algunos insectos o parásitos como parte de su ciclo de supervivencia.

Entre los efectos biológicos que los aceites esenciales y sus constituyentes pueden llegar a ejercer sobre el metabolismo de otras especies está la *citotoxicidad*, *fototoxicidad*, *mutagenicidad* [8].

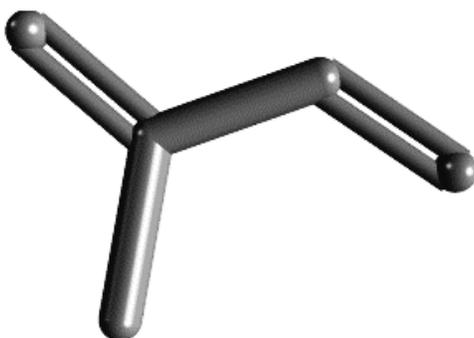


Imagen 5.1 Estructura del *isopreno*, unidad química de terpenos.

5.2 EFECTO INDIVIDUAL Y SINÉRGICO.

Ahora que ya se sabe que los aceites esenciales son una mezcla compleja de numerosos componentes, cabe la pregunta si los efectos biológicos son el resultado sinérgico de todos sus componentes; o si queda condicionado únicamente por los que se encuentran en mayor proporción según el análisis de cromatografía que permitirá su caracterización cualitativa y cuantitativa.

Por definición, un agente repelente es una sustancia que actúa localmente o a cierta distancia ejerciendo un efecto disuasivo en mosquitos ya sea para volar, posar o picar sobre la piel de un ser humano, animal o cualquier otra superficie [9]. Entre estos, los aceites esenciales han sido objeto de estudio para comprobar sus propiedades y evaluar su efectividad con miras a convertirse en alternativas a los sintéticos o bien, para ser utilizados junto a estos para ofrecer un mejor resultado.

Los aceites esenciales con capacidad de repelencia o biocida pueden llegar a ejercer una citotoxicidad sobre el metabolismo de algunos insectos y microorganismos, específicamente los

componentes fenólicos, aldehídos y alcohólicos, los cuales actúan sobre la pared celular y la membrana citoplasmática, que al ser lipofílicos irrumpen en la estructura de diferentes capas de polisacáridos, ácidos grasos y fosfolípidos dañando la membrana celular.

En una célula eucariótica, los aceites esenciales causan una despolarización de las membranas mitocondriales afectando el ciclo de equilibrio de formación de Ca^{2+} y otros cationes, genera una caída de pH afectando el ATP, altera la fluidez de las membranas resultando en una fuga de radicales, citrocoma, cationes y proteínas, lo cual lleva a una muerte celular por apoptosis y necrosis [8].

En la revisión bibliográfica algunos constituyentes mayoritarios de aceites esenciales tales como el *terpineol*, *eugenol*, *timol*, *carvacrol*, *geraniol*, *linalool*, *citronelol*, *nerol*, *eucaliptol*, *limoneno*, *cinnamaldehído* representaron casi en su totalidad las características biológicas y biofísicas de los aceites esenciales de los cuales fueron extraídos [8], y se ha demostrado que una vez aislados los efectos estarán mayormente condicionados por la concentración de los mismos.

Sin embargo, el efecto sinérgico puede provenir no únicamente de la composición química intrínseca a un aceite esencial, sino también puede provenir de la mezcla de dos aceites esenciales diferentes y generar esa interacción entre sus constituyentes, como lo demuestran algunos estudios [5], en el que después de analizar las propiedades repelentes de algunos aceites esenciales de forma individual, los mejores efectos de repelencia, disuasión de picaduras y tiempo de protección fueron conseguidos al combinar varios de estos aceites esenciales obteniendo resultados superiores a sus efectos individuales llegando incluso a ser comparables con principios activos sintéticos como el DEET y Bayrepel.

En adición, estudios que han aislado los componentes presentes en mayor proporción en la estructura de un aceite esencial demuestran que sus efectos son menores que cuando está junto a los menores constituyentes [13], demostrando que aun los menores constituyentes contribuyen al efecto repelente de un aceite esencial, ya que estando en menor concentración podrían llegar a tener incidencia en propiedades como la estabilidad de la fragancia, densidad, color, entre otras características secundarias.

Sumado al efecto sinérgico, estudios demuestran que incorporando compuestos que actúan como agentes fijadores pueden llegar a prolongar los tiempos de protección utilizando *vanillin* [4] [5] [9]. A pesar que los aceites esenciales son muy efectivos, usualmente se disipan rápidamente, que en el caso de repelencia antimosquitos actúan en su fase vapor lo cual podría llegar a actuar por períodos cortos, por lo que la incorporación de agentes fijadores va más orientados a

controlar propiedades como la presión de vapor para controlar su volatilidad por períodos prolongados.

El principal reto es desarrollar una fórmula que óptima que permita la liberación gradual de la actividad repelente y que la alta volatilidad de estos constituyentes no impida una aplicación repelente de larga duración incorporada a un sustrato textil.

5.3 REPELENTE SINTÉTICOS.

Hay compuestos químicos de naturaleza sintética con propiedades de repelencia e insecticida que están siendo utilizados ampliamente a nivel global, estos son el *DEET*, *IR3535* y *Permetrina*, esta última con características insecticidas más que de repelencia. El *DEET* (N,N-dietil-meta-toluamida) es un aceite amarillento y es el principal componente en una amplia gama de productos repelentes disponibles comercialmente en forma de líquidos, cosmética, rociadores o lociones y al ser aplicados directamente sobre la piel puede llegar a repeler por un periodo entre 3-8 horas dependiendo de la concentración en la que se encuentre y se ha demostrado que actúa como un auténtico repelente en mosquitos que rechazan el olor cuando ciertas neuronas reaccionan ante el estímulo olfativo en mosquitos con antena *sensilla*, efecto que es atenuado cuando entra en contacto con olores corporales.

En los últimos años ha cobrado auge la búsqueda de alternativas pues su uso y efecto se vuelve limitado al no poderse aplicar por tiempos prolongados, en uso continuo y altas concentraciones para disminuir riesgo de alergias; la permetrina en cambio debe evitarse entrar en contacto directo en la piel. Sin embargo, el DEET ha sido ensayado como blancos positivos en las fases experimentales de la mayoría de estudios revisados siendo el efecto de referencia para evaluar la efectividad de nuevos componentes (ver tablas del capítulo 2).

Con este propósito, se ha intentado encontrar puntos comunes entre las investigaciones presentadas en el Estado del Arte (capítulo 2) para determinar con consistencia el comportamiento de los repelentes sintéticos respecto a los aceites esenciales, sean los primeros principios activos o blancos positivos; sin embargo, las pruebas experimentales siguen diferentes metodologías y por tanto, una gran diferencia en los criterios utilizados para clasificar la efectividad repelente; variables determinantes en el resultado son *el tamaño de la colonia utilizada*, las cuales van desde 10 mosquitos hasta 400, *tiempos de exposición* continua de un evento que van desde 2 hasta 5 minutos, *número de réplicas*, *tamaño de la cabina* que oscila entre 30x20x20 cm³ y 50x50x50 cm³ sin que necesariamente guarde proporción con el número de mosquitos confinados en el ensayo, *la hora* en la que se realiza la prueba algunos a primera hora de la mañana, otros durante el día e incluso la noche y el hecho que algunas investigaciones

hayan tomado diferentes sustancias como *blancos positivos* (otras que no usaron) son solo algunas de las consideraciones a tener en cuenta, pues sería un error intentar extrapolar resultados más allá de las condiciones bajo las cuales fueron aplicadas.

Lo anterior no permite comparar resultados entre dichos estudios, así obtener un nivel de repelencia (%R) de 98% bajo condiciones menos estrictas que otro estudio que haya aplicado el protocolo sin adaptaciones de ningún tipo y haber obtenido un 85% son un ejemplo y que deben analizarse junto a otros indicadores de resultados, un %R 94% para un periodo de protección (PP) de 30 min en una cabina de 30 cm x 30 cm x 30 cm con 300 mosquitos no es comparable con un %R 98% y un periodo de protección de 480 min en una cabina de 48.5 cm x 40 cm x 30 cm con 250 mosquitos, por citar otro ejemplo. Otros estudios, han concentrado su análisis en evaluar la mortalidad y aletargamiento de los mosquitos en contacto con superficies activadas y para ello aplican otro tipo de protocolos.

La tabla 2.4 muestra algunas variables de ensayo en cada investigación; por lo tanto, para proponer aceites esenciales que potencialmente representan una actividad repelente importante comparable a los sintéticos, deben evaluarse los protocolos aplicados por cada estudio e identificar cuales aplicaron el protocolo sin haber realizado adaptaciones de ningún tipo (o adaptaciones que impidieran algún sesgo en el diseño de experimentos).

Aceites esenciales provenientes del género *Cinnamomum camphora* y *Cinnamomum cassia* también han presentado %R arriba de 90% resultados comparables a su blanco positivo DEET; sin embargo el tiempo de los ensayos se limitó a 60 minutos contra el vector *A. aegypti* [2]. Por otra parte, aceites esenciales de citronella provenientes de *Cymbopogon nardus* han sido ensayados en varios estudios, demostrando que tiene propiedades importantes de repelencia, efecto conseguido en concentraciones superiores dentro de la formula [12] [16], identificando que puede llegar a ser alternativa para colonias de *A. aegypti* resistentes a la permetrina [21].

CAPÍTULO 6: TEXTIL COMO SUSTRATO A FUNCIONALIZAR

6.1 FUNCIONALIZACIÓN. CONCEPTOS Y GENERALIDADES

El sector textil está en permanente esfuerzo por desarrollar técnicas de manufactura innovadoras de la mano con mecanismos amigables con el medio ambiente. Más allá del esquema tradicional de textiles para indumentaria, ahora los textiles deben cumplir con diversas funciones como el confort, sensorización y la de protección de peligros del entorno.

Los requerimientos más importantes para que cumplan con la función de protección es que los textiles sean una barrera efectiva a la vez que aseguren el confort térmico y fisiológico al usuario. Acabados químicos son usualmente utilizados para transformar un material textil en un textil técnico con propiedades funcionales. En la industria textil los procesos de acabados se realizan en la parte final del proceso de manufactura, producto de lo cual estos adquieren características funcionales.

¿Qué es funcionalización de textiles?

Parafraseando conceptos de la cátedra de *funcionalización de textiles* curso de maestría 2014-2015 de la EPSA, debe entenderse por *funcionalización* como las propiedades que un material después de recibir tratamientos no convencionales (o de altas prestaciones) con el propósito de cumplir funciones más allá de las tradicionalmente esperadas.

Orientando este concepto a los materiales textiles, *funcionalización de textiles* serán todas aquellas propiedades que algún material textil adquirirá y que se harán efectivas conforme al uso del material a lo largo de su vida útil sin que este interfiera de manera negativa al usuario. Estas propiedades requerirán de un *estímulo* y ofrecerán una *respuesta* ante esta, que consistirá en una alta prestación para la cual fue desarrollado durante los procesos de diseño y manufactura.

Por tanto, hablar de funcionalización de textiles va estrechamente vinculado con el término requerimiento técnico, ya que los nuevos materiales deberán garantizar la respuesta efectiva de esa funcionalización a lo largo de la vida útil y que este no vaya en detrimento con las funciones convencionales, así como el confort y la seguridad de este y el material mismo. Para ello, una funcionalización de textiles implicará siempre una fase de cumplimiento de requisitos técnicos orientados a evaluar *el principio, el estímulo, el deterioro (o el uso) y la respuesta*.

Los acabados innovadores confieren alto valor agregado a los textiles que van teniendo cada vez mayor aceptación en el mercado, entre los cuales están: tratamientos protección UV,

hidrofóbicos, antimanchas, suavizantes, retardantes a la llama, enzimas, microencapsulados, nanorecubrimientos, entre muchos otros.

6.2 CARACTERÍSTICAS DEL TEXTIL COMO SUSTRATO A FUNCIONALIZAR

En el capítulo 4 se explicaba la estrategia del mosquito para identificar, perseguir y atacar a sus víctimas, ahora resulta importante identificar mecanismos que minimicen o rompan con esa secuencia sensorial que lleva al mosquito a consumir su picadura.

Se sabe que el cuerpo humano libera a través de la piel diferentes componentes, muchos de los cuales son detectables mediante la exhalación, siendo el dióxido de carbono, ácido láctico, temperatura y humedad corporal los principales atrayentes de los mosquitos.

Aunque aún no se conoce con total certeza el modo de acción que los repelentes ejercen sobre el mosquito, se sabe que en general actúa en dos vías: *la olfativa y su sentido táctil*. La acción del repelente en el sentido del olfato se le conoce como *repelencia por transpiración*, el cual tiene efecto al mantener a los mosquitos alejados y evitar que tengan contacto con la superficie tratada de donde proviene el olor.

Como se explicó en el capítulo 4, los mosquitos también se dejan llevar por la temperatura y humedad corporal para acercarse en dirección de la persona al percibir la presencia de dióxido de carbono en el aire circundante [32]; las moléculas del agente repelente son capaces de bloquear las cavidades sensoriales de humedad de los mosquitos, lo cual hace que eventualmente no sean capaces de detectar la humedad corporal.

Por otro lado, la acción que el repelente ejerce sobre el sentido táctil del mosquito se conoce como *repelencia por contacto directo* y hace que el mosquito abandone al entrar en contacto con la superficie tratada antes de consumir la picadura. Se cree que la sustancia repelente ejerce un efecto sobre el sistema nervioso periférico del mosquito de manera que al tener contacto con la superficie tratada genera un estado colateral de confusión cuando las dosis son inferiores a las consideradas letales para el mosquito [27].

Ahora que se conoce el modo de acción de los agentes repelentes sobre los mosquitos, interesa conferir estas propiedades a un sustrato textil que permita un anclaje efectivo mediante técnicas que aseguren la durabilidad del efecto al preparar formulaciones capaces de sustituir los efectos de los repelentes sintéticos ampliamente utilizados hasta hoy en día.

CAPÍTULO 7: MICROENCAPSULACIÓN COMO TÉCNICA DE FUNCIONALIZACIÓN

7.1 CONCEPTOS Y GENERALIDADES

Construir microcápsulas es construir microsistemas en el que se pretende confinar una materia activa (sólida, líquida o gaseosa) aislándole del exterior a través de una barrera que es otro tipo de material diferente al que está en su interior, esta otra fase es también llamada membrana, envoltura, soporte o pared. Para que las microcápsulas sean consideradas como tal en sentido estricto deben tener dos fases, es decir, debe tener claramente delimitado un núcleo con una composición diferente a su envoltura.

Sin embargo, interesa que este microsistema eventualmente entre en interacción con el exterior, pero se desea que este sea de forma gradual con el propósito que la materia activa ejerza un efecto determinado causado por una reacción con su entorno ya sea a través de un estímulo químico, térmico, biodegradación, etc. La imagen 7.1 muestra una microfotografía de microcápsulas obtenidas en el laboratorio de ingeniería textil de la Escuela Politécnica Superior de Alcoy (EPSA).

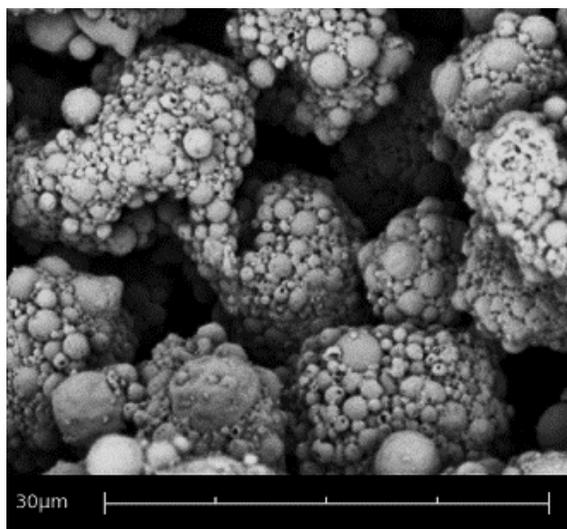


Imagen 7.1 Microfotografía de microcápsulas en emulsión

Las microcápsulas deben tener características muy precisas, tanto de la carga que lleva en su interior como de la barrera (pared, soporte, envoltura o membrana) que le aloja. Algunas de las características más importantes de las microcápsulas:

- a) Espesor de la pared.
- b) Tamaño y morfología de las microcápsulas.
- c) Composición de la emulsión en el núcleo.

a) Espesor de la pared: La obtención de mayor número de microcápsulas está condicionado por una serie de factores, principalmente por la cantidad de polímero utilizado en la emulsión y su relación respecto al principio activo a confinar, así como la solubilidad de este último. Entendiendo la eficiencia de microencapsulación como la cantidad de principio activo envuelto respecto a la cantidad de microcápsulas obtenidas entonces se debe encontrar ese punto de inflexión en el que la eficiencia sea alta (o total) y evitar el exceso de polímero que irá destinado a engrosar el espesor de las microcápsulas lo cual causará que la cinética de la liberación del principio activo caiga [6] [31].

Estudios recientes aluden la importancia del quitosano como material encapsulante, principalmente por el peso molecular como su grado de desacetilación son características que influyen notablemente en el tamaño, morfología y estabilidad de las microcápsulas y podrían ofrecer una buena eficiencia de encapsulación una cinética de liberación del componente activo estable, además de su insolubilidad en agua [24].

Lo contrario ocurre cuando el contenido del principio activo está en mayor proporción que el polímero, se obtendrán microcápsulas con pared de bajo espesor, serán muy susceptibles a la difusión y consigu la cinética de liberación del principio activo será mayor; por ello, debe encontrarse las composiciones óptimas en la formulación. La composición de la pared estará condicionada por la técnica de microencapsulación utilizada, su espesor puede oscilar entre 0.5 – 150 μm [23].

b) Tamaño y morfología de las microcapsulas: Las microcápsulas obtenidas en los acabados textiles que provienen de una emulsión tienen un amplio rango de tamaño, de manera que siguen una distribución de tamaño cuyo rango varía dependiendo de la técnica utilizada e incluso de los porcentajes de cada componente en la formulación y al envolver un componente en fase líquida esta debería adoptar una forma esférica.

Se sabe que cuando esta proporción no es óptima, puede dar lugar a formación de microcápsulas deformes, irregulares y aglomeradas [25], cuando por el contrario se obtienen microcápsulas esféricas, de superficie regular e individuales es porque se ha alcanzado una proporción aceptable de polímero-tensioactivo-agente activo [6] y debe procurarse un tamaño adecuado que permita permanecer anclados a las fibras después de sucesivas pruebas de lavado, aquellas de mayor tamaño tenderían a desprenderse con mayor facilidad.

Algunos estudios que han obtenido microcápsulas por la técnica que se utilizará en este trabajo reportan tamaños entre 1 y 12 μm de diámetro [11] [23].

c) Composición de la formulación en el núcleo: En los apartados a y b se ha mencionado la importancia de guardar una relación óptima de todos los componentes de la formulación. Además, dependiendo de la naturaleza de los componentes de la emulsión en el que permanezca el principio activo, también esto podría influir en la capacidad de retención y difusión gradual del núcleo y por tanto en la durabilidad del principio activo.

Por ejemplo, un aceite esencial dentro de un núcleo conformado por la fase acuosa, glicerol y surfactante en proporciones óptimas puede conceder un nivel de estabilidad y retención al núcleo en el que a cantidad de glicerol constante y surfactante variable, la retención es mayor (cinética menor) cuando el porcentaje de este último en la emulsión incrementa; mismo resultado se obtiene cuando a cantidad de surfactante constante y el glicerol en mayores proporciones; lo cual está íntimamente relacionado a la viscosidad del núcleo, a mayor viscosidad menor cinética de liberación del principio activo debido a que la difusión se ve afectada [12].

Encontrar estos puntos de equilibrio incidirán directamente en la durabilidad de las microcápsulas y en la capacidad de repelencia del textil funcional, algunos estudios han explorado incluso la aplicabilidad de nanoemulsiones con estas características incorporada al núcleo de microcapsulas que envuelven un principio activo extracto natural de aceites esenciales; otros han conseguido reforzar la retención de principios activos incorporando GMA al sustrato celulósico [20]. El solvente puede ser una mezcla de diferentes componentes como genapol, polietilenglicol, etanol y agua, el cual dio un resultado satisfactorio como se mostró en la tabla 2.2 [5]. La tabla 2.4 mostró algunos de los reactivos utilizados en diferentes estudios como solventes o emulsiones para retener los aceites esenciales.

7.2 MICROENCAPSULACIÓN POR POLIMERIZACIÓN INTERFACIAL

Existen diferentes técnicas para la obtención de microcápsulas, desde procesos estrictamente químicos, físicos o físicoquímicos [23]. Así:

Métodos Químicos. Polimerización interfacial, incorporación química de principio activo por ciclodextrinas.

Métodos Físicos. Goteo, extrusión, lecho fluidizado, pulverizado-secado, secado por enfriamiento.

Métodos Físico-Químicos. Coacervación y atrapamiento por liposomas.

La obtención de microcápsulas para funcionalización de los textiles de este trabajo de fin de maestría tuvo lugar utilizando el equipo del laboratorio de la EPSA a partir de *polimerización interfacial*.

La misma reacción de polimerización por policondensación para producir fibras sintéticas y películas de poliéster, poliamidas y poliuretanos puede utilizarse como proceso de encapsulación. Se trata de formar las membranas de las microcápsulas mediante unos de estos polímeros.

La formación de las membranas se realiza por el proceso de polimerización interfacial. Comprende la disolución de los dos reactivos (monómeros) en disolventes diferentes generalmente inmiscibles, y se agitan a alta velocidad, formándose gotitas de la emulsión. La reacción sólo ocurre en la interfase, que es la superficie de las gotas entre la fase orgánica y la acuosa.

La poliurea es un polímero que se forma por la reacción in situ de isocianatos y aminas, las poliureas son materiales segmentados con una fase dura dentro de una matriz flexible y presenta alta dureza debido a la formación de puentes de hidrógeno intermoleculares. Entre las aplicaciones de la poliurea está la microencapsulación en áreas como la industria farmacéutica, cosmética, alimentaria, agroquímica y ahora también forma parte de los acabados innovadores en la rama textil para incrementar la persistencia de los principios activos. La membrana insoluble facilita la conservación del núcleo ante factores externos como los lavados sucesivos, por ejemplo.

La polimerización interfacial es una técnica económica, sencilla, con altos rendimientos de obtención de microcápsulas muy versátil en cuanto a condiciones de operación y relativamente poco contaminante. En este proceso, se produce la polimerización de un monómero en la interfase de dos sustancias inmiscibles, formando una membrana que será la pared de las microcápsulas. Por detrás de este proceso existe una interacción química que tiene las siguientes etapas:

- Equilibrio iónico para el monómero en la fase acuosa;
- Transporte del monómero de la fase acuosa y/o fase orgánica al sitio de reacción;
- La reacción entre las dos especies monómero-diisocianato; y
- La separación de fases de las especies oligoméricas formadas y la formación de la película.

Acá se propone la microencapsulación de aceites esenciales prácticamente insolubles en agua (Ver capítulo 8), la síntesis de la pared de poliurea se obtiene a partir de *hexametildiamina* como el monómero y el *2,4 diisocianato de tolueno* aportador del grupo CO y como tensoactivo

el span *tween 80*. La imagen 7.2 muestra el mecanismo general de reacción entre los dos monómeros descritos anteriormente.

Como puede observarse, la fórmula química es $(\text{NH}_2)_2$, dos grupos amino ($-\text{NH}_2$) unidos por un grupo funcional carbonilo ($\text{C}=\text{O}$). En la poliurea las unidades monoméricas alternantes de isocianato y amina reaccionan entre sí para formar enlaces propios de la estructura *urea*.

Teniendo el *2,4 diisocianato de tolueno* $\text{CH}_3\text{C}_6\text{H}_3(\text{NCO})_2$ y el *hexametildiamina*, también llamado *1,6 diaminohexano* $\text{H}_2\text{N}(\text{CH}_2)_6\text{NH}_2$ y representando como R el anillo bencénico y R' la cadena alifática en los productos:

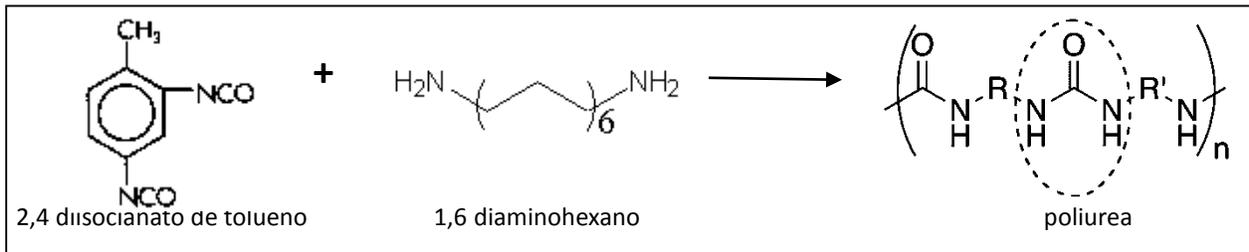


Imagen 7.2 Obtención de poliurea por polimerización interfacial a partir de los dos monómeros.

7.3 MICROENCAPSULACIÓN COMO FUNCIONALIZACIÓN DE TEXTILES

Fue hasta inicios de la década de 1990 que algunas aplicaciones comerciales y otros en etapa de investigación y desarrollo comenzaban a explorar la aplicabilidad de la microencapsulación como una opción viable para funcionalizar los sustratos textiles. Ya en el siglo XXI, las aplicaciones continúan creciendo, principalmente en el mundo desarrollado en el que se están creando textiles con nuevas propiedades y valor agregado mediante esta técnica; así por ejemplo, textiles médicos a los cuales les confieren características de ennoblecimiento mediante acabados y aprestos que difícilmente pudiesen incorporarse por otros procesos y conservar la competitividad en términos de costo beneficio.

En la actualidad la microencapsulación de fragancias, suavizantes, cicatrizantes, vitaminas, colorantes, agentes antisépticos, hormonas, hidratantes, retardantes a la llama, antibióticos, materiales susceptibles al cambio de fase para la regulación térmica para el confort, así como agentes repelentes de insectos son solo algunas de una amplia gama de aplicaciones que ha suscitado especial interés en la funcionalización de sustratos textiles [27]

Las microcápsulas pueden ser incorporadas al sustrato a través de acabados convencionales: impregnación, agotamiento, como recubrimientos de ennoblecimiento, laminados, acompañados de etapas de secado o termofijación cuando generalmente ya han pasado la etapa

de procesamiento del tejido por lo que son considerados procesos finales; o bien, pueden incorporarse de forma intrínseca dentro de la sección transversal de las fibras en los procesos de hilatura principalmente cuando estas son de origen sintética.

Las vías mediante las cuales las microcápsulas ejercerán su acción van desde la biodegradación de la membrana que aloja el principio activo (en aplicaciones de industria alimentaria, farmacéutica o cosmética) hasta por el simple hecho de rompimiento de la membrana por efectos de la abrasión (intencionada o no intencionada) ejercida sobre superficies a las cuales están ancladas, siendo esta última la vía más utilizada en su aplicación textil; a menos que sean materiales de cambios de fase por ejemplo en el que ni siquiera interesa que el principio alojado sea liberado al exterior.

CAPÍTULO 8: MATERIALES, MÉTODOS Y TÉCNICAS INSTRUMENTALES EMPLEADAS

8.1 ACEITES ESENCIALES SELECCIONADOS. DETERMINACIÓN DE LA COMPOSICIÓN QUÍMICA POR CROMATOGRAFÍA DE GASES

En principio, la cromatografía es en un sentido básico y estricto una técnica de separación y ha sido su alta capacidad para resolver muestras de gran complejidad la que le ha conducido a ser utilizada cada vez más como una técnica analítica. Es precisamente esta utilización la que ha permitido un amplio desarrollo de instrumentación.

Entre las técnicas cromatográficas utilizadas con fines analíticos, la cromatografía de gases es probablemente la técnica mayormente utilizada; se considera que ninguna técnica analítica puede ofrecer su capacidad de separación o sensibilidad a la hora de analizar compuestos volátiles. Además, el hecho que con esta técnica las mezclas sean separadas en fase gaseosa, establece los límites de utilización, los cuales estarán condicionados principalmente por la estabilidad térmica de los analitos (o compuestos) a separar; por ello, suele emplearse para la separación de estructuras moleculares con un peso molecular menor a 1000 y no excede los 400°C, dentro de estos límites la única limitante es la estabilidad de la muestra.

Para realizar la separación por esta técnica, se inyecta una pequeña cantidad de la muestra a separar en una corriente de gas inerte a elevada temperatura; esta corriente de gas, atraviesa una columna cromatográfica que separará los componentes de la mezcla a través de un mecanismo de partición para el caso en que sea gas-líquido. Los componentes separados, emergerán de la columna a intervalos discretos y pasarán a través de algún sistema de detección adecuado o ser direccionados hacia un dispositivo de recogida de muestras. De forma general, los componentes fundamentales de un cromatógrafo de gases son: *a) fuente de gas, b) sistema de inyección, c) horno y columna cromatográfica, d) sistema de detección y e) sistema de registro/tratamiento de datos* (Imagen 8.1).

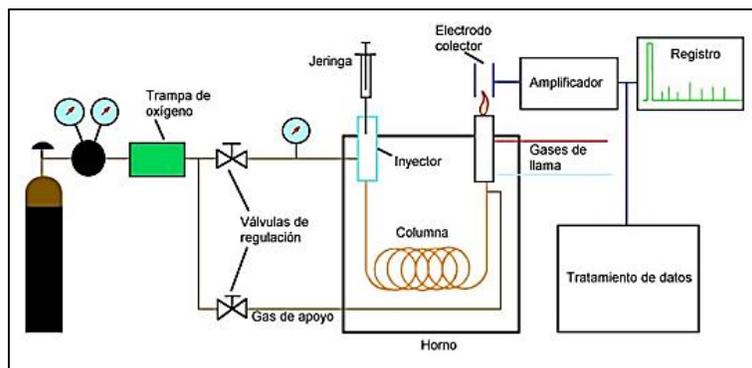


Imagen 8.1 Esquema mecanismo de un cromatógrafo de gases

La determinación de la composición química de los aceites esenciales se hizo mediante cromatografía de gases (GC) por la casa suministradora. Se utilizó el equipo CPG 5890, columna HP Innowax polarizada con dimensiones de 60 m x 0.25 mm x 0.5 µm, detector de ionización a la llama (FID) y CPG 5890/MS 5970, columna HP Innowax polarizada con dimensiones de 60 m x 0.25 mm x 0.5 µm; una rampa de temperatura partiendo de 60°C durante 6 minutos, a una tasa incremental de 2°C/minuto se alcanzan 80°C, luego se lleva hasta 120°C incrementando en un gradiente de 1°C/minuto y en la última etapa se incrementa hasta alcanzar 250°C a una tasa incremental de 4°C/minuto.

El gas de arrastre fue Helio a 30 psi (FID) y 23 psi (MS) en modo de inyección Split. El analito ha sido 1 µL de solución al 5% de disolución en hexano. La composición química de los aceites esenciales es identificada a través de la búsqueda combinada de espectros de masa (librería NIST 75 KL y una librería personalizada) y los tiempos de retención.

Los porcentajes (%) se calculan a partir de las áreas obtenidas por GC/FID y sin la utilización de factores de corrección. Las tablas 8.1, 8.2 y 8.3 reúnen la composición química de los aceites esenciales estudiados, así como el país de donde proviene la planta de la cual fueron extraídos:

<i>Cinnamomum camphora</i> (Alcánfor)	
ORIGEN: MADAGASCAR	
<i>Análisis por cromatografía de gases</i>	
Constituyente	%
alfa-PINENO	14.95
Canfeno	1.31
beta-pineno	2.44
Sabineno	4.28
alfa-felandreno	3.01
beta-myrceno	3.08
LIMONENO	22.34
alfa-terpineno	1.35
1,8 CINEOLE	35.95
gama-terpineno	2.99
para-CIMENO	7.88
Canfor	0.13
Geranilgeraniadieno	0.17
Constituyentes mayoritarios	81.12%
TOTAL	99.88%

Tabla 8.1 Composición química del *alcánfor* por GC.

<i>Litsea cubeba (Litsea)</i>	
ORIGEN: CHINA	
<i>Análisis por cromatografía de gases</i>	
Constituyente	%
alfa-pineno	0.95
Canfeno	0.17
beta-pineno	0.78
Sabineno	0.72
beta-myrceno	1.49
alfa-felandreno	0.03
alfa-terpineno	0.06
LIMONENO	7.36
1,8-cineole	0.64
gama-terpineno	0.29
Terpinoleno	0.08
para-cimeno	0.08
6-metil-5-hepten-2-ona	1.45
Citronelal	2.75
Canfor	0.10
Linalol	1.66
Apifotrocitral A	0.62
Apifotrocitral B	1.60
beta-elemeno	0.03
Terpineno-4-ol	0.96
beta-cariofileno	0.12
alfa-humuleno	0.12
NERAL	32.00
alfa-terpineol	0.35
Borneol	0.06
Germacreno D	0.03
GERANIAL	41.86
Biciclogermacreno	0.03
Carvone	0.03
Acetato de geranilo	0.05
Citronelol	0.31
Nerol	0.54
Geraniol	1.16
Oxido de cariofileno	0.08
Ácido geránico	0.14
Constituyentes mayoritarios	81.22%
TOTAL	98.70%

Tabla 8.2 Composición química del *litsea* por GC.

Melaleuca leucadendron (Cajeput)	
ORIGEN: VIETNAM	
<i>Análisis por cromatografía de gases</i>	
Constituyente	%
Nonano	0.06
Etanol	0.81
Benceno	0.10
alfa-pineno	1.49
alfa-thujeno	0.16
Tolueno	0.45
beta-pineno	1.05
Pinadieno	0.10
para-mentha-2-eno	0.11
orto-xileno	0.26
beta-mirceno	1.50
alfa-felandreno	0.16
γ-limoneno	0.06
alfa-terpineno	0.47
meta-xileno	0.16
LIMONENO	4.65
1,8-CINEOLE	50.50
Metil etil benceno isómero	0.05
Metil etil benceno isómero	0.11
gama-terpineno	1.47
para-cimeno	0.51
Terpinoleno	1.21
Trimetil benceno	0.05
alfa,para-dimetilestireno	0.06
Ylangeno	0.37
alfa-copaeno	0.12
benzaldehído	0.16
LINALOL	4.72
e-cadineno	0.08
beta-elemeno	0.07
alfa-guaieno	0.08
Terpineno-4-ol	1.88
beta-cariofileno	1.67

beta-guaieno	0.11
epi-zonareno	0.18
alfa-humuleno	0.95
gama-selineno	0.18
Neral	0.07
alfa-terpineol + gama-muuroleno	15.25
Calareno	0.22
Gurjuneno isómero	0.05
Cadina isómero + germacreno A	0.15
delta-terpineol	0.50
Gurjuneno	0.08
Eremofileno	0.06
Germacrene D	0.31
alfa-muuroleno + bet-selineno	0.76
alfa-selineno	0.77
Acetato de geraniol	0.09
delta-cadineno	0.09
delta-selineno	0.06
Selina-3,7-dieno	0.22
Nerol	0.10
Geraniol	0.55
para-cimeno-8-ol	0.10
Óxido de cariofileno	0.05
Guaiol	0.73
Sesquiterpenol	0.05
Selinadienol isómero	0.08
Maaliol isómero	0.07
Eugenol	0.07
gama-eudesmol	0.24
guaiol isómero	0.14
alfa-muurolol + hinesol	0.09
Bulnesol	0.17
alfa-eudesmol	0.45
beta-eudesmol	0.48
Eudema-7-en-4-ol	0.06
Mayores Constituyentes	75.12%
TOTAL	98.23%

Tabla 8.3 Composición química del *cajeput* por GC.

8.2 PROPIEDADES FISICOQUÍMICAS DE LOS ACEITES ESENCIALES SELECCIONADOS

La posibilidad de microencapsular aceites esenciales como principios activos, pasa por la factibilidad de estos en formar emulsión como parte del mecanismo de reacción de la polimerización interfacial, cuya fórmula de preparación estará condicionada por algunas de las propiedades fisicoquímicas más importantes en función de su composición química. Cabe destacar que los aceites esenciales fueron adquiridos en la Casa *Esencias Lozano*, Murcia, España.

A través de cromatografía fueron identificados los principales constituyentes de los aceites esenciales, los cuales le conferirán las propiedades fisicoquímicas más representativas. De hecho, la naturaleza de los aceites esenciales seleccionados son muy diferentes, esto al consultar la librería nacional de medicina del Instituto Nacional de Salud de los Estados Unidos de América [39] y el Manual de solubilidades acuosas de sustancias químicas [40]. Las propiedades fisicoquímicas que condicionan el comportamiento de estos aceites esenciales y su disponibilidad por formar emulsión son:

- La solubilidad en agua.
- La densidad.
- La tensión superficial.
- La viscosidad.
- El índice de refracción.

A continuación las tablas 8.4, 8.5 y 8.6 como comparativo entre las propiedades fisicoquímicas arriba listadas de los 3 constituyentes mayoritarios para los aceites esenciales estudiados, lo cual permite inferir las propiedades de los aceites esenciales como el conjunto de una amplia gama de componentes orgánicos principalmente moléculas de terpenos, que le confieren las propiedades aromáticas, actividad biológica y su potencial actividad repelente, considerando que el resto de componentes se reparten en bajas concentraciones, tal cual lo confirma el análisis de cromatografía en la sección anterior.

A partir del contenido de las tablas 8.4, 8.5 y 8.6 se observa la marcada diferencia entre los valores de solubilidad en agua de los diferentes constituyentes de los aceites esenciales, siendo el cajeput el aceite más soluble y el alcánfor el más insoluble en función de los valores del peso que cada uno de sus constituyentes aporta en su composición química.

Cerca del 70% de la composición química del cajeput (incluyendo el linalol) tiene una solubilidad entre 1.6 y 7.1 gramos de aceite por cada litro de agua; en contraste con el alcánfor, cuyo 45% de su composición química (incluyendo el p-cimeno) presenta una solubilidad por debajo de 23 miligramos de aceite por cada litro de agua, es decir, cerca del 50% de su composición química es al menos 70 veces menos soluble que el 70% de la composición química del cajeput. Por su parte,

el 74% de la composición química de litsea constituida por los isómeros *neral* y *geranial* presenta una solubilidad de 590 miligramos de aceite en 1 litro de agua (0.59 gramos), lo cual le confiere al menos una solubilidad 2.7 veces inferior a cajeput y 25 veces superior al 50% de la composición del alcánfor.

Los valores del índice de refracción son un indicador del nivel de pureza de los aceites adquiridos, los valores de la hoja de producto correspondiente al lote utilizado han sido confrontados contra valores bibliográficos de dichas sustancias puras, observándose que los valores del producto están dentro del rango establecidos por la bibliografía para sustancias de elevada pureza, lo cual permite utilizar el resto de información bibliográfica con gran nivel de confianza.

Lo anterior se ve reflejado en que la tensión superficial para el cajeput es ligeramente superior al alcánfor y litsea, siendo estos últimos más hidrófobos (menor a 30 dinas/cm) que el primero (superior a 30 dinas/cm).

A pesar de las inferencias realizadas anteriormente, cabe mencionar que los tres aceites entran en el rango de sustancias insolubles en agua, no obstante su insolubilidad, la diferencia entre los tres aceites es tan significativa que permite establecer una marcada diferencia entre las mismas, las cuales condicionarán su tendencia a formar emulsiones estables y por tanto microcápsulas para ser luego incorporadas al sustrato textil. Las estructuras químicas de los constituyentes mayoritarios se muestran en la imagen 8.2.

8.3 CARACTERÍSTICAS DEL SUSTRATO TEXTIL

Definir las características del sustrato textil a utilizar para este estudio es fundamental, al ser la base a funcionalizar deberá garantizar además de confort, que la incorporación del principio activo resulte viable y duradero a través del tiempo y exposición a las condiciones externas de uso. El vector *Aedes aegypti* se caracteriza por ser atraído por superficies oscuras para posar en estas [17] independientemente la composición y el acabado repelente del textil, el vector se ve atraído por una superficie oscura al compararse con una superficie clara incrementando la probabilidad de posar por estímulo del color; similar reacción ocurre ante un estímulo visual por colores como el amarillo, anaranjado y rojo [30]. Por tanto, se propone que para el presente estudio se utilice un textil blanco.

El textil deberá ser preferiblemente ligero y de ligamento fuerte y resistente y se sugiere que esté compuesta por fibras celulósicas [18]: sea algodón 100% o una mezclas con lo que se pretende una alta capacidad de retención de las microcápsulas al elevar la rigidez del tejido y resistencia al estiramiento, además de ser fibras confortables. La capacidad de absorción de microcápsulas fue superior en sustratos textiles de algodón 100% al compararse con mezclas de algodón y fibras sintéticas como el poliéster [11]. Sin embargo, los mosquitos tienden a verse atraídos a superficies

de tejido celulósico respecto a sintéticas no tratadas debido a que acumulan humedad y representan mejores características táctiles para posar en estas superficies respecto a las fibras lisas [17]; comportamiento que deberá compensarse con concentraciones efectivas de principio activo. Por tanto, se trabaja con un sustrato textil cuyo ligamento es un raso de algodón Jacquard 100%, gramaje entre 200-210 g/m² blanqueado industrialmente y sin ningún tipo de proceso de teñido.

Constituyentes	<i>Cinnamomum camphora (Alcánfor)</i>					
	% (Según GC)	Solubilidad (En Agua)	Densidad a 20C (0.874 s/suplidor)	Tensión Superficial	Índice de Refracción	Presión de Vapor
1,8 Cineole	35.95%	3,500 mg/L	0.9267 g/mL	32.5 dinas/cm	1.4586	1.90 mmHg
Limoneno	22.34%	13.8 mg/L	0.8411 g/mL	26 dinas/cm	1.4743	1.98 mmHg
alfa-pineno	14.95%	2.49 mg/L	0.8592 g/mL	25.9 dinas/cm	1.4680	4.75 mmHg
Viscosidad (cP)	13.3 cP @6.7% relación de fondo					
Índice de refracción del aceite esencial (Como indicador de pureza)	1.467 según hoja de producto versus 1.475 según bibliografía					

Tabla 8.4 Propiedades fisicoquímicas del aceite esencial de Alcánfor^[39].

Constituyentes	<i>Litsea cubeba (Litsea)</i>					
	% (Según GC)	Solubilidad (En Agua)	Densidad a 20C (0.87 s/suplidor)	Tensión Superficial	Índice de Refracción	Presión de Vapor
Limoneno	7.36%	13.8 mg/L	0.8411 mg/mL	26 dinas/cm	1.4743	1.98 mmHg
Geranial (Trans-Citral)	41.86%	590 mg/L	0.8900 mg/L	27.1 dinas/cm	1.4860-1.4900	9.13x10 ⁻² mmHg
Neral (Cis-Citral)	32.00%					
Viscosidad (cP)	17.2 cP @8.5% relación de fondo					
Índice de refracción del aceite esencial (Como indicador de pureza)	1.482 según hoja de producto versus 1.4750-1.4850 y 1.483-1.489 según bibliografía. Neral y Geranial forman un solo terpeno llamado Citral, forman una mezcla de isómeros geométricos.					

Tabla 8.5 Propiedades fisicoquímicas del aceite esencial de Litsea^[39].

Constituyentes	<i>Melaleuca leucadendron (Cajeput)</i>					
	% (Según GC)	Solubilidad (En Agua)	Densidad a 20C (0.915 s/suplidor)	Tensión Superficial	Índice de Refracción	Presión de Vapor
1,8 Cineole	50.50%	3,500 mg/L	0.9267 g/mL	32.5 dinas/cm	1.4586	1.90 mmHg
alfa-Terpineol	15.25%	7,100 mg/L	0.9350 g/mL	33.2 dinas/cm	1.4820	0.423x10 ⁻² mmHg
Limoneno	4.65%	13.8 mg/L	0.8411 g/mL	26.0 dinas/cm	1.4743	1.98 mmHg
Viscosidad (cP)	20.8 cP @9.8% relación de fondo					
Índice de refracción del aceite esencial	1.469 según hoja de producto versus 1.463 - 1.472 según bibliografía					

Tabla 8.6 Propiedades fisicoquímicas del aceite esencial de Cajeput^[39].

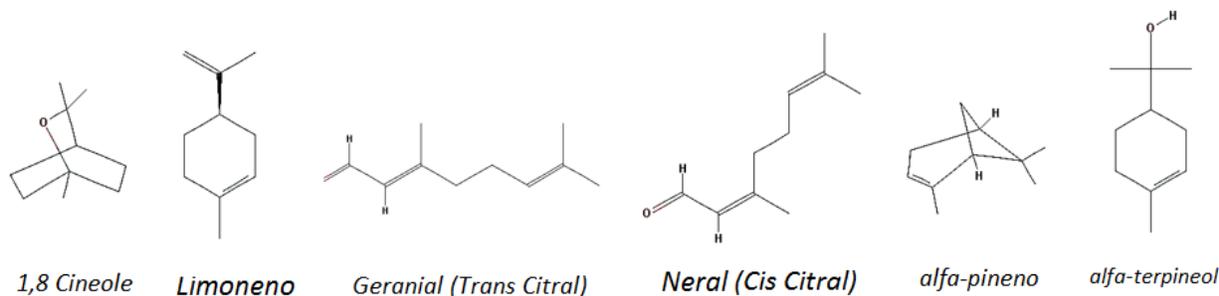


Imagen 8.2 Estructura química de los constituyentes mayoritarios de los aceites esenciales ^[39]

8.4 MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE BARRIDO (SEM)

El microscopio electrónico de barrido (SEM) es un instrumento capaz de ofrecer un amplio rango de información procedente de la superficie de una muestra. Su principio de funcionamiento está basado en el barrido de un haz de electrones sobre un área cuyo tamaño está definido por la magnificación a explorar.

Se ha utilizado el detector de electrones secundarios (SE), el cual ofrece la característica imagen en blanco y negro de la topografía de la superficie examinada. Se considera la señal más adecuada para la observación de la muestra por ser la de mayor resolución; no obstante, existen otros tipos de detectores, tales como: *detector de electrones retrodispersados (BSE)*, *detector de rayos X (EDS)*, *detector de rayos X (WDS)* y *detector de electrones retrodispersados difractados (BSED)*.

La preparación de las muestras pasa por ser sometidas a un recubrimiento de una capa de metal altamente conductor, esta superficies será barrida con electrones enviados desde un cañón, el detector medirá la cantidad de electrones enviados que arroja la intensidad del área de la muestra, siendo capaz de formar figuras en tres dimensiones y proyectadas en una pantalla. Es necesario acelerar los electrones en un campo eléctrico, con ello podrá aprovecharse su comportamiento ondulatorio, lo cual se lleva a cabo en el cañón del microscopio, donde se aceleran por una diferencia de potencial de 1,000 a 30,000 voltios.

Los electrones acelerados por un voltaje bajo son empleados para muestras muy sensibles o aislantes. Los voltajes elevados suelen emplearse para muestras metálicas. Los electrones acelerados salen del cañón, y son enfocados por las lentes condensadora y objetiva, cuya función es reducir la imagen del filamento, de manera que incida en la muestra un haz de electrones lo más pequeño posible (para así tener una mejor resolución). Con las bobinas deflectoras se barre este fino haz electrones sobre la muestra, punto por punto y línea por línea.

Para dicha caracterización, se acudió al Servicio de Microscopía Electrónica en el campus de Vera de la Universidad Politécnica de Valencia, donde se utilizó el equipo Jeol JSM-6300 (Jeol USA Inc., Peabody; USA), las muestras a analizar tenían dimensiones de 4 cm x 4 cm, las cuales fueron

recubiertas por una delgada capa de oro y paladio. Las imágenes 8.3 y 8.4 muestran el equipo de microscopía utilizado así como la disposición de las muestras recubiertas en el portamuestras respectivamente.



Imagen 8.3 Equipo SEM Jeol JSM-6300

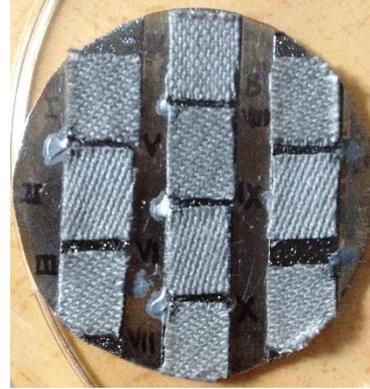


Imagen 8.4 Colocación en portamuestras

8.5 DETERMINACIÓN DEL TAMAÑO DE LAS MICROCÁPSULAS

El contador de partículas es un equipo diseñado para el conteo de células sanguíneas; sin embargo, puede emplearse para el conteo de micropartículas en suspensión tales como las microcápsulas.

El principio de funcionamiento está basado en la detección y medición de los cambios en la resistencia eléctrica producidos por las partículas suspendidas en un líquido conductor (solución salina, electrolito) atravesando una pequeña abertura [41].

Al estar las micropartículas suspendidas en el electrolito estas actúan discretamente como aislantes; cuando esta suspensión es recogida a través de una pequeña abertura cilíndrica, el paso de cada una de las micropartículas condiciona momentáneamente la impedancia del flujo eléctrico entre dos electrodos sumergidos y posicionados entre los dos lados de la abertura.

La imagen 8.5 ilustra el principio de funcionamiento a través del cual la micropartícula atraviesa la abertura generando un pulso eléctrico adecuado para el conteo y caracterización de tamaño. De manera que el número de pulsos indicará el número de micropartículas y la amplitud del pulso eléctrico dependerá de su volumen, ya que la presencia de micropartículas en el umbral de la abertura causará que la resistencia se incremente disminuyendo la capacidad conductora del electrolito en la que se ha formado la suspensión en una proporción equivalente al volumen de la micropartícula.

Los estudios han demostrado que el comportamiento de la micropartícula en la abertura condiciona la altura del pulso eléctrico, lo cual exhibe con gran precisión el volumen de electrolito que ha desplazado y ha pasado a ser ocupado por esta. El método permite el conteo selectivo de micropartículas a pesar que su distribución de tamaño esté dentro de un rango muy estrecho. Si la cantidad de micropartículas es elevada, podría resultar complejo el conteo de las mismas, por lo que será necesario incurrir en diluciones de muestra y luego extrapolar el resultado en la concentración original. El equipo utilizado es *counter serie Z1 de beckman coulter* integrado a su plataforma de software.

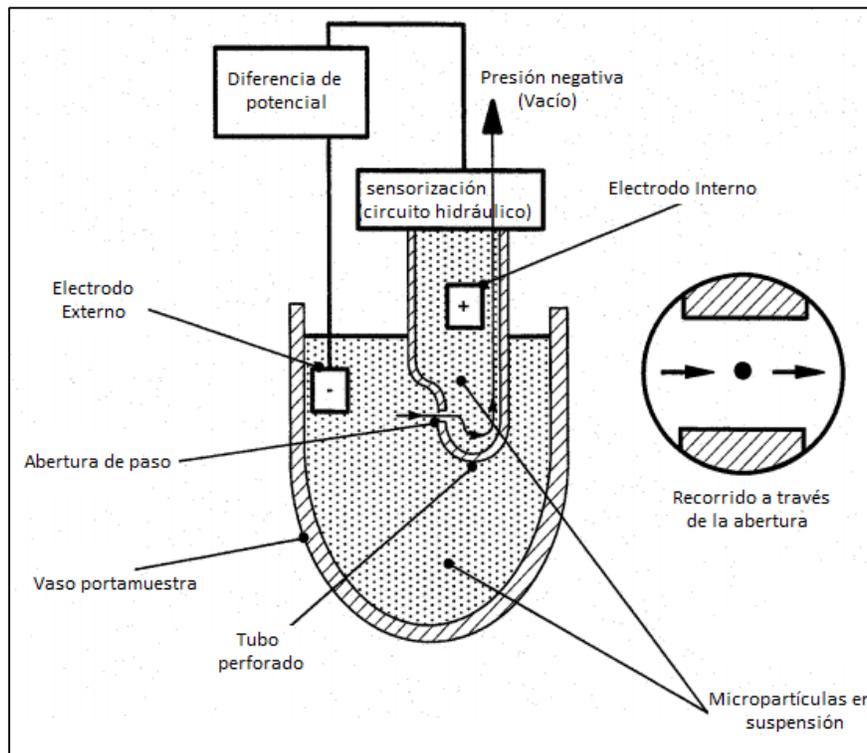


Imagen 8.5 Mecanismo de conteo y determinación de tamaño. Adaptación de Manual de Usuario^[41].

8.6 DURABILIDAD DE LAS MICROCÁPSULAS

La evaluación de la durabilidad de las microcápsulas incorporadas al sustrato textil se realiza a través de algunos de los ensayos destinados a la determinación de solidesces del color que consisten en someter las probetas tratadas a ensayos de diferentes naturaleza que pretenden replicar la agresividad del uso al que el textil estará expuesto:

- a) Comportamiento ante el frote.
- b) Comportamiento ante lavado sucesivo.

La realización de estos ensayos tiene por objetivo, evaluar la apariencia de las microcápsulas posterior a las pruebas de durabilidad mediante microscopía y evaluar cualitativamente propiedades organolépticas tales como el aroma liberado para percibir la intensidad del olor y la durabilidad de este.

8.6.1 Comportamiento ante el frote.

El ensayo está dictado por la Norma Española ISO 105-X12:2001 [42] y el principio del método consiste en frotar muestras del textil con un tejido testigo seco y húmedo, considerando el número de ciclos, la superficie sometida a la prueba, el peso y la velocidad del frote.

El equipo está formado por una clavija frotadora que sostiene el tejido testigo (o frotador), una base rígida, firme y rugosa sobre la cual se coloca el textil a evaluar, un soporte para delimitar y fijar la superficie objetivo y una manivela con la que se realizará el movimiento en vaivén en ambos sentidos sobre la superficie expuesta en un período de tiempo específico, realizándolo con el tejido testigo seco y repetirlo mojado.

Se frotó a una velocidad de un ciclo por segundo con un movimiento en línea recta 20 veces (10 veces en cada sentido ida-regreso, sobre la probeta seca a lo largo de una longitud de 104 mm +/- 3mm y ejerciendo una fuerza de 9N que es el peso natural del brazo de apoyo del que pende la clavija, tanto la base que sujeta la probeta como la pinza que sostiene el tejido frotador a la clavija deben estar perfectamente sujetos para evitar que se forme arrugas, que afloje o impida la realización consistente de la prueba. El ensayo se repite con el tejido testigo mojado con una impregnación mínima de agua de 95%.

Luego de realizar 10 ciclos, se tomaron nuevas probetas y fueron ensayadas a 15 y 30 ciclos (30 y 60 veces respectivamente), con el propósito de evaluar si habían cambios en la intensidad de la liberación del principio activo producto del número de frotos al que se ve sometido. La evaluación fue meramente cualitativa con el propósito de identificar cambios organolépticos importantes; por su parte algunas probetas sometidas a 10 ciclos fueron observadas al microscopio. El aparato utilizado fue el *AATCC crockmeter atlas electric devices and co* como se observa en la imagen 8.6.



Imagen 8.6 Crockmeter para ensayo de frote sobre sustratos textiles.

8.6.2 Comportamiento ante el lavado.

El ensayo realizado sigue la Norma UNE-EN ISO 105-C10 [43]: solidez al lavado con jabón. Las probetas del textil a evaluar se ponen en contacto con dos tejidos testigos especificados por la norma y se agitan mecánicamente por un tiempo, temperatura, tipo y cantidad de solución jabonosa determinada, posteriormente es enjuagado y secado para posterior evaluación en este caso, microscopía SEM.

Se utiliza un equipo LiniTest (imagen 8.7) que contiene un motor fijado a un eje central que sujeta radialmente diferentes recipientes de acero inoxidable, dentro de los cuales se coloca la solución de lavado junto a la probeta y los tejidos testigo. La temperatura se asegura mediante un mecanismo automático que calienta el baño de poli etilenglicol e indirectamente se calientan los depósitos metálicos.

Al ser las probetas de algodón, la norma establece que los testigos deben ser textiles de algodón y lana en contacto con cada uno de los lados respectivamente, los cuales deben ser sujetados cociéndose de dos extremos cortos opuestos, formando un ensamblaje a 3 capas (imagen 8.8). Se prepara una solución de jabón cuya concentración es 5 g/L con detergente en polvo para ropa de color, la relación de baño de la solución jabonosa para cada conjunto de probeta-testigo (espécimen) es de 50:1, es decir, 50 mL de solución por cada gramo de espécimen.

Las condiciones del ensayo utilizadas corresponden a un lavado ligero, 40 °C +/- 2 °C, 1 ciclo de lavado con una duración de 30 minutos y sin utilizar baleros de acero ni carbonato sódico, es decir, No. De ensayo A (1) de la Norma Española.

Las dimensiones de los especímenes (probeta-testigo) deben ser 100 mm x 40 mm y al finalizar el ciclo de lavado debe ser enjuagado, descoserse de uno de los extremos y colgarlos en una parrilla de los dos tejidos testigo que permita que la probeta quede suelta al aire y sin tener contacto con ninguna superficie.



Imagen 8.7 Dispositivo mecánico de lavado *Linitest* y contenedores de acero inoxidable



Imagen 8.8 Ensamblaje triple lana-probeta-algodón

8.7 ENSAYO EVALUACIÓN DE LA EFECTIVIDAD DE LA CAPACIDAD DE REPELENCIA

Los ensayos a realizar para evaluar la capacidad repelente de una superficie están determinados por la naturaleza de dicha superficie tratada y la propiedad a medir, las cuales están consideradas en una serie de protocolos sugeridos por la Organización Mundial de la Salud (OMS); algunos estudios a lo largo de los años han ido proponiendo algunas adaptaciones. No obstante, la efectividad de un principio activo con propiedades de repelencia puede medirse de diferente manera y cuyos conceptos es fundamental entenderlos para identificar la variable más ad-hoc al tipo de funcionalización conferida al textil:

- a) Período de protección (PP).
- b) Capacidad de repelencia (%R).
- c) Porcentaje de mosquitos posados (%L).
- d) Porcentaje de mosquitos que pican (%B).
- e) Capacidad de aletargamiento (%K).
- f) Capacidad de fatalidad (%M).

Período de protección (PP): Del inglés *Protection Period*, es el tiempo transcurrido desde el inicio de la exposición de la superficie tratada a los mosquitos y el momento en que este último posa y pica la superficie expuesta. El período de protección es el tiempo en el que dos picaduras han sido consumadas sea en un mismo período de exposición; o bien, en períodos consecutivos. Suele expresarse en minutos y es un indicador determinante ya que al ocurrir este evento, el ensayo se da por concluido.

Capacidad de repelencia (%R): Del inglés *Repellency percent*, representa un indicador que relaciona el número de mosquitos que posan y/o pican la superficie expuesta en una muestra control (C)-negativo o positivo-con el número de mosquitos que posan y/o pican la superficie expuesta que si ha sido tratada con el principio activo a explorar (T). El control negativo es una superficie que no haya sido tratado y un control positivo suele ser una superficie con un tratamiento alternativo al principio activo que se está desarrollando para establecer comparaciones, de manera que %R debe estar referenciado a una muestra control, sea este control negativo o positivo. Los controles positivos suelen ser los repelentes/insecticidas sintéticos al cual se le busca sustituir con componentes alternativos como los aceites esenciales, su cálculo es el siguiente:

$$\%R = \frac{(C - T) \times 100}{C}$$

Porcentaje de mosquitos posados (%L): Del inglés *Landing mosquitoes percent*, es un indicador que relaciona el número de aterrizajes sobre la superficie (L) expuesta (tratada o no) hasta consumir el criterio de picaduras del PP con el total de mosquitos utilizados en el ensayo para un período de exposición determinado hasta acabar el ensayo. Aunque la formula en sí misma no relaciona el control con la superficie explorada, debe calcularse por separado y compararse entre sí. Se calcula de la siguiente manera:

$$\%L = \frac{L \times 100}{n \text{ total de mosquitos}}$$

Porcentaje de mosquitos que pican (%B): Del inglés *Biting mosquitoes percent*, es el número de mosquitos que consuman la (s) picadura (s) en la superficie expuesta, tratada o no durante el

tiempo de duración del ensayo en diferentes tiempos de exposición, o hasta completar el PP, con el total de mosquitos utilizados en el ensayo para el mismo período de exposición. Aunque la formula en si misma no relaciona el control con la superficie explorada, debe calcularse por separado y compararse entre sí. Se calcula de la siguiente manera:

$$\%B = \frac{B \times 100}{n \text{ total de mosquitos}}$$

Capacidad de aletargamiento (%KD): Del inglés *Knockdown mosquitoes percent*, es el número de mosquitos que después de haber permanecido expuestos a la superficie tratada (habiendo conseguido contacto o no con esta) y durante un tiempo establecido de exposición del ensayo se observe incapaz de desplazarse volando o caminando de forma coordinada (KD) observándose que no puede sostenerse en pie mostrando signos de estar moribundo en los 60 minutos siguientes al finalizar el ensayo respecto al total de mosquitos que se vieron expuestos a las mismas condiciones.

$$\%KD = \frac{KD \times 100}{n \text{ total de mosquitos}}$$

Capacidad de fatalidad (%M): Del inglés *Mortality rate*, es el número de mosquitos que después de haber permanecido expuestos a la superficie tratada (habiendo conseguido contacto o no con esta) y durante un tiempo establecido de exposición del ensayo se observe inmóvil tendido en la cabina de ensayos (M) en las 24 horas siguientes al fin de la rutina del ensayo respecto al total de mosquitos que se vieron expuestos a las mismas condiciones.

$$\%M = \frac{M \times 100}{n \text{ total de mosquitos}}$$

Con estos indicadores se pretende evaluar la efectividad de un principio activo por repeler, aletargar o matar los mosquitos. En cuanto a superficies textiles funcionalizadas, aplicarían los indicadores %R, %L, %KD y %M siendo ensayados siguiendo dos protocolos diferentes, claro está que debería ser procedente ensayar %KD y %M cuando los niveles de %R y %L de un aceite esencial como principio activo sea superior al de un componente sintético como control positivo y cuando se busca evaluar si el aceite esencial tiene propiedades no solo de repelencia sino también biocida/insecticida.

El protocolo para evaluar la efectividad del tejido desarrollado en este trabajo de graduación ha sido realizado por el laboratorio certificado *T.E.C. Lab* con sede en Francia, el cual sigue una metodología propia para representar los resultados en forma equivalente a %R, con la peculiaridad, que evalúa dos tipos de repelencia: *la directa y la indirecta*.

La capacidad de *repelencia directa* será el resultado de comparar el número de mosquitos que posan directamente sobre el textil tratado versus el resultado obtenido sobre el textil no tratado, de manera que siempre estará referido a un control negativo.

La capacidad de *repelencia indirecta* será el resultado de hacer las mismas observaciones pero ya no directamente en la superficie tratada sino en un radio de acción de 5 centímetros alejado de esta y con la presencia de un roedor cuya piel expuesta es un objetivo de picaduras.

Para ambos casos, el tiempo de exposición es fijo y no está condicionado por el tiempo en el que ocurre determinado número de aterrizajes y/o picaduras de mosquitos. Por ello, se trata de una metodología propia que está oficialmente reconocida por la directiva europea 91/414 CE a través del Ministerio de Agricultura de Francia. En la tabla 8.7 las características del protocolo y la imagen 8.9 muestra la cabina en la que se realiza el bioensayo.

Los ensayos a realizar para evaluar la capacidad repelente van en dos direcciones:

- a) Brazo dentro de la cabina de ensayo.
- b) Ensayos de túnel y de cono.

Brazo dentro de la cabina de ensayo: Del inglés *Arm in-cage* es un ensayo inicialmente desarrollado para evaluar la capacidad repelente de componentes que son aplicados directamente en la piel del brazo cuya superficie se expone directamente a una población de mosquitos específica. Pero la OMS también propone una adaptación para brazos recubiertos con el textil tratado antes y después de unos protocolos de lavado también establecidos por el organismo. Con este ensayo se pretende calcular %R y %L. El ensayo establece el tamaño de la población, condiciones de temperatura y humedad, número de réplicas, tiempos de exposición y tiempo total de duración de la rutina de ensayos.

Ensayos de túnel y cono: Pretende evaluar la respuesta del mosquito más allá de la repelencia y busca medir la capacidad de aletargamiento que ejerce el textil tratado después de 60 minutos de haber concluido el ensayo así como la capacidad de fatalidad después de 24 horas de haber concluido la rutina de ensayos; por tanto va orientado a calcular %KD y %M [22].

Por tanto, El ensayo realizado es una adaptación del método A sugerido por la Organización Mundial de la Salud, no es el objetivo de este proyecto evaluar propiedades biocidas de los aceites esenciales.

Información General del Ensayo	
Laboratorio certificado	Instalaciones de T.E.C. Lab de Francia
Protocolo	Acorde a procedimientos oficialmente reconocidos por la directiva europea 91/414/CE Ministerio de Agricultura de Francia
Tamaño de la Cabina	50 cm x 50 cm x 50 cm
Tiempo de Exposición	60 minutos
Número de réplicas	3
Características de los mosquitos	
Tipo de mosquito	<i>Aedes aegypti</i>
Cantidad de mosquitos	50 +/- 5
Edad de los mosquitos	2 a 4 días
Tipo de colonia	Colonia de laboratorio <i>bora-bora</i> cultivada por y bajo estándares de protocolo de Organización Mundial de la Salud (OMS) Instituto de Investigación para el Desarrollo Francia (ORSTOM) <i>Office de la recherche scientifique et technique outre-mer</i>
Condiciones de los mosquitos	Mosquitos hembra con 24 horas sin ser alimentadas
Características del Prototipo	
Prototipo expuesto	Ratón, piel sin vello expuesta
Condiciones del prototipo	Ratón completamente inmovilizado con los ojos cubiertos
Ubicación del prototipo	Al centro de la cabina de exposición
Características del Sustrato y Estímulo	
Funcionalización conferida	Microcapsulas con principio activo de aceites esenciales de <i>Melaleuca leucadendron</i> y <i>Litsea cubeba</i>
Tamaño de las probetas	10 cm x 10 cm
Estímulo	Frote del tejido durante 10 segundos previo a la prueba
Tipo de probeta	Tejido de Algodón funcionalizado por microencapsulación de aceites esenciales selectos
Control Negativo	Tejido de Algodón no tratado
Ubicación de la probeta	Debajo del ratón
Condiciones Ambientales	
Húmedad relativa (HR)	70 +/- 5%
Temperatura (Celsius)	24 +/- 2 grados Celsius
Iluminación	Lámpara 800 Lux
Ventilación	Sin ventilación
Medición del Resultado	
Repelencia Directa (%)	Mosquitos que aterrizan directamente sobre el tejido tratado
Repelencia Indirecta (%)	Mosquitos que aterrizan sobre el roedor y/o que lo piquen (a un perímetro de 5cm de la posición del tejido)

Tabla 8.7 Características del protocolo eficacia de repelencia superficies textiles.



Imagen 8.9 Cabina de realización del bioensayo.

8.8 MECANISMO DE INCORPORACIÓN AL TEXTIL

La etapa de incorporación de las microcápsulas al textil comienza desde el momento que se preparan los baños, posterior a la obtención de las mismas.

Partiendo de los 3 principios activos encapsulados, se prepararon baños con microcápsulas de un solo tipo de aceite como también se prepararon algunas mezclas para evaluar posibles propiedades sinérgicas; sin embargo se buscó siempre preparar baños con un contenido de 60 g/L de microcápsulas obtenidas, 15 g/L de resina acrílica *center STK/100* para acabados en 1.5 L de baño en agua desmineralizada, para el caso de las mezclas la concentración total de microcápsulas se mantuvo, cambiando únicamente las proporciones dentro de la concentración neta 60 g/L.

Cabe destacar que cuando se habla de preparar mezclas para evaluar potencial efecto sinérgico, se refiere a preparar baños compuestos por microcápsulas de diferentes aceites esenciales y no de diferentes principios activos mezclados en la formulas durante la polimerización interfacial para obtener microcápsulas con núcleos compuestos.

Después de agregar las diferentes proporciones de microcápsulas y resina, se agitaba levemente por 20 minutos en un agitador magnético hasta lograr homogenizar parcialmente la dispersión.

La tabla 8.8 muestra las diferentes proporciones de microcápsulas preparadas en los diferentes baños utilizados para funcionalizar el tejido.

MUESTRA	PRINCIPIO ACTIVO	% m/m
100Ca	Cajeput	100
100Li3	Litsea PYA3	100
100Li4	Litsea PYA4	100
100Al	Alcánfor	100
75Li25Ca (3:1)	Litsea PYA3	75
	Cajeput	25
75Li25Al (3:1)	Litsea PYA3	75
	Alcánfor	25
60Li20Ca20Al (3:1:1)	Litsea PYA3	60
	Cajeput	20
	Alcánfor	20
60Ca40Al (1.5:1)	Cajeput	60
	Alcánfor	40
75Ca25Li (3:1)	Cajeput	75
	Litsea PYA3	25

Tabla 8.8 Diferentes baños utilizados en la incorporación

La incorporación se realizó mediante impregnación por fulardado, utilizando un equipo foulard de laboratorio tipo horizontal *TEPA 2608*, velocidad de paso lineal de 1 m/min, mecanismo de presión neumático de rodillos fijada en aproximadamente 1.5-2 kg/cm² y una cubeta que contiene los 1,500 mL de baño (imagen 8.10). Todas las aplicaciones se realizaron con 3 pasadas por el foulard, cuidando de usar un tejido acompañador diferente para cada baño y evitar así posibles contaminaciones, el ancho de los sustratos textiles era 30 cm, equivalente al ancho de los rodillos.



Imagen 8.10 Mecanismo de impregnación *Foulard horizontal TEPA2608*

Posterior a la impregnación, los tejidos fueron secados a través de un rame a temperatura en torno a 99-102 °C y velocidad de 0.50 m/min hasta alcanzar el secado después de 5 o 6 pasadas por este, dependiendo el nivel de *pick-up* alcanzado. El equipo utilizado es un secador de la gama *textildry SPE TD-20*, que consiste de una banda transportadora en fibra de vidrio con refuerzos laterales y el mecanismo basado en proyección intermitente de radiación infrarroja, tanto la velocidad como la temperatura es programable (imagen 8.11).



Imagen 8.11 Secador *textildry SPE TD-20*

CAPÍTULO 9: RESULTADOS

9.1 DATOS OBTENIDOS

En esta sección se presenta información obtenida en la fase experimental, pero que no es parte medular del resultado final del trabajo de fin de maestría proyectados en los objetivos, pero que resulta importante presentarla, ya que ofrecen posibles explicaciones a las conclusiones sobre los resultados finales. En esta sección únicamente se describen y presentan los datos, su respectiva discusión se realizará en la sección 9.3.

9.1.1 IMPREGNACIÓN

Los valores de impregnación son representados como % *pick-up* y son muy importantes debido a que es una forma indirecta de estimar lo que ha podido transferirse al tejido, ya que las microcápsulas no presentan afinidad por el tejido inicialmente, estas deben valerse de un agente ligante para garantizar que queden incorporadas al sustrato correctamente, ya que por principio el baño tenderá siempre a estar enriquecido por las microcápsulas.

Se realizaron 9 impregnaciones en total, en la tabla 9.1 se presentan los valores de *pick-up* para cada tejido, todos se realizaron con las mismas concentraciones de aceite esencial y resina (como se explica en el capítulo 8) y se puede observar que la relación volumen de baño versus peso de tejido ha sido entre 5 y 7.5 L por kilogramo de tejido. Los valores de *pick-up* oscilan entre 70 y 90% bajo esta fórmula, siendo W_f peso final (tejido húmedo) y W_o peso inicial (tejido seco):

$$\%pick - up = \frac{(W_f - W_o) \times 100}{W_o}$$

Y para 60 g/L de microcápsulas, 15 g/L de resina acrílica y 1.5 L de baño se obtuvieron los siguientes datos:

MUESTRA	PRINCIPIO ACTIVO	%	Peso inicial tejido (W_o) en gramos	Peso tejido húmedo (W_f) en gramos	Pick up (%)
100Ca	Cajeput	100	210.49	377.27	79.2
100Li3	Litsea PYA3	100	306.20	578.00	88.8
100Li4	Litsea PYA4	100	203.10	377.30	85.8
100Al	Alcánfor	100	201.90	363.10	79.8

75Li25Ca (3:1)	Litsea PYA3	75	199.19	372.60	87.1
	Cajeput	25			
75Li25Al (3:1)	Litsea PYA3	75	204.00	371.30	82.0
	Alcánfor	25			
60Li20Ca20Al (3:1:1)	Litsea PYA3	60	202.30	366.80	81.3
	Cajeput	20			
	Alcánfor	20			
60Ca40Al (1.5:1)	Cajeput	60	210.60	364.30	73.0
	Alcánfor	40			
75Ca25Li (3:1)	Cajeput	75	209.40	356.20	70.1
	Litsea PYA3	25			

Tabla 9.1 Comportamiento de la impregnación en las diferentes muestras

9.1.2 LIBERACIÓN DEL PRINCIPIO ACTIVO

Además de realizar la caracterización por SEM, se consideró oportuno realizar una prueba cualitativa de tipo organoléptica posterior al ensayo de frote, esto para verificar la intensidad del olor liberado, cuál predominaba en el caso de las mezclas, la permanencia de este en el tiempo y cuáles de estos guardaban una relación con el número de ciclos de frote al cual eran sometidos. Estos resultados junto a la evaluación por SEM permitirían tomar una decisión definitiva acerca de la muestra que sería sometida al test de repelencia.

Se pretendía asignarle una descripción al olor liberado, así como describir los cambios en la intensidad que se percibían respecto al tejido sin ser frotado, como también respecto al número de ciclos de frote anteriores para identificar cuándo el cambio dejaba de ser significativo. Esto se realizó más allá de los 10 (20 frotos) ciclos establecidos por la Norma, y se continuó hasta 15 y 30 ciclos (30 y 60 frotos respectivamente).

Además se asignó una escala para describir los cambios: *significativo*, *moderado* y *leve* para describir los cambios en la intensidad percibida instantáneamente conforme se sometían las microcápsulas a la abrasión del frote (en seco) y como *alta* o *baja* para describir el nivel de intensidad que predominaba después de 10 minutos de haber cesado la abrasión (20 frotos para este caso). Los datos se presentan en la tabla 9.2:

MUESTRA	PRINCIPIO ACTIVO	%	Cambios después de 20 frotos**	Cambios después de 30 frotos*	Cambios después de 60 frotos*	Intensidad después de 10 minutos	Característica del Aroma predominante
100Ca	Cajeput	100	SIGNIFICATIVO	SIGNIFICATIVO	SIGNIFICATIVO	ALTA	Fresco, mentolado, canela-picante
100Li3	Litsea PYA3	100	SIGNIFICATIVO	SIGNIFICATIVO	LEVE	BAJA	Fresco y cítrico
100Li4	Litsea PYA4	100	SIGNIFICATIVO	MODERADO	LEVE	BAJA	Fresco y cítrico
100Al	Alcánfor	100	MODERADO	MODERADO	LEVE	BAJA	Fresco y mentolado
75Li25Ca (3:1)	Litsea PYA3	75	SIGNIFICATIVO	SIGNIFICATIVO	LEVE	BAJA	Fresco y cítrico
	Cajeput	25					
75Li25Al (3:1)	Litsea PYA3	75	MODERADO	MODERADO	LEVE	BAJA	Fresco y cítrico
	Alcánfor	25					
60Li20Ca20Al (3:1:1)	Litsea PYA3	60	SIGNIFICATIVO	MODERADO	LEVE	BAJA	Fresco y cítrico
	Cajeput	20					
	Alcánfor	20					
60Ca40Al (1.5:1)	Cajeput	60	SIGNIFICATIVO	MODERADO	MODERADO	ALTA	Fresco, mentolado, canela-picante
	Alcánfor	40					
75Ca25Li (3:1)	Cajeput	75	SIGNIFICATIVO	SIGNIFICATIVO	SIGNIFICATIVO	ALTA	Fresco, mentolado, canela-picante
	Litsea PYA3	25					

Tabla 9.2 Evaluación cualitativa de la liberación del principio activo ante la abrasión mediante frote.

* Comparación respecto a la intensidad del aroma percibido en el ciclo de frote anterior (es decir 30 vs 20 y 60 vs 30).

** Comparación respecto al tejido tratado antes de ser frotado (es decir 20 vs 0)

9.2 RESULTADOS

La presentación de los resultados de este trabajo de fin de maestría son muy puntuales y se resumen a la evaluación por SEM de las diferentes muestras antes y después de ser sometidas a ensayos de durabilidad, la determinación de tamaño de las microcápsulas y lo más importante la efectividad de la capacidad de repelencia del textil funcional. A lo largo de esta sección se irá comentando brevemente a manera de descripción, dejando la discusión de los mismos para la sección 9.3.

9.2.1 ANÁLISIS DE SUPERFICIE POR MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE BARRIDO

A continuación se presenta una serie de microfotografías en las que se podrá ir apreciando la presencia de las microcápsulas, tamaño y morfología de las mismas antes y una vez incorporadas al tejido. Las imágenes 9.1, 9.2 y 9.3 muestran las microcápsulas de los tres aceites esenciales antes de ser incorporadas al textil a 4000X. En esta sección únicamente se presentan microfotografías de superficies no sometidas a abrasión alguna.

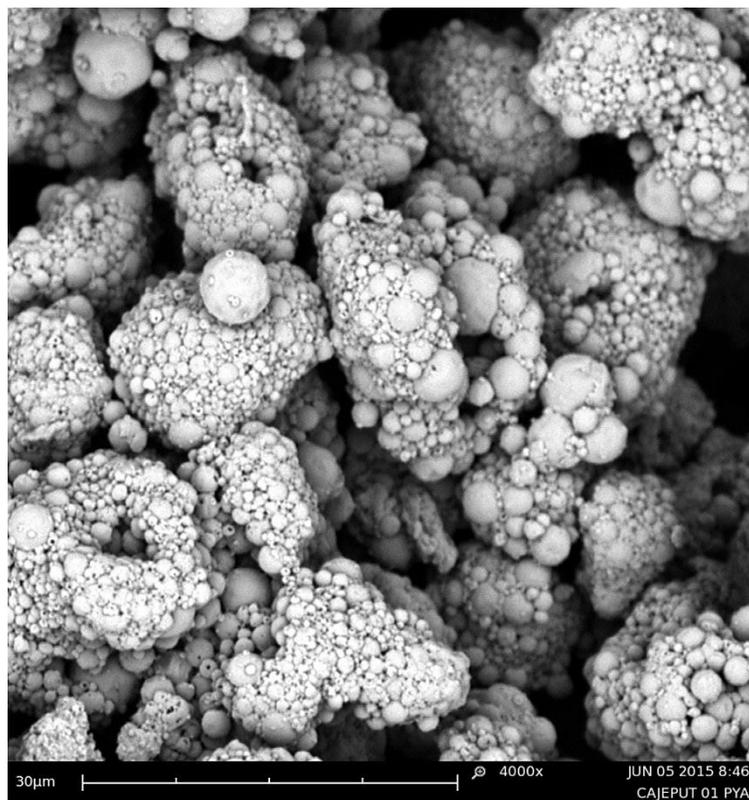


Imagen 9.1 Microcápsulas de cajeput en dispersión.



Imagen 9.2 Microcápsulas de litsea en dispersión.

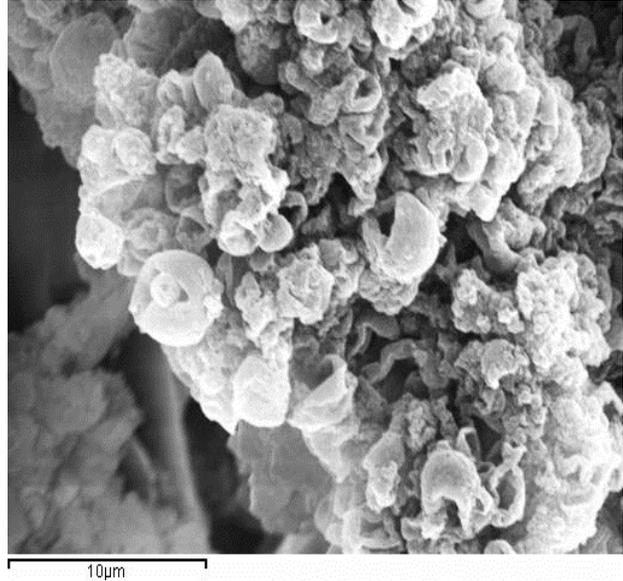


Imagen 9.3 Microcápsulas de alcánfor en dispersión.

A partir de la imagen 9.4 se muestran microfotografías del tejido funcional mediante la incorporación de las diferentes microcápsulas tanto principios activos como mezclados. Las imágenes 9.4, 9.5 y 9.6 muestran las microcápsulas de los tres aceites esenciales incorporadas al textil a 4000X.

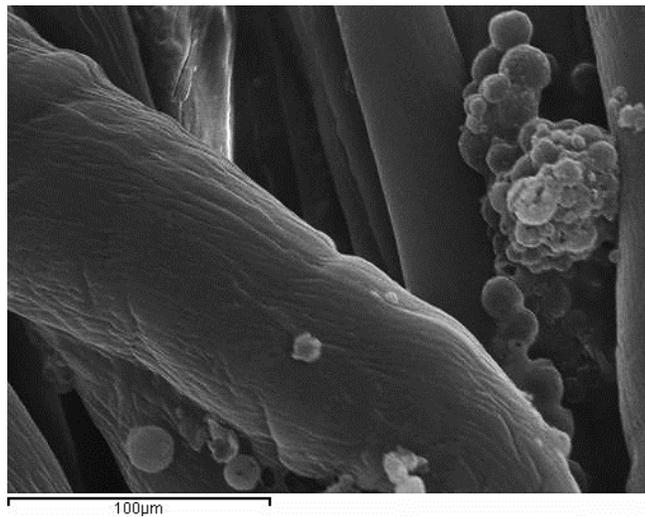


Imagen 9.4 Microcápsulas de cajeput incorporadas a tejido (4000X).

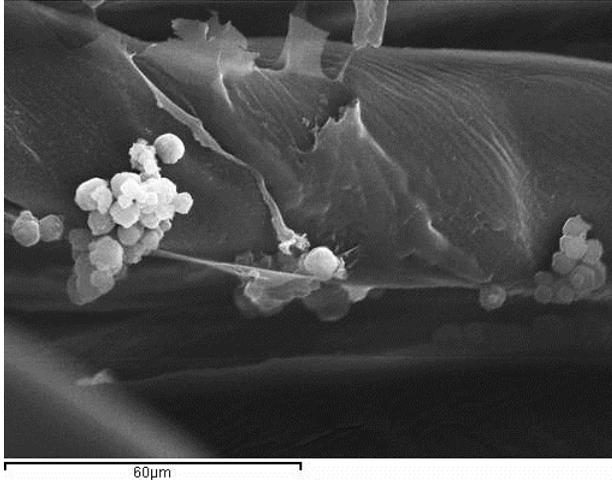


Imagen 9.5 Microcápsulas de litsea incorporadas a tejido (4000X).

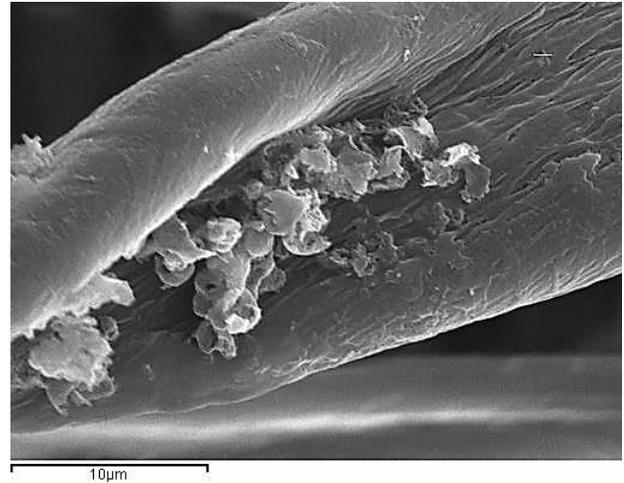


Imagen 9.6 Microcápsulas de alcánfor incorporadas a tejido (4000X).

Para tener una perspectiva más amplia de la distribución de las microcápsulas en el tejido, a continuación las microfotografías a 2000X para los tres aceites esenciales. Con esta magnificación podrá ponerse en perspectiva la riqueza de microcápsulas en el tejido (Imágenes 9.7, 9.8 y 9.9).

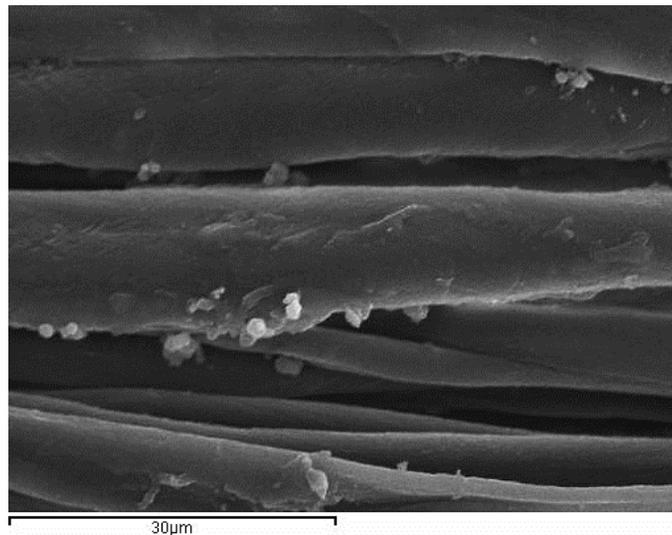


Imagen 9.7 Microcápsulas de cajeput incorporadas a textil (2000X).

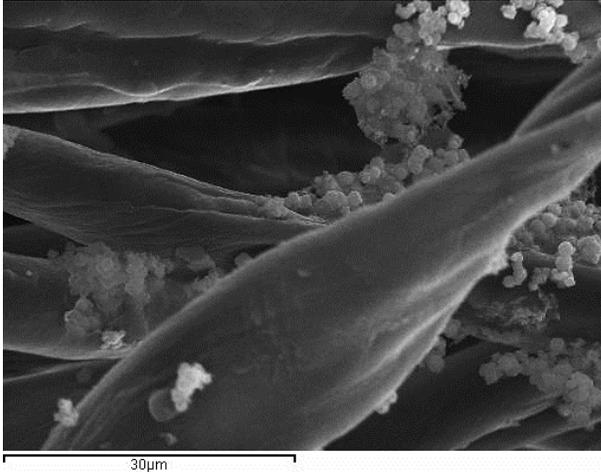


Imagen 9.8 Microcápsulas de litsea incorporadas a tejido (2000X).

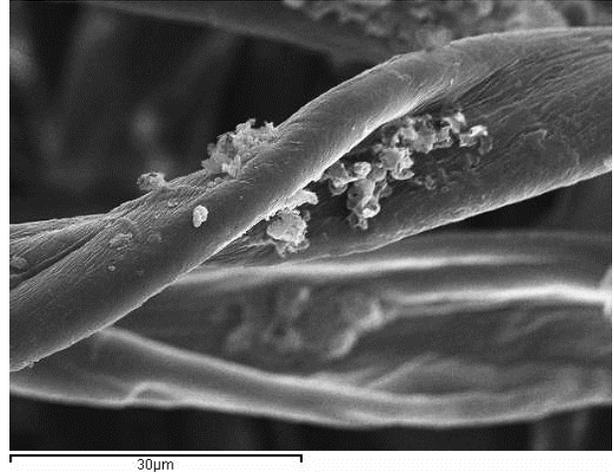


Imagen 9.9 Microcápsulas de alcánfor incorporadas a tejido (2000X).

Antes de iniciar con la impregnación de tejidos, fueron analizadas las microfotografías de las microcápsulas en dispersión, ahí se identificó que ameritaba hacer mezclas en las que tanto cajeput como litsea estuvieran en mayor proporción debido a las siguientes 3 razones:

- 1) Según el análisis del estado del arte, *litsea cubeba* y *melaleuca leucadendron* (cajeput) presentaban mayor efectividad como componentes individuales y mezclados (Tabla 2.2) [5].
- 2) Se observó que el rendimiento en la formación de microcápsulas era menor en el alcánfor respecto a los otros dos aceites.
- 3) Alcánfor y Cajeput comparten 2 de sus 3 constituyentes mayoritarios (Tabla 8.1 y 8.3).

Ahora, se presentan las microfotografías de tejidos funcionales con mezclas de microcápsulas, cuya nomenclatura es 75Li25Ca, 75Li25Al, 60Li20Ca20Al, 60Ca40Al y 75Ca25Li.

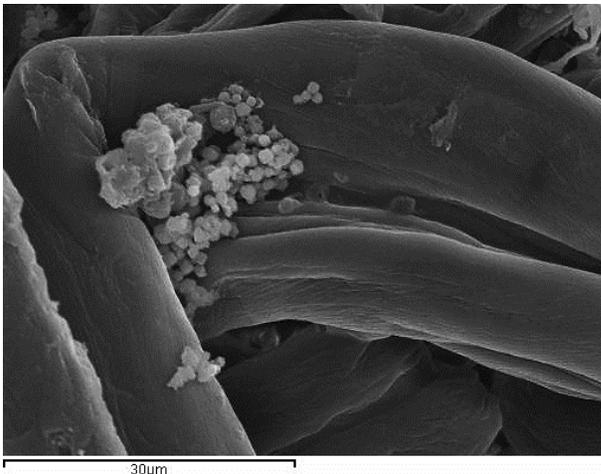


Imagen 9.10 Microcápsulas de 75Li25Ca (2000X).

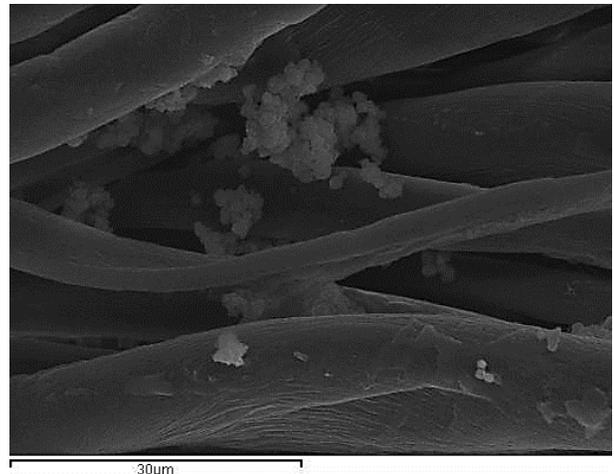


Imagen 9.11 Microcápsulas de 75Li25Al (2000X).

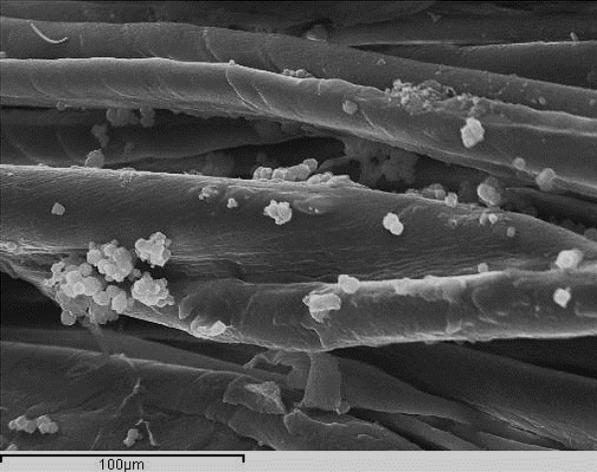


Imagen 9.12 Microcápsulas de $60\text{Li}20\text{Ca}20\text{Al}$ (2000X).

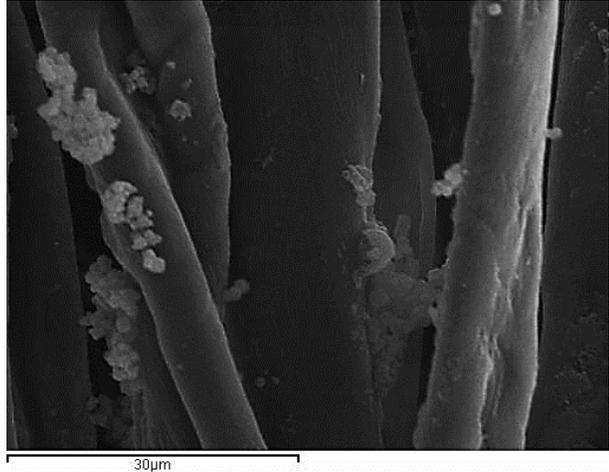


Imagen 9.13 Microcápsulas de $60\text{Ca}40\text{Al}$ (2000X).

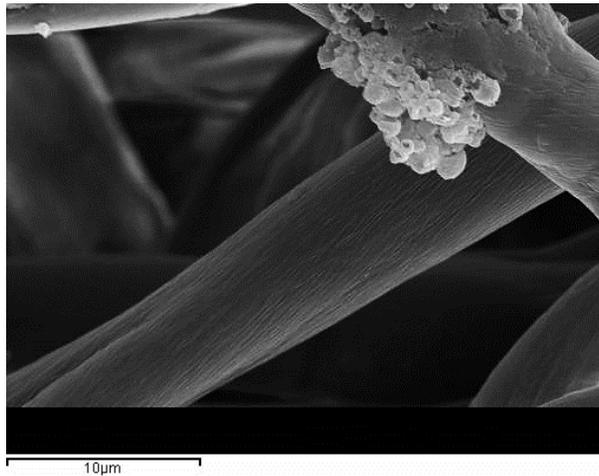


Imagen 9.14 Microcápsulas de $75\text{Ca}25\text{Li}$ (2000X).

9.2.2 DURABILIDAD: SOLIDEZ AL LAVADO Y FROTE

A continuación se presenta una serie de microfotografías en las que se verá la presencia de las microcápsulas, tamaño y morfología de las mismas después de someter el tejido a la abrasión de lavado y frote. Las imágenes 9.15, 9.16 y 9.17 son las microfotografías correspondientes a microcápsulas compuestas únicamente por un principio activo, después de un ciclo de lavado bajo el protocolo descrito en el capítulo 8.

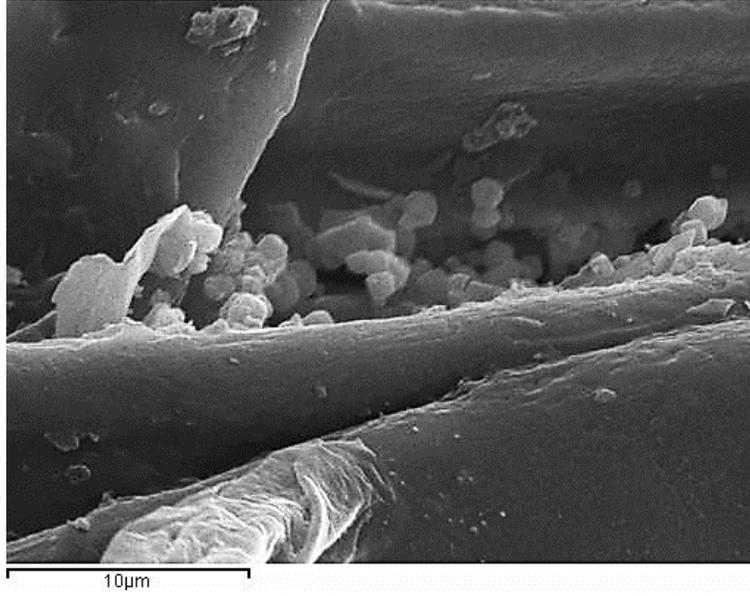


Imagen 9.15 Microcápsulas de cajeput posterior a 1 ciclo de lavado (4000X)

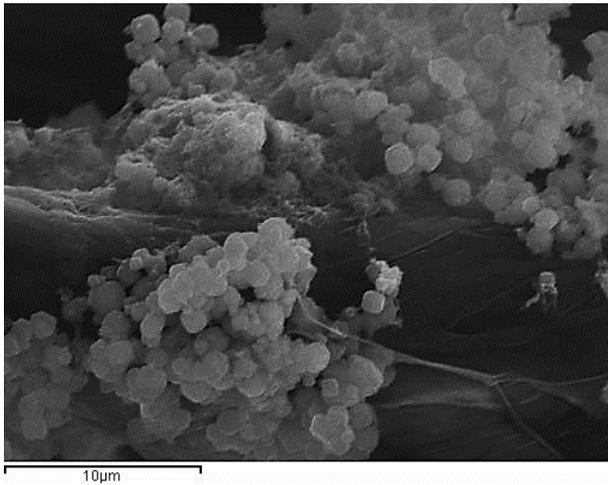


Imagen 9.16 Microcápsulas de litsea posterior a 1 ciclo de lavado (4000X).

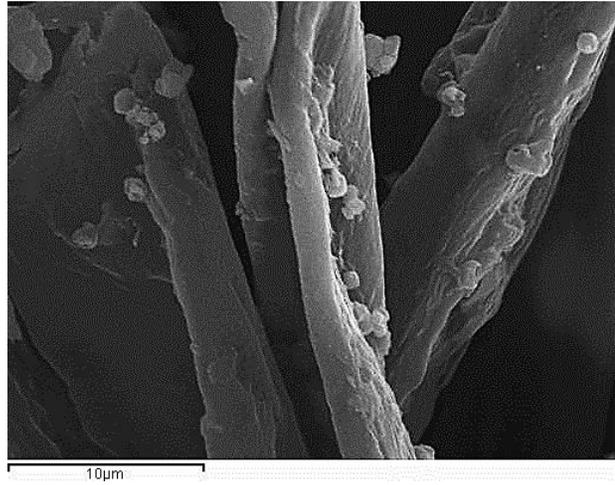


Imagen 9.17 Microcápsulas de alcanfor posterior a 1 ciclo de lavado (4000X).

A continuación las mezclas 75Li25Ca, 75Li25Al, 60Li20Ca20Al y 60Ca40Al, posterior a 1 ciclo de lavado a 4000X.

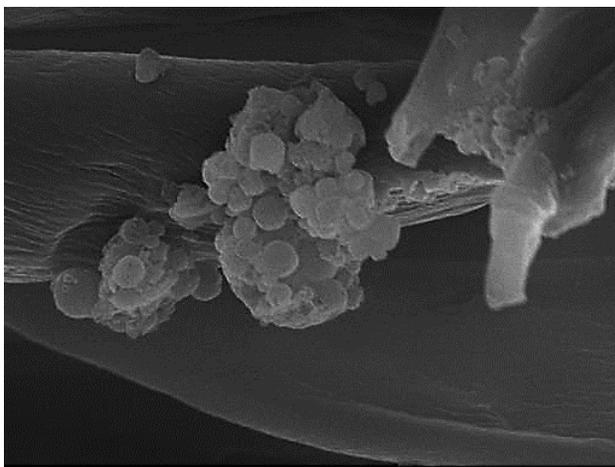


Imagen 9.18 Microcápsulas de $75\text{Li}25\text{Ca}$ posterior a 1 ciclo de lavado (4000X).

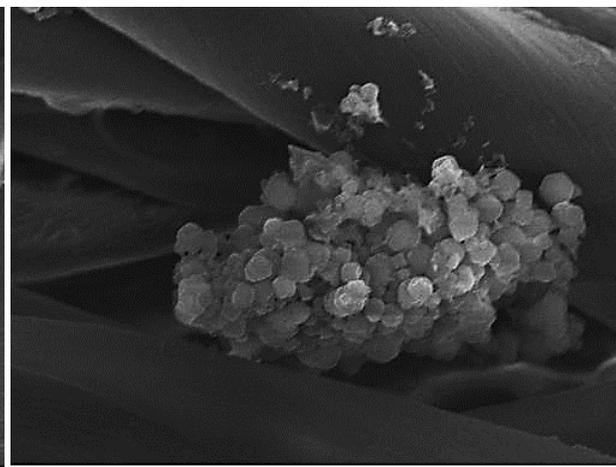


Imagen 9.19 Microcápsulas de $75\text{Li}25\text{Al}$ posterior a 1 ciclo de lavado (4000X).

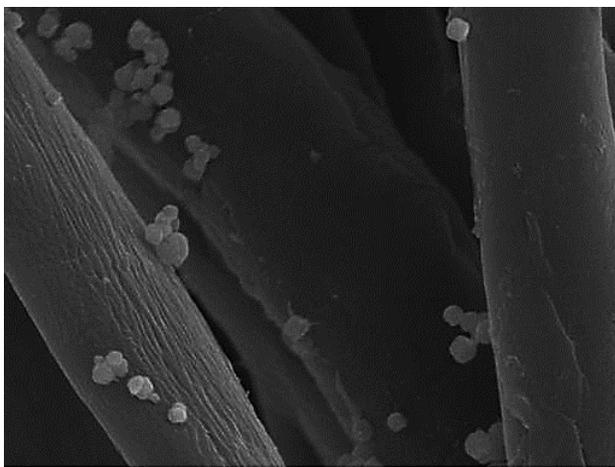


Imagen 9.20 Microcápsulas de $60\text{Ca}40\text{Al}$ posterior a 1 ciclo de lavado (4000X).

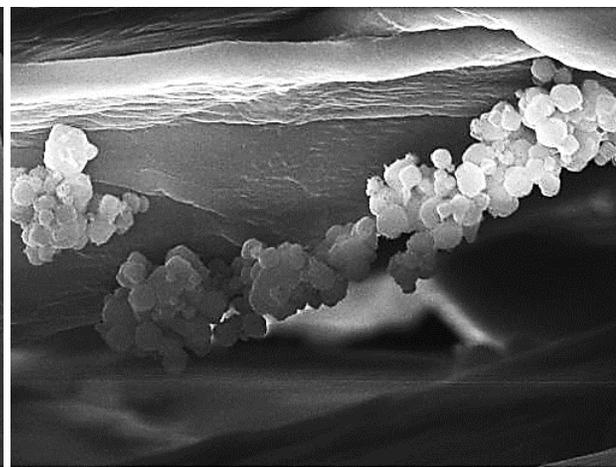


Imagen 9.21 Microcápsulas $60\text{Li}20\text{Ca}20\text{Al}$ posterior a 1 ciclo de lavado (4000X).

Las imágenes 9.22, 9.23 y 9.24 son microfotografías de las microcápsulas de cajeput 100%, posterior al ensayo de frote en seco sentido urdimbre 10 ciclos (20 frotos) a 4000X, 2000X y 1000X.

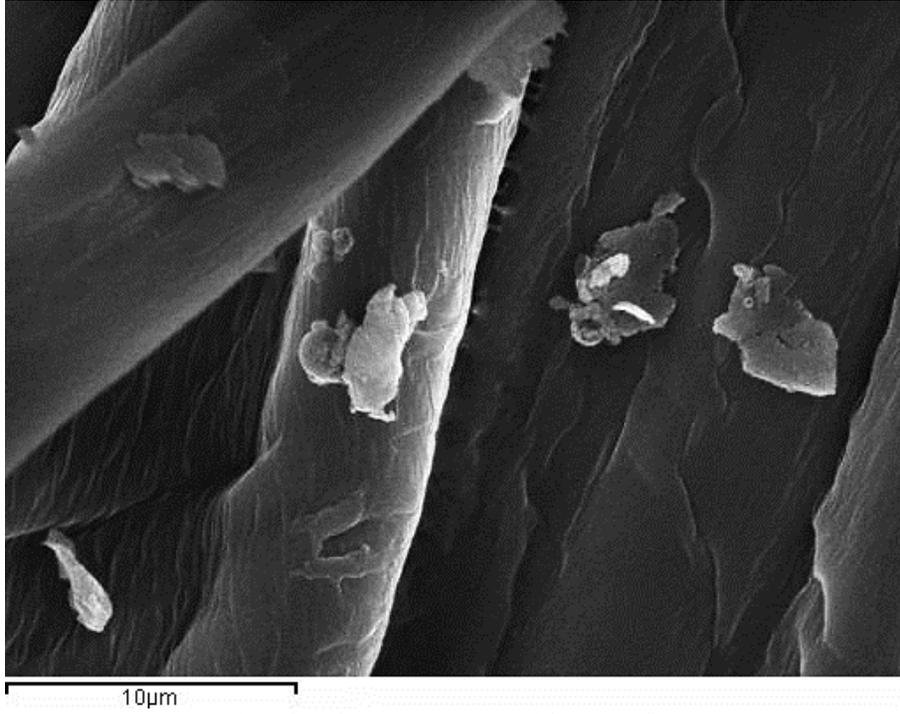


Imagen 9.22 Microcápsulas de cajeput sometidas a 20 frotos en seco (4000X).

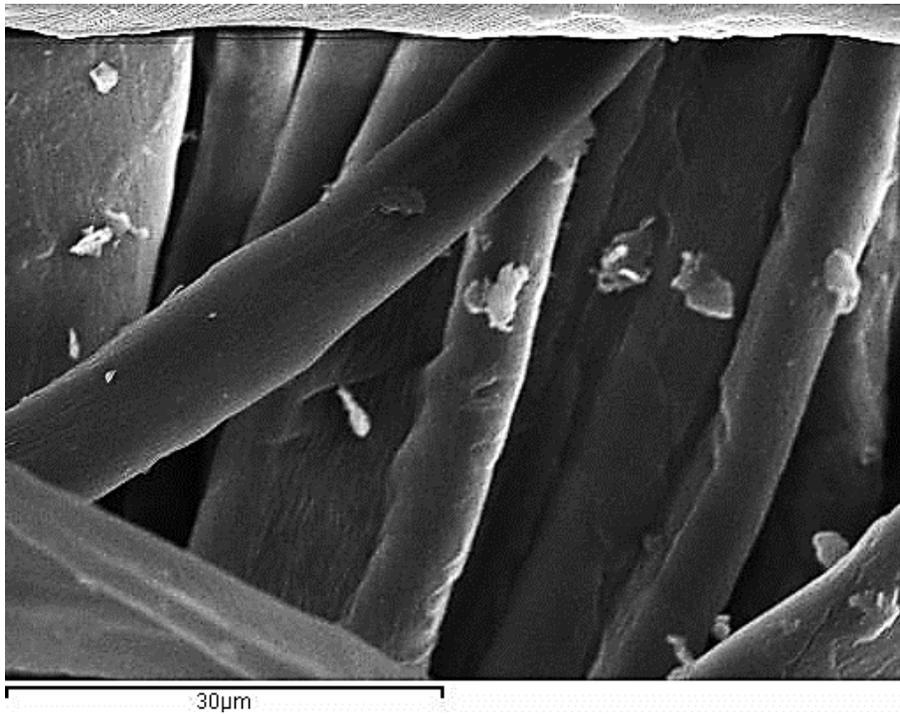


Imagen 9.23 Microcápsulas de cajeput sometidas a 20 frotos en seco (2000X).

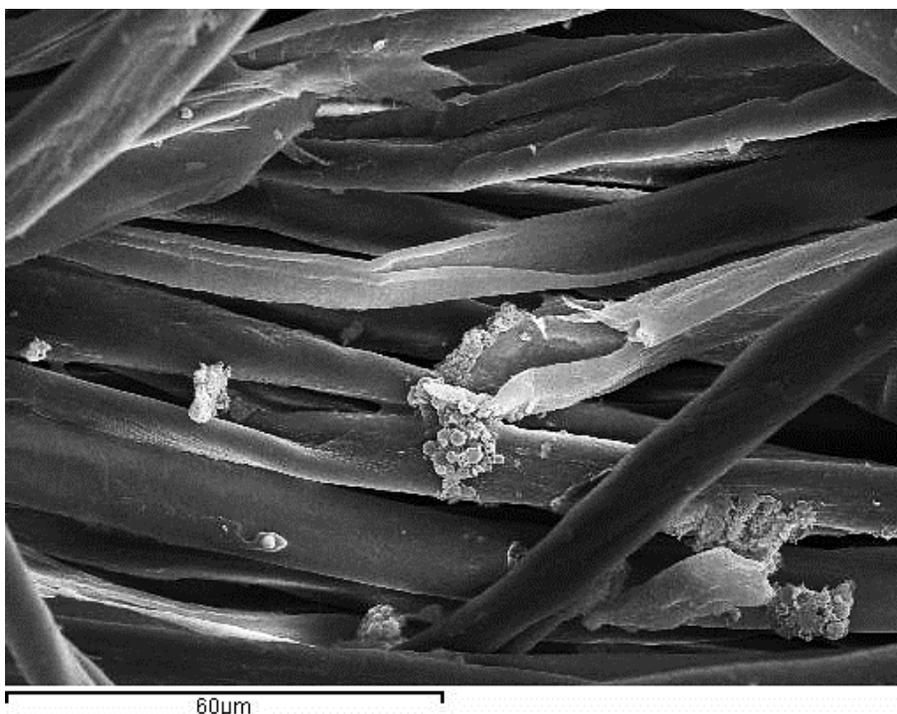


Imagen 9.24 Microcápsulas de cajeput sometidas a 20 frotos en seco (1000X).

9.2.3 EFECTIVIDAD DE LA CAPACIDAD DE REPELENCIA

El resultado que se reporta a continuación es la efectividad de la repelencia del textil funcional y está representada como *% Repelencia*, esta a su vez fue medida como un *% Repelencia Directa (%R_d)* y *% Repelencia Indirecta (%R_i)* o en inglés *% Intrinsic Repellency* y *% Surrounding Repellency*, cuyo resultado final es producto del valor acumulado de proveniente de las mediciones en 3 réplicas.

Además, es importante mencionar que la zona objetivo (*o target*) evaluada para reportar cada indicador es el textil funcional para *%R_d* y la piel del ratón que está colocado sobre una superficie del textil funcional para *%R_i*, en ambos casos se compara respecto a un blanco negativo que es una superficie de textil no tratada. La fórmula es la siguiente, siendo C las observaciones con el textil no tratado (control negativo) y T las observaciones con el textil tratado (ver detalles del protocolo en sección 8.7).

$$\%R = \frac{(C - T) \times 100}{C}$$

La probeta que fue sometida al ensayo de repelencia fue 75Ca25Li (sin haber sido previamente lavado) y las tablas 9.3 y 9.4 presentan los resultados para *%R_d* y *%R_i* respectivamente:

MUESTRA	Réplica 1	Réplica 2	Réplica 3	Total
No Tratada	52	48	46	146
Tratada 75Ca25Li	4	3	2	9
Resultado Final % R_d				93.8%

Tabla 9.3 Actividad Repelencia Directa % R_d en textil funcional 75Ca25Li.

MUESTRA	Réplica 1	Réplica 2	Réplica 3	Total
No Tratada	105	117	109	331
Tratada 75Ca25Li	62	48	53	163
Resultado Final % R_i				50.8%

Tabla 9.4 Actividad Repelencia Indirecta % R_i en textil funcional 75Ca25Li.

A partir de los resultados anteriores, es posible calcular el % de aterrizajes (%L) sobre las superficies estudiadas. La diferencia entre %R y %L es que el primero hace la comparación entre los aterrizajes que tienen contacto con las superficies tratada y no tratada sin relacionarlo directamente con el tamaño de la colonia; el segundo en cambio relaciona el número de aterrizajes sobre una superficie versus el tamaño de la colonia dentro de la cabina. Siendo L el número de aterrizajes, por tanto:

$$\%L = \frac{L \times 100}{\text{tamaño de la colonia}}$$

MUESTRA	Réplica 1	Réplica 2	Réplica 3	Total
Tamaño de la colonia	50 +/- 5	50 +/- 5	50 +/- 5	150 +/- 15
Tratada 75Ca25Li	4	3	2	9
Resultado Final % L_d				6 +/- 0.65%

Tabla 9.5 Aterrizajes directos % L_d sobre textil funcional 75Ca25Li.

Acá, es fundamental aclarar que lo que %L relaciona no son número de mosquitos que aterrizan sino más bien número de aterrizajes, lo cual lo convierte en número de eventos; ya que la probabilidad que los 50 +/- 5 mosquitos dentro de la cabina aterricen en la superficie es indeterminada (o n veces). Por ejemplo; para la réplica 1 conviene decir que hubo 4 aterrizajes y no decir que fueron 4 los mosquitos que aterrizaron, asegurar esta última aseveración es estadísticamente incorrecta debido a que así como pudieron ser 4 mosquitos diferentes los que aterrizaron una vez cada uno también pudo ser 1 solo mosquito el que aterrizó 4 veces y generando que el numerador en la fórmula permaneciera en 4; en cambio, la primera aseveración equivale a decir que una cantidad desconocida de mosquitos aterrizaron en la superficie generando 4 aterrizajes en total, lo cual es estadísticamente correcto.

Una vez hecha esta aclaración, ahora conviene calcular el valor de %L; para ello hay que considerar que el tamaño de la colonia para cada réplica fue de 50 +/- 5 mosquitos dentro de la cabina, se conoce el rango probable pero no el número real de mosquitos dentro de ese rango que entraron a la cabina; el número de aterrizajes (4, 3 y 2) en cambio ya tiene implícita esa incertidumbre. Por tanto, al calcular %L debe aplicarse esa incertidumbre expresada como un intervalo de confianza, dicho resultado se refleja la tabla 9.5, lo cual indica que para un tamaño de colonia de 50 +/- 5 mosquitos introducidos en la cabina se obtuvo un porcentaje de aterrizajes (% L_d) equivalente a 6% +/- 0.65%, es decir, [5.45%, 6.65%] como rango probable.

9.2.4 DETERMINACIÓN DE TAMAÑO DE MICROCÁPSULAS

La determinación de tamaño de las microcápsulas de una manera estadística se hace a través de la metodología planteada en la sección 8.5. Las microcápsulas en dispersión de los aceites de *cajeput* y *litsea* después de realizar sus respectivas diluciones se analizan.

En las microfotografías 9.22 y 9.23 también puede verse de manera muy general los tamaños en los que oscilan las microcápsulas caracterizadas, al menos para tener una idea muy general y como medida complementaria al contador de partículas pues en SEM se puede ver la uniformidad de tamaño y su distribución. De acuerdo a esto, se puede observar que la gran mayoría de microcápsulas tienen tamaños inferiores a 10 μm , incluso por debajo de 5 μm , como se muestra en las siguientes microfotografías en las que la escala permite determinar su tamaño.

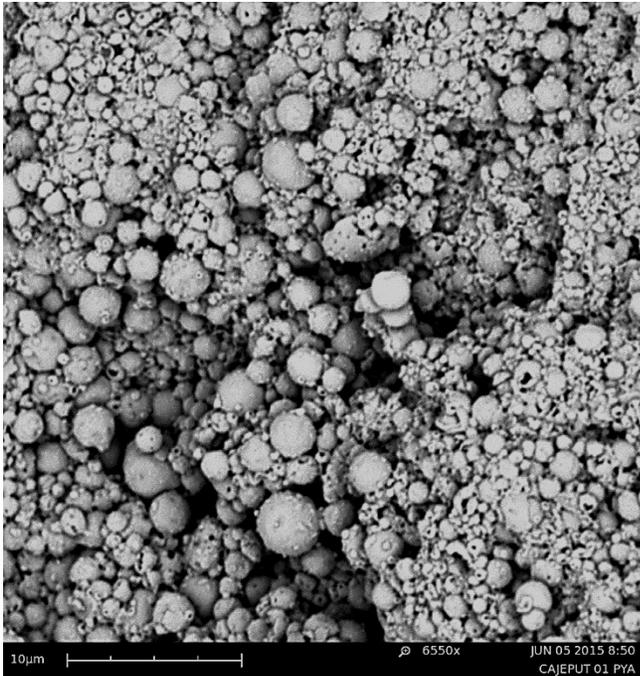


Imagen 9.25 Microcápsulas cajeput tamaño < 5 µm

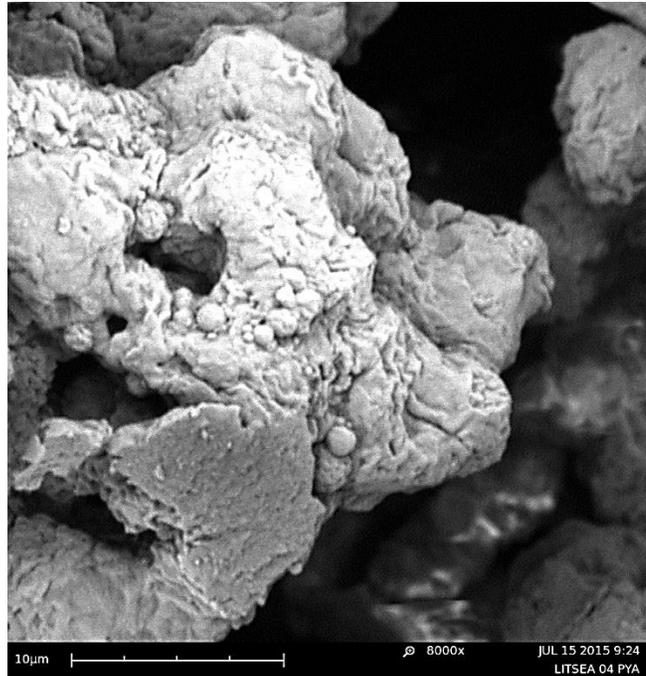


Imagen 9.26 Microcápsulas litsea tamaño < 5 µm

9.3 DISCUSIÓN DE RESULTADOS

En la tabla 9.1 se puede observar los diferentes niveles de impregnación obtenidos; existe una diferencia entre los *pick up* alcanzados entre los baños de litsea y cajeput por ejemplo, siendo el primero un nivel de impregnación superior al segundo; comportamiento que se confirma cuando se trabaja con sus respectivas mezclas, cuando litsea está en mayor proporción se tiene mayor *pick-up* que cuando es cajeput el que participa en mayor proporción. Si se pone esto en perspectiva, se puede explicar a partir del hecho que utilizando misma cantidad de resina, la cantidad de aceite que no formó parte de la emulsión quedó únicamente en dispersión y siendo litsea más insoluble en agua que el cajeput, el baño tenderá siempre a estar más enriquecido con cajeput que con litsea, lo cual facilitaría a este último el ser arrastrado con mayor facilidad hacia el tejido que el primero; lo mismo se puede inferir en las impregnaciones de sus mezclas.

La diferencia en el *pick up* obtenido en la mezcla 75Ca25Li se puede explicar a partir del hecho que se utilizó una menor cantidad de resina: 11 g/L en vez de 15 g/L; lo cual se hizo con el objetivo de preparar una segunda muestra para enviar al laboratorio certificado y que la resina no fuera impedimento para el rápido rompimiento de las microcápsulas por frote. Esto a su vez pone de manifiesto la marcada diferencia en las solubilidades de las esencias y en vista que cajeput es el que mejor rendimiento tuvo para la formación de microcápsulas su insolubilidad será significativamente mayor que las demás dispersiones.

A partir de la tabla 9.2 se puede observar como el aroma de cajeput con alcánfor son muy similares con la diferencia que en cajeput se percibe una ligera sensación picante, lo cual no está presente en el alcánfor que en cambio se percibe una ligera sensación mentolada. Litsea es un aroma completamente diferente a las otras dos esencias, su olor es fresco y cítrico.

Después de someter las muestras de tejido a 20 frotos de acuerdo a la norma de solideces, se percibe que el olor liberado para el litsea es muy intenso llegando a percibirse como penetrante, en cambio cajeput es de menor intensidad, siendo alcánfor el aroma más suave. Sin embargo, diferenciar la intensidad de olores entre las tres esencias no indica que pasen desapercibidas. Las tres esencias liberadas después de la primera prueba de frote marcan una clara diferencia respecto a sus respectivos tejidos antes de ser frotados, lo cual es un indicador cualitativo que el rompimiento de microcápsulas tuvo lugar.

Por otra parte, se continuó la prueba de frote hasta 15 y 30 ciclos respectivamente, y acá se observó que únicamente el Cajeput continuó liberándose de forma gradual y proporcional al tipo de abrasión recibida; litsea y alcánfor experimentaban cambios de menor intensidad conforme se incrementaba el número de frotos, lo cual es un indicador que la liberación estaría cesando, y por lo tanto una menor presencia de microcápsulas.

Además, se evaluó la intensidad de los aromas de esencias liberadas al acabar los 20 frotos y 10 minutos después de la prueba, acá se identificó que el aroma de Cajeput permanecía aún después del tiempo transcurrido, en cambio Litsea era una intensidad muy inferior si se comparaba con la evaluación recién frotada.

Por tanto, es Cajeput el que permanece en el tiempo a pesar que la intensidad de su aroma no es la mayor; Litsea en cambio, es una intensidad elevada al inicio pero cae con el paso del tiempo a mayor tasa que el Cajeput; el Alcánfor es baja intensidad de aroma y muy efímero ya que después de los 10 minutos su aroma era prácticamente imperceptible.

A partir de las microfotografías 9.1, 9.2 y 9.3 se puede observar una clara diferencia en el rendimiento en el proceso de encapsulación; se ha conseguido una formación de microcápsulas de cajeput en mayor cantidad y calidad, litsea en una segunda posición y el alcánfor el que menor rendimiento tuvo. La dificultad del proceso de encapsulación fue debido a la disparidad de sus solubilidades, la formulación utilizada en el proceso para el cajeput no podía replicarse para litsea y menos para el alcánfor.

No obstante, se observa una gran diferencia entre las microcápsulas de litsea impregnadas al tejido (9.5, 9.8) que al ser analizadas después de secarse y evaporar la fase líquida de la dispersión (imagen 9.2). Las microcápsulas de litsea incorporadas al tejido son de mejores características que al estar sueltas (o en

polvo), es posible que durante el proceso de secado se continúe formando polímero. Las microcápsulas de alcánfor tiene menores características tanto en polvo como incorporadas al tejido.

Valiéndose únicamente de las microfotografías, puede observarse una homogeneidad en torno al tamaño de las microcápsulas obtenidas. Para los 3 casos individuales así como sus respectivas mezclas, presentan tamaños inferiores a 5 μm . En las imágenes 9.10, 9.11, 9.12 y 9.13 correspondientes a las mezclas se confirma esta aseveración, no se observan diferencias grandes entre los tamaños de las mismas. Similar resultado reportan estudios previos utilizando la técnica de polimerización interfacial para la encapsulación [11] [23] u otros por coacervación [16].

Las microcápsulas tienen una apariencia suave en su pared exterior, lo cual es un indicador que la capa de polímero formada ha sido continua. También se observa que las microcápsulas de litsea incorporadas a la fibra forman aglomerados con mayor facilidad que las de cajeput, que parecen estar más sueltas y distribuidas.

La pared de las microcápsulas tiene una elevada fijeza, ya que no se observa que una vez incorporadas al tejido estas cambien su morfología respecto a la observada antes de ser aplicadas. De igual manera no se observan indicios que la presión durante el proceso de impregnación y las temperaturas de secado del tejido impregnado pudieran haber alterado la integridad de las microcápsulas, ya que no hay diferencias importantes entre las microfotografías anterior y posterior al tratamiento.

La cantidad de microcápsulas de litsea incorporadas al tejido es elevada, en las imágenes 9.8 y 9.15 se puede confirmar que los elevados niveles de *pick up* superiores al 85% se vieron reflejados en mayor cantidad de microcápsulas transferidas al tejido, lo cual no puede asegurarse con el cajeput en las imágenes 9.7 y 9.14 (Ver posible explicación en conclusiones).

Se observa que las microcápsulas después de 1 ciclo de lavado conservan su integridad, estas continúan alojadas y ancladas a la fibra y la cantidad sigue siendo similar a lo observado previo a ser sometido al protocolo de lavado. Se considera entonces que la cantidad de resina utilizada es óptima, le confiere fijeza a las microcápsulas y estas a su vez insolubles en agua favorecen que soporte la abrasión de un lavado suave.

Las imágenes 9.19, 9.20 y 9.21 correspondientes al ensayo de frote, pone de manifiesto que el rompimiento de la membrana es más susceptible a la abrasión por fricción que al lavado sucesivo; después de someterse a esta prueba la membrana de algunas microcápsulas se han roto; sin embargo aún se observan algunas otras cuya integridad se conserva; esto explica porqué el Cajeput continua liberando su aroma y percibiéndose igualmente intenso más allá de los 20 frotos.

No se observa en las microfotografías excesos de ligante, los tejidos no cambian su textura posterior a la impregnación ni al fijado.

Se puede inferir que el Cajeput es más duradero que los demás no necesariamente porque su olor sea intenso por naturaleza, sino más bien, porque ha formado mayor cantidad de microcápsulas y por tanto deja una mayor concentración que termina enriqueciendo su fase vapor una vez se libera. Esto es así, debido a que con el alcánfor se observa todo lo contrario, a pesar que comparte 2 de los mayores constituyentes en su composición química con el cajeput, su efecto es menor y efímero, debido a que tiene pocas microcápsulas y el poco principio activo que pudo alojarse no tiene las propiedades aromáticas lo suficientemente potentes para que este sea duradero y estable en su fase vapor. Por tanto lo que explica las elevadas características del cajeput es la concentración que este gana en su fase vapor producto de un buen rendimiento en la encapsulación e incluso podría tener algunos constituyentes menores en su composición química que favorezcan su estabilidad.

El tejido funcional desarrollado es útil, sus características de repelencia son elevadas ($R_d = 93.8\%$) en un período de 60 minutos y su efecto potencialmente se prolongaría más allá de este período de exposición (el cual es estándar y dictado por el protocolo) si se toma en cuenta que termina su exposición con un nivel superior a 90% lo cual es considerado elevado.

La actividad repelente superior a 90% cobra especial relevancia si se considera que el ensayo ha consistido en concentrar 50 mosquitos en un espacio de 0.125 m^3 y evaluar la actividad repelente de una superficie de textil de $10 \text{ cm} \times 10 \text{ cm}$, las cuales son condiciones muy estrictas pues lo convierte en un escenario diseñado para elevar la probabilidad de aterrizajes; pues concentra una alta población de mosquitos, en un espacio reducido, durante un tiempo prolongado y una superficie de tejido pequeña.

Bastaron solo algunos frotos manuales de menor intensidad sobre el tejido durante 10 segundos previos al ensayo para activar la liberación de los principios activos.

No se observó comportamiento de aletargamiento en los mosquitos sometidos a la exposición posterior al ensayo, lo cual indica que la mezcla de aceites esenciales estudiada no tiene propiedades biocidas.

Observar que en algunas ocasiones el número de aterrizajes es superior a la cantidad de mosquitos, lo cual representa que lo que la aleatoriedad del ensayo evalúa es el número de veces que un evento determinado ocurre y no la cantidad de mosquitos implicados en el evento.

CAPÍTULO 10: CONCLUSIONES Y LÍNEAS FUTURAS DE TRABAJO

10.1 CONCLUSIONES

Al desarrollar el presente estudio, se pueden establecer las siguientes conclusiones:

- Las esencias de aceites esenciales de *Melaleuca leucadendron* (cajeput), *Litsea cubeba* (litsea) y *Cinnamomum camphora* (Alcánfor) pueden ser encapsulados a través de polimerización interfacial; a los cuales debe darse un tratamiento muy diferente al desarrollar las formulaciones y proporciones aceite esencial, tensoactivo y monómeros.
- La membrana formada por poliurea mediante polimerización interfacial constituye una barrera adecuada para el alojamiento y liberación gradual del principio activo, según lo establece los resultados por frote y la durabilidad del efecto repelente a la exposición prolongada (ver sección 9.2.3).
- La persistencia del principio activo liberado por rompimiento de membrana está muy relacionado con el contenido de aceite esencial que ha sido encapsulado y con el rendimiento conseguido en el proceso de encapsulación. Así, el cajeput cuyo aroma no es por naturaleza el más intenso de los 3 estudiados presentaba una mayor persistencia en el tiempo que litsea, cuya intensidad inicial era alta, pero su persistencia baja.
- Una elevada presencia de microcápsulas en dispersión no garantiza necesariamente una elevada transferencia de estas al tejido durante el proceso de impregnación. Para ello, resulta necesario usar la cantidad óptima de ligante que asegure que el enriquecimiento de microcápsulas en el baño sea transferido en igual proporción hacia el sustrato. Así, un elevado contenido de microcápsulas de cajeput en dispersión no representaba necesariamente elevados niveles de impregnación (pick up) si no va acompañado de una cantidad importante de resina que permita compense la tendencia de las microcápsulas a permanecer en dispersión.
- Podría inferirse que una parte de las microcápsulas formadas para litsea, tenían un bajo contenido de principio activo respecto al polímero de la membrana; esto debido a que a pesar de haber formado microcápsulas, se observa que su persistencia es menor y podría ser una de las razones por las que aún se observaban gotas de aceite esencial flotando en la dispersión. Esto puede verse reforzado por el hecho que al ser más insoluble que el cajeput, el aceite no encapsulado pudiese ser arrastrado por el tejido con mayor facilidad obteniendo elevados niveles de impregnación para el principio activo y sus mezclas cuando este estaba en mayor proporción.

- Los bajos rendimientos en la encapsulación de alcánfor puede deberse a una baja carga de aceite esencial respecto a la cantidad de polímero; que es lo mismo a tener este último en exceso. Al ser el alcánfor el aceite más insoluble de los 3 empleados y teniendo en cuenta que la reacción de polimerización tiene lugar en la interfase, debería facilitar la encapsulación, lo cual no ocurrió. Esta conjetura se ve reforzada por el hecho que en las microfotografías se observa un exceso de polímero.
- A diferencia del alcánfor, la encapsulación de litsea tuvo medianos rendimientos (al ver las microfotografías) a pesar de ser más soluble; en este caso la mejora del rendimiento podría verse favorecida por una óptima proporción de surfactante (o tensoactivo), ya que aún se observaban agregados como una de las fases del coloide que era aceite sin encapsular; lo cual no se observó en Cajeput que era más soluble que los otros dos aceites en estudio.
- La temperatura de 99 – 102 °C utilizadas en el rame para secar el tejido posterior a la impregnación no afectó la integridad de las microcápsulas.
- La abrasión por frote es más agresiva que la abrasión el lavado sucesivo; sin embargo, la fijeza de las microcápsulas por efecto del ligante así como también la correcta formación de la membrana de poliurea son variables que permiten que a pesar de la abrasión, aún queden microcápsulas sin verse alteradas como pudo comprobarse a través de la prueba de lavado; lo cual se ve favorecido por el hecho que las microcápsulas obtenidas son de menores tamaños.
- La metodología presentada a lo largo del estudio para obtener textiles funcionales con actividad repelente podría constituir una opción viable, de bajo costo, fácilmente reproducible, relativamente poca inversión con miras a ser implementado en países en vías de desarrollo.
- Una elevada actividad repelente realizada con el vector *Aedes aegypti*, permitiría inferir que también sería efectiva ante el *Aedes albopictus* debido a que estudios indican que este último es una especie más susceptible a los efectos repelentes que el primero [21].
- La investigación previa de las propiedades fisicoquímicas de los principios activos a ser encapsulados es fundamental, ya que ha quedado demostrado que dentro del espectro de insolubilidad acuosa hay todavía diferencias importantes entre las sustancias que deben ser tomadas en cuenta, pues limitan la aplicabilidad de la técnica de polimerización interfacial condicionando su rendimiento en la obtención de microcápsulas.

- El efecto repelente de los principios activos sobre su alrededor (un perímetro de 5 cm) es mejorable en la medida que el rendimiento alcanzado en el proceso de obtención de microcápsulas se maximice, lo cual según las microfotografías todavía es posible. La incorporación de agentes fijadores en la formula también podrían estabilizar la liberación del principio activo alojado así como incrementar la concentración de las esencias en el núcleo.
- Alcanzar un nivel de repelencia superior al 90% en 60 minutos es un indicador que la actividad repelente de las esencias *cajeput* y *litsea* ha sido estable, es decir, el cambio o tasa de caída de su actividad repelente respecto al tiempo ha sido muy baja (menor a 7%), asumiendo que estadísticamente se parte de un valor de repelencia absoluta en el tiempo cero. Lo cual equivale a decir, que la mezcla de principios activos ha sido estable.
- Los aceites esenciales en estudio constituirían una potencial alternativa con propiedades comparables a principios activos sintéticos como ha sido reportado otros estudios [11] [15] [18] [20] en cuanto a su actividad de repelencia, no así para fines biocidas.
- Estos hallazgos constituyen un aporte a la ya ampliamente estudiada línea de investigación que explora principios activos de origen natural y su factibilidad para funcionalización de materiales.
- Las colonias de mosquitos de campo podrían tener como respuesta diferentes niveles de susceptibilidades a los observados cuando se evalúa la respuesta de colonias de laboratorio. Es un factor determinante a considerar en vista que estos mosquitos están continuamente adoptándose a los cambios del entorno en las diferentes latitudes. Por tanto, los hallazgos de este estudio son orientativos y la confirmación para efectos clínicos deberá estar dada por la ejecución de un ensayo en campo.
- La actividad repelente no debe explicarse únicamente a partir de la planta de la cual los aceites han sido extraídos, sino más bien de los constituyentes mayoritarios presentes en su composición química, ya que son estos los que le confieren al extracto su actividad biológica. Por tanto, *1,8 Cineol*, *Limoneno*, *Citral (neral y geranial)* y *α -Terpineol* son los terpenos responsables de las propiedades de repulsión que presentan los extractos de *Melaleuca leucadendron* y *Litsea cubeba* como mezcla.

10.2 POSIBLES LÍNEAS FUTURAS DE TRABAJO

El presente estudio abre la posibilidad de otros en un futuro, sean nuevos o complementarios de este; entre los que podrían mencionarse:

- Al margen del presente estudio quedó la determinación de la cantidad neta de aceite esencial incorporada al sustrato, lo cual debe ponerse en perspectiva en términos de cumplimiento y normativa. Por lo que resultaría importante cuantificar mediante técnicas instrumentales la cantidad de aceite esencial por unidad de superficie que ha sido incorporada y verificar si está dentro de los límites de toxicidad considerados aceptables por la Organización Mundial de la Salud para las sustancias persistentes a los que las personas pueden verse expuestas directamente.
- Buscar aceites esenciales cuyas propiedades fisicoquímicas permitan ser encapsulados como una sola mezcla en fase líquida y estudiar el efecto sinérgico desde esta perspectiva tanto para actividad repelente como actividad biocida, incorporadas a sustratos textiles. Esto en contraste con lo realizado en este estudio cuya mezcla ocurrió en fase vapor cuando los distintos principios eran liberados de forma individual.
- Explorar métodos alternativos de incorporación de microcápsulas a textiles, como la incorporación de estas directamente a las fibras durante el proceso de hilatura para conseguir hilos funcionales que puedan dar lugar a tejidos con un enriquecimiento mayor a la impregnación por foulard como proceso de acabado.
- Comparar a través de un ensayo real la actividad repelente de estos aceites esenciales con la de otros principios activos sintéticos encapsulados y determinar la viabilidad que lo primeros se puedan convertirse en opción viable y poder ser considerados como posibles sustitutos.
- Estudiar la actividad repelente de los extractos de *Melaleuca leucadendron* y *Litsea cubeba* ante otros vectores invasivos tales como el *Anopheles stephensi*, *Culex quinquefasciatus*, *Anopheles dirus*, *Armigeres subalbatus* o *Anopheles subpictus*.
- Conseguir la encapsulación de estos aceites esenciales mediante otras técnicas como la coacervación, como alternativas para obtener microcápsulas en un mayor rendimiento, durables y núcleos de elevadas concentraciones.
- Evaluar la efectividad de la actividad repelente mediante otros protocolos sugeridos por la Organización Mundial de la Salud, tales como el *Arm-in cage*, *Tunel test* o *de Cono* (sección 8.7).

- Evaluar la efectividad de la actividad repelente del sustrato posterior a los lavados sucesivos y determinar su durabilidad ante este tipo de efectos abrasivos.
- Explorar otras formas de aplicación como la incorporación de principios activos mediante recubrimientos, plastificantes o tintas que alarguen la durabilidad e incrementen la incorporación de principio activo, esto con el objetivo de ampliar la funcionalización de materiales a mallas, textil hogar, carpas, tapicería, u otros sustratos expuestos a condiciones exteriores.
- Explorar la factibilidad de incorporar microcápsulas de aceites esenciales a sustratos como películas flexibles, plástico rígido o semirígido como una alternativa para contrarrestar otras plagas. Los cuales ofrecen la versatilidad de tener procesos de manufactura en gran volumen y bajo costo.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] N. Gordon. Application of microencapsulation in textiles. Fluid technologies Plc. United Kingdom. International Journal of Pharmaceutics 242 (2002) 55-62.
- [2] Y. Yang, T. Lee, H. Lee, D. Lee, Y. Ahn. Repellency of aromatic medicinal plant extracts and a steam distillate to *Aedes aegypti*. Department of Advanced Organic Materials Engineering and Faculty of Biotechnology, Chonbuk National University; School of Agricultural Biotechnology, Seoul National University; Department of Biological Sciences, Kosin University, Republic of Korea. Journal of the American mosquito control association (2004) 146-149.
- [3] S. Ravi, K. Bhavani, P. Sita, B. Rajeswara, K. Janardhan. Composition and larvicidal activity of leaves and stem essential oils of *Chloroxylon swietenia DC* against *Aedes aegypti* and *Anopheles stephensi*. Department of botany, Osmania University; Analytical chemistry division, Indian Institute of Chemical Technology; Scientist in-charge, Central Institute of medicinal and aromatic plants. India. Bioresource Technology 97 (2005) 2481-2484.
- [4] P. Yang, Y. Ma. Repellent effect of plant essential oils against *Aedes albopictus*. Department of etiologic biology, College of Basic Medical Sciences-Second Military Medical University. China. Journal of Vector Ecology 30 (2) (2005) 231-234.
- [5] A. Amer, H. Mehlhorn. Repellency effect of forty-one essential oils against *Aedes*, *Anopheles* and *Culex* mosquitoes. Omar Al Mukhtar University, Lybia. Department of Zoology, Cell biology and Parasitology at Heinrich Heine University, Germany. Springer-Verlag Parasitol Res 99 (2006) 478-490.
- [6] T. Maji, I. Baruah, S. Dube, M. Hussain. Microencapsulation of *Zanthoxylum limonella* oil (ZLO) in glutaraldehyde crosslinked gelatin for mosquito repellent application. Department of Chemical Sciences; Defense Research Laboratory. India. Bioresource Technology 98 (2007) 840-844.
- [7] A. Tawatsin, P. Asavadachanukorn, U. Thavara, P. Wongsinkongman, J. Bansidhi, T. Boonruad, P. Chavalittumrong, N. Soonthornchareonnon, N. Komalamisra, M. Mulla. National Institute of Health, Department of Medical Sciences, Ministry of Public Health, Nonthaburi and Department of Statistics, Faculty of Commerce and Accountancy, Chulalongkorn University; Medicinal Plant Research Institute, Department of Medical Sciences, Faculty of Tropical Medicine, Faculty of Medical Entomology, Ministry of Public Health, Department of Pharmacognosy, Faculty of Pharmacy, Mahidol University, Thailand. Department of Entomology, University of California, USA. Southeast Asian J Trop Med Public Health Vol. 37 No. 5 (2006) 915-931.
- [8] F. Bakkali, S. Averbeck, D. Averbeck, M. Idaomar. Biological effects of essential oils-A review. Institute Curie Section de Recherche, France. Université Abdelmalek Essiadi, Faculté des Sciences, Laboratoire de Biologie, Morocco. Food and Chemical Toxicology 46 (2007) 446-475.
- [9] W. Choochote, U. Chaithong, K. Kampsuk, A. Jitpakdi, P. Tippawangkosol, B. Tuetun, D. Champakaew, B. Pitasawat. Repellent activity of selected essential oils against *Aedes aegypti*. Department of Parasitology, Faculty of Medicine, Chiang Mai University, Thailand. Fisioterapia 78 (2007) 359-364.
- [10] Y. Gillij, R. Gleiser, J. Zygadlo. Mosquito repellent activity of essential oils of aromatic plants growing in Argentina. Centro de Relevamiento y Evaluación de Recursos Agrícolas y Naturales (CREAN), Facultad de Ciencias Agropecuarias; Cátedra de Química Orgánica, Facultad de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. Bioresource Technology 99 (2008) 2507-2515.
- [11] R. Cortes. Estudio comparativo de acabados antimosquitos con microencapsulados. Departamento de Ingeniería Textil y Papelera. Universidad Politécnica de Valencia. Spain (2008).
- [12] U. Sakulku, O. Nuchuchua, N. Uawongyart, S. Puttipipatkachorn, A. Soottitantawat, U. Ruktanonchai. Characterization and mosquito repellent activity of citronella oil nanoemulsion. National Nanotechnology Center, National Science and Technology Development Agency; Traditional Thai Medicine Development Center; The Institute of Traditional Thai Medicine, Department for Development of Traditional and Alternative

Medicine, Ministry of Public Health; Department of Manufacturing Pharmacy, Faculty of Pharmacy, Mahidol University; Center of Excellence in Particle Technology, Department of Chemical Engineering, Faculty of Engineering, Chulalongkorn University. Thailand. *International Journal of Pharmaceutics* 372 (2009) 105-111.

[13] L. Nerio, J. Olivero-Verbel, E. Stahenko. Repellent activity of essential oils: A review. Environmental and Computational Chemistry Group, Campus of Zaragoza, Faculty of Pharmaceutical Sciences, University of Cartagena; Chromatography Laboratory, Research Center of Excellence, CENIVAM, Industrial University of Santander, Colombia. *Bioresource Technology* 101 (2010) 372-378.

[14] K. Karunamoorthi, S. Sabesan. Field trials on the efficacy of DEET-impregnated anklets, wristbands, shoulder and pocket strips against mosquito vectors of disease. Unit of Vector Biology & Control, School of Environmental Health Science, Faculty of Public Health, Jimma University, Ethiopia; Research Scholar, Bharathiar University, India. *Springer-Verlag Parasitol Res* 105 (2009) 641-645

[15] M. Faulde, G. Albiez, O. Nehring. Insecticidal, acaricidal and repellent effects of DEET-and IR3535-impregnated bed nets using a novel long-lasting polymer-coating technique. Department of Medical Entomology/Zoology and Department of Pharmacy, Central Institute of the Bundeswehr Armed Forces Medical Service; Institute of Immunology, Medical Microbiology and Parasitology, University Clinic Bonn, Germany. *Springer-Verlag Parasitol Res* 106 (2010) 957-965.

[16] M. Miró, J. García, J. Tornesello, P. Marino, M. Della Vecchia, M. Defain, L. Hermida. Microencapsulated citronella oil for mosquito repellent finishing of cotton textiles. Centro de Investigación y Desarrollo en Textiles, Centro Investigación y Desarrollo en Química, Instituto Nacional de Tecnología Industrial (INTI); Centro de Estudios Parasitológicos y de Vectores; Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas; Investigador Comisión Investigaciones Científicas de la Provincia de Buenos Aires, Argentina. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* 104 (2010) 653-658.

[17] H. Manda, L. Arce, T. Foggie, P. Shah, J. Grieco, N. Achee. Effects of irritant chemicals on *Aedes aegypti* resting behavior: Is there a simple shift to untreated safe sites?. Department of Preventive Medicine and Biometrics, Uniformed Services University of the Health Sciences, Maryland USA. *PLOS Neglected Tropical Diseases* Vol. 5 Issue 7 (2011) 1-12.

[18] A. Farag, O. Halawa, M. Ragaei, M. Hashem. Development of longer-lasting insect repellence cellulosic based curtain fabrics. Department of spinning, weaving and knitting engineering, Faculty of Applied Arts, Helwan University; Department of Pests and Plant Protection, National research Centre. Egypt. *Materials Sciences and Applications, Scientific Research* (2011) 200-208.

[19] B. Solomon, F. Sähle, T. Gebre-Mariam, K. Asres, R. Neubert. Microencapsulation of citronella oil for mosquito-repellent application: Formulation and in vitro permeation studies. Department and Biopharmaceutics, Institute of Pharmacy, Martin Luther University, Germany; Department of Pharmaceutics, School of Pharmacy, Department of Pharmaceutical Chemistry and Pharmacognosy, School of Pharmacy, Addis Ababa University, Ethiopia. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics* 80 (2012) 61-66.

[20] A. Hebeish, S. Sawy, M. Ragaei, I. Hamdy, M. Bisi, F. Abdel-Mohdy. New textiles of biocidal activity by introduce insecticide in cotton-poly (GMA) copolymer containing β -Cd. Textile Research Division, National Research Centre; Department of Polymers and Pigments, National Research Center; Department of Pest and Plant Protection, National Research Center. Egypt. *Carbohydrate Polymers* 99 (2014) 208-217.

[21] S. Sathantriphop, K. Thanispong, U. Sanguanpong, N. Achee, M. Bangs, T. Chareonviriyaphap. Comparative behavioral responses of pyrethroid-susceptible and – Resistant *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) populations to citronella and eucalyptus oils. Department of Entomology, Faculty of Agriculture, Kasetsart University; Bureau of Vector-Borne Disease, Department of Disease Control, Ministry of Public Health; Institute of Research and Development, Rajamangala University of Technology Thanyaburi, Thailand. Eck Institute for Global Health, Department of Biological Sciences, University of Notre Dame, USA. Public Health & Malaria Control Department, International SOS, Indonesia. *Behavior, Chemical Ecology. Entomological Society of America* (2014) 1182-1191.

- [22] World Health Organization, Control of Neglected Tropical Diseases. Guidelines for laboratory and field-testing of long-lasting insecticidal nets. Switzerland (2013) 1-89.
- [23] P. Monllor. Caracterización de microencapsulados aplicados sobre materiales textiles. Departamento de Ingeniería Textil y Papelera. Universidad Politécnica de Valencia. Spain (2007).
- [24] J. Souza, A. Caldas, S. Tohidi, J. Molina, A. Souto, R. Fangueiro, A. Zille. Properties and controlled release of chitosan microencapsulated limonene oil. Departamento de Moda, Design e Estilismo, Universidade Federal de Piauí; Centro de Ciência e Tecnologia Têxtil, Universidade do Minho, Brazil. Departamento de Ingeniería Textil y Papelera. Universidad Politécnica de Valencia. Spain (2014). *Revista Brasileira de Farmacognosia* 24 (2014) 691-698.
- [25] H. Esteve, L. Crespo, E. Genesca, G. Borja, F. Fontal, A. Zabaleta, M. García, M. Pérez, L. Roca, A. García. Tejidos funcionales con efecto repelente e insecticida. LEITAT Technological Center; TECNALIA Research and Innovation, AIMPLASmPlastic Technological Institute, Spain. *Revista de Química e Industria Textil* 207 (2012) 31-35.
- [26] PanAmerican Health Organization. A regional office of the World Health Organization. Preparedness and Response for Chikungunya Virus Introduction in the Americas. Centers for disease control and prevention, USA. (2011) 1-161.
- [27] L. Van Langenhove, R. Paul. Functional Finishes for Textiles: Insect repellent for textile finishes. An Overview. Ghent University, Belgium-Hohenstein Institute, Germany. (2015) 333-356.
- [28] Información sobre la Fiebre Chikungunya (CHIKV) Ministerio de Salud y Asistencia Social de El Salvador. [website] Consultado en Marzo/2015. Disponible en: <http://www.salud.gob.sv/temas/politicas-de-salud/dir-vigilancia-sanitaria/2465>.
- [29] Chikungunya: Cifras y Datos. Organización Mundial de la Salud. [website] Consultado en Marzo/2015. Disponible en: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs327/es/>.
- [30] L. Muir, B. Kay, M. Thorne. *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) vision: response to stimuli from the optical environment. *J Med Entomol* 29 (1992) 445-450.
- [31] R. Dinarvand, S. Mahmoodi, E. Farboud, M. Salehi, F. Artyabi. Preparation of gelatin microspheres containing lactic acid—effect of crosslinking on drug release. *Acta Pharm.* 55, (2005) 57-67.
- [32] F. van Breugel, J. Riffell, A. Fairhall, M. Dickinson. Mosquitoes use vision to associate odor plumes with thermal targets. Division of Biology and Bioengineering, California Institute of Technology; Department of Biology and Biophysics, University of Washington. USA (2015). *Current Biology Magazine*. Vol. 25 2123-2129.
- [33] Invasive Mosquitoes. European Centre for Disease Prevention and Control. [website] Consultado en Agosto/2015. Disponible en: <http://ecdc.europa.eu/en/healthtopics/vectors/mosquitoes/Pages/mosquitoes.aspx>
- [34] Neglected Infectious Diseases: Dengue. PanAmerican Health Organization. [website] Consultado en Agosto/2015. Disponible en: http://www.paho.org/hq/index.php?option=com_topics&view=article&id=1&Itemid=40734
- [35] Chikungunya Geographic Distribution. Center for Disease Prevention and Control. [website] Consultado en Agosto/2015. Disponible en: <http://www.cdc.gov/chikungunya/geo/index.html#IMAGEN>
- [36] Chikungunya Nowcast for the Americas. Center for Disease prevention and Control. [website] Consultado en Agosto/2015. Disponible en: <http://www.cdc.gov/chikungunya/modeling/>
- [37] Vector Maps. European Centre for Disease Prevention and Control. [website] Consultado en Agosto/2015. Disponible en: http://ecdc.europa.eu/en/healthtopics/vectors/vector-maps/Pages/VBORNET_maps.aspx
- [38] International travel and Health Interactive: Countries or areas at risk. World Health Organization (WHO). [website] Consultado en Agosto/2015. Disponible en: <http://apps.who.int/ithmap/>

- [39] Pubchem Compound Database. National Institutes of Health. U.S. National Library of Medicine. Open Chemistry Database. [website] Consultado en Julio/2015. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pccompound>
- [40] S. Yalkowsky, Y. He, P. Jain. Handbook of Aqueous Solubility Data 2nd. Edition. Department of Pharmaceutical Sciences, University of Arizona; Pharmaceutical Development Unit; Novartis Pharmaceutical Corporation of New Jersey. USA. CRC Press Taylor and Francis Group (2010).
- [41] Beckman Coulte Incr Particle Characterization Group. Beckman Coulter Z Series User Manual 9914591-D. USA (2002).
- [42] Asociación Española de Normalización y Certificación. Ensayos de solidez del color parte X12: Solidez del color al frote (ISO 105-X12:2001). AENOR (2003) Grupo 11 1-9.
- [43] Asociación Española de Normalización y Certificación. Ensayo de solidez del color parte C10: Solidez del color al lavado con jabón o con jabón y sosa (ISO 105-C10:2006). AENOR (2008) Grupo 10 1-11.
- [44] The Atlas of Living Australia: Melaleuca leucadendra. [website] Consultado en Agosto/2015. Disponible en: <http://bie.ala.org.au/species/urn:lsid:biodiversity.org.au:apni.taxon:450815#>
- [45] The Education Bureau. Government of the Hong Kong Special Administrative Region of the People's Republic of China: Melaleuca leucadendron [website] Consultado en Agosto/2015. Disponible en: http://resources.edb.gov.hk/trees/06/06_content_page_eng.html
- [46] Global Information Hub On Integrated Medicine through Malaysia for the World. Botanical Information [website] Consultado en Agosto/2015. Disponible en: http://globinmed.com/index.php?option=com_content&view=article&id=62723:litsea-cubeba-lour-person&catid=8:botanical-information&Itemid=113
- [47] L. H, M. Du, J. Zhang, Y. Wang. chemistry of the main component of essential oil of *Litsea Cubeba* and its derivatives. Research Institute of Subtropical Forestry Chinese Academy of Forestry. Fuyang, China. Open Journal of Forestry (2014) 4, 457-466.
- [48] Encyclopedia of Life EOL Global access to knowledge about life on earth: *Cinnamomum camphora*. [website] Consultado en Agosto/2015. Disponible en: <http://www.eol.org/pages/596902/overview>

ANEXOS

ANEXO A: INFORMACIÓN GENERAL ACERCA DE PLANTA *Melaleuca leucadendron* (Cajeput)

Comúnmente conocida con el nombre de *paper-back tree* es una planta originaria de Australia aunque también distribuida por regiones de Asia como Hong Kong, Taiwán, Indonesia, China, Papua Nueva Guinea, Vietnam, Gabon (África), Costa Rica y Belice en América Central, California y Florida en Norteamérica.

Es un árbol cuyo tronco tiene la peculiaridad que su corteza está compuesta por capas múltiples, delgadas y que se desmorona fácilmente al ser suaves y esponjosas, de ahí su nombre común *paper-bark tree* (*árbol con corteza de papel*). Tiene una flor aromática, con hebras largas, finas y puntiagudas que lo asemejan a un cepillo; sus hojas son delgadas, alargadas y ovaladas de textura muy suave y rugosa de 5 a 12 cm. de largo y permanecen verdes todo el tiempo. Basta con frotar dos hojas entre sí para percibir el aroma, el aceite es de aspecto transparente e incoloro [45].

Las múltiples capas del tronco representan la longevidad del árbol, y sus capas más internas no inflaman por lo que al haber un incendio forestal, estos árboles impiden la propagación del incendio. De las hojas es posible extraer la esencia aromática comúnmente conocida como *Cajeput* del indonesio *kaju putih* que significa *madera blanca* y presenta una buena adaptabilidad a climas húmedos y secos. Puede llegar a alcanzar una altura de 25 metros, sus ramas son de textura suave y sedosa [44].



Árbol y corteza de *Melaleuca leucadendron*^[44] [45]



Hoja y flor de *Melaleuca leucadendron*^[45]

ANEXO B: INFORMACIÓN GENERAL ACERCA DE PLANTA *Litsea cubeba* (*Litsea*)

Litsea Cubeba es el nombre botánico para *May Chang*, *Mountain Pepeer*, *Exotic Verbena* o *Chinese Pepper* es un árbol perteneciente a la familia *Lauraceae*. Es originario del sur de China y está distribuido por otras regiones como Java, Indonesia, Malasia, Sumatra y otras áreas del sur de Asia, así como Taiwán y Japón lo cultivan con fines comerciales. Las flores son de color ligeramente amarillento con fragancia cítrica y cuyo fruto se asemeja a chiles (o pimientos), de donde precisamente viene el término "cubeb".

Es considerado un arbusto que alcanza unos 5-10 metros de altura. El tronco es cilíndrico con diámetro entre 6 y 20 cm. La corteza de 1 mm de espesor, muy dura y resistente, verde por fuera y amarilla en su interior de textura suave, olor a limón y sabor picante, sus ramas muy delgadas y las hojas aromáticas, con tallo entre 8-18 mm de largo, delgado y sus bordes afilados y con pelusa. Las hojas marrón verdosas cuando está joven y color verde vivo, liso y brillante al madurar por encima y verde azulado por debajo. Su aceite esencial es extraído de frutos maduros y secos del árbol, y su aspecto es amarillento traslucido [46].



Árbol y fruto de *Litsea cubeba* de donde se extrae el aceite esencial [47]

ANEXO C: INFORMACIÓN GENERAL ACERCA DE PLANTA *Cinnamomum camphora* (Alcánfor)

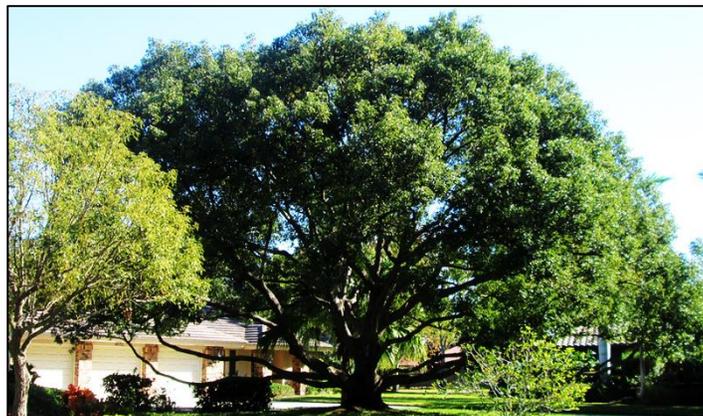
Comúnmente llamado Alcánfor o Laurel de alcánfor es un árbol de gran tamaño perteneciente a la familia *Lauraceae* (de la familia del laurel) que es originario del este de China distribuido por Asia en Taiwán, Japón, India y globalmente distribuido en regiones tropicales como América Central; ha sido introducido a Estados Unidos y es actualmente cultivado en el sur como en Florida, Mississippi, Alabama, Georgia, Carolina del Norte, Carolina del Sur y California. De este árbol se deriva el aceite esencial usado ampliamente por sus propiedades antisépticas y anestésicas así como para aliviar problemas respiratorios.

El árbol es frondoso, puede alcanzar una altura de hasta 30 metros y un tronco de 3 metros de diámetro. Sus hojas son rugosas, manchadas atravesada por venas que le dan aspecto de piel, delgadas, alargadas y ovaladas de 6 a 12 cm de largo. Su flor es muy pequeña, incluso de menor tamaño que sus hojas, su fruto es parecido a cerezo diminuto, redondo y carnoso, que al madurar adopta un color morado oscuro. Todo el árbol desprende un olor fuerte y penetrante generado por la esencia del *camphor*, un terpenoide que es posible extraerse de la corteza del tronco, las ramas o las hojas, cuyo aspecto líquido transparente e incoloro.

La composición química de sus extractos está fuertemente condicionados por la ubicación geográfica donde se cultiva; así por ejemplo, el proveniente del sur de Asia será rico en *linalool*, mientras que el extraído del cultivado en Madagascar será rico en *1,8 cineol* [48].



Tronco, hoja y fruto de *Cinnamomum camphora* [48]



Árbol de *Cinnamomum camphora* [48]

