

Evaluación del efecto repelente contra *Lasioderma serricorne* de aceites esenciales de *Cymbopogon martinii*, *C. winterianus*, *Lippia origanoides* y sus fracciones.

Johanna Catalina ROSERO ROSERO

Trabajo de investigación para optar por el título de Magíster en Química.

Directora:

Elena E. STASHENKO, Química, Ph. D.

Codirector:

Jario R. MARTÍNEZ MORALES, Químico, Ph. D

Universidad Industrial de Santander

Facultad de Ciencias

Escuela de Química

Maestría en Química

Bucaramanga

2023

Dedicatoria

A mi mamá Martha y mi papá Rodrigo por apoyarme en cada momento de la vida a pesar de la distancia, el tiempo y las dificultades. Mamá gracias por creer en mí y enseñarme a amar la vida y cada uno de sus seres. Ustedes son mi mayor ejemplo de vida.

Agradecimientos

A Dios por conducirme por este camino, por todas las bendiciones que me ha regalado a lo largo de la vida. A mi familia por escucharme y brindarme su amor y apoyo incondicional hoy y siempre.

A la profesora Elena Stashenko y al profesor Jairo René Martínez por haberme dado la oportunidad de realizar la maestría en el Centro de Investigación CENIVAM, por los conocimientos compartidos y sus enseñanzas.

A mis amigos y compañeros de laboratorio por brindarme su amistad a lo largo de este recorrido.

A la Universidad Industrial de Santander y la Escuela de Química por abrirme las puertas y guiarme en mi formación como profesional.

Al Ministerio de Ciencias, Tecnología e Innovación, Ministerio de Educación Nacional, Ministerio de Industria, Comercio y Turismo e ICETEX, Convocatoria Ecosistema Científico - Colombia Científica y el Fondo Francisco José de Caldas en el marco del programa "Bio-Reto XXI 15:50. Desarrollo de bioproductos para los sectores salud, agropecuario y cosmético, como resultados del estudio de la biodiversidad colombiana", dentro del proyecto titulado "Extracción, caracterización química de alta resolución de ingredientes naturales a partir de la biodiversidad colombiana, diseño de bioproductos funcionales y estudio de su estabilidad" contrato N° FP44842-21 2-20 I 8.

Al Laboratorio de Cromatografía y Espectrometría de Masas (CROM-MASS) por su colaboración en el préstamo de los equipos y su amable colaboración.

Tabla de contenido

Introducción.....	25
1. Objetivos.....	28
1.1 Objetivo general.....	28
1.2 Objetivos específicos.....	28
2. Estado del arte.....	29
2.1 Marco teórico.....	29
2.1.1 <i>Generalidades del insecto Lasioderma serricorne</i>	29
2.1.2 <i>Generalidades de las plantas bajo estudio</i>	30
2.1.2.1 <i>Cymbopogon martinii</i>	30
2.1.2.2 <i>Cymbopogon winterianus</i>	31
2.1.2.3 <i>Lippia origanoides</i>	31
2.1.3 <i>Aceites esenciales</i>	32
2.1.4 <i>Efectos biológicos de los AE</i>	34
2.1.4.1 <i>Cambios en los procesos bioquímicos generados por AE</i>	35
2.1.4.2 <i>Efecto repelente</i>	36
2.1.4.2.1 <i>Órganos olfativos en los insectos</i>	36
2.1.4.2.2 <i>Proteínas enlazantes de olores</i>	37
2.1.4.2.3 <i>Mecanismo para la recepción de olores</i>	38

EFECTO REPELENTE DE ACEITES ESENCIALES Y FRACCIONES

2.1.4.3 Métodos para medir el efecto biológico de aceites esenciales sobre insectos.	39
2.1.5 <i>Métodos para la obtención de aceites esenciales</i>	40
2.1.6 <i>Destilación fraccionada</i>	41
2.1.6.1 Diagramas de temperatura-composición.	41
2.1.6.2 Destilación fraccionada al vacío.	42
2.1.6.3. Destilación fraccionada al vacío con banda giratoria (Spinning band distillation).	43
2.1.7 <i>Caracterización química de AE por GC/FID y GC/MS</i>	44
2.1.8 <i>Encapsulación de aceites esenciales</i>	46
2.1.8.1 Materiales poliméricos para la encapsulación de aceites esenciales.	48
2.1.8.2 Métodos para la encapsulación de aceites esenciales.	50
2.1.8.3 Factores que afectan la liberación de los compuestos volátiles.	51
2.2 Marco de antecedentes	52
3. Metodología.....	66
3.1 Reactivos	66
3.2 Material vegetal	66
3.2.1 <i>Destilación por arrastre con vapor</i>	67
3.3 Microdestilación a presión reducida	67
3.4 Análisis cromatográficos.....	68
3.4.1 <i>Determinación de figuras analíticas de mérito por GC/FID</i>	68
3.4.2 <i>Evaluación de repetibilidad del método, para tiempos de retención y áreas</i>	68

EFECTO REPELENTE DE ACEITES ESENCIALES Y FRACCIONES

3.4.3 Determinación de la linealidad y la sensibilidad del método	69
3.4.4 Determinación de límites de detección y cuantificación.....	69
3.4.5 Identificación por GC/MS de los compuestos presentes en los AE de <i>C. martinii</i> , <i>C. winterianus</i> y <i>L. organoides</i>	70
3.4.6 Cuantificación por GC/FID de los compuestos identificados en los AE de <i>C. martinii</i> , <i>C. winterianus</i> y <i>L. organoides</i>	71
3.4.7 Análisis de la fracción por HS-SPME-GC/FID de los AE de <i>C. martinii</i> , <i>C. winterianus</i> , <i>L. organoides</i> y sus encapsulados.....	72
3.5 Especímenes de <i>L. serricorne</i>	73
3.5.1 Ensayo del área de preferencia	73
3.6 Encapsulación de aceites esenciales.....	74
4. Resultados.....	76
4.1 Cuantificación por GC/FID de algunos compuestos identificados en los AE de <i>C. winterianus</i> , <i>C. martinii</i> y <i>L. organoides</i>	76
4.2 Caracterización química por GC/MS de los AE de <i>Cymbopogon winterianus</i> , <i>C. martinii</i> y <i>L. organoides</i> obtenido por destilación por arrastre con vapor.....	82
4.1.1 <i>Cymbopogon winterianus</i>	82
4.1.2 <i>Cymbopogon martinii</i>	88
4.1.3 <i>Lippia organoides</i>	94
4.3 Actividad repelente de los aceites esenciales de <i>C. winterianus</i> , <i>C. martinii</i> , <i>L. organoides</i> y sus fracciones.....	114

EFECTO REPELENTE DE ACEITES ESENCIALES Y FRACCIONES

4.4 Estabilidad de los AE de <i>C. winterianus</i> , <i>C. martinii</i> y <i>L. origanoides</i> y sus encapsulados hasta el día 90 de almacenamiento.	118
4.4.1 Almacenamiento del AE de <i>Cymbopogon winterianus</i> libre y encapsulado.....	121
4.4.2 Almacenamiento del AE de <i>Cymbopogon martinii</i> libre y encapsulado.	129
4.4.3 Almacenamiento del AE de <i>L. origanoides</i> libre y encapsulado	137
5. Análisis y discusión de resultados	148
5.1 Composición química de los AE de <i>C. winterianus</i> , <i>C. martinii</i> y <i>L. origanoides</i>	148
5.2 Microdestilación a presión reducida de los AE de <i>Cymbopogon winterianus</i> , <i>C. martinii</i> y <i>L. origanoides</i>	150
5.3 Actividad repelente de los AE de <i>C. winterianus</i> , <i>C. martinii</i> , <i>L. origanoides</i> y sus fracciones.....	155
5.3.1 Actividad repelente del AE de <i>C. winterianus</i> y sus fracciones.....	155
5.3.2 Actividad repelente del AE de <i>C. martinii</i> y sus fracciones	162
5.3.3 Actividad repelente del AE de <i>L. origanoides</i> y sus fracciones.	164
5.4. Estudio de la estabilidad de los AE de <i>C. winterianus</i> , <i>C. martinii</i> y <i>L. origanoides</i> y sus encapsulados.	169
5.4.1. AE de <i>C. martinii</i> , <i>C. winterianus</i> y sus encapsulados.....	170
5.4.2. AE de <i>L. origanoides</i> y su encapsulados.	174
6. Conclusiones.....	175
7. Recomendaciones	179

EFECTO REPELENTE DE ACEITES ESENCIALES Y FRACCIONES

8. Financiamiento del proyecto de investigación	179
9. Divulgación de resultados	179
Referencias bibliográficas	182
Apéndices	212

Lista de figuras

Figura 1. <i>Lasioderma serricorne</i> Fuente: Instituto Colombiano Agropecuario, ICA.2022.	29
Figura 2. Especie bajo estudio <i>Cymbopogon martinii</i> (Familia: Poaceae). Foto tomada por Johanna Rosero en el CENIVAM (UIS, Bucaramanga). Fecha: 26 de noviembre del 2022.	30
Figura 3. Especie bajo estudio <i>Cymbopogon winterianus</i> (Familia Poaceae). Foto tomada por Johanna Rosero en el CENIVAM (UIS, Bucaramanga). Fecha: 26 de noviembre del 2022.....	31
Figura 4. Especie bajo estudio <i>Lippia origanoides</i> (Familia Verbenaceae). Foto tomada por Johanna Rosero en el CENIVAM (UIS, Bucaramanga). Fecha: 25 de febrero del 2022.	32
Figura 5. Tipo de componentes presentes en los AE: a. Monoterpenos; b. Sesquiterpenos; c. Fenilpropanoides.....	33
Figura 6. Estructura de: A. La antena de <i>Lasioderma serricorne</i> y B. La sensilia Fuente: Pest and diseases image library y https://cronodon.com/BioTech/insect_mechanoreceptors.html . Fecha de acceso: 9 de febrero del 2023.	37
Figura 7. Modelo de interacción entre los compuestos volátiles y los OBP presentes en la linfa sensiliar. Figura tomada de Sun et al. (2018).	38
Figura 8. Diagrama temperatura-composición para una mezcla binaria. Tomado de Atkins y de Paula (2008).	42

- Figura 9.** Representación esquemática de las nanoesferas y nanocapsulas. **A.** Monocuclear o simple; **B.** Multicapa; **C.** Polinuclear; **D.** Matriz y **E.** Irregular. Fuente: Mohamadi *et al.* (2017). 47
- Figura 10.** Fórmula estructural del compuesto etilenglicol en su forma monomérica (a) y polimérica (b) Adaptado de Buzova *et al.* (2012). 50
- Figura 11.** Proceso de difusión en moléculas encapsuladas. Tomado y adaptado de: Vishwakarma *et al.* (2016). 51
- Figura 12.** Número de publicaciones sobre el efecto repelente de *C. winterianus*, *C. martinii* y *L. origanoides*. Fuente: Scopus (Elseiver). Periodo de observación: 2003-2023. Fecha de consulta: 24 de febrero del 2023. Ecuación de búsqueda: TITLE-ABS-KEY (“Nombre de cada especie and repellent activity”)..... 52
- Figura 13.** Áreas de investigación donde se ha estudiado el uso de las especies *C. winterianus*, *C. martinii* y *L. origanoides* para evaluar su actividad repelente. Fuente: Scopus (Elseiver). Periodo de observación: 2003-2023. Fecha de consulta: 24 de febrero del 2022. Ecuación de búsqueda: TITLE-ABS-KEY (“Nombre de cada especie and repellent activity”) 53
- Figura 14.** Perfil cromatográfico, obtenido por GC/FID, de compuestos terpénicos patrón. Columna DB-5MS (60 m), split 1:30. A. Mezcla 1; B. Mezcla 2. Véase la identificación de los picos en la **Tabla 4**. 76
- Figura 15.** Perfil cromatográfico obtenido por GC/MS (full scan) del AE de *C. winterianus*. Columna DB-5MS (60 m), inyección *split* 1:30, MSD (EI, 70 eV). Véase la identificación de los picos en la **Tabla 6**. 83

- Figura 16.** Perfil cromatográfico obtenido por GC/MS (full scan) del AE de *C. winterianus*. Columna DB-WAX (60 m), inyección *split* 1:30, MSD (EI, 70 eV). Véase la identificación de los picos en la **Tabla 6**. 83
- Figura 17.** Perfil cromatográfico obtenido por GC/FID del AE de *C. winterianus*. Columna DB-5MS (60 m), inyección *split* 1:30. Véase la identificación de los picos en la **Tabla 6**. 84
- Figura 18.** Perfil cromatográfico obtenido por GC/MS (full scan) del AE de *C. martinii*. Columna DB-5MS (60 m), inyección *split* 1:30, MSD (EI, 70 eV). Véase la identificación de los picos en la **Tabla 7**. 88
- Figura 19.** Perfil cromatográfico obtenido por GC/MS (full scan) del AE de *C. martinii*. Columna DB-WAX (60 m), inyección *split* 1:30, MSD (EI, 70 eV). Véase la identificación de los picos en la **Tabla 7**. 89
- Figura 20.** Perfil cromatográfico obtenido por GC/FID del AE de *C. martinii*. Columna DB-5MS (60 m), inyección *split* 1:30. Véase la identificación de los picos en la **Tabla 7**. 90
- Figura 21.** Perfil cromatográfico obtenido por GC/MS (full scan) del AE de *L. origanoides*. Columna DB-5MS (60 m), inyección *split* 1:30, MSD (EI, 70 eV). Véase la identificación de los picos en la **Tabla 8**. 94
- Figura 22.** Perfil cromatográfico obtenido por GC/MS (full scan) del AE de *L. origanoides*. Columna DB-WAX (60 m), inyección *split* 1:30, MSD (EI, 70 eV). Véase la identificación de los picos en la **Tabla 8**. 95
- Figura 23.** Perfil cromatográfico obtenido por GC/FID del AE de *L. origanoides*. Columna DB-5MS (60 m), inyección *split* 1:30. Véase la identificación de los picos en la **Tabla 8**. 96

Figura 24. Perfil cromatográfico de las fracciones obtenidas del AE de *C. winterianus*. A. Fracción 1; B. Fracción 2; C. Fracción 3. Columna DB-5MS (60 m). Véase la identificación de los picos en la **Tabla 6**. **¡Error! Marcador no definido.**

Figura 25. Perfil cromatográfico de las fracciones obtenidas del AE de *C. martinii*. A. Fracción 1; B. Fracción 2; C. Fracción 3; D. Fracción de fondo. Columna DB-5MS (60 m), inyección *split* 1:30, MSD (EI, 70 eV). Véase la identificación de los picos en la **Tabla 7**. **¡Error! Marcador no definido.**

Figura 26. Perfil cromatográfico de las fracciones obtenidas del AE de *L. origanoides*. A. Fracción 1; B. Fracción 2 ; C. Fracción de fondo. Columna DB-5MS (60 m), inyección *split* 1:30, MSD (EI, 70 eV). Véase la identificación de los picos en la **Tabla 8**. **¡Error! Marcador no definido.**

Figura 27. Gráficos de medias para día de almacenamiento y familia de compuestos en los AE de A. *C. winterianus*, B. *C. martinii* y C. *L. origanoides*. 120

Figura 28. Variación de la cantidad A_i/A_{istd} para las familias de compuestos en el AE de *C. winterianus* a 0, 3, 7, 15, 60 y 90 días de almacenamiento. 122

Figura 29. Gráfico normalizado para la variación de la cantidad A_i/A_{istd} para las familias de compuestos en el AE de *C. winterianus* a 0, 3, 7, 15, 60 y 90 días de almacenamiento. .. 123

Figura 30. Perfil cromatográfico obtenido por HS-SPME-GC/FID del AE encapsulado de *C. winterianus* a los 0, 3, 7, 15, 60 y 90 días después de su encapsulamiento. Columna DB-5MS (60 m), inyección *split* 1:30. **¡Error! Marcador no definido.**

Figura 31. Variación de la cantidad A_i/A_{istd} para las familias de compuestos en el AE encapsulado de *C. winterianus* a 0, 3, 7, 15, 60 y 90 días de almacenamiento. 128

- Figura 32.** Gráfico normalizado para la variación de la cantidad A_i/A_{istd} para las familias de compuestos en el AE encapsulado de *C. winterianus* a 0, 3, 7, 15, 60 y 90 días de almacenamiento. 128
- Figura 33.** Variación de la cantidad A_i/A_{istd} para las familias de compuestos en el AE de *C. martinii* a 0, 3, 7, 15, 60 y 90 días de almacenamiento..... **¡Error! Marcador no definido.**
- Figura 34.** Gráfico normalizado para la variación de la cantidad A_i/A_{istd} para las familias de compuestos en el AE de *C. martinii* a 0, 3, 7, 15, 60 y 90 días de almacenamiento. 131
- Figura 35.** Perfil cromatográfico obtenido por HS-SPME-GC/FID del AE encapsulado de *C. martinii* a 0, 3, 7, 15, 30, 60 y 90 días después de su encapsulamiento. Columna DB-5MS (60 m), inyección *split* 1:30..... **¡Error! Marcador no definido.**
- Figura 36.** Variación de la cantidad A_i/A_{istd} para las familias de compuestos en el AE encapsulado de *C. martinii* a 0, 3, 7, 15, 60 y 90 días de almacenamiento..... 136
- Figura 37.** Gráfico normalizado para la variación de la cantidad A_i/A_{istd} para las familias de compuestos en el AE encapsulado de *C. martinii* a 0, 3, 7, 15, 60 y 90 días de almacenamiento. 136
- Figura 38.** Variación de la cantidad A_i/A_{istd} para las familias de compuestos en el AE de *L. origanoides* para 0, 3, 7, 15, 30, 60 y 90 días de almacenamiento. 140
- Figura 39.** Gráfico normalizado de la cantidad A_i/A_{istd} para las familias de compuestos en el AE de *L. origanoides* para 0, 3, 7, 15, 30, 60 y 90 días de almacenamiento. 140
- Figura 40.** Perfil cromatográfico obtenido por HS-SPME-GC/FID del AE encapsulado de *L. origanoides* a 0, 3, 7, 15, 30, 60 y 90 días, después de su encapsulamiento. Columna DB-5MS (60 m), inyección *split* 1:30. **¡Error! Marcador no definido.**

- Figura 41.** Variación en la relación de áreas para las familias de compuestos en el AE encapsulado de *L. origanoides* a los 0, 3, 7, 15, 60 y 90 días de almacenamiento..... 147
- Figura 42.** Gráfico normalizado para la variación en la relación de áreas para las familias de compuestos en el AE encapsulado de *L. origanoides* a los 0, 3, 7, 15, 60 y 90 días de almacenamiento..... 147
- Figura 43.** Diagrama de composición fracción molar Vs temperatura para mezclas binarias de compuestos terpénicos. Tomado de Martínez (2022). 151
- Figura 44.** Diagrama líquido vapor mezcla binaria geraniol-linalol. Tomado de Silva *et al.* (2022). 152
- Figura 45.** Diagrama de composición fracción molar Vs temperatura para mezclas binarias de compuestos terpénicos. Tomado de Martínez (2022). 154
- Figura 46.** Estructura química de los aminoácidos: A. Cadena lateral hidrofóbica; B. Cadena lateral cargada eléctricamente; C. Cadena lateral polar sin carga. 157
- Figura 47.** Formas enantiómericas de los compuestos A. linalol, B. limoneno. 161
- Figura 48.** Formas enantiómericas de los compuestos A. citronelal y B. citronelol. 161
- Figura 49.** Estructura molecular de compuestos estructuralmente análogos: A. Carvacrol; B. Timol; C. 2-isopropilfenol; D. 3- isopropilfenol; E. 4-isopropilfenol; F. o-cresol..... 167

Lista de tablas

Tabla 1. Descripción general de algunos métodos para determinar actividad biológica sobre insectos.....	39
Tabla 2. Métodos para la obtención de aceites esenciales.	40
Tabla 3. Polímeros empleados en procesos de encapsulación.....	49
Tabla 4. Repetibilidad de tiempos de retención (t_R) y de áreas cromatográficas de compuestos terpénicos patrón, analizados por GC/FID. Columna DB-5MS (60 m), <i>split</i> 1:30.	77
Tabla 5. Linealidad y sensibilidad determinadas por GC/FID, para sustancias patrón de terpenos.	79
Tabla 6. Cantidad relativa (%) de los componentes del AE de <i>Cymbopogon winterianus</i> obtenido por destilación por arrastre con vapor.	85
Tabla 7. Cantidad relativa (%) de los componentes del AE de <i>Cymbopogon martinii</i> obtenido por destilación por arrastre con vapor.....	91
Tabla 8. Cantidad relativa (%) de los componentes del AE de <i>L. origanoides</i> obtenido por destilación por arrastre con vapor.....	98
Tabla 9. Condiciones de presión y temperatura para el fraccionamiento del aceite esencial de <i>C. winterianus</i> , <i>C. martinii</i> y <i>L. origanoides</i>	102
Tabla 10. Condiciones de presión y temperatura para el fraccionamiento del aceite esencial de <i>C. winterianus</i> , <i>C. martinii</i> y <i>L. origanoides</i>	104
Tabla 11. Cuantificación de los compuestos mayoritarios en el aceite esencial de <i>C. winterianus</i> y las fracciones F1, F2 y FF.	106

Tabla 12. Cuantificación de los compuestos mayoritarios en el aceite esencial de <i>C. martinii</i> y las fracciones F1, F2, F3 y FF.	110
Tabla 13. Cuantificación de los compuestos mayoritarios en el aceite esencial de <i>L. origanoides</i> y las fracciones F1, F2 y FF.	113
Tabla 14. Porcentajes de repelencia sobre <i>L. serricornis</i> después de la exposición a patrones de terpenos.	114
Tabla 15. Porcentajes de repelencia sobre <i>L. serricornis</i> después de la exposición el aceite esencial de <i>C. winterianus</i> y las fracciones F1, F2 y FF.	117
Tabla 16. Porcentajes de repelencia sobre <i>L. serricornis</i> después de la exposición al aceite esencial de <i>C. martinii</i> y las fracciones F1, F2, F3 y FF.	117
Tabla 17. Porcentajes de repelencia sobre <i>L. serricornis</i> después de la exposición del aceite esencial de <i>L. origanoides</i> y las fracciones F1, F2 y FF.	118
Tabla 18. Análisis de varianza para las especies <i>C. martinii</i> , <i>C. winterianus</i> y <i>L. origanoides</i>	118
Tabla 19. Cantidad ($A_i/A_{i\text{std}}$) de los compuestos presentes en la fracción volátil del AE de <i>C. winterianus</i> medida a diferentes días de almacenamiento.	122
Tabla 20. Relación de áreas ($A_i/A_{i\text{std}}$) de los compuestos presentes en la fracción volátil del AE encapsulado de <i>C. winterianus</i> medida a diferentes días de almacenamiento.	127
Tabla 21. Cantidad ($A_i/A_{i\text{std}}$) de los compuestos presentes en la fracción volátil del AE de <i>C. martinii</i> medida a diferentes días de almacenamiento.	130
Tabla 22. Cantidad ($A_i/A_{i\text{std}}$) de los compuestos presentes en la fracción volátil del AE encapsulado de <i>C. martinii</i> medida a diferentes días de almacenamiento.	135

- Tabla 23.** Cantidad (A_i/A_{istd}) de los compuestos presentes en la fracción volátil del AE de *L. origanoides* medida a diferentes días de almacenamiento. 138
- Tabla 24.** Relación de áreas (A_i/A_{istd}) de los compuestos presentes en la fracción volátil del AE encapsulado de *L. origanoides* medida a diferentes días de almacenamiento. 145

Lista de apéndices

Apéndice A. Certificado de la identificación taxonómica ICA.	212
Apéndice B. Aval del Comité de Ética en Investigación Científica (CEINCI).	215
Apéndice C. Cultivo experimental de <i>L. serricorne</i> y ensayo de repelencia.	217
Apéndice D. Espectro de masas del compuesto no identificado con N° de pico 12 (tR=34.46 min, IRL=1332) del AE de <i>C. martinii</i> . Columna DB5-MS	218
Apéndice E. Espectro de masas del compuesto no identificado con N° de pico 22 (tR =34.46, IRL=1553) del AE de <i>C. martinii</i> . Columna DB5-MS	218
Apéndice F. Pruebas de múltiples rangos para los AE encapsulados de las especies bajo estudio.	219
Apéndice G. Perfil cromatográfico obtenido por HS-SPME-GC/MS (full scan) del repelente comercial utilizado en los ensayos de repelencia. Columna DB-5MS (60 m), inyección split 1:30, MSD (EI, 70 eV). Véase la identificación de los picos en el Apéndice H.	221
Apéndice H. Cantidad relativa (%) de los componentes del repelente comercial utilizado en los ensayos de repelencia.	222
Apéndice I. Perfiles cromatográficos obtenidos por HS-SPME-GC/FID del AE sin encapsular de <i>C. winterianus</i> los días 0 y 90 de almacenamiento. Columna DB-5MS (60 m), inyección split 1:30.	223
Apéndice J. Perfiles cromatográficos obtenidos por HS-SPME-GC/FID del AE sin encapsular de <i>C. martinii</i> los días 0 y 90 días de almacenamiento. Columna DB-5MS (60 m), inyección split 1:30.	223

Apéndice K. Perfiles cromatográficos obtenidos por HS-SPME-GC/FID del AE sin encapsular de *L. origanoides* los días 0 y 90 días de almacenamiento. Columna DB-5MS (60 m), inyección split 1:30..... 224

Apéndice L. Perfiles cromatográficos obtenidos por HS-SPME-GC/FID del polímero PEG los días 0 y 90 de almacenamiento. Columna DB-5MS (60 m), inyección split 1:30..... 224

Siglas, abreviaturas y acrónimos

ABP	<i>Antennal Bindig Protein.</i>
AE	Aceite (s) esencial (es).
AT	<i>Agilent technologies.</i>
Bp	Boiling point (punto de ebullición).
<i>C. martinii</i>	<i>Cymbopogon martinii.</i>
<i>C. winterianus</i>	<i>Cymbopogon winterianus.</i>
CENIVAM	Centro Nacional de Investigaciones para la Agroindustrialización de Especies Vegetales Aromáticas y Medicinales.
d.i.	Diámetro interno (μm).
<i>et al.</i>	<i>Et alii</i> (y otros).
e.g.	<i>Exempli gratia</i> (Por ejemplo)
EE	Eficiencia de encapsulamiento.
F1	Fracción 1
F2	Fracción 2
F3	Fracción 3
FF	Fracción de fondo
GC	Cromatografía de gases.

EFECTO REPELENTE DE ACEITES ESENCIALES Y FRACCIONES

GC/FID	Cromatografía de gases con detector de ionización en llama.
GC/MS	Cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas.
GOBP	<i>General</i> OBP (Proteínas enlazantes de olor generales)
HS-SPME	<i>Head space Solid-phase microextraction</i> (microextracción en fase sólida en el espacio de cabeza)
<i>IR</i> ₃₅₃₅	[Etil 3-(N-acetil-N-butilamino) propionato]
<i>ISTD</i>	<i>Internal standard</i> (Estándar interno)
<i>Lasioderma serricorne</i>	<i>L. serricorne</i> .
<i>Lippia origanoides</i>	<i>L. origanoides</i> .
<i>LOD</i>	<i>Limit of Detection</i> (Límite de detección).
<i>LOQ</i>	<i>Limit of Quantification</i> (Límite de cuantificación).
<i>MS</i>	<i>Mass spectrometry</i> (Espectrometría de masas).
m s. n. m.	metros sobre el nivel del mar.
<i>m/z</i>	Relación masa-carga
<i>MW</i>	<i>Molecular weight</i> (Peso molecular)
ND	Compuesto no detectado
NI	Compuesto no identificado
OBP	<i>Odorant binding protein</i> .

EFECTO REPELENTE DE ACEITES ESENCIALES Y FRACCIONES

OR	<i>Odorant receptors.</i>
ORN	Olfactory receptor neurons (Neuronas receptoras olfativas).
PBP	<i>Pheromone binding protein</i> (proteínas enlazantes de feromonas).
PEG	Poli(etilenglicol).
Repelencia, %	Porcentaje de repelencia.
t _R	Tiempo de retención
Torr	Torricelli.
<i>Tribolium castaneum</i>	<i>T. castaneum</i>

Resumen

Título: Evaluación del efecto repelente contra *Lasioderma serricorne* de aceites esenciales de *Cymbopogon martinii*, *C. winterianus*, *Lippia origanoides* y sus fracciones*.

Autora: Johanna Catalina Rosero Rosero**

Palabras claves: *Lasioderma serricorne*, *Cymbopogon martinii*, *C. winterianus*, *Lippia origanoides*, actividad repelente, aceite esencial, microdestilación a presión reducida, cromatografía de gases.

Lasioderma serricorne (Ptnidae) es un insecto que produce serias afectaciones en cultivos del tabaco y otros productos almacenados. Con el fin de buscar nuevas fuentes de compuestos que puedan ser utilizados en el control de plagas alimenticias, se estudió el efecto repelente que pueden producir los aceites esenciales (AE) de *Cymbopogon martinii*, *C. winterianus* y *L. origanoides* sobre una cepa establecida de este espécimen. El AE obtenido por destilación por arrastre con vapor se fraccionó en un microdestilador al vacío en donde se obtuvieron diferentes fracciones enriquecidas con compuestos de tipo monoterpeno oxigenado, terpenos fenólicos y sesquiterpenos. El AE y las fracciones se caracterizaron por cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC/MS) y se cuantificaron por cromatografía de gases con un detector de ionización en llama (GC/FID). Para la medición de la actividad repelente de los AE y de las fracciones se empleó el ensayo del área de preferencia con tres concentraciones posibles (0,02 $\mu\text{L}/\text{cm}^2$, 0,2 $\mu\text{L}/\text{cm}^2$ y 0,04 $\mu\text{L}/\text{cm}^2$).

Los compuestos mayoritarios identificados en los AE de *C. martinii* y *C. winterianus* fueron mayoritariamente de tipo monoterpeno oxigenado. Para el AE de *L. origanoides* predominaron los terpenos fenólicos. La actividad repelente mostró que los AE y fracciones en donde se cuantificó la mayor cantidad de monoterpenos oxigenados como citronelal, geraniol, citronelol tuvieron los mayores porcentajes de repelencia. Dentro de las fracciones, la fracción 2 (F2) obtenida del AE de *C. winterianus* mostró el mayor porcentaje de repelencia (94%) a una concentración de 0,4 $\mu\text{L}/\text{cm}^2$; la fracción 3 (F3) del AE de *C. martinii* tuvo una alta repelencia (82%).

Por medio de estos resultados se demostró que los AE de las tres especies podrían ser utilizados en el desarrollo de un repelente comercial natural con efectos repelentes sobre insectos del orden coleóptera.

*Trabajo de investigación

** Facultad de Ciencias. Escuela de Química. Directores: Elena E. Stashenko y Jairo René Martínez.

Abstract

Title: Evaluation of the repellent effect against *Lasioderma serricornis* from *Cymbopogon martinii*, *C. winterianus*, *Lippia origanoides* essential oil and their fractions*.

Autora: Johanna Catalina Rosero Rosero**

Palabras claves: *Lasioderma serricornis*, *Cymbopogon martinii*, *C. winterianus*, *Lippia origanoides*, repellent activity, essential oil, distillation under reduced pressure, gas chromatography.

Lasioderma serricornis (Ptnidae) is an insect that seriously affects tobacco crops and other stored products. To search for new sources of compounds that can be used in the control of food pests, the repellent effect that *Cymbopogon martinii*, *C. winterianus* and *L. origanoides* essential oils (EOs) can produce on an established strain of this specimen was studied. The essential oil obtained by steam distillation was fractionated in a vacuum microdistiller where different fractions enriched with oxygenated monoterpene compounds, phenolic terpenes and sesquiterpenes were obtained. The essential oil and the fractions were characterized by gas chromatography coupled to mass spectrometry (GC/MS) and quantified by gas chromatography with a flame ionization detector (GC/FID). To measure the repellent activity of the EOs and the fractions, the preference area assay was used with three possible concentrations (0.02 $\mu\text{L}/\text{cm}^2$, 0.2 $\mu\text{L}/\text{cm}^2$ and 0.04 $\mu\text{L}/\text{cm}^2$).

The major compounds identified in the EOs of *C. martinii* and *C. winterianus* were mainly of the oxygenated monoterpene type. In the EO of *L. origanoides*, phenolic terpenes predominated. The repellent activity showed that the EOs and fractions where the highest amount of oxygenated monoterpenes such as citronellal, geraniol, and citronellol were quantified, had the highest percentages of repellency. Within the fractions, the F2 obtained from the EO of *C. winterianus* showed the highest percentage of repellency (94%) at a concentration of 0.4 $\mu\text{L}/\text{cm}^2$ and the F3 of the EO of *C. martinii* also showed high repellence (82%).

Through these results it is highlighted that the EOs of the three species could be used in the development of a natural commercial repellent with repellent effects on insects of the coleoptera order.

*Research work

** Science Faculty. Chemistry School. Directors: Elena E. Stashenko and Jairo René Martínez.

Introducción

La presencia de plagas en productos alimenticios almacenados como cereales y sus derivados se constituye en una de las principales fuentes de daños y pérdidas en la producción de alimentos a nivel mundial estimadas en un 10% al año (Kłyś *et al.*, 2017). Insectos como *Lasioderma serricorne* es una plaga destructiva del tabaco (Ashworth, 1993) y afecta una gran variedad de productos almacenados como trigo, harina, frutos secos, hierbas, especias, arroz, entre otros (Hagstrum, 2013; Edde, 2019). Los daños causados en el tabaco y otros productos están relacionados principalmente con la pérdida en la calidad y la cantidad de las hojas; sin embargo, uno de los mayores daños reside en la contaminación del producto debido a la presencia de heces, insectos muertos, otros productos de desecho y, adicionalmente, se forman agujeros en los empaques en los cuales se almacenan estos alimentos (Ashworth, 1993). Las pérdidas que se reportan durante los procesos de postcosecha de productos almacenados, se encuentran en el rango de 10-40% (Devi *et al.*, 2020) debido a una disminución de la cantidad del grano y su calidad.

Los productos químicos sintéticos permitidos para el control de este tipo de plagas alimenticias son muy restringidos y, aunque existen sustancias que permiten su control o al menos aminoran los efectos producidos, muchos de ellos han generado resistencia en estos insectos, contaminación en los ecosistemas y efectos tóxicos en las personas y los animales (Kumar *et al.*, 2011). Compuestos como el bromuro de metilo y la fosfina utilizados en procesos de fumigación en el control de plagas de productos almacenados, como *L. serricorne*, están relacionados con daños de la capa de ozono y mayores resistencias tras cada aplicación (Deb y Kumar 2020, Rajendran y Narasimhan, 1994). El uso de sustancias

EFECTO REPELENTE DE ACEITES ESENCIALES Y FRACCIONES

de origen natural como los aceites esenciales (AE), aparece como una alternativa para el desarrollo de productos repelentes que puedan proteger a los alimentos de diferentes clases de insectos y su uso no implique un peligro para los consumidores ni para el medio ambiente.

La presencia de diferentes compuestos bioactivos en los AE de origen natural, ha incrementado el interés por su estudio para remediar este tipo de problemas. Simultáneamente, la producción de los AE se ha incrementado alrededor del mundo alcanzando cifras de producción de hasta 290600 toneladas para el año 2021 y de 315600 toneladas para el año 2023 con un crecimiento del 10% anual (Petruzzi, 2022). Sin embargo, gran parte de esta producción está enfocada en la elaboración de fragancias, aromatizantes y agentes de limpieza y la gran demanda de ellos ha rezagado el desarrollo de productos con efectos repelentes. Esto debido a mayores costos de su producción, disponibilidad de insumos y también la legislación de medidas regulatorias que aprueben su uso (Isman, 2020b). Pese a estas desventajas, el uso de los AE para el diseño de biosinsecticidas sigue en camino para posicionarse como una fuente de control de insectos que no genere los impactos ocasionados por insecticidas de tipo sintético. A este interés, se le suma la necesidad de miles de personas de consumir alimentos que estén libres de pesticidas y agricultores que requieren el uso de productos que incluyan el manejo de plagas en productos almacenados (Isman, 2020a). La implementación de procesos de encapsulación, por ejemplo, se ha sumado a esta iniciativa con el fin de generar nuevos materiales a escala micro o nano (1-100 nm) que puedan ser utilizados para mejorar las propiedades fisicoquímicas de los metabolitos presentes en los AE, mantener sus propiedades biológicas y favorecer su biodisponibilidad. Esta última propiedad se relaciona directamente con el aumento en el área superficial de la partícula (Faridi y Jafari, 2016). Teniendo en cuenta estas características y en el marco del programa

EFECTO REPELENTE DE ACEITES ESENCIALES Y FRACCIONES

Bio-Reto XXI 15:50 "Desarrollo de bio-productos para los sectores salud, agropecuario y cosmético, como resultado del estudio de la biodiversidad colombiana", se llevó a cabo el presente proyecto de investigación cuyo objetivo principal fue determinar la actividad repelente de los AE de tres especies que se cultivan en Santander sobre el insecto *L. serricorne*, una plaga primaria del tabaco y de otros productos almacenados. Los resultados obtenidos muestran que el insecto bajo estudio fue susceptible a monoterpenos oxigenados y otros compuestos fenólicos. El conocimiento obtenido permitirá en una primera instancia, evaluar la viabilidad de desarrollar un repelente natural en forma de pastilla con los AE encapsulados, que pueda ser utilizado en lugares donde se almacenan alimentos como arroz, garbanzo o cebada.

1. Objetivos

1.1 Objetivo general

Evaluar el efecto repelente sobre el insecto *Lasioderma serricorne* de los aceites esenciales y fracciones obtenidos a partir de *Cymbopogon martinii*, *C. winterianus* y *Lippia origanoides*.

1.2 Objetivos específicos

Caracterizar por medio de las técnicas analíticas instrumentales GC/MS y GC/FID los aceites esenciales y fracciones obtenidos a partir de las especies *Cymbopogon martinii*, *C. winterianus* y *Lippia origanoides*.

Evaluar la eficiencia del proceso de encapsulamiento de los AE de *Cymbopogon martinii*, *C. winterianus* y *Lippia origanoides*, usando poli(etilenglicol) (PEG) 6000.

Estudiar la liberación progresiva de los componentes volátiles presentes en los AE de *Cymbopogon martinii*, *C. winterianus* y *L. origanoides* y sus encapsulados por medio de la técnica de micro-extracción en fase sólida (SPME) acoplada a GC/FID.

Determinar el grado de repelencia de los AE y sus fracciones sobre *L. serricorne* por medio del ensayo del área de preferencia.

2. Estado del arte

2.1 Marco teórico

2.1.1 Generalidades del insecto *Lasioderma serricorne*

El gorgojo del tabaco, *Lasioderma serricorne* (Orden: Coleoptera; familia Ptinidae) (**Figura 1**) es una plaga cosmopolita que genera daños severos en el cultivo del tabaco, cereales y productos almacenados (Reed y Vinzant, 1942). Las hembras se caracterizan por tener una longitud de 2,6 mm y los machos de 2,1 mm (Bhalodia y Chari, 1976). Se desarrolla de forma óptima a condiciones de temperatura de 29-35 °C y una humedad del 75% (Rayner, 1951). Cabe resaltar que el ciclo de vida del insecto dependerá de las condiciones ambientales, por ejemplo, se estima un total de 38 días a una temperatura de 28 °C (Yu, 2008). Los gorgojos adultos pueden vivir entre 14 y 44 días (Rayner, 1951). Los huevos se caracterizan por tener una coloración blanca perlada, pero se tornan de color amarillo antes de eclosionar. Tienen una longitud promedio de 0,35 mm y su desarrollo tarda cerca de 10 días a 20 °C (Jones, 1913 y Canzanelli, 1935). Una vez los huevos eclosionan, las larvas pueden tener entre uno a cuatro estadios de crecimiento; este proceso va a depender principalmente de la temperatura. Posteriormente, las larvas adultas se transforman en pupas cuya coloración blanca cambia progresivamente a color verde. Las pupas tienen un tamaño promedio de 3,5 mm (Canzanelli, 1935). Los adultos permanecen en la pupa de 2-6 días antes de que hayan madurado sexualmente y su coloración marrón esté completamente desarrollada (Edde, 2019).

Figura 1

Lasioderma serricorne Fuente: Instituto Colombiano Agropecuario, ICA.2022.



2.1.2 Generalidades de las plantas bajo estudio

2.1.2.1 *Cymbopogon martinii*. La especie *C. martinii* pertenece al género *Cymbopogon* (Familia Poaceae) conformado por más de 140 especies distribuidas en regiones tropicales y subtropicales del mundo y cuyas plantas se caracterizan por ser perennes con hojas largas y angostas (Nakahara, *et al.*, 2003). La planta se origina en la India, específicamente, del sur de este país (Thara Saraswathi *et al.*, 2014). Algunos de los compuestos de interés que se han identificado en el AE son geraniol y acetato de geranilo (Lawrence *et al.*, 2012; Rodríguez *et al.*, 2012). El AE de *C. martinii* ha sido utilizado para el tratamiento de patologías asociadas al sistema nervioso central y para la fabricación de lociones repelentes contra diferentes especies de insectos hematófagos (Arruda *et al.*, 2012).

Figura 2

Especie bajo estudio Cymbopogon martinii (Familia: Poaceae). Foto tomada por Johanna Rosero en el CENIVAM (UIS, Bucaramanga). Fecha: 26 de noviembre del 2022.



2.1.2.2 *Cymbopogon winterianus*. La especie *C. winterianus* (Familia Poaceae) es originaria del sureste de la India y crece en regiones tropicales y subtropicales del mundo (Shasany *et al.*, 2000). El AE obtenido de esta especie se usa comúnmente en los repelentes para insectos y perfumes (Verma *et al.*, 2019). El AE de *C. winterianus* posee actividad repelente, fumigante e insecticida contra una gran variedad de insectos como *Tribolium castaneum* (Devi *et al.*, 2019), *Callosobruchus maculatus* (Gusmão *et al.*, 2013), *Sitophilus zeamais* (de Araújo *et al.*, 2019) y otros vectores de enfermedades como el dengue (Tyagi *et al.*, 1998).

Figura 3

Especie bajo estudio *Cymbopogon winterianus* (Familia Poaceae). Foto tomada por Johanna Rosero en el CENIVAM (UIS, Bucaramanga). Fecha: 26 de noviembre del 2022.



2.1.2.3 *Lippia origanoides*. La especie *L. origanoides* pertenece a la familia Verbenaceae. El género *Lippia* lo conforman alrededor de 250 especies, típicos en los países del centro y sur de América y ciudades tropicales de África (Terblanché y Kornelius, 1996; Pascual *et al.*, 2001; de Oliveira *et al.*, 2014). Los compuestos químicos de interés

identificados en el AE de *L. origanoides* son el α -felandreno y β -felandreno, el limoneno, el *p*-cimeno, el timol, el carvacrol y sus éteres y ésteres (Stashenko *et al.*, 2010). El uso del AE como antiséptico y antimicrobiano ha sido reportado en la medicina tradicional (de Oliveira *et al.*, 2014; Veras *et al.*, 2017).

Figura 4

Especie bajo estudio Lippia origanoides (Familia Verbenaceae). Foto tomada por Johanna Rosero en el CENIVAM (UIS, Bucaramanga). Fecha: 25 de febrero del 2022.



2.1.3 Aceites esenciales

Los AE son mezclas multicomponente caracterizadas por ser altamente volátiles y por tener un olor distintivo. Los componentes de los AE pueden ser sintetizados en diferentes partes de las plantas (tallos, hojas, flores, semillas, frutos, entre otros) y almacenados en células secretoras como, por ejemplo, en tricomas glandulares (Bakkali *et al.*, 2008; Bilia *et al.*, 2018). Más de 17500 especies de plantas aromáticas pertenecientes a familias Lamiaceae, Rutaceae, Myrtaceae y Asteraceae son productoras de una gran diversidad de AE (Regnault *et al.*, 2012). Dentro de las principales funciones de los AE se encuentran las siguientes: atraer polinizadores o tener efectos benéficos sobre ellos; proteger a la planta, cuando se den

cambios en el clima y actuar como defensa química contra posibles depredadores, entre ellos, microorganismos y plagas (Pavela, 2015).

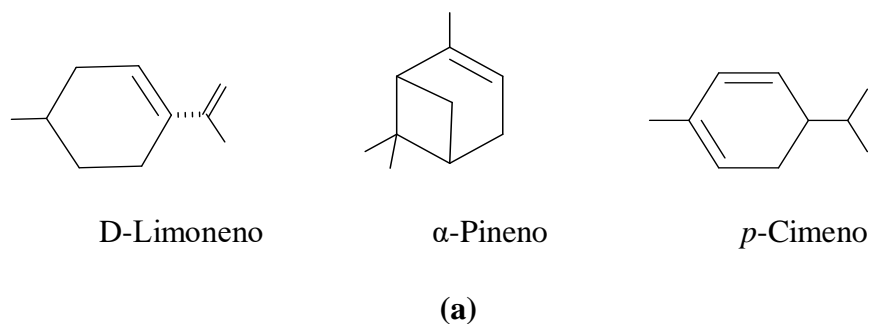
Dependiendo de la ruta sintética, los componentes de los AE pueden ser de tipo terpeno, formados por varias unidades de isopreno (2-metil-1,3-butadieno) y de tipo terpenoide los cuales se originan por alguna transformación bioquímica del terpeno (mediada por alguna enzima) en donde se ha generado una modificación en la estructura al adicionar átomos de oxígeno en ella y remover o adicionar grupos metilo (Burt, 2004). La ruta por la cual se sintetizan los monoterpénidos es de mevalonato que se genera en el citoplasma de la célula; en los plastidios, funciona la ruta del metileritriol fosfato.

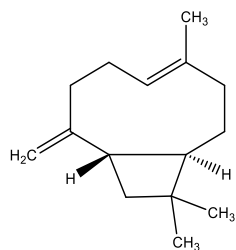
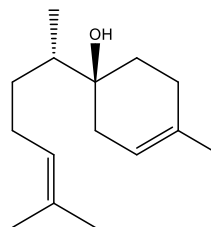
Los terpenos pueden clasificarse en: monoterpénidos conformados por dos unidades de isopreno (C_{10}); sesquiterpenos, constituidos por tres unidades de isopreno (C_{15}). En los AE se pueden encontrar también los compuestos aromáticos derivados del fenilpropano, que no son tan frecuentes como los monoterpénidos o sesquiterpenos. En la **Figura 5** se muestran algunos terpenos encontrados en los AE:

Figura 5

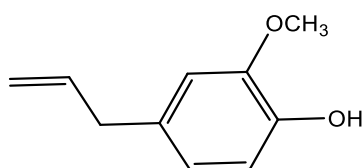
Tipo de componentes presentes en los AE: a. Monoterpenos; b. Sesquiterpenos; c.

Fenilpropanoides.

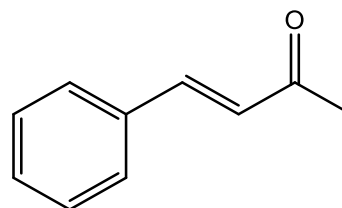


*(E)*-β-Cariofileno

(b) α-Bisabolol



Eugenol

*trans*- cinnamaldehído

(c)

2.1.4 Efectos biológicos de los AE

Los AE juegan un rol muy importante en la protección de plantas, ya que actúan como antivirales, antibacteriales, antifúngicos, insecticidas y también pueden disminuir el “apetito” de algunos herbívoros que se alimentan con estas plantas (Bakkali *et al.*, 2008). También, se ha reportado que los AE poseen actividad citotóxica (Zapata *et al.*, 2009), aunque debido a la presencia de múltiples componentes no se ha determinado que tengan un objetivo celular específico (Carson *et al.*, 2002). Debido a las características lipofílicas de los AE, sus componentes fácilmente ingresan a la pared celular y la membrana citoplasmática originando alteraciones en las diferentes capas de polisacáridos, ácidos grasos y fosfolípidos (Bakkali *et al.*, 2008). Otras alteraciones están relacionadas con la coagulación del citoplasma (Gustafson *et al.*, 1998) y daños en proteínas y lípidos (Burt, 2004; Ultee *et al.*, 2000). La

estructura del componente del AE y la dosis que se suministre, están directamente relacionados con el nivel de daño que puedan producir en la célula.

2.1.4.1 Cambios en los procesos bioquímicos generados por AE. El modo de acción a nivel molecular por el cual actúan los AE sobre diferentes especies de artrópodos, aún no ha sido completamente elucidado (Rattan, 2010). Investigaciones muestran que los AE pueden generar cambios en los procesos bioquímicos de los insectos, por ejemplo, quebrantar el balance endocrino; actuar como sustancias neurotóxicas o en otros casos, como reguladoras del crecimiento, produciendo variaciones en los caracteres morfológicos de los insectos (Pavela y Benelli, 2016). Se ha identificado que limoneno, β -mirceno, α -terpineol, linalool y pulegol poseen efectos neurotóxicos en artrópodos como la mosca doméstica y la cucaracha alemana (Coats *et al.*, 1991).

A continuación, se mencionan los principales neurosistemas en los insectos sobre los cuales pueden actuar los AE:

- **Sistema colinérgico:** inhibición de la acetilcolinesterasa (Aygün *et al.*, 2002; Singh y Singh, 2000)
- **Sistema GABA (ácido γ -aminobutírico):** bloqueo del canal GABA produciendo hiperexcitación del estado nervioso central, convulsiones y, posteriormente, la muerte (Bloomquist *et al.*, 2008).
- **Sistema mitocondrial:** afectación de la fosforilación de proteínas o algunos sistemas enzimáticos (Cheng y Fu, 1989).

- **Sistema octopaminérgico:** bloqueo de los receptores de la octopamina, una amina biogénica encargada de procesos neurotransmisores y neuromoduladores dentro del organismo del insecto (Evans,1981).

2.1.4.2 Efecto repelente. Las sustancias repelentes pueden actuar de tal forma que impidan que un insecto pueda volar, aterrizar o morder piel humana o animal (Blackwell, *et al.*, 2003). Aunque el mecanismo por el cual se genera este efecto aún no ha sido completamente elucidado a nivel molecular, algunos modelos plantean que en el proceso participan diferentes proteínas especializadas como las proteínas enlazantes de olores (OBP), las moléculas receptoras de olores (OR) y órganos sensoriales especializados como la antena y la linfa sensiliar en donde, al final del proceso, transforman la señal química en una señal eléctrica generando el proceso de atracción o repulsión dependiendo exclusivamente del olor percibido por el insecto (Leal, 2013; Portilla *et al.*,2019).

2.1.4.2.1 Órganos olfativos en los insectos. Estos órganos se conforman principalmente por la antena, que corresponde a un par de apéndices distribuidos en la cabeza del insecto, que llevan estructuras capilares nerviosas conocidas como sensilia. Esta última se puede describir como un complejo bipolar rodeado de celdas especializadas ubicadas de forma concéntrica y que, a su vez, forma elementos cuticulares. Es en este órgano donde residen las neuronas receptoras olfativas (ORN) (Keil, 1999). La cutícula del insecto actúa como un exoesqueleto que permite proteger los órganos internos del insecto y la entrada de moléculas hacia el interior del sistema olfativo, función mediada por la presencia de poros y túbulos especializados (Andersen, 1979; Steinbrecht, 1997). En el interior del sistema olfativo se encuentra la linfa sensiliar que es un líquido iónico compuesto por los OBP solubles en agua

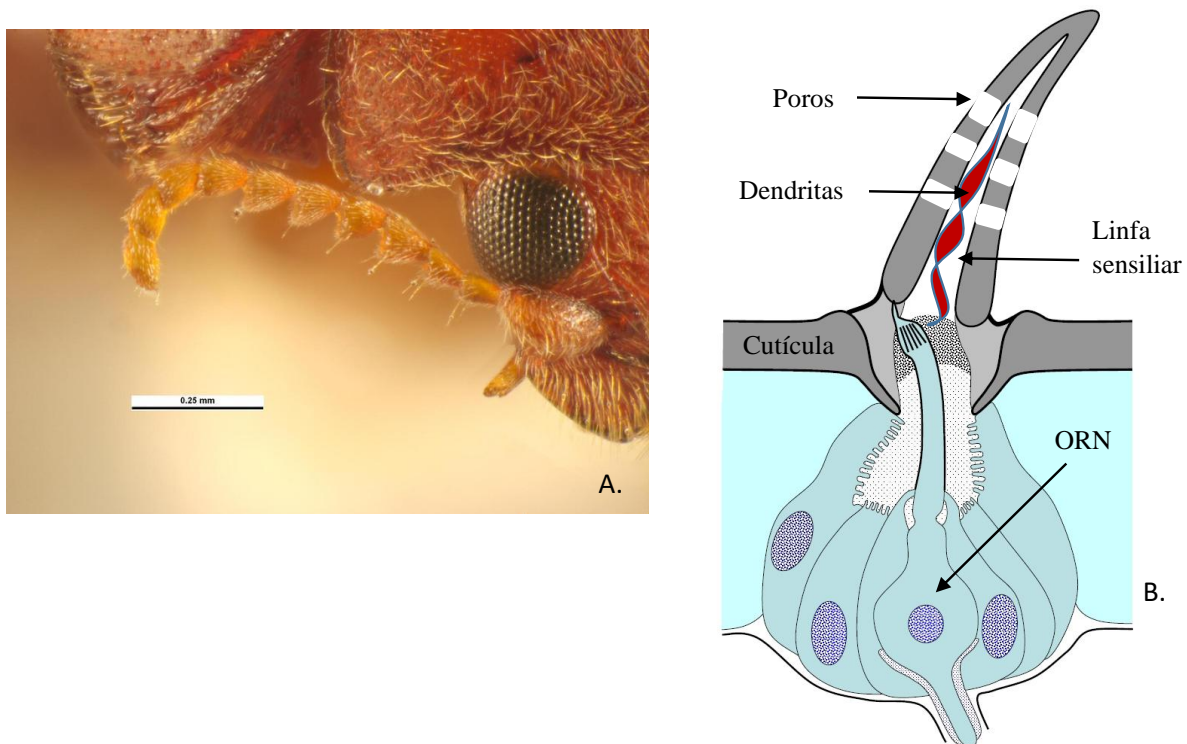
EFECTO REPELENTE DE ACEITES ESENCIALES Y FRACCIONES

y las dendritas de las neuronas sensoriales (Vogt y Riddiford, 1981; Klein 1987; Pelosi y Maida 1995). En la **Figura 6** se puede observar, de forma general, la estructura de la antena de *L. serricorne* y la organización de la sensilia.

Figura 6

Estructura de: A. La antena de Lasioderma serricorne y B. La sensilia Fuente: Pest and diseases image library y https://cronodon.com/BioTech/insect_mechanoreceptors.html.

Fecha de acceso: 9 de febrero del 2023.



2.1.4.2.2 Proteínas enlazantes de olores. Los OBP hacen parte de una familia de proteínas conocidas como lipocaínas y tienen como función el transporte de moléculas hidrofóbicas en medio acuoso, a través de la linfa sensiliar (Pevsner *et al.*, 1988). Estas proteínas se caracterizan por tener un patrón compuesto por no más de seis residuos del

aminoácido cisteína. Se sabe que este patrón se conserva en la mayor parte de órdenes de insectos (Pelosi *et al.*, 2006).

Existen diferentes tipos de proteínas asociadas con la recepción de olores. Su clasificación depende de las secuencias de aminoácidos que las conforman y, entre ellas, se encuentran (Rihani *et al.*, 2021) las siguientes:

Proteínas enlazantes de feromonas (PBP).

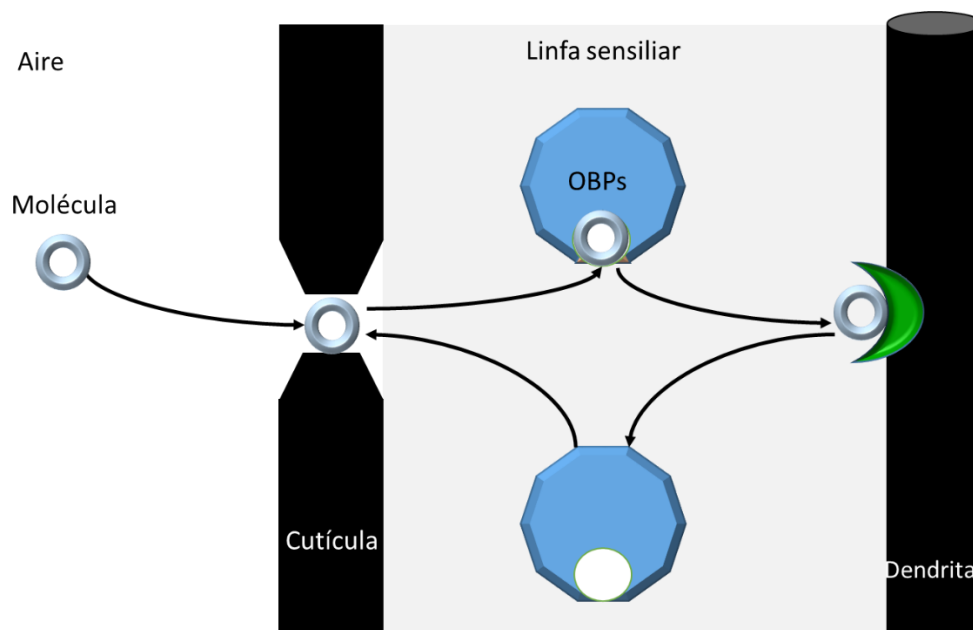
Proteínas enlazantes de olores generales (GOBP)

Proteínas de unión antenal (ABP)

2.1.4.2.3 Mecanismo para la recepción de olores. El mecanismo para la recepción de olores se muestra en la **Figura 7**. Las moléculas odoríferas se detectan por la antena del insecto y migran hacia los poros de la cutícula. En este sitio, los OBP específicos se encargan de reconocer, disolver y enlazar a las moléculas volátiles hasta atravesar la linfa sensiliar y llegar hasta los receptores de olores (OR). Estos receptores se encuentran con las dendritas de las neuronas sensoras de olores (OSN) generando posteriormente una traducción de esa señal química que puede producir procesos de permeabilización de la membrana y, finalmente, generar el impulso nervioso mediante el cual el insecto iniciará una respuesta hacia el estímulo (Schymura *et al.* 2010; Fan *et al.*, 2011; Jacquín-Joly y Merlin, 2014).

Figura 7

Modelo de interacción entre los compuestos volátiles y los OBP presentes en la linfa sensiliar. Figura tomada de Sun et al. (2018).



2.1.4.3 Métodos para medir el efecto biológico de aceites esenciales sobre insectos. En la **Tabla 1** se describen, de forma general, algunas pruebas para medir el efecto que pueden tener los compuestos volátiles sobre una población de insectos.

Tabla 1

Descripción general de algunos métodos para determinar actividad biológica sobre insectos.

Tipo de ensayo	Descripción del método
Fumigante	Se llena completamente un área determinada con compuestos volátiles y se determina el porcentaje de mortalidad en la población de insectos adicionada (Khani y Heydariahn, 2014).
Insecticida por contacto	El insecto entra en contacto directo con la sustancia por evaluar y se determina el porcentaje de mortalidad (Agrafioti y Athanassiou, 2018).
Tabla 1. Continuación.	
Repelente	Se determina la preferencia del insecto por la región donde se adiciona una cantidad específica de sustancia por evaluar o la sustancia control (Khani y Heydariahn, 2014).

2.1.5 Métodos para la obtención de aceites esenciales

Teniendo en cuenta que la composición química de los AE es variable, se deben considerar factores cruciales para su destilación que incluyen la selección del método, variables como tiempo y temperatura, la procedencia de la planta y las condiciones geobotánicas y agrícolas de su cultivo (Stashenko, Jaramillo y Martínez, 2003). Adicionalmente, en la elección de la técnica para obtener estos metabolitos se debe considerar si los compuestos pueden degradarse en presencia de oxígeno o luz (Rodríguez *et al.*, 2012). Aunque existen varias técnicas para la obtención de los AE, solo los métodos que se describen en la **Tabla 2** permiten tal fin (Stashenko, 2009).

Tabla 2

Métodos para la obtención de aceites esenciales.

Método de obtención del AE	Descripción del método
Arrastre con vapor	El material vegetal se pone en contacto con vapor seco sobrecalentado (producido por una caldera).
Destilación con agua vapor	El material vegetal ubicado sobre una malla encima de una cantidad determinada de agua tiene contacto directo con el vapor húmedo producido por su ebullición.
Hidrodestilación	El material vegetal se sumerge al agua que se calienta hasta ebullición.

Una vez se efectúa el rompimiento de las células y tejidos en donde se encuentran los componentes volátiles por medio de las moléculas de agua, ya sea en estado líquido o de

vapor, los componentes se arrastran en una mezcla volátil, la que finalmente se condensa en un refrigerante y se separa del agua remanente por decantación (Stashenko, 2009). Las técnicas mencionadas no requieren el uso, por ejemplo, de disolventes orgánicos lo que las hace de especial interés para sectores de la industria farmacéutica y de alimentos (Bakkali *et al.*, 2008).

2.1.6 Destilación fraccionada

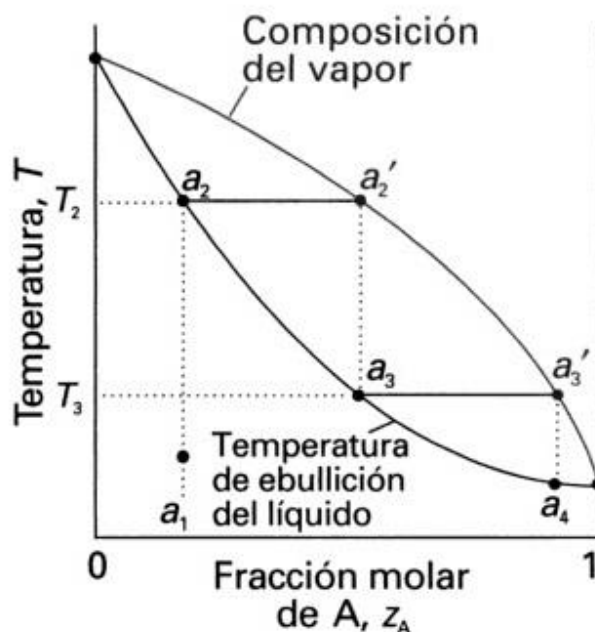
La destilación fraccionada es una técnica que permite separar los componentes volátiles de una mezcla, según la diferencia de composición entre un líquido y el vapor en equilibrio con este. Los componentes más volátiles son concentrados en la fase vapor (Robards *et al.*, 2004). Durante el proceso, parte del vapor condensado, el reflujo, regresa al reservorio encontrando al vapor generado en forma ascendente. Un incremento en la temperatura del proceso permite la formación de múltiples ciclos de evaporación y condensación, hasta que se obtiene el primer constituyente como destilado que tenga el menor punto de ebullición. Factores como la longitud de la columna de fraccionamiento y el radio de reflujo son cruciales en este proceso, en donde se generan múltiples intercambios de masa-calor. Esta técnica permite la separación de compuestos que tengan diferencias de temperaturas de ebullición hasta de 0,5 °C, valor que puede disminuir hasta 0,05 °C, dependiendo de la columna de destilación (longitud, diámetro interno, giro, presión, etc.)

2.1.6.1 Diagramas de temperatura-composición. El proceso de destilación se explica con diagramas de fases que relacionan la composición de las fases que están en equilibrio a distintas temperaturas (Atkins y de Paula, 2008). En la **Figura 8** se puede

observar, a grandes rasgos, un diagrama temperatura-composición para una mezcla binaria. Se debe tener en cuenta que el compuesto que tenga menor punto de ebullición predominará en la fase vapor. El espacio entre las dos líneas (a_2 - a_2') comprende la región donde las dos fases coexisten en el equilibrio (Smith *et al.*, 2008).

Figura 8

Diagrama temperatura-composición para una mezcla binaria. Tomado de Atkins y de Paula (2008).



2.1.6.2 Destilación fraccionada al vacío. Frecuentemente, los componentes puros presentes en los AE poseen propiedades farmacológicas mayores que las que se reportan en el AE crudo (Markovic *et al.*, 2017). Es por ello, que se han diseñado técnicas para hacer una separación más eficiente y una concentración de sus componentes para evaluar estas propiedades. Operaciones unitarias como la destilación fraccionada permiten la separación

de uno o más compuestos presentes en una mezcla teniendo en cuenta diferencias de sus puntos de ebullición. El proceso depende de las condiciones de presión, temperatura y las propiedades fisicoquímicas de sus componentes (Foust *et al.*, 1982). Procesos de degradación de los compuestos debido a temperaturas altas, oxidación y contacto con la luz pueden ser controlados por medio de esta técnica que permite utilizar presiones altas y un control de la temperatura por lo cual, componentes que tengan puntos de ebullición bajos como en el caso de algunos monoterpenos, puedan ebullicir a temperaturas menores, sin correr el riesgo de ser químicamente alterados.

2.1.6.3. Destilación fraccionada al vacío con banda giratoria (*Spinning band distillation*). En esta técnica se emplea una banda helicoidal giratoria, que crea un número alto de platos teóricos. Esta banda está hecha a base de materiales inertes como teflón o algunos metales (Bin, 2006). En la columna se genera un empuje axial debido a los helicoides que se forman en la banda espiral. Cuando la banda giratoria rota a altas velocidades y en la dirección correcta, fuerza al reflujo a correr hacia abajo de las paredes de la columna de una forma rápida y uniforme lo que permite que no haya problemas de inundamiento de la misma. Por medio de esta metodología, se pueden obtener destilados de alta pureza con puntos de ebullición cercanos debido al número de platos teóricos alto. Las caídas de presión desde el tope hasta el fondo de la columna son mínimas comparadas con lo que se obtiene usualmente con una columna empacada, lo que resulta en una ventaja para aquellos compuestos que se descomponen cuando se calientan rápidamente. La cantidad de destilado que se pierde durante el proceso es pequeña (Bin, 2006).

2.1.7 Caracterización química de AE por GC/FID y GC/MS

La cromatografía de gases (GC) y, particularmente, cuando se combina con la espectrometría de masas (GC/MS) permite la cuantificación y la identificación de los componentes presentes en los AE. El proceso de separación por GC está definido por las diferentes constantes de distribución, K_D , de los compuestos entre la fase móvil (gas inerte) y la fase estacionaria, unida (*bonded*) a la pared de una columna capilar hecha de sílice fundida. Los compuestos eluyen de la columna y pasan hacia un detector en donde se registra una señal eléctrica, proporcional a la cantidad de sustancia en la muestra. La elución de los compuestos está dada por su afinidad por la fase estacionaria. El acople entre la GC y la espectrometría de masas (MS) se lleva a cabo gracias a la inserción de la columna cromatográfica capilar de forma directa a la cámara de ionización, donde se aplica un voltaje de 70 V, que permite la ionización con electrones de las moléculas en sus fragmentos constituyentes, que se aceleran, coliman y se dirigen al analizador de masas. El analizador separa las especies cargadas, según su relación masa: carga (m/z) (Stashenko y Martínez, 2010). Adicionalmente, la técnica GC/MS permite identificar los compuestos presentes inclusive en los picos cromatográficos no resueltos y asignarles cantidades relativas a cada uno de ellos, aunque para este caso una resolución total de los picos permitiría, por supuesto, hacer su cuantificación mucho más precisa (Marriott *et al.*, 2001).

Una técnica utilizada para el análisis de compuestos volátiles acoplada a GC/MS es la técnica de HS-SPME, la cual se basa en la sorción de los analitos sobre una fibra recubierta con un polímero, que permite aislarlos y concentrarlos (Pawliszyn, 1997). Los compuestos posteriormente se desorben en el inyector del cromatógrafo. Para hacer SPME, se requiere

una pequeña cantidad de muestra, no hay uso de solventes, el tiempo de análisis es corto y se mantiene o mejora la sensibilidad (Stashenko y Martínez, 2007).

La cromatografía de gases acoplada a un detector por ionización en llama (GC/FID) permite determinar los índices de retención lineales de los componentes volátiles y cuantificar los componentes de la muestra. La combinación de la información obtenida de los espectros de masas y de los índices de retención lineales para cada uno de los compuestos, comparados con los reportados en diferentes bases de datos (Adams, NIST y Wiley) permite caracterizar químicamente los analitos (Baharum *et al.*, 2010; Marriott *et al.*, 2001). Los índices de retención propuestos por Kovàts empleaban una ecuación logarítmica para cromatogramas obtenidos bajo condiciones isotérmicas (Kovàts, 1958). Posteriormente, van den Dool y Kratz (1963) desarrollaron unos cambios en esta ecuación para aplicarla a separaciones hechas con temperatura programada. Los índices de retención lineales combinan dos parámetros cromatográficos fundamentales que son el tiempo de retención y el volumen de retención específico. De esta forma, el índice de retención lineal de un compuesto se calcula teniendo en cuenta su tiempo de retención relativo con respecto a los *n*-alcanos que eluyen inmediatamente antes y después del compuesto de interés (Babushok *et al.*, 2011).

En GC usualmente se emplean columnas capilares con longitudes entre 25-50 m, diámetros internos entre 0,20-0,32 mm y fases estacionarias con espesor de película de 0,25 μm . Se debe tener en cuenta que el uso de columnas con diferentes fases estacionarias permiten separaciones diferentes. El proceso de separación en las columnas apolares sucede según los puntos de ebullición de componentes de la mezcla, mientras que, en columnas

polares, la separación depende de los momentos dipolares de los compuestos. Por ejemplo, si se emplea una columna apolar para separar compuestos como los terpenos y sus derivados oxigenados, éstos eluirán con diferencias estrechas en los tiempos retención ya que poseen temperaturas de ebullición cercanas. Para separarlos mejor, es posible hacer un calentamiento más lento del horno cromatográfico, o usar columnas más largas o más delgadas (Can y Buchbauer, 2016). Otra alternativa es utilizar una columna polar donde los terpenos y los derivados oxigenados se separarán, según su polaridad.

2.1.8 Encapsulación de aceites esenciales

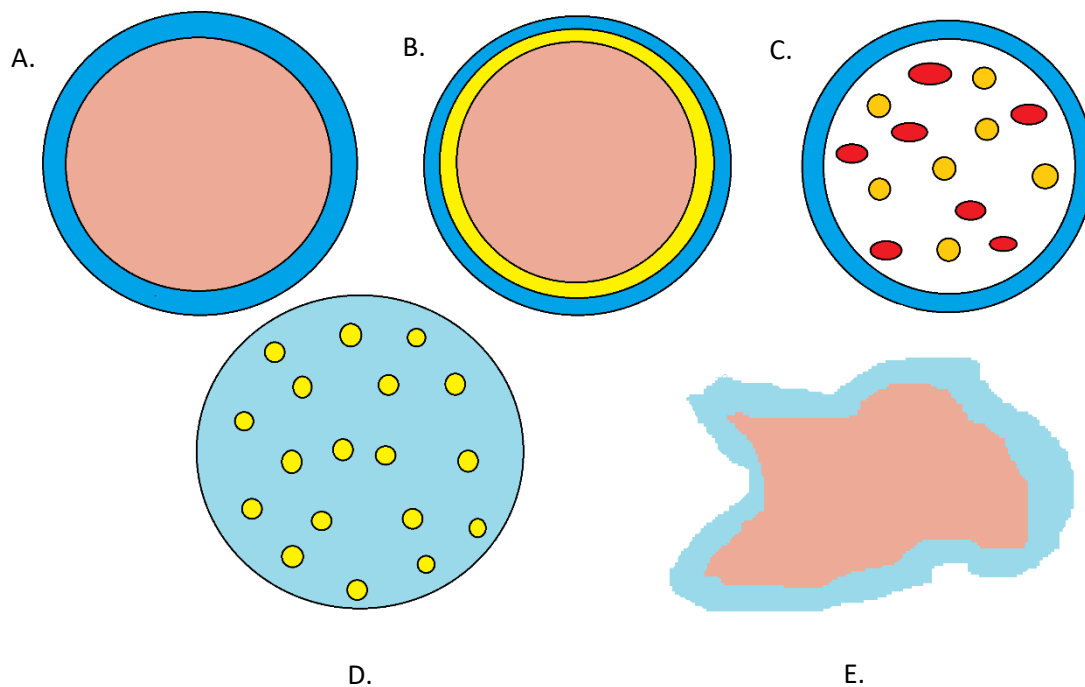
Los procesos de encapsulación han sido utilizados en diferentes sectores de la industria farmacéutica, cosmética, en biotecnología, así como también en la producción química y la ingeniería eléctrica (Hack *et al.*, 2012). El uso de los AE en estos sectores está enfocado en la fabricación de perfumes, ingredientes naturales, colorantes, bioinsecticidas; sin embargo, debido a la facilidad que tienen estas matrices de descomponerse al estar expuestas a calor, humedad, luz y oxígeno (Scott, 2005), se ha hecho necesario el desarrollo de métodos que permitan la conservación de los AE, usualmente expuestos a diferentes procesos de almacenamiento y manipulación. Cabe resaltar, que dentro de los procesos de degradación están reacciones de isomerización, ciclación, deshidrogenación y oxidación provocadas por agentes químicos o enzimáticos.

Para que los AE no experimenten procesos tempranos de degradación, se han implementado estrategias para crear membranas externas o recubrimientos sobre las matrices de interés con el fin de preservar los compuestos bioactivos. Existen diversos tipos de morfología de las cápsulas, que dependen de la disposición del material encapsulante. En la

Figura 9 se observan algunas formas que pueden tomar las cápsulas formadas. Las cápsulas con forma monocuclear se caracterizan por tener una capa externa alrededor del núcleo; las cápsulas polinucleares poseen varios núcleos que son atrapados dentro de una capa. Las cápsulas tipo matriz tienen una distribución uniforme de los compuestos dentro del material encapsulante. Las formas de las cápsulas pueden ser irregulares o monocucleares con múltiples capas (Kim *et al.*, 2004). Otras áreas como la nanotecnología también han estudiado, producido y aplicado estrategias de encapsulación de biomoléculas a través de materiales que tengan tamaños menores que los 1000 nm conocidos como nanopartículas (10^{-9} m) (Bawa *et al.*, 2005; Bagchi *et al.*, 2013). Este proceso conocido como nanoencapsulación es un área que no ha sido tan ampliamente estudiada como es el caso de la microencapsulación (Quintanilla *et al.*, 2010). De forma general, las nanopartículas pueden ser de dos clases: nanoesferas, que son sistemas matriciales donde el agente activo está física y uniformemente disperso, y nanocapsulas, en las que el agente activo está confinado en una cavidad rodeado por una única membrana de tipo polimérica (Bilia *et al.*, 2018).

Figura 9

Representación esquemática de diferentes clases de cápsulas. A. Monocuclear o simple; B. Multicapa; C. Polinuclear; D. Matriz y E. Irregular. Fuente: Mohamadi et al. (2017).



2.1.8.1 Materiales poliméricos para la encapsulación de aceites esenciales. Los polímeros son macromoléculas que se originan por la unión de un gran número de moléculas de bajo peso molecular, denominadas monómeros (Gad, 2014). Estos materiales poliméricos empleados en los procesos de encapsulación pueden ser de origen natural (biopolímero) o sintético; pueden ser biodegradables o no. En la **Tabla 3** se muestran algunos ejemplos comunes de polímeros empleados en encapsulación.

Tabla 3

Polímeros empleados en procesos de encapsulación.

Clase de polímero	Formación y obtención	Ejemplos
Biopolímero	Polisacáridos formados en la naturaleza a través de diferentes ciclos, en plantas, animales, bacterias y hongos.	De origen vegetal como pectina, celulosa, goma arábica, alginatos De origen microbiano o animal: goma xantán, goma gellán y quitosán Proteínas como albumina, gelatina, soya, proteínas hidrolizadas y caseína (Bilia <i>et al.</i> , 2018).
Polímero sintético	Obtenidos industrialmente por la reacción entre los monómeros constituyentes.	Poli(etileno), poli(etilenglicol), estireno y el nylon, entre muchos otros. (Gad, 2014).

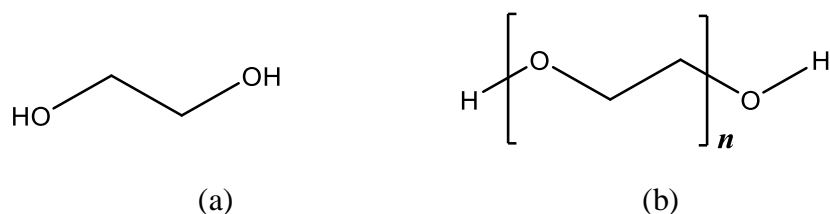
Se ha reportado también el uso del polímero sintético, poli(etilenglicol) (PEG), usado en los procesos de encapsulamiento de compuestos bioactivos, gracias a sus excelentes propiedades fisicoquímicas y biológicas, entre las cuales se destacan hidrofiliidad alta, solubilidad en agua y en solventes orgánicos y no toxicidad. El PEG tiene como fórmula estructural general $H-[-O-CH_2-CH_2-]_n-OH$, donde n corresponde al número promedio de unidades de etilenglicol (**Figura 10**) (Parray *et al.*, 2020). El PEG puede tener pesos moleculares de lo cual dependerá su estado de agregación así: estado líquido a temperatura ambiente (PEG 200-600 Da), semisólidos (PEG 1500 Da), sólidos semicristalinos (PEG 3000-20000 Da) y resinas sólidas (> 100000 Da) (Craig, 1993). Debido a estas características, PEG ha sido utilizado para crear una barrera estérica hidratada de características hidrofílicas en la superficie de las nanopartículas (Herold *et al.*, 1989). Cabe resaltar la capacidad que posee este polímero para mejorar y facilitar el transporte de macromoléculas bioactivas a través del intestino y epitelios nasales (Tobí y Sa, 2000; Vila *et*

al., 2002; Prego *et al.*, 2006), lo que permite catalogarlo como una excelente alternativa para su uso en la industria farmacéutica, de alimentos y en el diseño de nanopesticidas.

Figura 10

Fórmula estructural del compuesto etilenglicol en su forma monomérica (a) y polimérica (b)

Adaptado de Buzova et al. (2012).



2.1.8.2 Métodos para la encapsulación de aceites esenciales. Existen diferentes técnicas, ampliamente reportadas (Specos *et al.*, 2010; López *et al.*, 2014; Rakmai *et al.*, 2017; Hadian *et al.*, 2018) para la encapsulación de los AE como, por ejemplo, secado por pulverización, coacervación compleja, formación de ciclodextrinas, entre otras. Sin embargo, todas requieren un gasto significativo de tiempo y reactivos para su realización. El proceso de encapsulación por dispersión del polímero fundido es una técnica de bajo costo, conveniente y relativamente rápida para llevar a cabo este propósito. El uso de temperaturas mucho más bajas en comparación con metodologías como la de secado por pulverización, resulta favorable para evitar la descomposición o evaporación de componentes que presenten puntos de ebullición bajos. El tamaño de partícula puede ser controlado por medio de un ajuste de variables como la velocidad de agitación, el tipo y la cantidad del agente dispersante, la viscosidad de las fases orgánica y acuosa y la temperatura (Tice y Gilley, 1985). Los procesos de encapsulación pueden estar enfocados en una reducción del tamaño de partícula de los materiales de partida al impartir una forma específica al material, así como

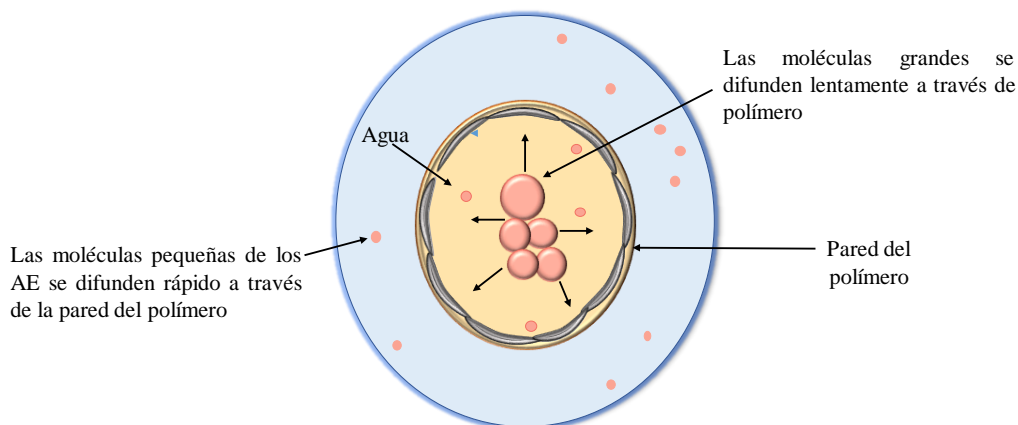
también en el uso de factores como temperatura, pH, concentración de los reactivos y la fuerza iónica para autoensamblar y auto-organizar las moléculas que harán parte del material (Augustín y Sanguansri, 2009). Cada metodología permitirá obtener la morfología ideal entre el material encapsulante y los componente activos (Chau *et al.*, 2007).

2.1.8.3 Factores que afectan la liberación de los compuestos volátiles.

Los compuestos volátiles presentes en un encapsulado pueden tener una migración desde la matriz polimérica al medio externo, en un periodo de tiempo determinado (Saifullah *et al.*, 2019). Esto se llama “tasa de liberación”, que puede depender de varios factores como coeficiente de distribución del compuesto, procesos de difusión y transferencia de masa, peso molecular y estructura química del compuesto (Yang, 2012; Zuidam y Heinrich, 2012). Dentro de los principales mecanimos de liberación de las moléculas desde las cápsulas se encuentra el proceso de difusión, cuando las moléculas se mueven desde un medio de mayor concentración hacía uno de menor concentración (Vishwakarma *et al.*, 2016). En la **Figura 11** se puede observar esquemáticamente como es el proceso de difusión de algunas moléculas en un medio encapsulante.

Figura 11

Proceso de difusión en moléculas encapsuladas. Tomado y adaptado de: Vishwakarma et al. (2016).



2.2 Marco de antecedentes

Usando la base de datos *Scopus* se llevó a cabo una búsqueda y análisis de los reportes bibliográficos que han aparecido en la literatura científica en los últimos veinte años. Se usaron las palabras clave: *Cymbopogon martinii*, *C. winterianus*, *Lippia origanoides* y actividad repelente; se obtuvo un total de 30 registros distribuidos para cada especie de la siguiente forma: *C. martinii* (5); *C. winterianus* (17) y *L. origanoides* (8) (**Figura 12**). Las áreas de investigación, donde se registra un mayor número de publicaciones sobre la evaluación del efecto repelente de los AE de *C. martinii*, *C. winterianus* y *L. origanoides* indistintamente del artrópodo empleado son las ciencias agrícolas y biológicas y medicina (**Figura 13**).

Figura 12

Número de publicaciones sobre el efecto repelente de C. winterianus, C. martinii y L. origanoides. Fuente: Scopus (Elseiver). Periodo de observación: 2003-2023. Fecha de

EFECTO REPELENTE DE ACEITES ESENCIALES Y FRACCIONES

consulta: 24 de febrero del 2023. Ecuación de búsqueda: TITLE-ABS-KEY (“Nombre de cada especie and repellent activity”)

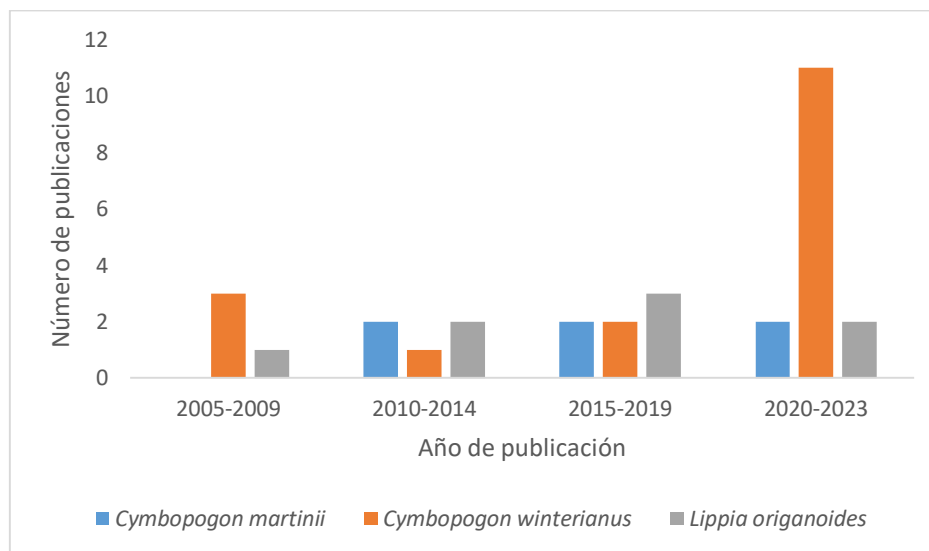
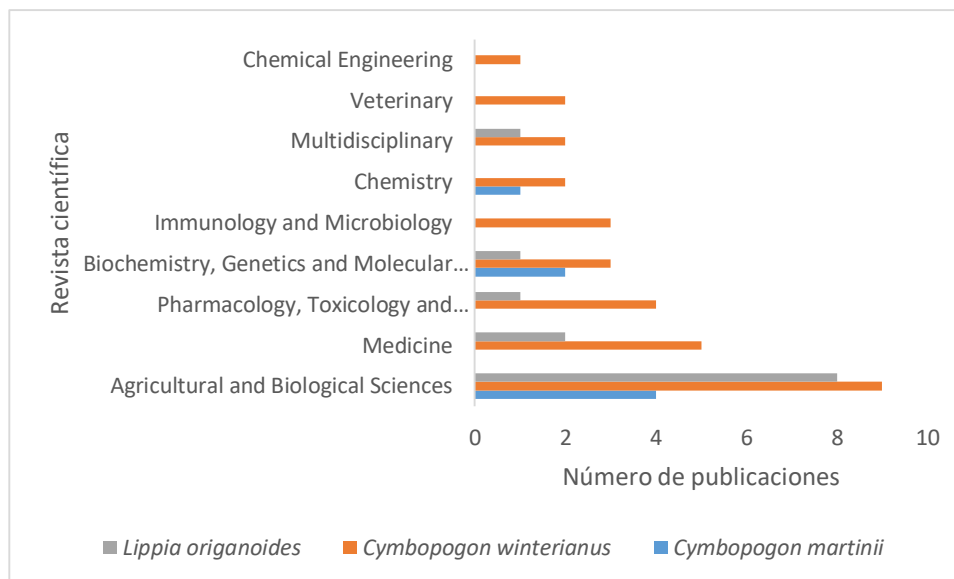


Figura 13

Áreas de investigación donde se ha estudiado el uso de las especies *C. winterianus*, *C. martinii* y *L. origanoides* para evaluar su actividad repelente. Fuente: Scopus (Elseiver).
Periodo de observación: 2003-2023. Fecha de consulta: 24 de febrero del 2022. Ecuación de búsqueda: TITLE-ABS-KEY (“Nombre de cada especie and repellent activity”)

EFECTO REPELENTE DE ACEITES ESENCIALES Y FRACCIONES



En una segunda búsqueda bibliográfica se incluyeron nuevamente las palabras-clave: *Cymbopogon martinii*, *C. winterianus*, *Lippia origanoides*, actividad repelente y *Lasioderma serricorne*. Solo se encontraron tres reportes para la especie *C. martinii* enmarcadas en las áreas de las ciencias agrícolas, biológicas y mediambientales. Para las otras especies bajo estudio no se encontraron publicaciones con los criterios de búsqueda mostrados, en esta base de datos (*Scopus*).

Los siguientes son los principales trabajos sobre la actividad repelente de los AE de *C. martinii*, *C. winterianus* y *Lippia origanoides*, su fraccionamiento y evaluación de procesos de encapsulación.

Ramadan *et al.* (2020) estudiaron el efecto repelente de algunos terpenoides [R-(+)-pulegona, carvacrol, geraniol], DEET (*N,N*-Dietil-3-metilbenzamida) y una mezcla de ácidos grasos de cadena corta (C₈-C₁₀) sobre *L. serricorne* y *Rhyzopertha dominica*. Para la concentración más baja (6,25 µg/cm²), los porcentajes de repelencia más altos se obtuvieron

EFECTO REPELENTE DE ACEITES ESENCIALES Y FRACCIONES

con carvacrol (56 ± 14 %) y la mezcla de ácidos grasos ($76\pm 7,4$ %) sobre *L. serricorne*. Para el caso de *R. dominica* los mayores porcentajes de repelencia con la concentración más baja aplicada se obtuvieron con carvacrol ($88\pm 7,3$ %) y el DEET ($76\pm 8,1$ %). Con geraniol se obtuvieron porcentajes de repelencia $> 70\%$ para ambas especies de insectos, usando la concentración de $12,5 \mu\text{g}/\text{cm}^2$. Zhou *et al.* (2018) determinaron porcentajes de repelencia similares al exponer adultos de *L. serricorne* al AE de *Artemisia lavandulaefolia* (Familia Compositae) a 2 h (82 ± 15 %) y 4 h (92 ± 6 %). Los compuestos mayoritarios identificados en el AE fueron camazuleno (40,4%), 1,8-cineol (16,0%), (*E*)- β -cariofileno (11,5%) y β -farneseno (5,3%). La medición del porcentaje de repelencia de los compuestos individuales mostró una mayor actividad repelente para el 1,8-cineol (46 ± 12 %) y el camazuleno (26 ± 21 %) para la concentración más baja de $0,13 \text{ nL}/\text{cm}^2$. El porcentaje de repelencia para (*E*)- β -cariofileno fue en general baja ($< 60\%$) para todas las concentraciones aplicadas.

Wu *et al.* (2015), obtuvieron para los compuestos oxigenados alcanfor (17,6%) y eucaliptol (15,1%) en el AE de *Alpinia kwangsiensis* (Familia Zingiberaceae) valores altos de toxicidad por contacto ($11,3 \mu\text{g}/\text{g}$ de adulto $15,6 \mu\text{g}/\text{g}$ de adulto) y fumigante ($2,9$ y $5,1 \mu\text{g}/\text{L}$ de aire), respectivamente. Sin embargo, estos resultados no se observaron con los hidrocarburos monoterpénicos α -pineno (11,2%) y β -pineno (10,5%), también presentes en el aceite estudiado.

La actividad fumigante y la toxicidad por contacto han sido atribuídas por Wang *et al.* (2015) a la presencia de hidrocarburos sesquiterpénicos. En su investigación, los autores analizaron por GC/MS la composición química del AE de *Zanthoxylum dissitum*, en las hojas identificaron compuestos mayoritarios δ -cadinol (12.8%), (*E*)- β -cariofileno (12.7%), β -cubebeno (7.9%), 4-terpineol (7.5%), germacren D-4-ol (5.7%), τ -muurolol (4.5%), cubenol

EFECTO REPELENTE DE ACEITES ESENCIALES Y FRACCIONES

(4,3%) y, en las raíces, detectaron, principalmente, el epóxido de humuleno II (29.4%), óxido de cariofileno (24.0%), cubenol (4.1%), estragol (3,9%) y linalol (3,8%). La actividad fumigante frente a *L. serricorne*, para la menor concentración del AE (2%), fue más alta en las hojas (10±10) en comparación con las raíces (0). El ensayo de toxicidad por contacto presentó los valores más altos (33,3±15,3, hojas y 100±0, raíces) para la concentración más alta (50%) del AE.

Devi *et al.* (2019) evaluaron el efecto repelente del AE de *C. martinii* contra *T. castaneum* y encontraron un porcentaje de repelencia del 92%, para la concentración de 1,41 $\mu\text{L}/\text{cm}^2$. A su vez, este AE fue evaluado por Devi *et al.* (2020) contra el artrópodo *Sitophilus oryzae* (L.) y, aunque presentó el efecto fumigante más pequeño en comparación con el del AE de *C. flexuosus* y *C. winterianus*, el ensayo de toxicidad por contacto mostró alta toxicidad al aplicar una dosis de 2,6 $\mu\text{L}/\text{cm}^2$, después de 24 h de exposición. En ambas investigaciones, se identificaron por GC/MS componentes mayoritarios en el AE de *C. martinii*, geraniol y acetato de geranilo, neral (Devi *et al.*, 2019) y linalool (Devi *et al.*, 2020). Estos compuestos se identificaron en otra investigación (Lima *et al.*, 2013) para evaluar el efecto insecticida de *C. martinii* sobre termitas (*Nasutitermes corniger*) y se reportó un valor significativo de LD₅₀ de 1.43 μg de aceite/mg de insecto, después de 48 h de exposición.

Jeyasankar *et al.* (2016) llevaron a cabo un estudio de repelencia en los AE obtenidos a partir de *Corymbia citriodora*, *Cymbopogon nardus*, *Syzygium aromaticum* L., *Gaultheria procumbens* L. y *C. citratus* sobre *T. castaneum* Herbst. Los autores reportaron repelencias del 63% al trabajar con la concentración más alta (20 $\mu\text{L}/\text{mL}$). De igual forma, la actividad larvicida contra el insecto incrementó a medida que el tiempo de exposición pasó de 24 h a

96 h. Liciardello *et al.* (2013) reportaron el uso del AE de citronela para la elaboración de empaques para almacenar alimentos con el fin de generar un efecto repelente sobre *T. castaneum*. Evidenciaron valores de repelencia significativos en el rango de concentración de 0,0005 a 0,02 $\mu\text{L}/\text{cm}^2$. Dentro de los compuestos, extraídos por la técnica de *head space* SPME-múltiple, se encontraron citronelol, geraniol y sus acetatos, citronelal y eugenol. La actividad repelente también se evidenció en un aceite comercial de citronela, para la concentración de 0,2 g/m^2 sobre tableros de cartón cubiertos con látex de arcilla. La infestación con *T. castaneum* se redujo hasta en un 50% y hasta por 16 semanas. Materiales hechos a base de cartón se emplean usualmente para el almacenamiento de cereales, confites y alimentos para mascotas (Wong *et al.*, 2005). La actividad repelente de *L. serricorne*, sin embargo, fue baja en comparación con la de *T. castaneum*. Wu *et al.* (2015) encontraron que, el AE de *Liriope muscari* tenía un alto porcentaje de repelencia ($84 \pm 7\%$) sobre *T. castaneum*, para la concentración más baja (3,15 nL/cm^2). Sin embargo, este resultado solo alcanzó un porcentaje de repelencia de $18 \pm 8\%$, al usarlo sobre *L. serricorne*, bajo las mismas condiciones, mostando que *T. castaneum* tiene una mayor susceptibilidad al AE que la segunda especie en estudio. En la concentración más baja (0,13 nL/cm^2), la actividad repelente se logró medir solo para *T. castaneum* ($72 \pm 8\%$), ya que para *L. serricorne* aunque se reportó un valor pequeño ($8 \pm 21\%$), el error asociado a la medida fue muy alto, por lo que no se pudo dar una conclusión definitiva sobre el ensayo bajo estas condiciones.

La actividad repelente contra *T. castaneum* del AE de *L. organoides* ha sido reportada por Caballero *et al.* (2012). En su investigación, los autores evaluaron los AE de las especies *C. martinii*, *C. flexuosus* y *L. organoides*. Todos los AE evaluados contra el artrópodo fueron más efectivos como repelentes en comparación con el repelente comercial

EFECTO REPELENTE DE ACEITES ESENCIALES Y FRACCIONES

IR₃₅₃₅ [etil 3-(N-acetil-N-butilamino) propionato]. Los AE presentaron una baja toxicidad, mostrando menos del 20% en letalidad a una concentración máxima probada de 1,2 $\mu\text{L}/\text{cm}^2$. La especie *C. martinii* ($46 \pm 10\%$, 2 h y $35 \pm 7\%$, 4h) exhibió un efecto repelente mayor en comparación con las especies *C. flexuosus* ($20 \pm 9\%$, 2 h y $25 \pm 10\%$, 4h) y *L. origanoides* ($19 \pm 7\%$, 2 h y $22 \pm 4\%$, 4 h), al evaluar la concentración del AE más baja ($0.00002 \mu\text{L}/\text{cm}^2$). El estudio reporta que no hubo diferencias estadísticamente significativas al comparar los tratamientos hechos a 2 h y 4 h.

Nerio *et al.* (2009), determinaron la actividad repelente de los AE de *C. citratus*, *Eucalyptus citriodora*, *L. origanoides*, *L. alba*, *Cananga odorata*, *Tagetes lucida*, *Rosmarinus officinalis* contra los insectos adultos de *Sitophilus zeamais* Motschulsky (Coleoptera). El método empleado para este fin fue el reportado por Tapondjou *et al.* (2005). La mayor parte de los AE tuvo actividad repelente excepto el de *L. alba*. El término RDS₅₀, que corresponde a la dosis que repele el 50% de las larvas, fue de $0,031 \mu\text{L}/\text{cm}^2$, el valor más bajo entre las siete especies estudiadas. *L. origanoides* fue el aceite con la actividad repelente más alta debido a la presencia de timol. El repelente comercial IR₃₅₃₅ que se empleó como control positivo fue menos efectivo que los AE estudiados en el trabajo mencionado.

El efecto repelente fue evaluado en fracciones de los AE obtenidas por destilación fraccionada al vacío, la cual permite enriquecer los compuestos presentes en los AE. Durán (2015) fraccionó los AE de *C. nardus* y *L. origanoides* y obtuvo dos y cuatro fracciones, respectivamente, evaluó el efecto repelente de los AE y las fracciones obtenidas sobre *T. castaneum*. Durán (2015) obtuvo el porcentaje de repelencia de los AE y fracciones mayores que el repelente comercial IR₃₅₃₅, a 2 h y 4 h de exposición, a *T. castaneum*, a una

EFECTO REPELENTE DE ACEITES ESENCIALES Y FRACCIONES

concentración de 0,2 $\mu\text{L}/\text{cm}^2$. El proceso de fraccionamiento se llevó a cabo a una presión de 10 Torr. La rectificación permitió obtener composiciones químicas reproducibles, bajo los diferentes parámetros experimentales.

En otras investigaciones realizadas en el CENIVAM, enfocadas en la destilación fraccionada al vacío, Padilla y Rincón (2015) fraccionaron el AE de *L. origanoides*, para ello, emplearon una columna de teflón de 30 platos teóricos. Partiendo de 10 g del AE y empleando una presión de 8 Torr, obtuvieron tres fracciones. Identificaron en las fracciones 1 y 2, componentes tipo monoterpeno como *p*-cimeno, γ -terpineno y el β -mirceno con los puntos de ebullición más bajos. El componente carvacrol se enriqueció en la fracción de fondo (62% en peso), obtenida a una presión de 10 Torr. Para el AE, quimiotipo carvacrol, se enriqueció en carvacrol solo la fracción de fondo y la mayor concentración fue de 62% p/p, a una presión de 10 Torr.

Ramírez (2016) reportó la obtención de cuatro fracciones del AE de *C. martinii*, logró enriquecer la mezcla con geraniol de un 77%, en el AE crudo, a un 98,13%, en la fracción de fondo. Cabe resaltar, que previo a este proceso, el autor mediante un proceso de hidrólisis transformó el acetato de geranilo a geraniol, empleando como catalizador el $\text{Ca}(\text{OH})_2$. La presión utilizada en el proceso de fraccionamiento fue de 4 Torr.

La especie *C. nardus*, también, ha sido parte de estudios de fraccionamiento por Morales y Solano (2017), quienes obtuvieron dos fracciones de destilado y una fracción de fondo. El compuesto citronelal se logró enriquecer un 19,4% a un 40,7%, en la fracción F1; los autores concluyeron que debido a la similitud de composición en las fracciones F1 y F2, fue posible homogeneizarlas. Aunque no reportaron diferencias estadísticamente

significativas para las dos presiones empleadas (6 Torr y 10 Torr), para la presión de 10 Torr se evidenció una mayor temperatura en la fracción de fondo que podría generar reacciones de oxidación y polimerización en algunos compuestos presentes en el AE, por lo que recomendaron emplear la presión de 6 Torr, para el fraccionamiento del AE de esta especie.

Varios autores (Perini *et al.*, 2017; Silvestre *et al.*, 2016) indicaron que no existían diferencias en hacer una recolección en el tope o en el fondo de la torre de destilación y hacer recolección de fracciones en diferentes etapas, empleando presiones de 10 kPa, en especies como *C. sinensis* y *C. deliciosa*. Los autores no reportaron cambios en la composición química de partida de los AE crudos por degradación térmica o debido a la luz. El proceso de destilación permitió incrementar hasta 25 veces la concentración de limoneno presente en el AE de partida. Por medio de análisis GC/MS se determinó como componente mayoritario limoneno, en *C. sinensis*, y limoneno y γ -terpineno, en *C. deliciosa*. Para este último, las temperaturas de ebullición fueron en el rango de 80-90 °C. Los componentes sabineno y α -pineno se identificaron en el destilado (*C. sinensis*). La metodología permitió hacer una separación de los componentes volátiles, mayoritariamente de tipo monoterpeno, de los compuestos presentes en el fondo de la columna, entre ellos, alcoholes, aldehídos y cetonas. La destilación fraccionada al vacío también se usó empleando diferentes rangos de temperatura en el balón de destilación. Silvestre *et al.* (2019) describieron el uso de cuatro temperaturas diferentes (70, 90, 115 y 125 °C) para el fraccionamiento del AE de *Rosmarinus officinalis* y una presión de 10 kPa; se identificaron como componentes mayoritarios α -pineno y 1,8-cineol. Los componentes más volátiles, α -pineno y canfeno, se separaron rápidamente y en grandes cantidades en el tope de la columna en el primer rango de temperaturas (75-80 °C). Compuestos oxigenados, menos volátiles, como verbenona,

borneol, linalol y geraniol permanecieron en la fracción de fondo. En la destilación por etapas realizada en tres lapsos de 30 min cada una, después de 90 min de destilación se logró obtener un 90,37% de hidrocarburos monoterpénicos entre los que se encontraron β -pineno, sabineno, β -mirceno, limoneno y *p*-cimeno.

A continuación se discuten los reportes sobre encapsulamiento de AE. Yeguerman *et al.* (2020) obtuvieron inicialmente los AE de menta (*Mentha piperita* L.), palmarrosa [*C. martinii* (Roxb.) Wats], geranio (*Geranium maculatum* L.), lavanda (*Lavandula angustifolia* Mill.) y romero (*Rosmarinus officinalis* L.). Los AE de menta y palmarrosa tenían los LC₅₀ más bajos (31.43 y 25.41 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$, respectivamente) frente a la cucaracha alemana (*Blattella germanica* L.). La encapsulación de estos dos AE con poli(etilenglicol) permitió que sus componentes mayoritarios se detectaron después de tres días de posformulación. El componente mayoritario del AE de menta fue mentol, aunque, después de este tiempo, los α - y β -pinenos y limoneno no se detectaron. Los compuestos isopulegol y eugenol no se detectaron, después de los siete días de posformulación. Los componentes mayoritarios del AE de palmarrosa (linalol, β -citronelol, geraniol, acetato de geranilo y cariofileno) se detectaron a los tres y siete días de formulación. Después del proceso de nanoencapsulación con PEG, el efecto repelente generado por el AE de menta se triplicó al pasar de 12 h a 36 h, mientras que para el AE de palmarrosa este mismo efecto se duplicó al pasar de 36 h a 72 h. Citronelol y acetato de linalilo, también, se detectaron en los AE nanoencapsulados con PEG, obtenidos de bergamota (*Citrus reticulata*) y geranio (*Geranium* sp.), respectivamente, hasta después de 48 semanas de almacenamiento (Werdin *et al.*, 2015). Los porcentajes de mortalidad en insectos adultos de *B. germanica* fueron significativos para los AE de bergamota y geranio, en la concentración de los AE de 0.25 mg/cm^2 , hasta por 14 días de

almacenamiento. Los AE de ambas especies nanoencapsulados de ambas especies tuvieron porcentajes de mortalidad de hasta el 85%, en el primer estadio de *B. germánica*, mientras que para los insectos adultos este valor fue tan solo del 50%, al completar el año de seguimiento.

Werdin *et al.* (2016) reportaron que la nanoencapsulación de los AE obtenidos de *C. bergamia* y *Geranio maculatum*, permitió aumentar la repelencia contra hembras adultas de *B. germánica* L. en comparación con los AE sin encapsular. El efecto repelente para el AE de bergamota nanoencapsulado se extendió hasta 72 h, mientras que el de geranio se mantuvo hasta el final del ensayo (144 h). En un estudio posterior, Werdin *et al.* (2017) emplearon diferentes materiales poliméricos como quitosán y poli(etilenglicol) para encapsular los AE de *C. bergamia* y *G. maculatum* y evaluaron la eficiencia de encapsulación en cada uno de ellos. Encontraron una mayor eficiencia en el caso del PEG (68% y 77%) y eficiencias menores para el quitosán (22 y 38%). Los AE encapsulados presentaron un alto potencial larvicida contra la especie *Culex. pipiens* por tener LC₅₀ menores de 100 ppm (Pavela, 2015).

El efecto insecticida de *C. bergamia* y *G. maculatum* también ha sido evaluado por Werdin *et al.* (2014) contra otras especies de artrópodos como *Rhyzopertha dominica* y *T. castaneum*. El AE de bergamota nanoencapsulado presentó el mayor porcentaje de mortalidad contra *T. castaneum*, aunque los LC₅₀ fueron menores comparados con los del AE crudo. En el AE de geranio nanoencapsulado se identificaron citronelol (35,27%), geraniol (54,99%) y el acetato de linalilo en el AE de bergamota (86,95%), después de 24 semanas de aplicación. Se tuvieron porcentajes de mortalidad del 100%, después de 24 h de exposición, efecto que no se evidenció para los AE nanoencapsulados, incluso después de 72

h de encapsulación, lo que confirmó que este proceso disminuyó la volatilización de los monoterpenoides. Los autores concluyeron que el proceso de nanoencapsulamiento con PEG permitió incrementar el tiempo con el cual los compuestos presentes en los AE y el polímero como tal, pueden tener un efecto tóxico por contacto con *T. castaneum*, comparado con los AE libres, no encapsulados.

Yang *et al.* (2009) utilizaron el PEG para evaluar el efecto insecticida del AE de ajo (*Allium sativum* L.) contra *T. castaneum* Herbst. La mayor eficiencia de carga del AE fueron 10 mL del AE por cada 100 g de PEG, registrando una eficiencia de carga del $80,46 \pm 4,94\%$. El componente mayoritario del ajo, trisulfuro de dialilo, mantuvo una concentración constante, después del proceso de nanoencapsulación, evaluado al mes cero ($39.83 \pm 1.24\%$) y al mes cinco ($37.40 \pm 0.59\%$). Aunque la mortalidad del insecto decreció con el tiempo de almacenado del producto alimenticio, el proceso de nanoencapsulamiento permitió prolongar el efecto insecticida del AE contra *T. castaneum* en comparación con el del AE puro, cuya eficacia disminuyó con el tiempo. Esto muestra cómo a través del nanoencapsulamiento se logra una liberación lenta y persistente de los componentes activos, hasta alcanzar el mes cinco.

Otros estudios se han encaminado en determinar los posibles daños que podrían sufrir las plantas al estar en contacto con AE nanoencapsulados. Campolo *et al.* (2017) mostraron que los AE de cáscaras de frutos cítricos como limón, mandarina o naranja, nanoencapsulados con PEG, no generaron daños significativos sobre plantas de tomate tipo cereza (cv. Shiren), después de 14 días de aplicación. Usando GC/MS, se identificó el limoneno como compuesto mayoritario. Los AE nanoencapsulados permitieron obtener un

mayor control sobre la plaga en estudio (*Tuta absoluta*) en donde menos del 50% de los huevos expuestos al AE naoencapsulado de naranja dulce llegaron a etapa adulta.

Sobre la estabilidad de los AE encapsulados con PEG, Durán (2015) reportó la encapsulación del AE y fracciones de la especie *L. origanoides*, empleando PEG 6000 como material encapsulante y, registró una eficiencia de encapsulación del 60%. La estabilidad con el tiempo de los compuestos volátiles se monitoreó por la técnica S-HS, acoplada a GC/MS. El proceso de encapsulación permitió una liberación controlada de componentes mayoritarios como timol, carvacrol, γ -terpineno, *p*-cimeno y cariofileno, por al menos durante 20 días, a una temperatura de 40 °C. El AE de *L. origanoides* sometido a evaporación a 25 °C y 40 °C, se monitoreó durante 30 días. Durán (2015) observó que la volatilización de los compuestos de menor peso molecular se produjo más rápidamente a temperaturas mayores (40 °C). Sin embargo, después del día 30, el área cromatográfica total en cuentas de los compuestos volátiles permaneció constante. En este punto estaban presentes solo los compuestos con menor volatilidad, lo que afirma la idea de que encapsular los AE puede permitir mantener por mayor tiempo los componentes volátiles de los AE, con actividad repelente.

SPME ha sido utilizada para el análisis de compuestos volátiles encapsulados. Baranauskiene *et al.* (2006) emplearon esta técnica para el análisis del AE de orégano encapsulado de (*Origanum vulgare* L.) y los extractos aromáticos de citronella (*Cymbopogon nardus*) y mejorana dulce (*Majorana hortensis* L.), encapsulados por el método secado por pulverización. Los encapsulados se prepararon con leche desnatada en polvo y concentrado de proteína de suero. Para la extracción utilizaron diferentes fibras recubiertas con poli(dimetilsiloxano) (PDMS, 100 μ m), poli(dimetilsiloxano)-divinilbenceno (PDMS-DVB,

EFECTO REPELENTE DE ACEITES ESENCIALES Y FRACCIONES

65 μm) y poli(acrilato) (PA, 85, μm). Con la fibra PDMS (de características apolares) se aislaron compuestos volátiles en el AE de orégano, entre ellos α -pineno, α -terpineno, terpinoleno, γ -terpineno. Sin embargo, los compuestos más polares como timol y el carvacrol se aislaron mejor con la fibra de PA, de mayor polaridad. La extracción por SPME de compuestos volátiles encapsulados con PEG presentes en los AE de las especies bajo estudio no ha sido reportada aún.

3. Metodología

3.1 Reactivos

Para el desarrollo del trabajo de investigación se utilizaron los siguientes reactivos y sustancias patrón: acetato de geranilo (98%), (*E*)- β -cariofileno (98,5%), *p*-cimeno (99%) 1,8-cineol (99%), citronelal (90%), citronelol (95%), eugenol (99%), (*2E,6Z*)-farnesol (96%), α -felandreno (98%), geranial (95%), geraniol (98%), α -humuleno (96%), linalol (97%), limoneno (97%), 6-Metil-hept-5-en-2-ona (98%), β -mirceno (94%), nerol (97%), (*Z*)-nerolidol (96%), 1-oct-en-3-ol (98%), óxido de cariofileno (95%), α -pineno (98%), α -terpineno (97%), terpinen-4-ol (95%), obtenidos de Sigma-Aldrich (SA, St. Louis, MO, EE.UU.). Sulfato de sodio anhidro (>99.1%), adquirido en Mallinckrodt Baker Inc. (J. T Baker. Phillisburg, NJ, EE. UU.). Diclorometano, grado GC/FID/ECD, obtenido en Supelco (Bellefonte, EE.UU.), acetona grado reactivo (J.T.Baker). La mezcla de *n*-alcanos C₆-C₂₅ y el *n*-tetradecano, fueron adquiridos en AccuStandard, Inc. (New Haven, CT, EE. UU.). Helio, nitrógeno y aire (99,995%), fueron obtenidos de Messer (Bucaramanga, Colombia). Papel filtro cuantitativo, se adquirió de Munktell Ahlstrom (Helsinki, Finlandia). Fibra PDMS/DVB 65 μ m, fue adquirida de Supelco (St. Louis, MO, EE.UU.).

3.2 Material vegetal

El material vegetal de *Cymbopogon cf winterianus* Jowitt ex Bor y *C. martinii* fue recolectado en el municipio de Barbosa, Santander, Colombia (05° 55' 57" N, 73° 37' 16" W, 977 m.s.n.m). Para el proceso de destilación se utilizaron solo hojas frescas de la especie, antes de su floración. La identificación taxonómica para *C. winterianus* se llevó a cabo en el herbario de la Universidad Nacional de Colombia con número de *voucher* 587116. El

material vegetal de *L. origanoides* fue recolectado en el complejo agroindustrial piloto CENIVAM (UIS, Bucaramanga, Colombia). El número de *voucher* emitido por el herbario de la Universidad Industrial de Santander fue 22036.

3.2.1 Destilación por arrastre con vapor

Para la obtención de los AE se utilizó un equipo de destilación por arrastre con vapor, que consta de un alambique con capacidad de 0,1 m³ y un vaso Florentino. El vapor se generó en una caldera de 6 BHP (Boiler horsepower) con suministro de gas natural (Tecnik LTDA.®, Bogotá, D.C., Colombia) a una presión de 5,4 atm y un flujo de vapor de 0,6 L/min. El equipo fue operado por 1 h 15 min con una densidad de carga de material vegetal de 113 kg/m³. Los AE se secaron con sulfato de sodio anhidro.

3.3 Microdestilación a presión reducida

El proceso de destilación fraccionada se realizó en un microdestilador al vacío B/R instrument (B/R Instrument Corporation, Easton, MD, EE.UU.) que consiste de una columna de vidrio (20 cm de alto, 7 cm d.i.), provista en su parte interna de una columna de teflón de 50 platos teóricos. La base de la columna se conectó a un rehervidor de 25 mL, al cual se adicionaron 15 g del AE. El calentamiento del sistema se llevó a cabo por medio de una plancha de calentamiento con capacidad hasta 350 °C. El fraccionamiento se realizó a diferentes presiones dependiente de la especie. Las temperaturas en el fondo y en el tope de la columna se midieron por medio de unas termocuplas ubicadas en estos puntos. El baño de enfriamiento se mantuvo a una temperatura de 2 °C. La recolección de la primera fracción comenzó cuando la temperatura del tope (T2) tuvo una desviación estándar por debajo del 2,5% con respecto a un total de cuatro temperaturas. Esta se consideró como la temperatura

de equilibrio. Cuando la temperatura sobrepasó esta desviación estándar, se finalizó el proceso de recolección de la fracción. Se recolectaron dos fracciones de tope: fracción 1 (**F1**), fracción 2 (**F2**) y una fracción de fondo (**FF**) para los AE de *C. winterianus* y *L. origanoides*. Una fracción 3 (**F3**) fue recolectada en el fraccionamiento del AE de *C. martinii*

3.4 Análisis cromatográficos

3.4.1 Determinación de figuras analíticas de mérito por GC/FID

Las figuras analíticas de mérito i.e., repetibilidad, linealidad, sensibilidad, el nivel mínimo de detección (LOD) y el nivel mínimo de cuantificación (LOQ) se determinaron a partir de los tiempos de retención y áreas cromatográficas de las sustancias de referencia.

3.4.2 Evaluación de repetibilidad del método, para tiempos de retención y áreas

Para determinar la repetibilidad y la reproducibilidad del método se emplearon las **Ecuaciones 3-5**, tomando como referencia los coeficientes de variación (CV, %) de los tiempos de retención (t_R) y de las áreas cromatográficas de cada compuesto.

$$\bar{x} = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n X_i \quad \text{Ecuación 1}$$

$$S = \sqrt{\frac{1}{n-1} \sum_{i=1}^n |X_i - \bar{X}|^2} \quad \text{Ecuación 2}$$

$$CV, \% = \frac{S}{\bar{X}} * 100 \quad \text{Ecuación 3}$$

Donde:

$$\bar{X} = \text{Promedio de datos;}$$

- X_i = Datos;
 n = Número de datos;
 S = Desviación estándar;
 CV = Coeficiente de variación.

3.4.3 Determinación de la linealidad y la sensibilidad del método

La linealidad y la sensibilidad del método GC/FID se determinaron a partir de las curvas de calibración de las sustancias de referencia. El coeficiente de determinación (R^2) de la curva de calibración se utilizó como indicador de linealidad. La sensibilidad se determinó con base en la pendiente de la recta con un nivel de confianza de 95%. La **Ecuación 6** representa una recta ajustada, donde **A** es la pendiente y **B** es la ordenada de origen. Los valores de **A** y **B** se determinaron, según Miller y Miller (2000).

$$y = Ax + B \quad \text{Ecuación 4}$$

$$A = \bar{y} + B\bar{x} \quad \text{Ecuación 5}$$

$$B = \frac{Q_{xy}}{Q_{xx}} = \frac{\sum_{i=1}^m (X_i - \bar{X})(y_i - \bar{y})}{\sum_{i=1}^m (X_i - \bar{X})^2} \quad \text{Ecuación 6}$$

Donde:

- x_i = Concentración de cada patrón;
 \bar{x} = Promedio de concentraciones;
 y_i = Respuesta en cada punto;
 \bar{y} = Promedio de respuesta de patrones.

3.4.4 Determinación de límites de detección y cuantificación

Los límites de detección (LOD) y cuantificación (LOQ) se determinaron, según Shrivastava y Gupta (2015), usando las **Ecuaciones 7** y **8**, respectivamente.

$$\text{LOD} = 3 \frac{S_{y/x}}{B} \quad \text{Ecuación 7}$$

$$\text{LOQ} = 10 \frac{S_{y/x}}{B} \quad \text{Ecuación 8}$$

3.4.5 Identificación por GC/MS de los compuestos presentes en los AE de *C. martinii*, *C. winterianus* y *L. organoides*.

Los AE y sus fracciones se analizaron en un cromatógrafo de gases GC 6890 Plus (Agilent Technologies, AT, Palo Alto, CA, EE. UU.), equipado con un detector selectivo de masas MSD 5973 Network, con ionización con electrones (EI, 70 eV). Se utilizó helio como gas de arrastre, con presión de entrada en la cabeza de la columna de 113.5 kPa, y una velocidad volumétrica de flujo constante de 1 mL/min. El modo de inyección fue *split* (1:30) y la temperatura del inyector se mantuvo a 250 °C.

La separación de componentes se realizó en dos columnas capilares, una con fase estacionaria (f.e.) polar de poli(etilenglicol), PEG, (DB-WAX, J&W Scientific, Folsom, CA, EE. UU.) de 60 m x 0.25 mm (d.i.) x 0.25 μm (d_f) y, otra, con una fase estacionaria (f.e.) apolar de 5%-fenil-poli(metilsiloxano), 5%-Ph-PDMS, (DB-5MS, J&W Scientific, Folsom, CA, EE. UU.) con dimensiones iguales que la columna apolar. En la columna apolar (DB-5MS), la temperatura del horno cromatográfico se programó desde 45 °C (5 min) a 150 °C (2 min) a 4 °C/min, luego, hasta 300 °C (10 min), a 5 °C/min. La programación del horno en la columna polar (DB-WAX), empezó desde 50 °C (5 min) hasta 150 °C (7 min), a 4 °C/min, y luego, hasta 230 °C (50 min), a 4 °C/min. Las temperaturas de la cámara de ionización y del cuadrupolo fueron de 250 °C y 150 °C, respectivamente. El rango de masas fue de 45-450 uma, con velocidad de adquisición de 3.58 scan/s. Los datos se procesaron con el

software MSDChemStation G1701DA (AT, Palo Alto, CA, EE. UU.). La identificación tentativa de los compuestos se realizó por comparación de sus índices de retención lineales (IRL) y sus espectros de masas con los reportados en bases de datos (Adams, NIST y Wiley) y literatura científica (Babushok *et al.*,2011).

Los IRL se calcularon por medio de la siguiente ecuación:

$$\text{IRL} = 100 * n + 100 * \frac{(t_{RX} - t_{Rn})}{t_{RN} - t_{Rn}} \quad \text{Ecuación 9.}$$

Donde:

n= Número de átomos de carbono del hidrocarburo líneal, que eluye antes del compuesto de interés.

N= Número de átomos de carbono del hidrocarburo líneal, que eluye después del compuesto de interés.

t_{RX} = Tiempo de retención del compuesto de interés.

t_{Rn} = Tiempo de retención hidrocarburo líneal, que eluye después del compuesto de interés.

t_{RN} = Tiempo de retención hidrocarburo líneal, que eluye después del compuesto de interés.

3.4.6 Cuantificación por GC/FID de los compuestos identificados en los AE de C.

martinii, C. winterianus y L. origanoides.

Los AE y las fracciones se inyectaron en un puerto de inyección de un cromatógrafo GC 6890 Plus (AT, Palo Alto, CA, EE.UU) equipado con un detector de ionización en llama (FID) en modo *split* 1:30. La separación de los compuestos se realizó en una columna capilar DB-5MS (60 m x 0.25 mm x 0.25 μ m) recubierta con 5%-fenil-poli(metilsiloxano). La

EFECTO REPELENTE DE ACEITES ESENCIALES Y FRACCIONES

temperatura del horno fue programada desde 45 ° (5 min) hasta 150 °C (2 min) a 4 °C/min, luego hasta 250 °C (5 min) a 5° C/min y hasta 275 °C (10 °C/min).

La cuantificación de los compuestos mayoritarios se realizó por medio de la metodología de estandarización externa. Para ello se emplearon patrones de referencia certificados.

3.4.7 Análisis de la fracción por HS-SPME-GC/FID de los AE de *C. martinii*, *C. winterianus*, *L. origanoides* y sus encapsulados.

Las fracciones volátiles de los AE de *C. winterianus*, *C. martinii*, *Lippia origanoides* y sus encapsulados fueron monitoreadas por medio de la técnica de microextracción en fase sólida en espacio de cabeza (HS-SPME) acoplada a un sistema GC/FID. Las mediciones se realizaron 0, 3, 7, 15, 30, 60 y 90 días después de su encapsulamiento. La extracción de los compuestos volátiles se realizó por HS-SPME siguiendo la metodología descrita por Stashenko, *et al.* (2007) con algunas modificaciones. Para ello, se empleó una fibra de polidimetilsiloxano-divinilbenceno (PDMS/DVB, 65 µm Supelco, EE.UU). De cada AE, encapsulado y sin encapsular, se pesaron 20 mg en un vial de 4 mL y se equilibró la muestra por 10 min a 34 °C. La fibra fue expuesta a los compuestos volátiles de las muestras descritas, por 30 min. Para la cuantificación se utilizaron 2 mg del estándar interno (*n*-tetradecano), el cual se acondicionó bajo las mismas condiciones de la muestra y se expuso a la fibra por un tiempo de 3 min. Los compuestos se desorbieron en el puerto de inyección por 10 min a una temperatura de 250 °C.

3.5 Especímenes de *L. serricornis*

Especímenes de *L. serricornis* se colectaron en el Centro de Investigación CENIVAM. El cultivo de insectos se mantuvo en el mismo Centro de investigación y la identificación taxonómica se realizó en el Instituto Colombiano Agropecuario (ICA) (Véase **Apéndice A**). Para su cultivo se utilizaron recipientes de vidrio y plástico cubiertos con malla para su ventilación, almacenados a temperatura ambiente, 25°C; %h.r. 60-70% y expuestos a fotoperiodos de 10:14 h luz:oscuridad (Lü y Liu., 2016). Los insectos de *L. serricornis* fueron alimentados con una mezcla de harina y cebada. Se utilizaron insectos adultos con edad aproximadamente de 7 días. Cabe resaltar que el proceso de colecta de *L. serricornis*, el mantenimiento del cultivo experimental y los ensayos que se describirán a continuación, tienen el aval del Comité de Ética de Investigación Científica (CEINCI) (**Véase Apéndice B**).

3.5.1 Ensayo del área de preferencia

Los ensayos de repelencia se realizaron según la metodología propuesta por Tapondouj *et al.*, 2005 con algunas modificaciones. Para ello se utilizaron cajas Petri (d.i. 9 cm). Se prepararon diferentes concentraciones de AE (0.4, 0.2 y 0.02 $\mu\text{L}\cdot\text{cm}^{-2}$) disueltas en acetona utilizada como control, vehículo. 350 μL de la solución del AE o de la fracción se adicionaron a la mitad de un papel filtro. El otro segmento del papel filtro se trató con el mismo volumen de acetona. Luego, el disolvente se dejó secar por 10 min, se adicionaron 20 insectos adultos en el centro del papel filtro y se selló la caja Petri. (90 mm d.i.). Después de 2 h y 4 h se registró el número de insectos presentes en cada mitad del papel filtro. Cada ensayo se realizó por quintuplicado. El porcentaje de repelencia se reportó como el valor

EFECTO REPELENTE DE ACEITES ESENCIALES Y FRACCIONES

medio \pm el error estándar ($X \pm SD$). Por medio del software Statgraphics Centurion XVI se realizó una prueba t para muestras pareadas entre cada concentración en los dos tiempos de medición. Se asumió como hipótesis nula (H_0) que las medias de los porcentajes de repelencia entre 2 h y 4 h fuera igual que cero ($p > 0,05$) y como hipótesis alterna (H_i) que las medias para estos valores fueran diferentes de cero ($p < 0,05$). El porcentaje de repelencia se calculó mediante la **Ecuación 10**:

$$\text{Repelencia \%} = [(N_c - N_t) / (N_c + N_t)] * 100 \quad \text{Ecuación 10.}$$

Donde:

N_c : número de insectos presentes en el control.

N_t : número de insectos presentes en el área tratada.

Se utilizó como control positivo un repelente comercial cuyo principio activo es IR₃₅₃₅ (15% p/p) a una concentración de 0,8 $\mu\text{L}/\text{cm}^2$. Hubo un control negativo donde solo se adicionó acetona. Adicionalmente se utilizaron los patrones terpénicos geraniol, citronelal, citronelol, linalol, limoneno, timol y carvacrol para determinar el porcentaje de repelencia bajo las mismas condiciones. En el **Apéndice C** se muestran el cultivo experimental y el ensayo de repelencia para la FF de *C. martinii*.

3.6 Encapsulación de aceites esenciales

La encapsulación de los AE de *C. winterianus*, *C. martinii* y *L. origanoides* se realizó teniendo en cuenta la metodología de Werdin *et al.* (2014) con algunas modificaciones. 0,2 g de poli(etilenglicol) (PEG 6000) se fundieron a 55 °C y luego se adicionaron, bajo agitación constante, 20 mg del AE (10%, p/p). El encapsulado se agitó por un tiempo de 2 min y

EFECTO REPELENTE DE ACEITES ESENCIALES Y FRACCIONES

posteriormente se almacenó en un congelador por 15 min. Las muestras se homogeneizaron, triturándolas rápidamente en el recipiente por medio de una espátula metálica y se almacenaron a temperatura ambiente. La preparación de los encapsulados se realizó por triplicado.

Las fracciones volátiles de los AE de *C. winterianus*, *C. martinii*, *L. origanoides* y sus encapsulados fueron monitoreadas en diferentes días de almacenamiento por medio de la técnica de microextracción en fase sólida en espacio de cabeza (HS-SPME) acoplada a un sistema de GC/FID que se describe en la sección 4.5.3,. De cada AE, encapsulado y sin encapsular, se pesaron 20 mg y 100 mg respectivamente en un vial de 4 mL y se equilibró térmicamente la muestra por 10 min a 34 °C. La fibra fue expuesta a los compuestos volátiles de las muestras descritas, por 30 min. Para la cuantificación se utilizaron 2 mg del estándar interno (*n*-tetradecano), el cual se acondicionó bajo las mismas condiciones de la muestra y se expuso a la fibra por un tiempo de 3 min. Los compuestos se desorbieron en el puerto de inyección por 10 min a una temperatura de 250 °C.

Para el tratamiento estadístico de los datos se utilizó el software Statgraphics Centurion XVI. Se implementó un análisis de varianza multifactorial fijando como factores experimentales los días de almacenamiento del encapsulado y la clasificación de cada compuesto por familias. Como variable dependiente se escogió la sumatoria de las áreas relativas A_i/A_{istd} de cada uno de los compuestos presentes en los AE encapsulados. Por medio de los estadísticos F y p calculados en el análisis de varianza (Anova) multifactorial, se determinó la incidencia estadística que tuvo cada factor en el proceso. Para cada factor significativo se realizó una prueba de múltiples rangos con el fin de determinar si existen

diferencias estadísticamente significativas entre los valores medios obtenidos con un nivel del 95,0% de confianza. El procedimiento de diferencia significativa de Fisher (LSD) discrimina entre las medias con un riesgo del 5,0% al decir que cada par de medias es significativamente diferente, cuando la diferencia real es igual a 0.

4. Resultados

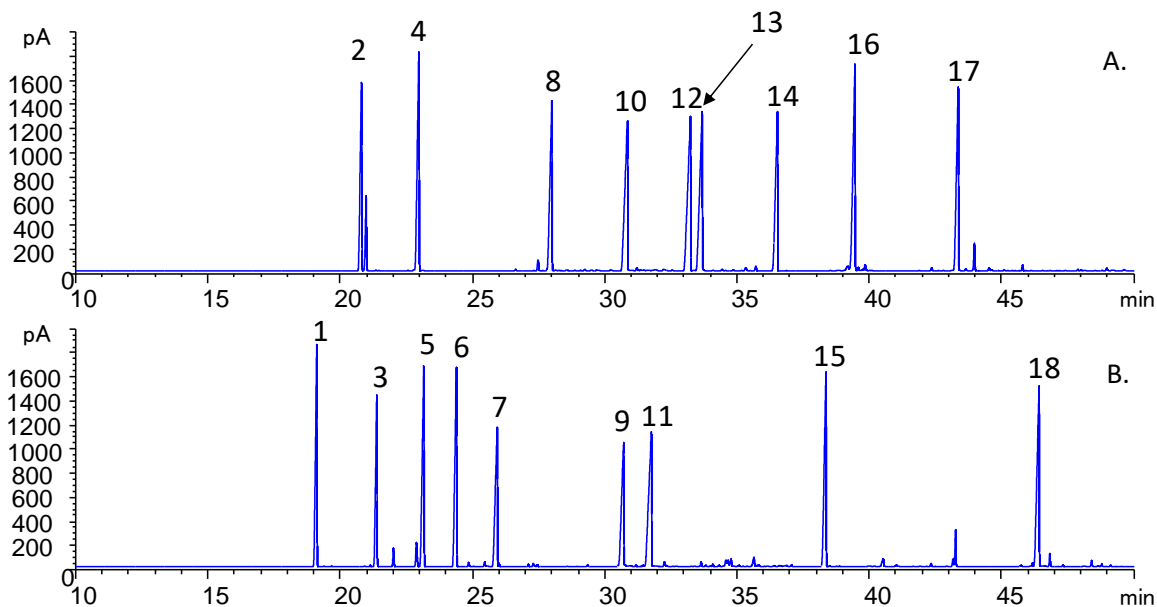
4.1 Cuantificación por GC/FID de algunos compuestos identificados en los AE de *C. winterianus*, *C. martinii* y *L. origanoides*.

En la **Figura 14** se presenta el perfil cromatográfico de los 18 compuestos terpénicos inyectados en un sistema cromatográfico GC/FID. Posteriormente se calcularon los t_R promedio y las áreas cromatográficas de los compuestos terpénicos con el fin de determinar la repetibilidad del método cromatográfico (**Tabla 4**). Los parámetros utilizados para la determinación de las figuras de mérito se muestran en la **Tabla 5**.

Figura 14

Perfil cromatográfico, obtenido por GC/FID, de compuestos terpénicos patrón. Columna DB-5MS (60 m), split 1:30. A. Mezcla 1; B. Mezcla 2. Véase la identificación de los picos en la Tabla 4.

EFECTO REPELENTE DE ACEITES ESENCIALES Y FRACCIONES

**Tabla 4**

Repetibilidad de tiempos de retención (t_R) y de áreas cromatográficas de compuestos terpénicos patrón, analizados por GC/FID. Columna DB-5MS (60 m), split 1:30.

N° Fig. 14	Compuesto	Número de mezcla	$t_R \pm SD, \text{min}^a$	CV, % ^b	Área $\pm SD$, GC/FID	CV, %
1	α -Pinoeno		19.0 \pm 0.1	0.2	4190 \pm 67	1.6
3	β -Miraceno		21.4 \pm 0.1	0.2	3020 \pm 47	1.6
5	Limoneno		23.1 \pm 0.1	0.2	4140 \pm 62	1.5
6	γ -Terpineno	Mezcla A	24.3 \pm 0.1	0.3	4390 \pm 64	1.5
7	Linalol		25.9 \pm 0.1	0.3	3540 \pm 47	1.3
9	Citronelol		30.7 \pm 0.1	0.3	3290 \pm 37	1.1
11	Geraniol		31.7 \pm 0.1	0.4	4200 \pm 45	1.1
15	(<i>E</i>)- β -Cariofileno		38.3 \pm 0.1	0.2	4670 \pm 42	0.9
18	(2 <i>E</i> ,6 <i>Z</i>)-Farnesol		46.4 \pm 0.1	0.2	4600 \pm 24	0.5
10	Nerol		30.8 \pm 0.1	0.3	4000 \pm 123	3.1
8	Citronelal		27.9 \pm 0.1	0.3	3600 \pm 116	3.2
2	Sabineno		20.7 \pm 0.1	0.3	3200 \pm 120	3.7
4	<i>p</i> -Cimeno	Mezcla B	22.9 \pm 0.1	0.3	4000 \pm 140	3.4
12	Timol		33.1 \pm 0.1	0.3	4300 \pm 125	2.9
13	Carvacrol		33.6 \pm 0.1	0.4	4368 \pm 124	2.8
14	Acetato de geraniol		36.3 \pm 0.1	0.3	3500 \pm 109	3.1
16	α -Humuleno		39.4 \pm 0.1	0.2	4600 \pm 134	2.9
17	Óxido de cariofileno		43.3 \pm 0.1	0.2	3800 \pm 102	2.7

Nota: ^a Promedio \pm desviación estándar ($n = 3$), material de referencia (7800 ppm).

EFECTO REPELENTE DE ACEITES ESENCIALES Y FRACCIONES

^b CV: Coeficiente de variación.

EFECTO REPELENTE DE ACEITES ESENCIALES Y FRACCIONES

Tabla 5*Linealidad y sensibilidad determinadas por GC/FID, para sustancias patrón de terpenos*

	Compuesto*	Fórmula	Rango, mg/kg	Ecuación ^a	R ²	S _B	B ± tS _B ^b	[mg/kg]	
								LOD	LOQ
1	α-Pineno	C ₁₀ H ₁₆	13-260	y = 0.518654905x+0.632455296	0.9992	3	0.519 ± 0.004		
			370-2090	y = 0.660206646x-26.92533756	0.9905	15	0.66 ± 0.01	10	30
			2930-	y = 0.692445162x-458.1485111	0.9981	121	0.692 ± 0.007		
2	Sabineno	C ₁₀ H ₁₆	10-450	y = 0.649032603x-6.278687321	0.9923	5	0.65 ± 0.01		
			740-2090	y = 0.642122515x-73.09758601	0.9907	24	0.64 ± 0.01	45	150
			2660-	y = 0.526145075x+773.7038723	0.9954	143	0.526 ± 0.008		
3	β-Mirceno	C ₁₀ H ₁₆	13-260	y = 0.480157481x+0.554104515	0.9939	2	0.480 ± 0.004		
			370-2370	y = 0.597484593x-23.34858374	0.9901	16	0.60 ± 0.01	10	30
			2930-	y = 0.589764044x-290.267492	0.9978	118	0.590 ± 0.007		
4	p-Cimeno	C ₁₀ H ₁₄ O	85-740	y = 0.655622219x+11,11241102	0.9839	10	0.65 ± 0.02		
			2930-	y = 0,785538996x-215,2054402	0.9969	150	0.785 ± 0.009	80	260
5	Limoneno	C ₁₀ H ₁₆	10-70	y = 0.615370539x+0.858374656	0.9954	1	0.61 ± 0.01		
			260-2090	y = 0.753007012x-19.77841654	0.9934	13	0.75 ± 0.01	5	20
			2930-	y = 0.784524381x-469.4518153	0.9984	125	0.784 ± 0.007		
6	γ-Terpineno	C ₁₀ H ₁₆	10-70	y = 0.598137888x+2.102415535	0.9959	0.58	0.60 ± 0.01		
			260-2090	y = 0.840713494x-18.91392941	0.9938	14	0.84 ± 0.01	5	20
			2932-	y = 0.792688322x+21.56524781	0.9914	297	0.79 ± 0.01		
7	Linalol	C ₁₀ H ₁₈ O	10-70	y = 0.615370539x+0.858374656	0.9955	0.47	0.61 ± 0.01		
			115-2090	y = 0.78074139x-14.41113323	0.9963	10	0.781 ± 0.009	5	20
8	Citronelal	C ₁₀ H ₁₈ O	2930-	y = 0.843567612x-704.4126175	0.9959	222	0.84 ± 0.01		
			10-70	y = 0.499705611x+1.064814402	0.9930	0.9	0.50 ± 0.01		
			260-1510	y = 0.79314596x+7.881737091	0.9965	14	0.79 ± 0.01	5	20
			2660-	y = 0.477856886x+499.4219168	0.9940	158	0.478 ± 0.009		

EFECTO REPELENTE DE ACEITES ESENCIALES Y FRACCIONES

Tabla 5. Continuación

9	Citronelol	C ₁₀ H ₂₀ O	10-70	$y = 0.568282585x - 0.036744263$	0.9950	0.4	0.57 ± 0.01	5	20
			115-2090	$y = 0.730392651x - 17.11242409$	0.9955	11	0.730 ± 0.009		
			2930-	$y = 0.808250186x - 693.2891933$	0.9979	159	0.808 ± 0.009		
10	Nerol	C ₁₀ H ₁₈ O	10-100	$y = 0.666806485x + 0.806244335$	0.9962	0.6	0.67 ± 0.01	5	20
			115-1500	$y = 0.465479523x + 25.74637314$	0.9958	8	0.465 ± 0.008		
			2660-	$y = 0.695106956x + 732.4082808$	0.9933	243	0.69 ± 0.01		
11	Geraniol	C ₁₀ H ₁₈ O	10-70	$y = 0.585864626x - 0.224679838$	0.9918	0.7	0.58 ± 0.01	5	20
			115-2090	$y = 0.777610596 - 22.53942945$	0.9955	12	0.78 ± 0.01		
			2932-	$y = 0.846099203x - 666.8742244$	0.9981	156	0.846 ± 0.009		
12	Timol	C ₁₀ H ₁₄ O	10-70	$y = 0.832488126x + 1.615938882$	0.9951	0.9	0.83 ± 0.02	5	20
			115-1500	$y = 0.661382643x + 30.01676513$	0.9965	11	0.66 ± 0.01		
			2660-	$y = 0.831558258x + 839.9778723$	0.9952	234	0.83 ± 0.01		
13	Carvacrol	C ₁₀ H ₁₄ O	5-115	$y = 0.897169251x - 2.244974869$	0.9945	1	0.90 ± 0.01	10	30
			260-2090	$y = 0.44089504x - 39.42438427$	0.9937	23	0.66 ± 0.02		
			2660-	$y = 0.807733875x + 785.6481643$	0.9938	271	0.81 ± 0.01		
14	Acetato de geranilo	C ₁₂ H ₂₀ O ₂	30-370	$y = 0.856256131x - 7.703211966$	0.9906	4	0.86 ± 0.02	40	120
			740-2660	$y = 0.943276819x - 148.3315995$	0.9937	33	0.94 ± 0.02		
			2930-	$y = 0.696758679x - 12.74081987$	0.9945	180	0.70 ± 0.01		
15	(E)-β-Cariofileno	C ₁₅ H ₂₄	10-70	$y = 0.716722792x + 1.269032958$	0.9931	0.7	0.72 ± 0.01	10	20
			115-2090	$y = 0.867898976x - 10.03138859$	0.9965	11	0.868 ± 0.009		
			2930-	$y = 0.90013009x - 409.6573595$	0.9974	196	0.90 ± 0.01		
16	α-Humuleno	C ₁₅ H ₂₄	10-70	$y = 0.87275215x + 1.46845365$	0.9980	0.6	0.87 ± 0.01	5	10
			115-1500	$y = 0.625073888x + 35.53629045$	0.9956	11	0.47 ± 0.01		
			2930-	$y = 0.882285691x + 0.348083047$	0.9958	218	0.66 ± 0.01		
17	Óxido de cariofileno	C ₁₅ H ₂₄ O	30-260	$y = 0.870467866x - 7.665481939$	0.9958	2	0.87 ± 0.01	20	50
			370-2660	$y = 0.936781157x - 99.66879431$	0.9952	26	0.94 ± 0.01		
			2930-	$y = 0.720992222x - 100.1231165$	0.9957	164	0.72 ± 0.01		
18	(2E-,6Z-)-Farnesol	C ₁₅ H ₂₆ O	10-260	$y = 0.696193862x - 2.658106064$	0.9934	1	0.70 ± 0.01	20	70
			370-2370	$y = 0.85072858x - 53.58873175$	0.9881	23	0.84 ± 0.01		
			2930-	$y = 0.881174822x - 678.6753725$	0.9976	196	0.88 ± 0.01		

EFECTO REPELENTE DE ACEITES ESENCIALES Y FRACCIONES

Nota: *Las sustancias de referencia se pesaron (300 mg) y se disolvieron en diclorometano (1 mL). ^a Curvas de calibración realizadas por el método de estándar externo. ^b *B*: Pendiente; *t*: Coeficiente de *Student* para un nivel de confianza del 95%. *S_B*: desviación estándar de la pendiente.

4.2 Caracterización química por GC/MS de los AE de *Cymbopogon winterianus*, *C. martinii* y *L. origanoides* obtenido por destilación por arrastre con vapor.

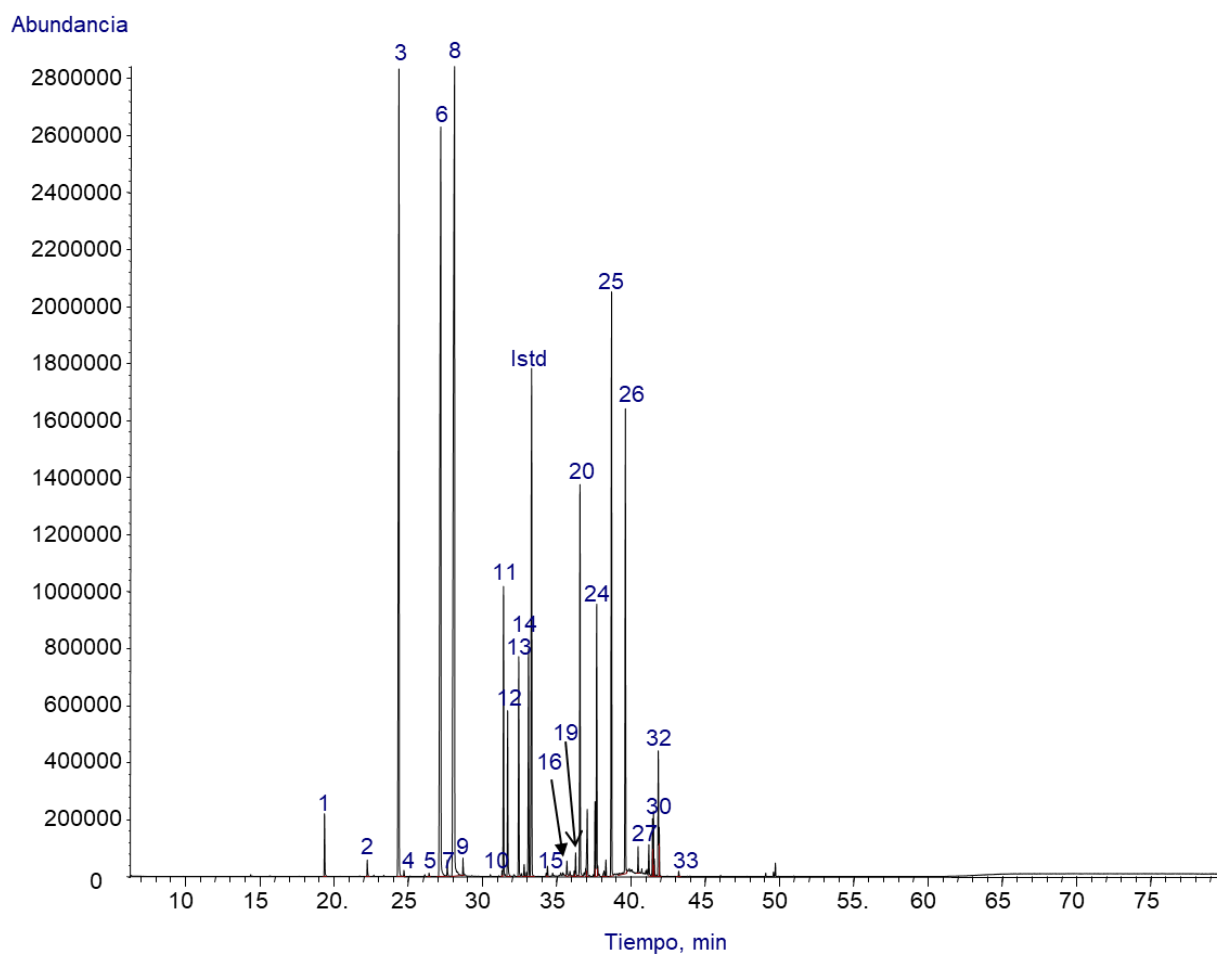
4.1.1 *Cymbopogon winterianus*

En el AE de *Cymbopogon winterianus*, cuya composición química se detalla en la **Tabla 6**, se identificaron 34 compuestos con áreas relativas mayores del 0,05% y que correspondieron al 97,4% del área cromatográfica total. Se identificaron monoterpenos oxigenados (68,2%), sesquiterpenos oxigenados (14,9%), hidrocarburos sesquiterpénicos (11,8%), terpenos fenólicos (1,81), hidrocarburos monoterpénicos (0,61%) y compuestos oxigenados no terpénicos (0,07%). Los componentes mayoritarios fueron geraniol (29,9%), citronelol (19,5%), citronelal (15,4%), Germacren D-4-ol (5,9%), elemol (5,6%) y germacreno D (4,6%). En las **Figuras 15 y 16** se muestran los perfiles cromatograficos del aceite esencial por GC/MS en columna apolar y polar respectivamente y en la **Figura 17** se muestra el perfil cromatográfico obtenido por GC/FID. Estos compuestos se identificaron en otras investigaciones En la investigación realizada por Devi *et al.* (2021) identificaron en el AE de *C. winterianus* como compuestos mayoritarios citronelal (42,47%), limoneno (10,86%), geraniol (9,44%) y citronelol (6,25%). En este mismo estudio reportaron que el AE de *C. winterianus* mostró una alta capacidad antifúngica sobre una cepa de *Sclerotium oryzae* con un valor de IC₅₀ de 0,413 ± 0,013 comparado con lo obtenido por *C. flexuosus* (0,420±0,05) y *C. martinii* (1,99±0,02) en donde se identificaron como compuestos mayoritarios citral (22,94%) y geraniol (43,8%) respectivamente.

EFECTO REPELENTE DE ACEITES ESENCIALES Y FRACCIONES

Figura 15

Perfil cromatográfico obtenido por GC/MS (full scan) del AE de *C. winterianus*. Columna DB-5MS (60 m), inyección split 1:30, MSD (EI, 70 eV). Véase la identificación de los picos en la **Tabla 6**.

**Figura 16**

Perfil cromatográfico obtenido por GC/MS (full scan) del AE de *C. winterianus*. Columna DB-WAX (60 m), inyección split 1:30, MSD (EI, 70 eV). Véase la identificación de los picos en la **Tabla 6**.

EFECTO REPELENTE DE ACEITES ESENCIALES Y FRACCIONES

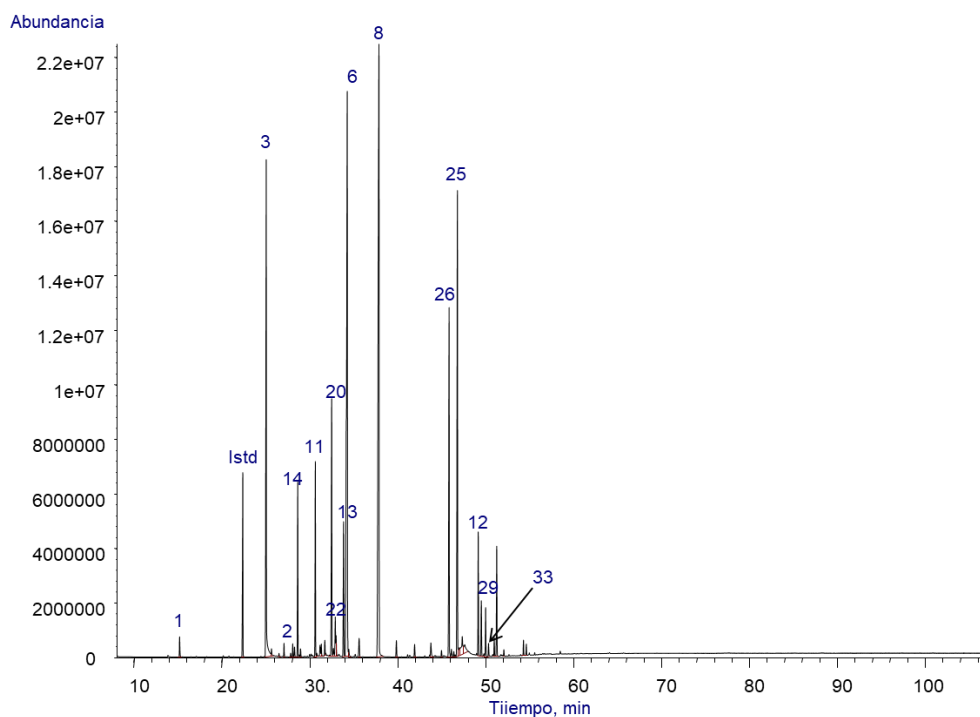


Figura 17.

*Perfil cromatográfico obtenido por GC/FID del AE de *C. winterianus*. Columna DB-5MS (60 m), inyección split 1:30. Véase la identificación de los picos en la **Tabla 6**.*

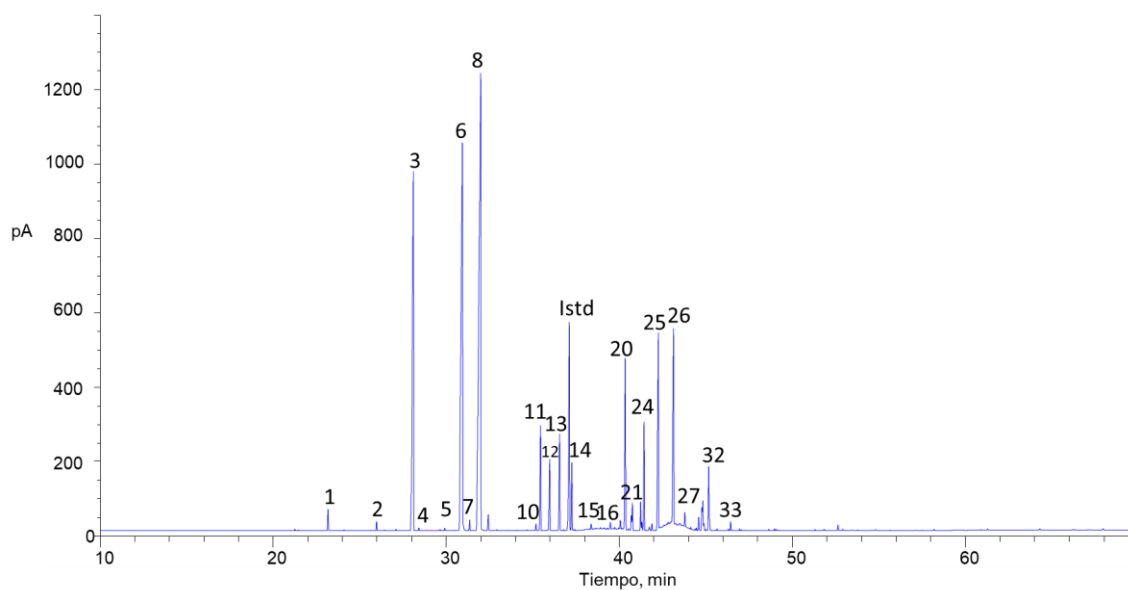


Tabla 6

Cantidad relativa (%) de los componentes del AE de Cymbopogon winterianus obtenido por destilación por arrastre con vapor.

N° de pico Fig. 15	tr, min DB-5MS	Compuesto	Tipo	ÍNDICES DE RETENCIÓN LINEALES				Área relativa, % GC/FID, (Valor ± s) n=3
				DB-5MS		DB-WAX		
				Exp.	Lit.	Exp.	Lit.	
1	19,36	Limoneno ^{a,b,c}	HM	1032	1030 [2]	1199	1198[2]	0,61 ± 0,004
2	22,24	Linalol ^{a,b,c}	MO	1101	1099 [2]	1546	1543[2]	0,24 ± 0,003
3	24,37	Citronelal ^{a,b,c}	MO	1155	1153 [2]	1482	1475[2]	15,44 ± 0,087
4	24,71	Isopulegol ^{a,b,c}	MO	1164	1167[1]	1578	1570[6]	0,08 ± 0,001
5	26,40	Decanal ^{a,b}	CO	1208	1205[2]	-	1496[2]	0,07 ± 0,001
6	27,19	Citronelol ^{a,b,c}	MO	1230	1228[2]	1764	1764[2]	19,45 ± 0,106
7	27,63	Neral ^{a,b}	MO	1242	1242[2]	1683	1679[2]	0,24 ± 0,001
8	28,11	Geraniol ^{a,b,c}	MO	1255	1255[2]	1849	1839[2]	29,85 ± 0,159
9	28,69	Geranial ^{a,b,c}	MO	1271	1270[2]	1731	1725[2]	0,42 ± 0,020
10	31,32	<i>p</i> -mentano-1,8-diol ^{a,b}	MO	1344	-	2182	-	0,13 ± 0,002
11	31,41	Acetato de citronelilo ^{a,b}	MO	1347	1352[2]	1661	1657[2]	2,63 ± 0,017
12	31,69	Eugenol ^{a,b,c}	TF	1355	1358[2]	2160	2163[2]	1,81 ± 0,009
13	32,44	Acetato de geranilo ^{a,b,c}	MO	1376	1380[2]	1753	1751[2]	2,36 ± 0,017
14	33,10	β-Elemeno	HS	1394	1390[2]	1596	1591[2]	1,75 ± 0,022
15	34,38	(<i>E</i>)-β-Cariofileno ^{a,b,c}	HS	1430	1431[3]	1607	1599[2]	0,24 ± 0,002
16	35,68	α-Humuleno ^{a,b,c}	HS	1466	1462[3]	1678	1667[2]	0,28 ± 0,004
17	35,89	(<i>Z</i>)-Muurolo-4(14),5-dieno ^{a,b}	HS	1472	1465[1]	1723	1643[2]	0,18 ± 0,012
18	36,18	Dauca 1,8-dieno ^{a,b}	HS	1480	1471[1]	1666	-	0,10 ± 0,003
19	36,27	γ-Muroleno ^{a,b}	HS	1483	1476[2]	1696	1690[2]	0,31 ± 0,004

EFECTO REPELENTE DE ACEITES ESENCIALES Y FRACCIONES

Tabla 6. Continuación								
20	36,57	Germacreno D ^{a,b,c}	HS	1491	1484[1]	1717	1708[2]	4,52 ± 0,039
21	36,95	<i>epi</i> -biciclosesquifelandreno ^{a,b}	HS	1502	1498[4]	-	1633[10]	0,33 ± 0,004
22	37,06	α -Muuroleno ^{a,b}	HS	1505	1498[2]	1728	1723[2]	0,63 ± 0,005
23	37,58	γ -Cadineno ^{a,b}	HS	1522	1513[2]	1696	.	0,66 ± 0,007
24	37,69	δ -Cadineno ^{a,b}	HS	1525	1523[2]	-	1756[2]	2,51 ± 0,017
25	38,69	Elemol ^{a,b}	SO	1557	1548[2]	2098	2078[2]	5,56 ± 0,076
26	39,63	Germacren D-4-ol ^{a,b}	SO	1587	1578[5]	2054	2057[2]	5,86 ± 0,190
27	40,48	Dihidrofarnesal ^{a,b}	SO	1616	1620[2]	-	-	0,49 ± 0,185
28	41,20	γ -Eudesmol ^{a,b}	HS	1643	1651[2]	-	2176[2]	0,27 ± 0,007
29	41,45	<i>epi</i> - α -Cadinol ^{a,b}	SO	1652	1642[7]	2172	2170[2]	0,47 ± 0,008
30	41,51	τ -Muurolol ^{a,b}	SO	1654	1654[8]	2188	-	0,59 ± 0,004
31	41,57	δ -Cadinol ^{a,b}	SO	1656	1646[1]	2200	-	0,17 ± 0,003
32	41,84	τ -Cadinol ^{a,b}	SO	1666	1652[8]	2171	2170[1]	1,36 ± 0,009
33	41,90	α -Eudesmol ^{a,b}	SO	1668	1669[9]	2224	2223[2]	0,22 ± 0,002
34	43,22	(2 <i>E</i> ,6 <i>Z</i>)-Farnesol ^{a,b}	SO	1718	1713[2]	2353	2341[2]	0,17 ± 0,004
		Hidrocarburo monoterpénico	HM					0,61 ± 0,004
		Monoterpeno oxigenado	MO					68,2 ± 0,21
		Hidrocarburo sesquiterpénico	HS					11,8 ± 0,051
		Sesquiterpeno oxigenado	SO					14,9 ± 0,28
		Compuesto oxigenado no terpénico	CO					0,07 ± 0,001
		Terpeno fenólico	TF					1,81 ± 0,009
		Total						97,37

Nota: ^a Identificación tentativa basada en los tiempos de retención(t_R) y los índices de retención lineales (IRL) en columna apolar (DB-5MS) y columna polar (DB-WAX).

EFECTO REPELENTE DE ACEITES ESENCIALES Y FRACCIONES

^b Identificación tentativa basada en los espectros de masas (MS; ionización electrónica, 70 eV, coincidencia > 90 %, estudio del patrón de fragmentación y comparación con los espectros de las bases de datos Adams (2004) [1], Babushok *et al.* [2], Baranauskiene *et al.* (2003) [3], Meccia *et al.* (2000) [4]; Morteza y Saeedi (2005) [5], Shimoda *et al.* (1993) [6], Silva *et al.* (2010)[7], Mardarowicz *et al.* (2004)[8], Saroglou *et al.* (2006) [9]. Galindo *et al.* (2002) [10]

^c Identificación confirmatoria basada en los compuestos estándar: limoneno (IRL_{DB-5MS}=1035 , IRL_{DB-WAX}=1203), linalol (IRL_{DB-5MS}=1102 , IRL_{DB-WAX}=1552), citronelal (IRL_{DB-5MS}=1155, IRL_{DB-WAX}=1486), isopulegol (IRL_{DB-5MS}=1155, IRL_{DB-WAX}=1584), citronelol (IRL_{DB-5MS}=1230, IRL_{DB-WAX}=1769), geraniol (IRL_{DB-5MS}=1255, IRL_{DB-WAX}=1855), geranial (IRL_{DB-5MS}=1271, IRL_{DB-WAX}=1735), eugenol (IRL_{DB-5MS}=1361 , IRL_{DB-WAX}=2167), acetato de geranilo (IRL_{DB-5MS}=1378, IRL_{DB-WAX}=1759), (*E*)- β -cariofileno (IRL_{DB-5MS}=1435, IRL_{DB-WAX}=1612), α -Humuleno (96%, IRL_{DB-5MS}= 1471, IRL_{DB-WAX}= 1684), (2*E*,6*Z*)-Farnesol (IRL_{DB-5MS}=1718, IRL_{DB-WAX}=2362), comparación de los espectros de masas (MS; impacto de electrones, 70 eV, > 95% coincidencia) y tiempo de retención.

Parámetros de integración: Columna apolar, anchura de pico (0,065), *initial threshold* (15), Componentes integrados: 34.

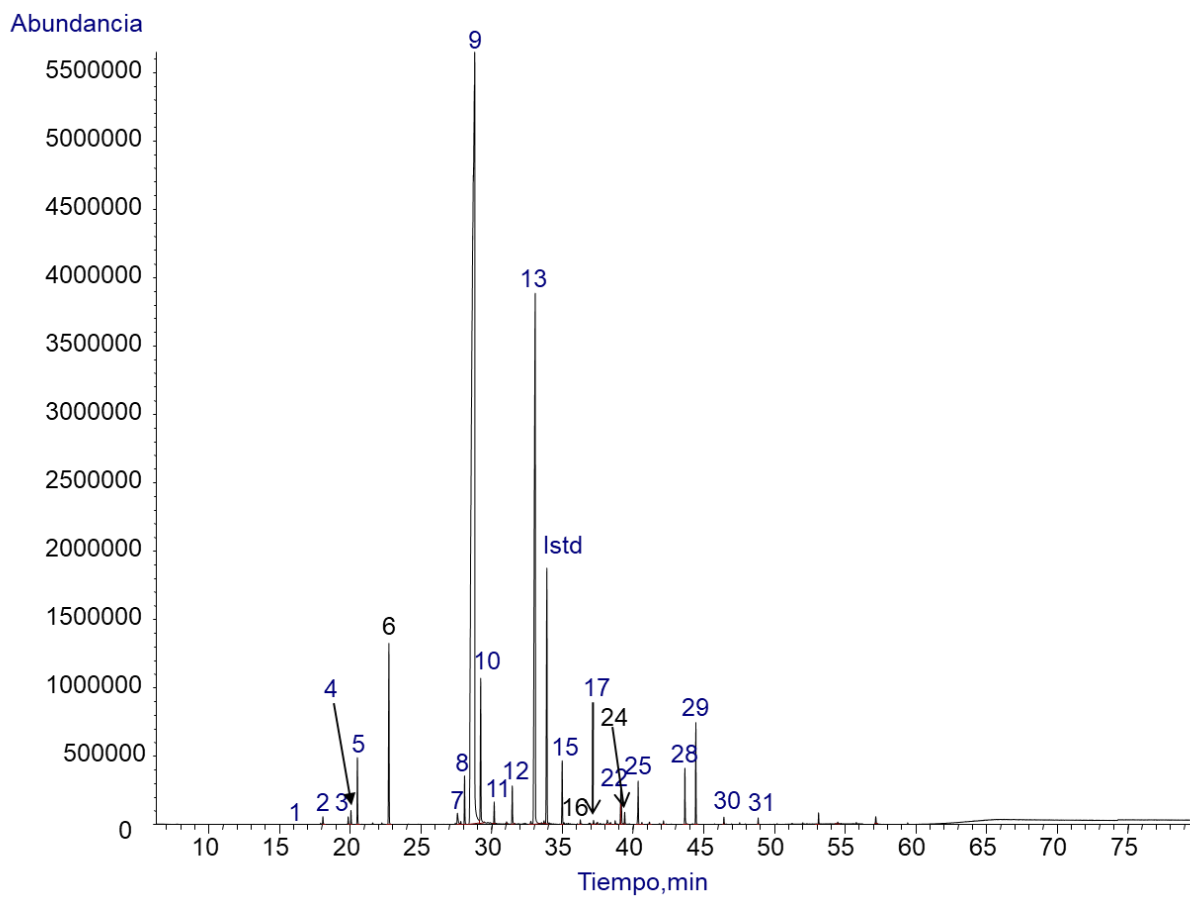
4.1.2 *Cymbopogon martinii*

En el AE de *Cymbopogon martinii*, cuya composición química se detalla en la **Tabla 7**, se identificaron 31 compuestos con áreas relativas mayores del 0,04% y que correspondieron al 100% del área cromatográfica total. Se identificaron monoterpenos oxigenados (96,2%), hidrocarburos monoterpénicos (1,55%), hidrocarburos sesquiterpénicos (1,21%), sesquiterpenos oxigenados (0,69%), compuestos oxigenados no terpénicos (0,04%) y otros compuestos (0,33%). Los componentes mayoritarios fueron geraniol (78,4%), acetato de geranilo (12,9%), linalol (2,0%), geranial (1,28%) y (*E*)- β -ocimeno (1,03%). En las **Figuras 18** y **19** se muestran los perfiles cromatográficos del aceite esencial en columna apolar y polar respectivamente y en la **Figura 20** se muestra el perfil cromatográfico obtenido por GC/FID.

Figura 18

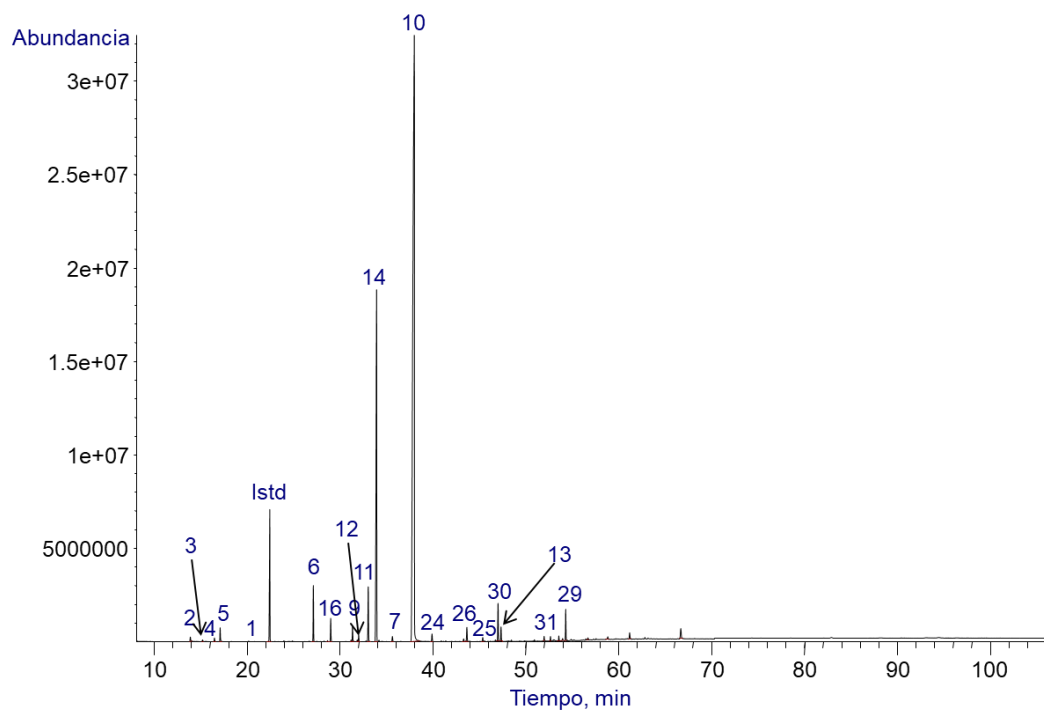
*Perfil cromatográfico obtenido por GC/MS (full scan) del AE de C. martinii. Columna DB-5MS (60 m), inyección split 1:30, MSD (EI, 70 eV). Véase la identificación de los picos en la **Tabla 7**.*

EFECTO REPELENTE DE ACEITES ESENCIALES Y FRACCIONES

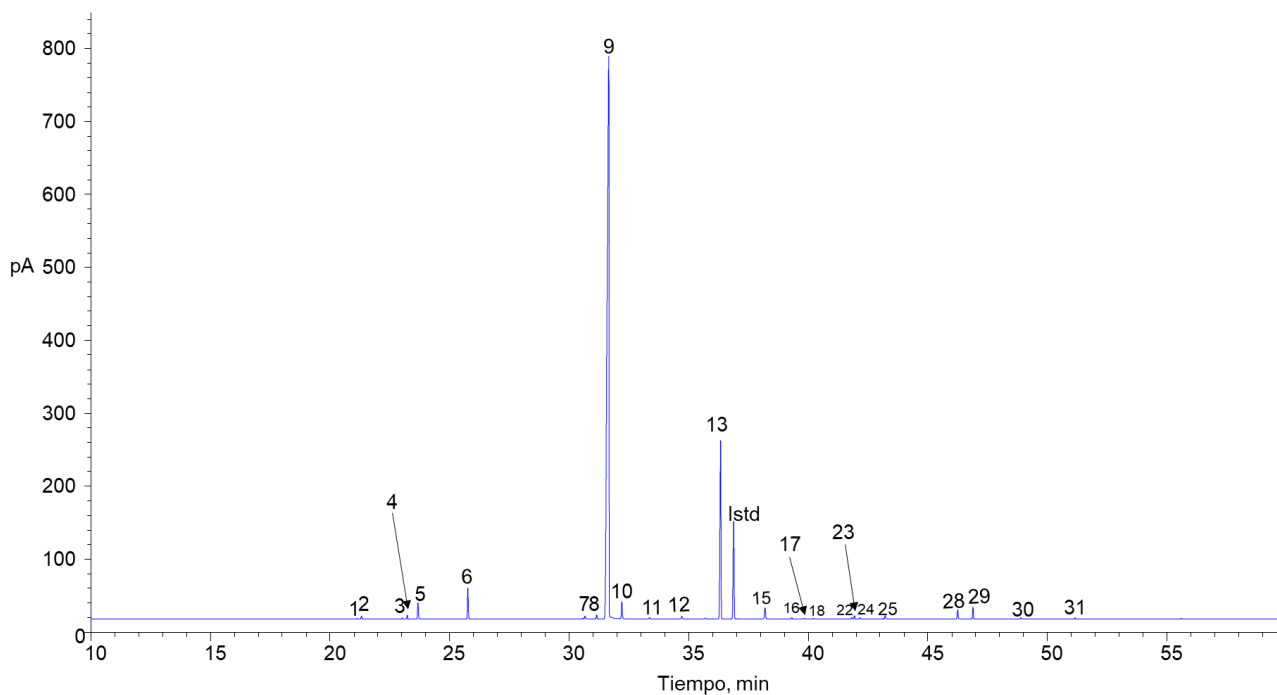
**Figura 19**

*Perfil cromatográfico obtenido por GC/MS (full scan) del AE de C. martinii. Columna DB-WAX (60 m), inyección split 1:30, MSD (EI, 70 eV). Véase la identificación de los picos en la **Tabla 7**.*

EFECTO REPELENTE DE ACEITES ESENCIALES Y FRACCIONES

**Figura 20**

Perfil cromatográfico obtenido por GC/FID del AE de *C. martinii*. Columna DB-5MS (60 m), inyección split 1:30. Véase la identificación de los picos en la **Tabla 7**.



EFECTO REPELENTE DE ACEITES ESENCIALES Y FRACCIONES

Tabla 7

Cantidad relativa (%) de los componentes del AE de Cymbopogon martinii obtenido por destilación por arrastre con vapor.

N° de pico en Fig. 18	t _R , min DB- 5MS	Compuesto	Tipo	ÍNDICES DE RETENCIÓN LINEALES				Área relativa % GC/FID, (Valor ± S) n=3
				DB-5MS		DB-WAX		
				Exp.	Lit.	Exp.	Lit.	
1	17,91	6-Metil-hept-5-en-2-ona ^{a,b,c}	CO	986	986[2]	1337	1337[2]	0,04 ± 0,0004
2	18,07	β-Mirceno ^{a,b,c}	HM	989	989[2]	1162	1161[2]	0,20 ± 0,006
3	19,86	Limoneno ^{a,b,c}	HM	1031	1030[2]	1199	1198[2]	0,09 ± 0,002
4	20,06	(Z)-β-Ocimeno ^{a,b}	HM	1036	1038[2]	1234	1235[2]	0,24 ± 0,002
5	20,51	(E)-β-Ocimeno ^{a,b}	HM	1047	1048[2]	1251	1250[2]	1,03 ± 0,006
6	22,74	Linalol ^{a,b,c}	MO	1101	1099[2]	1546	1543[2]	2,00 ± 0,007
7	27,59	Nerol ^{a,b,c}	MO	1226	1229[2]	1799	1795[2]	0,20 ± 0,001
8	28,09	Neral ^{a,b}	MO	1240	1242[2]	1683	1679[2]	0,31 ± 0,001
9	28,80	Geraniol ^{a,b,c}	MO	1260	1255[2]	1852	1839[2]	78,35 ± 0,006
10	29,23	Geranial ^{a,b}	MO	1271	1270[2]	1731	1725[2]	1,28 ± 0,03
11	30,18	Formiato de geranilo ^{a,b}	MO	1298	1303[2]	1704	1697[2]	0,09 ± 0,001
12	31,46	Compuesto N.I.(Véase Apéndice D.		1332	-	1761	-	0,21 ± 0,004
13	33,08	Acetato de geranilo ^{a,b,c}	MO	1377	1380[2]	1755	1751[2]	12,88 ± 0,021
14	33,71	β-Elemeno ^{a,b}	HS	1394	1390[2]	1596	1591[2]	ND
15	34,99	(E)-β-Cariofileno ^{a,b,c}	HS	1429	1431[3]	1607	1599[2]	0,80 ± 0,002
16	36,27	α-Humuleno ^{a,b,c}	HS	1466	1462[3]	1678	1667[2]	0,07 ± 0,002
17	37,21	α-Selineno ^{a,b}	HS	1492	1498[1]	1700	1703[9]	0,05 ± 0,001
18	37,42	β-Selineno ^{a,b}	HS	1498	1489[1]	-	1717[2]	ND
19	37,49	Valenceno ^{a,b}	HS	1500	1492[2]	1725	1729[2]	0,05 ± 0,001
20	38,41	7-epi-α-Selineno ^{a,b}	HS	1530	1526[8]	1769	1764[2]	ND

EFECTO REPELENTE DE ACEITES ESENCIALES Y FRACCIONES

Tabla 7. Continuación								
21	38,74	(Z)-Nerolidol ^{a,b}	SO	1540	1544[2]	-	2007[2]	ND
22	39,13	Compuesto N.I.(Véase Apéndice E)		1553	-	1447	1446[2]	0,11 ± 0,003
23	39,17	Butanoato de geranilo ^{a,b}	MO	1555	1563[2]	1894	1879[2]	0,19 ± 0,002
24	39,41	(E)-Nerolidol ^{a,b}	SO	1562	1561[2]	2039	2036[2]	0,10 ± 0,001
25	40,36	Óxido de cariofileno ^{a,b,c}	HS	1593	1596[3]	1989	1986[2]	0,24 ± 0,001
26	40,63	Isovalerato de geranilo ^{a,b}	MO	1602	1599[2]	-	1904[2]	ND
27	41,16	Epóxido de humuleno II ^{a,b}	SO	1622	1615[4]	2045	2047[2]	ND
28	43,67	(2Z,6E)-Farnesol ^{a,b,c}	SO	1716	1723[2]	2354	2357[2]	0,59 ± 0,004
29	44,44	(E)-Hexanoato de geranilo ^{a,b}	MO	1747	1755[5]	2088	2075[6]	0,71 ± 0,003
30	46,43	(2Z-6E)-Acetato de farnesilo ^{a,b}	MO	1831	1822[1]	2261	2259[2]	0,09 ± 0,004
31	48,85	Caprilato de geranilo ^{a,b}	MO	1943	1953[7]	2287	-	0,08 ± 0,002
		Hidrocarburo monoterpénico						1,55 ± 0,01
		Hidrocarburo sesquiterpénico						1,21 ± 0,003
		Sesquiterpeno oxigenado						0,69 ± 0,004
		Compuestos oxigenados no terpénicos						0,04 ± 0,0004
		Otros						0,33 ± 0,01
		Total						100

Nota: ^a Identificación tentativa basada en los tiempos de retención(tR) y los índices de retención lineales (IRL) en columna apolar (DB-5MS) y columna polar (DB-WAX).

^b Identificación tentativa basada en los espectros de masas (MS; ionización electrónica, 70 eV, coincidencia > 90 %, estudio del patrón de fragmentación y comparación con los espectros de las bases de datos Adams (2004) [1], Babushok *et al.* (2003) [2], Baranauskienė *et al.* (2003) [3], Chalchat *et al.* (2010) [4], Shellie *et al.* (2005)[5], Werkhoff *et al.* (1998) [6], Andriamaharavo (2014) [7], Radulovic *et al.* (2010) [8], Gancel *et al.* (2003)[9].

^c Identificación confirmatoria basada en los compuestos estándar: 6-Metil-hept-5-en-2-ona (IRL_{DB-5MS}=985, IRL_{DB-WAX}=1340), β-miceno (IRL_{DB-5MS}=989, IRL_{DB-WAX}=1165), limoneno (IRL_{DB-5MS}=1035, IRL_{DB-WAX}=1203), linalol (IRL_{DB-5MS}=1102, IRL_{DB-WAX}=1552), nerol (IRL_{DB-5MS}=1230, IRL_{DB-WAX}=1806), geraniol (IRL_{DB-5MS}=1255, IRL_{DB-WAX}=1855), geranial (IRL_{DB-5MS}=1271, IRL_{DB-WAX}=1735), acetato de geranilo (IRL_{DB-5MS}=1378, IRL_{DB-WAX}=1759), (E)-β-cariofileno (IRL_{DB-5MS}=1435, IRL_{DB-WAX}=1612), α-Humuleno (IRL_{DB-5MS}=1471, IRL_{DB-WAX}=1684), (Z)-nerolidol (IRL_{DB-5MS}=1534, IRL_{DB-WAX}=2261), óxido de cariofileno (IRL_{DB-5MS}=1598, IRL_{DB-WAX}=1996), (2E,6Z)-

EFECTO REPELENTE DE ACEITES ESENCIALES Y FRACCIONES

Farnesol ($IRL_{DB-5MS}=1718$, $IRL_{DB-WAX}=2362$), comparación de los espectros de masas (MS; impacto de electrones, 70 eV, > 95% coincidencia) y tiempo de retención.

Parámetros de integración: Columna apolar, anchura de pico (0,065), *initial threshold* (15), Componentes integrados: 31

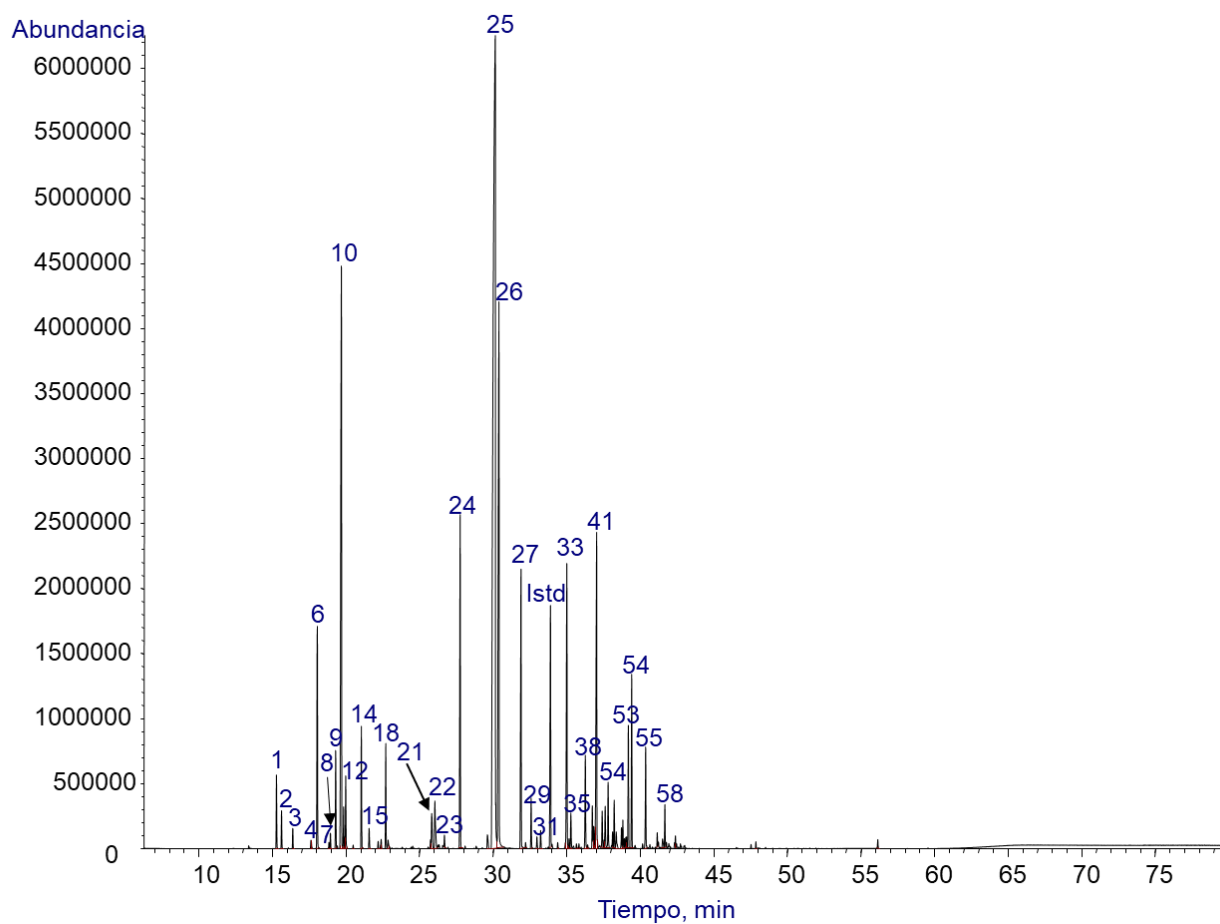
4.1.3 *Lippia origanoides*

En el AE de *Lippia origanoides*, cuya composición química se detalla en la **Tabla 8** se identificaron 59 compuestos con áreas relativas mayores del 0,05% y que correspondieron al 96% del área cromatográfica total. Se identificaron terpenos fenólicos (58,3%), hidrocarburos monoterpénicos (15,7%), monoterpenos oxigenados (11,1%), hidrocarburos sesquiterpénicos (9,8%), sesquiterpenos oxigenados (1,4%) y compuestos oxigenados no terpénicos (0,06%). Los componentes mayoritarios fueron timol (48,1%), carvacrol (10,2%), *p*-cimeno (8,8%), (*E*)- β -cariofileno (4,1%), timol metil éter (2,8%), acetato de timol (2,5%) y β -mirceno (2,4%). En las **Figuras 21** y **22** se muestran los perfiles cromatográficos del aceite esencial en columna apolar y polar respectivamente y en la **Figura 23** se muestra el perfil cromatográfico obtenido por GC/FID.

Figura 21

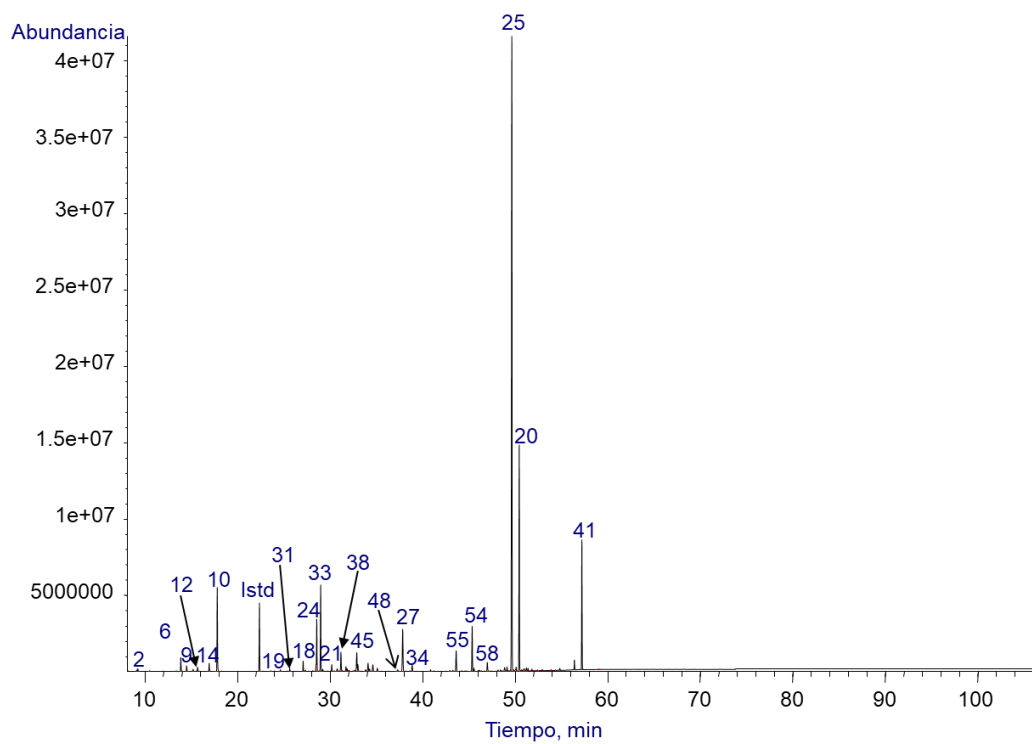
*Perfil cromatográfico obtenido por GC/MS (full scan) del AE de L. origanoides. Columna DB-5MS (60 m), inyección split 1:30, MSD (EI, 70 eV). Véase la identificación de los picos en la **Tabla 8**.*

EFECTO REPELENTE DE ACEITES ESENCIALES Y FRACCIONES

**Figura 22**

*Perfil cromatográfico obtenido por GC/MS (full scan) del AE de L. origanoides. Columna DB-WAX (60 m), inyección split 1:30, MSD (EI, 70 eV). Véase la identificación de los picos en la **Tabla 8**.*

EFECTO REPELENTE DE ACEITES ESENCIALES Y FRACCIONES

**Figura 23**

*Perfil cromatográfico obtenido por GC/FID del AE de L. origanoides. Columna DB-5MS (60 m), inyección split 1:30. Véase la identificación de los picos en la **Tabla 8**.*

EFECTO REPELENTE DE ACEITES ESENCIALES Y FRACCIONES

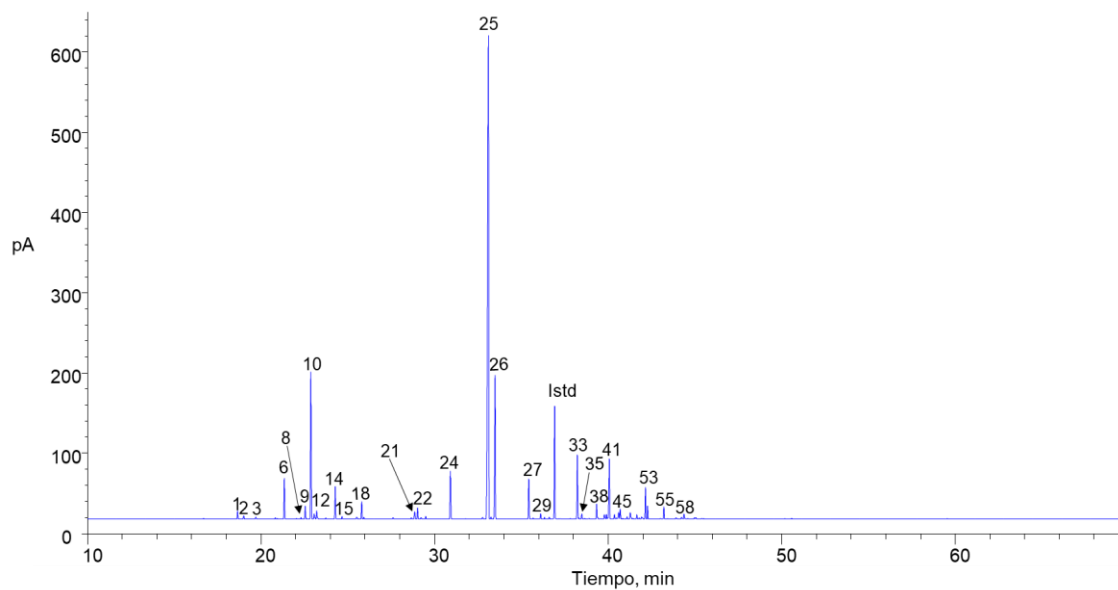


Tabla 8

Cantidad relativa (%) de los componentes del AE de L. origanoides obtenido por destilación por arrastre con vapor.

N° de pico Fig. 21	t _R , min DB- 5MS	Compuesto	Tipo	ÍNDICES DE RETENCIÓN LINEALES				Área relativa, % GC/FID, (Valor ± s) n=3
				DB-5MS		DB-WAX		
				Exp.	Lit.	Exp.	Lit.	
1	15,3	α-Tujeno	HM	926	928[2]	1025	1027[2]	0,511 ± 0,001
2	15,65	α-Pineno ^{a,b,c}	HM	934	936[2]	1021	1025[2]	0,232 ± 0,001
3	16,41	Canfeno ^{a,b,c}	HM	951	950[2]	1065	1069[2]	0,139 ± 0,001
4	17,64	β-Pineno ^{a,b}	HM	979	979[2]	1108	1110[2]	0,0913 ± 0,0002
5	17,66	1-Oct-en-3-ol ^{a,b,c}	CO	980	980[2]	1449	1444[2]	0,0649 ± 0,0002
6	18,07	β-Mirceno ^{a,b,c}	HM	989	989[2]	1162	1161[2]	2,376 ± 0,003
7	18,86	α-Felandreno ^{a,b,c}	HM	1008	1004[2]	-	1168[2]	0,067 ± 0,001
8	18,97	δ-3-Careno ^{a,b}	HM	1010	1011[2]	1149	1147[2]	0,108 ± 0,001
9	19,32	α-Terpineno ^{a,b,c}	HM	1019	1017[2]	1179	1178[2]	0,777 ± 0,002
10	19,71	p-Cimeno ^{a,b,c}	HM	1028	1025[2]	1270	1270[2]	8,81 ± 0,01
11	19,86	Limoneno ^{a,b,c}	HM	1032	1026[2]	1199	1198[2]	0,328 ± 0,002
12	20,01	1,8-Cineol ^{a,b,c}	MO	1035	1032[2]	1212	1211[2]	0,605 ± 0,002
13	20,51	(E)-β-Ocimeno ^{a,b}	HM	1047	1048[2]	-	1250[2]	0,0714 ± 0,0005
14	21,07	γ-Terpineno ^{a,b,c}	HM	1060	1060[2]	1246	1245[2]	1,923 ± 0,004
15	21,60	Hidrato de (Z)-sabineno ^{a,b}	MO	1073	1067[2]	-	1460[2]	0,188 ± 0,002

EFECTO REPELENTE DE ACEITES ESENCIALES Y FRACCIONES

Tabla 8. Continuación.

16	22,21	Terpinoleno ^{a,b}	HM	1088	1087[2]	1284	1282[2]	N.D.
17	22,42	<i>p</i> -Cimeno ^{a,b}	HM	1093	-	1437	-	0,217 ± 0,001
18	22,73	Linalol ^{a,b,c}	MO	1100	1099[2]	1546	1543[2]	1,045 ± 0,002
19	22,89	Hidrato de (<i>E</i>)-sabineno ^{a,b}	MO	1104	1098[2]	-	1549[2]	0,149 ± 0,001
20	25,77	endo-borneol ^{a,b}	MO	1178	1177[3]	1794	-	0,127 ± 0,001
21	25,85	Umbelulona ^{a,b}	MO	1180	1171[2]	1646	1642[2]	0,513 ± 0,001
22	26,07	Terpinen-4-ol ^{a,b,c}	MO	1186	1177[2]	-	1601[2]	0,705 ± 0,001
23	26,71	α -Terpineol ^{a,b,c}	MO	1202	1190[2]	1700	1694[2]	0,176 ± 0,001
24	27,78	Timol metil eter ^{a,b}	MO	1232	1234[2]	1593	1587[2]	2,823 ± 0,002
25	30,16	Timol ^{a,b,c}	TF	1297	1290[2]	2177	2164[2]	48,06 ± 0,01
26	30,42	Carvacrol ^{a,b,c}	TF	1304	1300[2]	2205	2211[2]	10,155 ± 0,002
27	31,92	Acetato de timilo ^{a,b}	MO	1345	1349[1]	1849	1867[2]	2,51 ± 0,01
28	32,22	Eugenol ^{a,b,c}	TF	1353	1358[2]	-	2163[2]	0,079 ± 0,003
29	32,60	Acetato de carvacrilo ^{a,b}	MO	1363	1370[1]	1871	1880[2]	0,3458 ± 0,0004
30	33,00	Acetato de geranilo ^{a,b,c}	MO	1374	1380[2]	-	1751[2]	0,1027 ± 0,0005
31	33,25	α -Copaeno ^{a,b}	HS	1381	1376[2]	1500	1491[2]	0,147 ± 0,002
32	34,40	2,5-Dimetoxi- <i>p</i> -cimeno ^{a,b}	HM	1413	1424[1]	-	-	N.D.
33	35,03	(<i>E</i>)- β -Cariofileno ^{a,b,c}	HS	1430	1431[3]	1607	1599[2]	4,12 ± 0,01
34	35,18	Cubeneno ^{a,b}	HS	1435	-	-	-	0,0926 ± 0,0003
35	35,30	(<i>E</i>)- α -Bergamoteno ^{a,b}	HS	1438	1435[2]	1591	1576[2]	0,362 ± 0,005
36	35,67	Aromadendreno ^{a,b}	HS	1449	1441[2]	1655	1620[2]	N.D.

EFECTO REPELENTE DE ACEITES ESENCIALES Y FRACCIONES

Tabla 8. Continuación.

37	35,85	(<i>E</i>)- β -Farneseno ^{a,b}	HS	1454	1456[2]	-	1664[2]	0,0996 \pm 0,0003
38	36,28	α -Humuleno ^{a,b,c}	HS	1466	1462[3]	1678	1667[2]	0,926 \pm 0,004
39	36,43	9- <i>epi</i> -(<i>E</i>)-Cariofileno ^{a,b}	HS	1470	1476[4]	-	-	0,090 \pm 0,001
40	36,84	γ -Muroleno ^{a,b,c}	HS	1482	1476[2]	1696	1690[2]	0,3034 \pm 0,0003
41	37,05	Hidroxianisol 3- <i>tert</i> -Butilado ^{a,b}	TF	1488	1488[1]	2481	-	3,75 \pm 0,01
42	37,43	β -Selineno ^{a,b}	HS	1498	1489[1]	-	1717[2]	0,297 \pm 0,001
43	37,56	Valenceno ^{a,b}	HS	1502	1503[2]	1727	1740[2]	0,102 \pm 0,001
44	37,63	α -Selineno ^{a,b}	HS	1505	1493[2]	1770	1725[2]	0,478 \pm 0,002
45	37,83	β -Bisaboleno ^{a,b}	HS	1511	1508[2]	1773	1728[2]	0,605 \pm 0,001
46	38,13	γ -Cadineno ^{a,b}	HS	1521	1513[2]	1737	1763[2]	0,162 \pm 0,002
47	38,24	δ -Cadineno ^{a,b}	HS	1524	1523[2]	1741	-	0,401 \pm 0,002
48	38,38	(<i>E</i>)-Calameneno ^{a,b}	HS	1529	1528[2]	1837	1823[2]	0,089 \pm 0,003
49	38,83	(<i>Z</i>)- α -Bisaboleno ^{a,b}	HS	1543	-	-	-	0,304 \pm 0,004
50	38,94	γ -Selineno ^{a,b}	HS	1547	-	-	-	0,112 \pm 0,004
51	39,03	α -Calacoreno ^{a,b}	HS	1550	1544[1]	1917	1921[2]	0,162 \pm 0,003
52	39,09	Selin-3,7(11)-dieno	HS	1552	1541[2]	1714	1783[2]	0,099 \pm 0,004
53	39,21	3-(<i>tert</i> -butil)-4-metoxifenil acetato ^{a,b}	MO	1556	-	-	-	1,769 \pm 0,003
54	39,43	(<i>E</i>)-Nerolidol ^{a,b}	SO	1563	1561[2]	2039	2036[2]	0,748 \pm 0,003
55	40,38	Óxido de cariofileno ^{a,b,c}	HS	1594	1596[3]	1989	1986[2]	0,735 \pm 0,001
56	41,17	Epóxido de humuleno II ^{a,b}	HS	1622	1608[1]	2045	-	0,106 \pm 0,002
57	41,53	Cubenol ^{a,b}	SO	1635	1637[2]	-	2068[2]	0,1119 \pm 0,0005

EFECTO REPELENTE DE ACEITES ESENCIALES Y FRACCIONES

Tabla 8. Continuación								
58	41,68	Di- <i>epi</i> -1,10-cubenol ^{a,b}	SO	1641	1612[2]	2088	2074[2]	0,395 ± 0,001
59	42,40	α-Eudesmol ^{a,b}	SO	1667	1652[2]	2225	2223[2]	0,143 ± 0,001
		Hidocarburo monoterpénico	HM					15,65 ± 0,02
		Monoterpeno oxigenado	MO					11,06 ± 0,01
		Hidrocarburo sesquiterpénico	HS					9,79 ± 0,01
		Sesquiterpeno oxigenado	SO					1,398 ± 0,004
		Terpeno fenólico	TF					58,30 ± 0,01
		Compuesto oxigenado no terpénico	CO					0,0649 ± 0,0002
Total								96,25
<p><i>Nota:</i> ^a Identificación tentativa basada en los tiempos de retención (t_R) y los índices de retención lineales (IRL) en columna apolar (DB-5MS) y columna polar (DB-WAX). Identificación tentativa basada en los espectros de masas (MS, EI, 70 eV, coincidencia > 90%).</p> <p>^b Identificación tentativa basada en los espectros de masas (MS; ionización electrónica, 70 eV, coincidencia > 90 %, estudio del patrón de fragmentación y comparación con los espectros de las bases de datos Adams (2004) [1], Babushok <i>et al.</i> (2011)[2], Baranasukiene <i>et al.</i> (2003)[3], Morteza <i>et al.</i> (2004)[4]</p> <p>^c Identificación confirmatoria basada en los compuestos estándar: α-pineno (IRL_{DB-5MS}=937, IRL_{DB-WAX}=1024), camfeno (IRL_{DB-5MS}=954, IRL_{DB-WAX}=1068), 1-octen-3-ol (IRL_{DB-5MS}= 981, IRL_{DB-WAX}=1068), β-miceno (IRL_{DB-5MS}=989, IRL_{DB-WAX}=1165), α-felandreno (IRL_{DB-5MS}=1007, IRL_{DB-WAX}=1168), α-terpineno (IRL_{DB-5MS}=1020, IRL_{DB-WAX}=1184), <i>p</i>-cimeno (IRL_{DB-5MS}=1028, IRL_{DB-WAX}=1274), limoneno (IRL_{DB-5MS}=1035, IRL_{DB-WAX}=1203), 1,8-cineol (IRL_{DB-5MS}=1034, IRL_{DB-WAX}=1215), linalol (97%, IRL_{DB-5MS}= 1102, IRL_{DB-WAX}=1552), terpinen-4-ol (IRL_{DB-5MS}= 1187, IRL_{DB-WAX}=1611), α-terpineol (IRL_{DB-5MS}=1202, IRL_{DB-WAX}=1704), timol (IRL_{DB-5MS}=1291, IRL_{DB-WAX}=2185), carvacrol (IRL_{DB-5MS}=1301, IRL_{DB-WAX}=2214), eugenol (IRL_{DB-5MS}=1360, IRL_{DB-WAX}=2166), acetato de geranilo (IRL_{DB-5MS}=1378, IRL_{DB-WAX}=1759), (<i>E</i>)-β-cariofileno (98,5%, IRL_{DB-5MS}=1435, IRL_{DB-WAX}=1612), α-Humuleno (96%, IRL_{DB-5MS}= 1471, IRL_{DB-WAX}= 1684), comparación de los espectros de masas (MS; impacto de electrones, 70 eV, > 95% coincidencia) y tiempo de retención.</p> <p>Parámetros de integración: Columna apolar, anchura de pico (0,065), <i>initial threshold</i> (17), Componentes integrados: 59.</p>								

4.2 Microdestilación a presión reducida de los AE de *C. winterianus*, *C. martinii* y *L. origanoides* y cuantificación por GC/FID.

En el fraccionamiento a presión reducida del AE de *C. winterianus* y *L. origanoides* se obtuvieron tres fracciones: fracción 1 (F1), fracción 2 (F2) y fracción de fondo (FF). Para el AE de *C. martinii* se recolectó adicionalmente la fracción 3 (F3). En la **Tabla 9** se muestra la presión empleada durante el proceso de fraccionamiento, las temperaturas del tope y del fondo de la columna en las cuales se recolectó cada fracción.

Tabla 9

Condiciones de presión y temperatura para el fraccionamiento del aceite esencial de C. winterianus, C. martinii y L. origanoides.

Aceite esencial	Fracción	T1 ¹ (°C)	T2 ² (°C)	Presión (Torr)
<i>C. winterianus</i>	F1	63-67	122	7
	F2	79-92	124	
	FF	-	-	
<i>C. martinii</i>	F1	55-58	117	4
	F2	82-87	119	
	F3	93-100	119	
	FF	-	-	
<i>Lippia origanoides</i>	F1	51-55	109	10
	F2	65-71	114	
	FF	-	-	

Nota: ¹Temperatura de tope; ²Temperatura de fondo

En la **Tabla 10** se registra el peso de aceite esencial fraccionado, los gramos obtenidos de cada fracción y sus respectivos porcentajes en peso. La fracción de fondo (FF) representó en los tres AE la mayor proporción del total fraccionado.

EFECTO REPELENTE DE ACEITES ESENCIALES Y FRACCIONES

En el fraccionamiento del AE de *C. winterianus*, la F1 del destilado, recolectada entre 63-67 °C, se enriqueció de los compuestos con los puntos de ebullición más bajos de la mezcla: limoneno (176 °C) y linalol (198 °C). La F2, recolectada entre 79 °C y 92 °C, se enriqueció principalmente con el monoterpene oxigenado citronelal con punto de ebullición de 208°C. En FF se identificaron los compuestos de mayor punto de ebullición: citronelol (225 °C), geraniol (230 °C), (*E*)- β -cariofileno (245 °C), α -humuleno (276 °C) y (*2E,6Z*)-farnesol (283 °C).

En el fraccionamiento del AE de *C. martinii*, la F1 obtenida entre 55 y 58°C, se enriqueció con los compuestos β -mirceno (167 °C), limoneno (176 °C) y linalol (198 °C). Los compuestos nerol (224-225 °C), geraniol (224-225 °C) y acetato de geranilo (245 °C) recolectados también en esta fracción, no se separaron a pesar de presentar puntos de ebullición mayores.

En el fraccionamiento del AE de *L. origanoides*, la F1 del destilado, recolectada entre 51-55 °C se enriqueció con algunos de los compuestos con los puntos de ebullición más bajos de la mezcla: β -mirceno (167 °C) y *p*-cimeno (176 °C). La F2, recolectada entre 65 °C y 71 °C, se enriqueció con los hidrocarburos monoterpénicos β -mirceno, *p*-cimeno, limoneno (175-177 °C) y γ -terpineno (182 °C). En la FF se identificaron terpenos fenólicos como timol (232 °C) y carvacrol (230 °C), hidrocarburos sesquiterpénicos como el (*E*)- β -cariofileno (245 °C) y sesquiterpenos oxigenados como el óxido de cariofileno (280 °C).

EFECTO REPELENTE DE ACEITES ESENCIALES Y FRACCIONES

Tabla 10

Condiciones de presión y temperatura para el fraccionamiento del aceite esencial de C. winterianus, C. martinii y L. origanoides.

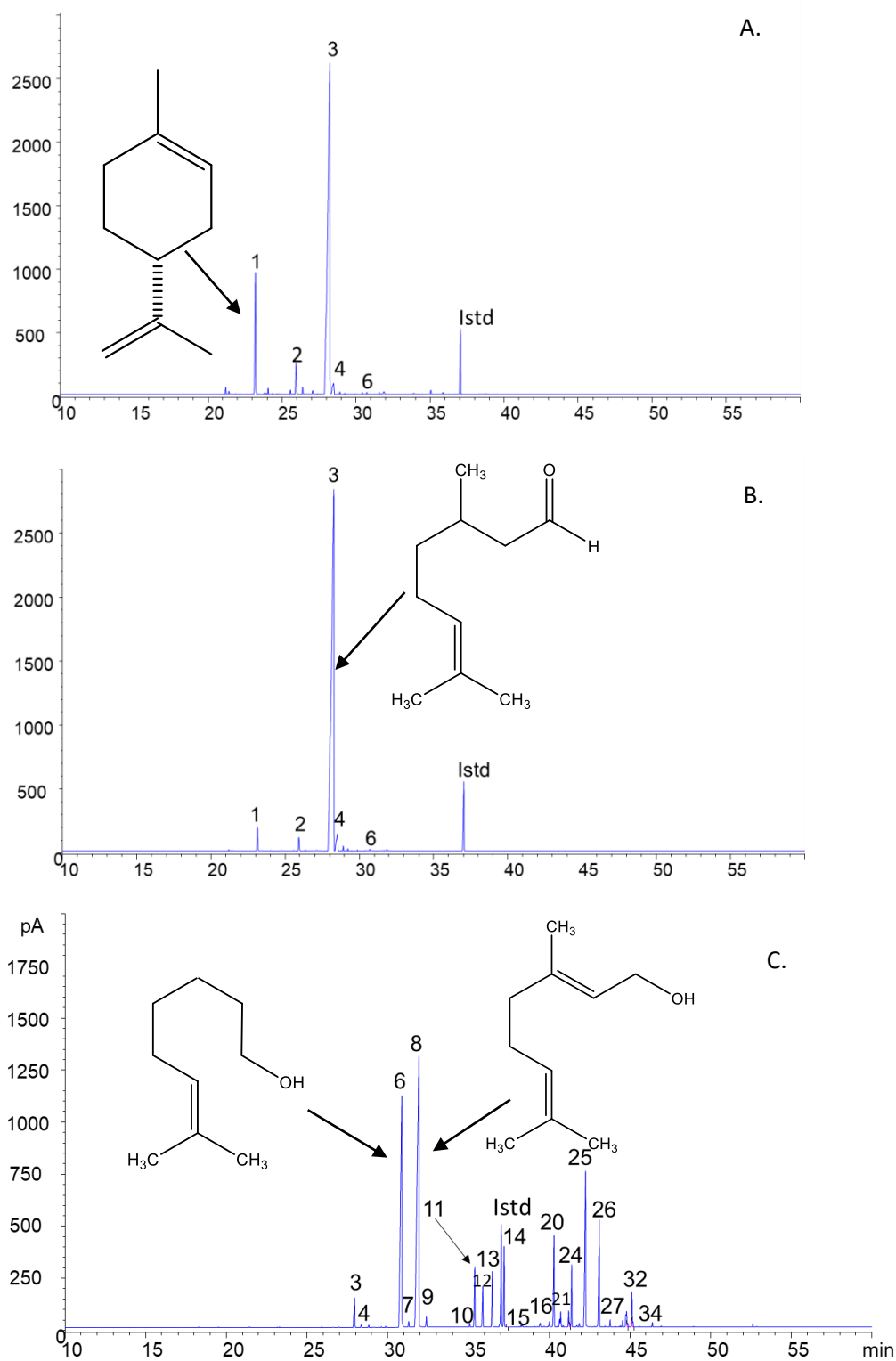
Especie	W AE,g	W F1,g	% F1	W F2,g	% F2	W F3,g	% F3	W FF,g	% FF	Pérdidas de AE, g	% Pérdidas
<i>C. winterianus</i>	15,001 ± 0,001	0,56 ± 0,37	3,7 ± 2,5	1,4 ± 0,3	9,3 ± 2,5	-	-	12,1 ± 0,3	81 ± 1,7	0,9 ± 0,1	6,1 ± 0,9
<i>C. martinii</i>	14,0003 ± 0,0041	0,56 ± 0,37	3,7 ± 2,5	0,9 ± 0,7	7,0 ± 5,1	2,3 ± 0,9	21,5 ± 10,6	8,1 ± 1,8	60 ± 13	1,2 ± 0,1	8,8 ± 0,7
<i>Lippia origanoides</i>	15,0005 ± 0,001	0,23 ± 0,05	1,6 ± 0,4	1,3 ± 0,5	7,2 ± 3,1	-	-	12,3 ± 0,1	82,2 ± 0,94	1,1 ± 0,4	7,4 ± 2,4

Nota: W g de aceite esencial y/o fracción

EFECTO REPELENTE DE ACEITES ESENCIALES Y FRACCIONES

Figura 24

Perfil cromatográfico de las fracciones obtenidas del AE de C. winterianus. A. Fracción 1; B. Fracción 2; C. Fracción 3. Columna DB-5MS (60 m). Véase la identificación de los picos en la Tabla 6.



EFECTO REPELENTE DE ACEITES ESENCIALES Y FRACCIONES

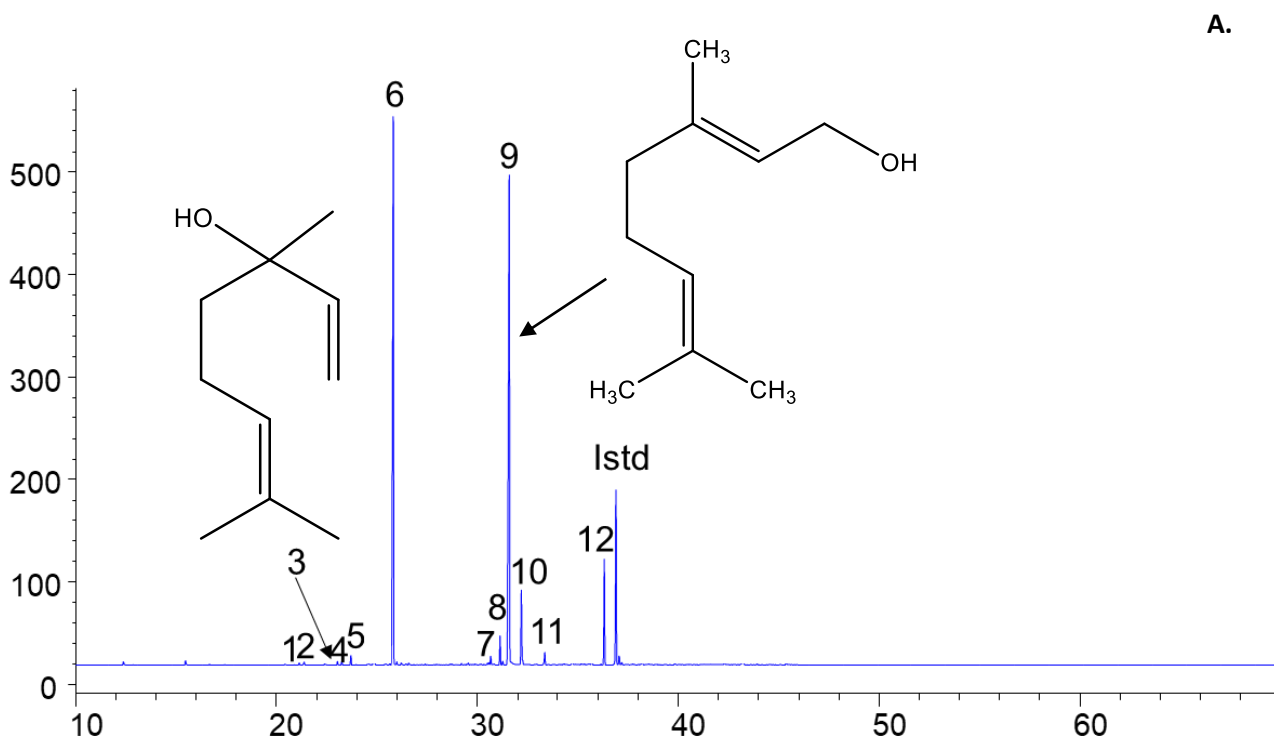
Tabla 11

Cuantificación de los compuestos mayoritarios en el aceite esencial de C. winterianus y las fracciones F1, F2 y FF.

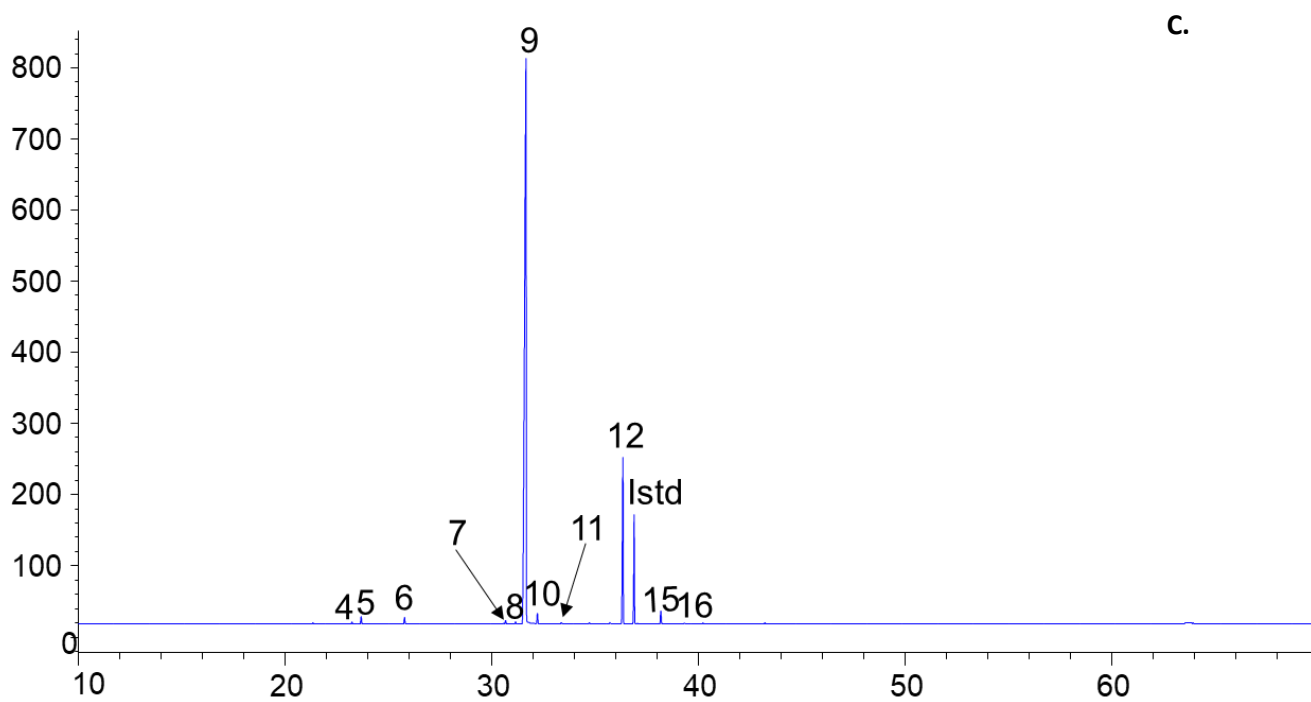
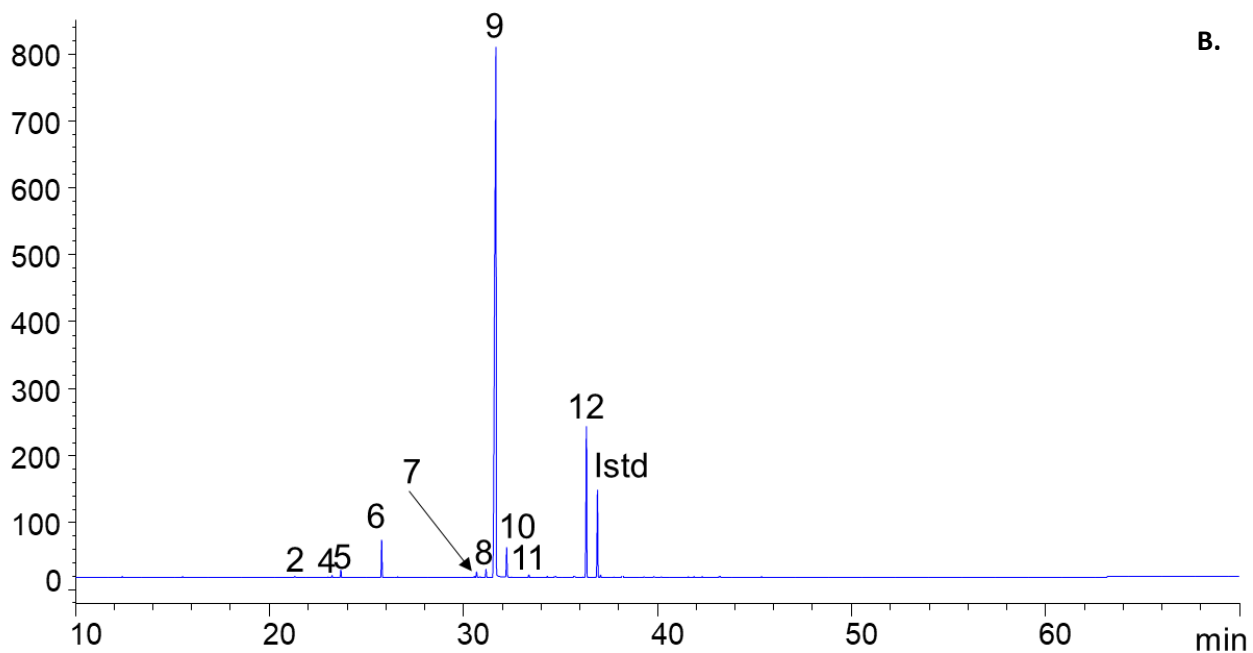
N° de pico , Fig.15	Compuesto	Rango , mg/kg	Ecuación lineal	R ²	mg/kg mg de compuesto /g de muestra x 10 ³ (% , valor ± SD, n=3)					
					LOD	LOQ	AE	F1 (63-67 °C)	F2 (79-92°C)	FF
1	Limoneno	10 -70	y = 0.615x+0.858	0.996	50	20	7,1 ± 0.1	-	-	-
		260-2090	y = 0.753x-19.79	0.993	5	20		84 ± 2		
2	Linalol	10-70	y = 0.615x+0.858	0.996			2,7 ± 0,04			
		115-2090	y = 0.781x-14.41					25 ± 1		
3	Citronelal	260-1510	y = 0.793x+7.88	0.997			142,0 ± 1			
		2660-22560	y = 0.478x+499	0.994	5	20	-	560 ± 21	1052 ± 61	< LOQ
6	Citronelol	115-2090	y = 0.730x-17.11	0.996	5	20	200 ± 1,0	-	-	239 ± 14
8	Geraniol	115-2090	y = 0.778-22.54	0.996	5	20	287 ± 2	-	-	416 ± 17
13	Acetato de geranilo	30-370	y = 0.856x-7.70	0.991	40	120	21,2 ± 0.2	-	-	26 ± 1
15	(E)-β-Cariofileno	10-70	y = 0.717x+1.27	0.993	10	20	< LOQ	-	-	< LOQ
16	α-Humuleno	10-70	y = 0.873+1.47	0.998	5	10	2,2 ± 0,04	-	-	2,2 ± 0,17
34	(2E,6Z)-Farnesol	10-260	y = 0.696x-2.66	0.993	20	70	< LOQ	-	-	< LOQ

Figura 25

*Perfil cromatográfico de las fracciones obtenidas del AE de C. martinii. A. Fracción 1; B. Fracción 2; C. Fracción 3; D. Fracción de fondo. Columna DB-5MS (60 m), inyección split 1:30, MSD (EI, 70 eV). Véase la identificación de los picos en la **Tabla 7**.*

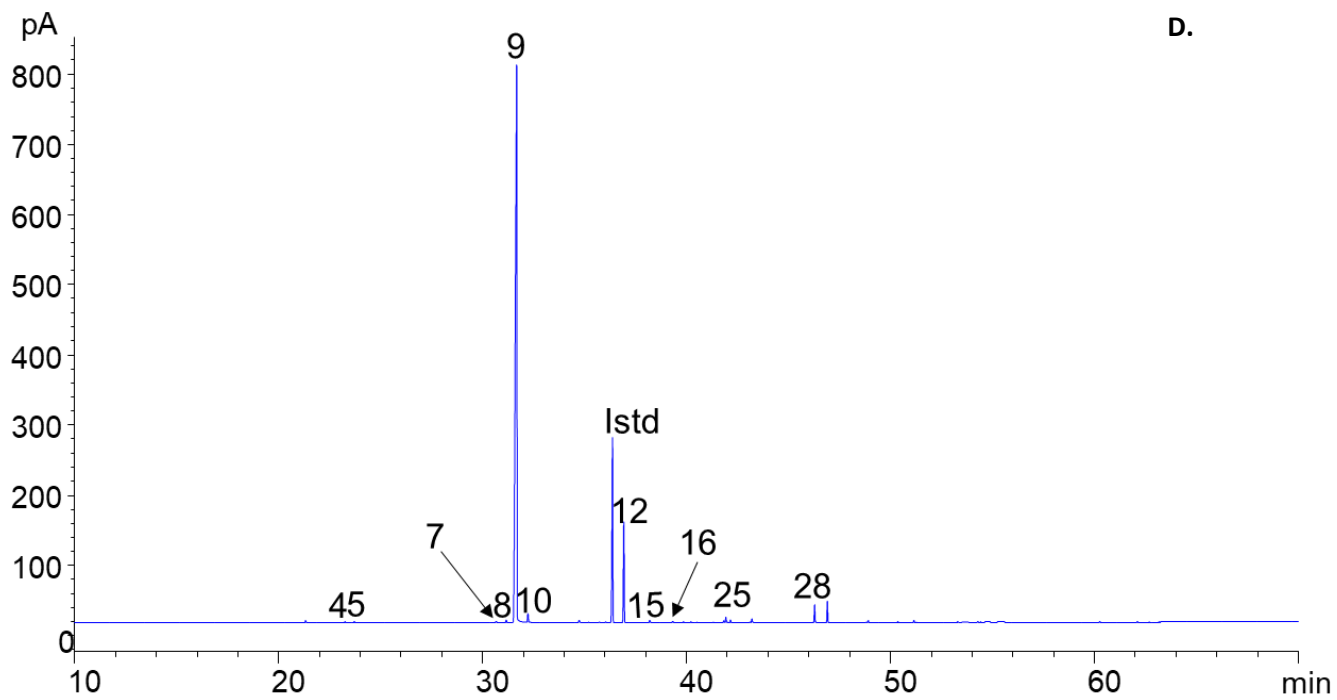


EFECTO REPELENTE DE ACEITES ESENCIALES Y FRACCIONES



EFECTO REPELENTE DE ACEITES ESENCIALES Y FRACCIONES

D.



EFECTO REPELENTE DE ACEITES ESENCIALES Y FRACCIONES

Tabla 12

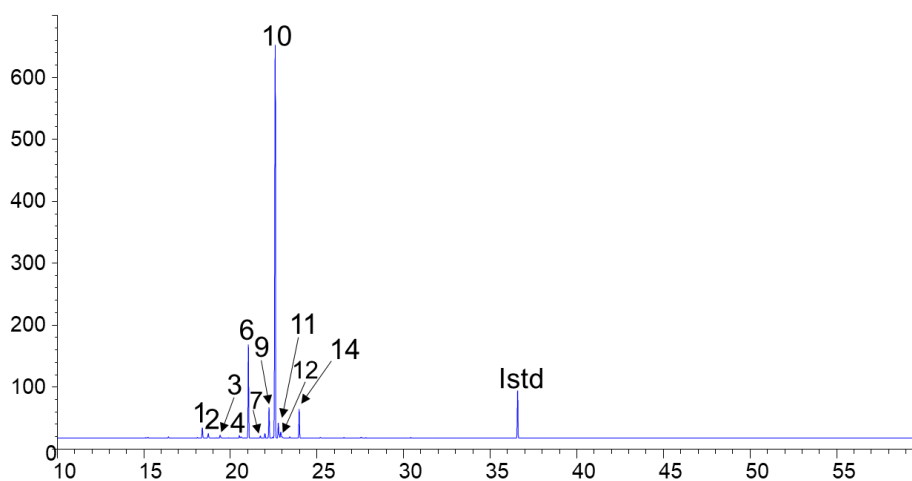
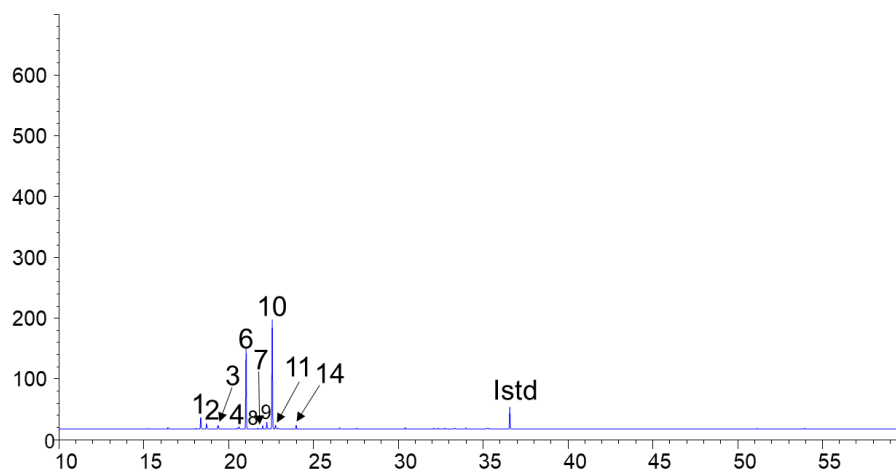
Cuantificación de los compuestos mayoritarios en el aceite esencial de *C. martinii* y las fracciones F1, F2, F3 y FF.

N° de pico, Fig. 18	Compuesto	Rango mg/kg	Ecuación	R ²	mg/kg		mg de compuesto/g de muestra x 10 ³ (% valor ± SD, n=3)				
					LO D	LO Q	AE	F1 (55-58°C)	F2 (82-87°C)	F3 (93-100°C)	FF
2	β-Mirceno	13-260	y = 0.480x+0.554	0.994	10	30	< LOQ	4,0 ± 0,1	-	-	-
3	Limoneno	10-70	y = 0.615x+0.858	0.995	5	20	< LOD	2,5 ± 0,1	-	-	-
6	Linalol	10-70	y = 0.615x+0.858	0.996	5	20				5,5 ± 0,3	-
		115-2090	y = 0.781x-14.41	0.996	5	20	21 ± 0,3		27,5 ± 0,2	-	-
		2930-22560	y = 0.844x-704.4	0.996	5	20		432 ± 11			
9	Geraniol	2932-22560	y = 0.846x-666.9	0.998	5	20	780 ± 11	416 ± 10	793 ± 2	825 ± 32	807 ± 25
13	Acetato de geraniol	30-370	y = 0.856x-7.70	0.991	40	120		46 ± 2			
		740-2660	y = 0.943x-148.3	0.994	40	120	120 ± 1		113 ± 0,1	119 ± 4	136 ± 4
7	Nerol	10-100	y = 0.667x+0.806	0.996	5	20	< LOQ	5,2 ± 0,1	4,4 ± 0,01	2,9 ± 0,2	
15	(E)-β-Cariofileno	10-70	y = 0.717x+1.27	0.993	10	20	7,9 ± 0,12	-	-	-	< LOQ
25	Óxido de cariofileno	30-260	y = 0.870x-7.67	0.996	20	50	< LOQ	-	-	-	< LOD
28	(2E,6Z)-Farnesol	10-260	y = 0.696x-2.66	0.993	20	70	< LOQ	-	-	-	12,8 ± 0,4

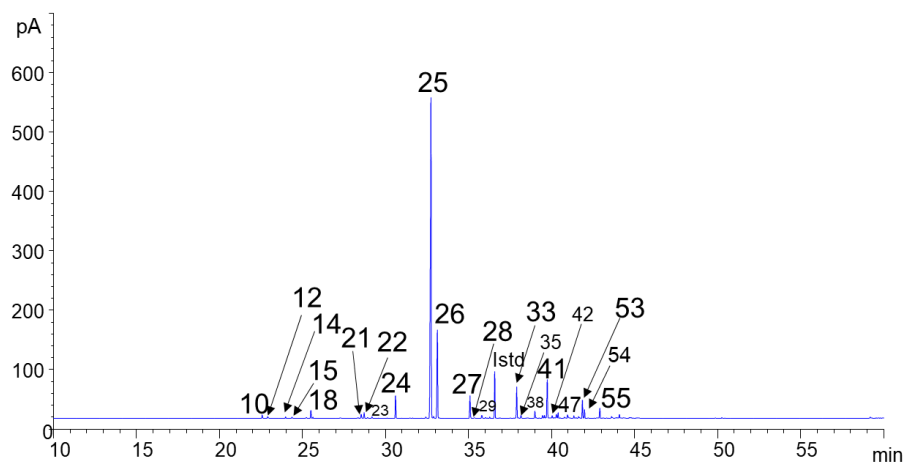
EFECTO REPELENTE DE ACEITES ESENCIALES Y FRACCIONES

Figura 26

*Perfil cromatográfico de las fracciones obtenidas del AE de L. origanoides. A. Fracción 1; B. Fracción 2 ; C. Fracción de fondo. Columna DB-5MS (60 m), inyección split 1:30, MSD (EI, 70 eV). Véase la identificación de los picos en la **Tabla 8**.*



EFECTO REPELENTE DE ACEITES ESENCIALES Y FRACCIONES



EFECTO REPELENTE DE ACEITES ESENCIALES Y FRACCIONES

Tabla 13

Cuantificación de los compuestos mayoritarios en el aceite esencial de L. origanoides y las fracciones F1, F2 y FF.

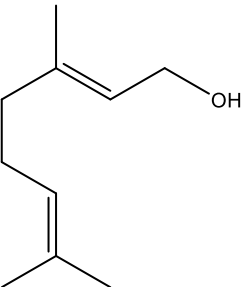
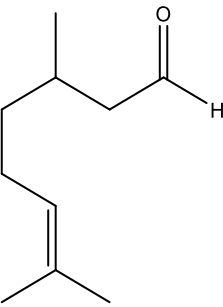
Nº de pico, Fig.21	Compuesto	Rango, mg/kg	Ecuación	R ²	mg/kg		mg de compuesto /g de muestra x 10 ³ (% , valor ± SD, n=3)				
					LOD	LOQ	AE	F1 (51-55 °C)	F2 (65-71 °C)	FF	
2	α-Pineno	13-260	y = 0,519x+0,632	0,999	10	30	5,7 ± 0,2	< LOD	21,1 ± 0,2	-	
6	β-Mirceno	370-2370	y = 0,597x-23,3	0,990	10	30	-	270 ± 30,6	217,6 ± 2,3	-	
10	p-Cimeno	85-740	y = 0,656x+11,1	0,984	80	260	< LOD	-	-	-	
		2930-22560	y = 0,7855x-215,2	0,997	80	260	-	480 ± 58,2	930,4 ± 9,7	-	
11	Limoneno	10-70	y = 0,615x+0,858	0,995	5	20	5,6 ± 0,1	-	-	-	
		260-2090	y = 0,753x-19,8	0,993	5	20	-	-	35,9 ± 0,3	-	
14	γ-Terpineno	10-70	y = 0,598x+2,10	0,996	5	20	< LOQ	-	-	< LOQ	
		260-2090	y = 0,841x-18,9	0,994	5	20	-	-	37,3 ± 0,4	-	
18	Linalol	115-2090	y = 0,781x-14,4	0,996	5	20	< LOQ	-	-	17,6 ± 0,2	
25	Timol	2660-22560	y = 0,8316x+839,9	0,995	5	20	362 ± 7,5	-	-	481 ± 4,7	
26	Carvacrol	260-2090	y = 0,441x-39,4	0,994	10	30	212 ± 2,9	-	-	258 ± 1,9	
30	Acetato de geranilo	30-370	y = 0,856x-7,70	0,991	40	120	< LOD	-	-	< LOD	
33	(E)-β-Cariofileno	115-2090	y = 0,868x-10,03	0,997	10	20	36,8 ± 0,6	-	-	46,5 ± 0,3	
38	α-Humuleno	10-70	y = 0,873x+1,47	0,998	5	10	8,5 ± 0,1	-	-	<LOQ	
55	Óxido de cariofileno	30-260	y = 0,870x-7,67	0,996	20	50	12,3 ± 0,2	-	-	13,8 ± 0,1	

4.3 Actividad repelente de los aceites esenciales de *C. winterianus*, *C. martinii*, *L. origanoides* y sus fracciones.

Los mayores porcentajes de repelencia con los patrones terpénicos se obtuvieron con el citronelal, el geraniol y el citronelol en la concentración de 0,2 $\mu\text{L}/\text{cm}^2$. Al aplicar la prueba estadística para datos pareados, solo el limoneno tuvo una disminución significativa en el porcentaje de repelencia entre las 2 h y 4 h de medición.

Tabla 14

Porcentajes de repelencia sobre L. serricornis después de la exposición a patrones de terpenos.

Compuesto	Peso molecular	Punto de ebullición (°C)	Log P **	Concentración ($\mu\text{L}/\text{cm}^2$)	Repelencia ^a (%)	
					2 h	4 h
 Geraniol	154,25	230	3,56	0,02	20 \pm 13	-30 \pm 6
				0,2	70 \pm 15	70 \pm 11
 Citronelal	154,25	207	3,25	0,02	20 \pm 5	40 \pm 22
				0,2	40 \pm 19	30 \pm 22

EFECTO REPELENTE DE ACEITES ESENCIALES Y FRACCIONES

Tabla 14. Continuación

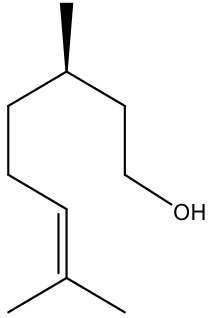
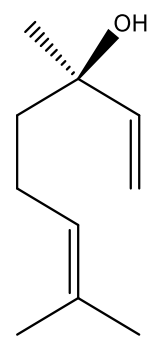
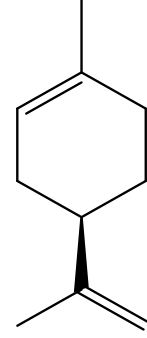
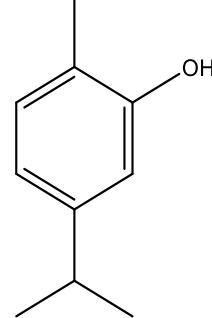
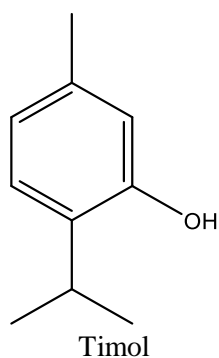
 <p>Citronelol</p>	156,27	225	3,91	0,02 0,2	-30 ± 12 70 ± 13	-70 ± 21 90 ± 11
 <p>Linalol</p>	154,25	198	2,68	0,02 0,2	-20 ± 15 20 ± 9	-50 ± 24 32 ± 15
 <p>Limoneno</p>	136,23	176	3,22	0,02 0,2	30 ± 9 30 ± 6*	20 ± 7 -20 ± 12*
 <p>Carvacrol</p>	150,22	238	3,49	0,02 0,2	20 ± 14 40 ± 15	30 ± 21 40 ± 13

Tabla 14. Continuación



150,22	233	3,28	0,02	40 ± 17	42 ± 19
			0,2	-40 ± 32	-40 ± 29

Nota: * $p < 0,05$ Se rechaza la hipótesis nula H_0 ** Caballero *et al.* (2011)

En los ensayos de actividad repelente se obtuvieron diferentes porcentajes de repelencia en los niveles de concentración aplicados. En las **Tablas 15, 16 y 17** se muestran los resultados obtenidos para los AE de *C. winterianus*, *C. martinii*, *L. origanoides* y sus fracciones. En el análisis del AE de *C. winterianus* y el AE de *C. martinii* los mayores porcentajes de repelencia se obtuvieron con las concentraciones más altas (**Tabla 8 y 9**). Para el AE de *L. origanoides* solo se obtuvieron porcentajes de repelencia positivos para una concentración de $0,2 \mu\text{L}/\text{cm}^2$ en un tiempo de exposición de 4 h. Dentro de las fracciones, la F1 obtenida de *C. winterianus* tuvo el mayor porcentaje de repelencia, al igual que la F3 en la especie *C. martinii* y la F1 en *L. origanoides*. Al realizar la prueba *t* para muestras pareadas se obtuvo una disminución significativa en el porcentaje de repelencia de la F1. Este resultado también se evidenció en el análisis del AE de *L. origanoides* en la concentración de $0,2 \mu\text{L}/\text{cm}^2$ al observarse un incremento significativo en la variable de estudio en un tiempo de 2 h a 4 h.

EFECTO REPELENTE DE ACEITES ESENCIALES Y FRACCIONES

Tabla 15

Porcentajes de repelencia sobre L. serricorne después de la exposición el aceite esencial de C. winterianus y las fracciones F1, F2 y FF.

Muestra	Repelencia, % valor \pm s, n=5					
	2 h			4 h		
	0,02 μ L/cm ²	0,2 μ L/cm ²	0,4 μ L/cm ²	0,02 μ L/cm ²	0,2 μ L/cm ²	0,4 μ L/cm ²
AE CW	30 \pm 15	40 \pm 16	70 \pm 22	30 \pm 15	30 \pm 17	80 \pm 21
F1	14 \pm 6	60 \pm 16	70 \pm 7*	20 \pm 0,0	60 \pm 5	50 \pm 11*
F2	50 \pm 15	70 \pm 28	90 \pm 9	50 \pm 32	80 \pm 22	90 \pm 15
FF	-40 \pm 21	60 \pm 28	50 \pm 25	-30 \pm 24	80 \pm 19	70 \pm 15
Control positivo ¹	70 \pm 25			60 \pm 10		

¹ Concentración del control positivo = 0.8 μ L/cm²

* $p < 0,05$ Se rechaza la hipótesis nula H_0

Tabla 16

Porcentajes de repelencia sobre L. serricorne después de la exposición al aceite esencial de C. martinii y las fracciones F1, F2, F3 y FF.

Muestra	Repelencia, % valor \pm s, n=5					
	2 h			4 h		
	0,02 μ L/cm ²	0,2 μ L/cm ²	0,4 μ L/cm ²	0,02 μ L/cm ²	0,2 μ L/cm ²	0,4 μ L/cm ²
AE CM	-20 \pm 12	50 \pm 15	80 \pm 11	-10 \pm 6	60 \pm 15	90 \pm 14
F1	-30 \pm 19	40 \pm 19	70 \pm 16	-40 \pm 34	50 \pm 28	60 \pm 18
F2	-30 \pm 13	20 \pm 7	70 \pm 13	20 \pm 21	50 \pm 21	80 \pm 12
F3	20 \pm 12	60 \pm 16	80 \pm 15	50 \pm 19	40 \pm 8	80 \pm 15
FF	-40 \pm 8	60 \pm 12	40 \pm 19	-30 \pm 12	70 \pm 24	60 \pm 30
Control positivo ¹	50 \pm 13			60 \pm 25		

¹ Concentración del control positivo = 0.8 μ L/cm²

* $p < 0,05$ Se rechaza la hipótesis nula H_0

EFECTO REPELENTE DE ACEITES ESENCIALES Y FRACCIONES

Tabla 17

Porcentajes de repelencia sobre *L. serricorne* después de la exposición del aceite esencial de *L. origanoides* y las fracciones F1, F2 y FF.

Muestra	Repelencia, % valor \pm s, n=5					
	2 h			4 h		
	0,02 μ L/cm ²	0,2 μ L/cm ²	0,4 μ L/cm ²	0,02 μ L/cm ²	0,2 μ L/cm ²	0,4 μ L/cm ²
AE LO	-40 \pm 27	-20 \pm 10*	-40 \pm 13	-50 \pm 21	30 \pm 13*	-40 \pm 21
F1	-30 \pm 22	20 \pm 10	-40 \pm 28	-40 \pm 23	40 \pm 35	-50 \pm 20
F2	-30 \pm 10	-30 \pm 8	-50 \pm 16	-30 \pm 11	-50 \pm 34	-40 \pm 16
FF	4 \pm 5	20 \pm 15	-60 \pm 22	-30 \pm 26	-30 \pm 14	-60 \pm 30
Control positivo ¹	60 \pm 10			60 \pm 14		

Nota: ¹ Concentración del control positivo = 0.8 μ L/cm²

* $p < 0,05$ Se rechaza la hipótesis nula H_0

El control positivo utilizado mostró porcentajes de repelencia entre el 52 y el 67%.

4.4 Estabilidad de los AE de *C. winterianus*, *C. martinii* y *L. origanoides* y sus encapsulados hasta el día 90 de almacenamiento.

Por medio del análisis de varianza (Anova) multifactorial se determinó que los factores día de almacenamiento y clasificación por familia de compuestos, tienen un efecto estadísticamente significativo sobre la cantidad relativa A_i/A_{istd} obtenida.

Tabla 18

Análisis de varianza para las especies *C. martinii*, *C. winterianus* y *L. origanoides*.

Efectos principales	Especies bajo estudio					
	<i>C. martinii</i>		<i>C. winterianus</i>		<i>L. origanoides</i>	
	Razón-F	Valor-p	Razón-F	Valor-p	Razón-F	Valor-p
Día de almacenamiento	29,19	< 0,05	176,22	< 0,05	70,34	< 0,05
Familia de compuestos	1915,85	< 0,05	1162,82	< 0,05	6,25	0,001
Interacción	22,65	< 0,05	116,92	< 0,05	14,02	< 0,05

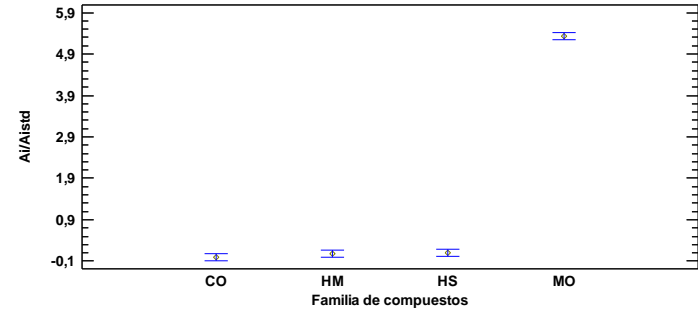
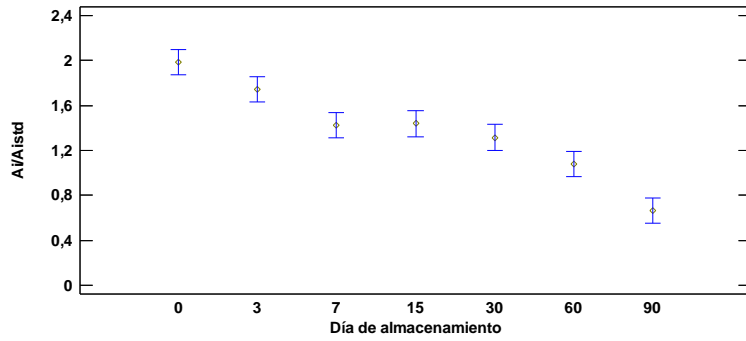
EFECTO REPELENTE DE ACEITES ESENCIALES Y FRACCIONES

Al realizar la prueba de múltiples rangos en el AE encapsulado de *C. martinii* se identificaron tres niveles (día 7, día 15 y día 30) que comparten la misma alineación de las X's lo cual indica que no hubo variación estadística en A_i/A_{istd} durante estos días de almacenamiento (Véase el **Apéndice F, Tabla F1 y F2**). Para el caso del factor familia de compuestos, no se obtuvieron diferencias entre CO, HM y HS. Los resultados para el AE encapsulado de *C. winterianus* mostraron que los días 3 y 7 no presentaron diferencias estadísticamente significativas al comparar la relación A_i/A_{istd} . Dentro de la clasificación por familias de compuestos, los HS y MO presentaron diferencias estadísticas con respecto a los otros grupos (Véase el **Apéndice F, Tabla F3 y F4**). El AE encapsulado de *L. origanoides* presentó el mayor número de niveles (día 15, 30, 60 y 90) que no tuvieron diferencias estadísticas significativas en los valores de A_i/A_{istd} y la familia de los HS corresponde a la familia de terpenos con mayores diferencias estadísticas comparado con MO, TF y HM (Véase el **Apéndice F, Tabla F5 y F6**).

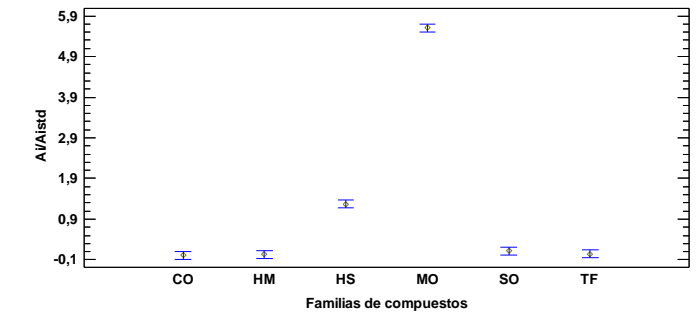
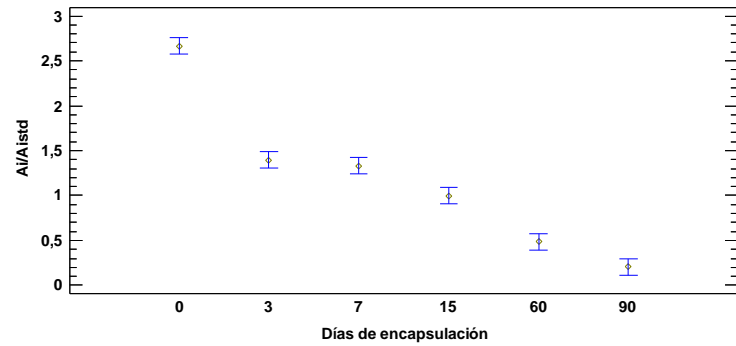
EFFECTO REPELENTE DE ACEITES ESENCIALES Y FRACCIONES

Figura 27

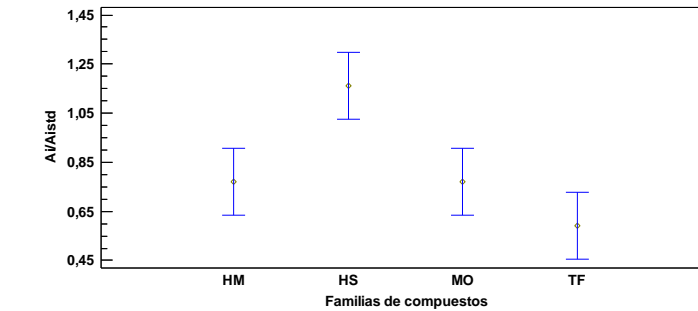
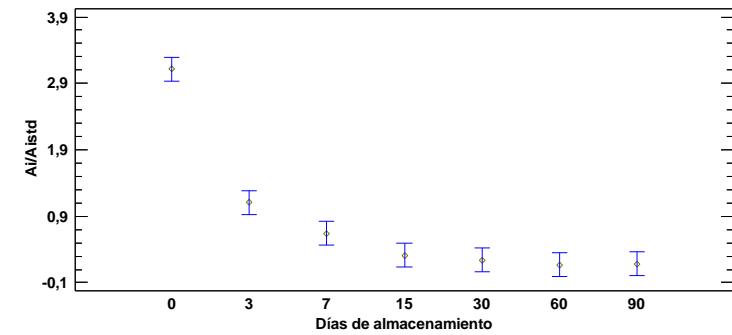
Gráficos de medias para día de almacenamiento y familia de compuestos en los AE de *A. C. winterianus*, *B. C. martinii* y *C. L. origanoides*.



A.



B.



C.

4.4.1 Almacenamiento del AE de *Cymbopogon winterianus* libre y encapsulado

En el seguimiento de la fracción volátil del AE de *C. winterianus*, el limoneno solo se detectó hasta el día 3 de almacenamiento (**Tabla 19**). La mayor parte de los monoterpenos oxigenados se detectaron hasta el día 90 excepto el linalol, que se detectó solo hasta el día 60. Los hidrocarburos sesquiterpénicos y sesquiterpenos oxigenados se detectaron hasta el día 90. La mayor emisión para los compuestos mayoritarios geraniol y citronelol se registró durante los días 15 y 60. El citronelal, aunque fue detectado hasta el día 90, su cantidad relativa no se mantuvo constante durante el proceso y se observó una mayor volatilización desde el día 3. En el **Apéndice G**, se muestran los perfiles cromatográficos para el AE de *C. winterianus* en los días 0 y 90 de almacenamiento. En la **Figura 28** se observa la variación de la cantidad A_i/A_{istd} agrupados en familias de compuestos. Los monoterpenos oxigenados se mantuvieron en mayor proporción durante todo el proceso de encapsulación comparado con otras familias. La cantidad de hidrocarburos sesquiterpénicos se mantuvo constante mientras que los hidrocarburos monoterpénicos, representados principalmente por el limoneno tuvieron su mayor emisión el día 0. En la **Figura 29** se muestra la gráfica para los datos normalizados.

EFECTO REPELENTE DE ACEITES ESENCIALES Y FRACCIONES

Tabla 19

*Cantidad (A_i/A_{istd}) de los compuestos presentes en la fracción volátil del AE de *C. winterianus* medida a diferentes días de almacenamiento.*

N° de pico Fig. 30.	Compuesto	Día de almacenamiento, cantidad A_i/A_{istd} GC/FID					
		Día 0	Día 3	Día 7	Día 15	Día 60	Día 90
1	Limoneno	1,15	0,03	-	-	-	
2	Linalol	0,11	0,10	0,06	0,1	0,003	
3	Citronelal	9,40	8,05	4,27	3,8	0,066	0,01
5	Decanal	0,03	0,02	0,02	0,0	0,006	-
6	Citronelol	1,70	1,41	1,68	1,9	1,924	1,40
7	Neral	0,11	0,09	0,07	0,1	0,007	0,00
8	Geraniol	1,90	1,56	2,06	2,2	2,495	1,94
9	Geranial	0,01	0,12	0,10	0,1	0,028	0,01
11	Acetato de citronelilo	0,54	0,61	0,41	0,5	0,290	0,13
12	Eugenol	0,17	0,06	0,16	0,2	0,173	0,12
13	Acetato de geranilo	0,33	0,35	0,28	0,4	0,273	0,16
14	β -Elemeno	0,64	0,76	0,48	0,6	0,316	0,17
15	(<i>E</i>)- β -Cariofileno	0,04	0,03	0,03	0,0	0,008	0,01
16	α -Humuleno	0,05	0,06	0,03	0,0	0,023	0,01
19	γ -Muroleno	0,05	0,04	0,04	0,0	0,032	0,02
20	Germacreno D	0,66	0,80	0,52	0,7	0,385	0,20
22	α -Muroleno	0,08	0,10	0,07	0,1	0,071	0,05
23	γ -Cadineno	0,07	0,09	0,06	0,1	0,076	0,06
24	δ -Cadineno	0,23	0,29	0,21	0,3	0,252	0,20
25	Elemol	0,01	0,05	0,01	0,0	0,036	0,04
26	Germacren D-4-ol	0,02	0,06	0,02	0,0	0,039	0,04

Figura 28

*Variación de la cantidad A_i/A_{istd} para las familias de compuestos en el AE de *C. winterianus* a 0, 3, 7, 15, 60 y 90 días de almacenamiento.*

EFECTO REPELENTE DE ACEITES ESENCIALES Y FRACCIONES

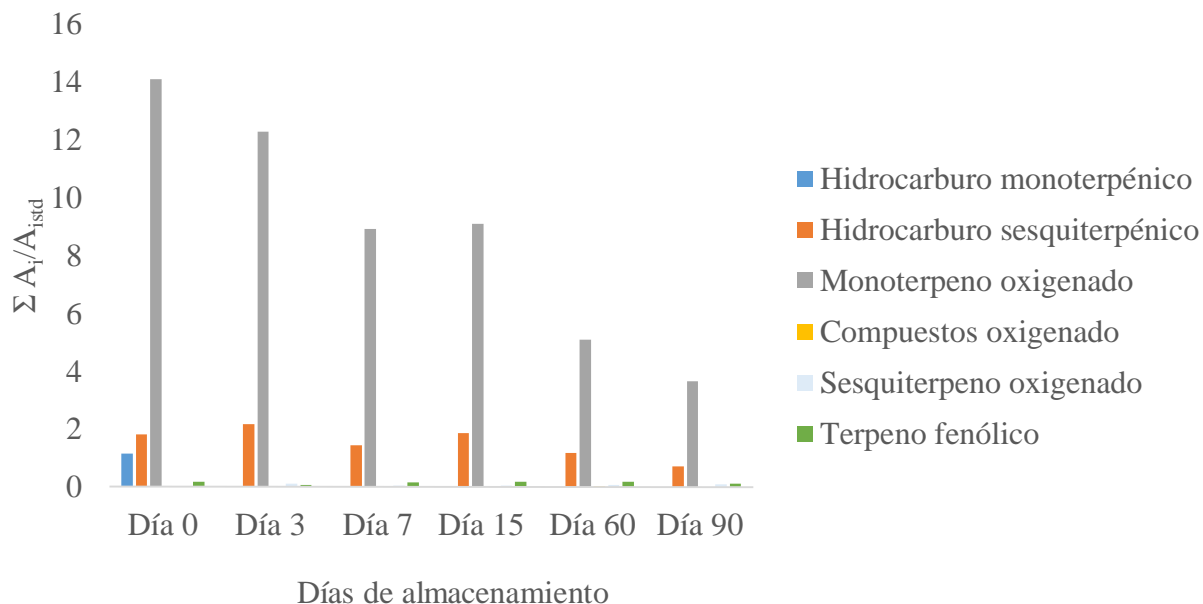
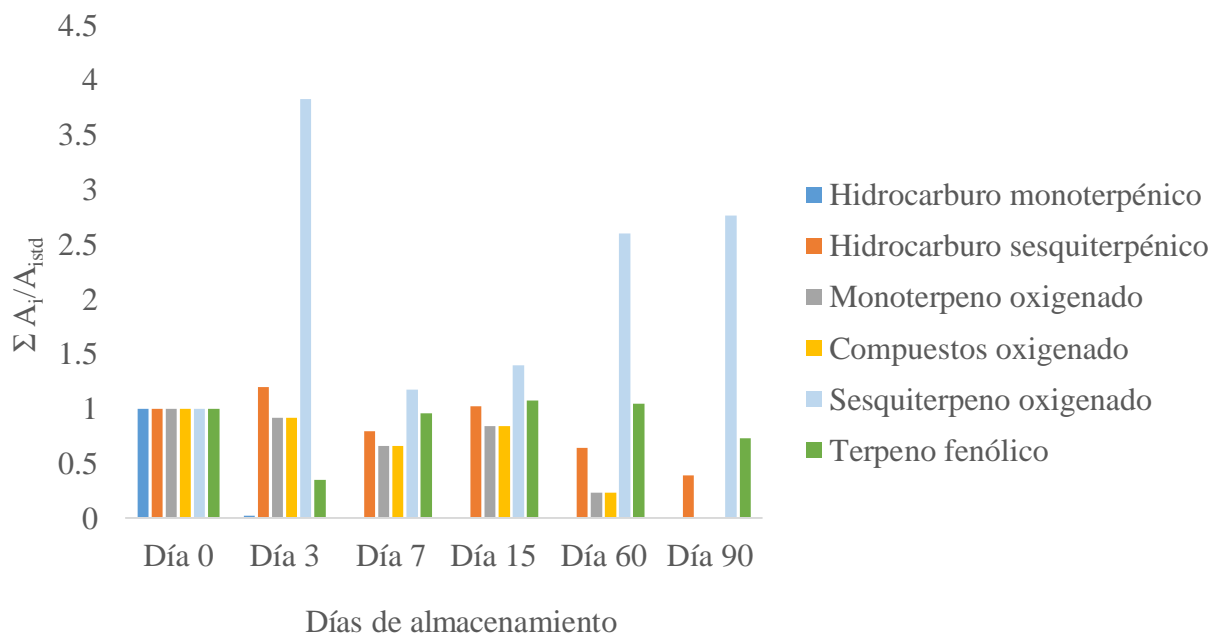
**Figura 29**

Gráfico normalizado para la variación de la cantidad A_i/A_{istd} para las familias de compuestos en el AE de *C. winterianus* a 0, 3, 7, 15, 60 y 90 días de almacenamiento.



Se realizó un seguimiento a los compuestos presentes en la fracción volátil del AE encapsulado de *C. winterianus* durante 90 días de almacenamiento. Los perfiles

EFECTO REPELENTE DE ACEITES ESENCIALES Y FRACCIONES

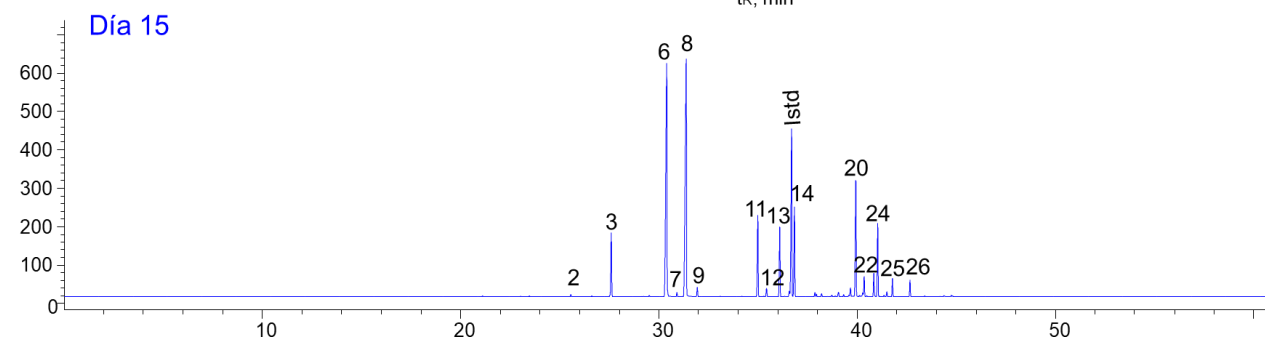
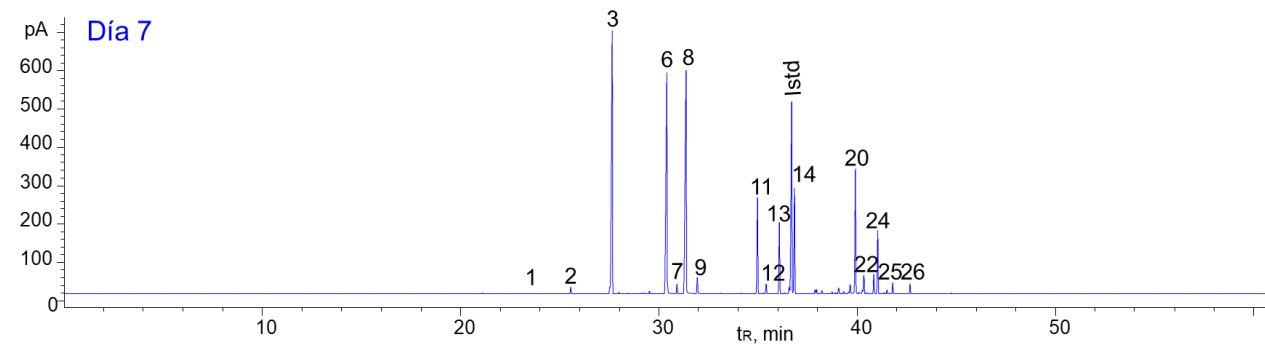
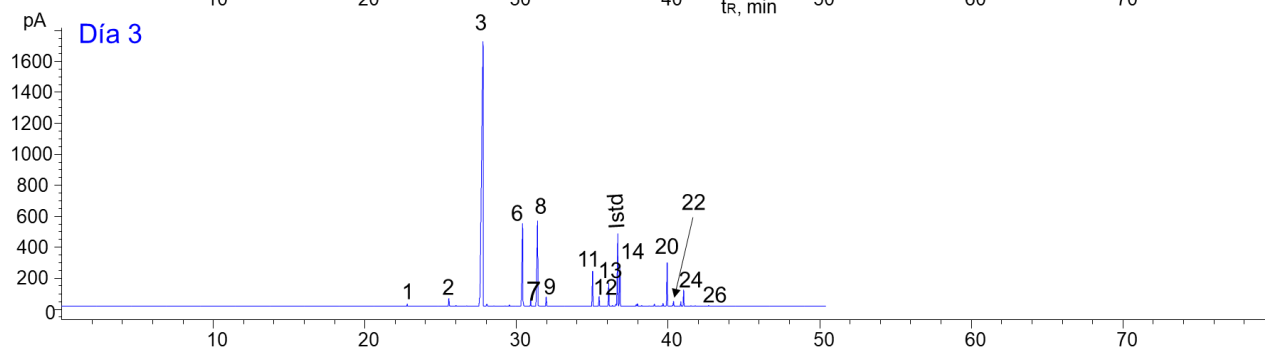
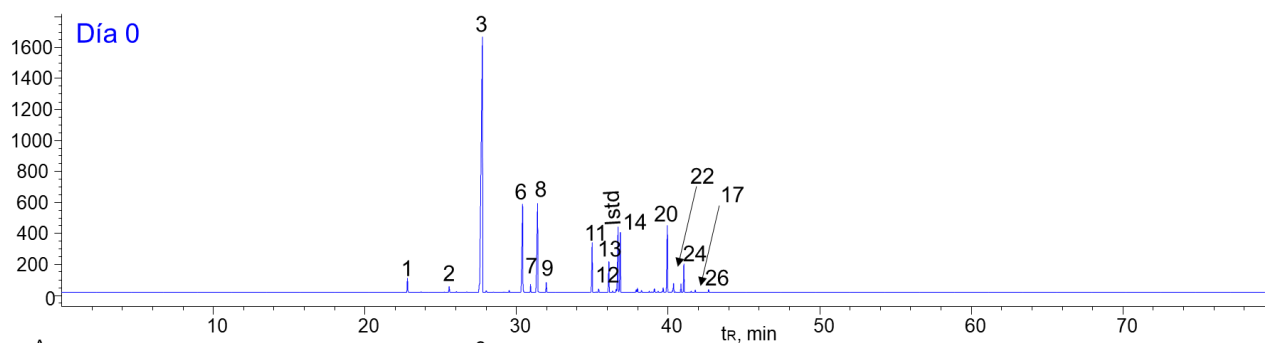
cromatográficos respectivos se muestran en la **Figura 30**. El hidrocarburo monoterpénico limoneno solo se detectó el día cero (**Tabla 20**). Dentro de los monoterpenos oxigenados, los compuestos citronelal, citronelol, geraniol, geranial y acetato de geranilo fueron detectados hasta el día 90 de almacenamiento junto al eugenol, clasificado como terpeno fenólico. El nerol y el linalol se detectaron hasta el día 3 y 15 respectivamente. La mayor parte de los hidrocarburos sesquiterpénicos se detectaron hasta el día 90 exceptuando al α -humuleno que solo fue detectado hasta el día 15. Los sesquiterpenos oxigenados elemol y germacren D-4-ol fueron detectados hasta el día 90 de almacenamiento. En el caso de los compuestos mayoritarios, la mayor emisión para el citronelal se dio el día 0 mientras que para el citronelol y el geraniol, la mayor cantidad se midió entre los días 7 y 15.

En el análisis de la fracción volátil por familias de compuestos (**Figura 31**), para el AE encapsulado, se encontró que la cantidad de hidrocarburos sesquiterpénicos se mantuvo constante durante los días 0 y 15. La familia de los sesquiterpenos oxigenados incremento su emisión durante los días 60 y 90 de almacenamiento. Para la familia de los compuestos oxigenados y terpenos fenólicos, se observó que sus cantidades se mantuvieron constantes hasta el último día de medición. La familia de los monoterpenos oxigenados constituye la mayor proporción de compuestos en el encapsulado hasta el final del proceso. En la **Figura 32** se muestra la gráfica para los datos normalizados.

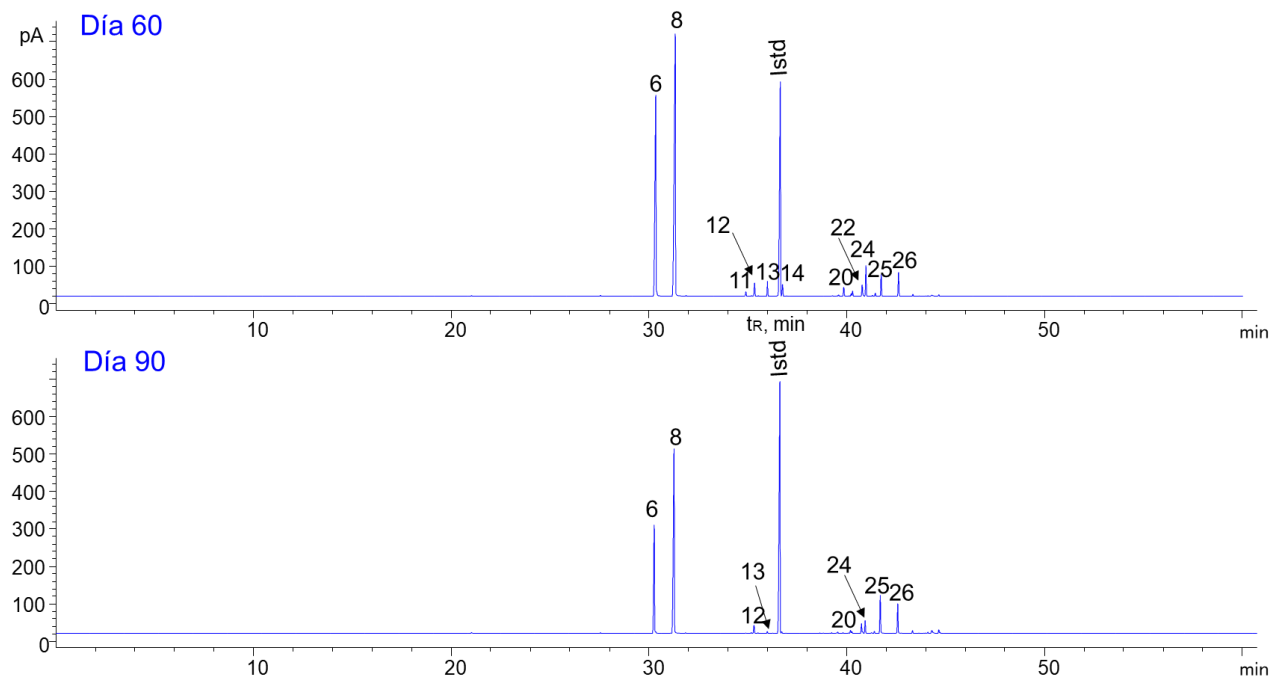
Figura 30

Perfil cromatográfico obtenido por HS-SPME-GC/FID del AE encapsulado de C. winterianus a los 0, 3, 7, 15, 60 y 90 días después de su encapsulamiento. Columna DB-5MS (60 m), inyección split 1:30.

EFECTO REPELENTE DE ACEITES ESENCIALES Y FRACCIONES



EFECTO REPELENTE DE ACEITES ESENCIALES Y FRACCIONES



EFECTO REPELENTE DE ACEITES ESENCIALES Y FRACCIONES

Tabla 20

*Relación de áreas (A_i/A_{istd}) de los compuestos presentes en la fracción volátil del AE encapsulado de *C. winterianus* medida a diferentes días de almacenamiento.*

N° de pico Fig. 30	Compuesto	$A_i/A_{istd} \pm s \quad n=3$					
		Día 0	Día 3	Día 7	Día 15	Día 60	Día 90
1	Limoneno	0,17 ± 0,03	-	-	-	-	-
2	Linalol	0,082 ± 0,005	0,037 ± 0,004	0,029 ± 0,001	0,010 ± 0,002	-	-
3	Citronelal	8,6 ± 0,62	2,7 ± 0,28	1,61 ± 0,03	0,29 ± 0,04	0,0065 ± 0,0001	0,004 ± 0,0003
5	Decanal	0,030 ± 0,001	0,0134 ± 0,002	0,015 ± 0,001	0,008 ± 0,002	-	-
6	Citronelol	1,6 ± 0,10	1,4 ± 0,25	1,6 ± 0,24	1,6 ± 0,25	0,94 ± 0,11	0,009 ± 0,001
7	Neral	0,101 ± 0,001	0,05 ± 0,01	-	-	-	-
8	Geraniol	1,69 ± 0,10	1,6 ± 0,28	1,8 ± 0,25	1,8 ± 0,2	1,5 ± 0,22	0,87 ± 0,12
9	Geranial	0,129 ± 0,004	0,08 ± 0,01	0,078 ± 0,004	0,042 ± 0,007	0,005 ± 0,001	0,004 ± 0,000
11	Acetato de citronelilo	0,66 ± 0,05	0,44 ± 0,07	0,49 ± 0,04	0,35 ± 0,08	0,017 ± 0,003	-
12	Eugenol	0,05 ± 0,01	0,05 ± 0,01	0,053 ± 0,003	0,05 ± 0,003	0,05 ± 0,01	0,030 ± 0,006
13	Acetato de geranilo	0,38 ± 0,03	0,30 ± 0,05	0,34 ± 0,03	0,29 ± 0,06	0,05 ± 0,01	0,009 ± 0,002
14	β -Elemeno	0,83 ± 0,07	0,50 ± 0,08	0,55 ± 0,05	0,39 ± 0,09	0,04 ± 0,01	0,009 ± 0,002
15	(<i>E</i>)- β -Cariofileno	0,053 ± 0,0036	0,03 ± 0,01	0,025 ± 0,002	0,012 ± 0,003	0,0004 ± 0,00003	0,0003 ± 0,0001
16	α -Humuleno	0,06 ± 0,01	0,04 ± 0,01	0,039 ± 0,004	0,027 ± 0,006	-	-
19	γ -Muroleno	0,06 ± 0,01	0,04 ± 0,01	0,049 ± 0,004	0,04 ± 0,01	0,00557 ± 0,001	0,0037 ± 0,0003
20	Germacreno D	0,89 ± 0,09	0,6 ± 0,1	0,66 ± 0,07	0,5 ± 0,1	0,03 ± 0,01	0,003 ± 0,001
22	α -Muroleno	0,11 ± 0,01	0,08 ± 0,01	0,09 ± 0,01	0,08 ± 0,02	0,017 ± 0,002	0,007 ± 0,001
23	γ -Cadineno	0,10 ± 0,01	0,08 ± 0,01	0,09 ± 0,01	0,09 ± 0,02	0,04 ± 0,01	0,032 ± 0,002
24	δ -Cadineno	0,32 ± 0,03	0,25 ± 0,04	0,30 ± 0,03	0,29 ± 0,07	0,10 ± 0,01	0,045 ± 0,006
25	Elemol	0,04 ± 0,01	0,04 ± 0,01	0,04 ± 0,01	0,06 ± 0,03	0,08 ± 0,01	0,11 ± 0,01
26	Germacren D-4-ol	0,04 ± 0,01	0,04 ± 0,01	0,04 ± 0,01	0,05 ± 0,02	0,08 ± 0,01	0,09 ± 0,01

EFECTO REPELENTE DE ACEITES ESENCIALES Y FRACCIONES

Figura 31

Variación de la cantidad A_i/A_{istd} para las familias de compuestos en el AE encapsulado de *C. winterianus* a 0, 3, 7, 15, 60 y 90 días de almacenamiento.

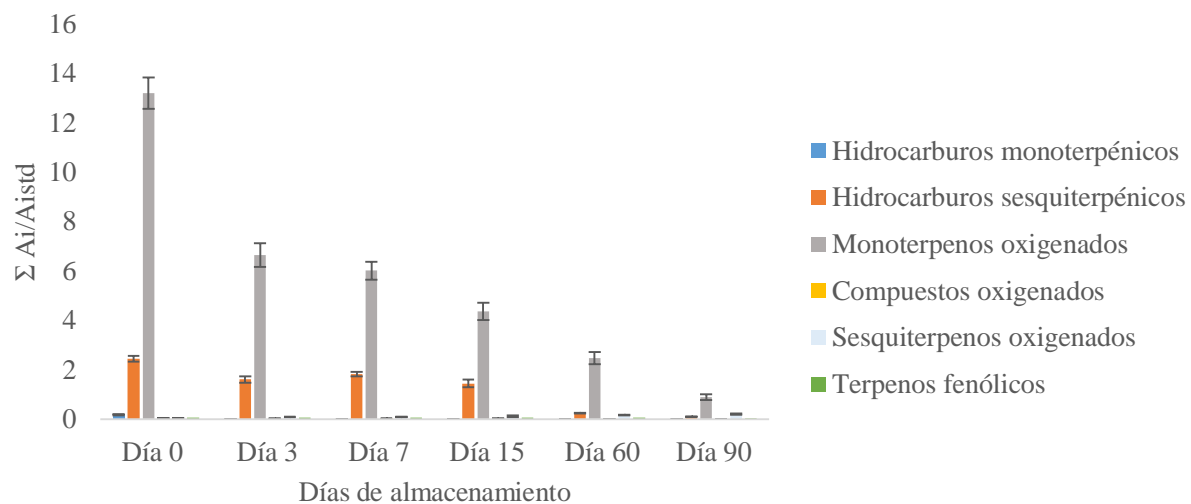
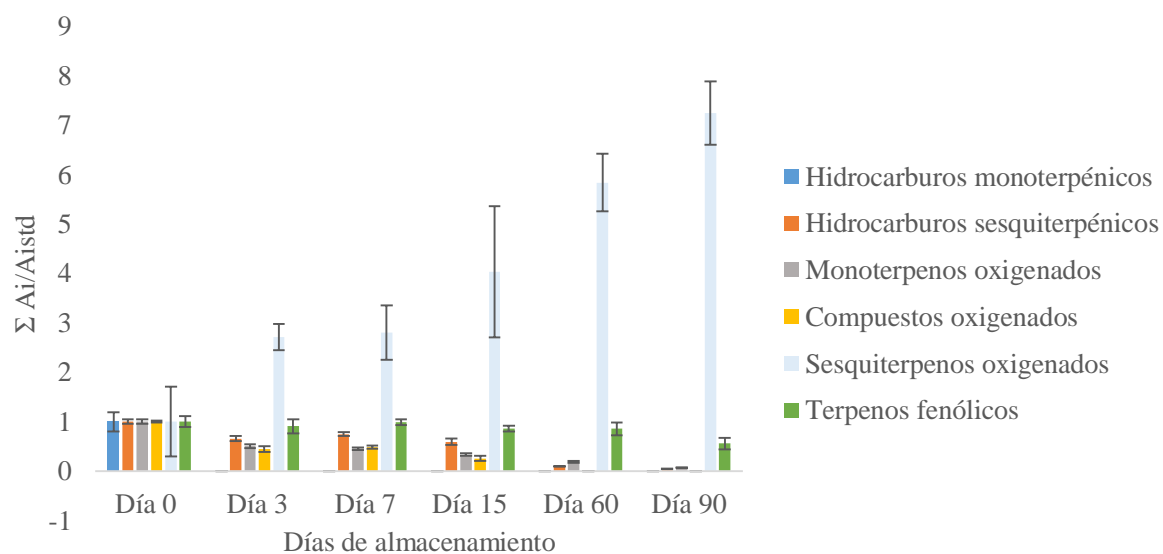
**Figura 32**

Gráfico normalizado para la variación de la cantidad A_i/A_{istd} para las familias de compuestos en el AE encapsulado de *C. winterianus* a 0, 3, 7, 15, 60 y 90 días de almacenamiento.



4.4.2 Almacenamiento del AE de *Cymbopogon martinii* libre y encapsulado.

Durante el almacenamiento del AE de *C. martinii* los compuestos 6-metil-5-hepten-2-ona, limoneno, (*Z*)- β -ocimeno y (*E*)- β -ocimeno se detectaron hasta el día 15 de almacenamiento. Solo el β -mirceno se detectó hasta el día 30 (**Tabla 21**). Dentro de los monoterpenos oxigenados, el nerol, neral, geraniol, geranial, formiato de geranilo y acetato de geranilo fueron detectados hasta el día 90 de almacenamiento, excepto para el linalol el cual se detecto solo hasta el día 30. Compuestos de tipo sesquiterpeno como el α -humuleno y (*E*)- β -cariofileno solo fueron detectados hasta el día 15. La mayor emisión para los compuestos mayoritarios geraniol y acetato de geranilo se dio entre los días 3 y 7 respectivamente. El sesquiterpeno oxigenado óxido de cariofileno se detectó hasta el final del proceso. En el **Anexo H**. se muestran los perfiles cromatográficos para el AE de *C. winterianus* para los días 0 y 90 de almacenamiento.

La variación en la cantidad A_i/A_{istd} para las familias de compuestos en el AE de *C. martinii* durante los días 0, 3, 7, 15, 60 y 90 de almacenamiento se muestra en la **Figura 33**. La mayor emisión de volátiles de la familia de los hidrocarburos monoterpénicos y monoterpenos oxigenados se registró el día cero y siete respetivamente. Para la familia de los hidrocarburos sesquiterpénicos, la mayor emisión se registró entre los días 0 y 3. En la **Figura 34** se muestra la gráfica para los datos normalizados.

EFECTO REPELENTE DE ACEITES ESENCIALES Y FRACCIONES

Tabla 21

*Cantidad (A_i/A_{istd}) de los compuestos presentes en la fracción volátil del AE de *C. martinii* medida a diferentes días de almacenamiento.*

N° de pico Fig. 35	Compuesto	Día de almacenamiento, cantidad A_i/A_{istd} GC/FID						
		Día 0	Día 3	Día 7	Día 15	Día 30	Día 60	Día 90
1	6-Metil-hept-5-en-2-ona	0,04	0,01	-	0,004	-	-	-
2	β -Mirceno	0,14	0,04	0,03	0,03	0,09	0,05	-
3	Limoneno	0,12	0,01	0,005	0,005	-	-	-
4	(Z)- β -Ocimeno	0,18	0,02	0,01	0,01	-	-	-
5	(E)- β -Ocimeno	0,85	0,09	0,01	0,01	-	-	-
6	Linalol	0,71	0,93	0,6	0,44	0,07	-	-
7	Nerol	0,02	0,03	0,02	0,02	0,05	0,01	0,01
8	Neral	0,27	0,37	0,3	0,35	0,06	0,10	0,10
9	Geraniol	3,79	5,86	4,2	3,71	0,06	0,22	0,15
10	Geranial	0,58	0,92	0,8	1,36	0,06	0,46	0,34
11	Formiato de geranilo	0,12	0,16	0,1	0,10	0,06	0,10	0,10
13	Acetato de geranilo	1,78	2,54	1,7	1,62	0,05	0,58	0,47
15	(E)- β -Cariofileno	0,20	0,25	0,1	0,08	-	-	-
16	α -Humuleno	0,01	0,02	0,01	0,01	-	-	-
25	Óxido de cariofileno	0,01	0,01	0,01	0,01	0,05	0,02	0,02

Figura 33

*Variación de la cantidad A_i/A_{istd} para las familias de compuestos en el AE de *C. martinii* a 0, 3, 7, 15, 60 y 90 días de almacenamiento.*

EFECTO REPELENTE DE ACEITES ESENCIALES Y FRACCIONES

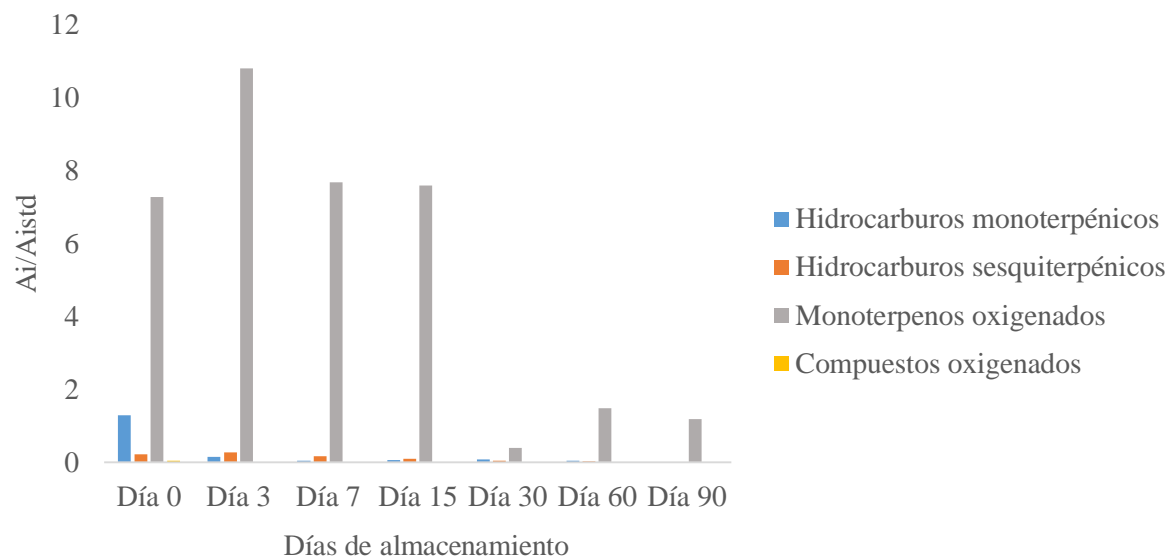
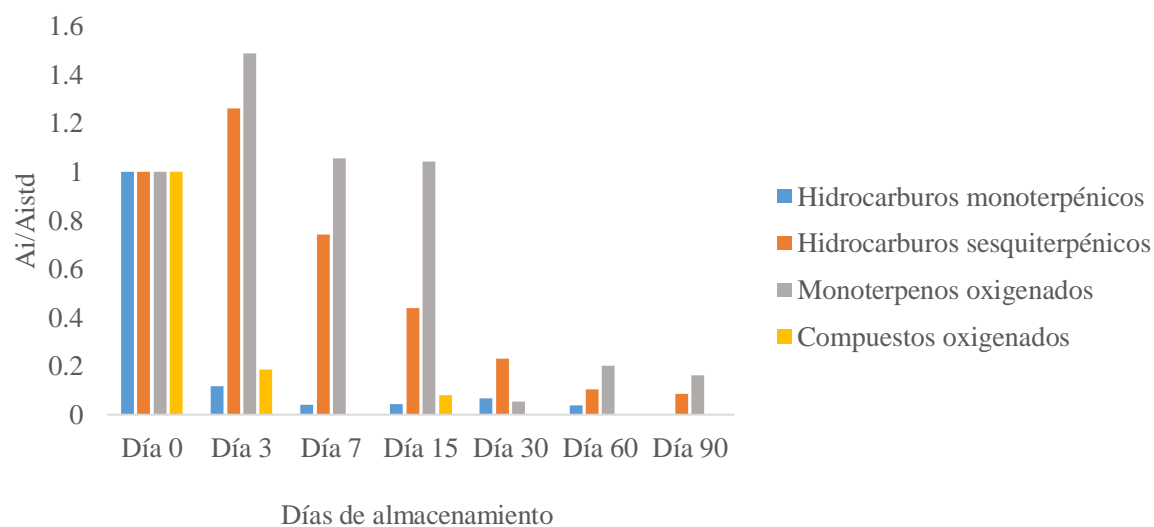
**Figura 34**

Gráfico normalizado para la variación de la cantidad A_i/A_{istd} para las familias de compuestos en el AE de *C. martinii* a 0, 3, 7, 15, 60 y 90 días de almacenamiento.



En la **Figura 35** se muestra el perfil cromatográfico del AE encapsulado de *C. martinii* después de 90 días de almacenamiento. Los compuestos 6-metil-hept-5-en-2-ona y limoneno, se detectaron solo el día cero (**Tabla 22**). Otros compuestos como el (*Z*)- β -

EFECTO REPELENTE DE ACEITES ESENCIALES Y FRACCIONES

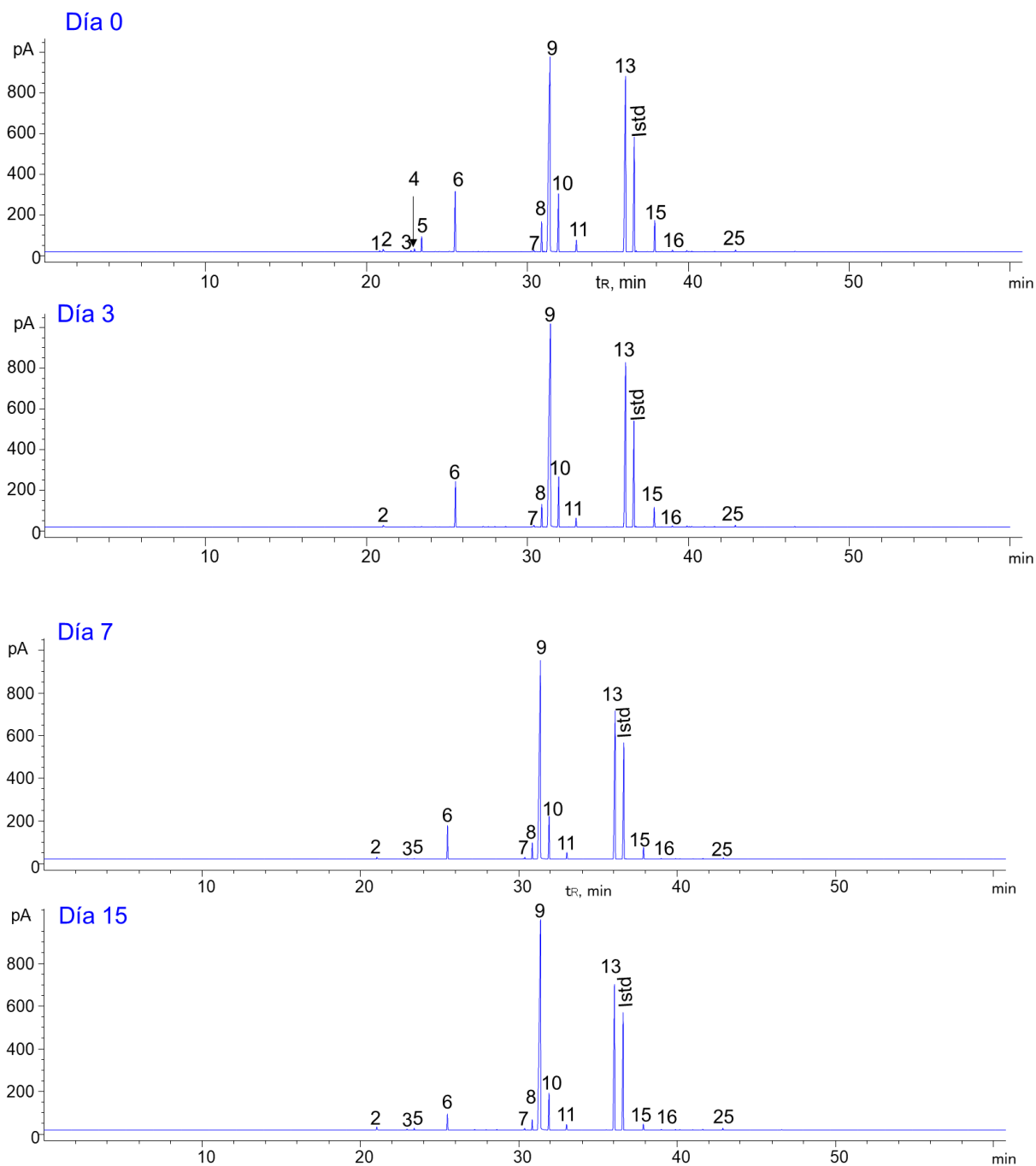
ocimeno y (*E*)- β -ocimeno se detectaron hasta el día 15 de almacenamiento. Solo el β -mirceno, perteneciente a la familia de los hidrocarburos monoterpénicos fue detectado hasta el día 30. Dentro de la familia de los monoterpenos oxigenados, los compuestos nerol, neral, geranial, geraniol, formiato de geranilo y acetato de geranilo fueron detectados hasta el día 90. Para los compuestos mayoritarios, acetato de geranilo y geraniol, la mayor emisión se registró los días 1 y 30 respectivamente. Compuestos de tipo sesquiterpeno como el α -humuleno y (*E*)- β -cariofileno solo fueron detectados hasta el día 15 de almacenamiento. El sesquiterpeno oxigenado óxido de cariofileno fue detectado hasta el final del proceso.

En la **Figura 36** se observa que la variación en la cantidad A_i/A_{istd} para las familias de compuestos en el AE encapsulado de *C. martinii* durante los días 0,3,7,15,60 y 90 de almacenamiento. La familia de los monoterpenos oxigenados representó en mayor proporción a los compuestos detectados hasta el final del proceso de almacenamiento. Los sesquiterpenos oxigenados e hidrocarburos monoterpénicos se detectaron hasta el día 15 del proceso. En la **Figura 37** se muestra el gráfico para los datos normalizados con respecto al día cero.

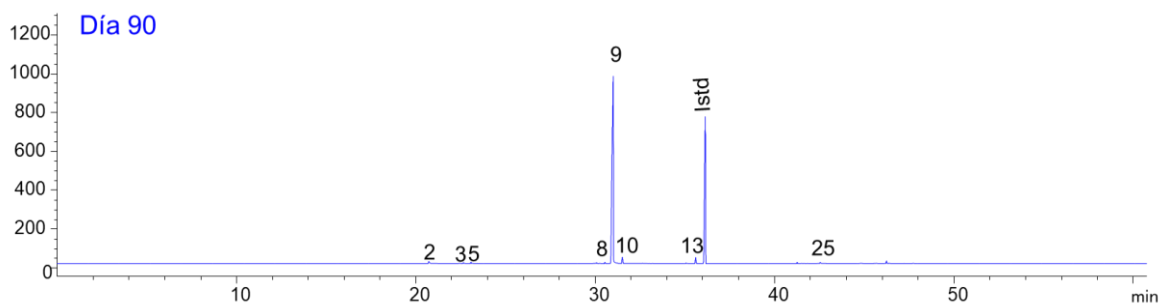
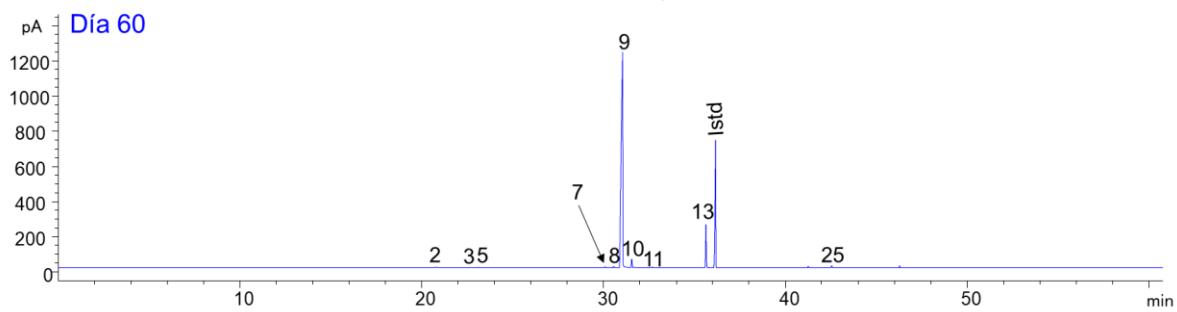
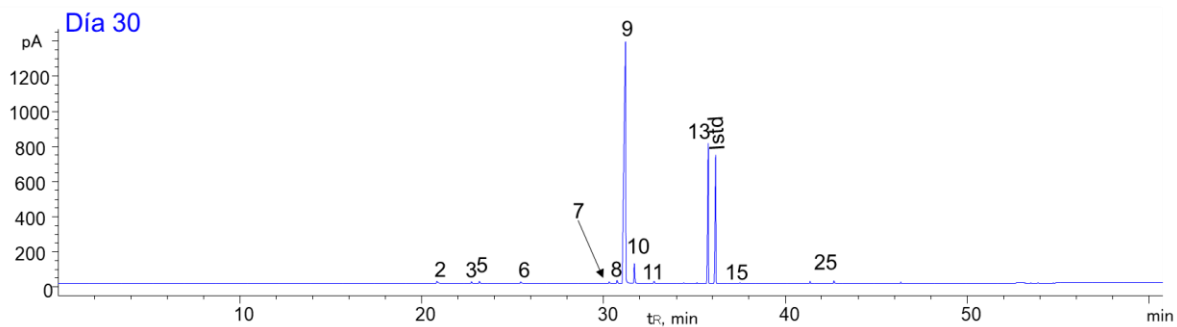
Figura 35

Perfil cromatográfico obtenido por HS-SPME-GC/FID del AE encapsulado de C. martinii a 0, 3, 7, 15, 30, 60 y 90 días después de su encapsulamiento. Columna DB-5MS (60 m), inyección split 1:30.

EFECTO REPELENTE DE ACEITES ESENCIALES Y FRACCIONES



EFECTO REPELENTE DE ACEITES ESENCIALES Y FRACCIONES



EFECTO REPELENTE DE ACEITES ESENCIALES Y FRACCIONES

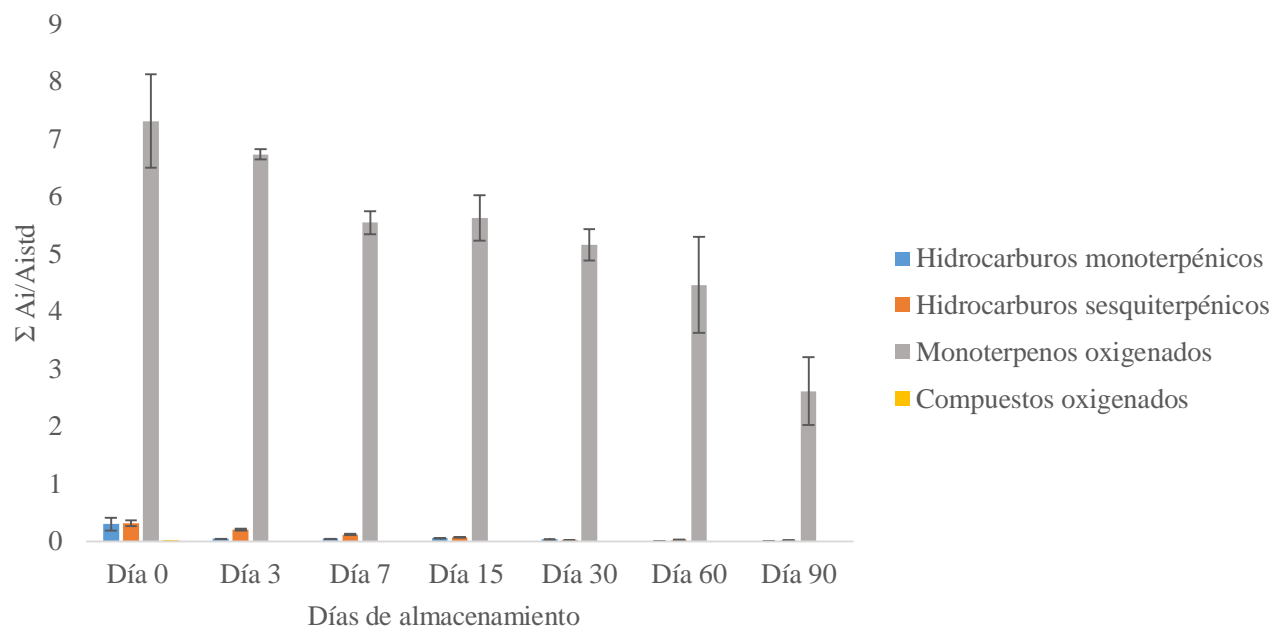
Tabla 22

*Cantidad (A_i/A_{istd}) de los compuestos presentes en la fracción volátil del AE encapsulado de *C. martinii* medida a diferentes días de almacenamiento.*

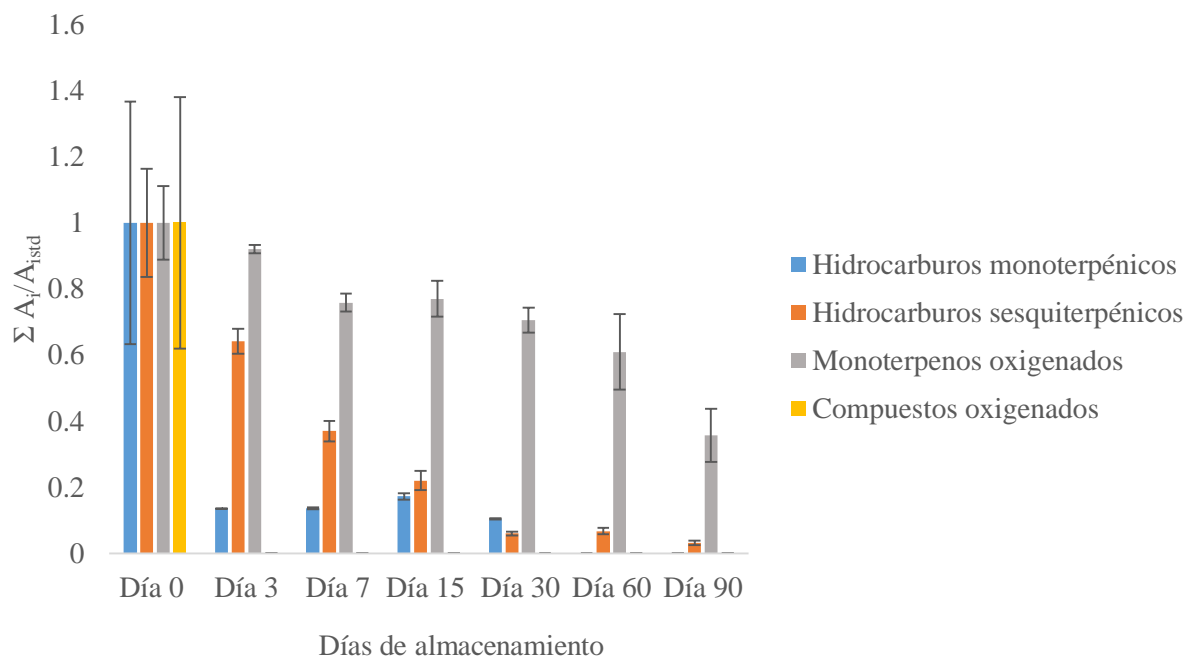
N° de pico Fig.35	Compuesto	Día de almacenamiento, cantidad $A_i/A_{istd} \pm s$ n=3						
		Día 0	Día 3	Día 7	Día 15	Día 30	Día 60	Día 90
1	6- Metil-hept-5-en-2-ona	0,01 \pm 0,01	-	-	-	-	-	-
2	β -Mirceno	0,04 \pm 0,01	0,023 \pm 0,002	0,023 \pm 0,002	0,027 \pm 0,003	0,031 \pm 0,001	-	-
3	Limoneno	0,02 \pm 0,01	0,0031 \pm 0,0002	0,0028 \pm 0,0001	0,0030 \pm 0,0002	-	-	-
4	(Z)- β -Ocimeno	0,04 \pm 0,02	0,0054 \pm 0,0004	0,0059 \pm 0,0002	0,008 \pm 0,001	-	-	-
5	(E)- β -Ocimeno	0,2 \pm 0,1	0,009 \pm 0,001	0,009 \pm 0,001	0,0093 \pm 0,0002	-	-	-
6	Linalol	0,33 \pm 0,28	0,39 \pm 0,03	0,26 \pm 0,03	0,13 \pm 0,03	-	-	-
7	Nerol	0,018 \pm 0,003	0,017 \pm 0,001	0,014 \pm 0,001	0,015 \pm 0,001	0,0039 \pm 0,0003	0,011 \pm 0,003	0,006 \pm 0,002
8	Neral	0,25 \pm 0,04	0,18 \pm 0,01	0,12 \pm 0,01	0,08 \pm 0,01	0,030 \pm 0,004	0,019 \pm 0,006	0,010 \pm 0,003
9	Geraniol	3,93 \pm 0,66	3,67 \pm 0,30	3,23 \pm 0,2	3,59 \pm 0,38	3,85 \pm 0,25	3,85 \pm 0,82	2,5 \pm 0,6
10	Geranial	0,4 \pm 0,2	0,47 \pm 0,02	0,36 \pm 0,02	0,30 \pm 0,03	0,15 \pm 0,03	0,10 \pm 0,03	0,059 \pm 0,018
11	Formiato de geranilo	0,10 \pm 0,01	0,076 \pm 0,003	0,054 \pm 0,002	0,042 \pm 0,003	0,018 \pm 0,003	0,008 \pm 0,002	0,003 \pm 0,001
13	Acetato de geranilo	2,3 \pm 0,3	1,94 \pm 0,12	1,50 \pm 0,01	1,46 \pm 0,09	1,1 \pm 0,11	0,46 \pm 0,16	0,067 \pm 0,032
15	(E)- β -Cariofileno	0,28 \pm 0,05	0,17 \pm 0,01	0,10 \pm 0,01	0,051 \pm 0,009	-	-	-
16	α -Humuleno	0,017 \pm 0,003	0,0122 \pm 0,0005	0,0079 \pm 0,0004	0,0058 \pm 0,0006	-	-	-
25	Óxido de cariofileno	0,016 \pm 0,001	0,016 \pm 0,003	0,0121 \pm 0,0003	0,012 \pm 0,001	0,019 \pm 0,002	0,021 \pm 0,003	0,010 \pm 0,002

Figura 36

*Variación de la cantidad A_i/A_{istd} para las familias de compuestos en el AE encapsulado de *C. martinii* a 0, 3, 7, 15, 60 y 90 días de almacenamiento.*

**Figura 37**

*Gráfico normalizado para la variación de la cantidad A_i/A_{istd} para las familias de compuestos en el AE encapsulado de *C. martinii* a 0, 3, 7, 15, 60 y 90 días de almacenamiento.*



4.4.3 Almacenamiento del AE de *L. origanoides* libre y encapsulado

En el seguimiento de la fracción volátil del AE de *L. origanoides*, la mayor parte de los hidrocarburos monoterpénicos dejaron de detectarse antes del día 90. Solo el hidrato de (*Z*)-sabineno logró detectarse hasta el final del proceso (**Tabla 23**). El timol y el carvacrol se detectaron en el AE hasta el día 90. La mayor emisión de estos compuestos se presentó entre los días 7 y 30. Dentro de los monoterpenos oxigenados el α -terpineol, el linalol y el acetato de timol se mantuvieron en la matriz oleosa hasta el día 60 y 90 respectivamente. La mayor parte de los hidrocarburos sesquiterpénicos se detectaron hasta el día 90 exceptuando el α -copaeno, cubebeno, 9-*epi*-(*E*)-cariofileno, γ -muroleno y β -selineno. En el **Apéndice I** se muestran los perfiles cromatográficos para el AE de *L. origanoides* en los días 0 y 90 de almacenamiento. En la **Figura 38** se observa cómo la cantidad A_i/A_{istd} para los terpenos fenólicos se mantuvo constante durante todo tiempo de almacenamiento. La mayor

EFECTO REPELENTE DE ACEITES ESENCIALES Y FRACCIONES

volatilización de los hidrocarburos monoterpénicos se registró el día 0 y para los monoterpenos oxigenados se observó una disminución en su cantidad desde el día 15. En la **Figura 39** se muestra el gráfico para los datos normalizados con respecto al día cero.

Tabla 23

*Cantidad (A_i/A_{istd}) de los compuestos presentes en la fracción volátil del AE de *L. origanoides* medida a diferentes días de almacenamiento.*

N° de pico Fig. 40	Compuesto	Días de almacenamiento, cantidad A_i/A_{istd} GC/FID							
		Día 0	Día 3	Día 7	Día 15	Día 30	Día 60	Día 90	
1	α -Tujeno	1,24	-	-	-	-	-	-	
2	α -Pineno	0,74	-	-	-	-	-	-	
3	Canfeno	0,39	-	-	-	-	-	-	
4	β -Pineno	0,08	-	-	-	-	-	-	
5	1-Octen-3-ol	0,12	-	-	-	-	-	-	
6	β -Mirceno	5,63	0,02	-	-	-	-	-	
7	α -Felandreno	0,10	-	-	-	-	-	-	
8	δ -3-Careno	0,29	-	-	-	-	-	-	
9	α -Terpineno	1,47	0,01	0,003	-	-	-	-	
10	<i>p</i> -Cimeno	18,82	0,50	0,005	-	-	-	-	
11	Limoneno	0,73	-	-	-	-	-	-	
12	1,8-Cineol	0,16	-	-	-	-	-	-	
13	(<i>E</i>)- β -Ocimeno	0,07	-	-	-	-	-	-	
14	γ -Terpineno	1,44	0,07	0,003	-	-	-	-	
15	Hidrato de (<i>Z</i>)-sabineno	0,03	0,03	0,031	0,03	0,02	0,01	-	
16	Terpinoleno	0,11	0,01	-	-	-	-	-	
17	<i>p</i> -Cimeneno	0,11	0,02	-	-	-	-	-	
18	Linalol	0,24	0,24	0,25	0,22	0,13	0,03	-	
22	Terpinen-4-ol	0,09	0,10	0,07	0,08	0,10	0,10	0,05	
24	Timol metil éter	1,75	1,51	1,27	0,78	0,16	-	-	
25	Timol	5,74	6,62	6,99	7,46	6,42	5,03	4,24	
26	Carvacrol	0,83	0,97	1,02	1,11	1,05	1,00	1,11	
27	Acetato de timilo	0,05	0,07	0,07	0,07	0,08	0,15	0,34	
29	Acetato de carvacrilo	0,01	0,01	0,01	0,01	0,005	-	-	
31	α -Copaeno	0,06	0,07	0,07	0,05	0,02	-	-	
33	(<i>E</i>)- β -Cariofileno	0,84	1,12	1,14	1,09	0,60	0,14	0,01	

EFECTO REPELENTE DE ACEITES ESENCIALES Y FRACCIONES

Tabla 23. Continuación.

34	Cubenene	0,02	0,03	0,03	0,02	0,02	0,005	
35	(<i>E</i>)- α -Bergamoteno	0,06	0,09	0,10	0,10	0,06	0,02	0,005
38	α -Humuleno	0,11	0,17	0,18	0,19	0,13	0,07	0,02
39	9-epi-(<i>E</i>)-Cariofileno	0,01	0,02	0,02	0,02	0,02	0,01	-
40	γ -Muroleno	0,03	0,05	0,05	0,01	0,01	0,00	-
42	β -Selineno	0,03	0,05	0,05	0,05	0,04	-	-
44	α -Selineno	0,03	0,06	0,07	0,07	0,06	0,05	0,03
45	β -Bisaboleno	0,02	0,05	0,06	0,06	0,06	0,07	0,06
46	γ -Cadineno	0,01	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,01
47	δ -Cadineno	0,02	0,03	0,04	0,04	0,04	0,04	0,03
48	(<i>E</i>)-Calameneno	0,005	0,01	0,01	0,01	0,01	0,02	0,02
49	(<i>Z</i>)- α -Bisaboleno	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01
50	γ -Selineno	0,00	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01
51	α -Calacoreno	0,01	0,01	0,01	0,02	0,01	0,02	0,01
52	Selin-3,7(11)-dieno	-	-	-	-	0,003	0,01	0,02

Figura 38

Variación de la cantidad A_i/A_{istd} para las familias de compuestos en el AE de *L. origanoides* para 0, 3, 7, 15, 30, 60 y 90 días de almacenamiento.

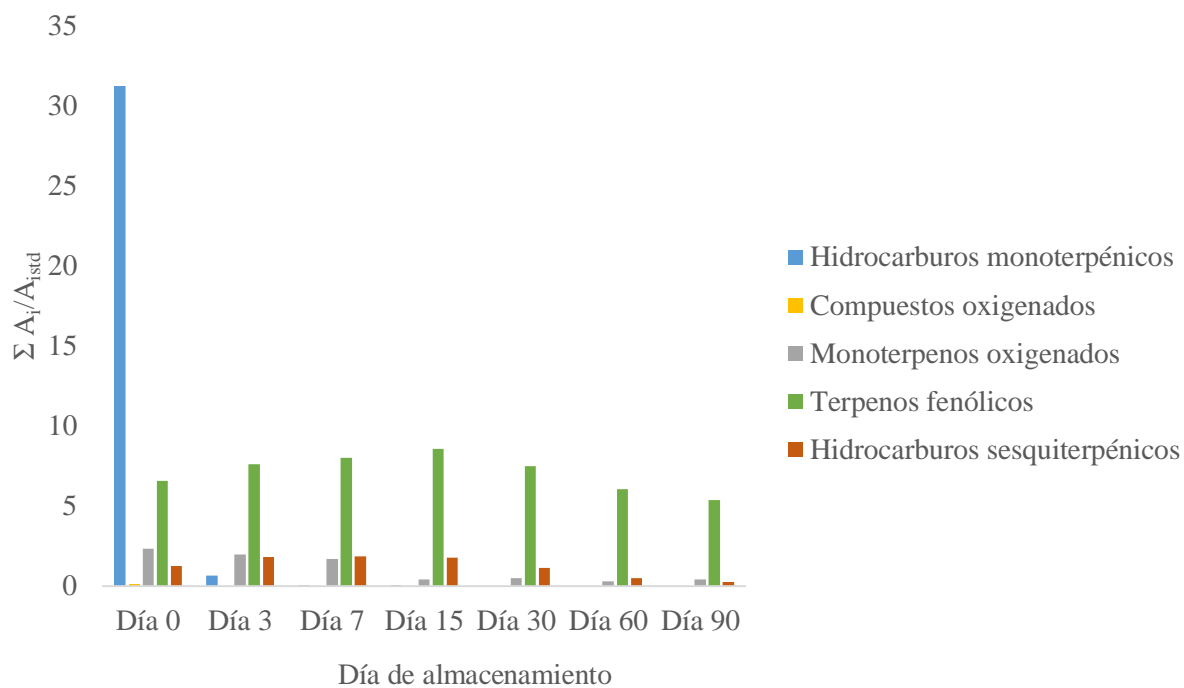
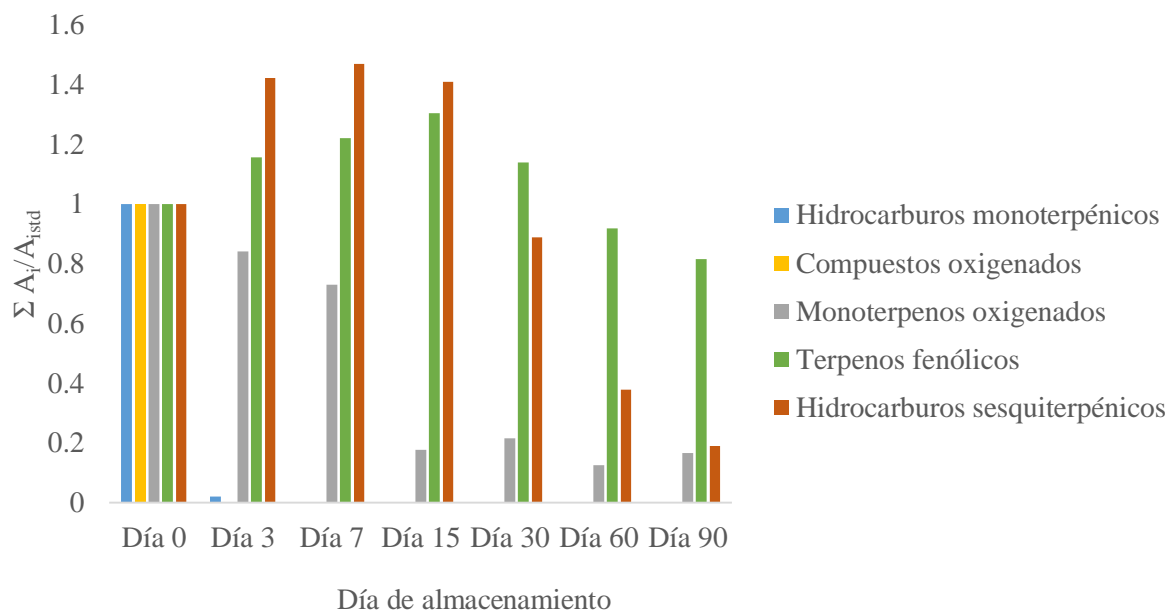
**Figura 39**

Gráfico normalizado de la cantidad A_i/A_{istd} para las familias de compuestos en el AE de *L. origanoides* para 0, 3, 7, 15, 30, 60 y 90 días de almacenamiento.

EFECTO REPELENTE DE ACEITES ESENCIALES Y FRACCIONES



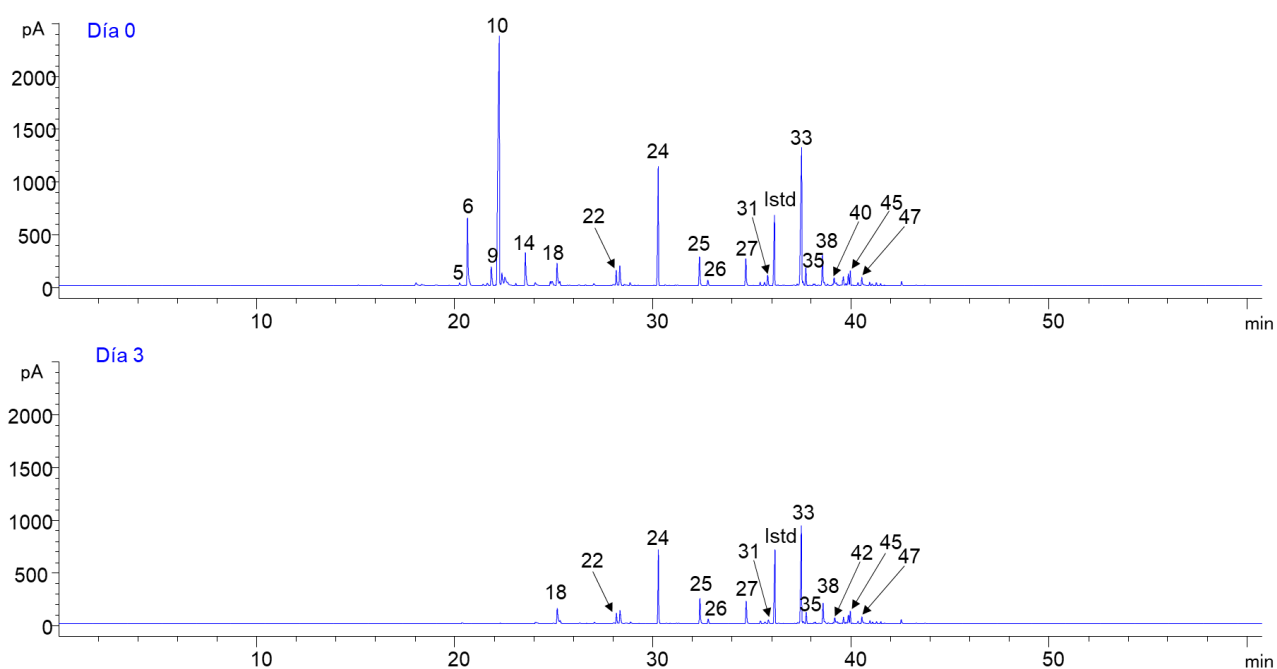
El seguimiento a la fracción volátil del AE encapsulado de *L. origanoides* se realizó hasta el día 90. En la **Figura 41** se muestran los cromatogramas obtenidos para varios días de almacenamiento. Los hidrocarburos terpénicos α -tujeno, α -pineno, camfeno, β -pineno, β -mirceno, α -felandreno, δ -3-careno, limoneno, (*E*)- β -ocimeno, terpinoleno y *p*-cimeneno fueron detectados solo el primer día de encapsulamiento (**Tabla 24**). Los compuestos *p*-cimeneno y α -terpineno se detectaron hasta el día 3 y 7 respectivamente. Dentro de los monoterpenos oxigenados, linalol, hidrato de (*Z*)-sabineno y timol metil éter se detectaron hasta el día 15 de almacenamiento. Los compuestos mayoritarios timol y carvacrol y sus respectivos acetatos, fueron detectados hasta el día 90. La mayor parte de los hidrocarburos sesquiterpénicos se detectaron hasta el día 30 exceptuando el α -copaeno, cubebeno, (*E*)- α -bergamoteno, 9-*epi*-(*E*)-cariofileno y γ -muroleno. Los sesquiterpenos β -bisaboleno, δ -cadineno, (*E*)-calameneno y (*Z*)- α -bisaboleno se detectaron hasta el día 60 y el compuesto selin-3,7(11)-dieno hasta el día 90 de almacenamiento.

EFECTO REPELENTE DE ACEITES ESENCIALES Y FRACCIONES

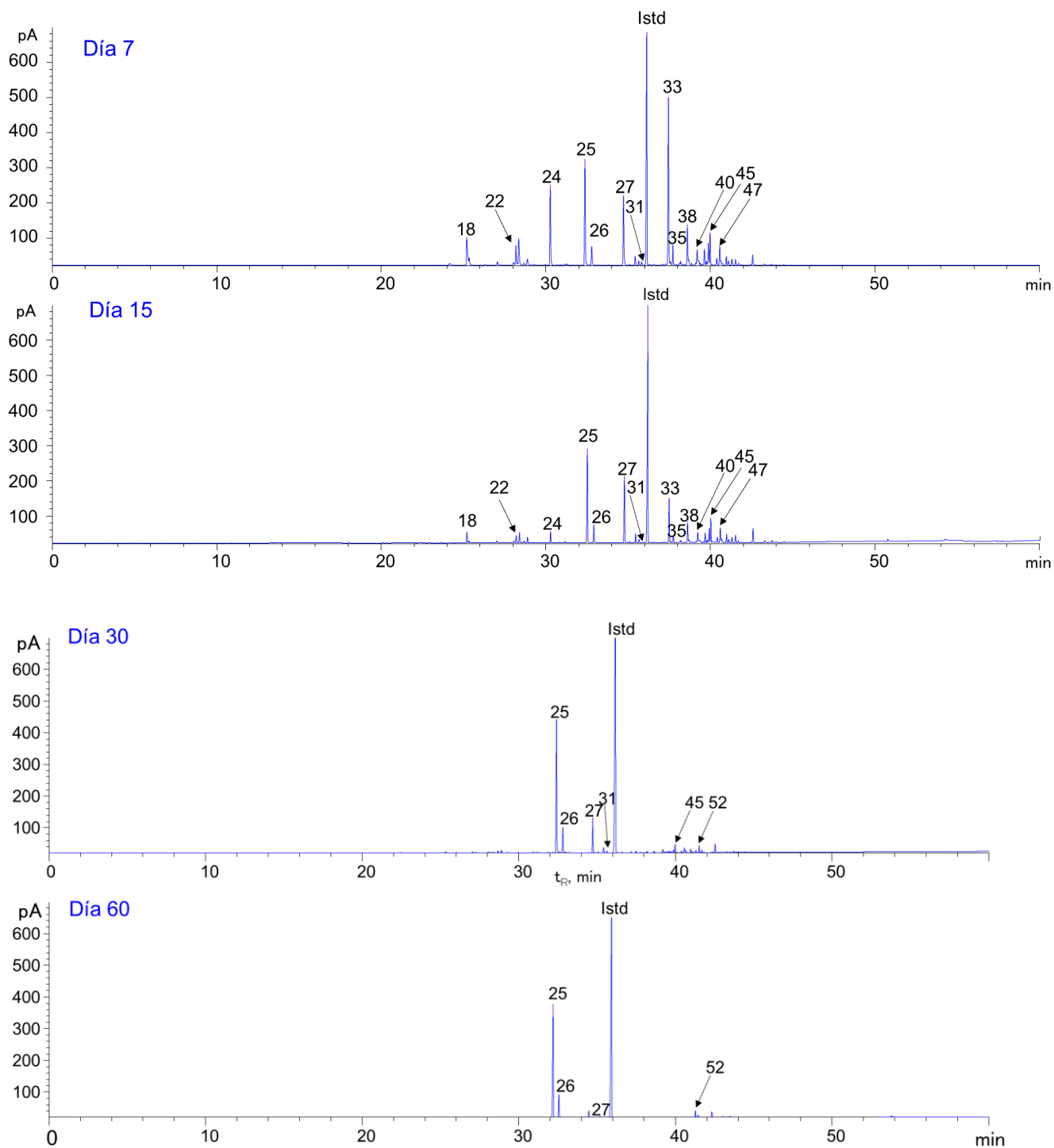
En la **Figura 41** se observa la variación de la cantidad por familias de compuestos en los diferentes días de almacenamiento. Para los hidrocarburos monoterpénicos, la máxima emisión se registró el día cero. Las cantidades para la familia de los monoterpenos oxigenados así como la de los hidrocarburos sesquiterpénicos disminuyeron desde el día cero hasta el día 60 progresivamente. Sin embargo, la cantidad relativa para los terpenos fenólicos se mantuvo constante durante el proceso de almacenamiento. En la **Figura 42** se muestra el gráfico para los datos normalizados con respecto al día cero.

Figura 40

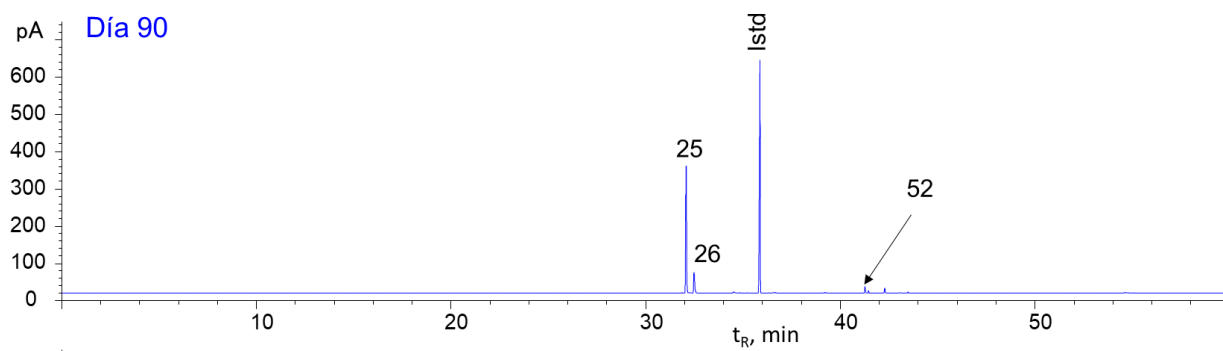
Perfil cromatográfico obtenido por HS-SPME-GC/FID del AE encapsulado de L. origanoides a 0, 3, 7, 15, 30, 60 y 90 días, después de su encapsulamiento. Columna DB-5MS (60 m), inyección split 1:30.



EFECTO REPELENTE DE ACEITES ESENCIALES Y FRACCIONES



EFECTO REPELENTE DE ACEITES ESENCIALES Y FRACCIONES



EFECTO REPELENTE DE ACEITES ESENCIALES Y FRACCIONES

Tabla 24

Relación de áreas (A_i/A_{ista}) de los compuestos presentes en la fracción volátil del AE encapsulado de L. origanoides medida a diferentes días de almacenamiento.

N° de pico Fig. 40	Compuesto	$A_i/A_{ista} \pm s \quad n=3$							
		Día 0	Día 3	Día 7	Día 15	Día 30	Día 60	Día 90	
1	α -Tujeno	0,04 \pm 0,02	-	-	-	-	-	-	
2	α -Pino	0,02 \pm 0,01	-	-	-	-	-	-	
3	Camfeno	0,02 \pm 0,01	-	-	-	-	-	-	
4	β -Pino	0,04 \pm 0,01	-	-	-	-	-	-	
6	β -Mircene	0,6 \pm 0,3	-	-	-	-	-	-	
7	α -Felandreno	0,02 \pm 0,01	-	-	-	-	-	-	
8	δ -3-Careno	0,03 \pm 0,02	-	-	-	-	-	-	
9	α -Terpineno	0,2 \pm 0,1	0,0034 \pm 0,0002	0,002 \pm 0,001	-	-	-	-	
10	<i>p</i> -Cimeno	3,7 \pm 1,5	0,003 \pm 0,003	-	-	-	-	-	
11	Limoneno	0,14 \pm 0,07	-	-	-	-	-	-	
12	1,8-Cineol	0,06 \pm 0,02	-	-	-	-	-	-	
13	(<i>E</i>)- β -Ocimeno	0,02 \pm 0,01	-	-	-	-	-	-	
14	γ -Terpineno	0,3 \pm 0,1	0,0027 \pm 0,0003	-	-	-	-	-	
15	Hidrato de (<i>Z</i>)-sabineno	0,07 \pm 0,01	0,033 \pm 0,006	0,008 \pm 0,004	0,001 \pm 0,001	-	-	-	
16	Terpinoleno	0,03 \pm 0,01	-	-	-	-	-	-	
17	<i>p</i> -Cimenene	0,030 \pm 0,001	-	-	-	-	-	-	
18	Linalol	0,35 \pm 0,01	0,25 \pm 0,02	0,11 \pm 0,04	0,03 \pm 0,01	-	-	-	
22	Terpinen 4-ol	0,19 \pm 0,01	0,13 \pm 0,01	0,06 \pm 0,02	0,02 \pm 0,01	-	-	-	
23	α -Terpineol	0,041 \pm 0,001	-	-	-	-	-	-	
24	Timol metil eter	1,1 \pm 0,9	0,8 \pm 0,1	0,2 \pm 0,1	0,02 \pm 0,01	-	-	-	
25	Timol	0,45 \pm 0,04	0,40 \pm 0,05	0,5 \pm 0,05	0,4 \pm 0,1	0,58 \pm 0,04	0,51 \pm 0,05	0,6 \pm 0,1	
26	Carvacrol	0,09 \pm 0,01	0,08 \pm 0,01	0,11 \pm 0,01	0,08 \pm 0,01	0,12 \pm 0,01	0,11 \pm 0,01	0,12 \pm 0,01	
27	Acetato de timilo	0,37 \pm 0,01	0,33 \pm 0,01	0,32 \pm 0,04	0,23 \pm 0,02	0,13 \pm 0,01	0,03 \pm 0,01	0,007 \pm 0,003	
29	Acetato de carvacrilo	0,045 \pm 0,004	0,026 \pm 0,002	0,017 \pm 0,003	0,011 \pm 0,001	0,005 \pm 0,001	-	-	
31	α -Copaeno	0,13 \pm 0,02	0,05 \pm 0,01	0,008 \pm 0,005	0,0010 \pm 0,0005	-	-	-	
33	(<i>E</i>)- β -Cariofileno	2,3 \pm 0,2	1,3 \pm 0,2	0,5 \pm 0,2	0,10 \pm 0,05	0,003 \pm 0,002	-	-	
34	Cubeneno	0,053 \pm 0,002	0,035 \pm 0,004	0,015 \pm 0,005	0,004 \pm 0,001	-	-	-	

EFECTO REPELENTE DE ACEITES ESENCIALES Y FRACCIONES

Tabla 24. Continuación.

35	(<i>E</i>)- α -Bergamoteno	0,2 \pm 0,015	0,13 \pm 0,01	0,06 \pm 0,02	0,02 \pm 0,01	-	-	-
38	α -Humuleno	0,38 \pm 0,02	0,18 \pm 0,15	0,14 \pm 0,04	0,05 \pm 0,02	0,004 \pm 0,002	-	-
39	9- <i>epi</i> -(<i>E</i>)-cariofileno	0,045 \pm 0,003	0,033 \pm 0,002	0,018 \pm 0,005	0,007 \pm 0,002	-	-	-
40	γ -Muroleno	0,102 \pm 0,005	0,084 \pm 0,003	0,06 \pm 0,01	0,01 \pm 0,02	-	-	-
42	β -Selineno	0,106 \pm 0,005	0,083 \pm 0,004	0,06 \pm 0,01	0,03 \pm 0,01	0,004 \pm 0,002	-	-
44	α -Selineno	0,15 \pm 0,01	0,12 \pm 0,01	0,08 \pm 0,02	0,04 \pm 0,01	0,008 \pm 0,003	-	-
45	β -Bisaboleno	0,15 \pm 0,01	0,136 \pm 0,005	0,11 \pm 0,02	0,07 \pm 0,01	0,021 \pm 0,006	0,001 \pm 0,001	-
46	γ -Cadineno	0,042 \pm 0,002	0,038 \pm 0,001	0,029 \pm 0,005	0,017 \pm 0,002	0,005 \pm 0,001	-	-
47	δ -Cadineno	0,093 \pm 0,004	0,081 \pm 0,003	0,07 \pm 0,01	0,043 \pm 0,004	0,014 \pm 0,003	0,001 \pm 0,001	-
48	(<i>E</i>)-Calameneno	0,023 \pm 0,001	0,021 \pm 0,001	0,019 \pm 0,002	0,013 \pm 0,001	0,01 \pm 0,001	0,0011 \pm 0,0004	-
49	(<i>Z</i>)- α -Bisaboleno	0,042 \pm 0,001	0,039 \pm 0,001	0,036 \pm 0,004	0,025 \pm 0,001	0,012 \pm 0,002	0,002 \pm 0,001	-
50	γ -Selineno	0,026 \pm 0,001	0,023 \pm 0,001	0,019 \pm 0,003	0,012 \pm 0,001	0,004 \pm 0,001	-	-
51	α -Calacoreno	0,033 \pm 0,001	0,030 \pm 0,001	0,026 \pm 0,003	0,018 \pm 0,001	0,009 \pm 0,001	-	-
52	Selin-3,7(11)-dieno	0,023 \pm 0,002	0,022 \pm 0,003	0,0262 \pm 0,0004	0,022 \pm 0,002	0,025 \pm 0,003	0,026 \pm 0,002	0,0287 \pm 0,0027

Figura 41

Variación en la relación de áreas para las familias de compuestos en el AE encapsulado de L. origanoides a los 0, 3, 7, 15, 60 y 90 días de almacenamiento.

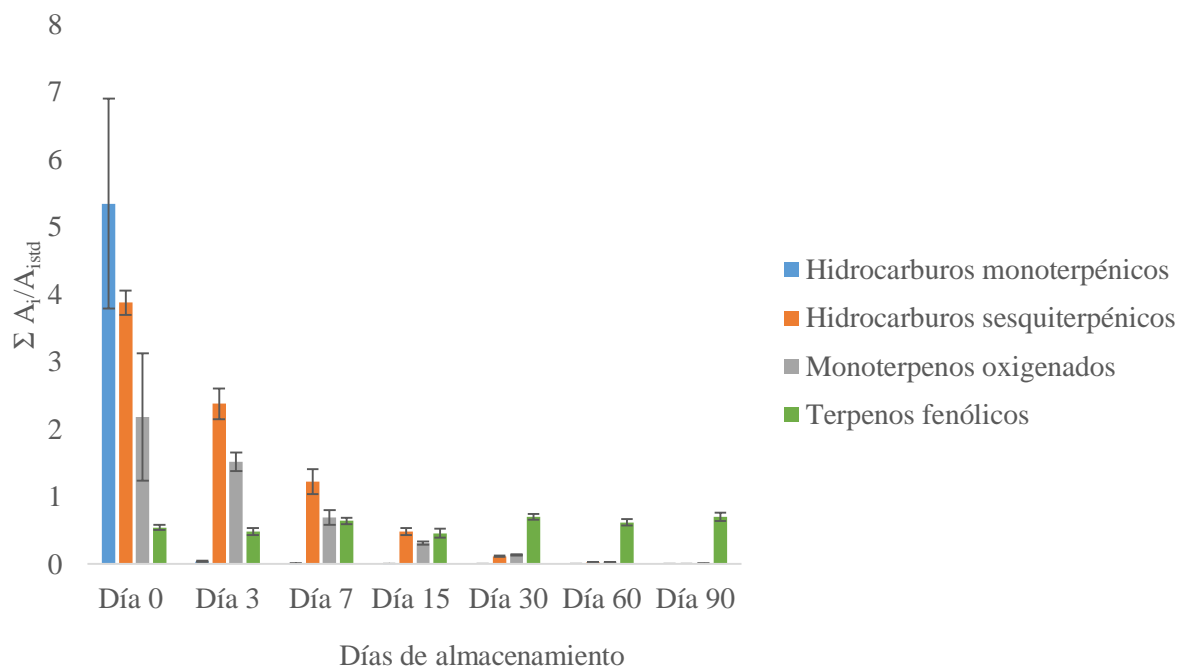
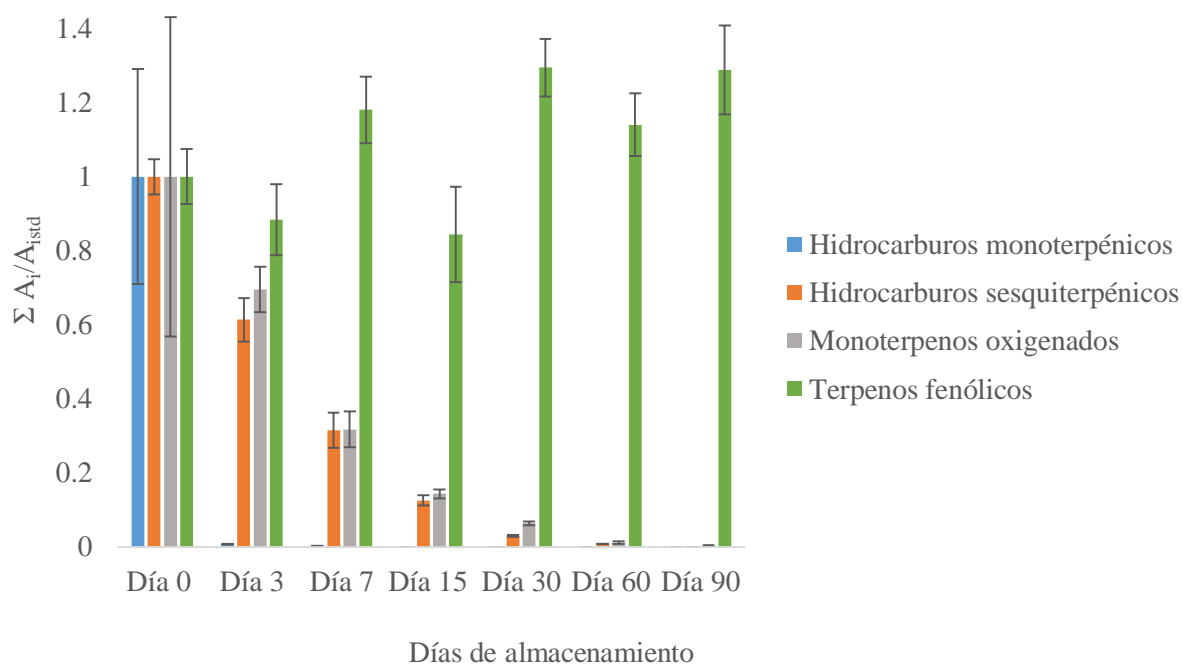
**Figura 42**

Gráfico normalizado para la variación en la relación de áreas para las familias de compuestos en el AE encapsulado de L. origanoides a los 0, 3, 7, 15, 60 y 90 días de almacenamiento.

EFECTO REPELENTE DE ACEITES ESENCIALES Y FRACCIONES



5. Análisis y discusión de resultados

5.1 Composición química de los AE de *C. winterianus*, *C. martinii* y *L. origanoides*.

En la **Tabla 6** se muestra que los monoterpenos oxigenados constituyen el 68,2% del AE de *C. winterianus*. Los compuestos mayoritarios geraniol, citronelol y citronelal han sido identificados en otras investigaciones (Deletre *et al.*, 2015, Silva *et al.*, 2018, Devi *et al.*, 2021) donde las cantidades relativas de citronelal fueron mayores (34,7%-42,47%) comparadas con geraniol (9,44%-22,5%) y citronelol (6,25%-12%). Una composición química similar a la obtenida en esta investigación, fue reportada por Pinheiro *et al.* (2013) quienes identificaron en el AE de *C. winterianus* como compuestos mayoritarios geraniol (28,6%), citronelal (23,6%) y citronelol (17,0%). Los cambios en la composición química pueden estar relacionados con las condiciones ambientales y los diferentes factores abióticos a los que está expuesto el cultivo (luz, agua y suelo) (Perry *et al.*, 1999). El compuesto mayoritario geraniol ha sido referenciado en varias investigaciones por tener actividad

EFECTO REPELENTE DE ACEITES ESENCIALES Y FRACCIONES

antimicrobiana, repelente y antiinflamatorio (Papachristos *et al.*, 2004, Sato *et al.*, 2007, de Cássia da Silveira *et al.*, 2013).

La familia de los monoterpenos oxigenados también constituyó el mayor porcentaje de área relativa (96,2%) en el AE de *C. martinii* (**Tabla 7**). Los compuestos mayoritarios geraniol, acetato de geranilo y linalol han sido reportados en otras investigaciones (Kumar, 2008; Desouza, 2011 y Rodríguez, *et al.*, 2012), en las cuales la cantidad relativa de geraniol se encontró entre el 81,4-83,9%, la de acetato de geranilo entre 7,5%-10,1% y la de linalol entre 2,3%-3,1%. La investigación realizada por Jokić *et al.* (2018) en el AE de *C. martinii* mostró una composición química similar a la obtenida en este trabajo: geraniol (76,9%), acetato de geranilo (15,6%) y linalol (2,0%). La presencia de estos compuestos oxigenados permitió el uso de este AE para proteger alimentos de la infestación de plagas de roedores e insectos. Otros autores (Katki, 2011; Kumar, 2021) han mostrado variaciones en la composición química del AE de *C. martinii* en los cuales no se ha identificado acetato de geranilo sino formiato de geranilo y (*E*)- β -ocimeno dentro de los compuestos mayoritarios.

La especie *L. origanoides* se constituyó principalmente por compuestos pertenecientes a la familia de los terpenos fenólicos (58,3%) (**Tabla 8**). La presencia de timol (50,6%) y carvacrol (18,4%) como compuestos mayoritarios, ha sido relacionada con la alta capacidad que tuvo la especie *Mosla chinensis* Maxim. cv. Jiangxiangru, sobre diferentes especies de artrópodos como *Mythimna separate*, *Myzus persicae*, *Sitophilus zeamais*, *Musca domestica* y *Tetranychus cinnabarinus* (Lu *et al.*, 2020).

5.2 Microdestilación a presión reducida de los AE de *Cymbopogon winterianus*, *C. martinii* y *L. origanoides*.

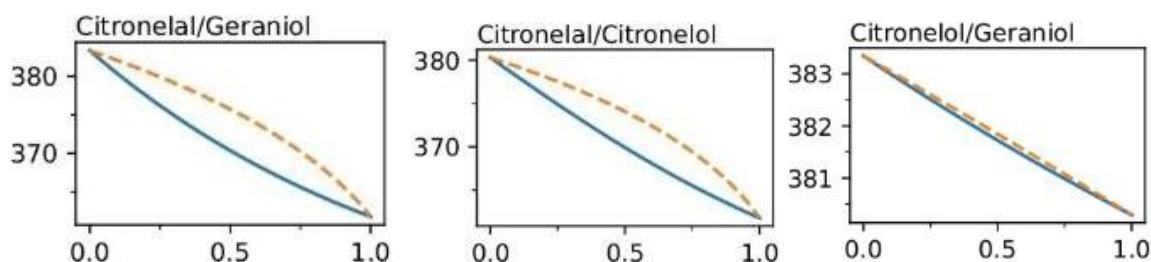
El proceso de fraccionamiento a presión reducida permite la separación de los compuestos presentes en una mezcla teniendo en cuenta las diferencias en los puntos de ebullición de sus constituyentes (Silvestre *et al.*, 2019). Se ha evidenciado que a medida que incrementa el punto de ebullición de los compuestos, la entalpia de evaporación se hace más alta (citronelal, 44,22 kJ/mol; citronelol, 63,5 kJ/mol; geraniol, 54,61 kJ/mol). Es por ello que, bajo una presión constante, los compuestos con puntos de ebullición más altos permanecen en el fondo de la columna mientras que los compuestos más volátiles se recolectan en la primera fracción del destilado. Estos resultados están acordes con lo obtenido por Fitri *et al.* (2022) quienes al fraccionar el aceite de *C. winterianus* a una presión de 30 mmHg, obtuvieron una fracción de tope concentrada con citronelal y una fracción de fondo enriquecida con citronelol y geraniol. Al igual que en la investigación realizada por Martínez (2022), la mayor concentración de limoneno y linalol en el fraccionamiento del AE de *C. winterianus* se obtuvo en la F1 de destilado y el citronelal se enriqueció principalmente en dos fracciones. Los diagramas líquido-vapor de las mezclas binarias citronelal-geraniol y citronelal-citronelol obtenidas en esa investigación, muestran cómo es posible obtener un vapor enriquecido con el compuesto más volátil (citronelal) y obtener el primer condensado correspondiente a una fracción (Atkins y de Paula, 2008). Sin embargo, al analizar el mismo comportamiento en la mezcla binaria citronelol-geraniol, no fue posible separar el vapor enriquecido con el compuesto más volátil, esto se debe según Silva *et al.* (2022) a una reducción en la fase donde estos dos compuestos coexisten en equilibrio entre el punto de burbuja y el punto de rocío que corresponden a la presión en la cual aparece la primera gota

EFECTO REPELENTE DE ACEITES ESENCIALES Y FRACCIONES

de líquido y para el segundo caso la presión en la cual aparece la primera burbuja de gas a una temperatura dada (El-Banbi *et al.*, 2007).

Figura 43

Diagrama de composición fracción molar Vs temperatura para mezclas binarias de compuestos terpénicos. Tomado de Martínez (2022).



La similitud entre los puntos de ebullición del citronelol y geraniol dificultó su proceso de separación y condujo a que estos monoterpenos oxigenados fueran concentrados principalmente en la FF. Rodrigues *et al.* (2022) tuvieron esta misma conclusión al no poder separar una mezcla binaria eugenol-cariofileno (con puntos de ebullición 254 °C y 266 °C respectivamente) y la formación de un azeotropo en la mezcla.

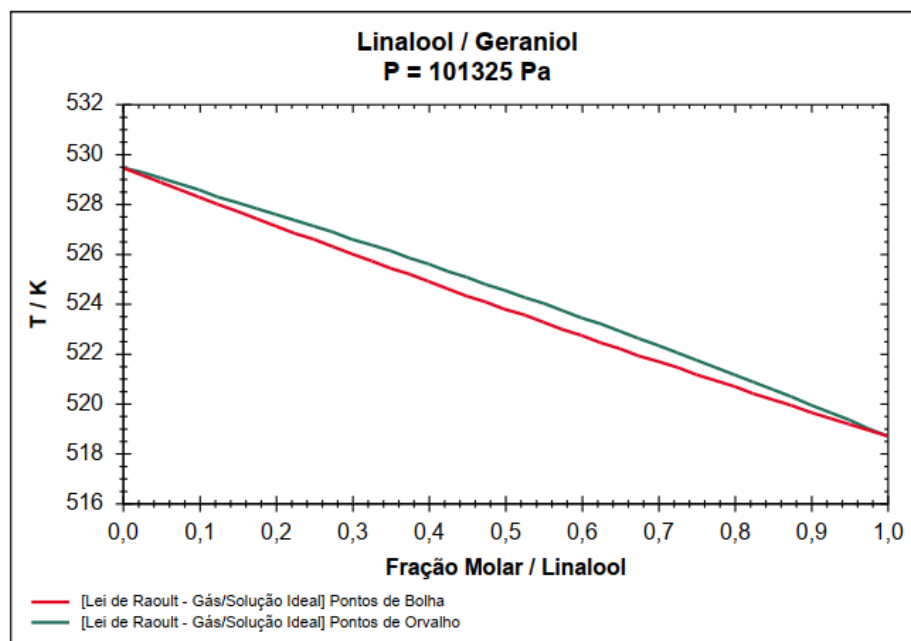
La presencia de (*E*)- β -cariofileno, α -humuleno y (*2E,6Z*)-farnesol en FF, está relacionada con la diferencia de sus altos puntos de ebullición con respecto a los compuestos recolectados en las fracciones más livianas. Diagramas de fase entre mezclas binarias de linalol-germacreno D y geraniol-germacreno D, muestran que es posible la separación de monoterpenos oxigenados e hidrocarburos monoterpénicos en diferentes fracciones (Martínez, 2022).

EFECTO REPELENTE DE ACEITES ESENCIALES Y FRACCIONES

Un análisis del diagrama de fases para la mezcla binaria linalol-geraniol obtenido por Silva *et al.* (2022), mostró que, a pesar de la diferencia entre los puntos de ebullición de estos compuestos, no es posible llevar a cabo su separación debido a que la composición de la fase vapor es muy cercana a la de la fase líquida (*e.g.* fase líquida 251 °C y fase vapor 250 °C) en la región en las que las dos fases líquido y vapor coexisten en el equilibrio dificultando su proceso de separación.

Figura 44

Diagrama líquido vapor mezcla binaria geraniol-linalol. Tomado de Silva et al. (2022).



El diagrama líquido vapor para la mezcla binaria geraniol-acetato de geraniol, muestra que el proceso de separación puede darse en varias fracciones y no en solo una como en otros compuestos (Martínez, 2022). Sin embargo, los hidrocarburos sesquiterpénicos (*E*)- β -cariofileno, óxido de cariofileno y (*2E,6Z*)-farnesol se separaron principalmente en la FF. Un incremento en la presión utilizada durante el proceso de fraccionamiento (4 Torr) esta

relacionada con esta baja separación de los compuestos con puntos de ebullición más altos (Ramírez, 2016).

La presencia de grupos hidroxilo en los monoterpenos oxigenados citronelol-geraniol en la FF de *C. winterianus* y linalol-geraniol en todas las fracciones de *C. martinii*, puede crear fuerzas intermoleculares como puentes de hidrógeno que dificulten el proceso de separación. Otro reporte obtenido por Do, *et al.* (2021) sobre el fraccionamiento de la especie *Cymbopogon citratus* (Poaceae), muestra la separación de los compuestos más volátiles en la fracción de tope (6-metil-hept-5-en-2-ona y β -mirceno) y el compuesto citral (punto de ebullición más alto) en las fracciones subsiguientes denotadas como F3, F4 y F5 y cuya concentración relativa incrementó desde un 42% en F3 hasta un 94% en F5.

Para el fraccionamiento de *L. origanoides* se evidenció nuevamente que a medida que incrementa el punto de ebullición de los compuestos, la entalpía de evaporación se hace más alta (óxido de cariofileno (50,99 kJ/mol); acetato de geraniol (51,54 kJ/mol); (*E*)- β -cariofileno (65,5 kJ/mol), carvacrol (68,2 kJ/mol); timol, (70,9 kJ/mol;)) y permite que los compuestos con puntos de ebullición más altos permanezcan en el fondo de la columna mientras que los compuestos más volátiles se obtienen en la primera y segunda fracción de destilado. Los compuestos α -pineno (156 °C), β -mirceno con los puntos de ebullición más bajos de la mezcla no se separaron en fracciones diferentes. Aunque el β -mirceno se concentró principalmente en la F1, diagramas líquido-vapor entre las mezclas binarias α -pineno- β -mirceno, β -mirceno-limoneno y β -mirceno- γ -terpineno (**Figura 45**), muestran nuevamente que la temperatura de la fase líquida y la de la fase vapor son cercanas (*e.g.* α -pineno- β -mirceno, fase líquida 327,5 °C y fase vapor 326,5 °C) en la región en las que las

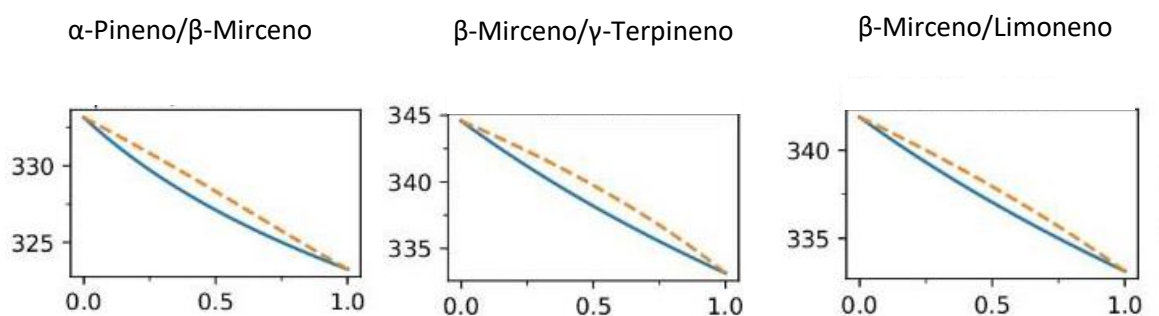
EFECTO REPELENTE DE ACEITES ESENCIALES Y FRACCIONES

dos fases líquido y vapor coexisten en el equilibrio, por lo cual se dificulta su proceso de separación.

Adicionalmente el mismo diagrama para la mezcla limoneno- γ -terpineno, muestra que no existe una separación entre el punto burbuja y el punto de rocío, lo cual indica que estos compuestos no pueden concentrarse en fracciones diferentes (Martínez *et al.*, 2022). Teniendo en cuenta este antecedente, se puede sustentar la razón por la cual estos compuestos coeluyen tanto en la F1 como en la F2. Los hidrocarburos monoterpénicos de mayor punto de ebullición *p*-cimeno, limoneno (175-177 °C) y γ -terpineno (182 °C) se concentraron en la F2.

Figura 45

Diagrama de composición fracción molar Vs temperatura para mezclas binarias de compuestos terpénicos. Tomado de Martínez (2022).



A diferencia de lo obtenido en los fraccionamientos de *C. winterianus* y *C. martinii*, el linalol se concentró en la fracción de fondo y no en las fracciones más livianas. Esto se debe a que en este proceso se empleó una presión mayor (10 Torr) que la utilizada en las

EFFECTO REPELENTE DE ACEITES ESENCIALES Y FRACCIONES

especies anteriores 7 y 4 Torr respectivamente por lo que se requeriría una mayor temperatura para separar al linalol de la mezcla obtenida en la FF.

Los isómeros estructurales timol (232 °C) y carvacrol (230 °C) junto con otros compuestos de tipo sesquiterpeno como el (*E*)- β -cariofileno (245 °C) y el óxido de cariofileno (280 °C) por sus altos puntos de ebullición, se concentraron en la FF. La diferencia entre los puntos de ebullición entre estas familias de compuestos podría permitir una separación de los terpenos fenólicos en otra fracción. Para ellos se requeriría aplicar una menor presión sobre el sistema e incrementar la temperatura de la manta.

5.3 Actividad repelente de los AE de *C. winterianus*, *C. martinii*, *L. origanoides* y sus fracciones.

5.3.1 Actividad repelente del AE de *C. winterianus* y sus fracciones

La tendencia de obtener los porcentajes de repelencia mayores en los niveles más altos de concentración se observó en la investigación de Ramadan *et al.* (2021) en donde se aplicaron concentraciones del AE de *C. winterianus* entre 6,25 $\mu\text{g/L}$ y 50 $\mu\text{g/L}$ y se obtuvo el mayor porcentaje de repelencia con la mayor concentración. El AE de *C. winterianus* tuvo un porcentaje de repelencia mayor (33%) que el obtenido con el AE de *Stellera chamaejasme* para la concentración de 15,63 nL/cm^2 (< 20 %) sobre *L. serricorne* bajo un tiempo de exposición de 2 h (Sang *et al.*, 2021). Otro estudio reportado por Wu, *et al.* (2015), mostró que el porcentaje de repelencia de *Liriopi muscari* a la concentración más baja aplicada (Repelencia, %= 86, 78.63 nL/cm^2) fue mayor que lo obtenido en esta investigación. Sin embargo, el porcentaje de repelencia de la F2 medida a 0,02 $\mu\text{L/cm}^2$ fue mayor (Repelencia,

EFECTO REPELENTE DE ACEITES ESENCIALES Y FRACCIONES

% 47) comparado con lo obtenido a 3.15 nL/cm² (Repelencia,% = 18).

Dentro de las fracciones, la F1 enriquecida con los compuestos limoneno (84 mg/g de muestra) y linalol (25,1 mg/g de muestra) tuvo un porcentaje de repelencia menor que el del AE sin fraccionar en la concentración de 0,02 µL/cm². Aunque reportes previos (Liang *et al.*, 2021), han mostrado una baja actividad repelente de estos compuestos sobre *L. serricorne* en las concentraciones a un tiempo de exposición de 4 h, se puede observar cómo un incremento en la concentración de estos compuestos en la F1, puede modular el porcentaje de repelencia hasta superar el valor obtenido por el AE sin fraccionar. Por su parte, en la F2 en la cual se cuantificó la mayor cantidad del monoterpeno oxigenado citronelal (1052 mg/g de muestra) se obtuvo el mayor porcentaje de repelencia en todas las concentraciones aplicadas, 50%, 70% y 90% y a un tiempo de exposición de 2 h comparado con lo obtenido en el AE sin fraccionar y las fracciones F1 y FF. Se observó que los porcentajes de repelencia incrementaron a un tiempo de exposición de 4 h pero estos valores se mantuvieron en un 90% a una concentración de 0,4 µL/cm². Lü y Liu (2016) estudiaron la actividad repelente del citronelal sobre *L. serricorne* y determinaron que a bajas concentraciones (1:100, v/v) este compuesto posee efectos atrayentes sobre los insectos y en la concentración más alta (1:10, v/v) obtuvieron un porcentaje de repelencia del 52% a 2 h de exposición, que disminuyó (25,1% y 44,4%) a 12 y 24 h de exposición respectivamente. Estos resultados muestran cómo la presencia del monoterpeno oxigenado citronelal en la F2, está directamente relacionada con un mayor efecto repelente obtenido sobre *L. serricorne*.

Aunque se desconoce el mecanismo por el cual actúa el citronelal sobre *L. serricorne*, el estudio realizado por Wu, *et al.* (2020) en *Anopheles gambiae* (Diptera: Culicidae)

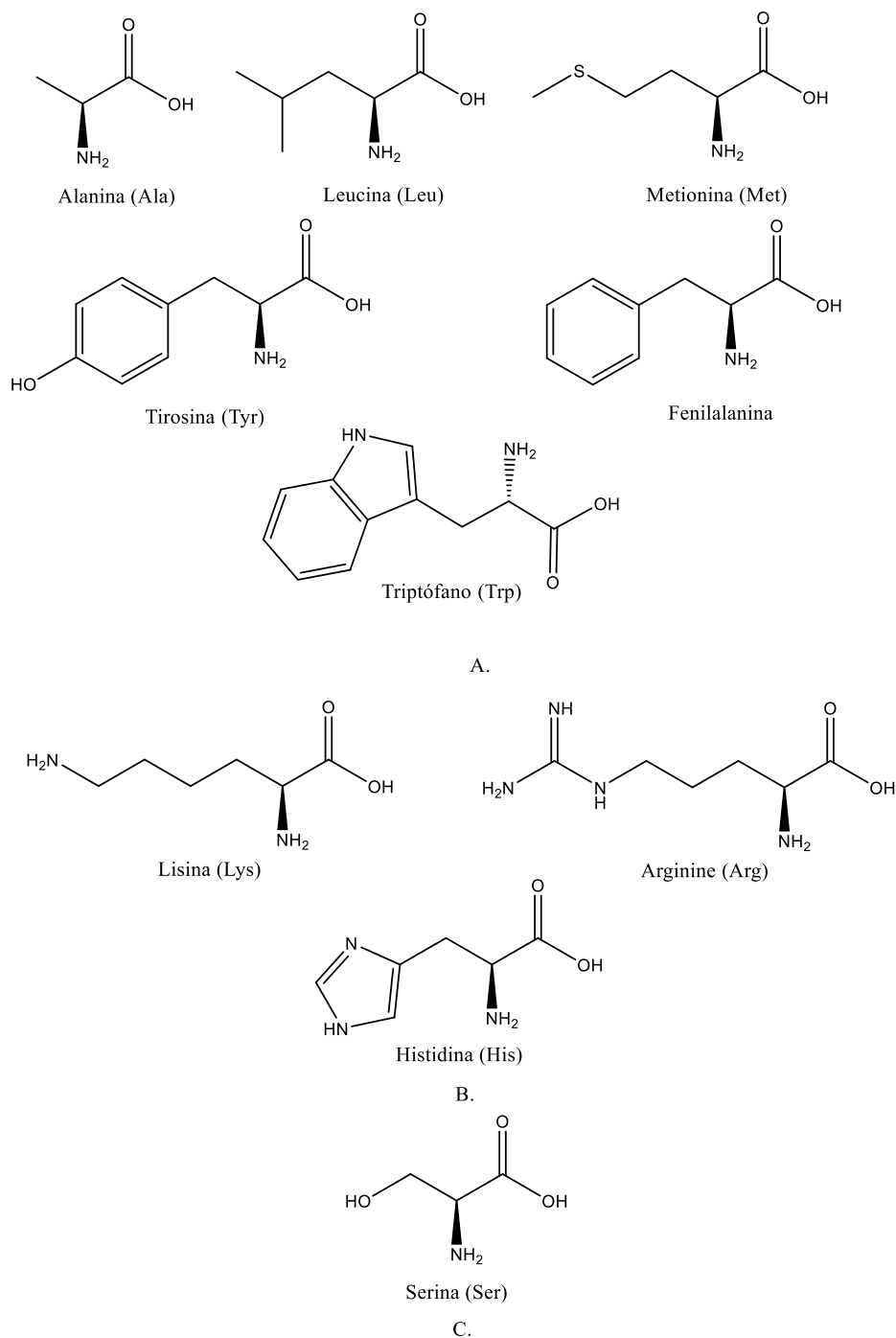
EFECTO REPELENTE DE ACEITES ESENCIALES Y FRACCIONES

demostró que este compuesto interactúa con sitios específicos de los OBP del insecto, denominadas *AgamOBP5*, *AgamOBP20* y el OR *AgamORC7*, proteínas que se caracterizan por tener residuos de aminoácidos hidrofílicos como serina, tirosina y arginina (**Figura 46**). Por medio de análisis de *docking* molecular, se determinó que el átomo de oxígeno del grupo carbonilo en el citronelal es el principal sitio de unión con estos residuos de aminoácidos. Una cuarta proteína asociada con el proceso de repelencia fue *AgamOBP4*, la cual contiene un sitio hidrofóbico (residuo de fenilalanina). Según el estudio, esta proteína se solubiliza en la linfa del insecto y posteriormente es transportada hacia un OR que finalmente se enlaza con las neuronas celulares del insecto para continuar con el proceso de transmisión de la señal. Por medio de datos de secuenciación de proteínas, se han logrado identificar 14 OBP presentes en la antena de *L. serricorne* (Wang *et al.*, 2022). Sin embargo, aún no existen reportes sobre los sitios de unión específicos en estas proteínas con los terpenos identificados en esta investigación.

Figura 46

Estructura química de los aminoácidos: A. Cadena lateral hidrofóbica; B. Cadena lateral cargada eléctricamente; C. Cadena lateral polar sin carga.

EFECTO REPELENTE DE ACEITES ESENCIALES Y FRACCIONES



En el análisis de la fracción de fondo, en la cual se cuantificó la mayor cantidad de geraniol (420 ± 17 mg/g de muestra) y citronelol (240 ± 14 mg/kg de fracción), se obtuvieron los porcentajes de repelencia más bajos comparados con lo obtenido en la F2. Investigaciones sobre la fase vapor de monoterpenoides han mostrado que aldehídos y cetonas poseen una

EFECTO REPELENTE DE ACEITES ESENCIALES Y FRACCIONES

mayor actividad fumigante sobre artrópodos (*Musca domestica* y *T. castaneum*) que la obtenida por sus alcoholes estructuralmente análogos (Rice y Coats, 1995). Jang *et al.* (2005) determinaron que al aplicar citronelal en fase vapor sobre *Blattella germanica*, la actividad fumigante es mayor ($LC_{50} = 0,28 \text{ mg/cm}^2$ de aire) comparado con lo obtenido por citronelol ($> 10 \text{ mg/cm}^2$), citral ($LC_{50} = 0,50 \text{ mg/cm}^2$ de aire) y geraniol ($> 10 \text{ mg/cm}^2$). La concentración de estos compuestos, significó un incremento en el porcentaje de repelencia ($60 \pm 28 \%$) comparado con el AE sin fraccionar ($40 \pm 16 \%$) evaluado a $0,2 \text{ uL/cm}^2$. Esta actividad incrementó a un tiempo de 4 h ($80 \pm 19 \%$) superando nuevamente lo obtenido con el AE sin fraccionar, F1 y F2 a la misma concentración. Estos resultados son acordes con lo obtenido en el análisis de la actividad repelente de patrones de terpenos (**Tabla 14**), en donde se obtuvieron altos porcentajes de repelencia para el citronelol y el geraniol. Un estudio realizado por Deletre, *et al.* (2015) logró determinar que los compuestos citronelol, citronelal y acetato de geraniol están relacionados con los efectos biológicos sobre el artrópodo *A. gambiae* durante la exposición de compuestos terpénicos a la antena. Este efecto puede relacionarse con una interacción directa del citronelol con OBP específicas del insecto. Según el estudio realizado por Brito *et al.* (2021), en la proteína *AaegOBP1* de *Aedes aegypti*, el citronelol puede formar puentes de hidrógeno con los residuos de aminoácidos Lys93 (donora) y Arg94 (aceptora) e interacciones hidrofóbicas con Leu73, Leu76, His77, Leu80, Ala88, Met91, Lys93, Arg94 y Trp114. Para el citronelal solo se detectaron interacciones hidrofóbicas con Leu73, Leu76, His77, Leu80, Ala88, Leu89, Met91 y Trp114. La presencia de grupos polares va a determinar en gran medida la interacción que puedan tener estos compuestos con los OBP de los insectos y su medida en la actividad repelente (Brito *et al.*, 2021).

El descriptor Log P referenciado para las sustancias patrón (**Tabla 14**) ha sido utilizado para indicar cuán lipofílica es una sustancia. Entre más alto sea este valor el compuesto tendrá una mayor capacidad para penetrar las membranas celulares (Dambolena *et al.*, 2016). Teniendo en cuenta lo anterior se podría afirmar que los compuestos limoneno, linalol y citronelal al tener menor valor Log P que el geraniol y el citronelol, tienen un menor carácter lipofílico, lo cual les permitiría interactuar con mayor facilidad con los OBP solubles presentes en la linfa sensiliar del insecto. Según la investigación de Jang *et al.* (2005), compuestos terpénicos con altos valores de Log P, debido a su alto carácter lipofílico tienen una mayor afinidad por la cutícula del insecto, lo que retarda su paso hacia las moléculas *target* del sistema olfativo. El citronelol y el geraniol podrían tener este comportamiento. Estos resultados pueden relacionarse con la mayor actividad repelente obtenida para la F1 del AE de *C. winterianus* comparado con lo obtenido con la misma fracción, pero en *C. martinii* y *L. origanoides* en la cual se obtuvo actividad repelente negativa al utilizar la concentración más baja.

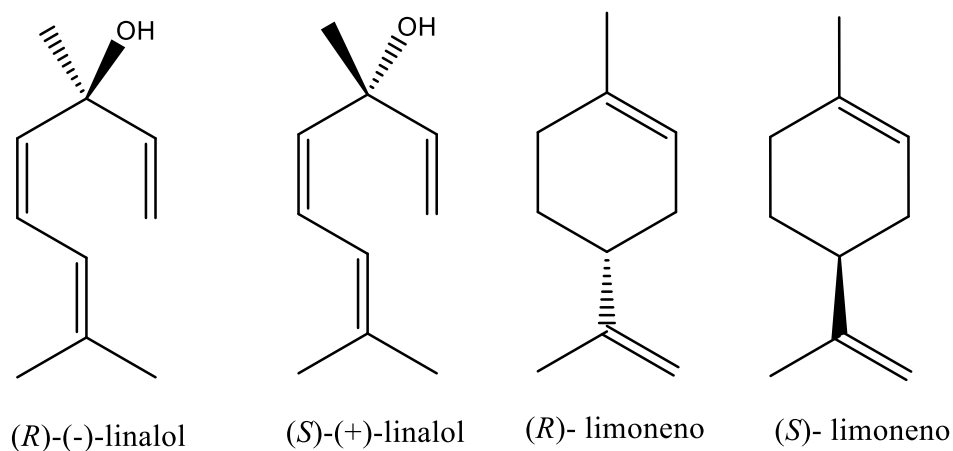
La presencia de compuestos en sus formas enantiómericas en el AE de *C. winterianus* podría estar relacionada con la mayor actividad repelente de este AE y la F1 en bajas concentraciones en comparación con el AE de *C. martinii* y *L. origanoides*. En las **Figuras 47 y 48** se muestran las formas quirales del linalol, limoneno, citronelal y citronelol. Aunque no se han reportado estudios sobre la actividad repelente de enantiómeros sobre *L. serricorne*, la investigación realizada por A Fouad *et al.* (2021) mostró que la formas enantiómericas (*R*)-(+)-citronelal, (*S*)-(-)-limoneno y (*S*)-(-)-linalol produjeron los mayores porcentajes de repelencia sobre *Sitophilus oryzae*, al utilizar la concentración más baja (0,06 $\mu\text{L}/\text{cm}^2$).

EFECTO REPELENTE DE ACEITES ESENCIALES Y FRACCIONES

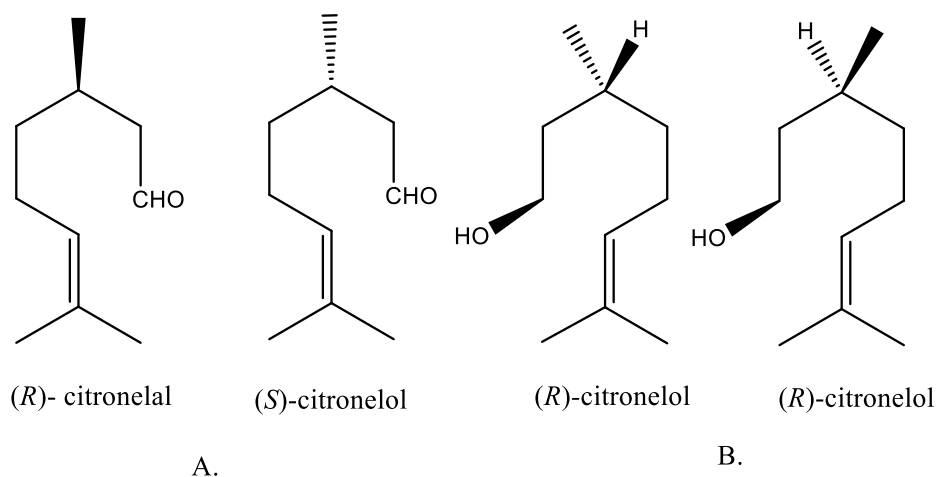
El uso de insecticidas sintéticos en sus formas enantiómericas permite que haya una mejoría en la bioactividad y que los diversos enantiómeros formados puedan actuar de forma diferente sobre las moléculas *target* en los insectos (Singh, 2008).

Figura 47

Formas enantiómericas de los compuestos A. linalol, B. limoneno.

**Figura 48**

Formas enantiómericas de los compuestos A. citronelal y B. citronelol.



El mecanismo de acción de los monoterpénoides sobre los insectos aún no está

EFECTO REPELENTE DE ACEITES ESENCIALES Y FRACCIONES

definido. Sin embargo, se conoce que esta clase de compuestos tiene la capacidad de alterar los niveles de acetilcolinesterasa, produciendo hiperactividad, convulsiones y parálisis (Grundy y Still, 1995) y también alterando el sistema octopaminérgico, el cual actúa como neuromodulador en el sistema de los invertebrados (Ryan y Byrne, 1988; Kostyukovsky *et al.*, 2002).

5.3.2 Actividad repelente del AE de *C. martinii* y sus fracciones

Los resultados obtenidos con el AE de *C. martinii* superan el valor reportado por Devi *et al.* (2020) en el estudio del AE de la misma especie y su actividad repelente sobre *T. castaneum*, el cual tuvo un porcentaje de repelencia del $80 \pm 3,7$ % a una dosis de $0,354 \mu\text{L}/\text{cm}^2$ después de 6 h de exposición. Una comparación entre la composición química de estos dos estudios, muestra que en esta investigación se obtuvo una mayor cantidad relativa de geraniol (78,3%) que lo obtenido por Devi *et al.* (2020) (61,4%). Los porcentajes de repelencia obtenidos fueron mayores que el reportado para los AE de otras especies pertenecientes a la familia de las poaceas como *Cymbopogon flexuosus* ($60 \pm 4,4$) y *C. winterianus* ($58 \pm 2,3$) y que poseen cantidades relativas de geraniol de 6,94% y 7,79 % respectivamente. Otro estudio sobre *L. serricornis*, mostró cómo el porcentaje de repelencia del AE de *Citrus aurantium* fue menor que el valor obtenido en esta investigación, con un valor de 66% a una concentración de $0,4 \mu\text{L}/\text{cm}^2$ (Kabiri *et al.*, 2016).

En el análisis de las fracciones, la F1 en la cual se cuantificó la mayor cantidad de linalol (430 ± 11 mg /g de muestra), se obtuvo el mayor porcentaje de repelencia (40 ± 20 %) a una concentración de $0,2 \mu\text{L}/\text{cm}^2$ a un tiempo de exposición de 2 h. Este resultado fue mayor que el porcentaje de repelencia de la F2 (20 ± 7), en la cual la cantidad de linalol disminuyó

EFECTO REPELENTE DE ACEITES ESENCIALES Y FRACCIONES

hasta 30 ± 11 mg/g de muestra. De esta forma se podría determinar que una mayor cantidad de linalol puede estar relacionada con un mayor efecto repelente sobre *L. serricorne*. Estos resultados están acordes con los obtenidos en otras investigaciones sobre *Musca domestica*, *Blatella germánica* y *Sitophilus oryzae*, en las que el efecto fumigante del monoterpeneo linalol fue mayor que el de geraniol, el cual requirió una mayor concentración para causar dicho efecto (Rice y Coats, 1994; Jang *et al.*, 2005; Abdelgaleil y Mohamed, 2009). Sin embargo, al analizar la actividad repelente de la F1 a una mayor concentración ($0,4 \mu\text{L}/\text{cm}^2$), el valor obtenido fue menor que el mostrado en la F2 en la cual la cantidad de geraniol (790 ± 2 mg/g de muestra) fue mayor comparada con F1. Este resultado muestra cómo a medida que incrementa la cantidad de geraniol en las fracciones, el porcentaje de repelencia incrementa. La F3, en la cual se cuantificó la mayor cantidad de geraniol (830 ± 32 mg /g de muestra), obtuvo un porcentaje de repelencia mayor (80 ± 15 %) comparado con las fracciones F1, F2, FF y el AE sin fraccionar en la concentración más baja aplicada ($0,02 \mu\text{L}/\text{cm}^2$). Al comparar la actividad repelente de la F3 con la fracción de fondo se observó que al incrementar la concentración hasta $0,4 \mu\text{L}/\text{cm}^2$, el porcentaje de repelencia de la FF fue menor (40 ± 19) que el de la F3. Este resultado está relacionado con la ausencia del compuesto linalol en la FF y una disminución de la concentración de geraniol.

Según los resultados obtenidos para los patrones terpénicos (**Tabla 14**), se obtuvieron los porcentajes de repelencia más altos con el geraniol en la concentración más baja aplicada comparado con lo obtenido con el linalol con el cual se obtuvieron porcentajes de repelencia negativos. A partir de este resultado se puede verificar que una mayor concentración de geraniol en el AE y en las fracciones, está relacionado con un incremento en la actividad repelente. La presencia de geraniol y linalol en una fracción produce un efecto sinérgico y un

mayor porcentaje de repelencia.

5.3.3 Actividad repelente del AE de *L. origanoides* y sus fracciones.

En el análisis de la actividad repelente del AE de *L. origanoides*, el mayor porcentaje de repelencia (30 ± 13 %) se obtuvo solo para la concentración de $0,2 \mu\text{L}/\text{cm}^2$ en un tiempo de exposición de 4 h. Aunque no están reportados estudios de la actividad repelente de este AE sobre la especie *L. serricorne*, la investigación de Liciardelo *et al.* (2013) sobre el artrópodo *T. castaneum* mostró porcentajes de repelencia del AE mayores (< 10 %) de lo que se obtuvo en esta investigación, y medido a un tiempo de 2 h y $0,2 \mu\text{L}/\text{cm}^2$. Los componentes mayoritarios en ese estudio fueron timol, óxido de cariofileno, τ -cadinol y carvacrol. Sin embargo, los porcentajes de repelencia de las fracciones F1 y FF donde hay un enriquecimiento de algunos compuestos terpénicos como β -mirceno, timol y carvacrol, estuvieron por encima de lo que reportaron Liciardelo *et al.* (2013) a concentraciones de $0,02 \mu\text{L}/\text{cm}^2$ y $0,2 \mu\text{L}/\text{cm}^2$.

Dentro de las fracciones, la F1 enriquecida con los compuestos β -mirceno (275 mg/g de muestra) y *p*-cimeno (476 mg/g de muestra), tuvo un porcentaje de repelencia mayor comparado con el del AE sin fraccionar en la concentración de $0,2 \mu\text{L}/\text{cm}^2$ en un tiempo de 2 h y 4 h. En las concentraciones de $0,02 \mu\text{L}/\text{cm}^2$ y $0,4 \mu\text{L}/\text{cm}^2$, se obtuvieron porcentajes de repelencia negativos, los cuales se atribuyen a efectos atractivos de los compuestos identificados sobre *L. serricorne*. En el análisis de la F2, donde se cuantificó la mayor cantidad de *p*-cimeno (930 mg/g de muestra), se obtuvieron porcentajes de repelencia negativos en todas las concentraciones aplicadas a un tiempo de exposición de 2 h y 4 h. Estos resultados fueron comparables con lo obtenido por Oliveria *et al.* (2018), quienes

EFECTO REPELENTE DE ACEITES ESENCIALES Y FRACCIONES

estudiaron el efecto repelente de *Lippia sidoides* y los terpenos fenólicos timol y carvacrol sobre dos poblaciones de *Sitophilus zeamais* provenientes de dos regiones de Brasil (Jacarezinho y Rio Branco). En los resultados, reportaron que el tiempo de residencia de *S. zeamais*, fue mayor en el área de papel filtro tratada con *p*-cimeno comparado con las áreas tratadas con el AE de *L. sidoides* y el compuesto timol, demostrando de esta forma un efecto atrayente por parte del hidrocarburo monoterpénico *p*-cimeno frente a un efecto repelente de los compuestos identificados en el AE y el monoterpeneo oxigenado.

Al comparar el porcentaje de repelencia entre las fracciones F1 y F2, se observó que en la F1 donde se cuantificó la mayor cantidad de β -mirceno comparado con F2 ($218 \pm 2,3$ mg/g de muestra), se obtuvo un mayor porcentaje de repelencia. Este resultado es acorde con lo obtenido por Caballero *et al.* (2011), quienes al medir la actividad repelente de algunos hidrocarburos monoterpénicos sobre *T. castaneum*, el compuesto β -mirceno tuvo un mayor porcentaje de repelencia que el compuesto *p*-cimeno en todas las concentraciones aplicadas. Un estudio de la actividad larvicida sobre *Culex quinquefasciatus*, ha demostrado la existencia de un efecto sinérgico entre la mezcla binaria entre β -mirceno y *p*-cimeno (Pavela, 2015). Se puede inferir que una menor concentración del β -mirceno en F2 está relacionado directamente con una disminución en su efecto sinérgico, resultado que se refleja en una menor actividad repelente de esta fracción comparado con la F1. Aunque las propiedades biofísicas y biológicas de un AE se pueden relacionar con la presencia de los compuestos mayoritarios (Ipek *et al.*, 2005), el efecto dependerá de la concentración de esos compuestos. La identificación de compuestos minoritarios en el AE o en las fracciones podrían ser responsables de modular la actividad biológica de los compuestos mayoritarios (Franzios *et al.*, 1997; Santana-Rios *et al.*, 2001; Hoet *et al.*, 2006).

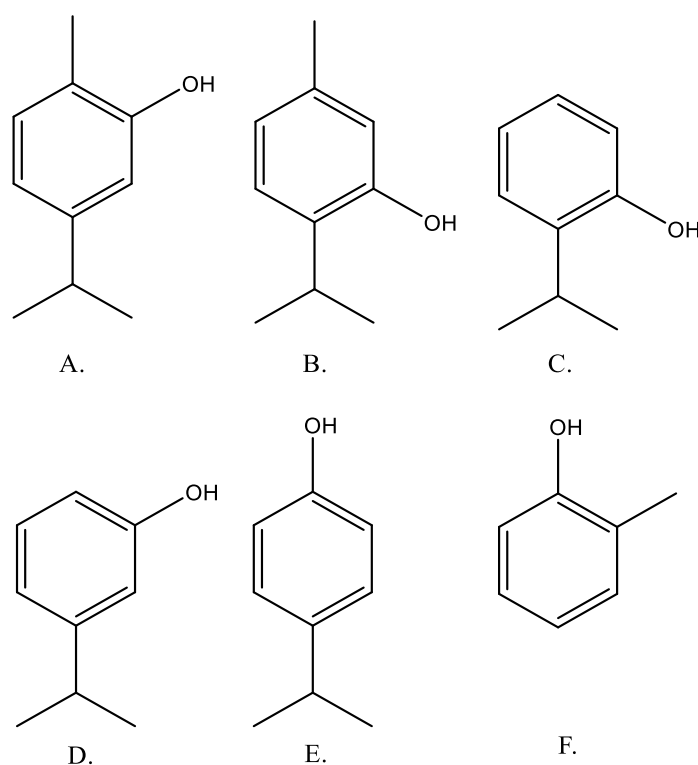
Para la FF, en la cual se cuantificó la mayor cantidad de timol (481 mg/g de muestra) y carvacrol (258 mg/g de muestra), se obtuvieron en la concentración más baja los porcentajes de repelencia más altos comparados con lo obtenido en el AE sin fraccionar y las fracciones F1 y F2. Esta mayor actividad repelente puede estar asociada con la alta concentración del terpeno fenólico, timol, compuesto estudiado en la investigación de Jang *et al.* (2000), quienes determinaron una mayor actividad fumigante de este compuesto al evaluarse sobre una población establecida de *Blattella germanica*. Los resultados mostraron valores de LC₅₀ menores (18,76 mg/L de aire) comparado con carvacrol (285,83 mg/L de aire) e hidrocarburos monoterpénicos como limoneno (341.08 mg/L de aire), β -mirceno (310.49 mg/L de aire), α -pineno (218.17 mg/L de aire), γ -terpineno (206.86 mg/L de aire). Se ha demostrado que los compuestos timol y carvacrol poseen una alta actividad inhibitoria frente a la enzima acetilcolinesterasa, la cual cumple un papel fundamental en el sistema nervioso de los insectos al catalizar la hidrólisis del neurotransmisor acetilcolina (Fournier *et al.*, 1992; Rodríguez *et al.*, 2022). Otros reportes muestran cómo el mecanismo de acción del timol va dirigido hacia el bloqueo del transporte de iones sodio y potasio a través de los canales celulares (Escobar *et al.*, 2020). La actividad repelente se ve favorecida gracias a la presencia de los grupos hidroxilo en los terpenos fenólicos. Este hecho se puede evidenciar en que la ausencia del grupo hidroxilo en el *p*-cimeno incidió directamente en obtener una baja actividad repelente. Según Rodríguez *et al.* (2022), sitios específicos de la enzima acetilcolinesterasa, con características hidrofílicas, pueden activarse en presencia de estos grupos. Cabe resaltar que esta activación en la enzima puede favorecerse de igual forma gracias a la presencia de grupos alquilo. Esta premisa se observa en el estudio sobre estructura-actividad biológica que mostró que la presencia del grupo metilo en el timol está

EFECTO REPELENTE DE ACEITES ESENCIALES Y FRACCIONES

directamente relacionada con la actividad insecticida sobre adultos y ninfas de *Pochazia shantunjensi* (Ricaniidae: hemiptera), al obtener una baja actividad insecticida con los compuestos 2-isopropil fenol, 3-isopropilfenol y 4-isopropilfenol (**Figura 49**) (Park *et al.*, 2017).

Figura 49

Estructura molecular de compuestos estructuralmente análogos: A. Carvacrol; B. Timol; C. 2-isopropilfenol; D. 3-isopropilfenol; E. 4-isopropilfenol; F. o-cresol.



Al medir de forma individual la actividad repelente de los compuestos timol y carvacrol se obtuvo un mayor porcentaje de repelencia para el primer compuesto en la concentración más baja aplicada ($0,02\mu\text{L}/\text{cm}^2$). Sin embargo, a una mayor concentración, solo el carvacrol mostró un porcentaje de repelencia positivo. A partir de los resultados obtenidos no se puede dar una aproximación de cual sería el compuesto que más contribuye

EFECTO REPELENTE DE ACEITES ESENCIALES Y FRACCIONES

con el efecto repelente sobre *L. serricorne*. Diversos estudios han intentado demostrar si la concentración de estos dos compuestos está relacionada directamente con alguna propiedad biológica. El estudio reportado por Youssefi *et al.* (2019) muestra que la actividad ovicida y larvicida (3rd estadio) hacia el mosquito *Culex pipiens* es efectiva en una relación 1:4 (timol:carvacrol) y un incremento de la concentración de timol, disminuye el sinergismo de la mezcla.

Aunque no existen reportes sobre cuáles son los sitios con los que interactúan estas moléculas y los OBP de *L. serricorne*, el estudio de Gopal y Kannabiran (2013) permitió determinar que el carvacrol puede interactuar por medio de puentes de hidrógeno con el aminoácido Ile52 en la PBP 1QWA, proteína perteneciente a *Antheraea polyphemus*. Esta misma fuerza intermolecular se ha determinado con la proteína OBP 1QWV presente en *Apis mellifera*, específicamente el aminoácido Ser123. El mecanismo de acción por el que proceden estas moléculas y generan el proceso de repelencia aún no se ha determinado.

Cabe resaltar que los resultados obtenidos para la fracción de fondo no superaron el porcentaje obtenido con la F1 a una concentración de 0,2 $\mu\text{L}/\text{cm}^2$. El compuesto β -mirceno identificado en esta fracción, al tener una menor masa molar (136,23 g/mol) que el timol (150,22 g/mol) y el carvacrol (150,217 g/mol) puede volatilizarse más rápido en el medio ambiente generando así una interacción más rápida con el insecto (Oliveria *et al.*, 2018).

Con respecto al repelente comercial, fue necesario aplicar una concentración de 0,8 $\mu\text{L}/\text{cm}^2$ para observar un porcentaje de repelencia positivo sobre *L. serricorne*. Los compuestos mayoritarios terpénicos identificados en esta matriz como acetato de linalilo, α -

EFECTO REPELENTE DE ACEITES ESENCIALES Y FRACCIONES

cedreno y el acetato de α -terpinilo (**Véase Apéndice J y Apéndice K**). Se ha reportado que el acetato de linalilo presenta una menor actividad fumigante frente a otros compuestos terpénicos como timol y citronelal (Jang, *et al.*, 2005).

Frente a estos ensayos de repelencia se debe tener en cuenta la capacidad que tenga el insecto para metabolizar los compuestos terpénicos analizados, influirá en el efecto que esta sustancia tenga sobre el organismo. Estos procesos conocidos como de detoxificación permiten que el insecto sea más resistente a los compuestos utilizados para su control. Dentro de estos procesos se ven inmersos diferentes tipos de enzimas como esterasas, monooxigenasas y la enzima glutatión S-transferasa (Boyer *et al.*, 2012). Estos factores deben ser considerados a la hora de analizar la respuesta de *L. serricorne* hacia los AE y fracciones en donde se obtuvieron porcentajes de repelencia.

5.4. Estudio de la estabilidad de los AE de *C. winterianus*, *C. martinii* y *L. origanoides* y sus encapsulados.

La técnica de HS-SPME-GC/FID permitió realizar un seguimiento a los compuestos presentes en la fracción volátil de los AE de *C. martinii*, *C. winterianus*, *L. origanoides* y sus encapsulados. Debido a las características medianamente polares de la fibra PDMS/DVB, los compuestos timol y carvacrol (compuestos polares) en el AE de *L. origanoides* libre y encapsulado, fueron extraídos en menor proporción en comparación con los monoterpenos *p*-cimeno y γ -terpineno, compuestos de baja polaridad. Estos resultados se asemejan a lo obtenido por Lugo *et al.* (2021) quienes determinaron que la extracción de timol y carvacrol en el AE de *Thymus vulgaris* y su encapsulado, al emplear la fibra PDMS (recubrimiento

EFECTO REPELENTE DE ACEITES ESENCIALES Y FRACCIONES

apolar), fue baja comparada con la fibra de PA (poliacrilato, recubrimiento cristalino con mayor polaridad). El estudio de Baranauskiene *et al.* (2003) mostró que el timol y el carvacrol son mejor extraídos con fibras de mayor polaridad.

La disminución en la cantidad (A_i/A_{istd}) de compuestos en los AE de las tres especies con respecto a sus encapsulados en el primer día de seguimiento (Día 0) puede estar relacionada con pérdidas de los compuestos volátiles durante el proceso de encapsulación (Baranasukiene *et al.*, 2003).

5.4.1. AE de *C. martinii*, *C. winterianus* y sus encapsulados.

En general, hidrocarburos sesquiterpénicos de alto peso molecular como (*E*)- β -cariofileno (MW: 204; Bp: 262 °C) y óxido de cariofileno (MW: 220; Bp: 279,8 °C), fueron detectados en el AE libre y encapsulado de *C. martinii* y *C. winterianus* hasta el día 90 de almacenamiento. Se ha determinado que compuestos con alto peso molecular tienen un menor grado de difusión sobre la matriz que los contiene y son más retenidos en el material encapsulante (Gupta *et al.*, 2016). Este resultado se observó en el estudio realizado por Voilley (1995), en el cual se encapsuló una mezcla de 16 compuestos (con el fin de simular el aroma de fresa) en glucosa, maltosa y sólidos provenientes del jábabe de maíz en donde el compuesto con mayor peso molecular, butirato de isoamilo (MW 158), obtuvo una mayor tasa de retención en el encapsulado comparado con el butirato de etilo (MW: 116) y el propionato de etilo (MW: 102).

Otro de los factores que influyen en la tasa de retención de una sustancia en un encapsulado es su grado de volatilización, que hace referencia a la capacidad que tiene ese

EFECTO REPELENTE DE ACEITES ESENCIALES Y FRACCIONES

compuesto para pasar al estado gaseoso desde una fase líquida o sólida (Jafari, Assadpoor, He, *et al.*, 2008). El grado de volatilización puede ser medido a través de la presión de vapor de un compuesto (punto de ebullición) y se relaciona con la retención de forma inversamente proporcional. Jogersen *et al.* (2012) determinaron que sustancias con alto peso molecular y alto punto de ebullición como el citral (MW: 152,26; Bp: 220-229°C) tuvieron un menor grado de volatilización que los compuestos con menor punto de ebullición, octanol (MW: 130,26, Bp: 196 °C) y ácido butírico (MW: 88,1; Bp: 162 °C). De esta manera, se puede inferir que los compuestos con mayor peso molecular (mayor punto de ebullición) permanecerán por más tiempo en el encapsulado. Este resultado se observó en el seguimiento de los sesquiterpenos oxigenados elemol (MW: 222,37; Bp: 387,7 °C) y germacren D-4-ol (MW: 222,37; Bp: 307-308 °C) compuestos identificados en el AE de *C. winterianus*, cuyas mayores cantidades relativas se detectaron hasta el día 90 de almacenamiento. Aunque estos compuestos tienen pesos moleculares similares al del óxido de cariofileno, la presencia del grupo –OH produce un incremento en su punto de ebullición, lo que resulta en un grado de volatilización menor comparado con otras sustancias.

Monoterpenos oxigenados con cantidades similares (día 0) al hidrocarburo sesquiterpénico óxido de cariofileno, pero con puntos de ebullición menores como nerol (MW: 154,25; Bp: 224-225 °C), neral (MW: 152,24; Bp: 225 °C), geraniol (MW: 154,25; Bp: 230 °C), geranial (MW: 152,24; Bp: 225 °C) y formiato de geranilo (MW: 182,26; Bp: 216 °C) también fueron detectados hasta el final del proceso. Estos resultados muestran que no solo el punto de ebullición afecta la volatilización de los compuestos sino también la presencia de posibles interacciones con el material encapsulante (Re, 1998). La presencia de grupos donadores de carga como el oxígeno tanto en los MO como en el PEG, pueden generar

EFECTO REPELENTE DE ACEITES ESENCIALES Y FRACCIONES

fuerzas intermoleculares como los puentes de hidrógeno que les permitan tener una mayor residencia en la matriz polimérica. En el AE libre y encapsulado de *C. winterianus* también se evidenció este resultado con los compuestos citronelal, citronelol, neral, geranial, acetato de citronelilo, acetato de geranilo y eugenol con puntos de ebullición menores que los sesquiterpenos mencionados y los cuales se detectaron en la matriz polimérica hasta el día 90 de encapsulamiento. Este tipo de interacción ha sido estudiada por Le Than *et al.* (1992) quienes determinaron que los compuestos 2-propanol, *n*-hexanol y benzaldehído son fuertemente adsorbidos en los sustratos glucosa, maltodextrina, almidón y β -ciclodextrina debido a la formación de puentes de hidrógeno. El acetato de etilo no presentó este tipo de interacción con este sustrato, pero observaron que existe una alta adsorción de este compuesto y la acetona al emplear el sustrato caseína. Esto se debe a la presencia de interacciones de tipo hidrofóbico con el material adsorbente.

El seguimiento del compuesto mayoritario geraniol en el AE encapsulado de *C. martinii*, a lo largo del tiempo, mostró que la cantidad ($A_i/A_{i\text{std}}$) se mantuvo constante hasta el día 60 (**Tabla 22**). Al comparar la cantidad de geraniol entre el AE libre y encapsulado, se evidenció una disminución de la cantidad de geraniol en el AE libre para el día 30 (**Tabla 21**) con respecto a la cantidad de este compuesto en el AE encapsulado. Esta mayor retención del compuesto puede estar mediada por la formación de puentes de hidrógeno entre los átomos de oxígeno e hidrógeno presentes tanto en el geraniol como en el PEG, permitiendo de esta forma que haya una liberación controlada en el tiempo.

La presencia de grupos funcionales específicos también determina el grado de retención de un compuesto en una matriz encapsulante. Al realizar una comparación entre

EFECTO REPELENTE DE ACEITES ESENCIALES Y FRACCIONES

el AE libre y encapsulado de *C. winterianus*, se observó que el compuesto citronelal se volatilizó rápidamente entre los días 0 y 7 comparado con otros monoterpenos oxigenados como el citronelol o el geraniol (**Tabla 19 y 20**). Sin embargo, este proceso fue más marcado en el encapsulado. Por medio de diversos estudios (Flink and Karel, 1970; Bangs y Reineccius, 1981; Le Than *et al.*, 1992; Voilley, 1995; Anantha and Milford, 1997) se ha determinado que la capacidad de retención de diversos grupos funcionales decrece de la siguiente forma: alcoholes > cetonas \geq ésteres > aldehídos > ácidos. La presencia del grupo aldehído en el citronelal hace que tenga una menor retención en el encapsulado que aquellos compuestos que tienen el grupo alcohol dentro de sus estructuras (citronelol y geraniol). El alcohol terpénico citronelol fue mayormente retenido en el encapsulante hasta el día 15 y para el caso del geraniol la cantidad se mantuvo constante hasta el día 60 de almacenamiento.

En el AE libre y encapsulado de *C. martinii* y *C. winterianus* los hidrocarburos monoterpénicos con puntos de ebullición menores como 6-metil-hept-5-en-2-ona (173 °C), (*E*)- β -ocimeno (174-175 °C), limoneno (176 °C), (*Z*)- β -ocimeno (177 °C), se volatilizaron con mayor facilidad tanto en el AE libre como en la matriz polimérica.

Según el estudio de Werdyn *et al.* (2014), el polímero PEG ejerce un proceso de estabilización del AE en la matriz polimérica, permitiendo una reducción de la volatilización de los compuestos. Otros estudios han mostrado que la adición de un AE a un polímero como el PEG y su rápido enfriamiento a bajas temperaturas, permite la conformación de estructuras amorfas, no cristalinas, que le confieren mayor estabilidad al complejo polimérico (Yang *et al.*, 2009). Finalmente, el análisis por HS-SPME-GC/FID del polímero PEG mostró que no

EFECTO REPELENTE DE ACEITES ESENCIALES Y FRACCIONES

hay productos de descomposición que puedan producir cambios en el AE durante el tiempo de almacenamiento (**Apéndice L**).

5.4.2. AE de *L. origanoides* y su encapsulado.

El análisis del AE libre y encapsulado mostró que los hidrocarburos sesquiterpénicos con mayor peso molecular en la mezcla, fueron retenidos hasta el día 90 de almacenamiento. Aunque se observó un mayor grado de volatilización de esta familia de compuestos en el encapsulado, el compuesto selin-3,7(11) dieno (MW: 204,35; Bp: 269-270 °C) fue detectado en mayor proporción con respecto al AE libre. Compuestos con menor peso molecular como el timol (MW: 150,22 Bp: 232 °C), el carvacrol (MW: 150,22; Bp: 236,8 °C) y el acetato de timilo (MW: 192,5; Bp: 245 °C) fueron retenidos tanto en el AE libre como en el encapsulado hasta el día 90 y su cantidad se mantuvo constante durante el proceso. En este resultado nuevamente se puede observar que la presencia de grupos oxigenados en las moléculas permite que haya interacciones intermoleculares como los puentes de hidrógeno, lo que resulta en una menor volatilización de esos compuestos. La mayor parte de los hidrocarburos monoterpénicos, por sus bajos puntos de ebullición tuvieron una menor retención en la matriz polimérica y en el AE libre. Sin embargo, el hidrato de (*Z*)-sabineno se logró detectar hasta después del día 7 tanto en el AE libre como en el encapsulado. Otros hidrocarburos monoterpénicos mayormente retenidos fueron *p*-cimeno (MW: 134,21, Bp: 177 °C), γ -terpineno (MW: 136,23, Bp: 183 °C) y α -terpineno (MW: 136,23, Bp: 173 °C) los cuales tienen en común presentar en su estructura química un anillo de seis átomos de carbono. El compuesto hidrato de (*Z*)-sabineno, aunque con menor punto de ebullición que los terpenos anteriores, tuvo una mayor retención en comparación con terpenos como limoneno.

6. Conclusiones

1. En esta investigación se reporta por primera vez en Colombia el estudio de la actividad repelente sobre *Lasioderma serricorne* de las fracciones obtenidas de los AE de *C. winterianus*, *C. martinii* y *L. origanoides* por la técnica de microdestilación fraccionada a presión reducida. Los resultados obtenidos permitieron determinar cómo afecta la composición química del aceite esencial en los procesos de repelencia en insectos que producen daños en alimentos. Los monoterpenos oxigenados y terpenos fenólicos identificados en los aceites esenciales tienen interacciones específicas con los OBP a través de interacciones intermoleculares con los aminoácidos que las conforman, lo cual les permite ser transportadas y solubilizadas de una mejor forma en la linfa sensiliar y posteriormente interactuar con los OR para generar el proceso que definirá si el insecto tiene una respuesta de atracción o de repelencia hacía el compuesto evaluado.
2. Por medio de la técnica de cromatografía de gases acoplada a un espectrómetro de masas (GC/MS) se identificaron 31 compuestos en el AE de *C. martinii* tanto de forma tentativa como confirmatoria. Dentro de los compuestos mayoritarios se encuentran el geraniol (780 ± 11 mg compuesto/g muestra), el acetato de geraniol (120 ± 1 mg compuesto/g de muestra) y el linalol (21 ± 3 mg compuesto/g de muestra). En el AE de *C. winterianus* se identificaron 34 compuestos siendo el geraniol (287 ± 2 mg compuesto/g de muestra), el citronelol (200 ± 1 mg compuesto/g de muestra) y el citronelal (142 ± 1 mg compuesto/g de muestra) los componentes mayoritarios. Para

EFECTO REPELENTE DE ACEITES ESENCIALES Y FRACCIONES

el AE de *L. origanoides* se identificaron 59 compuestos cuyos compuestos mayoritarios fueron timol ($362 \pm 7,5$ mg compuesto/g de muestra), carvacrol ($212 \pm 2,9$ mg compuesto/g de muestra). La familia de los monoterpenos oxigenados constituyó la de mayor abundancia tanto en el AE de *C. martinii* como en el AE de *C. winterianus* mientras que para el AE de *L. origanoides* los terpenos fenólicos constituyeron la familia de mayor abundancia.

3. El proceso de microdestilación a presión reducida permitió hacer una separación de los compuestos más volátiles identificados en los AE de *Cymbopogon martinii*, *C. winterianus* y *L. origanoides* y los compuestos menos volátiles en diferentes fracciones. De forma general, los monoterpenos oxigenados linalol y citronelal fueron concentrados en las fracciones más livianas del AE de *C. winterianus*; los hidrocarburos monoterpénicos β -mirceno, *p*-cimeno y γ -terpineno en el AE de *L. origanoides* y el geraniol, limoneno y linalol en el AE de *C. martinii*. Las fracciones de fondo se enriquecieron con los compuestos de mayor punto de ebullición: monoterpenos oxigenados como citronelol, geraniol, acetato de geranilo, hidrocarburos sesquiterpénicos como (*E*)- β -cariofileno, óxido de cariofileno y humuleno y sesquiterpenos oxigenados como germacren D-4-ol y elemol.
4. El compuesto geraniol identificado en el AE de *C. martinii* no pudo ser separado en una fracción individual como si se obtuvo con los otros AE. Este resultado se debe específicamente a que la región donde coexiste este compuesto con el linalol en el equilibrio líquido-vapor es lo suficiente pequeña para que se pueda llevar a cabo un proceso de separación de las dos fases.

5. El estudio de la actividad repelente sobre *Lasioderma serricorne* permitió determinar que la F2, en donde se cuantificó la mayor cantidad de citronelal (1052 ± 61 mg compuestos/g de muestra), obtuvo el mayor porcentaje de repelencia (90%) comparado con el aceite esencial sin fraccionar y las fracciones F1 y FF. Este resultado demuestra que la presencia de compuestos tipo aldehído puede generar un mayor efecto de repelencia sobre insectos asociados con daños en productos alimenticios.
6. La presencia de los monoterpenos oxigenados linalol, citronelal, geraniol y citronelol, esta relacionada con una mayor actividad repelente sobre el insecto *L. serricorne*. Esto se evidenció al evaluar la actividad repelente sobre el insecto a la concentración de $0,02 \mu\text{L}/\text{cm}^2$, donde solo el AE de *C. winterianus* y la F1 del mismo aceite mostraron porcentajes de repelencia positivos. La identificación de compuestos bioactivos en los aceites esenciales puede permitir el desarrollo de productos con efectos repelentes que puedan ser utilizados en el almacenamiento de granos y productos procesados para asegurar su conservación.
7. El monoterpeno oxigenado geraniol esta relacionado directamente con los altos valores de repelencia obtenidos en el AE de *C. martinii*. Esto se evidenció al medir la actividad repelente de la F1 en donde la presencia de este compuesto aunque en menor proporción que las otras fracciones, permitió obtener porcentajes de repelencia positivos.

EFECTO REPELENTE DE ACEITES ESENCIALES Y FRACCIONES

8. Aunque no se obtuvieron porcentajes de repelencia altos con los terpenos fenólicos timol y carvacrol en comparación con otros compuestos, se evidenció que su presencia en el AE de *L. origanoides* está estrechamente relacionada con su actividad repelente. Este resultado se verificó con el porcentaje de repelencia obtenido en la FF con la concentración más baja aplicada.
9. Se determinó que los compuestos que tienen mayor valor de Log P, es decir un mayor carácter lipofílico, son los que requieren una mayor concentración en el AE y en la fracción para poder generar un porcentaje de repelencia positivo sobre *L. serricorne*.
10. La presencia de los monoterpenos oxigenados citronelal, linalol, geraniol y citronelol, los terpenos fenólicos timol y carvacrol y el hidrocarburo monoterpénico limoneno están relacionados estrechamente con los mayores porcentajes de repelencia obtenidos sobre *L. serricorne*.
11. La metodología de HS-SPME permitió realizar un seguimiento en el tiempo a los diferentes compuestos terpénicos tanto en los AE libres como en los encapsulados. Los compuestos de menor grado de volatilización (MW y punto e ebullición altos), se mantuvieron en la matriz polimérica hasta el día 90 de almacenamiento. Sin embargo, compuestos de mayor grado de volatilización (MW y punto de ebullición menor) como geraniol, citronelol, timol y carvacrol permanecieron en las matrices durante el mismo periodo de tiempo. Este comportamiento se relaciona con las fuerzas intermoleculares como los puentesde hidrógeno que se generan entre estos compuestos oxigenados y el material encapsulante PEG.

7. Recomendaciones

Se recomienda evaluar el efecto repelente de los encapsulados por medio de un montaje que incluya cinco cajas Petri conectadas a una caja Petri central por medio de tubos de vidrio. En las cajas de la periferia se adicionara de forma individual muestras encapsuladas, controles positivos y negativos. En la caja Petri central se adiciona una cantidad específica de insectos que según su preferencia por los compuestos odoríferos, atravesarán los diferentes canales hasta interactuar con la sustancia.

8. Financiamiento del proyecto de investigación

Ministerio de Ciencias, Tecnología e Innovación, Ministerio de Educación Nacional, Ministerio de Industria, Comercio y Turismo e ICETEX, Convocatoria Ecosistema Científico - Colombia Científica y el Fondo Francisco José de Caldas en el marco del programa "Bio-Reto XXI 15:50. Desarrollo de bioproductos para los sectores salud, agropecuario y cosmético, como resultados del estudio de la biodiversidad colombiana", dentro del proyecto titulado "Extracción, caracterización química de alta resolución de ingredientes naturales a partir de la biodiversidad colombiana, diseño de bioproductos funcionales y estudio de su estabilidad" contrato N° FP44842-21 2-20 I 8.

9. Divulgación de resultados

- Rosero, J., Martínez, J. y Stashenko, E. III Iberoamerican Conference on Mass Spectrometry. Characterization by GC/MS of *Cymbopogon martinii* (Poaceae)

EFECTO REPELENTE DE ACEITES ESENCIALES Y FRACCIONES

- essential oil and evaluation of its repellent activity against *Lasioderma serricorne*, Rio de Janeiro, Brasil, 10-15 de diciembre del 2022. Modalidad: póster.
- Monsalve, V., Henríquez, J., Rosero, J., Martínez, J. y Elena E. Stashenko. III Iberoamerican Conference on Mass Spectrometry. GC/MS study of *Steiractinia aspera* essential oils obtained from different crops in Santander (Colombia) by steam distillation, Rio de Janeiro, Brasil, 10-15 de diciembre del 2022. Modalidad: póster.
 - Rosero, J., Martínez, J. y Stashenko, E. Caracterización química por GC/MS del aceite esencial de *Cymbopogon winterianus* (Poaceae) y su actividad repelente contra *Lasioderma serricorne*. Semana de la Química. Bucaramanga, Santander, 26 y 27 de octubre del 2022. Modalidad: presentación oral.
 - Rosero, J., Martínez, J. y Stashenko, E. Analysis of volatile fraction of the *Cymbopogon winterianus* (Poaceae) encapsulated essential oil. 12th International Mass Spectrometry Conference on Petrochemistry, Environmental and Food Chemistry (Petromass 2022), Heraklion, Grecia, 16-23 de octubre del 2022. Modalidad: presentación oral.
 - Rosero, J., Martínez, J. y Stashenko, E. Congreso Latinoamericano de Química 2020, Cartagena-Colombia, 11-15 de octubre del 2021. Modalidad: presentación oral.
 - Rosero, J., Martínez, J. y Stashenko, E. Congreso Latinoamericano de Química 2020, Cartagena-Colombia, 11-15 de octubre del 2021. Modalidad: póster.
 - Rosero, J., Martínez, J. y Stashenko, E. 23rd International Symposium on Advanced

EFECTO REPELENTE DE ACEITES ESENCIALES Y FRACCIONES

in Extraction Technologies. Alicante- España, 30 de junio al 2 de julio del 2021.

Modalidad póster.

- Rosero, J., Martínez, J. y Stashenko, E. Evaluación del efecto repelente sobre *Tribolium castaneum* Herbst de aceites esenciales de *Cymbopogon martinii*, *C. nardus*, *Lippia origanoides* y sus fracciones. I Simposio de Química-UIS. Bucaramanga, Santander, 3 y 4 de diciembre del 2020. Modalidad: presentación oral.

Manuscrito en preparación

Rosero, J., Martínez, J. y Stashenko, E. Composición química del aceite esencial de *Cymbopogon winterianus*, microdestilación a presión reducida y evaluación del efecto repelente sobre *Lasioderma serricorne* (Ptinidae). Molecules

Referencias bibliográficas

- Agrafioti, P. y Athanassiou, C. G. (2018). Insecticidal effect of contact insecticides against stored product beetle populations with different susceptibility to phosphine. *Journal of Stored Products Research*, 79(2018), 9–15.
- A Fouad, H., de Souza, W., y C Zanuncio, J. (2021). Toxicity and repellent activity of monoterpene enantiomers to rice weevils (*Sitophilus oryzae*). *Pest Management Science*, 77(7), 3500–3507.
- Abreu, F., Oliveira, E., F., Paula, H. y de Paula, R. (2012). Chitosan/cashew gum nanogels for essential oil encapsulation. *Carbohydrate Polymers*, 89, 1277-1282.
- Abdelgaleil, S. y Mohamed, M. (2009). Fumigant and contact toxicities of monoterpenes to *Sitophilus oryzae* (L.) and *Tribolium castaneum* (Herbst) and their inhibitory effects on acetylcholinesterase activity. *Journal of Chemical Ecology*, 35(5), 518–525.
- Adams, P. (2004) Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectrometry. 4th edición, Allured Publishing Corporation, Carol Stream, Illinois.
- Ahmed El-Banbi, Ahmed El-Maraghi Ahmed Alzahabi (2018) PVT Property Correlations: selection and stimulation (1a edición). Elsevier Inc. Amsterdam, Países Bajos
- Andriamaharavo, N.R., Retention Data. NIST Mass Spectrometry Data Center., NIST Mass Spectrometry Data Center, 2014.
- Anantha, N. y Milford, A. (1997). Cyclodextrin complexed flavors retention in extruded starches. *Journal of Food Science*, 62, 1057-1060.
- Arruda, M., Viana, H., Rainha, N., Neng, N. R., Rosa, J. S., Nogueira, J. M. F. y Do Carmo Barreto, M. (2012). Anti-acetylcholinesterase and antioxidant activity of essential oils from *Hedychium gardnerianum* sheppard ex ker-gawl. *Molecules*, 17(3), 3082–3092.

EFECTO REPELENTE DE ACEITES ESENCIALES Y FRACCIONES

- Ashworth, J. (1993) The biology of *Lasioderma serricorne*. *Journal of Stored Product Research*, 29, 291-303.
- Atkins, P. y de Paula, J. (2008). *Fisicoquímica de Atkins (8 ed.)* Editorial Médica Panamericana, S.A. Buenos Aires, Argentina. Pág. 182-183
- Augustin, M. A. y Sanguansri, P. (2009). Nanostructured materials in the food industry. In: *Advances in Food and Nutrition Research*. Primera edición, 58(9). Elsevier Inc. Amsterdam, Países Bajos.
- Aygun, D., Doganay, Z., Altintop, L., Guven, H., Onar, M., Deniz, T. y Sunter, T. (2002). Serum acetylcholinesterase and prognosis of acute organophosphate poisoning. *Journal of Toxicology - Clinical Toxicology*, 40(7), 903–910.
- Babushok, V. I., Linstrom, P. J. y Zenkevich, I. G. (2011). Retention indices for frequently reported compounds of plant essential oils. *Journal of Physical and Chemistry Reference Data*, 40(4), 1-47.
- Baharum, S. N., Bunawan, H., Ghani, M. A., Wan Aida Wan Mustapha y Noor, N. M. (2010). Analysis of the chemical composition of the essential oil of *Polygonum minus* Huds, using two-dimensional gas chromatography-time-of-flight mass spectrometry (GC-TOF MS). *Molecules*, 15(10), 7006–7015.
- Bakkali, F., Averbeck, S., Averbeck, D. y Idaomar, M. (2008). Biological effects of essential oils - A review. *Food and Chemical Toxicology*, 46(2), 446–475.
- Bangs, W. E. y Reineccius G. A. (1990). Characterization of selected materials for lemon oil encapsulation by spray drying. *Journal of Food Science*, 55(5), 1356-1358.
- Barauskiene, R., Venskutonis, R.P. y Demyttenaere, J.C.R. (2003). Sensory and instrumental evaluation of catnip (*Nepeta cataria* L.) aroma. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(13), 3840-3848.

EFECTO REPELENTE DE ACEITES ESENCIALES Y FRACCIONES

- Baranauskiene, R., Venskutonis, P. R., Dewettinck, K. y Verhé, R. (2006). Properties of oregano (*Origanum vulgare* L.), citronella (*Cymbopogon nardus* G.) and marjoram (*Majorana hortensis* L.) flavors encapsulated into milk protein-based matrices. *Food Research International*, 39(4), 413–425.
- Barbieri, C., y Borsotto, P. (2018). Essential Oils: Market and Legislation. Potential of Essential Oils. ElShemy HA, editor. Londres, InTECH. 107-27 p
- Bernal, R., S.R. Gradstein y M. Celis (Eds.) (2019). Catálogo de plantas y líquenes de Colombia. Instituto de Ciencias Naturales, Universidad Nacional de Colombia.
- Bhalodia, N. K. y M. S. Chari (1976) Bionomics of cigarette beetle *Lasioderma serricorne* F. (Anobiidae: Coleoptera). *Gujarat Agricultural University Research Journal*, 2: 5–14.
- Bilia, A. R., Piazzini, V., Asprea, M., Risaliti, L., Vanti, G. y Bergonzi, M. C. (2018). Plants extracts loaded in nanocarriers: An emergent formulating approach. *Natural Product Communications*, 13(9), 1157–1160.
- Bin, A. (2006) Extraction of Gaharu Essential Oil Using Spinning Band Distillation. Malaysia. Tesis de grado (Ingeniería Química). University College of Engineering y Technology Malaysia. Faculty of Chemical y Natural Resources Engineering. 35 p
- Blackwell, A., Stuart, A.E. y Estambale, B.A. (2003). The repellent and antifeedant activity of oil of *Myrica gale* against *Aedes aegypti* mosquitoes and its enhancement by the addition of salicylic acid. *Proceedings of the Royal College of Physicians of Edinburgh*, 33, 209–214.
- Bloomquist, J. R., Boina, D. R., Chow, E., Carlier, P. R., Reina, M. y González-Coloma, A. (2008). Mode of action of the plant-derived silphinenes on insect and mammalian

EFECTO REPELENTE DE ACEITES ESENCIALES Y FRACCIONES

- GABAA receptor/chloride channel complex. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 91(1), 17–23.
- Boyer, S., Zhang, H. y Lempérière, G. (2012). A review of control methods and resistance mechanisms in stored-product insects. *Bulletin of Entomological Research*, 102(2), 213–229.
- Brito, G. A. De, Rocha, F. y Andrade, M. De (2021). Identification of bioactive compounds against *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) by bioassays and in silico assays. *Chemistry & Biodiversity*, 18(9), 1–13.
- Burt, S. (2004). Essential oils: Their antibacterial properties and potential applications in foods - A review. *International Journal of Food Microbiology*, 94(3), 223–253.
- Buzova, D., Huntosova, V., Kasak, P., Petrovajova, D., Joniova, J., Dzurova, L., Nadova, Z., Sureau, F., Miskovsky, P. y Jancura, D. (2012). Towards increased selectivity of drug delivery to cancer cells: development of a LDL-based nanodelivery system for hydrophobic photosensitizers. *Biosensing and Nanomedicine V*, 8460 (October), 84600U.
- Caballero, K., Olivero, J. y Stashenko, E. (2011). Repellent activity of essential oils and some of their individual constituents against *Tribolium castaneum* Herbst. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59(59), 1690–1696.
- Caballero, K., Olivero, J. y Stashenko, E. (2012). Repellency and toxicity of essential oils from *Cymbopogon martinii*, *Cymbopogon flexuosus* and *Lippia origanoides* cultivated in Colombia against *Tribolium castaneum*. *Journal of Stored Products Research*, 50, 62–65.
- Campolo, O., Cherif, A., Ricupero, M., Siscaro, G., Grissa-Lebdi, K., Russo, A., Cucci, L. M., Di Pietro, P., Satriano, C., Desneux, N., Biondi, A., Zappalà, L. y Palmeri, V.

- (2017). Citrus peel essential oil nanoformulations to control the tomato borer, *Tuta absoluta*: Chemical properties and biological activity. *Scientific Reports*, 7(1), 1–10.
- Can. H. y Buchbauer, G. (2016). Handbook of essential oils. SCIENCE, Technology and Applications (Segunda edición). Editorial CRC Press Taylor y Francis Group. Boca Ratón, Florida. p.1128
- Chalchat, J. C., Figueredo, G., Ozcan, M.M., Unver, A. (2010). Effect of hydrodistillation and microwave distillation extraction methods on chemical composition of essential oil of pickling herb and myrtle plants. *South Western Journal of Horticulture, Biology and Environment*, 1(2), 133-141.
- Chau, C. F., Wu, S. H. y Yen, G. C. (2007). The development of regulations for food nanotechnology. *Trends in Food Science and Technology*, 18(5), 269–280.
- Cheng, S. S., Chang, H. T., Chang, S. T., Tsai, K. H. y Chen, W. J. (2003). Bioactivity of selected plant essential oils against the yellow fever mosquito *Aedes aegypti* larvae. *Bioresource Technology*, 89(1), 99–102.
- Coats, R., Karr, L. y Drewes, C. (1991). Toxicity and neurotoxic effects of monoterpenoids in insects and earthworms. En: Hedin, P. (Ed.), *Naturally Occuring Pest Bioregulators* (pp. 305-316). American Chemical Society Symposium Series, Washington, EE.UU.
- Craig, D. (1993). A review of thermal methods used for the analysis of the crystal form, solution thermodynamics and glass transition behaviour of polyethylene glycols. *Thermochimica acta*, 248(1995), 189-203.
- Dambolena, J. S., Zunino, M. P., Herrera, J. M., Pizzolitto, R. P., Areco, V. A. y Zygadlo, J. A. (2016). Terpenes: natural products for controlling insects of importance to human

- health - a structure-activity relationship study. *Psyche: A Journal of Entomology*, 1-17.
- Deb, M. y Kumar, D. (2020). Bioactivity and efficacy of essential oils extracted from *Artemisia annua* against *Tribolium castaneum* (Herbst. 1797) (Coleoptera: Tenebrionidae): An eco-friendly approach. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 89,1-7.
- de Araújo, A. M. N., de Oliveira, J. V., França, S. M., Navarro, D. M. d. A. F., Barbosa, D. R. e. S. y Dutra, K. de A. (2019). Toxicity and repellency of essential oils in the management of *Sitophilus zeamais*. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental*, 23(5), 372–377.
- de Cássia da Silveira, R., Andrade, L.N., de Sousa, D.P. (2013). A review on anti-inflammatory activity of monoterpenes. *Molecules*, 18(1), 1227–1254.
- de Oliveira, J. L., Campos, E. V. R., Bakshi, M., Abhilash, P. C. y Fraceto, L. F. (2014). Application of nanotechnology for the encapsulation of botanical insecticides for sustainable agriculture: Prospects and promises. *Biotechnology Advances*, 32(8), 1550–1561.
- Deletre, E., Chandre, F., Williams, L. Duménil, C., Menut, C. y Martin, T. (2015). Electrophysiological and behavioral characterization of bioactive compounds of the *Thymus vulgaris*, *Cymbopogon winterianus*, *Cuminum cyminum* and *Cinnamomum zeylanicum* essential oils against *Anopheles gambiae* and prospects for their use as bednet treatments. *Parasites y Vectors*, 8(1), 1–14.
- De Souza Chagas, A. C., De Barros, L. D., Cotinguiba, F., Furlan, M., Giglioti, R., De Sena Oliveira, M. C. y Bizzo, H. R. (2012). In vitro efficacy of plant extracts and synthesized substances on *Rhipicephalus* (Boophilus) *Microplus* (Acari: Ixodidae).

- Parasitology Research*, 110(1), 295–303.
- Devi, M. A., Sahoo, D., Singh, T. B. y Rajashekar, Y. (2020). Toxicity, repellency and chemical composition of essential oils from *Cymbopogon* species against red flour beetle *Tribolium castaneum* Herbst (Coleoptera: Tenebrionidae). *Journal Fur Verbraucherschutz Und Lebensmittelsicherheit*, 15(2), 181–191.
- Devi, M. A., Nameirakpam, B., Devi, T. B., Mayanglambam, S., Singh, K. D., Sougrakpam, S., Shadia, S., Tongbram, M., Singh, S. D., Sahoo, D. y Rajashekar, Y. (2020). Chemical compositions and insecticidal efficacies of four aromatic essential oils on rice weevil *Sitophilus oryzae* L. *International Journal of Tropical Insect Science*, 40, 549-559.
- Devi, M. A., Sahoo, D., Singh, T. B. y Rajashekar, Y. (2021). Antifungal activity and volatile organic compounds analysis of essential oils from *Cymbopogon* species using solid-phase microextraction-gas chromatography-mass spectrometry. *Journal of Agricultural Research*, 3(6), 1-29.
- Dewick, P.M. (2002). *Medicinal Natural Products: A Biosynthetic approach*. 2a Ed. Chichester: John Wiley y Sons Ltd., Chichester, Reino Unido, 1-514.
- Diaz, L. y Rincón, R. (2015) Estandarización de la composición del aceite esencial de *Lippia origanoides*, a partir de destilación fraccionada a presión reducida. Tesis de Maestría en Ingeniería Química, Universidad Industrial de Santander. 68p
- Do, D. N., Nguyen, D. P., Phung, V., Le, X., Le, T. M. y Do, V. M. (2021). Fractionating of Lemongrass (*Cymbopogon citratus*) essential Oil by vacuum fractional distillation. *Processes*, 9(49), 1–11.

EFECTO REPELENTE DE ACEITES ESENCIALES Y FRACCIONES

- Durán, C. (2015) Optimización de elementos base de la cadena de valor de los aceites esenciales para el diseño de un prototipo de repelente de insectos. Tesis de Doctorado en Química, Universidad Industrial de Santander, 297 p.
- Edde, P. (2019) Biology, Ecology, and Control of *Lasioderma serricorne* (F.) (Coleoptera: Anobiidae): A Review. *Journal of Economic Entomology*, 112(13), 1011-1031.
- El-Sakhawy, F.S., El-Tantawy, M.E., Ross, S.A. y El-Sohly, M.A. (1998). Composition and antimicrobial activity of the essential oil of *Murraya exotica* L., *Flavour and Fragrance Journal*, 13(1), 59-62,
- Escobar, A., Pérez, M., Romanelli, G. y Blustein, G. (2020). Thymol bioactivity: A review focusing on practical applications. *Arabian Journal of Chemistry*, 13(12), 9243–9269.
- Evans, B. Y. P. D. (1981). Receptor types for octopamine. *Journal of Physiology*, 318, 99–122.
- Fourner, D., Bride, J. M., Hoffmann, F. y Karch, F. (1992). Acetylcholinesterase. Two types of modifications confer resistance to insecticide. *Journal of Biological Chemistry*, 267(20), 14270–14274.
- Fan, J., Francis, F., Liu, Y., Chen, J.L. y Cheng, D.F. (2011). An overview of odorant-binding protein functions in insect peripheral olfactory reception. *Genetics and Molecular Research*, 10(4), 3056–3069.
- Faridi Esfanjani, A. y Jafari, S. M. (2016). Biopolymer nano-particles and natural nano-carriers for nano-encapsulation of phenolic compounds. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 146, 532–543.
- Fitri, N., Riza, R., Akbari, M. K., Khonitah, N. y Fahmi, R. L.(2022). Identification of citronella oil Fractions as efficient bio-additive for diesel engine fuel. *Designs*, 6(1),

1-13.

Flink, J. y Karel, M. (1970). Retention of organic volatiles in freeze dried solutions of carbohydrates. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 18(2), 295-297.

Foust, A., Wenzel, L., Clump, C., Maus, L. y Anderesen, L. (1982). Principios de operaciones unitarias. Segunda edición. Editorial Cecsca. México D.F., México, 704 p.

Franzios, G., Mirotsoy, M., Hatziaostolou, E., Kral, J., Scouras, Z.G., Mavragani, P. (1997). Insecticidal and genotoxic activities of mint essential oils. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45(7), 2690–2694.

Gad, S. E. (2014). Polymers. Encyclopedia of Toxicology. Tercera edición, Academic Press, Cambridge, EE.UU. 5520 p.

Galindo-Cuspinera, V., Lubran, M.B. y Rankin, S.A. (2002). Comparison of volatile compounds in water- and oil-soluble annatto (*Bixa orellana* L.) extracts. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(7), 2010-2015.

González, J. W., Yeguerman, C., Marcovecchio, D., Delrieux, C., Ferrero, A. y Band, B. F. (2016). Evaluation of sublethal effects of polymer-based essential oils nanoformulation on the german cockroach. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 130, 11–18.

Gopal, J. V. y Kannabiran, K. (2013). Studies on interaction of insect repellent compounds with odorant binding receptor proteins by in silico molecular docking approach. *Interdisciplinary Sciences–Computational Life Sciences*, 5(4), 280–285.

Gancel, A.-L., Ollitrault, P., Froelicher, Y., Tomi, F., Jacquemond, C., Luro, F. y Brillouet, J.-M. (2003). Leaf volatile compounds of seven citrus somatic tetraploid hybrids sharing willow leaf mandarin (*Citrus deliciosa* Ten.) as their common parent, *Journal*

EFECTO REPELENTE DE ACEITES ESENCIALES Y FRACCIONES

of Agricultural and Food Chemistry, 51(20), 6006-6013.

Grundy, D. L. y Still, C.C. (1985) Inhibition of acetylcholinesterases by pulegone-1,2-epoxide. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 23(3), 383–388.

Gupta, S., Khan, S., Muzafar, M., Kushwaha, M., Yadav, A. K. y Gupta, A. P. (2016).

Encapsulation: Entrapping essential oil/flavors/aromas in food. Grumezescu, A. (Ed.). Encapsulations (pp. 229–268). Elsevier Inc. Ltd. London, Reino Unido.

Gusmão, N. M. S., de Oliveira, J. V., Navarro, D. M. d. A. F, Dutra, K. A., da Silva, W. A.

Wanderley, M. J. A. (2013). Contact and fumigant toxicity and repellency of *Eucalyptus citriodora* Hook., *Eucalyptus staigeriana* F., *Cymbopogon winterianus* Jowitt and *Foeniculum vulgare* Mill. essential oils in the management of *Callosobruchus maculatus* (FABR.) (Coleoptera: Chrysomelidae, Bruchinae). *Journal of Stored Products Research*, 54, 41–47.B.

Gustafson, J. E., Liew, Y. C., Chew, S., Markham, J., Bell, H. C., Wyllie, S. G. y Warmington, J. R. (1998). Effects of tea tree oil on *Escherichia coli*. *Letters in Applied Microbiology*, 26(3), 194–198.

Hack, B., Egger, H., Uhlemann, J., Henriet, M., Wirth, W., Vermeer, A. W. P. y Duff, D. (2012). Advanced agrochemical formulations through encapsulation strategies? *Chemie-Ingenieur-Technik*, 84(3), 223–234.

Hadian, Z., Maleki, M., Abdi, K., Atyabi, F., Mohammadi, A. y Khaksar, R. (2018). Preparation and characterization of nanoparticle β -cyclodextrin: geraniol inclusion complexes. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, 17(1), 39–51.

Hagstrum, D. W., T. Z. Klejdysz, Bh. Subramanyam, J. Nawrot. (2013). Atlas of stored-product insects and mites. AACCC International, St. Paul, MN.

EFECTO REPELENTE DE ACEITES ESENCIALES Y FRACCIONES

- Herold, D. A., Keil, K. y Bruns, D. E. (1989). Oxidation of polyethylene glycols by alcohol dehydrogenase. *Biochemical Pharmacology*, 38(1), 73–76.
- Hoet, S., Stévigny, C., Hérent, M.F., Quetin-Leclercq, J. (2006). Antitrypanosomal compounds from leaf essential oil of *Strychnos spinosa*. *Planta Medica*, 72(1), 480–482.
- Ipek, E., Zeytinoglu, H., Okay, S., Tuylu, B.A., Kurkcuoglu, M. y Husnu, C. (2005). Genotoxicity and antigenotoxicity of Origanum oil and carvacrol evaluated by Ames Salmonella/microsomal test. *Food Chemistry*, 93(3), 551–556.
- Isman, M. B. (2020a). Botanical Insecticides in the Twenty-First Century—Fulfilling Their Promise? *Annual Review of Entomology*, 65(1), 233–249.
- Isman, M. B. (2020b). Commercial development of plant essential oils and their constituents as active ingredients in bioinsecticides. *Phytochemistry Reviews*, 19(2), 235–241.
- Jacquin-Joly, E. y Merlín C. (2004). Insect olfactory receptors: contributions of molecular biology to chemical ecology. *Journal of Chemical Ecology*, 30(12), 1-39.
- Jafari, S. M., Assadpoor, E., He, Y. y Bhandari, B. (2008). Encapsulation efficiency of food flavours and oils during spray drying. *Drying Technology*, 26(7), 816–835.
- Jang, Y. S., Yang, Y. C., Choi, D. S., Ahn, Y. J. (2005). Vapor phase toxicity of marjoram oil compounds and their related monoterpenoids to *Blattella germanica* (Orthoptera: Blattellidae). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(20), 7892–7898.
- Jaramillo, B. E., Stashenko, E. y Martínez, J. R. (2010). Volatile chemical composition of the colombian *Satureja brownei* (Sw.) Briq. and determination of its antioxidant activity [Composición química volátil de *Satureja brownei* (Sw.) Briq. colombiana y determinación de su actividad antioxidante]. *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, 15(1), 52–63.

EFECTO REPELENTE DE ACEITES ESENCIALES Y FRACCIONES

- Jeyasankar, A., Chennaiyan, V. y Chinnamani, T. (2016). Evaluation of five essential plant oils as a source of repellent and larvicidal activities against larvae of *Tribolium castaneum* (Herbst) (Coleoptera: Tenebrionidae). *Journal of Entomology*, 13(3), 98–103.
- Jokić, G., Blažić, T., Marković, T., Đedović, S., Brkić, D. y Vukša, M. (2018). Wild *Mus musculus* response on two different essential oils with high repellent potential. *Journal of Stored Products Research*, 79(1), 106–111.
- Jones, C. R. (1913). The cigarette beetle (*Lasioderma serricorne* Fabr.) in the Philippine islands. *Philippine Journal of Science*, 8, 1–51.
- Jørgensen, A. D., Jensen, S. L., Ziegler, G., Pandeya, A., Buléon, A., Svensson, B., Blennow, A. (2012). Structural and physical effects of aroma compound binding to native starch granules. *Starch/Stärke*, 64(6), 461–469.
- Kabiri, M., Abad, R. y Besheli, B. A. (2016). Insecticidal potential of essential oil from the leaves of *Citrus aurantium* L. against *Oryzaephilus surinamensis* (F.), *Lasioderma serricorne* (L.) and *Sitophilus oryzae* (L.). *Journal of Entomology and Zoology Studies*, 4(5), 865–869.
- Keil, T. (1999). Insect olfaction. Morphology and development of the peripheral olfactory organs. En B. Hansson (Ed.), *Insect Olfaction* (pp. 5-47). Springer-Verlag, Berlín Heidelberg, Alemania.
- Khani, A. y Heydarian, M. (2014). Fumigant and repellent properties of sesquiterpene-rich essential oil from *Teucrium polium* subsp. *capitatum* (L.). *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 7(12), 956–961.
- Klein, U. (1987). Sensillum-lymph proteins from antennal olfactory hairs of the moth *Antheraea polyphemus* (Saturniidae). *Insect Biochemistry*, 17(8), 1193-1204.

EFECTO REPELENTE DE ACEITES ESENCIALES Y FRACCIONES

- Kłyś, M., Malejky, N. y Nowak-Chmura, M. (2017). The repellent effect of plants and their active substances against the beetle storage pests. *Journal of Stored Products Research*, 74, 66–77.
- Kostyukovsky, M., Rafaeli, A., Gileadi, C., Demchenko, N. y Shaaya, E. (2002). Activation of octopaminergic receptors by essential oil constituents isolated from aromatic plants: Possible mode of action against insect pests. *Pest Management Science*, 58(11), 1101–1106.
- Kováts, E. (1958). Characterization of organic compounds by gas chromatography. Part 1. Retention indices of aliphatic halides, alcohols, aldehydes and ketones. *Helvetica Chimica Acta*, 41, 1915-1932.
- Kumar, A., Gautam, R. D., Kumar, R., Chauhan, R., Kumar, M., Singh, S., Kumar, D., Singh, S. y Kumar, A. (2021). Floral studies of palmarosa [*Cymbopogon martinii* (Roxb.) W. Watson] and chemical insights during inflorescence development. *Industrial Crops and Products*, 171(2021), 1-13.
- Kumar, R., Srivastava, M. y Dubey, N. K. (2007). Evaluation of *Cymbopogon martinii* oil extract for control of postharvest insect deterioration in cereals and legumes. *Journal of Food Protection*, 70(1), 172–178.
- Kumar, P.; Mishra, P.; Malik, A.; Satya, S. (2011). Repellent, larvicidal and pupicidal properties of essential oils and their formulations against the housefly, *Musca domestica*. *Medical and Veterinary Entomology*, 25, 302–310.
- Lawrence, K., Lawrence, R., Parihar, D., Srivastava, R. y Charan, A. (2012). Antioxidant activity of Palmarosa essential oil (*Cymbopogon martini*) grown in north Indian plains. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 2(2), S888–S891.

EFECTO REPELENTE DE ACEITES ESENCIALES Y FRACCIONES

- Leal, W. S. (2013). Odorant reception in insects: Roles of receptors, binding proteins, and degrading enzymes. *Annual Review of Entomology*, 58 (September 2012), 373–391.
- Le Thanh, M. Interactions between volatile and nonvolatile compounds in the presence of water. (1992). *Food Chemistry*, 43(1), 129-135.
- Liang, J., Shao, Y., Wu, H., An, Y., Wang, J., Zhang, J. y Kong, W. (2021). Chemical constituents of the essential oil extracted from *Elsholtzia densa* and their insecticidal activity against *Tribolium castaneum* and *Lasioderma serricorne*. *Foods*, 10(10), 1–15.
- Licciardello, F., Muratore, G., Suma, P., Russo, A. y Nerín, C. (2013). Effectiveness of a novel insect-repellent food packaging incorporating essential oils against the red flour beetle (*Tribolium castaneum*). *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 19(2013), 173–180.
- Lima, J. K. A., Albuquerque, E. L. D., Santos, A. C. C., Oliveira, A. P., Araújo, A. P. A., Blank, A. F., Arrigoni-Blank, M. de F., Alves, P. B., Santos, D. de A., y Bacci, L. (2013). Biototoxicity of some plant essential oils against the termite *Nasutitermes corniger* (Isoptera: Termitidae). *Industrial Crops and Products*, 47, 246–251.
- López, A., Castro, S., Andina, M. J., Ures, X., Munguía, B., Llabot, J. M., Elder, H., Dellacassa, E., Palma, S. y Domínguez, L. (2014). Insecticidal activity of microencapsulated *Schinus molle* essential oil. *Industrial Crops and Products*, 53, 209–216.
- Lu, X., Weng, H., Li, C., He, J., Zhang, X. y Ma, Z. (2020). Efficacy of essential oil from *Mosla chinensis* Maxim . cv. Jiangxiangru and its three main components against insect pests. *Industrial Crops y Products*. 147(2020),1-7.
- Lü, J. y Liu, S. (2016). The behavioral response of *Lasioderma serricorne* (Coleoptera:

- Anobiidae) to citronellal, citral, and rutin. *SpringerPlus*, 5(1), 2–8.
- Lugo, L., Galindo, S., Pérez, L., Waksman de Torres, N., Álvarez, R. (2021) Headspace–Solid-Phase Microextraction gas chromatography method to quantify *Thymus vulgaris* essential oil in polymeric nanoparticles. *Pharmacognosy Magazine*, 15(63), 473-478.
- Madene, A., Jacquot, M., Scher, J. y Desobry, S. (2006). Flavour encapsulation and controlled release. A review. *International Journal of Food Science and Technology*, 41, 1–21.
- Mardarowicz, M., Wianowska, D., Dawidowicz, A.L. y Sawicki, R. (2004). The influence of sample treatment on SPME extracts from conifers. I. Comparison of terpene composition in *Engelmann Spruce* (*Picea engelmannii*) using hydrodistillation, SPME and PLE. *Zeitschrift für Naturforschung C*, 59(9-10), 641-648.
- Márquez, J. (2005) Técnicas de colecta y preservación de insectos. *Boletín Sociedad Entomológica Aragonesa*, 1(37), 385 – 408.
- Markovic, M., Boskovic-Vragolovic, N., Ristic, M., Pavicevic, V., Veljkovic, V. y Milojevic, S. (2017). Fractionation of the essential oil from juniper (*Juniperus ommunis* L.) berries by hydrodistillation and rectification. *Hemijaska Industrija Chemical Industry*, 71(6), 471–477.
- Marriott, P. J., Shellie, R. y Cornwell, C. (2001). Gas chromatographic technologies for the analysis of essential oils. *Journal of Chromatography A*, 936(1–2), 1–22.
- Meccia, G., Rojas, L.B., Rosquete, C. y Feliciano, A.S. (2000). Essential oil of *Croton ovalifolius* Vahl from Venezuela, *Flavour and Fragrance Journal*, 15(3), 144-146.
- Miller, J.; Y Miller J. (2002) Estadística y quimiometría para química analítica. 4a Ed. Pearson Prentice Hall, Madrid, Comunidad de Madrid, España. 111-152.

- Mohamadi, N., Kazemi, S. M., Mohammadian, M., Milani, A. T., Moradi, Y., Yasemi, M., Far, M. E., Tabrizi, M. M., Shahmabadi, H. E. y Khiyavi, A. A. (2017). Toxicity of cisplatin-loaded poly butyl cyanoacrylate nanoparticles in a brain cancer cell line: Anionic polymerization results. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, 18(3), 629–632.
- Mondello, L., (2012). HS-SPME-GCxGC-MS analysis of *Yerba Mate* (*Ilex paraguariensis*) in Shimadzu GC-GC application compendium of comprehensive 2D GC, Vol. 1-5, Shimadzu Corp., 1-29.
- Morales A. y Solano A. (2017) Rectificación de los aceites esenciales de palmarrosa (*Cymbopogon martinii*) y citronela (*Cymbopogon nardus*). Tesis de Maestría en Ingeniería Química, Universidad Industrial de Santander. 90 p.
- Morteza-Semnani, K. and Saeedi, M. (2005). The essential oil composition of *Phlomis bruguieri* Desf. from Iran, *Flavour and Fragrance Journal*, 20(3), 344-346.
- Nakahara, K., Alzoreky, N., Yoshilhashi, T. y Trakoontivakorn, G. (200) JARQ, 37, 249
- Martínez, N. (2022). Validación de un modelo para la destilación fraccionada a presión de vacío, de aceites esenciales *Citrus sinensis*, *Cymbopogon nardus* y sus productos de reaccion de Prins a escala de laboratorio. Tesis de Maestría en Ingeniería Química, Universidad Industrial de Santander. 95p
- Nerio, L. S., Olivero, J. y Stashenko, E., (2009). Repellent activity of essential oils from seven aromatic plants grown in Colombia against *Sitophilus zeamais* Motschulsky (Coleoptera). *Journal of Stored Products Research*, 45(3), 212–214.
- NIST, Standard Reference Database; NIST Mass Spectral Library with Search Program. Versiones 2011, 2014, 2017. Gaithersburg, EE.UU.

EFECTO REPELENTE DE ACEITES ESENCIALES Y FRACCIONES

- Oliveira, D. R., Leitão, G. G., Fernandes, P. D., y Leitão, S. G. (2014). Ethnopharmacological studies of *Lippia origanoides*. *Brazilian Journal of Pharmacognosy*, 24(2), 206–214.
- Oliveira, A. P., Santos, A. A., Santana, A. S., Lima, A. P. S., Melo, C. R., Santana, E. D. R. y Bacci, L. (2018). Essential oil of *Lippia sidoides* and its major compound thymol: Toxicity and walking response of populations of *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae). *Crop Protection*, 112 (2018),33–38.
- Padalia, R. C., Tandon, S., KT, V. y Chauhan, A. (2019). Essential oil composition of the sub-aerial parts of eight species of *Cymbopogon* (Poaceae). *Industrial Crops and Products*, 142(September), 111839.
- Papachristos, D.P., Karamanoli, K.I., Stamopoulos, D.C. y Menkissoglu-Spiroudi, U. The relationship between the chemical composition of three essential oils and their insecticidal activity against *Acanthoscelides obtectus* (Say). *Pest Management Science*, 60(5), 514–520.
- Park, J., Jeon, Y., Lee, C., Chung, N. y Lee, H. (2017). Insecticidal toxicities of carvacrol and thymol derived from *Thymus vulgaris* Lin. against *Pochazia shantungensis* Chou y Lu ., newly recorded pest. *Scientific Reports*, 7(1), 1–7.
- Pascoli, M., Lopes-Oliveira, P. J., Fraceto, L. F., Seabra, A. B. y Oliveira, H. C. (2018). State of the art of polymeric nanoparticles as carrier systems with agricultural applications: a minireview. *Energy, Ecology and Environment*, 3(3), 137–148.
- Pascual, M. E., Slowing, K., Carretero, E., Sánchez Mata, D. y Villar, A. (2001). *Lippia*: Traditional uses, chemistry and pharmacology: A review. *Journal of Ethnopharmacology*, 76(3), 201–214.
- Pavela, R. (2015). Essential oils for the development of eco-friendly mosquito larvicides: A review. *Industrial Crops and Products*, 76, 174–187.

EFECTO REPELENTE DE ACEITES ESENCIALES Y FRACCIONES

- Pavela, R. y Benelli, G. (2016). Essential Oils as Ecofriendly Biopesticides? Challenges and Constraints. *Trends in Plant Science*, 21(12), 1000–1007.
- Pawliszyn, J. (1997) *Solid Phase Microextraction: Theory and Practice*, Editorial Wiley-VCH. Inc., New York, Ny. 264 p
- Pelosi P. y Maida, R. (1995) Odorant binding proteins in insects. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology*, 111(3), 503-514.
- Pelosi, P., Zhou, J. J., Ban, L. P. y Calvello, M. (2006). Soluble proteins in insect chemical communication. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 63(14), 1658–1676.
- Perini, J. F., Silvestre, W. P., Agostini, F., Toss, D. y Pauletti, G. F. (2017). Fractioning of orange (*Citrus sinensis* L.) essential oil using vacuum fractional distillation. *Separation Science and Technology* (Philadelphia), 52(8), 1397–1403.
- Perry, N. B.; Anderson, R. E.; Brennan, N. J.; Douglas, M. H.; Heaney, A. J.; McGimpsey, J. A. y Smallfield, B. M. (1999). Essential oils from dalmatian sage (*Salvia officinalis* L.): Variations among individuals, plant parts, seasons, and sites. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47(5), 2048–2054.
- Petruzzi, D. (2022). Global essential oils market demand 2018-2025. Rastreador. <https://www.statista.com/statistics/750725/global-essential-oils-market-demand/>
- Pevsner, J., Reed, R. R., Feinstein, P. G. y Snyder, S. H. (1988). Molecular cloning of odorant-binding protein: member of a ligand carrier family. *Science*, 241(4863), 336-339.
- Parray, Z., Hassan, I., Ahmad, F e Islam, A. (2020). Amphiphilic nature of polyethylene glycols and their role in medical research. *Polymer testing*, 82(2020), 1-9.

EFECTO REPELENTE DE ACEITES ESENCIALES Y FRACCIONES

- Portilla, J., Castillo, R., Barón, M., Duque, J., Mendez, S. Design of a repellent against *Aedes aegypti* (Diptera: culicidae) using in silico simulations with AaegOBP1 protein. *Journal of Medical Entomology*, 57(2), 463-476.
- Prego, C., Torres, D., Fernandez-Megia, E., Novoa-Carballal, R., Quiñoá, E. y Alonso, M. J. (2006). Chitosan-PEG nanocapsules as new carriers for oral peptide delivery: Effect of chitosan pegylation degree. *Journal of Controlled Release*, 111(3), 299–308.
- Pinheiro, P. F., de Queiroz, V. T., Rondelli, V. M., Costa, A. V., Marcelino, T. de P. y Pratisoli, D. (2013). Atividade inseticida do óleo essencial de capim-citronela sobre *Frankliniella schultzei* e *Myzus persicae*. *Ciência e Agrotecnologia*, 37(2), 138–144.
- Quintanilla, M. X., Camacho, B. H., Meraz, L. S., Chanona, J. J., Alamilla, L., Jimenez, A. y Gutiérrez, G. F. (2010). Nanoencapsulation: A new trend in food engineering processing. *Food Engineering Reviews*, 2(1), 39–50.
- Radulović, N., Polina Blagojević y Palić, R. (2010). Comparative study of the leaf volatiles of *Arctostaphylos uva-ursi* (L.) Spreng. and *Vaccinium vitis-idaea* L. (Ericaceae), *Molecules*, 15(9), 6168-6185.
- Rajendran, S. y Narasimhan, K. (1994). Phosphine resistance in the cigarette beetle *Lasioderma serricorne* (Coleoptera: Anobiidae) and overcoming control failures during fumigation of stored tobacco. *International Journal of Pest Management*, 40(2), 207–210.
- Rakmai, J., Cheirsilp, B., Mejuto, J. C., Torrado-Agrasar, A. y Simal-Gándara, J. (2017). Physico-chemical characterization and evaluation of bio-efficacies of black pepper essential oil encapsulated in hydroxypropyl-beta-cyclodextrin. *Food Hydrocolloids*, 65, 157–164.
- Ramadan, G., Abdelgaleil, S., Shawir, M., El-bakary, A., Zhu, K., Phillips, T. (2021)

EFECTO REPELENTE DE ACEITES ESENCIALES Y FRACCIONES

- Terpenoids, DEET and short chain fatty acids as toxicants and repellents for *Rhyzopertha dominica* (coleoptera: Bostrichidae) and *Lasioderma serricorne* (Coleoptera: Ptinidae), *Journal of Stored Products Research*, 87(2020), 1-8.
- Ramadan, G.; Abdelgaleil, S.; Shawir, M.; El-bakary, A.; Yan, K. y Phillips, T.(2020) Terpenoids, DEET and short chain fatty acids as toxicants and repellents for *Rhyzopertha dominica* (coleoptera: Bostrichidae) and *Lasioderma serricorne* (Coleoptera: Ptinidae). *Journal of Stored Products Research*, 87, 1-8.
- Ramírez, A. (2016) Evaluación de alternativas de proceso para hidrólisis catalítica de acetato de geranilo en el aceite esencial de *Cymbopogon martinii*. Tesis de Maestría en Ingeniería Química, Universidad Industrial de Santander. 111p
- Rattan, R. S. (2010). Mechanism of action of insecticidal secondary metabolites of plant origin. *Crop Protection*, 29(9), 913–920.
- Rayner, V. I. (1951) Some aspects of the biology of the tobacco beetle, *Lasioderma serricorne* (F.) (Coleoptera: Anobiidae). Tesis de maestría, Universidad de Cape Town, Cape Town, South Africa.
- Re, M.I. (1998). Microencapsulation by spray drying. *Drying Technology*, 16(6), 1195–1236.
- Reed, W. y Vinzant, J. (1492) Control of insects attacking stored tobacco and tobacco products. United States department of agriculture, division of truck crop and garden insect investigations. Bureau of entomology and plant quarantine. *Circular*, 635, 5-6.
- Regnault, C., Vincent, C. y Arnason, J. T. (2012). Essential Oils in Insect Control: Low-Risk Products in a High-Stakes World. *Annual Review of Entomology*, 57(1), 405-24

EFECTO REPELENTE DE ACEITES ESENCIALES Y FRACCIONES

- Reynolds, S. E. (1987). The cuticle, growth and moulting in insects: The essential background to the action of acylurea insecticides. *Pesticide Science*, 20(2), 131–146.
- Rihani, K., Ferveur, J-F y Briand, L. (2021). The 40-Year mystery of insect odorant-binding proteins. *Biomolecules*, 1(509), 1-27.
- Rice, P. J. y Coats, J. R. (1994). Insecticidal properties of monoterpenoid derivatives to the house fly (diptera: Muscidae) and red flour beetle (coleoptera: Tenebrionidae). *Pesticide Science*, 41(3), 195–202.
- Ríos, N., Stashenko, E. E. y Duque, J. E. (2017). Evaluation of the insecticidal activity of essential oils and their mixtures against *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). *Revista Brasileira de Entomologia*, 61(4), 307–311.
- Robards, K., Haddad, P. R. y Jackson, P. E. (2004). Sample handling in Chromatography. Principles and Practice of Modern Chromatographic Methods, Primera edición, Academic Press, Cambridge, EE.UU. 495 p.
- Rodrigues, V. H. S., Almeida, R. N., Vargas, R. M. F. y Cassel, E. (2022). Vapor pressure and vapor-liquid equilibrium data for eugenol/caryophyllene binary system at low pressures by experimental and predictive methods. *Journal of Chemical Thermodynamics*, 168 (2022), 1-12.
- Rodríguez, E. A., Árias, A. J., Vásquez, E. G., Martínez, J. R. y Stashenko, E. (2012). Rendimiento y capacidad antioxidante de extractos de *Rosmarinus officinalis*, *Salvia officinalis* y *Psidium guajava* obtenidos con CO₂ supercrítico. *Revista de La Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales*, 36(140), 305–316.
- Rodríguez, A., Beato, M., Usseglio, V. L., Camina, J., Zygadlo, J. A., Dambolena, J. S. y Zunino, M. P. (2022). Phenolic compounds as controllers of *Sitophilus zeamais*: A

- look at the structure-activity relationship. *Journal of Stored Products Research*, 99(2022),1-8.
- Rodríguez, R., Ruiz, C., Arias, G., Cast, H., Martínez, J. y Stashenko, E (2012). Estudio comparativo de la composición de los aceites esenciales de cuatro especies del género *Cymbopogon* (Poaceae) cultivadas en Colombia. *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas*, 11(1), 77–85.
- Ryan, M.F. y Byrne, O. (1998). Plant insect coevolution and inhibition of acetylcholinesterase. *Journal of Chemical Ecology*, 14(10), 1965–1975.
- Saifullah, M., Shishir, M. R. I., Ferdowsi, R., Tanver Rahman, M. R. y Van Vuong, Q. (2019). Micro and nano encapsulation, retention and controlled release of flavor and aroma compounds: A critical review. *Trends in Food Science and Technology*, 86(2019), 230–251.
- Sang, Y., Liu, J., Shi, L., Wang, X., Xin, Y., Hao, Y. y Bai, L. (2021). Study on gas chromatographic fingerprint of essential oil from *Stellera Chamaejasme* flowers and its repellent activities against three stored product insects. *Molecules*, 26(21), 1-15.
- Santana-Rios, G., Orner, G.A., Amantana, A., Provost, C., Wu, S.Y. y Dashwood, R.H.(2001). Potent antimutagenic activity of white tea in comparison with green tea in the Salmonella assay. *Mutation Research*, 495(1-2), 61–74.
- Saroglou, V., Dorizas, N., Kyriotakis, Z. y Skaltsa, H.D. (2006). Analysis of the essential oil composition of eight *Anthemis* species from Greece, *Journal of Chromatography A*, 1104(1-2), 313-322.
- Sato, K., Krist, S. y Buchbauer, G. (2007). Antimicrobial effect of vapours of geraniol, (R)-(-)-linalool, terpineol, γ -terpinene and 1,8-cineole on airborne microbes using an airwasher. *Flavour and Fragrance Journal*, 22(5), 435–437.

- Schymura, D., Forstner, M., Schultze, A., Kröber, T., Swevers, L., Latrou, K. y Jürgen Krieger, J. (2010). Antennal expression pattern of two olfactory receptors and an odorant binding protein implicated in host odor detection by the malaria vector *Anopheles gambiae*. *International Journal of Biological Sciences*, 6(7), 614–626.
- Shasany, A., Lal, R., Patra, N., Darokar, M., Garg, A., Kumar, S., Khanuja, S. (2000) Phenotypic and RAPD diversity among *Cymbopogon winterianus* Jowitt accessions in relation to *Cymbopogon nardus* Rendle. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 47:553–559.
- Shellie, R.A. y Marriott, P.J. (2003). Comprehensive two-dimensional gas chromatography-mass spectrometry analysis of *Pelargonium graveolens* essential oil using rapid scanning quadrupole mass spectrometry, *Analyst*, 128(7), 879-883,
- Shimoda, M., Shiratsuchi, H., Minegishi, Y. y Osajima, Y. (1993). Flavor deterioration of nonfermented coarse-cut sausage during storage. Flavor as a factor of quality for nonfermented sausage. 2. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 41(6), 946-950.
- Shrivastava, A. y Gupta, V. (2015) Methods for the determination of limit of detection and limit of quantification of the analytical methods. *Chronicles Young Scientist*, 2 (1), 21-25.
- Silva, C. T. S., Wanderley-Teixeira, V., Cunha, F. M., Oliveira, J. V., Dutra, K. A., Navarro, D. F. y Teixeira, A. A. C. (2018). Effects of citronella oil (*Cymbopogon winterianus* Jowitt ex Bor) on *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) midgut and fat body. *Biotechnology and Histochemistry*, 93(1), 36–48.
- Silva, D.B., Pott, A. y Oliveira, D.C.R. (2010). Analyses of the headspace volatile constituents of aerial parts (leaves and stems), flowers and fruits of *Bidens gardneri*

EFECTO REPELENTE DE ACEITES ESENCIALES Y FRACCIONES

- Bak. and *Bidens sulphurea* (Cav.) Sch. Bip. using solid-phase microextraction, *Journal of Essential Oil Research*, 22(6), 560-563.
- Silva, L. M. C., da Silva, J. I. S., Alves de Melo, R. A. y de Melo, E. J. (2022). Study of the thermodynamic equilibrium of fragrance mixtures, limonene, linalool and geraniol, using the unifac and cosmo-sac models and the estimation of their combined properties in binary, ternary and quaternary mixtures. *American Journal of Engineering and Applied Sciences*, 15(2), 160–177.
- Silvestre, W. P., Agostini, F., Muniz, L. A. R. y Pauletti, G. F. (2016). Fractionating of green Mandarin (*Citrus deliciosa* Tenore) essential oil by vacuum fractional distillation. *Journal of Food Engineering*, 178, 90–94.
- Silvestre, Wendel Paulo, Medeiros, F. R., Agostini, F., Toss, D. y Pauletti, G. F. (2019). Fractionation of rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) essential oil using vacuum fractional distillation. *Journal of Food Science and Technology*, 56(12), 5422–5434.
- Silvestre, W. P., Medeiros, F. R., Agostini, F., Toss, D. y Pauletti, G. F. Fractionation of rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) essential oil using vacuum fractional distillation.(2019). *Journal of Food Science and Technology*, 56(12), 5422–5434.
- Singh, B. (2008). Chiral pesticides. *Journal of Pesticide Science*, 34(1), 1-12.
- Singh, K. y Singh, D. K. (2000). Toxicity to the snail *Limnaea acuminata* of plant-derived molluscicides in combination with synergists. *Pest Management Science*, 56(10), 889–898.
- Smith, J., Van Ness, H.C., Abbot, M. M., Swihart, M. T. (2008). Introduction to Chemical Engineering Thermodynamics. McGraw-Hill Education, New York, EE.UU. 1-769.
- Specos, M. M. M., García, J. J., Tornesello, J., Marino, P., Vecchia, D. M., Tesoriero, D. M. V. y Hermida, L. G. (2010). Microencapsulated citronella oil for mosquito repellent

- finishing of cotton textiles. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 104(10), 653–658.
- Stashenko, E. E., Jaramillo, B. E. y Martínez, J. R. (2003). Comparación de la composición química y de la actividad antioxidante *in vitro* de los metabolitos secundarios volátiles de plantas de la familia verbenaceae. *Revista de la Academia Colombiana de Ciencias*, 27(105), 579–597.
- Stashenko, E. E., Jaramillo, B. E. y Martínez, J. R. (2004). Comparison of different extraction methods for the analysis of volatile secondary metabolites of *Lippia alba* (Mill.) N.E. Brown, grown in Colombia, and evaluation of its *in vitro* antioxidant activity. *Journal of Chromatography A*, 1025(1), 93–103.
- Stashenko, E. E. y Martínez, J. R. (2007). Sampling volatile compounds from natural products with headspace/solid-phase micro-extraction. *Journal of Biochemical and Biophysical Methods*, 70(2), 235–242.
- Stashenko, E. (2009). Aceites esenciales. Centro Nacional de Investigaciones para la Agroindustrialización de Especies Vegetales aromáticas y Medicinales Tropicales - Cenivam., Universidad Industrial de Santander. Primera Edición. 1-180.
- Stashenko, E y Martínez, J. (2010) GC-MS: Más de un analizador de masas, ¿Para qué? *Scientia Chromatographica*, 2(4), 25-48.
- Stashenko, E. E., Martínez, J. R., Ruíz, C. A., Arias, G., Durán, C., Salgar, W. y Cala, M. (2010). *Lippia origanoides* chemotype differentiation based on essential oil GC-MS and principal component analysis. *Journal of Separation Science*, 33(1), 93–103.
- Steinbrecht, R. A. (1997). Pores structures in insect olfactory sensilla: A review of data and concepts. *International Journal of Insect Morphology and Embryology*, 26(3–4), 229–245.

EFECTO REPELENTE DE ACEITES ESENCIALES Y FRACCIONES

- Sun, J. S., Xiao, S. y Carlson, J. R. (2018). The diverse small proteins called odorant-binding proteins. *Open Biology*, 8(12), 1-7.
- Tapondjou, A. L., Adler, C., Fontem, D. A., Bouda, H. y Reichmuth, C. (2005). Bioactivities of cymol and essential oils of *Cupressus sempervirens* and *Eucalyptus saligna* against *Sitophilus zeamais* Motschulsky and *Tribolium confusum* du Val. *Journal of Stored Products Research*, 41(1), 91–102.
- Terblanché, F. C. y Kornelius, G. (1996). Essential oil constituents of the genus *Lippia* (verbenaceae) — a literature review. *Journal of Essential Oil Research*, 8(5), 471–485.
- Thara Saraswathi, K. J., Jayalakshmi, N. R., Shivakameshwari, M. N. y Jagadishchandra, K. S. (2014). Karyomorphotypic Studies in tetraploid variety of *Cymbopogon martinii* var. sofia. *CIBTech Journal of Biotechnology*, 3(3), 8–12.
- Tice, T. R. y Gilley, R. M. (1985). Preparation of injectable controlled-release microcapsules by a solvent-evaporation process. *Journal of Controlled Release*, 2(C), 343–352.
- Tobi, M. y Sa, A. (2000). The role of PEG on the stability in digestive fluids. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 18, 315–323.
- Tyagi, B. K., Shahi, A. K. y Kaul, B. L. (1998). Evaluation of repellent activities of *Cymbopogon* essential oils against mosquito vectors of malaria, filariasis and dengue fever in India. *Phytomedicine*, 5(4), 324–329.
- Ultee, A., Kets, E. P. W., Alberda, M., Hoekstra, F. A. y Smid, E. J. (2000). Adaptation of the food-borne pathogen *Bacillus cereus* to carvacrol. *Archives of Microbiology*, 174(4), 233–238.

- van den Dool y Kratz, (1963). A generalization of the retention index system including linear temperature programmed gas-liquid partition chromatography. *Journal of Chromatography*, *11*, 463-471.
- Veras, H. N. H., Rodrigues, F. F. G., Botelho, M. A., Menezes, I. R. A., Coutinho, H. D. M. y Costa, J. G. M. (2017). Enhancement of aminoglycosides and β -lactams antibiotic activity by essential oil of *Lippia sidoides* Cham. and the thymol. *Arabian Journal of Chemistry*, *10*, S2790–S2795.
- Verma, R., Singh, S., Chandra, R., Tandon S., Venkatesh, K. T. y Chauhan, A. (2019) *Industrial Crops and Products*, *142*(15), 1-13.
- Vila, A., Sánchez, A., Tobío, M., Calvo, P. y Alonso, M. J. (2002). Design of biodegradable particles for protein delivery. *Journal of Controlled Release*, *78*(1–3), 15–24.
- Villaverde, J. J., Sevilla-Morán, B., Sandín-España, P., López-Goti, C. y Alonso-Prados, J. L. (2014). Biopesticides in the framework of the European Pesticide Regulation (EC) No. 1107/2009. *Pest Management Science*, *70*(1), 2–5.
- Vishwakarma, G. S., Gautam, N., Babu, J. N., Mittal, S. y Jaitak, V. (2016). Polymeric Encapsulates of Essential Oils and Their Constituents: A Review of Preparation Techniques, Characterization, and Sustainable Release Mechanisms. *Polymer Reviews*, *56*(4), 668–701.
- Vogt, R.G. y Riddiford, L. M. (1981). Pheromone binding and inactivation by moth antennae. *Nature*, *293*(5828), 161-163.
- Voilley, A.J. (1995). Flavor encapsulation. Influence of encapsulation media on aroma retention during drying. ACS Symp. Ser. 590. En S.J. Risch y G. A. Reineccius (Eds.). Encapsulation and Controlled Release of Food Ingredients (pp. 169–179). American Chemical Society, New York, EE.UU.

- Werdin González, J. O., Gutiérrez, M. M., Ferrero, A. A. y Fernández Band, B. (2014). Essential oils nanoformulations for stored-product pest control - Characterization and biological properties. *Chemosphere*, 100, 130–138.
- Werdin González, J. O., Jesser, E. N., Yeguerman, C. A., Ferrero, A. A. y Fernández Band, B. (2017). Polymer nanoparticles containing essential oils: new options for mosquito control. *Environmental Science and Pollution Research*, 24(20), 17006–17015.
- Werdin González, J. O., Stefanazzi, N., Murray, A. P., Ferrero, A. A. y Fernández Band, B. (2015). Novel nanoinsecticides based on essential oils to control the German cockroach. *Journal of Pest Science*, 88(2), 393–404.
- Wang, C., Yang, K., You, C., Zhang, W., Guo, S., Geng, Z., Du, S., y Wang, Y. (2015). Chemical Composition and insecticidal activity of essential oils from *Zanthoxylum dissitum* leaves and roots against three species of storage pests. *Molecules*, 20, 7990-7999.
- Wang, G. Y., Chang, Y. Bin, Guo, J. H., Xi, J. Q., Liang, T. B., Zhang, S. X., Yang, M. M., Hu, L. W., Mu, W. J. y Song, J. Z. (2022). Identification and expression profiles of putative soluble chemoreception proteins from *Lasioderma serricorne* (Coleoptera: Anobiidae) antennal transcriptome. *Environmental Entomology*, 51(4), 700–709.
- Werkhoff, P., Güntert, M., Krammer, G., Sommer, H. y Kaulen, J. (1998). Vacuum headspace method in aroma research: flavor chemistry of yellow passion fruits. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46(3), 1076-1093.
- Willey, Database; Mass Spectral Library with Search Program, EE.UU.

- Wong, K. K. Y., Signal, F. A., Campion, S. H. y Motion, R. L. (2005). Citronella as an insect repellent in food packaging. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(11), 4633–4636.
- Wu, W., Li, S., Yang, M., Lin, Y. y Zheng, K. (2020). Citronellal perception and transmission by *Anopheles gambiae* s. s. (Diptera : Culicidae) females. *Scientific Reports*, 10(1), 1–10.
- Wu, Y., Zhang, W., Wang, P., Yang, K., Huang, D., Wei, J., Tian, Z., Bai, J. y Du, S. (2015). Contact toxicity and repellency of the essential oil of *Liriope muscari* (DECN.) Bailey against three insect tobacco storage pests. *Molecules*, 20(1), 1676–1685.
- Wu, Y., Zhang, W., Huang, D., Wang, Y., Wei, J. y Li, Z. (2015). Chemical compositions and insecticidal activities of *Alpinia kwangsiensis* Essential Oil against *Lasioderma serricorne*. 21939–21945.
- Yang, N. (2012). Flavour reformulation and flavour stability. Division of food sciences, school of biosciences. University of Nottingham (May). 1-228.
- Yang, F. L., Li, X. G., Zhu, F. y Lei, C. L. (2009). Structural characterization of nanoparticles loaded with garlic essential oil and their insecticidal activity against *Tribolium castaneum* (Herbst) (Coleoptera: Tenebrionidae). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(21), 10156–10162.
- Yeguerman, C., Jesser, E., Massiris, M., Delrieux, C., Murray, A. P. y Werdin González, J. O. (2020). Insecticidal application of essential oils loaded polymeric nanoparticles to control German cockroach: Design, characterization and lethal/sublethal effects. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 189 (August 2019), 110047.
- Youssefi, M. R., Tabari, M. A., Esfandiari, A., Kazemi, S., Moghadamnia, A. A., Sut, S., Acqua, S. D., Benelli, G. y Maggi, F. (2019). Efficacy of two monoterpenoids,

EFECTO REPELENTE DE ACEITES ESENCIALES Y FRACCIONES

carvacrol and thymol, and their combinations against eggs and larvae of the west Nile vector *Culex pipiens*. *Molecules*, 24(10), 1-11.

Zapata, B., Duran, C., Stashenko, E., Correa Royero, J. y Betancur Galvis, L. (2009). Actividad citotóxica de aceites esenciales de *Lippia origanoides* H.B.K. y componentes mayoritarios. *Revista de La Universidad Industrial de Santander. Salud*, 41(3), 215–222.


Zhou, J., Zou, K., Zhang, W., Guo, S., Liu, H., Sun, J., Li, J., Huang, D., Wu, Y., Du, S. y Borjigidai, A. Efficacy of Compounds Isolated from the Essential Oil of *Artemisia lavandulaefolia* in Control of the Cigarette Beetle, *Lasioderma serricorne*. *Molecules*, 23(343), 1-11.

Zuidam, N. J. y Heinrich, J. (2010). Encapsulation of aroma. En N. J. Zuidam y V. A. Nedovic (Eds.). *Encapsulation technologies for food active ingredients and food processing* (pp. 127–160). Dordrecht: Springer, Berlín, Alemania.

EFECTO REPELENTE DE ACEITES ESENCIALES Y FRACCIONES

Apéndices

Apéndice A. Certificado de la identificación taxonómica ICA.

 INSTITUTO COLOMBIANO AGROPECUARIO - ICA LABORATORIO DE DIAGNÓSTICO FITOSANITARIO BUCARAMANGA- SANTANDER REPORTE DE RESULTADOS					
INFORMACIÓN DEL LABORATORIO					
N° reporte: R4122M0000022.			N° solicitud: S4122M0000014.		
Código de la muestra: M4122M0000109.			Fecha recepción de muestra: 2022-01-28.		
Fecha del análisis (Inicio - Fin): 2022-02-17 a 2022-02-18.			Fecha de emisión del resultado: 2022-02-18.		
Dependencia solicitante (ICA): NA.			Descripción de la muestra: Se recibieron especímenes de insectos adultos sumergidos en alcohol y contenidos en un recipiente de plástico de cierre hermético y especímenes de insectos inmaduros vivos en un vial tipo Vacutainer. Los especímenes se encontraron en buenas condiciones para su determinación taxonómica.		
RESULTADOS					
CÓDIGO DE LA MUESTRA	ID USUARIO	Cultivo / Variedad	PROCEDENCIA (Departamento, Municipio, Vereda, Finca, Georreferenciación)	RESULTADO	No. de especímenes procesados
M4122M0000109	No Indica	Cebada Y Harina/No Aplica	Santander, Bucaramanga, No Aplica, Cenivam, LN 07°08'25,4"; 073°06'58,3" LW.	<i>Lasioderma serricorne</i> (Fabricius, 1792) (Coleoptera: Ptinidae) (Anexo 1, Figura 1 y 2).	30 especímenes adultos 5 especímenes inmaduros (larvas).
Total especímenes analizados					35
MÉTODOS					
Insectos adultos: método analítico ICA GSA-MA-LDF-DE-005: Identificación de coleópteros de granos almacenados utilizando caracteres morfológicos, V2.					
Insectos inmaduros: determinación taxonómica a través de las claves propuestas por Anderson (1991).					

EFECTO REPELENTE DE ACEITES ESENCIALES Y FRACCIONES

 <p>ICA Instituto Colombiano Agropecuario</p>	<p style="text-align: center;">INSTITUTO COLOMBIANO AGROPECUARIO - ICA LABORATORIO DE DIAGNÓSTICO FITOSANITARIO BUCARAMANGA- SANTANDER REPORTE DE RESULTADOS</p>
---	--

Continuación: N° reporte: R4122M0000022	N° solicitud: S4122M0000014
---	-----------------------------

ALCANCE

MUESTRA OFICIAL (Control oficial y comercio exterior): Este resultado solo aplica a la muestra recibida en el laboratorio. Este reporte podrá ser utilizado por el ICA como soporte probatorio en los procesos sancionatorios o sanitarios que se adelanten y se podrá aplicar a la población de la cual el ICA o el organismo de inspección autorizado tomó la muestra de manera oficial(NA.)

MUESTRA PARTICULAR: Este resultado solo aplica a la muestra recibida en el laboratorio. No puede ser considerado como un resultado del control oficial del cual el ICA está encargado. La información incluida en este reporte puede ser utilizada por el ICA para fines oficiales, técnico científicos y estadísticos dentro de las actividades de sus programas sanitarios.....(X.)

OBSERVACIONES

Convenciones: NA = No aplica. NI = No informa

La siguiente información es suministrada por el cliente: ID Usuario, cultivo / variedad, departamento, municipio, vereda, finca, georeferenciación.

La presente muestra fue allegada al laboratorio bajo factura ICA N° 020220062508 emitida por la seccional Santander.

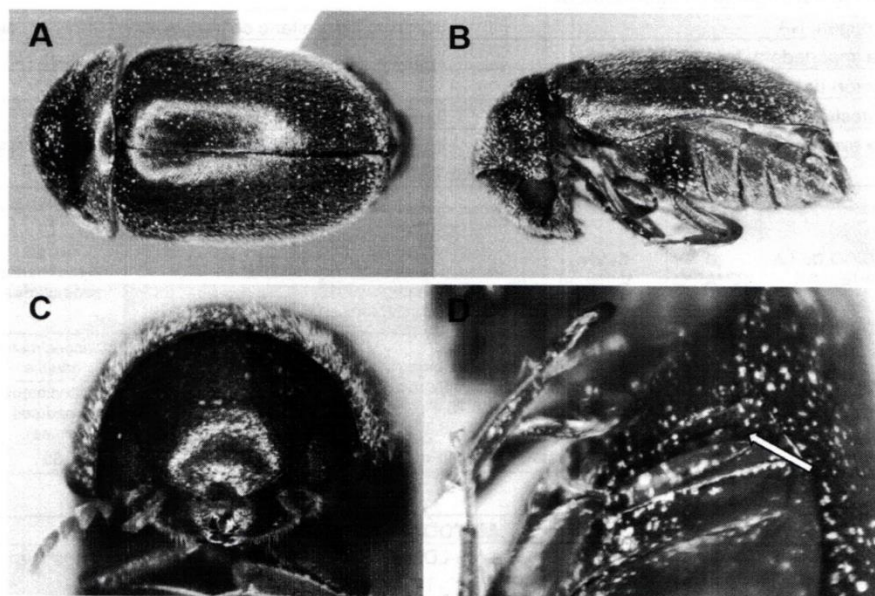
ANEXOS**Anexo 1. Reporte R4122M0000022 de la muestra M41220000109**

Figura 1. *Lasioderma serricornis*. A. Habitus dorsal. B. Habitus lateral. C. Detalle de la cabeza en vista frontal. D.

EFECTO REPELENTE DE ACEITES ESENCIALES Y FRACCIONES

 <p>ICA Instituto Colombiano Agropecuario</p>	<p>INSTITUTO COLOMBIANO AGROPECUARIO - ICA LABORATORIO DE DIAGNÓSTICO FITOSANITARIO BUCARAMANGA- SANTANDER REPORTE DE RESULTADOS</p>
Continuación: N° reporte: R4122M0000022	N° solicitud: S4122M0000014
Detalle de la coxa posterior. La flecha indica una excavación profunda que recibe al fémur posterior.	
	
<p>Figura 2. <i>Lasioderma serricornis</i>. Especimen de una larva en vista dorsal.</p>	

Apéndice B. Aval del Comité de Ética en Investigación Científica (CEINCI).

4110

Bucaramanga, 9 de septiembre de 2022

Estudiante
JOHANNA CATALINA ROSERO ROSERO
Maestría en Química
Escuela de Química
Facultad de Ciencias

Asunto: Aval Comité de Ética proyecto “Evaluación del efecto repelente contra *Lasioderma serricornis* de aceites esenciales de *Cymbopogon martinii*, *C. winterianus*, *Lippia origanoides* y sus fracciones”.

Cordial Saludo.

El Comité de Ética en Investigación Científica de la Universidad Industrial de Santander (CEINCI) en reunión celebrada bajo la modalidad presencial remota el día 9 de septiembre de 2022, según consta en el Acta N° 15 evaluó los ajustes realizados al proyecto del asunto y al respecto conceptúa:

En consideración a que el proyecto cumple con todos los requerimientos, el Comité de Ética acordó, por consenso, **APROBAR** el documento digital en su última versión.

De igual manera, aplicar según corresponda a la investigación, la normatividad del Sistema de Gestión Integral de la Universidad, que está disponible en el enlace: <https://www.uis.edu.co/intranet/calidad/calidad.jsp>, especialmente lo relacionado con el Manual de Gestión Integrado.

Así mismo, realizar los trámites y/o permisos necesarios para la recolección de los microorganismos o muestras requeridas para la investigación.

EFECTO REPELENTE DE ACEITES ESENCIALES Y FRACCIONES



4110

Finalmente, nos permitimos señalar que, durante el proceso de seguimiento que realiza el CEINCI se verificará el cumplimiento de las consideraciones éticas.

En nombre del CEINCI-UIS le ofrecemos el apoyo que usted considere necesario, para la aplicación y salvaguarda de los asuntos éticos durante la investigación.

Tabla de trazabilidad de la propuesta de investigación:

R	Ev	C	Ec	R2	Ev2	C2
19/8/22	26/8/22	P	30/8/22	2/9/22	9/9/22	A

Convenciones de la tabla de trazabilidad:

R: Remisión de documentos o respuesta del investigador.

Ev: Evaluación del CEINCI.

C: Concepto del CEINCI.

Ec: Entrega de carta del CEINCI al investigador.

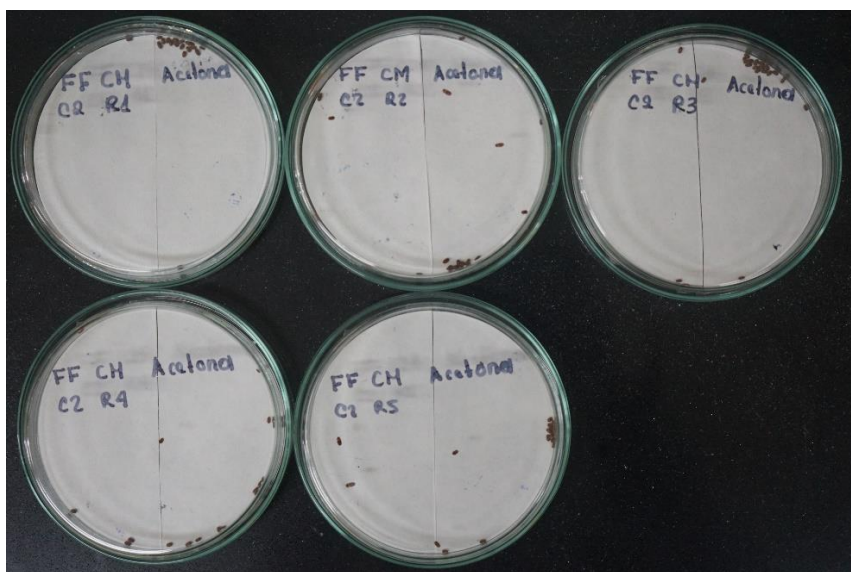
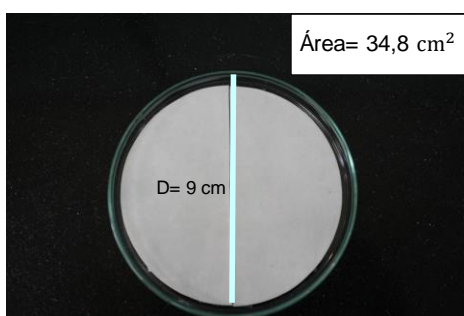
P: Pendiente.

A: Aprobado.

EFECTO REPELENTE DE ACEITES ESENCIALES Y FRACCIONES

Apéndice C. Cultivo experimental de *L. serricorne* y ensayo de repelencia.

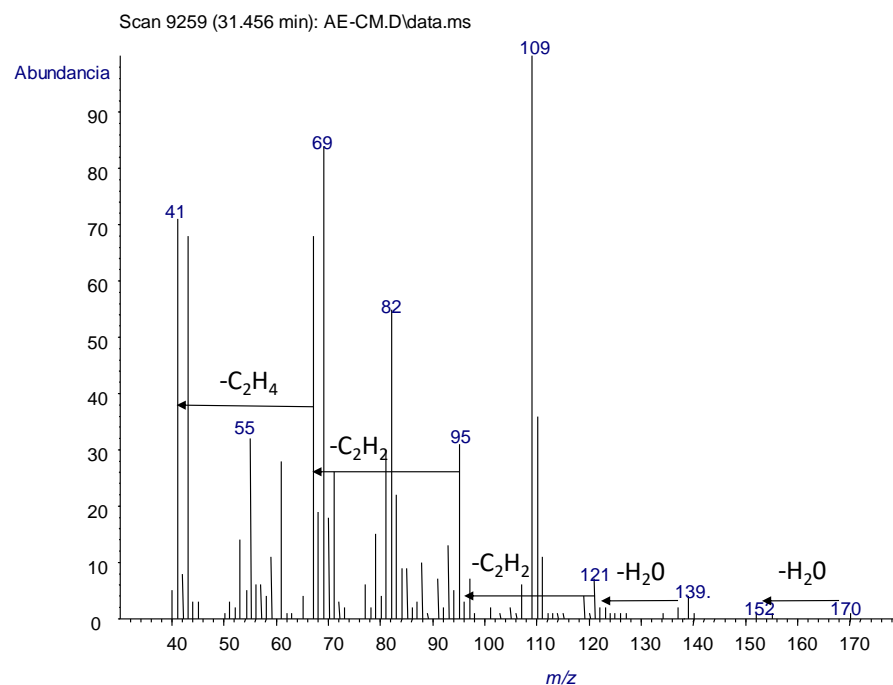
Cultivo experimental *L. serricorne* (*Ptinidae*): Frasco de vidrio (a) y caja Petri (b) con harina y cebada en granos. c. Insecto adulto. Fotografías tomadas por la autora, Johanna Rosero en el CENIVAM (UIS, Bucaramanga).



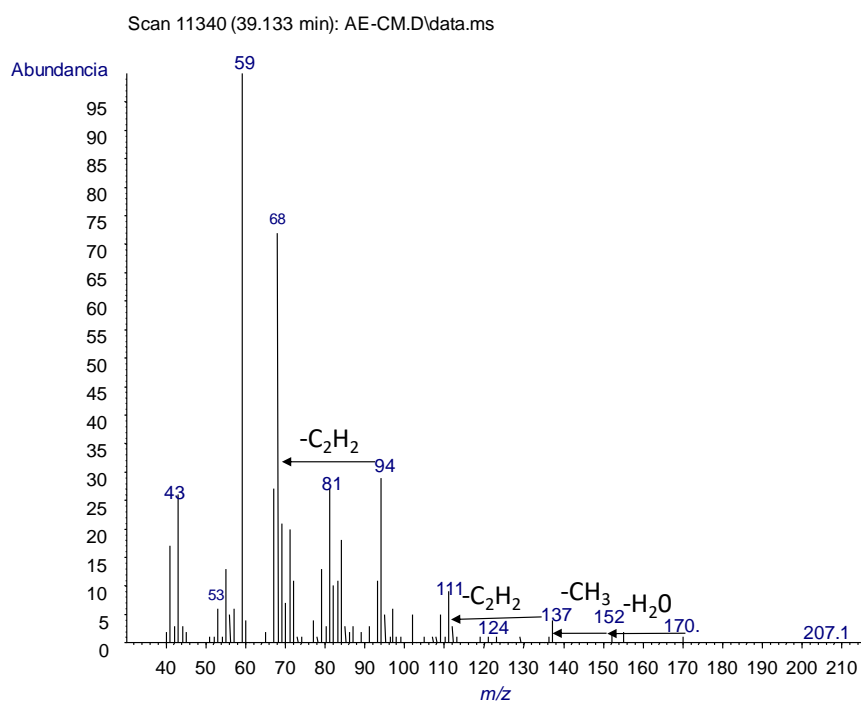
Montaje experimental del ensayo de repelencia con la fracción FF de *C. martinii*. Fotografías tomadas por la autora, Johanna Rosero en el CENIVAM (UIS, Bucaramanga).

EFECTO REPELENTE DE ACEITES ESENCIALES Y FRACCIONES

Apéndice D. Espectro de masas del compuesto no identificado con N° de pico 12 (tR=34.46 min, IRL=1332) del AE de *C. martinii*. Columna DB5-MS



Apéndice E. Espectro de masas del compuesto no identificado con N° de pico 22 (tR=34.46, IRL=1553) del AE de *C. martinii*. Columna DB5-MS



Apéndice F. Pruebas de múltiples rangos para los AE encapsulados de las especies bajo estudio.

Tabla F1. Prueba de rangos múltiples para A_i/A_{istd} por día de almacenamiento en el AE encapsulado de *C. martinii*

<i>Día de almacenamiento</i>	<i>Casos</i>	<i>Media LS</i>	<i>Sigma LS</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
90	12	0,666577	0,079509	X
60	12	1,07797	0,079509	X
30	12	1,31558	0,079509	X
7	12	1,42527	0,079509	X
15	12	1,43732	0,079509	X
3	12	1,74386	0,079509	X
0	12	1,98411	0,079509	X

Tabla F2. Prueba de rangos múltiples para A_i/A_{istd} por familia de compuestos en el AE encapsulado de *C. martinii*

<i>Familia de compuestos</i>	<i>Casos</i>	<i>Media LS</i>	<i>Sigma LS</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
CO	21	0,0018977	0,0601031	X
HM	21	0,08071	0,0601031	X
HS	21	0,107866	0,0601031	X
MO	21	5,3242	0,0601031	X

Tabla F3. Prueba de rangos múltiples para A_i/A_{istd} por día de almacenamiento de compuestos en el AE encapsulado de *C. winterianus*.

<i>Día de encapsulación</i>	<i>Casos</i>	<i>Media LS</i>	<i>Sigma LS</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
90	18	0,204419	0,0651307	X
60	18	0,486971	0,0651307	X
15	18	0,995091	0,0651307	X
7	18	1,32916	0,0651307	X
3	18	1,3975	0,0651307	X
0	18	2,66388	0,0651307	X

EFECTO REPELENTE DE ACEITES ESENCIALES Y FRACCIONES

Tabla F4. Prueba de rangos múltiples para para A_i/A_{istd} por familia de compuestos en el AE encapsulado de *C. winterianus*

<i>Familia de compuestos</i>	<i>Casos</i>	<i>Media LS</i>	<i>Sigma LS</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
CO	18	0,0109735	0,0651307	X
HM	18	0,0292771	0,0651307	X
TF	18	0,0462189	0,0651307	X
SO	18	0,117931	0,0651307	X
HS	18	1,27097	0,0651307	X
MO	18	5,60165	0,0651307	X

Tabla F5. Prueba de rangos múltiples para para A_i/A_{istd} por día de almacenamiento de los compuestos en el AE encapsulado de *L. organoides*.

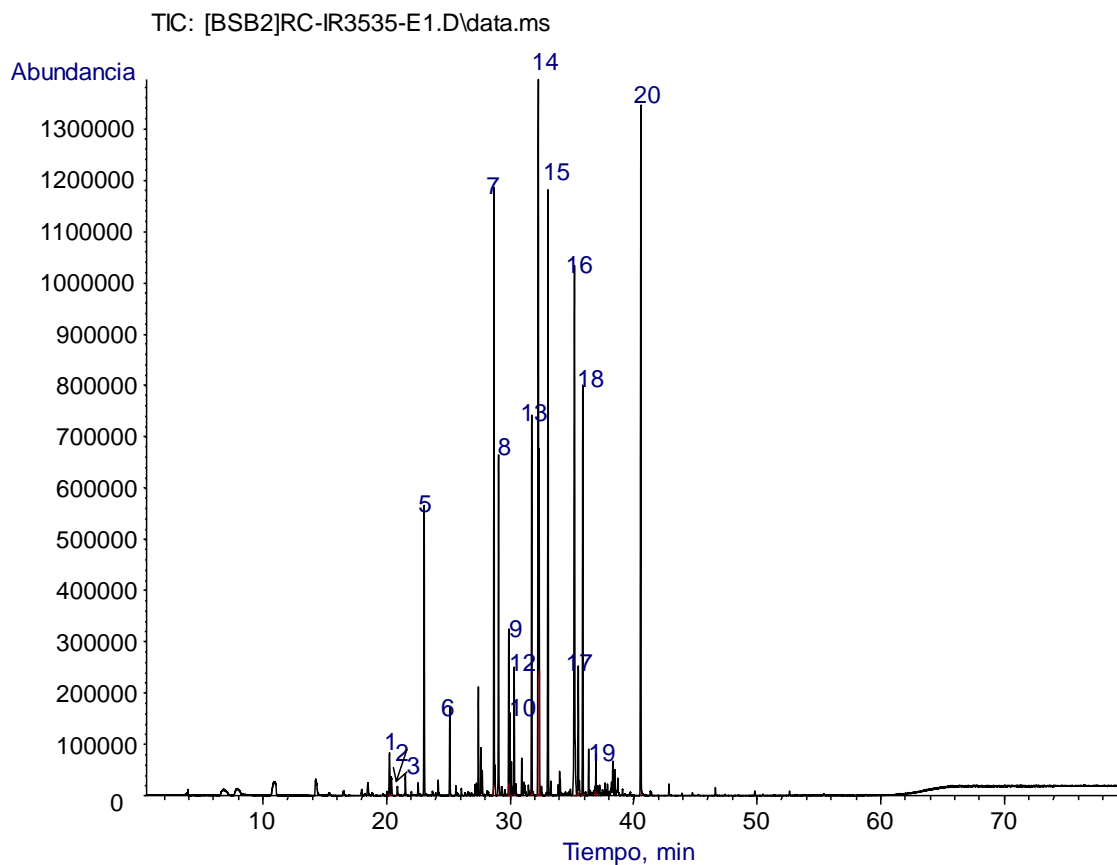
<i>Día de almacenamiento</i>	<i>Casos</i>	<i>Media LS</i>	<i>Sigma LS</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
60	12	0,169247	0,126805	X
90	12	0,18408	0,126805	X
30	12	0,239795	0,126805	X
15	12	0,314862	0,126805	XX
7	12	0,644127	0,126805	X
3	12	1,10433	0,126805	X
0	12	3,11233	0,126805	X

Tabla F6. Prueba de rangos múltiples para para A_i/A_{istd} por familia de compuestos en el AE encapsulado de *L. organoides*.

<i>Familia de compuestos</i>	<i>Casos</i>	<i>Media LS</i>	<i>Sigma LS</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
CO	18	0,0109735	0,0651307	X
HM	18	0,0292771	0,0651307	X
TF	18	0,0462189	0,0651307	X
SO	18	0,117931	0,0651307	X
HS	18	1,27097	0,0651307	X
MO	18	5,60165	0,0651307	X

EFECTO REPELENTE DE ACEITES ESENCIALES Y FRACCIONES

Apéndice G. Perfil cromatográfico obtenido por HS-SPME-GC/MS (full scan) del repelente comercial utilizado en los ensayos de repelencia. Columna DB-5MS (60 m), inyección *split* 1:30, MSD (EI, 70 eV). Véase la identificación de los picos en el Apéndice H.



Apéndice H. Cantidad relativa (%) de los componentes del repelente comercial utilizado en los ensayos de repelencia.

N°	t _R , min	Compuesto	ÍNDICES DE RETENCIÓN LINEALES		Área relativa, %, GC/MS
			DB-5MS		
			Exp.	Lit.	
1	20,22	Limoneno ^{a,b,c}	1034	1030 [1]	1,2
2	20,36	Eucaliptol ^{a,b,c}	1037	1032 [1]	0,7
3	20,86	(E)-β-Ocimeno ^{a,b}	1049	1048 [1]	0,2
4	22,54	Terpinoleno ^{a,b}	1089	1087 [1]	0,3
5	23,04	Linalol ^{a,b,c}	1101	1099 [1]	6,0
6	25,12	Alcanfor ^{a,b}	1155	1143 [1]	1,6
7	28,71	Acetato de linalilo ^{a,b}	1251	1255 [1]	10,3
8	29,08	Propanoato de bencilo ^{a,b}	1261	1257 [1]	5,2
9	29,91	Acetato de (Z)-β-terpenilo ^{a,b}	1284	-	2,7
11	30,13	Acetato de bornilo ^{a,b}	1290	1284 [1]	0,5
13	31,78	Acetato de 4-tert-butilciclohexilo ^{a,b}	1334	1339 [2]	14,9
14	32,32	Acetato de α-terpenilo ^{a,b}	1349	1347 [1]	5,3
15	33,11	Acetato de 4-tert-butilciclohexilo isómero ^{a,b}	1370	-	12,1
16	35,25	α-Cedreno ^{a,b}	1430	1412 [1]	14,1
17	35,57	β-Cedreno ^{a,b}	1438	1422 [1]	2,3
18	35,93	(Z)-Tujopseno ^{a,b}	1449	1432 [1]	6,8
19	36,99	Metil γ-ionona ^{a,b}	1479	1478 [3]	0,7
20	40,64	N-Propoxicarbonil butilester l-isoleucina ^{a,b}	1505	-	13,4

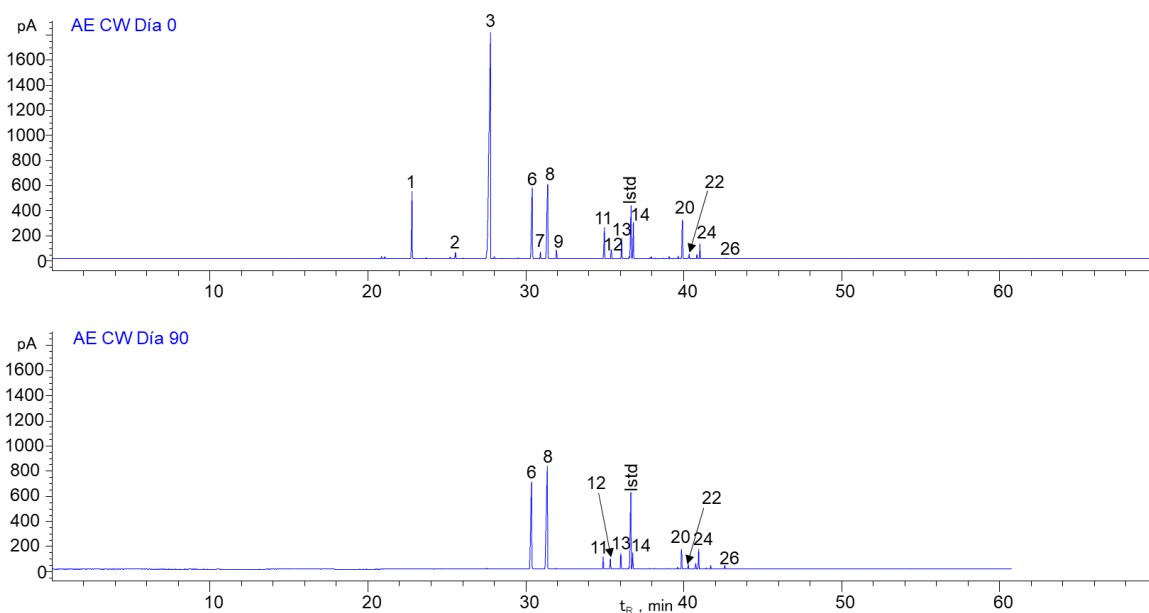
^a Identificación tentativa basada en los espectros de masas (MS, EI, 70 eV, coincidencia > 90%).

^b Identificación tentativa basada en los índices de retención lineales en columna DB-5MS (Babushok *et al.*, (2011); Mondello, L., (2012) [2]; El-Sakhawy *et al.*, (1998) [3])

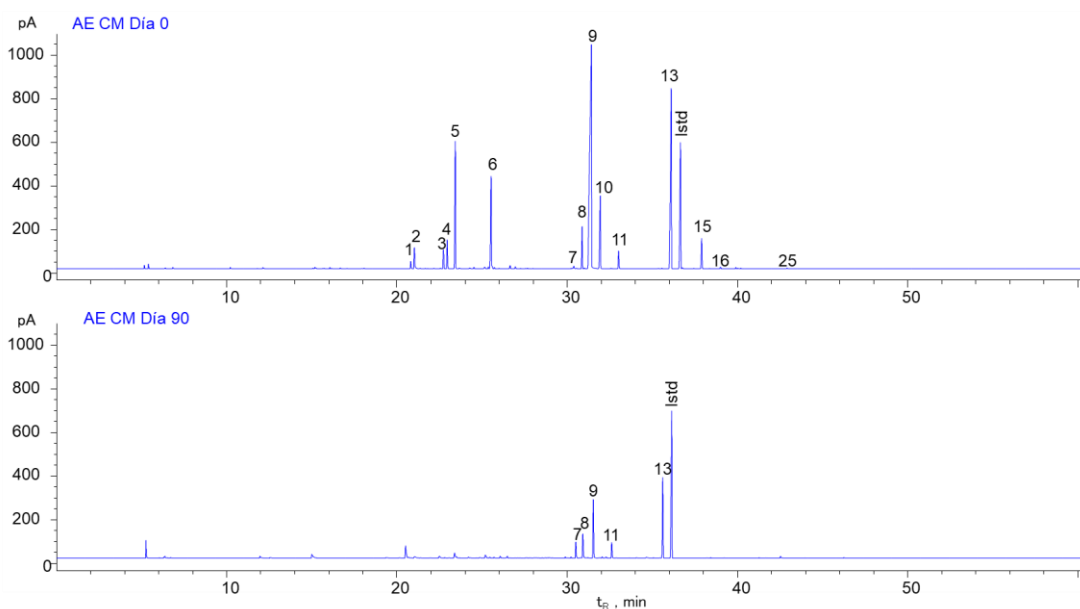
^c Identificación confirmatoria por MS e IRL usando sustancias de referencia certificadas.

EFECTO REPELENTE DE ACEITES ESENCIALES Y FRACCIONES

Apéndice I. Perfiles cromatográficos obtenidos por HS-SPME-GC/FID del AE sin encapsular de *C. winterianus* los días 0 y 90 de almacenamiento. Columna DB-5MS (60 m), inyección *split* 1:30.

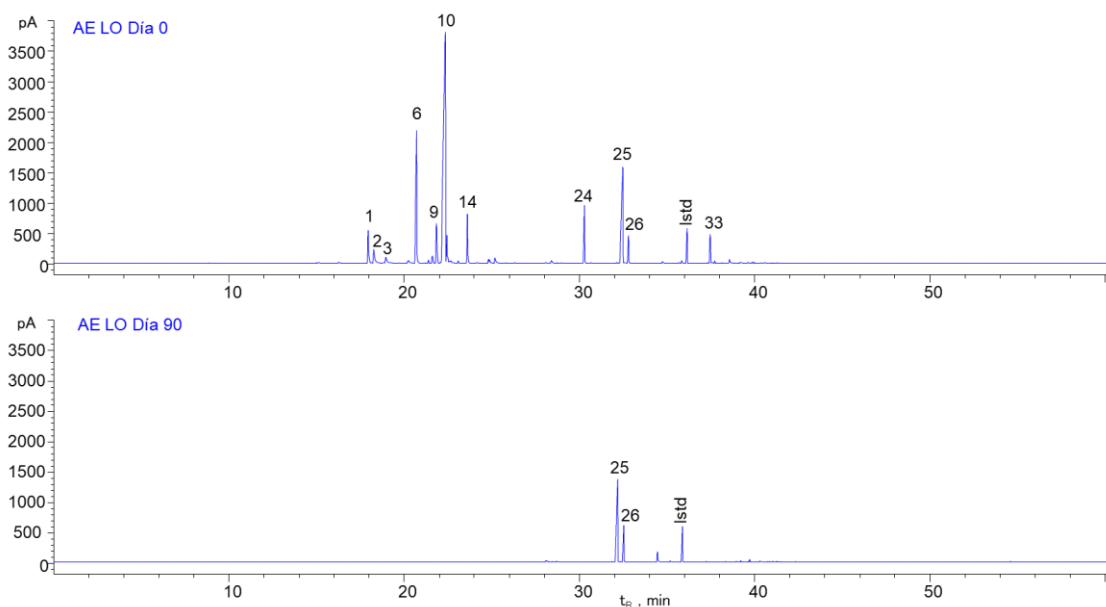


Apéndice J. Perfiles cromatográficos obtenidos por HS-SPME-GC/FID del AE sin encapsular de *C. martinii* los días 0 y 90 días de almacenamiento. Columna DB-5MS (60 m), inyección *split* 1:30.



EFECTO REPELENTE DE ACEITES ESENCIALES Y FRACCIONES

Apéndice K. Perfiles cromatográficos obtenidos por HS-SPME-GC/FID del AE sin encapsular de *L. origanoides* los días 0 y 90 días de almacenamiento. Columna DB-5MS (60 m), inyección *split* 1:30.



Apéndice L. Perfiles cromatográficos obtenidos por HS-SPME-GC/FID del polímero PEG los días 0 y 90 de almacenamiento. Columna DB-5MS (60 m), inyección *split* 1:30.

