



**TECNOLÓGICO
NACIONAL DE MÉXICO**



TECNOLÓGICO NACIONAL DE MÉXICO

INSTITUTO TECNOLÓGICO DE TEPIC

**SELECCIÓN REOLÓGICA Y VALIDACIÓN MEDIANTE SECADO POR
ASPERSIÓN DE DIFERENTES MATERIALES DE PARED APLICADOS EN LA
MICROENCAPSULACIÓN DE UN EXTRACTO ACUOSO (*Hibiscus sabdariffa*)
Y UNA EMULSIÓN (Bioinsecticida).**

TESIS PROPUESTA A LA

DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN

COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO DE:

MAESTRO EN CIENCIAS EN ALIMENTOS

PRESENTA:

IQ. LUIS JAVIER GÁMEZ SÁNCHEZ

DIRECTOR:

DRA. MARTINA ALEJANDRA CHACÓN LÓPEZ

CO-DIRECTOR:

DRA. ROSA ISELA ORTIZ BASURTO

Tepic, Nayarit, México

Diciembre, 2022



EDUCACIÓN
SECRETARÍA DE EDUCACIÓN PÚBLICA



INSTITUTO TECNOLÓGICO NACIONAL DE MÉXICO

Instituto Tecnológico de Tepic
División de Estudios de Posgrado e Investigación

Tepic, Nayarit. 08 /dic/2022

CONSEJO DE LA MAESTRÍA EN CIENCIAS EN ALIMENTOS
No. Oficio CMCA 2022-34.

MC LUZ DEL CARMEN ROMERO ISLAS
JEFE DE LA DIV. DE EST. DE POSG. E INV.
INSTITUTO TECNOLÓGICO DE TEPIC
P R E S E N T E

Por este conducto comunico a usted que el Consejo de la Maestría en Ciencias en Alimentos ha designado como revisores de la tesis de la alumna I.Q. LUIS JAVIER GÁMEZ SÁNCHEZ, con número de control **M12400221**, cuyo título es **SELECCIÓN REOLÓGICA Y VALIDACIÓN MEDIANTE SECADO POR ASPERSIÓN DE DIFERENTES MATERIALES DE PARED APLICADOS EN LA MICROENCAPSULACIÓN DE UN EXTRACTO ACUOSO (Hibiscus sabdariffa) Y UNA EMULSIÓN (Bioinsecticida)** a los miembros que a continuación se enlistan, mismos que han evaluado y aprobado el contenido del manuscrito para obtener el grado de Maestro en Ciencias en Alimentos y que firman de conformidad.

Ulises Miguel López García 
(Vocal)

Dra. Efigenia Montalvo González 
(Vocal suplente)

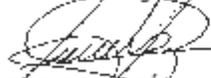
Dra. Rosa Isela Ortiz Basurto 
(Secretario)

Dra. Martina Alejandra Chacón López 
(Presidente)

Agradeciendo de antemano la atención prestada a la presente, aprovecho la ocasión para enviarle un cordial saludo.

ATENTAMENTE

"Sabiduría tecnológica. Pasión por Nuestro Espíritu"


DR. PORFIRIO GUTIÉRREZ MARTÍNEZ
PRESIDENTE DEL CONSEJO DE MAESTRÍA EN
CIENCIAS EN ALIMENTOS

c.c.p. Expediente



Av. Tecnológico #2595 Fracc. Lagos del Country C.P.63175 Tepic, Nayarit. Tel.
01 (311) 2119400

y 2119401 e-mail: info@ittpic.edu.mx tecnm.mx | tepic.tecnm.mx



Instituto Tecnológico de Tepic
División de Estudios de Posgrado e Investigación

Tepic, Nayarit, **06/diciembre/2022**

No. Oficio: 25-689-2022

Asunto: Constancia Originalidad de Trabajo de Tesis

A QUIEN CORRESPONDA:

Por medio de la presente se CERTIFICA que una vez analizado mediante el uso del Software PLAGIARISM v. 1740, el trabajo de tesis "SELECCIÓN REOLÓGICA Y VALIDACIÓN MEDIANTE SECADO POR ASPERSIÓN DE DIFERENTES MATERIALES DE PARED APLICADOS EN LA MICROENCAPSULACIÓN DE UN EXTRACTO ACUOSO (*Hibiscus sabdariffa*) Y UNA EMULSIÓN (Bioinsecticida)," para obtener el grado de Maestro (a) en Ciencias en Alimentos del **C. I.Q. LUIS JAVIER GÁMEZ SÁNCHEZ** con numero de control **M12400221** cuenta con un nivel de **originalidad Aceptable** según lo definido en el Procedimiento para Verificación de Originalidad, por lo cual se determina que no constituye un plagio.

Es importante mencionar que de los trabajos de tesis se publican artículos en revistas Indizadas y/o arbitradas por lo que las técnicas utilizadas son citadas frecuentemente.

Se extiende la presente para los fines que mejor convengan al interesado.

Sin mas por el momento envío saludos cordiales

ATENTAMENTE

Excelencia en Educación Tecnológica®
Sabiduría Tecnológica, Pasión de nuestro espíritu®


MANUEL ANGEL URIBE VÁZQUEZ
DIRECTOR




Ccp. Archivo DEPI



Av. Tecnológico #2595 Fracc. Lagos del Country C.P.63175 Tepic, Nayarit. Tel. 01 (311) 2119400
y 2119401 e-mail: info@ittepic.edu.mx tecnm.mx | tepic.tecnm.mx



Detector de plagio v. 1921 - Informe de originalidad 05/12/2022 02:47:48 p.

Documento analizado: TESIS MCA LUIS GAMEZ SANCHEZ DICIEMBRE-2022 .pdf Licenciado para: Roberto Enriquez_License2

Preajuste de comparación: Palabra a palabra Idioma detectado: Es

Tipo de verificación: Control de internet
[tee_and_enc_string] [tee_and_enc_value]

Análisis detallado del cuerpo del documento:

Tabla de relaciones:

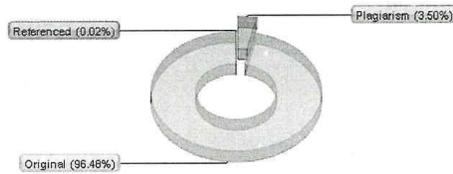


Gráfico de distribución:



Principales fuentes de plagio: 46

| | | |
|------|------|---|
| → 6% | 1318 | 1. https://shsfeap1.pdc-gate2.com/get_doc.php?id=7795/MTAuMTAwMTI85NzgxMTE4NDYyMTU3.txt |
| → 2% | 338 | 2. https://repositorio.uam.es/bitstream/handle/10486/687350/gimeno_perez_maria.pdf?sequence=1 |
| → 1% | 406 | 3. https://shsfeap1.pdc-gate2.com/get_doc.php?id=8421/MTAuMTA4MjYyMTE4NDYyMTU3.txt |

Detalles de recursos procesados: 157 - Okay / 25 - Ha fallado

Notas importantes:

| Wikipedia: | Libros de Google: | Servicios de escritura fantasma: | Anti-trampa: |
|----------------|-------------------|----------------------------------|----------------|
| | | | |
| [no detectado] | [no detectado] | [no detectado] | [no detectado] |

[uace_headline]

[uace_line1]
 [uace_line2]
 [uace_line3]
 [uace_line4]
 [uace_line5]

[uace_line_recommendation_title]
 [uace_line_recommendation]



EDUCACIÓN
SECRETARÍA DE EDUCACIÓN PÚBLICA



TECNOLÓGICO
NACIONAL DE MÉXICO

Instituto Tecnológico de Tepic
División de Estudios de Posgrado e Investigación

Tepic, Nayarit, **08/diciembre/2022**
No. Oficio: 25-700-2022
Asunto: Autorización de impresión

I.Q. LUIS JAVIER GÁMEZ SÁNCHEZ
CANDIDATO AL GRADO DE MAESTRO EN CIENCIAS EN ALIMENTOS
P R E S E N T E

De acuerdo con los Lineamientos para la Operación de los Estudios de Posgrado en el Tecnológico Nacional de México y las disposiciones en este Instituto, habiendo cumplido con todas las indicaciones que la Comisión Revisora realizó con respecto a su Trabajo de Tesis titulado "SELECCIÓN REOLÓGICA Y VALIDACIÓN MEDIANTE SECADO POR ASPERSIÓN DE DIFERENTES MATERIALES DE PARED APLICADOS EN LA MICROENCAPSULACIÓN DE UN EXTRACTO ACUOSO (*Hibiscus sabdariffa*) Y UNA EMULSIÓN (Bioinsecticida), la División de Estudios de Posgrado e Investigación de este Instituto, concede la Autorización para que proceda a la impresión del mismo.

Sin otro particular, quedo de Usted.



ATENTAMENTE

Excelencia en Educación Tecnológica
Sebiduría Tecnológica. Pasión de Número. Espíritu.

SECRETARÍA DE EDUCACIÓN PÚBLICA
**INSTITUTO TECNOLÓGICO
DE TEPIC**
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE
POSGRADO E INVESTIGACIÓN

M.C. LIZ DEL CARMEN ROMERO ISLAS
JEFE DE DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN

ccp. Coordinación de la Maestría en Ciencias en Alimentos
Archivo



Av. Tecnológico #2595 Fracc. Lagos del Country C.P.63175 Tepic, Nayarit. Tel. 01 (311) 2119400
y 2119401 e-mail: info@ittpic.edu.mx tecnm.mx | tepic.tecnm.mx



2022 Flores
AN. 31
Magón



EDUCACIÓN
SECRETARÍA DE EDUCACIÓN PÚBLICA



TECNOLÓGICO
NACIONAL DE MÉXICO

TECNOLÓGICO NACIONAL DE MÉXICO
INSTITUTO TECNOLÓGICO DE TEPIC
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN
POSGRADO EN CIENCIAS EN ALIMENTOS

ASUNTO: CARTA DE SESIÓN DE DERECHOS

En la ciudad de Tepic, Nayarit., el mes de Diciembre del 2022, el que suscribe alumno **LUIS JAVIER GÁMEZ SÁNCHEZ** del Programa de **MAESTRIA EN CIENCIAS EN ALIMENTOS** con número de control. **M12400221**, manifiesta que todos los resultados derivados de sus estudios de posgrado y realizados bajo la dirección de la **DR(A). MARTINA ALEJANDRA CHACÓN LÓPEZ** pertenece al Tecnológico Nacional de México/Instituto Tecnológico de Tepic, por lo que cedo los derechos de los mismos a este instituto con fines académicos y de investigación. Así mismo manifiesto que es de mi conocimiento que si de estos resultados se originan patentes o publicaciones, participaré como coautor y de los beneficios que se deriven.

I.Q. LUIS JAVIER GÁMEZ SÁNCHEZ

AGRADECIMIENTOS

Quiero dar las gracias a todas las personas que hicieron posible el desarrollo de este proyecto, a los Doctores del Tecnológico Nacional de México / Instituto tecnológico de Tepic, a mis compañeros que compartieron día con día mis dudas y problemas, que me ayudaron en mis experimentos, en su desarrollo y análisis. Que más que ser compañeros nos convertimos en amigos.

Agradezco a la empresa Altus Biopharm por todo su apoyo, consejos y financiamiento para el desarrollo de este proyecto con vinculación industrial y a todo su equipo que colaboro con el desarrollo de las diferentes pruebas en donde participaron.

A toda mi familia por apoyarme directa o indirectamente con esta meta, estando presentes con sus muestras de amor y afecto. A mis amigos del alma que siempre estuvieron ahí, escuchando mis avances de tesis aun sin ser de la misma área de estudios y siempre dando palabras de aliento.

Agradezco y dedico este proyecto a mi mascota Niky que está en cielo, que se fue de este mundo durante este camino de proyecto, que siempre se desveló acostada en mis piernas mientras avanzaba mi tesis, que todos los días me entregaba su amor y me hizo sentir que todo lo puedo, muchas gracias por todo lo que me diste siempre, nunca te olvidare mi pequeña hija.

Por último y el más importante, a mi compañera eterna, a mi novia y amiga María Guadalupe Orozco Carrillo que siempre ha estado en todos los momentos buenos y difíciles en mi vida, que siempre tiene la palabras de aliento y consejos correctos para no dejarme caer, que estuvo día y noche ayudando con mis experimentos de sacado, aquella persona que siempre me dio luz para seguir avanzando en mi camino de vida y en este proyecto, que con su amor incondicional me dio la serenidad y motivación para obtener estos grandes resultados de proyecto de investigación. Que la vida nos llene de eternidad porque coincidir en esta vida es lo mejor que me paso y confié en que todas las vidas que sigan nos volveremos a encontrar, gracias siempre y por todo mi sunshine.

ÍNDICE

| | |
|---|-----|
| LISTA DE CUADROS..... | I |
| LISTA DE FIGURAS | II |
| RESUMEN..... | III |
| ABSTRACT | IV |
| LISTA DE ABREVIATURAS | V |
| CAPÍTULO 1. INTRODUCCIÓN | 1 |
| CAPÍTULO 2. ANTECEDENTES..... | 3 |
| 2.1 Los plaguicidas y su clasificación. | 3 |
| 2.2 Problemáticas del uso de plaguicidas sintéticos..... | 4 |
| 2.3 Generalidades de los bioplaguicidas | 5 |
| 2.3.1 Plaguicidas de origen microbiano | 6 |
| 2.4 <i>Streptomyces spp</i> | 7 |
| 2.5. Secado por aspersión de bioformulaciones | 10 |
| 2.6 Microencapsulación..... | 11 |
| 2.6.1 Técnicas de Microencapsulación | 12 |
| 2.7 Biopolímeros como materiales de pared..... | 13 |
| 2.7.1 Quitosano..... | 14 |
| 2.7.2 Alginato de sodio | 15 |
| 2.7.3 Fructanos de agave | 15 |
| 2.8 Reología en los alimentos | 17 |
| CAPÍTULO 3. JUSTIFICACIÓN | 0 |
| CAPÍTULO 4. OBJETIVOS..... | 21 |
| 4.1 Objetivo General | 21 |
| 4.2 Objetivos específicos | 21 |
| CAPÍTULO 5. HIPÓTESIS | 22 |
| CAPÍTULO 6. MATERIALES Y MÉTODOS..... | 22 |
| 6.1. Materiales..... | 22 |
| 6.2 Metodología general..... | 22 |
| 6.2.1 Caracterización de los biopolímeros, las mezclas y del bioinsecticida | 23 |

| | |
|---|-----------|
| 6.2.1.1 Preparación de extracto, soluciones y mezclas de los biopolímeros. | 23 |
| 6.2.1.2 Propiedades reológicas de los biopolímeros y sus mezclas..... | 25 |
| 6.2.1.3 Caracterización del bioinsecticida | 27 |
| 6.2.1.4 Análisis reológico del bioinsecticida..... | 27 |
| 6.2.1.5 Determinación de las propiedades fisicoquímicas del bioinsecticida | 27 |
| 6.2.2 Validación y optimización de los materiales de pared mediante el secado por aspersión (SA) | 28 |
| 6.2.2.1 Caracterización de microencapsulados..... | 30 |
| 6.2.2.2 Actividad de agua..... | 31 |
| 6.2.2.3 Rendimiento de polvos..... | 31 |
| 6.2.2.4 Densidad a granel..... | 31 |
| 6.2.2.5 Densidad compactada..... | 32 |
| 6.2.2.6 Índice de Hausner | 32 |
| 6.2.2.7 Compresibilidad..... | 32 |
| 6.2.2.8 Solubilidad..... | 32 |
| 6.2.2.9 Microscopía electrónica de barrido (SEM) | 33 |
| 6.2.2.10 Espectroscopía Infrarroja (FTIR) | 33 |
| 6.2.2.11 Análisis Termogravimétrico (TGA) | 33 |
| 6.2.3 Secado por aspersión del bioinsecticida y su optimización de proceso | 34 |
| 6.2.3.1 Optimización del secado por aspersión del bioinsecticida | 35 |
| 6.2.3.2 Caracterización de las mejores microcápsulas de bioinsecticida..... | 36 |
| 6.2.3.3 Cromatografía líquida de alta eficiencia (HPLC-DAD) | 36 |
| 6.2.3.4 Análisis Termogravimétrico (TGA) | 37 |
| 6.2.3.5 Distribución de tamaño de partícula (PSD)..... | 37 |
| 6.2.4 Evaluación contra plaga blanco | 37 |
| CAPÍTULO 7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN..... | 39 |
| 7.1 Primera etapa: Caracterización de bioinsecticida, biopolímeros y las mezclas | 39 |
| 7.1.1 Preparación de las soluciones y mezclas de los biopolímeros..... | 39 |
| 7.1.2 Pruebas reológicas de los polímeros y las mezclas | 40 |
| 7.1.3 Pruebas reológicas del bioinsecticida | 49 |
| 7.1.4 Propiedades fisicoquímicas del bioinsecticida..... | 52 |

| | |
|---|----|
| 7.2 Validación y optimización de los materiales de pared mediante secado por aspersión | 53 |
| 7.2.1 Validación de los materiales de pared en una matriz acuosa (Extracto de jamaica) | 53 |
| 7.2.1.1 Microscopía electrónica de barrido de mejores microcápsulas diseño experimental $3^{(3-1)} 1/3$ | 55 |
| 7.1.1.2 Espectroscopía Infrarroja (FTIR) de las microcápsulas de jamaica | 58 |
| 7.1.1.3 Distribución de tamaño de partícula (PSD) microcápsulas de jamaica..... | 61 |
| 7.1.1.4 Análisis Termogravimétrico (TGA) de las mejores microcápsulas de jamaica .. | 63 |
| 7.2.2 Validación de los materiales de pared en una matriz oleosa (Bioinsecticida) | 67 |
| 7.3 Secado por aspersión (SA) del bioinsecticida y optimización del proceso. | 69 |
| 7.3.1 Secado del bioinsecticida con el diseño 4x2 | 69 |
| 7.3.2 Secado del bioinsecticida con el diseño 2^3 | 71 |
| 7.3.2.1 Microscopía electrónica de barrido (SEM) de las microcápsulas de bioinsecticida..... | 73 |
| 7.3.2.2 Cromatografía líquida de alta eficiencia (HPLC-DAD) | 76 |
| 7.3.2.3 Análisis termogravimétrico (TGA) del bioinsecticida y las mejores microcápsulas | 77 |
| 7.3.2.4 Distribución de tamaño de partícula..... | 80 |
| 7.4 Evaluación de la mortalidad de las plagas blanco..... | 81 |
| 7.4.1 Mortalidad contra las plagas blanco <i>Tetranychus urticae</i> y <i>Polyphagotarsonemus latus</i> | 82 |
| 7.4.2 Mortalidad contra la plaga blanco <i>Galleria mellonella</i> y <i>Spodoptera frugiperda</i> ... | 84 |
| CAPÍTULO 8. CONCLUSIONES | 84 |
| CAPÍTULO 9. BIBLIOGRAFÍA..... | 89 |

LISTA DE CUADROS

| | |
|---|----|
| Cuadro 2.1. Clasificación de los plaguicidas respecto al organismo que controlan, tipo y acción | 3 |
| Cuadro 2.2. Organismos blanco controlados con la aplicación metabolitos secundarios de <i>Streptomyces spp</i> como compuesto activo en diferentes cultivos de interés..... | 8 |
| Cuadro 2.3 Polímeros empleados en la encapsulación de componentes activos aplicados en la agricultura con actividad insecticida. | 12 |
| Cuadro 6.1. Matriz del diseño de mezclas simplex lattice (3,3) con puntos interiores y centroide. | 24 |
| Cuadro 6.2 Diseño experimental $3^{(3-1)}$ 1/3 propuesto para la optimización del secado por aspersión empleando diferentes temperaturas, mezclas y relaciones de material de pared. | 29 |
| Cuadro 6.3 Diseño experimental 4x2 para la optimización del secado por aspersión del bioinsecticida adicionando AT-2 y AT-3 en diferentes proporciones. | 34 |
| Cuadro 6.4 Diseño experimental 2^3 para la optimización de condiciones de operación en el secado por aspersión | 35 |
| Cuadro 7.1. Cantidad de mL de cada solución para la preparación de las mezclas de la matriz del diseño experimental..... | 39 |
| Cuadro 7.2. Valores de porcentaje de sólidos en la solución y consistencia de los tratamientos..... | 40 |
| Cuadro 7.3. Mejores tratamientos en base a su consistencia..... | 42 |
| Cuadro 7.4. Valores promedio de las propiedades fisicoquímicas del bioinsecticida. | 52 |
| Cuadro 7.5 Optimización del secado por aspersión de un extracto de jamaica evaluando el efecto de la temperatura y los materiales de pared a diferentes mezclas..... | 53 |
| Cuadro 7.6 Propiedades de flujo respecto a la relación de la compresibilidad y el índice de Hausner..... | 55 |
| Cuadro 7.7 Distribución de tamaño de partícula de microcápsulas 0.092%Q:0.092%A:7.146%F Tratamientos (4: Tsecado=110°C) y (5: Tsecado=120°C).. | 62 |
| Cuadro 7.8 Rendimientos de las pruebas preliminares comprobatorias de la efectividad del tratamiento 0.18%Q0.66%A:3.33%F como material encapsulante de una matriz oleosa..... | 68 |
| Cuadro 7.9 Optimización del secado por aspersión del bioinsecticida adicionando con AT-2 y AT-3 como material de pared..... | 69 |
| Cuadro 7.10 Efecto de la temperatura, presión de aspersión y flujo de alimentación sobre el rendimiento y propiedades de las microcápsulas de bioinsecticida..... | 72 |

| | |
|---|----|
| Cuadro 7.11 Distribución de tamaño de partícula de microcápsulas AT-3 (5) y (8) | 80 |
| Cuadro 7.12 Mortalidad de las microcápsulas contra <i>Tetranychus urticae</i> y <i>Polyphagotarsonemus latus</i> | 82 |
| Cuadro 7.13. Mortalidad contra plagas <i>Galleria mellonella</i> y <i>Spodoptera frugiperda</i> | 84 |

LISTA DE FIGURAS

| | |
|--|----|
| Figura 2.1. Distribución del mercado global de los Bioplaguicidas (Adaptado de Mishra <i>et al.</i> , 2015). B: 74%, F: 10%, D: 8%, V: 5% y O: 3%..... | 7 |
| Figura 2.2 Morfología en forma espiroqueta y espiral de <i>Streptomyces spp.</i> | 8 |
| Figura 2.3 Formula química base metabolitos secundarios obtenidos de la fermentación de <i>Streptomyces spp.</i> | 9 |
| Figura 2.4. Morfología de los diferentes tipos de microcápsulas que es posible obtener mediante procesos de microencapsulación (Gharsallaoui, 2007)..... | 12 |
| Figura 2.5. Estructura molecular básica de los fructanos de <i>A. tequilana var. Azul</i> . Tomado de (López <i>et al.</i> , 2003)..... | 16 |
| Figura 2. 6 Comportamiento de flujos, a) Velocidad de corte vs Esfuerzo de corte. b) Velocidad de corte vs Viscosidad. (1) Newtoniano, (2) PseudoPlástico, (3) Plástico y (4) Dilatante..... | 18 |
| Figura 6.2 Comportamiento de la viscosidad a diferentes valores de consistencia (λ) y velocidades de cizalla..... | 26 |
| Figura 6.3. Secador por aspersion Yibu, LPG-5 empleado en el proyecto..... | 29 |
| Figura 7.1 Zona newtoniana de los pseudoplásticos y su comportamiento típico de viscosidad- velocidad de corte. | 42 |
| Figura 7.2 Curvas de flujo de las mezclas con mayor índice de consistencia de acuerdo al modelo de Cross. Mezcla 6: 1.23%A:12.44%F (amarillo), Mezcla 9: 0.184%A:7.146%F (azul), Mezcla 10: 0.092%Q:0.092%A:7.146%F (verde) y Mezcla 12: 0.18%Q:0.66%A:3.33%F (morado). | 43 |
| Figura 7.3. Módulos de almacenamiento (G') (\blacklozenge) y pérdida (G'') (\blacklozenge) de la mezcla 1.23%A:12.44%F..... | 45 |
| Figura 7.4. Módulos de almacenamiento (G') (\bullet) y pérdida (G'') (\circ) de la mezcla 0.184%A:7.146%F. | 46 |
| Figura 7.5. Módulos de almacenamiento (G') (\blacktriangle) y pérdida (G'') (Δ) de la mezcla 0.092%Q:0.092%A:7.146%F..... | 47 |
| Figura 7.6. Módulos de almacenamiento (G') (\blacksquare) y pérdida (G'') (\square) de la mezcla 0.18%Q:0.66%A:3.33%F. | 48 |
| Figura 7.7. Módulos de almacenamiento (G') (\blacktriangle) y pérdida (G'') (Δ) del bioinsecticida. ... | 51 |
| Figura 7.8. Curva de flujo o viscosidad lineal del bioinsecticida. | 51 |
| Figura 7.9. SEM de las microcápsulas de extracto de jamaica. Tratamiento 1.23%A:12.44%F (2). (A y B). | 56 |

| | |
|---|----|
| Figura 7.10. SEM de las microcápsulas de extracto de jamaica. Tratamiento 0.092%Q:0.092%A:7.146%F (5) . (A y B)..... | 57 |
| Figura 7.11. SEM de las microcápsulas de extracto de jamaica. Tratamiento 0.18%Q:0.66%A:3.33%F (8). (A y B)..... | 58 |
| Figura 7.12. FTIR del extracto de jamaica (morado), quitosano (azul), alginato de sodio (rojo) y fructanos de agave (verde)..... | 60 |
| Figura 7.13. FTIR de las microcápsulas de extracto de Jamaica, extracto de jamaica (rojo), 1.23%A:12.44%F (2)(azul), 0.092%Q:0.092%A:7.146%F (5) (café) y 0.18%Q:0.66%A:3.33%F (8) (naranja)..... | 61 |
| Figura 7.14. Distribución de tamaño de partícula de las microcápsulas de jamaica 0.092%Q:0.092%A:7.146%F (4) [T4] y 0.092%Q:0.092%A:7.146%F (5) [T5]. | 63 |
| Figura 7.15. Termogramas de alginato de sodio (A), fructanos de agave (B) y quitosano (C)..... | 65 |
| Figura 7.16. Termogramas de microcápsulas de jamaica. [A] 0.025A:0.975F (2) [B] 0.045Q:0.045A:0.91F (5) y [C] 0.04Q:0.16A:0.8F (8),..... | 67 |
| Figura 7.17. SEM de las microcápsulas AT-3 (5) de bioinsecticida. 250x (A), 500x (B) y 1000x (C) | 74 |
| Figura 7.18. SEM de las microcápsulas AT-3 (8) de bioinsecticida. 250x (A), 500x (B) y 1000x (C) | 75 |
| Figura 7.19. Cromatograma HPLC-DAD de los metabolitos secundarios de fermentación de <i>Streptomyces</i> spp. estándar (A), las microcápsulas AT-3 (5) [B] y AT-3 (8) [C]..... | 77 |
| Figura 7.20. Termograma Bioinsecticida líquido | 78 |
| Figura 7.21. Termogramas de las microcápsulas AT-3 (5) [A] y AT-3 (8) [b]..... | 80 |
| Figura 7.22. Distribución de tamaño de partícula de las microcápsulas AT-3 (5) y AT-3 (8) | 81 |
| Figura 7.23. Ácaro rojo (<i>Tetranychus urticae</i>) testigo (A). Deshidratación de la cutícula (B) y (C). Ácaro blanco (<i>Polyphagotarsonemus latus</i>) testigo (D). Deshidratación de la cutícula (E) y (F)..... | 84 |
| Figura 7.24. Testigo sin aplicar de larva <i>G. mellonella</i> (A). Efectos de las larvas con producto comercial (B) y Necrosamiento por exposición de microcápsulas de bioinsecticida (C) y (D) | 86 |
| Figura 7.25 Testigo sin aplicar de larva de <i>Spodoptera frugiperda</i> (A). Adelgazamiento y deshidratación por efecto de las microcápsulas de bioinsecticida en la larva de <i>Spodoptera frugiperda</i> (B), (C) y (D)..... | 87 |

RESUMEN

La selección reológica de nuevas mezclas poliméricas es una investigación fundamental ya que ha demostrado alta efectividad para direccionar nuevos materiales o mezclas a diferentes procesos. Un ejemplo de ello es la selección de materiales de pared, que mediante pruebas reológicas (pruebas de flujo y perfil viscoelástico) se determina su capacidad para ser aplicados en la encapsulación de compuestos de interés y mediante pruebas de secado se verifica dicha capacidad. Por ello, este proyecto se enfoca en la selección reológica de nuevas mezclas poliméricas y su validación al ser empleados en procesos de secado por aspersión para la microencapsulación de un extracto acuoso (*Hibiscus sabdariffa*) y una emulsión (Bioinsecticida). Como materiales de pared se ensayaron mezclas de quitosano (Q), alginato de sodio (A) y fructanos de agave (F) para la microencapsulación de los compuestos activos, aplicando un diseño de mezclas simplex lattice (3,3) con centroide. Para la selección se realizaron pruebas reológicas, del perfil viscoelástico y flujo y se eligieron las 3 mejores mezclas T6 (1.23%A:12.44%F), T10 (0.092%Q:0.092%A:7.146%F) y T12 (0.18%Q:0.66%A:3.33%F) con base en su viscosidad (μ), consistencia (λ) e interacciones químicas observables mediante los módulos viscoelásticos (G' y G''). Se validó la capacidad de encapsulación de las 3 mezclas con un extracto acuoso de jamaica (*Hibiscus sabdariffa*) y una emulsión (Bioinsecticida), mediante un diseño experimental 3^{3-1} a 3 diferentes temperaturas (110°C, 120°C y 130°C), y 3 proporciones de material de pared (1:3, 1:5 y 1:7). Los mejores tratamientos obtenidos del diseño fueron el 1.23%A:12.44%F (1); 0.092%Q:0.092%A:7.146%F (6) y 0.18%Q:0.66%A:3.33%F (8) de acuerdo con su rendimiento de secado, donde se obtuvieron valores hasta del $82.03 \pm 0.53\%$ con condiciones de operación de 120 °C, 1:7 relación de material de pared y un flujo de 0.8 L/h para el extracto de jamaica. Debido a la presencia de aceites en la formulación bioinsecticida se obtuvo rendimiento máximo de secado de $32.87 \pm 3.54\%$ con T12 (0.18%Q:0.66%A:3.33%F). Por ello, se rediseñó un modelo experimental 4x2, en

donde se incorporaron otros materiales de pared proporcionados por la empresa Althus Biopharm, nombrados como ALTUS-2 (AT-2) y ALTUS-3 (AT-3) que se emplearon como materiales de pared de manera individual y mezclados con T12 (0.18%Q:0.66%A:3.33%F). Los resultados reológicos indicaron que el mejor tratamiento fue AT-3 (4:1) con rendimientos del $85.13\pm 3.50\%$ y un alto índice de mortalidad sobre ácaros de los géneros *Tetranychus urticae* y *Polyphagotarsonemus latus* desde $88.8\pm 1.0\%$ hasta un $96.3\pm 0.57\%$; y con una mortalidad del $50\pm 14.14\%$ al $70\pm 14.14\%$ contra *Galleria mellonella* y *Spodoptera frugiperda*. Se optimizaron las condiciones de operación mediante un diseño experimental 2^3 , con temperaturas de (110 °C y 120 °C), flujos de alimentación al secador (0.6 y 0.8 L/h) y presión de giro de la espina (0.2 y 0.25 Mpa). De acuerdo con los resultados obtenidos se concluyó que las mejores condiciones de operación para garantizar un mayor rendimiento son: 120°C, 0.8 L/h de flujo de alimentación y 0.25 Mpa de presión de giro de la espina. Los tratamientos AT-3 [4:1] que se realizó a temperatura de 110° C, flujo de alimentación de 0.6 L/h y presión de giro de la espina de 0.25 Mpa demostraron ser los mejores tratamientos para el secado por aspersión de un producto bioinsecticida de naturaleza oleosa, alcanzado rendimiento hasta un $90.40\pm 1.08\%$.

ABSTRACT

The rheological selection of new polymeric mixtures is fundamental in the last years since it has demonstrated high effectiveness to direct new materials or mixtures to different processes. An example of this is the selection of wall materials, which by means of rheological tests (flow tests and viscoelastic profile) determine their capacity to be applied in such process and by means of drying tests verify such selection capacity. Therefore, this project presents the rheological selection of new polymeric mixtures and their validation by spray drying of different wall materials applied in the microencapsulation of an aqueous extract (*Hibiscus sabdariffa*) and an emulsion (Bioinsecticide), chitosan (Q), sodium alginate (A) and agave fructans (F) were used for the microencapsulation of the active compounds applying a simplex lattice (3,3) mixture design. Viscoelastic profile and flow tests were performed to select the 3 best mixtures T6 (1.23%A:12.44%F), T10 (0.092%Q:0.092%A:7.146%F) and T12 (0.18%Q:0.66%A:3.33%F) were selected for their viscosity (μ), consistency (λ) and chemical interactions observable through the viscoelastic modulus (G' and G'') to be used as wall material. The encapsulation capacity of the 3 mixtures was validated with an aqueous extract of Jamaica (*Hibiscus sabdariffa*) and an emulsion (bioinsecticide), using a 33-1 experimental design at 3 different temperatures (110°C, 120°C and 130°C), and 3 proportions of wall material (1:3, 1:5 and 1:7). The best treatments obtained from the design were 1.23%A:12.44%F (1); 0.092%Q:0.092%A:7.146%F (6) and 0.18%Q:0.66%A:3.33%F (8) based on their drying performance, where values up to $82.03 \pm 0.53\%$ were obtained with operating conditions of 120°C, 1:7 wall material ratio and a flow rate of 0.8 L/h for the Jamaican extract. Due to the presence of oils in the bioinsecticide formulation, maximum drying yields of $32.87 \pm 3.54\%$ were obtained with T12 (0.18%Q:0.66%A:3.33%F). Therefore, a 4x2 experimental model was redesigned, where single and mixed ALTUS-2 (AT-2) y ALTUS-3 (AT-3) were incorporated to T12. The rheological results indicated that the best treatment was AT-3 (4:1) bioinsecticide with yields of $85.13 \pm 3.50\%$ and a high mortality rate on mites of the genera *Tetranychus urticae* and

Polyphagotarsonemus latus from $88.8\pm 1.0\%$ to $96.3\pm 0.57\%$ and with mortality from $50\pm 14.14\%$ to $70\pm 14.14\%$ against *Galleria mellonella* and *Spodoptera frugiperda*. The operating conditions were optimized by means of an experimental design 23, with temperatures of (110 °C and 120 °C), dryer feed flows (0.6 and 0.8 L/h) and sprayer rotation speeds (0.2 and 0.25 Mpa) where it was concluded that the best operating conditions to guarantee a higher yield are: 120°C, 0.8 L/h feed flow and 0.25 Mpa sprayer rotation pressure. The treatments AT-3 [4:1] (5), which was carried out at a temperature of 110°C, 0.6 L/h feed flow and 0.25 Mpa spray pressure, proved to be the best treatments for spray drying of a bioinsecticide product of an oily nature, reaching a yield of $90.40\pm 1.08\%$.

LISTA DE ABREVIATURAS

HPLC- Cromatografía líquida de alta eficacia.

DDT - Dicloro difenil tricloroetano.

GABA - Ácido gamma-aminobutírico.

PLA - Ácido poliláctico.

PVA - Alcohol polivinílico.

PET - Tereftalato de polietileno

BOPP - Polipropileno Biorientado.

PE – Polietileno.

SA- Secado por aspersión.

AGP- Alto grado de polimerización.

GA- Goma arábica.

MA- Maltodextrina.

SEM- Microscopía electrónica de barrido

FTIR- Espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier.

DSC- Calorimetría diferencial de barrido

Tg- Temperatura de transición vítrea.

BIO- Bioinsecticida líquido.

CAPÍTULO 1. INTRODUCCIÓN

CAPÍTULO 1. INTRODUCCIÓN

La protección de sustancias químicas de origen biológico es de alto interés industrial, a fin de conservar sus diferentes propiedades funcionales, así como atributos nutritivos y/o sensoriales, además de facilitar el traslado de producto tanto en el sector alimenticio como en el agroindustrial. Se ha demostrado que estas sustancias químicas de interés son susceptibles a condiciones ambientales tales como la temperatura, humedad, rayos ultravioleta, pH etc. Para lograr dicha protección, los compuestos pueden ser encapsulados empleando materiales que permitan garantizar la protección adecuada y así incrementar su vida de anaquel y efectividad. En los últimos años, con el enfoque del cuidado del medio ambiente, ha sido prioritaria en México y el mundo, la implementación tecnológica para la producción de bioinsecticidas, que como su nombre lo indica, son toda sustancia biológica no sintética capaz de reducir, controlar o mitigar una plaga blanco. Regularmente son productos con compuestos activos naturales provenientes tanto de plantas o microorganismos, los cuales tienen un impacto muy bajo al medio ambiente y a la salud en comparación con los insecticidas químicos y sintéticos.

Uno de los insectos más recurrentes en diferentes cultivos de importancia agroalimentaria es el ácaro (*Tetranychus urticae*), éste invade cultivos como el tomate, aguacate, pepino, entre otros, generando pérdidas en el rendimiento y económicas para los agricultores. Para combatir a este y otros insectos de importancia económica, se han desarrollado bioformulaciones a base de metabolitos secundarios, sustancias obtenidas de la fermentación de *Streptomyces spp*, que ha demostrado efectividad como agente acaricida-insecticida. Existen formulaciones con actividad bioinsecticida a base de metabolitos secundarios que se comercializan en presentación líquida lo cual representa algunos inconvenientes en su manejo y transporte.

Los productos líquidos representan un gran reto para la industria, puesto que los compuestos en medio acuoso generalmente son menos estables, son de difícil transporte y manipulación, representando un riesgo latente y menor tiempo de vida en anaquel en comparación de un producto en polvo. Es por ello que el presente proyecto se enfocó en microencapsular mediante secado por aspersión un extracto acuoso (*Hibiscus sabdariffa*) y una emulsión (Bioinsecticida) mediante la selección y validación de biopolímeros como material de pared, así como en la evaluación de las propiedades de flujo, fisicoquímicas, morfológicas y rendimiento de los polvos obtenidos.

CAPÍTULO 2. ANTECEDENTE

CAPÍTULO 2. ANTECEDENTES

2.1 Los plaguicidas y su clasificación.

Los plaguicidas se definen como toda sustancia o mezcla que tienen el fin o está destinada a la prevención, destrucción o control de cualquier plaga, es decir, las especies no deseadas que afectan el desarrollo adecuado de los cultivos (*Villacres et al., 2014*). La clasificación o tipos de plaguicidas están definidos por su composición química o por el organismo que controlan. En base al organismo que controlan se clasifican como fungicidas (control de hongos), herbicidas (control de malezas), insecticidas (control de insectos), rodenticidas (control de roedores) entre otros. En la Cuadro 2.1 se detalla la clasificación de los plaguicidas de acuerdo CON Instituto Nacional de Ecología y Cambio Climático, México (2014).

Cuadro 2.1. Clasificación de los plaguicidas respecto al organismo que controlan, tipo y acción.

| Clasificación | Organismos Controlar | Tipo | Acción |
|-------------------------|---------------------------------|--------------------|---|
| Bactericida | Bacterias | De contacto | Mata al contacto con el patógeno |
| Defoliante | Follaje | Erradicante | Eficaz después de infección por patógenos |
| Fungicida | Hongos | No selectivos | Tóxico para ambos, cultivos y malezas |
| Herbicida | Malezas | De post-emergencia | Eficaz cuando se aplica después de la cosecha |
| Insecticida | Insectos | De Pre-emergencia | Eficaz cuando es aplicado después de la siembra y antes de la cosecha |
| Acaricida (miticida) | Ácaros y garrapatas | De Pre-siembra | Eficaz cuando es aplicado antes de la siembra |

| | | | |
|-----------------------------------|--------------------------------------|--------------------------|--|
| Molusquicida | Babosas y caracoles | Protectores | Eficaz cuando es aplicado antes de que la plaga infecte a la planta |
| Nematicida | Nemátodos | Selectivos | Tóxico solo para la maleza |
| Regulador del crecimiento vegetal | Crecimiento de cultivos | Esterilizantes del suelo | Tóxico para toda la vegetación |
| Rodenticida | Roedores | Veneno estomacal | Mata plagas después de su Ingestión |
| Conservador de la madera | Organismos destructores de la madera | Sistémicos | Transportado a través de los cultivos o plagas después de su adsorción |

Por su persistencia en el ambiente, los plaguicidas se clasifican en permanentes, persistentes, moderadamente persistentes y no persistentes. Los no persistentes se degradan de 0-12 semanas, los moderadamente persistentes de 1-18 meses, los persistentes menos de 20 años y permanentes más de 20 años. Debido a la alta persistencia de los plaguicidas se han generado una gran cantidad de daños directos e indirectos al medio ambiente y a la salud humana (*Villacrés et al., 2014*).

2.2 Problemáticas del uso de plaguicidas sintéticos

Los plaguicidas son considerados como agentes contaminantes del ambiente debido a su toxicidad, estabilidad, persistencia y su capacidad de bioacumulación en la cadena trófica. Estas características determinan que sean contaminantes del agua, suelo y aire, y conlleven a efectos secundarios en diversos sistemas biológicos (plantas, animales y humanos). Los residuos de estos compuestos pueden llegar a zonas alejadas del área de aplicación arrastrados por el viento, por cursos de aguas continentales o de corrientes marinas y a través de la cadena trófica (Pérez, 2009).

No obstante, los suelos agrícolas son el primer receptor de los plaguicidas, seguido de los cuerpos de agua como los mantos freáticos y las áreas adyacentes que suelen ser receptores finales (Alfonso, 2002).

La Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO) (2010) declaró que debido al crecimiento poblacional y a la alta necesidad de alimentos, se ha incrementado el uso de plaguicidas para elevar producción agrícola con el fin de satisfacer las demandas de alimento a nivel mundial (Brechelt, 2004).

El empleo de plaguicidas sintéticos afecta no solo al ambiente sino también representan un riesgo para la salud humana, entre el año 2005 y 2015 la atención de los daños provocados por enfermedades desarrolladas por el uso de plaguicidas sintéticos y químicos en habitantes de África subsahariana alcanzó una cifra aproximada de 90 billones de USD (Kathleen, 2016), lo cual muestra la necesidad del uso de alternativas para reducir o mitigar los impactos generados por este tipo de producto.

La FAO también declaró en 2014 que el consumo mundial de pesticidas supera los 3.000 millones de kilogramos cada año y en México se utilizan 98.81 millones de kilogramos/año. El uso promedio de los plaguicidas en México es de 0.93 kg/Ha. Dado el daño potencial que representan estos pesticidas, es necesario el uso de alternativas como los bioplaguicidas que son más amigables con el medio ambiente y la salud.

2.3 Generalidades de los bioplaguicidas

Los biopesticidas o bioplaguicidas son derivados de materiales naturales como animales, plantas, microorganismos y minerales. Los bioplaguicidas logran ser altamente específicos contra las plagas objetivo y generalmente representan poco o ningún riesgo para las personas o el medio ambiente. Por el contrario los plaguicidas tradicionales, en general son materiales sintéticos, que no sólo afectan

a la plaga objetivo, sino también organismos no deseados, tales como insectos benéficos, la vegetación circundante y la vida silvestre (EPA, 2010).

Los bioplaguicidas se dividen en dos grandes grupos: plaguicidas de origen microbiano, que incluyen las bacterias, hongos, virus y protozoos, y los plaguicidas bioquímicos, que comprenden los atrayentes, reguladores del crecimiento de plantas e insectos, enzimas y sustancias de señalización química, que son muy importantes en la relación planta-insecto (Alfonso, 2002). En este sentido, en el presente trabajo se estudiará un plaguicida de origen microbiano, a continuación se detalla la naturaleza de este tipo de producto.

2.3.1 Plaguicidas de origen microbiano

Los plaguicidas de origen microbiano son aquellos que en su formulación contienen algún microorganismo (por ejemplo, una bacteria, hongo, virus o protozoarios) o sus metabolitos, muchas veces obtenidos mediante procesos fermentativos. Los plaguicidas microbianos pueden controlar diferentes tipos de plagas, aunque cada principio activo por separado es relativamente específico para la plaga.

Actualmente, en los bio-productos con actividad plaguicida que se encuentran en el mercado global predominan los de origen bacteriano, en la Figura 2.1 se muestra su predominancia (Mishra *et al.*, 2015), donde se puede observar que alcanzan alrededor del 70%. En este sentido, el comportamiento del mercado de los plaguicidas en América Latina es un poco diferente, se concentra en los bioplaguicidas bacterianos conteniendo como compuesto activo a *Bacillus thuringensis* (Bt) y de hongos (micoplaguicidas), con un valor de 40.43% y 48.16% respectivamente, del 100% del mercado de los bioplaguicidas bacterianos, (Mordor Intelligence, 2016).

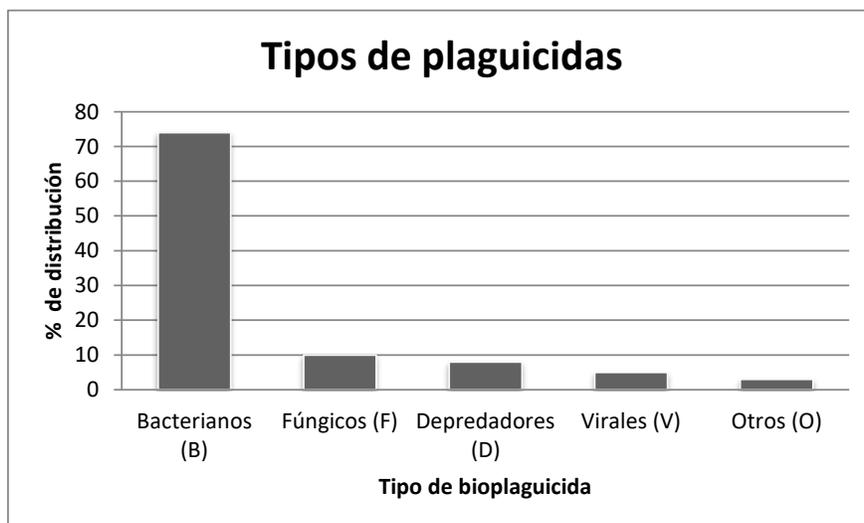


Figura 2.1. Distribución del mercado global de los Bioplaguicidas (Adaptado de Mishra *et al.*, 2015). B: 74%, F: 10%, D: 8%, V: 5% y O: 3%.

Sin embargo, va emergiendo el desarrollo de nuevas formulaciones de bioplaguicidas empleando otros microorganismos como *Streptomyces spp*, ya sea empleando la bacteria y/o sus productos metabólicos, esto se ha impulsado debido a la necesidad de combatir de manera más específica las plagas blanco para tener cultivos de la mejor calidad sin descuidar el cuidado medioambiental.

2.4 *Streptomyces spp*

Streptomyces, es una bacteria Gram-positiva que pertenece al grupo más profuso de microorganismos del suelo, tienen un genoma circular y forman esporas aéreas (Kim y Goodfellow 2002). *Streptomyces spp* es relevante por su capacidad de producir enzimas de importancia industrial y metabolitos secundarios durante el proceso de fermentación (Tsujiyo, 2003). Los productos del metabolismo secundario de los microorganismos son diversos y muchos de ellos tienen diferentes aplicaciones biotecnológicas. En el caso de *Streptomyces spp*, como producto de su metabolismo secundario se producen avermectinas, que se

emplean como agentes antihelmínticos e insecticidas. En la Figura 2.2 se observa al microscopio la morfología de la bacteria *Streptomyces spp.*

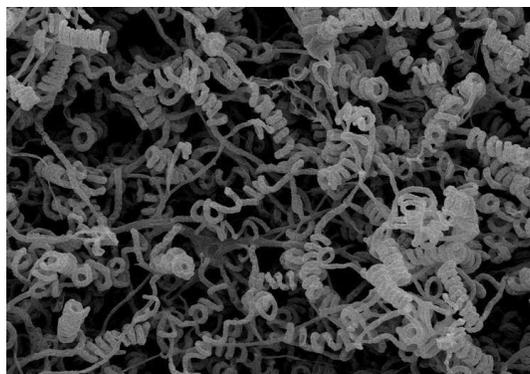


Figura 2.2 Morfología en forma espiroqueta y espiral de *Streptomyces spp.*

Streptomyces spp. y otros microorganismos, además de cumplir sus funciones insecticidas de manera natural, también son capaces de producir metabolitos secundarios, estos compuestos químicos actúan de manera eficiente como agentes con actividad insecticida (Yin *et al.*, 2008).

Estos metabolitos secundarios obtenidos de la fermentación de *Streptomyces spp.* se utilizan para controlar las plagas de insectos y ácaros de una serie de cultivos agronómicos, frutales, hortícolas y ornamentales, algunos ejemplos donde se han aplicado se muestran en el Cuadro 2.2.

Cuadro 2.2. Organismos blanco controlados con la aplicación de metabolitos secundarios de *Streptomyces spp.* como compuesto activo en diferentes cultivos de interés.

| Producto | Blanco Biológico |
|-----------------|---|
| Tomate | Ácaro (<i>Tetranychus urticae</i>) |
| Cebolla | Thrips (<i>Thrips tabaci</i>) |
| Cebolla Bulbo | Minador (<i>Liriomyza huidobrensis</i>) |
| Frijol | Minador (<i>Liriomyza trifolii</i>) |
| Rosa | Ácaro (<i>Tetranychus urticae</i>) |

| | |
|------------|---|
| Crisantemo | Minador (<i>Liriomyza huidobrensis</i>) |
| Gypsophila | Minador (<i>Liriomyza trifolii</i>) |
| Piña | Ácaro (<i>Tetranychus urticae</i>) |
| Aguacate | Ácaro tostador (<i>Oligonychus yothersi</i>) |
| Melón | Mosca minadora (<i>Liriomyza sativae</i>) |
| Naranja | Ácaro tostador (<i>Phyllocoptruta oleivora</i>) |

El modo de acción es bloquear la transmisión de la actividad eléctrica en los nervios y las células musculares, estimulando la liberación y la unión del ácido gamma-aminobutírico (GABA) en las terminaciones nerviosas de los insectos. Como resultado de esto, los iones de cloruro entran en las células, dando lugar a la hiperpolarización y la parálisis de los sistemas neuromusculares (Bloomquist, 1993). La fórmula química base de algunos de los metabolitos de posible obtención de la fermentación de *Streptomyces Spp* se muestra en la figura 2.3

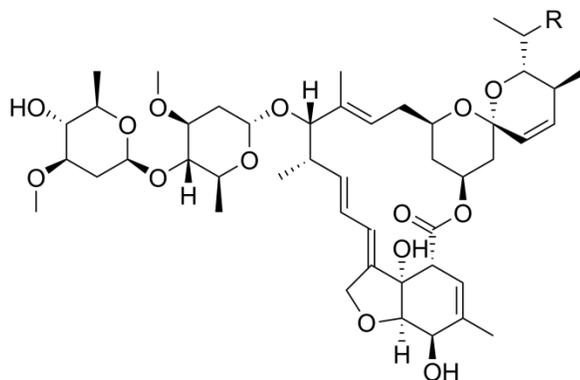


Figura 2.3 Fórmula química base metabolitos secundarios obtenidos de la fermentación de *Streptomyces spp.*

Estos metabolitos al ser un bioinsecticida natural se utilizan de manera constante en la agricultura debido a su especificidad en el combate de la plaga. Sin embargo, una desventaja de los compuestos naturales es que, al ser aplicados en campo, dadas las condiciones ambientales variantes, es complicado que

permanezcan estables, por lo cual se han buscado técnicas para mejorar su estabilidad. En este sentido, este proyecto de investigación se enfoca en obtener la formulación bioinsecticida en una presentación en polvo, además de propiciar en esta matriz la encapsulación de los compuestos activos para protegerlos de las condiciones medioambientales durante su aplicación en campo y su vida de anaquel.

2.5. Secado por aspersión de bioformulaciones

El secado por aspersión es una técnica que permite la obtención de un producto en polvo a partir de un líquido concentrado. El principio de dicha operación se fundamenta en la atomización del producto generando microgotas, éstas al estar en contacto con una corriente de aire caliente (entre 150°C a 300°C) son pulverizadas, el aire actúa como medio de calentamiento y como fluido de transporte. El secado por aspersión consiste en cuatro pasos a seguir: la atomización, contacto aire-gota, evaporación y la recuperación del polvo o producto seco.

Las principales ventajas de este proceso son que se realiza de forma inmediata dando como resultado partículas esféricas uniformes, con escala micro o nanométricas (Masters, 1985); puede escalarse fácilmente, con ritmos de alimentación de algunos kilogramos por hora hasta 100 toneladas por hora (Martín et al., 2015); la operación es continua y adaptable a un total control automático (Haque et al., 2015); es razonablemente económica, de 4 a 7 veces más económica que la liofilización (Chávez, 2014); las especificaciones del producto permanecen constantes, siempre y cuando las condiciones del secador también lo sean (Rajam y Anandharamakrishnan, 2015).

Se ha demostrado que el secado por aspersión aplicado en bioformulaciones de *Meyerozyma caribbica* es un método adecuado, obteniendo la formulación en polvo con un bajo contenido de humedad, de fácil rehidratación y con una supervivencia de la levadura superior al 95% después del secado (Aguirre-Güitrón,

et al., 2018). Otro estudio realizado con la bacteria *B. thuringiensis* demostró que no hay efectos negativos significativos, ya que una vez secada por aspersión la formulación mantuvo su actividad insecticida (G. Prabakaran y S. Hoti 2007). Otros novedosos estudios de secado de bioformulaciones de extractos de jamaica (*Hibiscus sabdariffa*) por secado por aspersión es el reportado por Cid-Ortega y Guerrero-Beltrán (2020) con biopolímeros como la maltodextrina obteniendo rendimientos medios. Por otra parte, Piovesana y Zapata (2018) reportaron la encapsulación de compuestos bioactivos de jamaica con povidona y goma guar parcialmente hidrolizada, con rendimientos hasta del 95%. Los extractos de jamaica son de fácil obtención y se ha reportado que puede ser una matriz de fácil encapsulación por lo que se puede emplear como material de encapsulación para la validación de nuevas mezclas de biopolímeros propuestas como materiales de pared, antes de ser aplicadas en matrices más complejas.

2.6 Microencapsulación

La microencapsulación se define como un proceso en donde pequeñas partículas o gotas son atrapadas por un recubrimiento o embebidas en una matriz homogénea o heterogénea, con el fin de obtener cápsulas microscópicas con propiedades tecnológicas o funcionales útiles como prologar la vida del compuesto de interés (Mutukumira *et al.*, 2015; Rajam y Anandharamakrishnan, 2015). En este proceso se pueden “empacar” estos compuestos de interés (ya sea que se encuentren en estado sólido, líquido o gaseoso) en cápsulas selladas que, bajo condiciones específicas, pueden liberar su contenido de forma inmediata o controlada (Mutukumira *et al.*, 2015; Medina-Torres *et al.*, 2019). El material interior es referido como núcleo, fase interna o relleno, mientras que la pared se le puede llamar cascarón, capa, recubrimiento, material de pared o membrana (Gharsallaoui, 2007).

2.6.1 Técnicas de Microencapsulación

Las principales técnicas de microencapsulación son: extrusión, emulsión, lecho fluidizado, liofilización y el secado por aspersion (Martín *et al.*, 2015). Esta variedad de técnicas resulta en una diversidad de morfologías, tamaños y tipos de microcápsulas (Figura 2.4), los diferentes tipos de microcápsulas dependen de la interacción de la matriz del componente activo con los materiales de pared, así como de las condiciones de proceso aplicadas. En el caso de la encapsulación de sólidos y microorganismos se han reportado rendimientos mayores al 90% y supervivencias mayores al 65% (Ortiz-Basurto *et al.*, 2017)

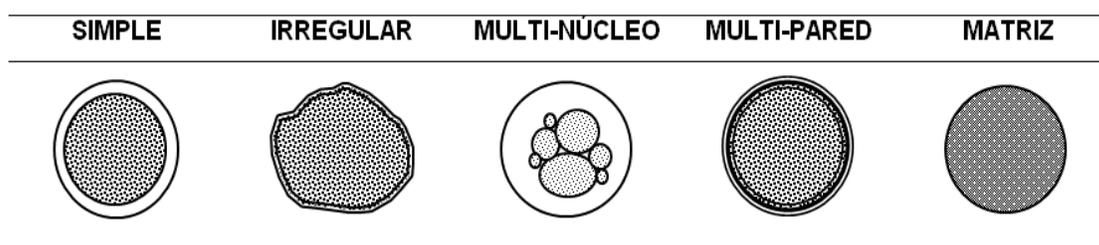


Figura 2.4. Morfología de los diferentes tipos de microcápsulas que es posible obtener mediante procesos de microencapsulación (Gharsallaoui, 2007).

En la actualidad diferentes productos se han protegido mediante microencapsulación tales como microorganismos, aromas, aceites, compuestos fenólicos y otros compuestos bioactivos (McClements *et al.*, 2009). En el proceso de encapsulación uno de los factores más importantes es la selección del material de pared. En el Cuadro 2.3 se enlistan algunos compuestos empleados como materiales de pared, así como los compuestos activos encapsulados con actividad plaguicida.

Cuadro 2.3 Polímeros empleados en la encapsulación de componentes activos aplicados en la agricultura con actividad insecticida.

| Polisacárido | Principio activo | Clase | Referencia |
|--------------|------------------|-------|------------|
| | | | |

| | | | |
|---|-------------------|-------------|--|
| Alginato-quitosano | Imidacloprid | Insecticida | Guan <i>et al.</i> , (2008) |
| Almidón-alginato | Chlorpyrifos | Insecticida | Roy <i>et al.</i> , (2009) |
| Alginato | Carbofuran | Insecticida | Pérez <i>et al.</i> , (2000) |
| Quitosano | Rotenone | Insecticida | Lao <i>et al.</i> , (2010) |
| Quitosano | Etofenprox | Insecticida | Hwang <i>et al.</i> , (2011) |
| Ciclodextrinas | Bendiocarb | Insecticida | Pacioni and Veglia (2007) |
| Quitosano/ciclodextrinas | Carvacrol | Insecticida | Higueras <i>et al.</i> , (2014) |
| Almidón-fructanos de agave | Aceite de tomillo | Fungicida | Esquivel-Chávez <i>et al.</i> , (2021) |
| Alcohol polivinílico/ácido poliláctico | Avermectinas | Insecticida | Fuliang <i>et al.</i> , (2014) |

2.7 Biopolímeros como materiales de pared

Los materiales de pared frecuentemente empleados en procesos de encapsulación de bioformulaciones son: alginatos, ciclo dextrinas, goma guar, pectina, almidón, fructanos y quitosano (Campos, E. *et al.*, 2016).

Un agente ideal que actúe como material encapsulante debe tener las siguientes propiedades

- Capacidad para dispersar o emulsionar el material activo.
- Buenas propiedades reológicas a altas concentraciones y fácil manipulación durante el proceso de encapsulación.

- Ser no reactivo, sellar y sostener el material activo durante el procesamiento y almacenamiento.
- Capacidad para proveer máxima protección al compuesto activo contra las condiciones que lo afecten.
- Ser económico.

A continuación se describen los materiales de pared de interés para esta investigación.

2.7.1 Quitosano

El quitosano es un polisacárido lineal no tóxico y biocompatible, obtenido por medio de la desacetilación parcial de la quitina, la quitina es obtenida comúnmente de los exoesqueletos de crustáceos formados por β -(1,4)-2-amino-2-deoxi-D-glucosa y β -(1,4)-2-acetamido-2-deoxi-D-glucosa. A diferencia de la quitina insoluble, el quitosano es soluble en soluciones ácidas de pH bajo, estas condiciones dan lugar a la protonación de los grupos aminos formando así el polielectrolito. Se ha demostrado que tanto el grado de desacetilación (DD) como la masa molar influyen en la conformación y en las propiedades de solubilidad del quitosano (Bastos, 2010).

El quitosano es ampliamente usado en la fabricación de películas, ya que su estructura lineal permite tener buena flexibilidad y transparencia con buena resistencia, además, el quitosano de alto y bajo peso molecular es diferencialmente eficaz contra las enfermedades fúngicas (Badawy 2011). Las películas de quitosano reforzadas con biopolímeros han captado gran interés en el mercado, la adición de estos compuestos mejoró notablemente las propiedades mecánicas de las películas, así como la conductividad eléctrica, esto demuestra que la incorporación de biopolímeros puede mejorar considerablemente el rendimiento de compuestos elaborados a base de quitosano.

2.7.2 Alginato de sodio

El alginato es otro polisacárido obtenido principalmente a partir de algas marinas marrones y que ha atraído especial interés, destaca por su capacidad de gelificar. Con base a esta capacidad de formar hidrogeles, sus propiedades bioadhesivas y de la demostrada biocompatibilidad del alginato, se ha utilizado ampliamente en el diseño e ingeniería de biomateriales y como aditivo en alimentos (Goycoolea, 2009). Dado que las propiedades fisicoquímicas y biológicas del alginato en cierta medida son complementarias a las del quitosano, se ha investigado el desarrollo de sistemas a base de ambos polisacáridos.

La red de polielectrolitos se realiza por la interacción entre los grupos funcionales disociados: un grupo carboxilo aniónico del alginato y un grupo amino catiónico del quitosano, estableciendo interacciones electrostáticas, además que se pueden formar enlaces de hidrógeno intra e intercadena entre diferentes partes de las estructuras de los polisacáridos. Sin embargo, es necesario tener en cuenta el nivel de complejación, esta reacción química puede ser favorable o no, dependiendo de la finalidad del uso de los biopolímeros, el acomplejamiento de los materiales puede derivar en la formación de coacervados e hidrogeles de la precipitación de los polielectrolitos. El que ocurra cada uno de los procesos anteriormente mencionados, dependerá de la concentración del reactivo, la fuerza iónica, el pH, la temperatura, el orden de mezcla, la flexibilidad de los polímeros y la composición química de los polímeros (Dominica, K 2016).

2.7.3 Fructanos de agave

Los fructanos de agave son polímeros de fructosa, derivados de la sacarosa y sintetizados como carbohidratos de reserva que se encuentran naturalmente presentes en muchas plantas y han sido correlacionados con la capacidad de la planta a resistir los ciclos climáticos de frío y sequía (Mellado-Mojica y López, 2012).

Conforme a los tipos de enlaces fructosil, los fructanos se pueden clasificar como; 1) inulinas, 2) levanos con moléculas lineales de fructosa terminal y enlaces $\beta(2-1)$ y $\beta(2-6)$ respectivamente, 3) graminanos, los cuales tienen los dos tipos de enlaces $\beta(2-1)$ y $\beta(2-6)$, y 4) fructanos neoseries, los cuales se caracterizan por tener una molécula de glucosa intermedia la cual puede ser elongada por enlaces $\beta(2-1)$ o $\beta(2-6)$, produciendo de esta manera inulina y/o levanos neoseries respectivamente (Mellado-Mojica y López, 2012). En el caso de fructanos de alto grado de polimerización (GP), se forman emulsiones con una textura tipo grasa y sabor neutro, son azúcares no reductores y solubles en agua (López *et al.* 2003), por lo que existe gran interés por parte de la industria en emplearlos como material encapsulante.

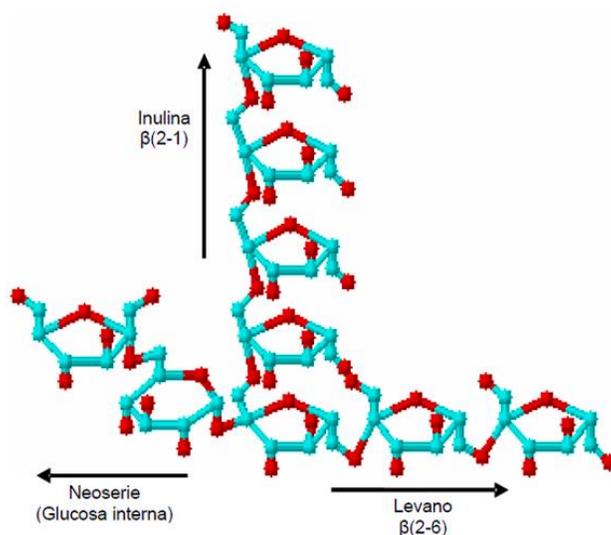


Figura 2.5. Estructura molecular básica de los fructanos de *A. tequilana var. Azul*. Tomado de (López *et al.*, 2003)

En otro sentido, el quitosano, alginato de sodio y fructanos de agave han demostrado ser compuestos no tóxicos y respetuosos con el medio ambiente. De manera general, el demandado empleo de biopolímeros en diferentes procesos se debe principalmente a la bioactividad, biocompatibilidad y biodegradabilidad, esto

hace que estos materiales sean prometedores y se puedan considerar amigables con el medio ambiente (Espinosa-Cavazos, 2020).

Dadas sus características, estos biopolímeros pueden ser adecuados para fines de encapsulación de los compuestos activos del bioinsecticida bajo estudio en este proyecto. Sin embargo, es conveniente practicarles pruebas reológicas a estos materiales para analizar su comportamiento e interacciones y definir las proporciones más adecuadas que nos permitan lograr la mejor mezcla polimérica para microencapsular.

2.8 Reología en los alimentos

La reología es una ciencia que se enfoca en el estudio de la deformación y flujo de los materiales. Los fluidos se definen como aquellas sustancias que se deforman bajo la aplicación de esfuerzos cortantes. De acuerdo a su comportamiento reológico los fluidos se clasifican en 2 grandes grupos:

- Fluidos newtonianos: Existe proporcionalidad entre el esfuerzo cortante y la velocidad de deformación.
- Fluidos no newtonianos: No existe proporcionalidad entre el esfuerzo cortante y la velocidad de deformación.

La reología principalmente estudia los fluidos no newtonianos o fluidos complejos, estos materiales tienen características intermedias entre sólidos elásticos y fluidos puramente viscosos por lo cual se le denominan: Fluidos viscoelásticos (León-Martínez, 2010).

Las propiedades reológicas de dichos fluidos se definen a partir de la relación existente entre una fuerza aplicada y sus respuestas, ya sea como deformación o flujo. Cabe apuntar que todo fluido se deforma en mayor o menor medida; en la Figura 2.6 se observan los comportamientos generales de los fluidos por la relación íntima entre la velocidad de corte ($1/s$), el esfuerzo de corte (Pa) y la viscosidad (Pa.s).

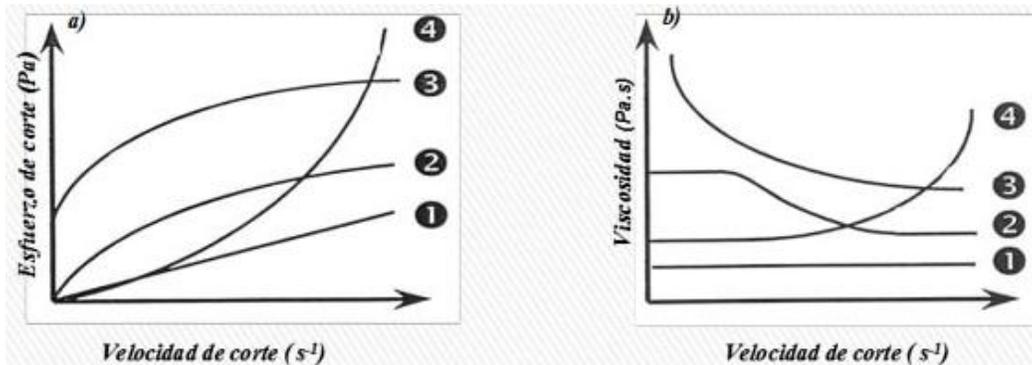


Figura 2. 6 comportamiento de flujos, **a)** Velocidad de corte vs Esfuerzo de corte. **b)** Velocidad de corte vs Viscosidad. (1) Newtoniano, (2) PseudoPlástico, (3) Plástico y (4) Dilatante.

Las propiedades reológicas de productos microencapsulados mediante secado por aspersión son relevantes debido a que los datos que se obtienen de estas pruebas se emplean como medidas de control de calidad y estabilidad durante el procesamiento y almacén del material microencapsulado (Medina-Torres *et al.*, 2016). Por lo cual, es de suma importancia el análisis reológico de los biopolímeros que se emplearán como material de pared para este trabajo y con base en ello, encontrar los mejores materiales de pared para la protección de los compuestos activos de la matriz a encapsular.

CAPÍTULO 3. JUSTIFICACIÓN

CAPÍTULO 3. JUSTIFICACIÓN

Actualmente, en México y en el mundo existe una demanda en el uso de bioplaguicidas con el fin de reducir el daño al medio ambiente que ocasionan los plaguicidas sintéticos, mejorar el rendimiento de los cultivos, satisfacer la demanda de alimento y alcanzar la seguridad alimentaria. La presentación más comercial de los bioinsecticida es en estado líquido, lo que representa para la industria un gran reto, debido a que los compuestos activos en medio acuoso son menos estables, además que se dificulta el espacio para almacenamiento, el transporte y manipulación de los productos líquidos, a diferencia de la presentación en polvo, la cual es más estable y fácil de manejar incluso para el usuario final. Debido a la problemática de la termosensibilidad de los compuestos activos presentes en el bioinsecticida, se planteó obtener un polvo a partir de un producto líquido donde se conserven las propiedades originales y mantenga su eficiencia contra las plagas blanco una vez reconstituido; además de facilitar su transporte de manera segura.

El secado por aspersion ha demostrado ser una de las técnicas de mayor eficacia para la estabilización de los compuestos, reduciendo su reactividad por efecto de factores ambientales, además de ser un proceso económico comparado con otras técnicas de secado, por lo tanto, el secado por aspersion se propone como una técnica adecuada para obtener la presentación en polvo de una formulación líquida con efecto insecticida y validar su efectividad.

Mediante el secado por aspersion se proyecta lograr la microencapsulación de los compuestos activos del bioinsecticida, utilizando mezclas de biopolímeros como el quitosano, alginato de sodio, fructanos de agave, AT-2 y AT-3. Para conocer la viabilidad de nuevas matrices poliméricas como material encapsulante, es necesario caracterizarlas mediante análisis reológicos que permitan conocer su comportamiento al flujo, propiedades viscoelásticas e interacciones químicas que proyecten una mayor estabilidad y capacidad encapsulante. Asimismo, es

conveniente validar la aplicación de las mezclas inéditas, encapsulando matrices de diferente índole, en este estudio en específico, una matriz acuosa como es el extracto de jamaica y una oleosa como es el bioinsecticida.

CAPÍTULO 4. OBJETIVOS

CAPÍTULO 4. OBJETIVOS

4.1 Objetivo General

Microencapsular mediante secado por aspersión un extracto acuoso (*Hibiscus sabdariffa*) y una emulsión (Bioinsecticida) mediante la selección de biopolímeros como material de pared y evaluar las propiedades de flujo, fisicoquímicas, morfológicas y rendimiento de los polvos obtenidos.

4.2 Objetivos específicos

1. Determinar los biopolímeros a utilizar con base en su perfil reológico y sus interacciones como material de pared.
2. Validar la capacidad de microencapsulación de mezclas poliméricas en una matriz acuosa (extracto de *Hibiscus sabdariffa*) y una matriz oleosa (Bioinsecticida).
3. Establecer las condiciones óptimas en el secado por aspersión a nivel piloto industrial para la obtención de las microcápsulas.
4. Caracterizar las propiedades de fluidez, fisicoquímicas, morfología y efectividad de las microcápsulas de la formulación bioinsecticida a nivel in vitro.

CAPÍTULO 5. HIPÓTESIS

CAPÍTULO 5. HIPÓTESIS

La aplicación y combinación de biopolímeros en el secado por aspersión permitirá la microencapsulación de un extracto de jamaica y una formulación bioinsecticida, conservando la estabilidad de sus componentes funcionales y efectividad como producto insecticida en polvo, permitiendo validar la selección de materiales de pared con base en sus propiedades reológicas.

CAPÍTULO 6. MATERIALES Y MÉTODOS

CAPÍTULO 6. MATERIALES Y MÉTODOS

6.1. Materiales

Este trabajo se realiza en colaboración con Altus Biopharm quien proporcionó el bioinsecticida en presentación líquida formulado, el cual fue transportado al laboratorio integral de investigación en alimentos (LIIA), del Tecnológico nacional de México/Instituto Tecnológico de Tepic y se almacenó en las condiciones adecuadas recomendadas por la empresa para posteriormente usarlo durante la experimentación.

De acuerdo con la bibliografía se han definido los biopolímeros que tienen potencial de funcionar como materiales de pared para la microencapsulación del bioinsecticida. Los polímeros seleccionados fueron: quitosano, alginato de sodio, fructanos de agave, AT-2 y AT-3 materiales de pared proporcionados por la empresa, que por secreto industrial se declaran de esta manera.

6.2 Metodología general

Para desarrollar el proyecto de acuerdo con los objetivos planteados, el trabajo se dividió en 4 etapas que se muestran en la Figura 6.1.



Figura 6.1 Diagrama general de las etapas del proyecto.

Primera etapa:

6.2.1 Caracterización de los biopolímeros, las mezclas y del bioinsecticida

En esta etapa se llevó a cabo el análisis de los componentes de la bioformulación y el estudio de las propiedades reológicas de los biopolímeros quitosano, alginato de sodio y fructanos para determinar mediante un diseño experimental el compuesto o la mezcla de ellos más adecuada para emplearse como material de pared en la microencapsulación.

6.2.1.1 Preparación de extracto, soluciones y mezclas de los biopolímeros.

Se prepararon soluciones con la finalidad de conocer su comportamiento reológico individual y de las mezclas, para definir la concentración más adecuada de cada componente y que en conjunto puedan funcionar como un buen material de pared. Se prepararon soluciones de alginato de sodio marca ETADAR al 1% con un peso molecular de 198.1059 Da y máximo grado de disolución de 13g/L; quitosano al 1% con peso molecular de 600,000 Da marca (SHQ) con un 90% de grado de desacetilación y una solución al 20% de fructanos de agave nativos obtenidos en el Instituto Tecnológico de Tepic.

Para la preparación de la solución de alginato de sodio se mezcló 1 g de alginato de sodio en 100 mL de agua destilada y se homogenizó en un agitador magnético a 1000 RPM durante 3 h. La solución de quitosano se preparó empleando una solución de ácido acético al 1% (debido a que el quitosano se disuelve a pH ácidos) la cual se homogenizó por 5 min a 800 RPM en un agitador magnético y posteriormente se agregó 1 g de quitosano y se agitó a las mismas revoluciones con temperatura de 30° C por 3 h de acuerdo con la metodología propuesta por Kulig, D. *et al.*, (2016) con algunas modificaciones. La solución de fructanos de agave, se preparó adicionando 20 g en 100 mL de agua destilada y se agitó por 20 minutos a 500 RPM.

Para la preparación de las mezclas de los biopolímeros, se realizó un diseño de mezclas simplex lattice (3,3) con puntos interiores y centroide, este diseño de 3 grados permite tener una mayor exactitud en la interacción entre los componentes y conocer su comportamiento en mezclas incorporando diferentes fracciones para formar la unidad. En el cuadro 6.1, se observa la matriz experimental establecida, en la cual se indica la fracción a emplear de cada una de las soluciones poliméricas.

Cuadro 6.1. Matriz del diseño de mezclas simplex lattice (3,3) con puntos interiores y centroide.

| Tratamiento | Solución 1% Quitosano | Solución 1% Alginato de sodio | Solución 20% Fructanos |
|--------------------|----------------------------------|--|-----------------------------------|
| 1 | 1.000000 | 0.000000 | 0.000000 |
| 2 | 0.000000 | 1.000000 | 0.000000 |
| 3 | 0.000000 | 0.000000 | 1.000000 |
| 4 | 0.333333 | 0.666667 | 0.000000 |
| 5 | 0.333333 | 0.000000 | 0.666667 |
| 6 | 0.000000 | 0.333333 | 0.666667 |
| 7 | 0.666667 | 0.333333 | 0.000000 |
| 8 | 0.666667 | 0.000000 | 0.333333 |
| 9 | 0.000000 | 0.666667 | 0.333333 |
| 10 | 0.333333 | 0.333333 | 0.333333 |
| 11 | 0.666667 | 0.166667 | 0.166667 |
| 12 | 0.166667 | 0.666667 | 0.166667 |
| 13 | 0.166667 | 0.166667 | 0.666667 |
| 14 | 0.333333 | 0.333333 | 0.333333 |

Para cada tratamiento establecido se prepararon 30 mL de mezcla con los porcentajes del diseño experimental. Cada tratamiento se homogenizó por 20 minutos en un agitador magnético a 1000 RPM, posteriormente se homogenizaron en un ultra turrax (Polytron 6000) a 18000 RPM durante 2 min.

6.2.1.2 Propiedades reológicas de los biopolímeros y sus mezclas.

Las propiedades reológicas de las mezclas se llevaron a cabo en un reómetro Híbrido TA Instruments® Discovery HR-1 (TA Instruments L.L.C. Delaware, USA). Las pruebas realizadas fueron cizalla simple empleando condiciones de shear rate de 0.001 1/s - 1000 1/s con una precizalla de 0.5 1/s por 45 s, usando una geometría de 60 mm 2.0° cono plato, plato peltier de acero – 103813, las mismas condiciones fueron aplicadas para cada una de las 14 composiciones (mostradas en el Cuadro 6.1). Se siguió la metodología propuesta por Azfal *et al.*, (2018) con algunas modificaciones.

Se realizó el análisis de las curvas de flujo obtenidas mediante el software del equipo, aplicando el modelo de Cross (Ecuación 1).

$$\frac{\eta - \eta_{\infty}}{\eta_0 - \eta_{\infty}} = \frac{1}{1 + (\lambda \dot{\gamma})^m} \quad (1)$$

El modelo representa la magnitud de la viscosidad respecto a un esfuerzo de corte, propiciando valores de viscosidad zero (η_0) y viscosidad infinita (η_{∞}), consistencia (λ) y una constante (m) que es una medida del grado de dependencia de la viscosidad a la velocidad de cizallamiento ($\dot{\gamma}$) en la región de adelgazamiento, de tal manera que cuando m tiende a 0 se presenta un comportamiento newtoniano del material. El análisis de los biopolímeros se enfocó en el valor de la consistencia, este parámetro sirve para determinar el tiempo en que inicia el adelgazamiento de cada material o mezcla de materiales, es decir, entre mayor sea la consistencia el adelgazamiento inicia en menor tiempo, este comportamiento se observa en la Figura 6.2.

Posteriormente, se aplicaron las pruebas de cizalla oscilatoria y barrido de frecuencias a los mejores tratamientos (mezclas), es decir, las que mostraron el mayor índice de consistencia (λ) para así determinar sus propiedades viscoelásticas e interacciones (Módulo de almacenamiento G' y módulo de pérdida G'') (León-Martínez *et al.*, 2010). Las condiciones empleadas para el barrido de frecuencia fueron: temperatura de 25 °C, amplitudes pequeñas ($\gamma < 7.5\%$), en un rango de frecuencia de 0.01 a 500 rad/s, este análisis permite indagar r el comportamiento de los polímeros y sus mezclas.

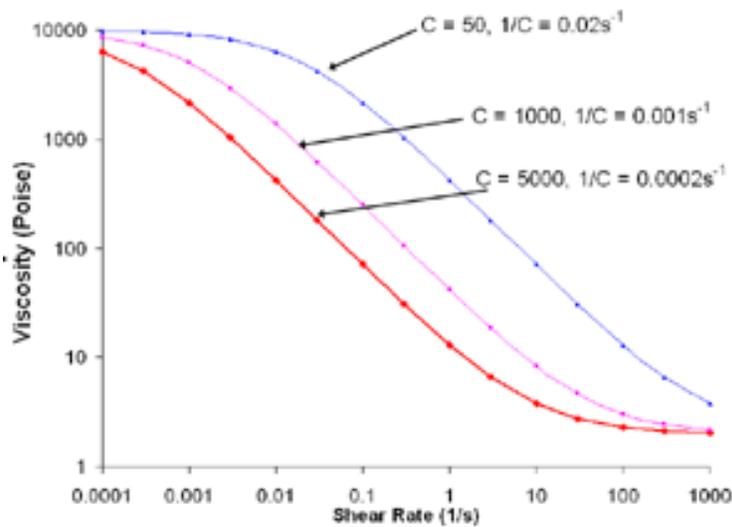


Figura 6.2 Comportamiento de la viscosidad a diferentes valores de consistencia (λ) y velocidades de cizalla.

Una vez seleccionadas las mejores mezclas de acuerdo a los datos reológicos, se aplicaron como material de pared en el secado por aspersion (sección 6.2.2). Se aplicó un diseño factorial $3^{(3-1)} 1/3$ con las 3 mejores mezclas, 3 temperaturas y 3 relaciones de material de pared con la finalidad de comprobar y validar su capacidad de ser empleado en el secado por aspersion tanto en una matriz acuosa como oleosa.

6.2.1.3 Caracterización del bioinsecticida

Es importante conocer las propiedades fisicoquímicas y reológicas que presentan las matrices a encapsular, sobre todo cuando están poco estudiadas, por ello se realizó la caracterización del bioinsecticida, midiéndole algunas propiedades de interés como pH, °Brix, densidad, turbidez y color. Los análisis reológicos permiten conocer su estabilidad y la factibilidad que muestre como material a encapsular. También se determinó la concentración de metabolitos secundarios característicos en la formulación bioinsecticida mediante cromatografía líquida de alta eficacia (HPLC) en un equipo Agilent 1200 del año 2007 con un detector DAD (Diod Array Detector). Conocer el valor de la concentración de un metabolito de interés es conveniente ya que es un parámetro que se considera para determinar la eficiencia de encapsulación.

6.2.1.4 Análisis reológico del bioinsecticida

Las propiedades reológicas del bioinsecticida se determinaron en un reómetro híbrido TA Instruments® Discovery HR-1 (TA Instruments L.L.C. Delaware, USA). Se utilizó una geometría de cilindros concéntricos (21.96 y 20.38 mm de diámetro exterior e interior, respectivamente; 59.50 mm de alto, y 500 μm gap con un sistema Peltier). El equipo se operó bajo régimen de oscilación lineal con amplitudes pequeñas ($\gamma < 5\%$), en un rango de frecuencia de 0.01 a 300 rad/s.

6.2.1.5 Determinación de las propiedades fisicoquímicas del bioinsecticida

Se determinó el pH utilizando un conductímetro marca Hanna modelo HI-4521-02, el cual se calibró con soluciones buffer para después sumergir el electrodo del medidor de pH en la muestra y se realizó lectura. La medición de la turbidez se realizó en un equipo marca HACH modelo 2100Q is, la solución que se empleó fue del 0.5 %. Los °Brix del bioinsecticida se midieron con un refractómetro, calibrando con agua destilada y posteriormente se tomó la lectura. El valor de la densidad se obtuvo llenando un matraz aforado de 10 mL con bioinsecticida y pesándolo, con

la diferencia de peso del matraz lleno y vacío se obtuvo la masa, y aplicando la fórmula $\rho=m/v$ se obtuvo el valor de densidad (ρ), donde m es la masa en g, y v es el volumen en mL. Todos los análisis anteriores se realizaron por triplicado.

Segunda etapa:

6.2.2 Validación y optimización de los materiales de pared mediante el secado por aspersión (SA)

En el secado por aspersión es de interés encontrar nuevas alternativas de materiales de pared capaces de proteger los compuestos activos de interés, sin embargo, al proponer nuevas mezclas es necesario determinar su capacidad de encapsular matrices de diferente índole (acuosa y oleosa). Por ello se empleó para encapsular un extracto de jamaica como matriz acuosa y por otro lado una matriz oleosa la cual corresponde al bioinsecticida que fue proporcionado por Altus Biopharm. El extracto de jamaica (*Hibiscus sabdariffa*) se obtuvo a partir de flores de jamaica secas puestas en agua en una relación 1:3 (jamaica:agua). En un vaso de precipitado de 4 L se colocaron 750 g de jamaica, por otro lado, en una olla se calentaron 2250 mL de agua destilada hasta llegar a una temperatura constante de 85 °C. Se adicionó el agua caliente al vaso con jamaica y se agitó de forma manual durante 5 minutos evitando la luz para prevenir la degradación de los componentes extraídos. El extracto se almacenó en oscuridad a 4 °C en un recipiente sellado. Al extracto de jamaica obtenido se le realizó un análisis de % de humedad en una termobalanza marca OHAUS modelo MB23 para determinar el % de sólidos totales.

Se realizó un secado por aspersión empleando como material de pared las mejores mezclas seleccionadas con base en sus propiedades reológicas (6.2.1.2) y se aplicó un diseño factorial $3^{(3-1)}$ 1/3. Se empleó el extracto de jamaica y el bioinsecticida como material a encapsular, con la finalidad de validar la factibilidad de los materiales de pared previamente evaluados por el estudio reológico.

El proceso de secado se realizó en un secador por aspersión de disco rotatorio modelo LPG-5 (Changzhou Yibu Drying Equipment Factory, Jiangsu, China) (Figura. 6.3).



Figura 6.3. Secador por aspersión Yibu, LPG-5 empleado en el proyecto

Para la optimización de la microencapsulación se empleó un diseño experimental factorial $3^{(3-1)} 1/3$ con un flujo constante (0.8 L/h) con el fin de evaluar los posibles efectos de la temperatura de entrada, la relación de material de pared con los compuestos a encapsular y las mejores mezclas poliméricas que se obtendrán de los análisis reológicos, sobre la respuesta rendimiento de polvos obtenidos, solubilidad, humedad, a_w . (Cuadro 6.2).

Cuadro 6.2 Diseño experimental $3^{(3-1)} 1/3$ propuesto para la optimización del secado por aspersión empleando diferentes temperaturas, mezclas y relaciones de material de pared.

| Mezclas | Temperatura Entrada (°C) | Biopolímeros-material a encapsular | Flujo de Alimentación (L/h) |
|---------|--------------------------|------------------------------------|-----------------------------|
| M3 | 110 | 1:3 | 0.6 |
| M3 | 120 | 1:7 | 0.6 |

| | | | |
|----|-----|-----|-----|
| M3 | 130 | 1:5 | 0.6 |
| M2 | 110 | 1:7 | 0.6 |
| M2 | 120 | 1:5 | 0.6 |
| M2 | 130 | 1:3 | 0.6 |
| M1 | 110 | 1:5 | 0.6 |
| M1 | 120 | 1:3 | 0.6 |
| M1 | 130 | 1:7 | 0.6 |

M3, M2 y M1 son las mezclas con mejores propiedades reológicas.

Los polvos obtenidos se almacenaron hasta su análisis en bolsas herméticas dentro de un desecador con sílica para evitar su rehidratación debida a la humedad ambiental.

Se determinó la actividad de agua (a_w) y humedad del polvo obtenido usando equipos termogravimétricos de la marca OHAUS modelo MB23 y un Aqualab marca Emin Tech, estos parámetros sirvieron como criterio para determinar las condiciones óptimas de operación en el proceso de secado que permitiera la máxima eficiencia de encapsulación. Además, se realizaron las pruebas de solubilidad, caracterización de flujo de polvos y rendimiento de los polvos en función de los sólidos totales. El efecto de los factores se estimó mediante un ANOVA ($\alpha=0.05$) y una prueba de Fisher para obtener la diferencia de medias. Este análisis estadístico se realizó en el software Statistica versión 12. El experimento se realizó por duplicado.

6.2.2.1 Caracterización de microencapsulados.

A los polvos con un rendimiento mayor al 60% (obtenidos a partir de los diseños experimentales mencionados en el Cuadro 6.2) se les realizó los análisis de a_w , Hr, pH, propiedades de flujo, solubilidad. Además, se realizó la caracterización morfológica mediante microscopía electrónica de barrido (SEM), la estructura molecular por infrarrojo por transformada de Fourier (FTIR), la estabilidad térmica

por análisis termogravimétrico (TGA). Las metodologías de cada uno de los análisis se presentan a continuación.

6.2.2.2 Actividad de agua

Se determinó utilizando un equipo Aqualab marca Emin Tech, el cual se calibró con NaCl a temperatura constante de 25 °C, la muestra se colocó en una cápsula cilíndrica de plástico para su medición, el análisis se realizó por triplicado.

6.2.2.3 Rendimiento de polvos

El rendimiento de polvos secos obtenidos se obtuvo conforme a la siguiente ecuación 2:

$$Y = \frac{(PV_2 - PV_1) - X_{bh}(PV_2 - PV_1)}{V_M S_T} \times 100 \quad (2)$$

Dónde:

Y = rendimiento de polvos en % base seca

PV₂ = Peso del vaso + peso de polvos secos (g)

PV₁ = Peso del vaso (g)

S_T = Sólidos totales (g/L)

V_M = Volumen alimentado (L)

X_{bh} = Contenido de humedad del polvo en base húmeda

El comportamiento al flujo de los polvos es indicativo de calidad y es de suma importancia en el manejo, transporte y almacenamiento de éstos (Haque *et al.*, 2015; Gharsallaoui, 2007). A los polvos obtenidos se les realizaron los siguientes análisis para su caracterización:

6.2.2.4 Densidad a granel

En una probeta graduada de 10 mL se colocaron aproximadamente 5 g de muestra. La densidad a granel se calculó dividiendo el peso de la muestra entre el

volumen ocupado por la muestra en la probeta graduada (Ecuación 3) (Jimenez *et al.*, 2006).

$$\text{Densidad a granel} = \frac{\text{Peso de muestra(g)}}{\text{Volumen ocupado (mL)}} \quad (3)$$

6.2.2.5 Densidad compactada

La densidad compactada se determinó mediante el método “tappin”. La densidad compactada se calcula dividiendo el peso de la muestra entre el volumen constante ocupado (Chegini y Ghobadian, 2007).

6.2.2.6 Índice de Hausner

El índice de Hausner (IH) relaciona la densidad a granel y compactada de los polvos. Entre más se compacte un polvo menos facilidad tendrá de fluir. El IH se calculó según la Ecuación 4.

$$\text{IH} = \frac{\text{Densidad compactada}}{\text{Densidad a granel}} \quad (4)$$

6.2.2.7 Compresibilidad

El porcentaje de compresibilidad se refiere a la capacidad del polvo para compactarse. Se calculó relacionando las densidades compactadas y a granel de acuerdo a la Ecuación 5.

$$\% \text{ Compresibilidad} = \frac{\text{Densidad compactada} - \text{Densidad granel}}{\text{Densidad compactada}} \times 100 \quad (5)$$

6.2.2.8 Solubilidad

En matraces Erlenmeyer se colocó 1 g de polvo y 0.1 L de agua destilada, se agitó en una placa magnética a máxima velocidad por 5 min a temperatura ambiente,

posteriormente se centrifugó a 2500 rpm por 10 min. Se tomaron alícuotas de 25 mL de sobrenadante para ser transferidos a cajas Petri previamente puestas a peso contante, las cuales se secaron en estufa a 105 °C por 5 h, se pesaron nuevamente las cajas con sólidos y el porcentaje de solubilidad se calculó por diferencia de pesos según el método descrito por Eastman y Moore (1984) Ecuación 6.

$$\% \text{Solubilidad} = \frac{\text{Peso inicial} - \text{Peso final}}{\text{Peso de muestra}} \times 100 \quad (6)$$

6.2.2.9 Microscopía electrónica de barrido (SEM)

La morfología de los polvos se evaluó utilizando un microscopio electrónico de barrido Marca HITACHI Modelo SU3500. El microscopio se operó a 15.0 kV a cuatro niveles de aumento: 200X, 250X, 500X y 1000X en modo de electrones secundarios.

6.2.2.10 Espectroscopía Infrarroja (FTIR)

La espectroscopía infrarroja de las muestras fue obtenida en un equipo FTIR Tensor 27 (Bruker CO. Massachusetts) en un rango de frecuencia de 400 a 4,000 cm^{-1} con una resolución de 1 cm^{-1} . La cual se emplea para obtener un espectro de una muestra y así mostrar la “huella digital” de una sustancia, este análisis es ampliamente usado para corroborar la existencia de un material en una mezcla que ha sido sometida a un proceso, esto con el fin de asegurar la estabilidad o presencia de este (Rajam y Anandharamakrishnan, 2015)

6.2.2.11 Análisis Termogravimétrico (TGA)

Los análisis termogravimétricos se realizaron en un equipo marca TA Instruments® SDT-Q600. Se tomaron 10 mg de muestra y se colocaron en un plato de alúmina, se trabajó con una rampa de temperatura de 10 °C/min de 25°C hasta 700 ° C con una atmósfera de argón. Este análisis se utiliza ampliamente

para conocer los cambios fisicoquímicos de una sustancia en respuesta al incremento de temperatura, con lo que se puede determinar su estabilidad en diferentes procesos que utilicen calor.

6.2.3 Secado por aspersión del bioinsecticida y su optimización de proceso

Los materiales de pared seleccionados a partir del diseño 3⁽³⁻¹⁾ 1/3 propuesto, funcionaron adecuadamente para la encapsulación de la matriz acuosa del extracto de jamaica, sin embargo, no se obtuvieron resultados favorables (7.2.2) con la matriz oleosa (bioinsecticida). Por ello, para el secado del bioinsecticida se propuso la adición de otros materiales de pared [ALTUS-3 (AT-3) y ALTUS-3 (AT-3)] a la mejor mezcla polimérica de acuerdo con el análisis reológico validado en el punto 6.2.2 (0.18%Q:0.66%A:3.33%F). Se empleó un diseño experimental factorial 4x2 (Cuadro 6.3) con el fin de evaluar la relación de los materiales de pared y el bioinsecticida, y posteriormente se evaluó el rendimiento de polvos obtenidos, su solubilidad, Hr y a_w.

Cuadro 6.3 Diseño experimental 4x2 para la optimización del secado por aspersión del bioinsecticida adicionando AT-2 y AT-3 en diferentes proporciones.

| Tratamiento | Material de pared | Proporción Biopolímeros-bioinsecticida |
|-------------|-------------------|--|
| 1 | AT-2 | (3:1) |
| 2 | AT-2 (4:1) | (4:1) |
| 3 | AT2-T12 (3:1) | (3:1) |
| 4 | AT2-T12 (4:1) | (4:1) |
| 5 | AT-3 (3:1) | (3:1) |
| 6 | AT-3 (4:1) | (4:1) |
| 7 | AT3-T12 (3:1) | (3:1) |
| 8 | AT3-T12 (4:1) | (4:1) |

BIO: Bioinsecticida; AT-2 y AT-3: Materiales de pared; T12= 0.18%Q:0.66%A:3.33%F

El efecto de los factores se estimó mediante un ANOVA ($\alpha=0.05$) y una prueba de Fisher LSD para obtener la diferencia de medias. Este análisis estadístico se realizó mediante el software Statistica versión 12.

6.2.3.1 Optimización del secado por aspersion del bioinsecticida

Después de obtener los resultados preliminares en el secado del bioinsecticida, se procedió a optimizar este proceso, para ello se planteó un diseño experimental 2^3 donde el tratamiento AT-3 [6] (4:1) se consideró constante y las variables aplicadas para la optimización fueron: temperaturas de entrada de 110°C y 120°C, flujo de alimentación de 0.6 y 0.8 L/h y presión de giro en la esprea de 0.2 y 0.25 Mpa. Las variables fueron modificadas con la finalidad de lograr el mayor rendimiento de los polvos obtenidos para posteriormente comprobar su eficacia contra las plagas blanco. En el cuadro 6.4 se observa el diseño experimental y los valores empleados para cada variable.

Cuadro 6.4 Diseño experimental 2^3 para la optimización de condiciones de operación en el secado por aspersion

| Tratamiento | Temperatura | Flujo de alimentación L/h | Velocidad giro de la esprea (Mpa) |
|-----------------|-------------|---------------------------|-----------------------------------|
| AT-3 (1) | 110.00 | 0.60 | 0.20 |
| AT-3 (2) | 120.00 | 0.60 | 0.20 |
| AT-3 (3) | 110.00 | 0.80 | 0.20 |
| AT-3 (4) | 120.00 | 0.80 | 0.20 |
| AT-3 (5) | 110.00 | 0.60 | 0.25 |
| AT-3 (6) | 120.00 | 0.60 | 0.25 |
| AT-3 (7) | 110.00 | 0.80 | 0.25 |
| AT-3(8) | 120.00 | 0.80 | 0.25 |

En la encapsulación del bioinsecticida se evaluó el efecto de los factores sobre la respuesta de rendimiento de polvos obtenidos y mortalidad de los ácaros. También a estos polvos se les realizaron determinaciones de actividad de agua (a_w), humedad relativa (Hr), índice de Hausner (IH), compresibilidad (%C) y solubilidad (S), parámetros que se usaron como criterio en la selección del mejor polvo.

El efecto de los factores se estimó mediante un ANOVA ($\alpha=0.05$) y una prueba de Fisher para obtener la diferencia de medias. Este análisis estadístico se realizó en el software Statistica versión 12. Se determinó si existen diferencias significativas entre los factores y se realizó un análisis de superficie de respuesta para determinar la ecuación que permita obtener las condiciones para el mayor rendimiento. Todos los ensayos se realizaron por duplicado.

6.2.3.2 Caracterización de las mejores microcápsulas del bioinsecticida

Se realizó la caracterización de las microcápsulas obtenidas en el secado por aspersión del diseño mencionado anteriormente, con la finalidad de comprobar la eficiencia de encapsulación del compuesto activo y su morfología, las metodologías se presentan a continuación:

6.2.3.3 Cromatografía líquida de alta eficiencia (HPLC-DAD)

Se estimó la concentración de metabolitos secundarios característicos presentes en las microcápsulas del bioinsecticida por HPLC-DAD, la cromatografía se realizó en un equipo marca AGILENT 1200; sistema SYS-LC-1200. Se realizó una dilución de microcápsulas al 1% p/v en agua grado HPLC. Se tomó 1 mL de muestra en un tubo falcón y se agregaron 4 mL de metanol grado HPLC. La muestra fue sonicada por 3 min y se centrifugó a 5000 RPM por 10 min a temperatura ambiente. Por último, se filtró el sobrenadante empleando un filtro con tamaño de poro de 0.2 μm , la muestra filtrada se llevó a un vial para HPLC. Se inyectaron 20 μL durante 8 min en una columna Supelco C18 Discovery con

longitud de 150mm a 25 °C, en detector DAD. Se cuantificó el pico obtenido a 245 nm. Como eluente se empleó una mezcla de metanol-agua 85:15 de forma isocrática.

6.2.3.4 Análisis Termogravimétrico (TGA)

El análisis termogravimétrico se realizó en un equipo TGA 550 TA Instruments. Se colocaron 17-20 mg de muestra en la Charola Pt HT, en una atmósfera inerte de N₂, con una rampa de calentamiento 25 – 800 °C @ 10 °C/min.

6.2.3.5 Distribución de tamaño de partícula (PSD)

Los análisis se realizaron en un equipo Mastersizer 3000 equipado con una celda de dispersión de polvo (Aero S, Malvern, Worcestershire, UK.). Se colocaron 3 g de polvo en la tolva de alimentación, con la presión de alimentación ajustada a 2 bares, el caudal a 30% y la altura de la tolva a 1 mm. La muestra pasó a través de la celda del Mastersizer 3000 hasta alcanzar un valor máximo de oscurecimiento del 10%. El índice de refracción se ajustó a 1.432. Los datos de distribución de tamaño de partícula fueron obtenidos con el software Mastersizer (versión 3.60, Worcestershire, UK). La muestra se analizó por cuadruplicado.

6.2.4 Evaluación contra plaga blanco

Se realizó una rehidratación de las microcápsulas obtenidas en los diseños anteriormente mencionados (Cuadro 6.3 y 6.4).

El análisis de efectividad in vitro se realizó en 2 especies de ácaros *Tetranychus urticae* y *Polyphagotarsonemus latus* de acuerdo a la metodología de IRAC, 2009. Para el ensayo se colocó en una caja de Petri una hoja sana y sin daños del vegetal hospederero, la cual fue impregnada con el bioinsecticida reconstituido a dosis baja y alta (3.5 g/L y 5 g/L). La hoja se dejó secar en la caja de Petri, una vez seca se colocaron sobre ella 10 ácaros hembras, se cerraron las respectivas cajas y se mantuvieron a 21 °C ± 3 °C en una habitación con una humedad

relativa entre 65% y 90%. El experimento se realizó por quintuplicado. También se evaluó la mortalidad del polvo reconstituido contra *Galleria mellonella* y *Spodoptera frugiperda* se siguió el mismo procedimiento, solo que en lugar de ácaros se tomó 1 larva de cada especie de insecto.

Las mediciones se realizaron a las 24, 48 y 72 h, el resultado se expresó como % de mortalidad haciendo una corrección con la fórmula de Abbott (Ecuación 7), método tomado del Comité de acción contra la resistencia a los insecticidas (IRAC, 2009).

Formula de Abbott corregida

$$\%Mortalida\ corregida = \frac{\%mortalidad\ muestra - \%mortalidad\ testigo}{100 - \%mortalidad\ testigo} \times 100 \quad (7)$$

Se realizó un análisis de varianza (ANOVA) en el diseño factorial 3² midiendo factores de dosis y tiempo y como variable de respuesta la cantidad de ácaros muertos. Se utilizó una prueba de Fisher LSD para determinar las diferencias significativas entre el tipo de tratamiento, concentración y humedad de las microcápsulas, empleando el software StatSoft STATISTICA 12, con un (α)<0.05.

CAPÍTULO 7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

CAPÍTULO 7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

7.1 Primera etapa: Caracterización de bioinsecticida, biopolímeros y las mezclas

7.1.1 Preparación de las soluciones y mezclas de los biopolímeros

Se obtuvieron las soluciones de alginato de sodio al 1%, quitosano al 1% y una solución al 20% de fructanos de agave nativos (AGN).

Las cantidades empleadas en mL para la preparación de las mezclas de los biopolímeros conforme al diseño experimental se muestran en el Cuadro 7.1. El volumen final de cada tratamiento fue de 30 mL.

Cuadro 7.1. Cantidad de mL de cada solución para la preparación de las mezclas de la matriz del diseño experimental.

| Tratamiento | mL Solución 1% Quitosano | mL Solución 1% Alginato de sodio | mL Solución 20% Fructanos |
|--------------------|-------------------------------------|---|--------------------------------------|
| 1 | 30.00 | 0.00 | 0.00 |
| 2 | 0.00 | 30.00 | 0.00 |
| 3 | 0.00 | 0.00 | 30.00 |
| 4 | 10.00 | 20.00 | 0.00 |
| 5 | 10.00 | 0.00 | 20.00 |
| 6 | 0.00 | 10.00 | 20.00 |
| 7 | 20.00 | 10.00 | 0.00 |
| 8 | 20.00 | 0.00 | 10.00 |
| 9 | 0.00 | 20.00 | 10.00 |
| 10 | 10.00 | 10.00 | 10.00 |
| 11 | 20.00 | 5.00 | 5.00 |
| 12 | 5.00 | 20.00 | 5.00 |
| 13 | 5.00 | 5.00 | 20.00 |

Se realizó un análisis reológico a los 13 tratamientos del diseño experimental con el fin de conocer su comportamiento, sus interacciones químicas y su estabilidad. Se realizó la prueba de flujo que permitió conocer el comportamiento de la viscosidad de cada uno de ellos aplicando condiciones iguales, para lo cual se empleó la ecuación del modelo de Cross utilizando el programa de computadora TRIOS que permite obtener el modelo del comportamiento del material y el valor de la consistencia (λ).

7.1.2 Pruebas reológicas de los polímeros y las mezclas

El Cuadro 7.2 muestra los resultados de la evaluación del porcentaje de sólidos, este parámetro es de importancia debido a que en el proceso de secado por aspersion es necesario conocer la cantidad de sólidos totales ya que se relaciona con el total de gramos obtenidos en el proceso de encapsulación para calcular el rendimiento final. El Cuadro 7.2 muestra también el valor de la consistencia (λ) obtenido del modelo de Cross para cada una de las pruebas de flujo o cizalla simple aplicadas a los 13 tratamientos. El valor λ nos permitió conocer cuál tratamiento tiene un mayor adelgazamiento, es decir, qué tan rápido disminuye la viscosidad respecto a una velocidad de corte. Para este proyecto es conveniente seleccionar los materiales que presenten mayor valor de λ , es decir, que tengan una disminución de la viscosidad en respuesta a la fuerza de cizalla, esto para que puedan fluir mejor al momento de asperjarlos en el secador por aspersion.

Cuadro 7.2. Valores de porcentaje de sólidos en la solución y consistencia de los tratamientos.

| Número de mezcla | % Concentración (W/V) | Consistencia λ (s) |
|------------------|-----------------------|----------------------------|
| 1 | 1%Q | 1.64E+07 |
| 2 | 1%A | 3.94E+14 |

| | | |
|----|-------------------------|----------|
| 3 | 20%F | 3.29E+01 |
| 4 | 0.33%Q:0.67%A | 1.59E+07 |
| 5 | 1.23%Q:12.44%F | 8.37E+05 |
| 6 | 1.23%A:12.44%F | 2.47E+07 |
| 7 | 0.67%Q:0.33%A | 2.03E+04 |
| 8 | 0.184%Q:7.146%F | 2.78E+03 |
| 9 | 0.184%A:7.146%F | 1.35E+16 |
| 10 | 0.092%Q:0.092%A:7.146%F | 1.74E+08 |
| 11 | 0.66%Q:0.18%A:3.33%F | 1.56E+02 |
| 12 | 0.18%Q:0.66%A:3.33%F | 2.21E+08 |
| 13 | 0.165%Q:0.165%A:13.34%F | 5.50E+06 |

En el Cuadro 7.2 se puede observar que las mezclas 6, 9, 10 y 12 presentan los mayores índices de consistencia (λ). El parámetro λ se relaciona con el tiempo en que las cadenas del biopolímero en la mezcla muestran un cambio en su estructura en respuesta al incremento de la velocidad de cizalla. El incremento en dicha magnitud se refiere al tiempo de permanencia en la zona newtoniana antes del paso a la zona pseudoplástica o adelgazante, en otras palabras, a mayor λ más rápido inicia el adelgazamiento (Figura 7.1) (Medina-Torres *et al.*, 2016).



Figura 7.1 Zona newtoniana de los pseudoplásticos y su comportamiento típico de viscosidad- velocidad de corte.

En el Cuadro 7.3 se resumen los mejores tratamientos y sus valores de consistencia (λ).

Cuadro 7.3. Mejores tratamientos en base a su consistencia

| Número de mezcla | % Concentración (W/V) | Consistencia λ (s) |
|-------------------------|------------------------------|--|
| 6 | 1.23%A:12.44%F | 2.47E+07 |
| 9 | 0.184%A:7.146%F | 1.35E+16 |
| 10 | 0.092%Q0.092%A:7.146%F | 1.74E+08 |
| 12 | 0.18%Q0.66%A:3.33%F | 2.21E+08 |

De acuerdo con el resultado en el parámetro λ , se seleccionaron como mejores mezclas de materiales de pared las mostradas en el Cuadro 7.3, estos materiales se caracterizaron más detalladamente mediante herramientas reológicas para determinar sus curvas de flujo y visualizar de manera gráfica su comportamiento de viscosidad en relación con la velocidad de corte.

En la Figura 7.2 se observan las curvas de flujo de las mezclas 6, 9, 10 y 12 donde se aprecian los comportamientos de la viscosidad respecto al esfuerzo de corte.

Curvas de flujo de las mejores mezclas en base a λ

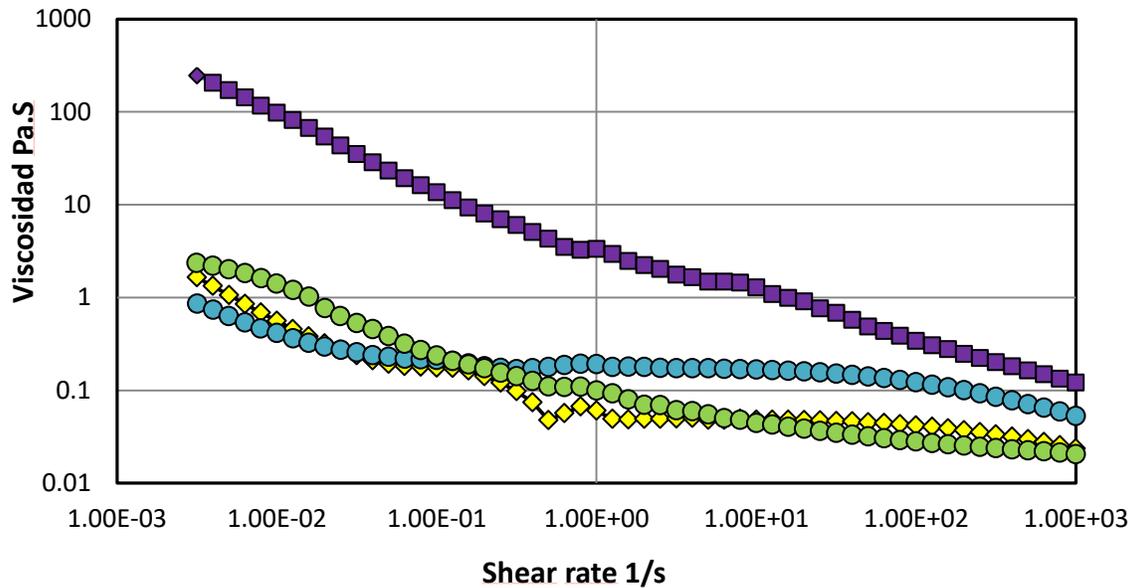


Figura 7.2 Curvas de flujo de las mezclas con mayor índice de consistencia de acuerdo al modelo de Cross. Mezcla 6: 1.23%A:12.44%F (amarillo), Mezcla 9: 0.184%A:7.146%F (azul), Mezcla 10: 0.092%Q0.092%A:7.146%F (verde) y Mezcla 12: 0.18%Q0.66%A:3.33%F (morado).

El comportamiento adelgazante que se muestra en las mezclas se presenta debido al rompimiento de la estructura interna a medida que las interacciones de las moléculas se debilitan por el aumento de la velocidad y éstas se orientan a lo largo de las líneas de flujo (Cervantes-Martínez *et al.*, 2014). Se observa que la mezcla de 0.18%Q:0.66%A:3.33%F (12) presenta una viscosidad mayor en todos los puntos, lo cual se explica porque esta matriz contiene mayor cantidad de alginato de sodio, biopolímero que le confiere la característica espesante y el fenómeno de gelificación dado por las interacciones químicas del sistema. En las mezclas 10 y 12 se observa la sinergia e interacciones entre el quitosano y el alginato de sodio mediante fuerzas electrostáticas entre los grupos amino del quitosano y los grupos carboxilo del alginato de sodio, lo que atribuye al material

un carácter reo-adelgazante o pseudoplástico (Yoojin, K. *et al.*, 2020). Como puede observarse la adición de fructanos generó una disminución de la viscosidad debido a su carácter adelgazante en las mezclas.

En la caracterización reológica de los materiales es importante evaluar sus propiedades viscoelásticas mediante el análisis de los módulos viscoso (G'') y elástico (G'), los cuales proporcionan información de la interacción entre componentes de una formulación (Ceja-Medina *et al.*, 2020). Los resultados obtenidos de las pruebas de barrido de frecuencia para las mezclas que resultaron ser las mejores (de acuerdo al parámetro λ) se muestran en las Figuras 7.3, 7.4, 7.5 y 7.6. La prueba de barrido de frecuencia permite conocer las interacciones de los componentes y un comportamiento más exacto de las mezclas; El módulo viscoso (G'') se relaciona con la pérdida de energía al tener parcialmente comportamiento de un líquido, mientras que el módulo elástico (G') está relacionado con el almacenamiento de energía al comportarse parcialmente como un sólido.

En la Figura 7.3 que corresponde al análisis viscoelástico de la mezcla 1.23%A:12.44%F; se observa de acuerdo al dominio del módulo de pérdida (G'') (o llamada también componente líquida), que a bajas y altas frecuencias (<250 rad/s) esta mezcla se comporta más como un líquido que como un sólido. El comportamiento reológico de esta muestra presenta un plato newtoniano extendido tanto en la curva de flujo como en el barrido de frecuencia, esto se le atribuye a los fructanos de agave y su carácter adelgazante que predomina sobre el carácter espesante del alginato de sodio y no a una estructura compleja entre ambos componentes que contribuyan a la estabilidad. Este análisis revela una dependencia de los módulos en relación a la frecuencia angular (ω), lo que sugiere una respuesta característica de un sistema de redes complejas donde las mezclas de polisacáridos presentan una configuración de espiral al azar (Cervantes-Martínez *et al.*, 2014).

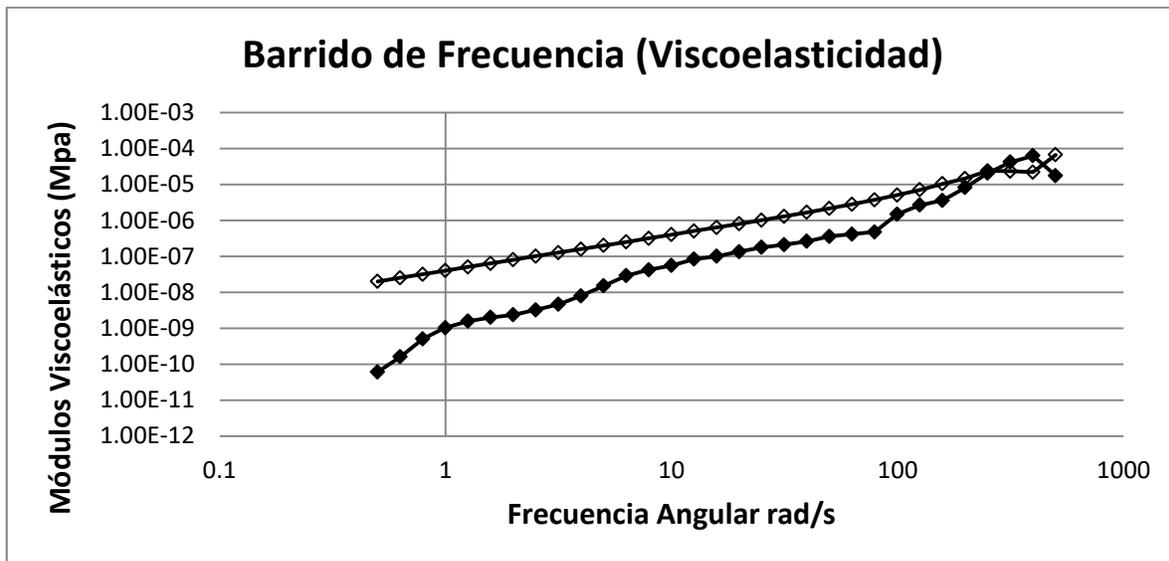


Figura 7.3. Módulos de almacenamiento (G') (◆) y pérdida (G'') (◇) de la mezcla 1.23%A:12.44%F.

En la Figura 7.4 se observan los resultados del barrido de frecuencia de la mezcla 9 (0.184%A:7.146%F), se muestra el dominio del módulo de pérdida (G'') al igual que en la mezcla 6 (1.23%A:12.44%F). Por otra parte, la mezcla 9 tiene platos newtonianos más extendidos tanto en la curva de flujo como en el barrido de frecuencia, esto se le atribuye a los fructanos de agave y su carácter adelgazante que predomina sobre el alginato de sodio. La matriz de la mezcla 9 tiene mayor cantidad de alginato comparado la mezcla 6, por ello tiene una mayor viscosidad (Figura 7.2). Al no presentar puntos de inflexión en los módulos de almacenamiento (G') y pérdida (G''), las curvas indican que no existen interacciones fuertes entre los componentes, siendo una mezcla con estructura relativamente menos compleja lo que la hace estable al flujo.

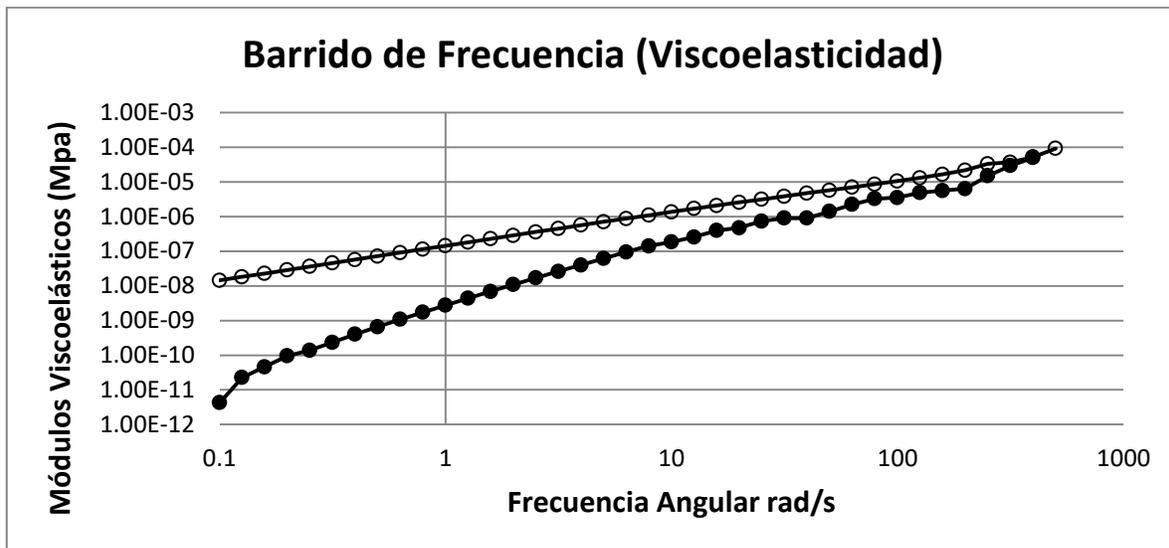


Figura 7.4. Módulos de almacenamiento (G') (●) y pérdida (G'') (°) de la mezcla 0.184%A:7.146%F.

En las mezclas 1.23%A:12.44%F y 0.184%A:7.146%F, el módulo viscoso (G'') es dominante sobre el módulo elástico (G') a bajas y medias frecuencias (<200 rad/s) y tiempos largos de relajación, sin embargo, a medida que la frecuencia aumenta G'' se vuelve menos dominante y su comportamiento se invierte después del equimódulo ($G''=G'$) siendo ahora G' dominante, sugiriendo la formación de un gel débil a altas frecuencias. Se observó una concordancia del comportamiento de los componentes viscoso y elástico con la presencia de los sólidos aportados por los fructanos de agave de alto grado de polimerización (Agp), ya que a menor concentración de fructanos, el equimódulo se desplaza a frecuencias altas, este comportamiento es contrario a lo reportado por Ceja-Medina *et al.*, 2020, lo que se atribuye a la diferencia de biopolímeros como componentes del material de pared empleado en dicho estudio, en el cual se usó mucílago de Sábila (*Aloe barbadensis Miller*) en vez de alginato de sodio.

En la Figura 7.5 se muestra los resultados de la prueba de barrido de frecuencia de la mezcla 10 (0.092%Q:0.092%A:7.146%F), al igual que en las mezclas 6

(1.23%A:12.44%F) y 9 (0.184%A:7.146%F) se observa el dominio del módulo de pérdida (G''), no obstante, se observan mayores inflexiones en el módulo de almacenamiento (G'), esto se le atribuye a que en la matriz polimérica de la mezcla 10 está presente el quitosano, propiciando interacciones electroestáticas entre el quitosano y el alginato de sodio (Azfal, S. *et al.*, 2018). Se han reportado comportamientos similares con estos biopolímeros en trabajos reportados por Kulig, D. *et al.*, 2016, Azfal, S. *et al.*, 2018 y Yoojin, K. *et al.*, 2020. La menor proporción del alginato de sodio en la mezcla 10 (0.092%Q:0.092%A:7.146%F) comparado con la mezcla 12 (0.18%Q:0.66%A:3.33%F), cuyo comportamiento reológico se muestra en la Figura 7.6, acentúa que la relación existente entre la cantidad de alginato de sodio y quitosano define la capacidad de formación de gelificar como lo reporta Azfal, S. *et al.*, 2018.

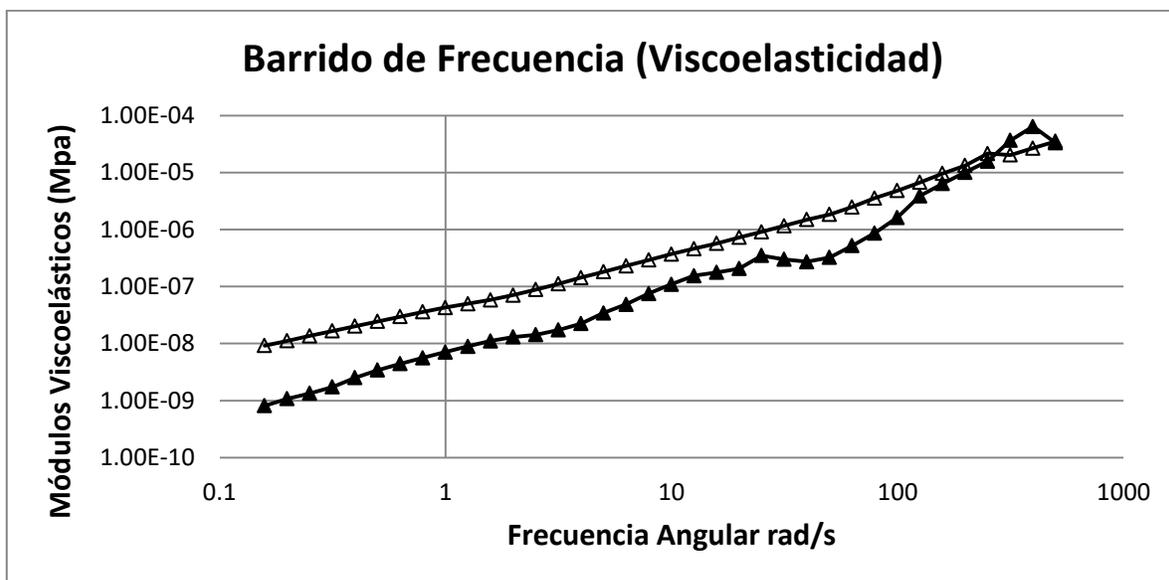


Figura 7.5. Módulos de almacenamiento (G') (\blacktriangle) y pérdida (G'') (\triangle) de la mezcla 0.092%Q:0.092%A:7.146%F.

La Figura 7.6 muestra que la mezcla 12 (0.18%Q:0.66%A:3.33%F) presenta un comportamiento contrario a las mezclas 6 (1.23%A:12.44%F, Figura 7.3); 9 (0.184%A:7.146%F, Figura 7.4) y 10 (0.092%Q:0.092%A:7.146%F, Figura 7.5).

Puede observarse que las curvas muestran un dominio del módulo de almacenamiento (G'), lo que indica que se comporta mayormente como un sólido. Por otro lado, los puntos de inflexión en ambos módulos (G') y (G'') muestran el comportamiento pseudosólido de la mezcla polimérica, ya que al aplicarle esfuerzos aproximados de 100 rad/s, la mezcla no se deforma, lo que demuestra las interacciones fuertes que existen entre los componentes. Además, la mezcla 12 (0.18%Q:0.66%A:3.33%F) presenta valores de magnitud de los módulos de 3 a 4 veces mayores que las mezclas 6, 9 y 10 y una viscosidad hasta 100 veces mayor (Figura 7.2), estos valores de viscosidad y de los módulos viscoelásticos obtenidos en la mezcla 12 (0.18%Q:0.66%A:3.33%F) son indicadores de estructuras más complejas (Ceja-Medina *et al.*, 2021).

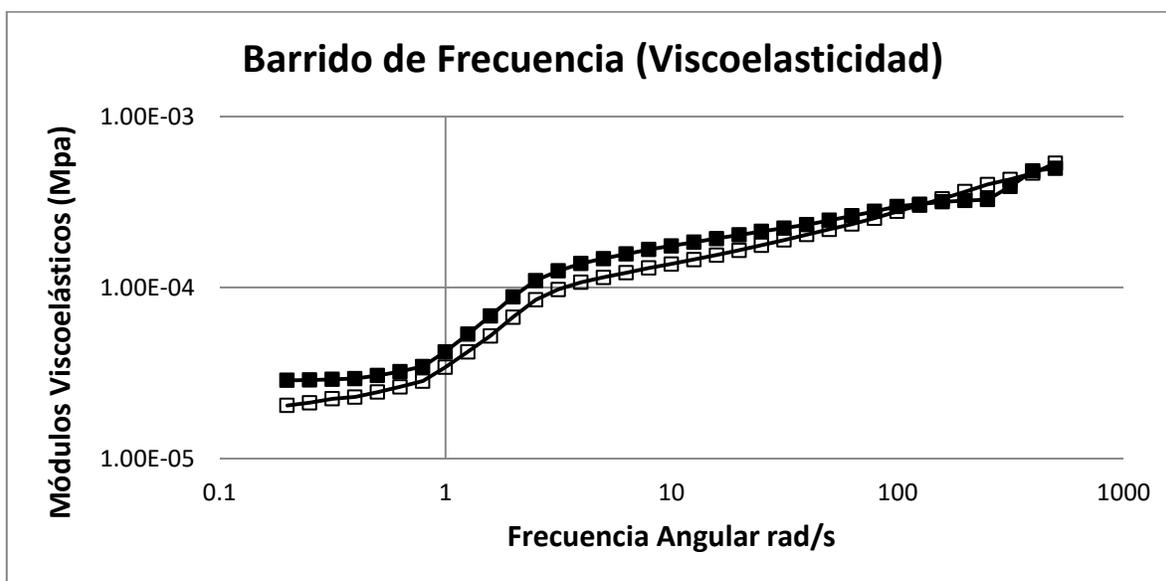


Figura 7.6. Módulos de almacenamiento (G') (■) y pérdida (G'') (□) de la mezcla 0.18%Q:0.66%A:3.33%F.

Los análisis reológicos mostrados anteriormente, sugieren que la mejor mezcla para ser empleada como material de pared es la 12 (0.18%Q:0.66%A:3.33%F), en virtud de los valores de la consistencia (λ), la viscosidad y los resultados obtenidos de los módulos de almacenamiento (G') y pérdida (G'') mostrando mayor

estabilidad, interacciones fuertes y una estructura más compleja. A su vez la mezcla 12 presenta componentes de interés como el quitosano con propiedades fúngicas y biocompatibilidad con el alginato de sodio (ambos considerados componentes no tóxicos) y los fructanos de agave que han demostrado capacidad fotoprotectora (Campos, E. *et al.*, 2016) entre otros aportes que presentan estos biopolímeros como estabilizadores, termo protector, biodegradables etc. La mezcla 10 a pesar de contener los mismos componentes, éstos no se encuentran en las mismas proporciones, lo cual indica que es importante la concentración de cada biopolímero para establecer las relaciones químicas de los componentes y lograr las características deseadas para hacer un buen material encapsulante. Por lo antes expuesto, se seleccionaron las mezclas 6(1.23%A:12.44%F), 10(0.092%Q:0.092%A:7.146%F) y 12(0.18%Q:0.66%A:3.33%F) como las mejores 3 mezclas para ser usadas en el secado por aspersion tanto del extracto de jamaica y como del bioinsecticida (6.2.2)

7.1.3 Pruebas reológicas del bioinsecticida

Además de las pruebas reológicas en los materiales de pared, también es importante llevar a cabo las pruebas de flujo a la cizalla simple en el material que se pretende encapsular con el fin de conocer su comportamiento a diferentes esfuerzos, permitiendo conocer la viabilidad de someterlo a procesos de secado por aspersion. Para la caracterización reológica del bioinsecticida se aplicaron condiciones de trabajo de 0.1 a 300 1/s, con el fin de analizar la deformación de las muestras cuando éstas son sometidas a un esfuerzo. Como respuesta se determinó el tipo de fluido, estabilidad mecánica, termoestabilidad y se realizó una proyección de la estabilidad durante el almacenamiento (Ceja-Medina *et al.*, 2020). Los datos obtenidos se analizaron con el programa TRIOS de TA Instruments (versión 5.2.1).

El resultado de las pruebas viscoelásticas mostradas en la Figura. 7.7 demostraron que la formulación bioinsecticida se comporta como un gel transitorio,

ya que se observa que la componente sólida es mayor que la líquida en todo el rango de esfuerzos probados. Tanaka en 1981 definió como un gel transitorio a la materia con un comportamiento intermedio entre sólido y líquido, es decir, el punto donde los módulos (G' y G'') tienen el mismo valor, esto indica que existen cadenas (estructuras químicas) unidas que crean una red continua inmersa en un medio líquido. Sin embargo, la diferencia en magnitud menor a una década entre los dos componentes (sólido y líquido) denota un comportamiento característico de semiemulsiones que son estables a esfuerzos mecánicos menores a 10 s^{-1} . Los esfuerzos menores a 10 s^{-1} en reología, están relacionados con la vida de anaquel de un producto, ya que las interacciones que se dan en una sustancia o mezcla de forma normal en su almacenamiento son valores cercanos a velocidades de cizalla de 10 s^{-1} (Ceja-Medina *et al.*, 2020). La falta de puntos de inflexión en ambas componentes (G' y G'') sugiere que las interacciones entre los componentes de la formulación son débiles y estables (Figura 7.7). En resumen, los resultados de las pruebas viscoelásticas revelan que el bioinsecticida es estable al almacenamiento, tiene comportamiento de semi emulsión y las interacciones entre sus componentes son débiles.

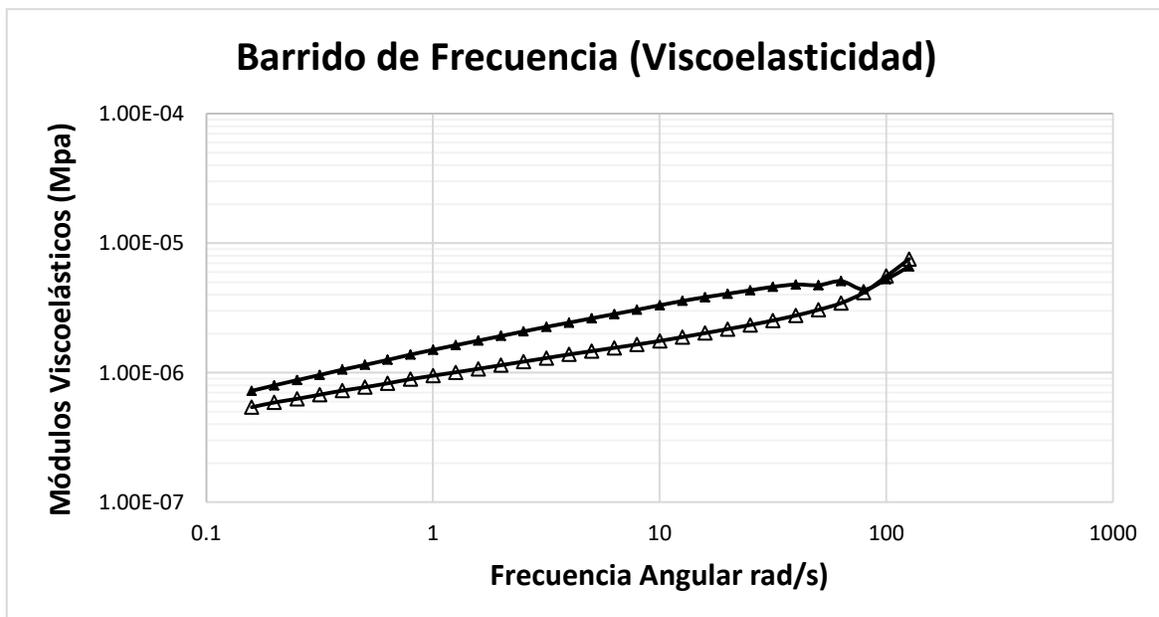


Figura 7.7. Módulos de almacenamiento (G') (\blacktriangle) y pérdida (G'') (\triangle) del bioinsecticida.

En la Figura 7.8 se presenta el promedio de la viscosidad lineal en un rango de temperatura de 25 a 35 °C, donde se observa que el bioinsecticida es un fluido no newtoniano adelgazante al flujo, ya que la magnitud de la viscosidad disminuye en función del aumento del esfuerzo aplicado. Es decir, por la naturaleza de la muestra (una emulsión), las interacciones químicas entre los componentes de la formulación son electrostáticas débiles, lo que propicia un reordenamiento en la estructura de la emulsión, sin embargo, se mantiene estable a esfuerzos pequeños; lo que sugiere que cuando se apliquen esfuerzos como mezclado, homogenización, asperjado o atomización durante el proceso de secado, la formulación se comportará como un líquido de baja viscosidad y fácil aplicación.

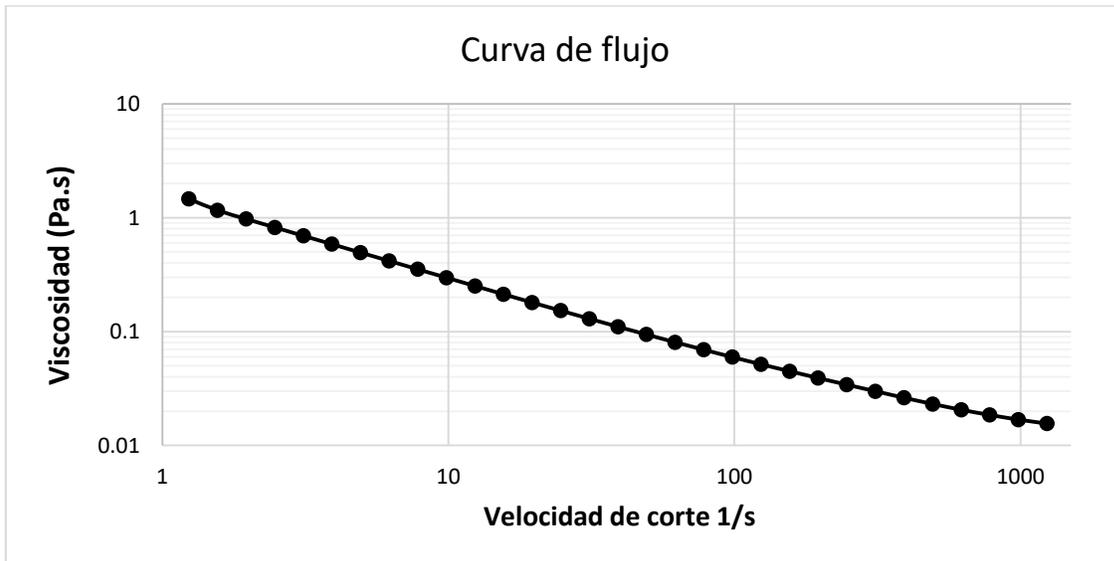


Figura 7.8. Curva de flujo o viscosidad lineal del bioinsecticida.

7.1.4 Propiedades fisicoquímicas del bioinsecticida

Aunado a los resultados reológicos es conveniente evaluar las propiedades fisicoquímicas del material que se pretende encapsular. Los resultados de los análisis de las propiedades físico-químicas de interés del bioinsecticida se muestran en el Cuadro 7.4. Las pruebas reológicas realizadas anteriormente y los datos de las propiedades fisicoquímicas permiten tener un perfil más exacto del material a encapsular para determinar su factibilidad de encapsulación a partir de su facilidad de bombeo, mezclado y agitado.

Cuadro 7.4. Valores promedio de las propiedades fisicoquímicas del bioinsecticida.

| Análisis | Valor promedio | Método |
|------------------------------|------------------|----------------|
| Color | Mostaza | Visual |
| Apariencia | Lechoso | Visual |
| Olor | Menta | Olfato |
| Densidad (ρ) (g/mL) | 0.997 \pm 0.05 | Peso-volumen |
| pH | 6.4 \pm 0.15 | Conductimetría |
| Grados Brix | 8 \pm 0.1 | Refractometría |
| Turbidez (Solución 0.5%) NTU | 503 \pm 1.8 | Turbidimetría |

Los hallazgos anteriores reológicos y fisicoquímicos revelan que el bioinsecticida es una matriz factible de ser microencapsulada en el proceso de secado por aspersión.

7.2 Validación y optimización de los materiales de pared mediante secado por aspersión

Con la finalidad de validar las mejores mezclas como materiales de pared, se aplicaron en la encapsulación de 2 matrices de diferente índole, una acuosa (extracto de jamaica) y otra oleosa, (bioinsecticida), ya que no hay reportes previos que muestren la capacidad de las mezclas de materiales que se proponen en esta investigación para ser aplicadas en el secado por aspersión.

7.2.1 Validación de los materiales de pared en una matriz acuosa (Extracto de jamaica)

Se aplicó un diseño experimental $3^{(3-1)}$ 1/3 (Cuadro 6.2), el experimento se realizó por duplicado para encontrar las mejores condiciones de trabajo y evaluar la efectividad de los materiales de pared como agentes encapsulantes del extracto de jamaica (*Hibiscus sabdariffa*). En el Cuadro 7.5 se presentan los resultados obtenidos.

Cuadro 7.5 Optimización del secado por aspersión de un extracto de jamaica evaluando el efecto de la temperatura y los materiales de pared a diferentes mezclas.

| Porcentaje materiales de pared W/V (Número) | T (°C) | Rendimiento (%) | a_w | Hr (%) | IH | C (%) |
|---|--------|--------------------------|--------------------------|-------------------------|------------------------|-------------------------|
| 1.23%A:12.44%F (1) | 110 | 79.75±6.44 ^a | 0.115±0.004 ^a | 1.95±0.07 ^a | 1.35±0.02 ^e | 25.30±0.42 ^e |
| 1.23%A:12.44%F (2) | 120 | 82.03±0.53 ^a | 0.115±0.001 ^a | 3.93±0.11 ^b | 1.25±0.00 ^a | 20.00±0.00 ^a |
| 1.23%A:12.44%F (3) | 130 | 78.22±8.29 ^a | 0.141±0.002 ^b | 3.75±0.07 ^b | 1.24±0.01 ^a | 19.17±1.17 ^a |
| 0.092%Q:0.092%A:7.146%F (4) | 110 | 75.53±5.54 ^a | 0.178±0.001 ^d | 3.80±0.07 ^b | 1.43±0.00 ^g | 30.00±0.00 ^g |
| 0.092%Q:0.092%A:7.146%F (5) | 120 | 79.63±2.53 ^a | 0.110±0.008 ^a | 2.05±0.14 ^a | 1.11±0.00 ^b | 10.00±0.00 ^b |
| 0.092%Q:0.092%A:7.146%F (6) | 130 | 77.72±3.50 ^a | 0.096±0.003 ^c | 3.30±0.14 ^e | 1.38±0.00 ^f | 27.27±0.00 ^f |
| 0.18%Q:0.66%A:3.33%F (7) | 110 | 78.81±10.55 ^a | 0.110±0.006 ^a | 2.13±0.04 ^{ac} | 1.21±0.01 ^c | 16.78±0.16 ^c |
| 0.18%Q:0.66%A:3.33%F (8) | 120 | 80.72±0.83 ^a | 0.148±0.006 ^b | 0.10±0.00 ^d | 1.24±0.01 ^a | 19.70±0.42 ^a |
| 0.18%Q:0.66%A:3.33%F (9) | 130 | 77.94±3.26 ^a | 0.118±0.004 ^a | 2.28±0.04 ^c | 1.29±0.01 ^d | 22.50±0.71 ^d |

Q= Quitosano; A= Alginato de sodio; F= Fructanos de agave

Los resultados obtenidos en el Cuadro 7.5 indican que en todos los tratamientos no existen diferencias estadísticamente significativas en el rendimiento de secado ($\alpha=0.975$) a las diferentes condiciones, caso contrario con la a_w , Hr, IH, %C, donde sí se observa diferencia estadísticamente significativa ($\alpha=0.00000$) entre los diferentes materiales de pared, temperaturas de secado y relaciones de materiales de pared. Los tratamientos 1.23%A:12.44%F (2) y 0.18%Q0.66%A:3.33%F (8) presentaron el mayor rendimiento que fue del $82.03\% \pm 0.53^a$ y $80.72\% \pm 0.83^a$ respectivamente, similares a lo reportado por Quoc-Duy N *et al.*, (2021). El bajo rendimiento de encapsulación logrado en algunas de las condiciones ensayadas se explica porque no sucede un proceso ideal de secado, debido a la pegajosidad. Este fenómeno sucede cuando las gotas no son deshidratadas antes de hacer contacto con las paredes de la cámara de secado y no se logra recolectar la mayor cantidad de producto, ya sea por falta de temperatura o una alta alimentación de la solución (Haque *et al.*, 2015).

Los resultados de Hr y a_w en los polvos están influidos por la propiedad funcional de los fructanos de atrapar el agua (Rajam y Anandharamakrishnan, 2015), se puede observar una relación directa entre el porcentaje de fructanos presente en las diferentes mezclas y la humedad de los polvos. No obstante, los valores de a_w y altos valores de humedad en los polvos podría causar una problemática en el almacenamiento de las microcápsulas, ya que presentan mayor higroscopicidad (Rubio-Ibarra *et al.*, 2015). El índice de Hausner y Carl nos indican la capacidad de fluir de un polvo, lo que está relacionado con la estructura, la humedad y el tamaño de las partículas (Jakubczyk *et al.*, 2011). Los resultados indican que el tratamiento 0.092%Q:0.092%A:7.146%F (4) tiene excelentes propiedades de flujo, a pesar de contener una humedad de 3.80 ± 0.14^b , el alto contenido de humedad se asocia a que dentro del tratamiento existe una relación alta de material de pared y material encapsulante 1:7 con una temperatura de 120°C evitando una deshidratación total como sucedió en el caso del tratamiento

0.18%Q:0.66%A:3.33%F (8). A mayor contenido de Hr, las partículas se aglomerarán unas con otras, propiciando espacios entre ellas y como resultado se presenta un mayor volumen respecto a la masa (Goula y Adamopoulos, 2005). De manera global los tratamientos presentaron valores del índice de Carl o compresibilidad entre 10 y 30%, que indica buenas y regulares propiedades de flujo, entre más se logre compactar un polvo, es decir, mientras mayor sea el porcentaje de compresibilidad, mayor será su resistencia al flujo (León-Martínez *et al.*, 2010). Por lo cual los tratamientos 1.23%A:12.44%F (1), 0.092%Q:0.092%A:7.146%F (4) y 0.092%Q:0.092%A:7.146%F (6) se consideran con baja fluidez en relación con sus propiedades de flujo. En el Cuadro 7.6 se presenta la relación de la compresibilidad y el índice de Hausner respecto a las propiedades de flujo, esto conforme a lo presentado por Ortega-Rivas en 2008.

Cuadro 7.6 Propiedades de flujo respecto a la relación de la compresibilidad y el índice de Hausner

| Propiedades de Flujo | Compresibilidad (%) | Índice de Hausner |
|----------------------|---------------------|-------------------|
| Excelentes | 5-10 | 1.00-1.11 |
| Buenas | 11-15 | 1.12-1.18 |
| Regulares | 16-20 | 1.19-1.25 |
| Aceptables | 21-25 | 1.26-1.34 |
| Pobres | 26-31 | 1.35-1.45 |
| Muy pobres | 32-37 | 1.46-1.59 |
| Extremadamente malas | >38 | >1.6 |

7.2.1.1 Microscopía electrónica de barrido de mejores microcápsulas diseño experimental 3⁽³⁻¹⁾ 1/3

El análisis SEM de las microcápsulas se realizó con la finalidad de identificar la morfología característica de éstas y así confirmar una encapsulación correcta. Las micrografías de las microcápsulas obtenidas de los procesos de secado por aspersión de la matriz acuosa (extracto de jamaica) con mejores rendimientos se muestran en las Figuras 7.9, 7.10 y 7.11. Las microcápsulas con composición del material de pared de 1.23%A:12.44%F (2) se muestran en la Figura 7.9 (A),

presentan un tamaño aproximado de 20 μm y una forma más lisa para la capa exterior de fructanos de agave comparada con el tratamiento 0.092%Q:0.092%A:7.146%F (5) y 0.18%Q:0.66%A:3.33%F (8) (Figuras 7.10 y 7.11). Esta morfología es similar a lo reportado por Sánchez-Madrugal *et al.*, (2019) con alginato de sodio, además se sugiere la formación de una doble capa observada en la Figura 7.9 (B) donde se presenta la esfera característica de alginato de sodio (Ferrándiz, M. *et al.*, 2016) que presenta una forma más corrugada comparada con las de fructanos de agave.

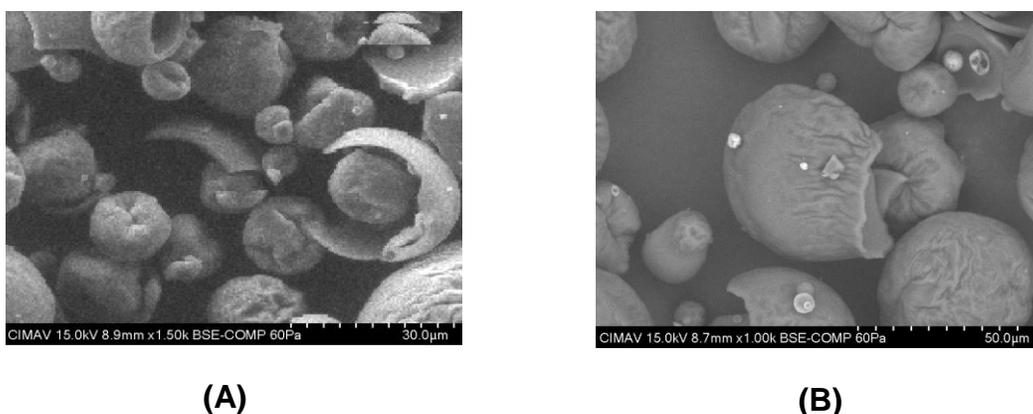


Figura 7.9. SEM de las microcápsulas de extracto de jamaica. Tratamiento 1.23%A:12.44%F (2). (A y B).

En la Figura 7.10(A) se presentan las microcápsulas del tratamiento 0.092%Q:0.092%A:7.146%F (5) con un tamaño de 18 μm aproximadamente, las imágenes sugieren una multi capa debido a la presencia de morfologías características de mezclas de alginato de sodio y quitosano (Pawiya, P.*et al.*, 2021), a su vez los fructanos de agave presentaron una deposición en la capa exterior sugiriendo la protección de los compuestos activos depositados dentro de la cápsula de alginato-quitosano. Se observó y comprobó mediante la Figura 7.10 (B) la presencia de microcápsulas del hidrogel formado por el alginato de sodio y quitosano. Yeung *et al.*, (2016) reportó morfologías similares de microcápsulas de alginato de sodio y quitosano que contenían microorganismos de *Bifidobacterium longum*, donde se discute que la rugosidad de las microcápsulas sugiere que se han logrado recubrir de manera idónea, debido a que las microcápsulas de

alginato de sodio se posicionan debajo de la capa de quitosano mostrando su forma lisa y con menos bordes.

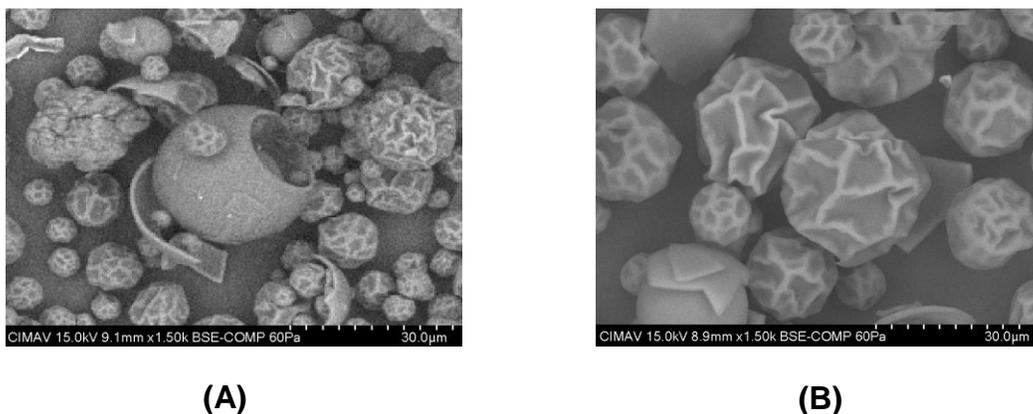


Figura 7.10. SEM de las microcápsulas de extracto de jamaica. Tratamiento 0.092%Q:0.092%A:7.146%F (5) . (A y B).

En la Figura 7.11 (A) se presentan las microcápsulas obtenidas del tratamiento 0.18%Q:0.66%A:3.33%F (8), donde se observa las multicapas de los 3 componentes, se aprecia por la ruptura de una microcápsula en la capa exterior que las que contienen fructanos de agave como material de pared tienen la característica de ser lisas y uniformes. Asimismo, por dentro se observa la esfera característica del hidrogel de alginato de sodio y quitosano, formada y unida por la sinergia e interacciones electrostáticas entre los grupos amino del quitosano y los grupos carboxilo del alginato de sodio (Yoojin, K. *et al.*, 2020). En la Figura 7.11 (B) se observa la parte interna de la esfera de alginato de sodio y quitosano, donde se aprecia un espesor no mayor a 5 μm y una pared con superficie más lisa interna que refleja la capa de alginato de sodio interna con reportes muy similares por Yeung *et al.*, (2016).

De manera global se logró la microencapsulación de los componentes, sin embargo, el tratamiento 0.18%Q:0.66%A:3.33%F (8) (Figura 7.11) presentó la

mejor morfología en comparación con los otros tratamientos debido a la multicapa que se forma y esto se debe a las interacciones electrostáticas ya que debido a su composición se presentan más grupos amino y grupos carboxilo disponibles para su unión (Kulig, D. *et al.*, 2016).

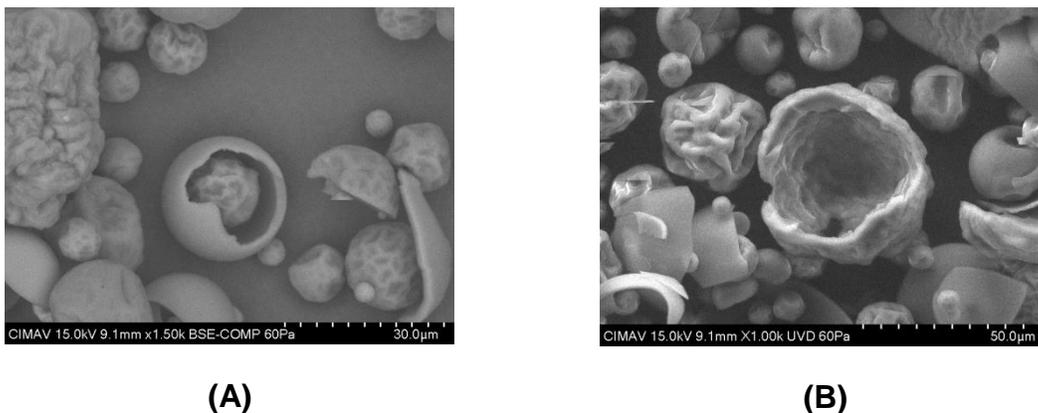


Figura 7.11. SEM de las microcápsulas de extracto de jamaica. Tratamiento 0.18%Q:0.66%A:3.33%F (8). (A y B).

7.1.1.2 Espectroscopía Infrarroja (FTIR) de las microcápsulas de jamaica

El FTIR es una herramienta que permite analizar las posibles interacciones entre la mezcla de polímeros y los ingredientes funcionales. En la Figura 7.12 se muestran los espectros infrarrojos (IR) del extracto de jamaica y de los materiales de pared (quitosano, alginato de sodio y fructanos de agave). El espectro del extracto de jamaica mostró un pico a 1650 cm^{-1} que corresponde a la vibración del enlace $\text{C}=\text{C}$ típico de los compuestos aromáticos (Cassol, L. & Zapata, C. 2020). El pico entre 1317 cm^{-1} y 1462 cm^{-1} se asigna a los ácidos hidroxicinámicos presentes en el extracto de Jamaica (S.C.S.R. Moura *et al.*, 2018). El pico encontrado a 1212 cm^{-1} se relaciona con la presencia de proantocianidinas (Cassol, L. & Zapata, C. 2020). Los picos de 1100 y 1071 cm^{-1} indican la presencia de antocianinas (cyanidin-3-O-sambubioside y delphinidin-3-O-sambubioside) como lo reportó Choong *et al.*, 2016. El pico encontrado en 1783 cm^{-1} se le atribuye al estiramiento de $\text{C}=\text{O}$ (Lee *et al.*, 2013), por otra parte, el pico en 1615

cm^{-1} se le atribuye al enlace C=N. El estiramiento de C-O-C se asocia al pico en 1185 cm^{-1} (Haddad *et al.*, 2011). El espectro presentó una banda típica de los carbohidratos como el quitosano, alginato de sodio y fructanos de agave en la región entre 1200 y 870 cm^{-1} , señalada como bandas de absorción de los enlaces C-O, C-C y C-O-H.

También se observó una banda de absorción más amplia entre 3700 cm^{-1} y 3000 cm^{-1} que representa la vibración de los enlaces O-H presentes en las moléculas de los fructanos de agave (Velázquez-Martínez, J. *et al.*, 2014) y en el extracto de jamaica en mayor proporción en comparación con el alginato de sodio y el quitosano (Helmiyati y Aprilliza, M. 2017). El pico dentro de esta región se incrementa a mayor cantidad de agua presente, por lo que el extracto de jamaica presentó un pico más intenso en comparación con los fructanos de agave. Otros picos característicos de los fructanos de agave encontrados son 2918 y 2875 cm^{-1} que corresponden a CH_2 asimétrico y CH_3 simétrico (Velazquez-martinez *et al.*, 2014), la señal en el rango de 1200 - 900 cm^{-1} pertenece a la vibración de los enlaces C-C, C-O, C-O-H y C-O-C característicos de los oligo y polisacáridos (Grube, M *et al.*, 2002); el pico en 1080 cm^{-1} corresponde al enlace C-O-C asimétrico característico de los fructanos (Velázquez-Martínez, J. *et al.*, 2014).

Por otra parte los picos característicos del alginato de sodio fueron los picos a 1604 cm^{-1} (enlace C=O) y 1390 cm^{-1} de los $-\text{COO}$ asimétrico y no asimétrico. El espectro de alginato también mostró un pico en 1014 cm^{-1} que se debe al estiramiento asimétrico y de flexión de C-O. Los picos característicos del quitosano son los picos en 3351 y 3291 cm^{-1} que corresponden a la tensión simétrica de los enlaces OH^- y NH_2^- respectivamente; los picos de 1642 cm^{-1} (amida-I) y 1432 cm^{-1} (amida-II) están relacionados con el grupo C=O. Los picos de doble amida en el espectro del quitosano corresponden a la N-desacetilación parcial de la quitina (Li, Z. *et al.*, 2005). El pico característico del grupo amino (NH_2) del quitosano se mostró a los 1582 cm^{-1} , además se observa que en 1367 cm^{-1} surge el pico de las vibraciones del estiramiento del grupo metil (C-H)

presente en el grupo acetamido (R-NHCOCH₃) residual que se mantiene debido a la desacetilación incompleta de la quitina. Por último, el pico en 1021 cm⁻¹ representa la unión C-O-C del anillo glucosídico (Xue *et al.*, 2015).

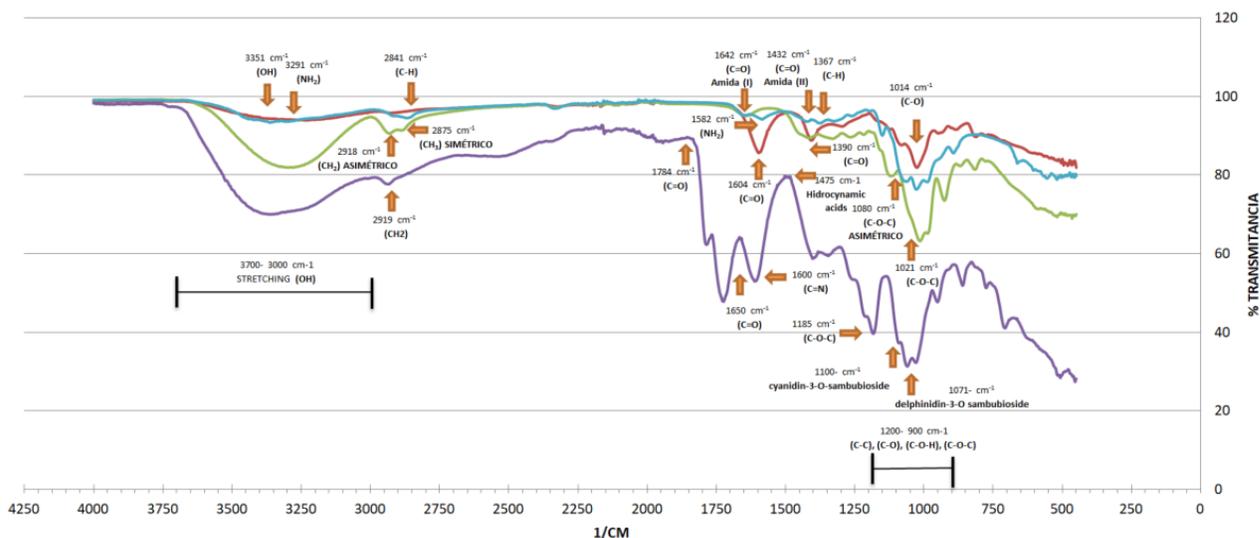


Figura 7.12. FTIR del extracto de jamaica (morado), quitosano (azul), alginato de sodio (rojo) y fructanos de agave (verde).

Los análisis de FTIR de las microcápsulas con extracto de jamaica se presentan en la Figura 7.13. Los espectros IR muestran los cambios en los patrones de las cápsulas analizadas, lo que permite inferir si se logró la encapsulación de la matriz. Se puede observar que en el tratamiento 0.092%Q:0.092%A:7.146%F (5) y 0.18%Q:0.66%A:3.33%F (8) el pico amino a 1162 cm⁻¹ y el pico carboxilo a 1604 cm⁻¹ desaparecieron en el espectro de las microcápsulas, esto se debe a la interacción de las especies químicas del alginato y el quitosano (Qiongqiong, L. *et al.*, 2018). Además, es posible observar la fuerte banda de absorción a 1028 cm⁻¹ en T2, T5 y T8, que se asigna a la vibración de C-H del anillo aromático, esto indica la presencia de compuestos fenólicos del extracto (Cassol, L. & Zapata, C. 2020). Se mantienen presentes los picos característicos obtenidos del extracto 1650 cm⁻¹ de las bandas de C = C típicos de los compuestos aromáticos (Cassol, L. & Zapata, C. 2020). En el espectro IR de las microcápsulas se mantienen presentes los picos característicos del extracto, estos son a 1650 cm⁻¹ que

corresponden a las uniones C = C típicas de los compuestos aromáticos (Cassol, L. & Zapata, C. 2020), los picos a 1317 cm^{-1} y 1462 cm^{-1} de los ácidos hidroxicinámicos, a 1212 cm^{-1} de las proantocianidinas y el pico de 1650 cm^{-1} de los compuestos aromáticos. Los picos de 1100 y 1071 cm^{-1} que indican la presencia de antocianinas (cyanidin-3-O-sambubioside y delphinidin-3-O-sambubioside) como lo reportó (Choong *et al.*, 2016) se mantuvieron presentes, sin embargo, la señal es más débil. Esto indica un correcto encapsulamiento del extracto de jamaica (Figura 7.13), lo cual como se ha comentado antes, estaría protegiendo a los compuestos de interés, preservándolos de su degradación por factores ambientales.

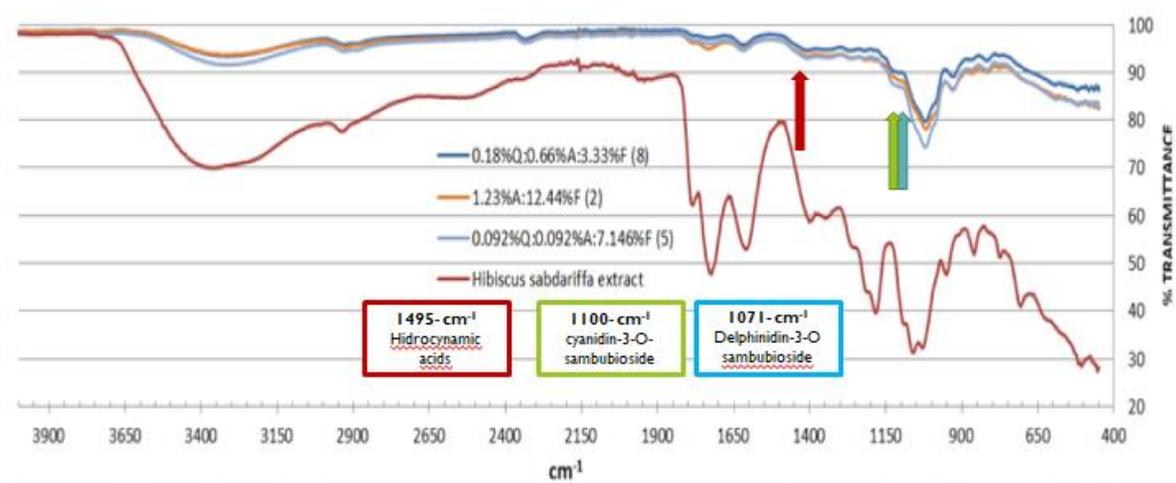


Figura 7.13. FTIR de las microcápsulas de extracto de Jamaica, extracto de jamaica (rojo), 1.23%A:12.44%F (2)(azul), 0.092%Q:0.092%A:7.146%F (5) (café) y 0.18%Q:0.66%A:3.33%F (8) (naranja).

7.1.1.3 Distribución del tamaño de partícula (PSD) de las microcápsulas de jamaica

Para el análisis de tamaño de partícula de las microcápsulas de extracto de jamaica, se evaluaron las que presentaron la mejor y la peor propiedad de flujo, que correspondieron a los tratamientos 4 [0.092%Q:0.092%A:7.146%F] y 5

[0.092%Q:0.092%A:7.146%F] respectivamente, que como se puede ver tienen la misma composición del material encapsulante pero el secado se llevó a diferente temperatura (110 y 120°C). Como se mencionó, las propiedades de flujo se relacionan con los valores de los índices de Hausner y % de compresibilidad. La intención de este análisis fue establecer una relación de esta propiedad con el tamaño de las microcápsulas. El tamaño de las partículas y el índice de polidispersidad (PDI) son propiedades físicas importantes para evaluar la idoneidad del material para las formulaciones alimentarias (Rajam & Anandharamakrishnan, 2015). Las microcápsulas del tratamiento 0.092%Q:0.092%A:7.146%F (4) y (5) mostraron distribuciones monomodales, con tamaños de partícula en $D[4,3]_{MAX}$ de 19.5 μm y un PDI_{MAX} de 2.082 para el tratamiento 5 y $D[4,3]_{MAX}$ de 20.3 μm y un PDI_{MAX} de 2.272 para el tratamiento 4 (Cuadro 7.7). Estos resultados son más bajos a lo reportado por Khorshidian, K. *et al.*, (2019) con microcápsulas de alginato de sodio y quitosano con extracto de Galactogoga, lo cual indica una mejor distribución de la gota o partícula asperjada en el proceso de secado por aspersión.

Cuadro 7.7 Distribución de tamaño de partícula de microcápsulas 0.092%Q:0.092%A:7.146%F Tratamientos (4: $T_{\text{secado}}=110^{\circ}\text{C}$) y (5: $T_{\text{secado}}=120^{\circ}\text{C}$).

| Tratamiento | Anchura (PDI) | Área de Superficie Específica (m^2/kg) | D [3,2] (μm) | D [4,3] (μm) | Dx (10) (μm) | Dx (50) (μm) | Dx (90) (μm) |
|-------------|---------------|--|---------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|
| T5-1 | 1.963 | 1880 | 5.7 | 19.5 | 4.74 | 17 | 38.1 |
| T5-2 | 1.263 | 3451 | 3.1 | 4.38 | 1.89 | 4.01 | 6.95 |
| T5-3 | 2.082 | 1612 | 6.65 | 19 | 4.24 | 16.3 | 38.2 |
| T5-4 | 2.002 | 1745 | 6.14 | 18.8 | 4.22 | 16.5 | 37.2 |
| T4-1 | 1.955 | 1759 | 6.09 | 19.9 | 4.79 | 17.4 | 38.8 |
| T4-2 | 1.928 | 1689 | 6.34 | 20.3 | 5 | 17.8 | 39.4 |
| T4-3 | 1.884 | 1645 | 6.51 | 20.3 | 5.14 | 18 | 39.1 |
| T4-4 | 2.272 | 1693 | 6.33 | 19.4 | 3.82 | 16.1 | 40.4 |

De acuerdo con los resultados obtenidos en la Figura 7.14 se observa que se produjo una baja polidispersidad (Cuadro 7.7) con partículas finas en el proceso de secado por aspersión, disminuyendo las interacciones partícula-partícula y por tanto la fluidez (Cervantes-Martínez *et al.*, 2014). A Pesar de contar con valores muy similares ambos tratamientos 0.092%Q:0.092%A:7.146%F (4) y (5), la baja fluidez se le atribuye más por el efecto de la temperatura de secado, propiciando una mayor humedad en las microcápsulas lo cual favorece la aglomeración y esto se debe a la higroscopicidad de los fructanos de agave (Rubio-Ibarra *et al.*, 2015).

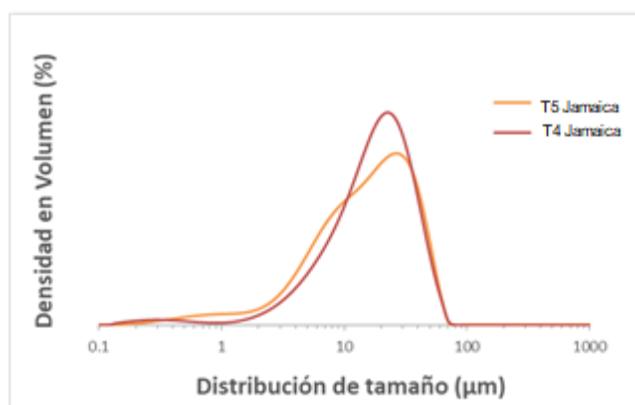


Figura 7.14. Distribución de tamaño de partícula de las microcápsulas de jamaica 0.092%Q:0.092%A:7.146%F (4) [T4] y 0.092%Q:0.092%A:7.146%F (5) [T5].

7.1.1.4 Análisis Termogravimétrico (TGA) de las mejores microcápsulas de jamaica

En esta prueba se evaluaron los compuestos por separado que forman la mezcla del material de pared del mejor tratamiento y las cápsulas obtenidas de dicho tratamiento. El resultado del análisis térmico (Figura 7.15 A) de la muestra de alginato de sodio presentó una pérdida inicial en el rango de 30-125 °C correspondiente al contenido de agua, que representó el 12.9% de la masa inicial, una segunda pérdida de peso de alrededor del 37.1% en el rango de temperatura de 200-275 °C, se le atribuye a los procesos complejos que implican la ruptura del enlace glicosídico C-O-C, el grupo carboxilo (COO⁻) con la formación de agua (H₂O), metano (CH₄) y dióxido de carbono (CO₂) (Nuran, I. & Fatma, K. 2013) lo

cual fue similar a los reportado por DEVI, N. *et al.*, 2012. El termograma de los fructanos de agave (Figura 7.15 B) presentó una pérdida inicial del 6.6% en el rango de temperatura de 30-130 °C que corresponde al contenido de agua presente, una segunda pérdida de masa a los 220 °C correspondiente a una descomposición térmica la cual es un cambio químico propiciado por el efecto de la temperatura, similar a lo reportado por Espinosa-Andrews, H. *et al.*, (2012). Además, la disminución de la descomposición térmica a partir de los 300 °C se asocia a la termólisis de las cadenas ramificadas de los fructanos de agave. Chui *et al.*, (2002) reportó que las tasas de descomposición térmica para inulina disminuyen en la inulina reticulada en comparación con la inulina nativa. En la Figura 7.15 C se muestra el termograma del quitosano, donde se observan 3 etapas de degradación, la primera sucedió en el rango de 30-105 °C que es atribuido a la pérdida de agua con un 10% de pérdida de peso. La segunda etapa de degradación sucedió a partir de los 260 °C con una pérdida de peso del 38% y una tercera descomposición de 340 °C que se le atribuye a la degradación del quitosano con una pérdida de peso aproximada del 25%, estos resultados son similares a lo reportado por Kumar y Koh (2012).

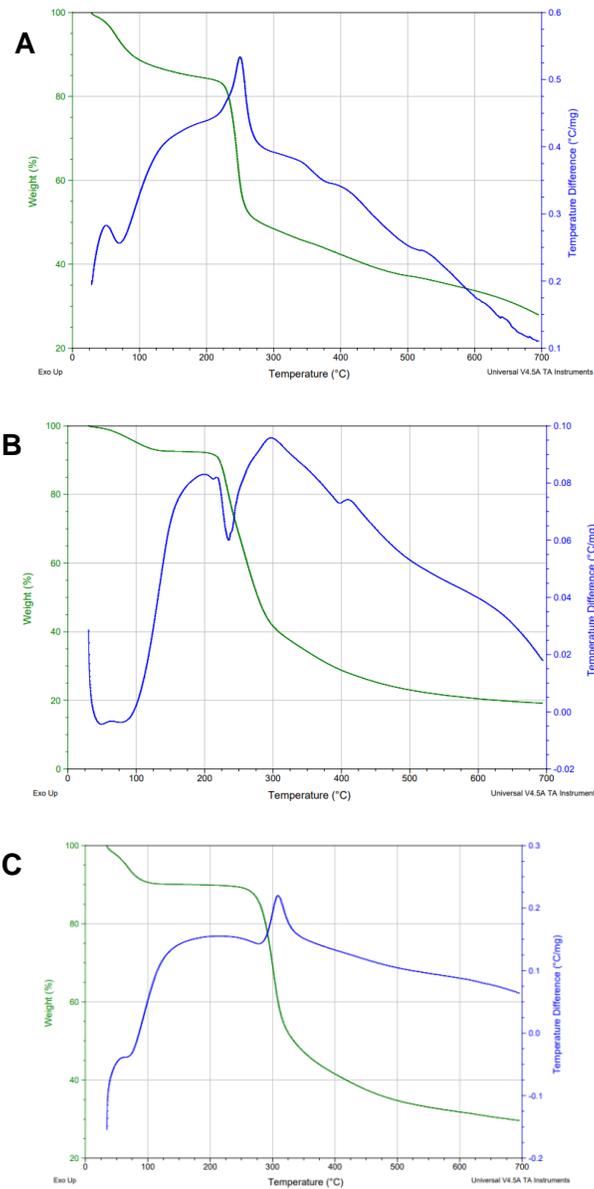


Figura 7.15. Termogramas de alginato de sodio (A), fructanos de agave (B) y quitosano (C).

En la Figura 7.16 se muestran los termogramas obtenidos para los 3 mejores microencapsulados. La Figura 7.16 A correspondiente a la microcápsula de jamaica 1.23%A:12.44%F (2) se observan 4 etapas de degradación, la primera sucedió en el rango de 30-145 °C que es atribuido a la pérdida de agua con un 4%

de pérdida de peso. La segunda etapa de degradación sucedió de los 145 °C a los 210 °C con una pérdida de peso del 22% se le atribuye a la descomposición térmica del alginato de sodio (Nuran, I. & Fatmay, K. 2013), los fructanos de agave Espinosa-Andrews, H. *et al.*, (2012) y compuestos fenólicos presentes (Afshin y Seid, 2016). La tercera etapa de degradación sucedió de los 210 °C hasta los 300 °C con una pérdida del 18% que se le atribuye a la ruptura de las cadenas poliméricas de los polisacáridos (Ballesteros, L.F. *et al.*, 2015) y una cuarta etapa de degradación de los 300 °C en adelante con el porcentaje de degradación del 28%. En la Figura 7.16 B correspondiente a 0.092%Q:0.092%A:7.146%F (5) se observaron 4 etapas de degradación, la primera sucedió en el rango de 30-135 °C que es atribuido a la pérdida de agua con un 3.8% de pérdida de peso. La segunda etapa de degradación sucedió de los 135 °C a los 227 °C con una pérdida de peso del 33.2% que se le atribuye al igual que en el tratamiento anterior a la degradación de los biopolímeros y los compuestos fenólicos (Afshin y Seid, 2016), una tercera de los 227 °C hasta los 302 °C con una pérdida del 18% y una cuarta etapa de degradación a los 302 °C en adelante con el porcentaje de degradación del 25% atribuidos a la descomposición de las cadenas principales de los biopolímeros y la materia inorgánica presente (Cassol, L. & Pelayo, C. 2020). En la Figura 7.16 C referente a la microcápsula 0.18%Q:0.66%A:3.33%F (8) se observaron 4 etapas de degradación, la primera sucedió en el rango de 30-146 °C que es atribuido a la pérdida de agua con un 3.7% de pérdida de peso. La segunda etapa de degradación sucedió de los 135 °C a los 238 °C con una pérdida de peso del 34.3% atribuida a la degradación de los biopolímeros, una tercera de los 238 °C hasta los 301 °C con una pérdida del 10% y una cuarta etapa de degradación de los 301 °C en adelante con el porcentaje de degradación del 25% similar a la microcápsula 0.092%Q:0.092%A:7.146%F (5). Los datos anteriores sugieren que todas las microcápsulas obtenidas tienen la capacidad de proteger contra la temperatura los compuestos de interés del extracto de jamaica debido a que se han incrementado las temperaturas de degradación en las

microcápsulas en comparación con los materiales de pared por separado (Figura 7.16 A, B y C, en comparación con la Figura 7.15 A, B y C).

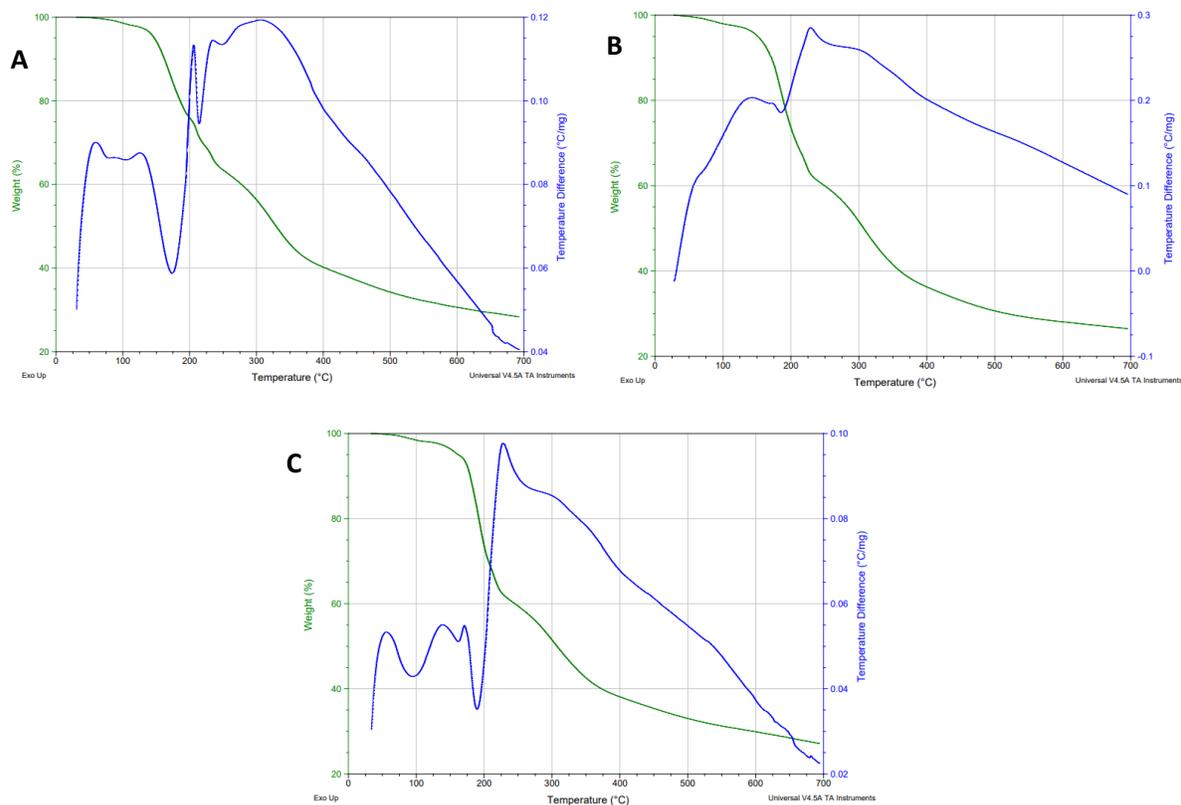


Figura 7.16. Termogramas de microcápsulas de jamaica. **[A]** 0.025A:0.975F (2) **[B]** 0.045Q:0.045A:0.91F (5) y **[C]** 0.04Q:0.16A:0.8F (8),

7.2.2 Validación de los materiales de pared en una matriz oleosa (Bioinsecticida)

De acuerdo con los resultados obtenidos en los estudios reológicos (7.1.2) el tratamiento 12 (0.18%Q:0.66%A:3.33%F) es la mejor mezcla polimérica para microencapsular y se comprueba para una matriz de índole acuoso en la etapa de validación (7.2.1) con el tratamiento 0.18%Q:0.66%A:3.33%F (8) con condiciones de 120°C y 0.6 L/h. Por lo cual se consideró la mejor matriz de biopolímeros como material de pared. Se realizaron pruebas preliminares para comprobar la

efectividad del tratamiento en el bioinsecticida que es una matriz oleosa o emulsión aceite/agua, trabajando a las mismas condiciones de operación ya descritas (7.2.1). Los resultados se observan en el cuadro 7.8

Cuadro 7.8 Rendimientos de las pruebas preliminares comprobatorias de la efectividad del tratamiento 0.18%Q:0.66%A:3.33%F como material encapsulante de una matriz oleosa.

| Mezcla | Relación Bioinsecticida/ Material de pared | Rendimiento (%) |
|--------------------------|---|-------------------------|
| 0.18%Q:0.66%A:3.33%F (1) | 1:3 | 30.64±3.78 ^c |
| 0.18%Q:0.66%A:3.33%F (2) | 1:5 | 36.25±1.58 ^b |
| 0.18%Q:0.66%A:3.33%F (3) | 1:7 | 43.87±3.54 ^a |

Q: Quitosano; A: Alginato de sodio; F: Fructanos de agave.

Los resultados indican que existen diferencias estadísticamente significativas, a mayor material de pared el rendimiento tiende a incrementar como lo reporta Young *et al.*, 1993. Sin embargo, el mayor rendimiento que se presentó en todas las pruebas preliminares no alcanzó el 50% por lo cual se considera rendimientos bajos de secado por aspersión, rendimientos mayores o iguales al 70% se considera un buen proceso de secado (Rajam *et al.*, 2015). En trabajos reportados se ha aplicado el secado por aspersión a matrices oleosas con rendimientos del 88.8 % (Kanwal *et al.*, 2021) y 92.16% (Dima *et al.*, 2014) etc. Los bajos rendimientos logrados en el secado de la matriz oleosa podrían deberse a la alta concentración de aceites esenciales presentes en la formulación del bioinsecticida que aportan una alta cantidad de ácidos poliinsaturados, mismos que presentan propiedades surfactantes dando la tendencia a que las gotas se aglomeren (McClements *et al.*, 2015) al asperjarse esa aglomeración no propicia un secado adecuado.

7.3 Secado por aspersión (SA) del bioinsecticida y optimización del proceso.

Debido a lo anterior y al enfoque industrial del proyecto, se buscó una alternativa de mezclar el tratamiento 12 (0.18%Q:0.66%A:3.33%F) con materiales de pared ALTUS-2 (AT-2) y ALTUS-3 (AT-3), compuestos que han demostrado tener una alta eficiencia como material encapsulante de aceites y así aprovechar las propiedades de los fructanos de agave, alginato de sodio y quitosano ya mencionadas anteriormente.

7.3.1 Secado del bioinsecticida con el diseño 4x2

Como se mencionó en la metodología, para la realización de la nueva estrategia de secado de la matriz oleosa, se aplicó un diseño experimental 4x2, el ensayo se realizó por duplicado. Una vez obtenidos los polvos se les realizaron pruebas de flujo como índice de Hausner (IH), compresibilidad (C%), además de evaluar su solubilidad (S%), humedad relativa (Hr), actividad de agua (a_w) y el rendimiento logrado. Los resultados se muestran en el Cuadro 7.9

Cuadro 7.9 Optimización del secado por aspersión del bioinsecticida adicionando con AT-2 y AT-3 como material de pared.

| Tratamiento (Relación material de pared) | Rendimiento (%) | a_w | Hr (%) | IH | C (%) | S (%) |
|--|-------------------------|--------------------------|------------------------|------------------------|-------------------------|------------------------|
| AT-2 (3:1) | 61.59±6.44 ^a | 0.316±0.004 ^a | 4.00±0.07 ^a | 1.75±0.02 ^e | 42.13±0.42 ^e | 65.02±0.1 ^a |
| AT-2 (4:1) | 80.37±0.53 ^a | 0.286±0.001 ^a | 3.99±0.11 ^b | 1.72±0.00 ^a | 41.89±0.00 ^a | 65.83±0.8 ^a |
| AT2-T12 (3:1) | 68.22±8.29 ^a | 0.277±0.002 ^b | 0.1±0.07 ^b | 1.90±0.01 ^a | 45.00±1.17 ^a | 75.95±1.2 ^b |
| AT2-T12 (4:1) | 76.53±5.54 ^a | 0.303±0.001 ^d | 1.7±0.07 ^a | 1.82±0.00 ^g | 44.23±0.00 ^g | 78.87±0.6 ^c |
| AT-3 (3:1) | 81.92±2.53 ^a | 0.095±0.008 ^a | 2.4±0.14 ^b | 1.76±0.00 ^b | 43.40±0.00 ^b | 99.04±0.3 ^d |
| AT-3 (4:1) | 85.13±3.50 ^a | 0.123±0.003 ^c | 1.70±0.14 ^e | 1.63±0.00 ^f | 38.80±0.00 ^f | 99.2±0.2 ^d |
| AT3-T12 (3:1) | 78.81±4.55 ^a | 0.098±0.006 ^a | 2.4±0.04 ^{ac} | 1.71±0.01 ^c | 44.2±0.16 ^c | 99.8±0.1 ^d |
| AT3-T12 (4:1) | 76.72±0.83 ^a | 0.112±0.006 ^b | 2.7±0.00 ^d | 1.67±0.01 ^a | 41.70±0.42 ^a | 99.9±0.2 ^d |

BIO: Bioinsecticida; AT-2 y AT-3: Materiales de pared; T12: 0.18%Q:0.66%A:3.33%F.

AT-2 permitió rendimientos de secado superiores del 60% sin embargo, se consideran bajos conforme a lo reportado por Rajam *et al.*, (2015). Se observa una relación directa de la proporción de AT-2 y el rendimiento de secado. La combinación de AT-2 con el tratamiento 12 (0.18%Q:0.66%A:3.33%F) mejoró la solubilidad de las microcápsulas y disminuyó la humedad. Los bajos niveles en la solubilidad de la AT-2 se debe al valor de dextrosa equivalente (DE), Medina García *et al.*, (2013) reportó que a mayor grado de dextrosa equivalente mayor es el porcentaje de solubilidad, en este trabajo se utilizó AT-2 con una dextrosa equivalente igual a 10, lo cual se considera un nivel bajo. La AT-3 (4:1) propició rendimientos del 85.13 ± 2.53 observándose que, a mayor proporción de material de pared, mayor rendimiento. La solubilidad es mayor al 99% en todos los tratamientos con AT-3 comparado con los que tienen AT-2 como material de pared, los cuales arrojaron resultados de solubilidades menores al 80%. Cano-Chauca *et al.*, (2005) reporta que la solubilidad de un polvo instantáneo está directamente relacionada con su microestructura. Sin embargo, la adición del tratamiento 12 (0.18%Q:0.66%A:3.33%F) con AT-3 no mejoró estadísticamente la H_r , a_w ni las propiedades de flujo. La explicación por la que de AT-3 funcionó mejor como material de pared en la encapsulación de la matriz oleosa, en comparación con las opciones ensayadas, está relacionado con las propiedades de este material de adsorberse en la interfase aceite/agua formando una película viscoelástica, donde los lípidos contribuyen con la coherencia de la estructura a través de la formación de empalmes o uniones por medio de gotas de aceite en los anclajes de las cadenas de AT-3. De manera general todas las muestras presentaron malas propiedades de fluidez (Cuadro. 7.8), debido a la alta presencia de los ácidos grasos poliinsaturados presentes en la formulación bioinsecticida que aglomeran las partículas por su propiedad surfactante.

7.3.2 Secado del bioinsecticida con el diseño 2^3

Conforme al diseño anterior (Cuadro 6.3) y los resultados obtenidos (Cuadro 7.9) se seleccionó al tratamiento AT-3 (4:1) como el mejor en base a su rendimiento, a_w y humedad. Dentro del diseño experimental 2^3 se estableció el tratamiento AT-3 (4:1) como una constante y como variables 2 temperaturas (110 °C y 120 °C) y 2 presiones de esprea (0.2 MPa y 0.25 MPa) como se mencionó en el Cuadro 6.4, estos valores se seleccionaron con la finalidad de optimizar el proceso ya que, al ser una matriz oleosa, los aceites presentes en la formulación suelen tener una termo oxidación a los 120 °C. En el cuadro 7.10 se presentan los resultados obtenidos de rendimiento, actividad de agua (a_w), humedad relativa (Hr), índice de Hausner (IH), compresibilidad de polvos (C) y solubilidad (S) así como las desviaciones estándar obtenidas del ANOVA ($\alpha > 0.05$) de la optimización.

Cuadro 7.10 Efecto de la temperatura, presión de aspersión y flujo de alimentación sobre el rendimiento y propiedades de las microcápsulas de bioinsecticida.

| Tratamiento (Número) | Temperatura (°C) | Presión giro de la esprea (MPa) | Flujo de alimentación (L/h) | Rendimiento (%) | a_w | Hr (%) | IH | C (%) | S (%) |
|----------------------|------------------|---------------------------------|-----------------------------|--------------------------------|---------------------------|------------------------|-------------------------|-------------------------|---------------------------|
| AT-3 (1) | 110.00 | 0.20 | 0.60 | 91.58±1.05 ^d | 0.05±0.0071 ^c | 2.28±0.04 ^a | 1.33±0.106 ^a | 24.29±6.06 ^a | 99.30±0.141 ^a |
| AT-3 (2) | 120.00 | 0.20 | 0.60 | 87.43±0.31 ^a | 0.059±0.003 ^{cd} | 2.50±1.13 ^a | 1.38±0.176 ^a | 26.67±9.42 ^a | 99.425±0.247 ^a |
| AT-3 (3) | 110.00 | 0.20 | 0.80 | 88.26±0.16 ^{ab} c | 0.088±0.016 ^{ab} | 3.0±0.15 ^a | 1.40±0.045 ^a | 28.33±2.357 a | 99.275±0.035 ^a |
| AT-3 (4) | 120.00 | 0.20 | 0.80 | 87.69±0.70 ^{ab} | 0.087±0.002 ^a | 4.50±0.57 ^b | 1.40±0.038 ^a | 28.64±1.928 a | 99.35±0.07 ^a |
| AT-3 (5) | 110.00 | 0.25 | 0.60 | 90.40±1.08 ^{bc} d | 0.103±0.005 ^b | 2.25±0.35 ^a | 1.46±0.05 ^a | 31.67±2.357 a | 99.25±0.07 ^a |
| AT-3 (6) | 120.00 | 0.25 | 0.60 | 90.77±0.42 ^{cd} | 0.087±0.001 ^{ab} | 2.05±0.07 ^a | 1.46±0.059 ^a | 31.37±2.77 ^a | 99.535±0.473 ^a |
| AT-3 (7) | 110.00 | 0.25 | 0.80 | 88.88±0.42 ^{ab} cd | 0.077±0.003 ^{ae} | 2.35±0.07 ^a | 1.42±0.007 ^a | 30.04±0.233 a | 99.40±0.07 ^a |
| AT-3(8) | 120.00 | 0.25 | 0.80 | 94.65±2.97 ^e | 0.067±0.003 ^{de} | 2.75±0.07 ^a | 1.34±0.021 ^a | 26.33±2.057 a | 99.40±0.282 ^a |

Los resultados mostrados en el Cuadro 7.10 indican que la temperatura afecta estadísticamente al rendimiento a la Humedad relativa (Hr) y la actividad de agua (a_w), además, la velocidad de la esprea afecta significativamente la Hr y a_w . Por otra parte, conforme al ANOVA, la presión de la esprea no afecta significativamente ninguna variable de respuesta ($\alpha > 0.05$). Se obtuvieron resultados mayores de rendimiento comparado con trabajos similares como el realizado por Sarkar *et al.*, (2012) para una matriz con algunos aceites presentes en la formulación. Se observa que los tratamientos AT-3 (1) y AT-3 (8) presentan los mayores rendimientos con valores de 91.58 ± 1.05^d y 94.65 ± 2.97^e respectivamente, esto se debe a la temperatura de entrada del sistema y el tiempo de permanencia dentro de la cámara de secado ya que al ser alimentado con mayor flujo es necesario una mayor temperatura y esto se comprueba con los valores reportados en el tratamiento AT-3 (1) de 110°C y 0.6 L/h y el tratamiento AT-3 (8) de 120°C y 0.8 L/h . El tratamiento AT-3 (5) obtuvo rendimientos superiores al 90%, además destaca en sus valores de mortalidad los cuales se presentan en el apartado 7.2.2.3. Los tratamientos restantes como son el AT-3 (2) (120°C , 0.6 L/h y 0.2 MPa), AT-3 (3) (110°C , 0.8 L/h y 0.2 MPa), AT-3 (4) (120°C , 0.8 L/h y 0.2 MPa), AT-3 (6) (120°C , 0.6 L/h y 0.25 MPa) y AT-3 (7) (110°C , 0.8 L/h y 0.25 MPa) a pesar de tener rendimientos altos, no se consideraron como tratamientos efectivos debido a los resultados de mortalidad que mostraron (Cuadro 7.13).

7.3.2.1 Microscopía electrónica de barrido (SEM) de las microcápsulas de bioinsecticida

El análisis SEM de las microcápsulas con mejores propiedades obtenidas en el secado por aspersión de la matriz oleosa del bioinsecticida [AT-3 (5)] se presenta en la Figura 7.17. Se observó una morfología característica de las microcápsulas obtenidas mediante secado por aspersión con AT-3 como material de pared,

presentando una formación tipo dientes y concavidades. Conforme a varios estudios comparativos empleando diferentes materiales de pared se ha reportado que la rigidez es una posible causa de la morfología, ya que, al tener una mayor rigidez, la partícula se conserva más lisa evitando el encogimiento en el secado por aspersión como lo reportó Wilkowska, A. *et al.*, (2017) y Botrel, D.A. *et al.*, (2014). Además, el aspecto de los dientes y concavidades formados en la superficie se debe a la rápida evaporación de las gotas de líquido durante el proceso de secado.

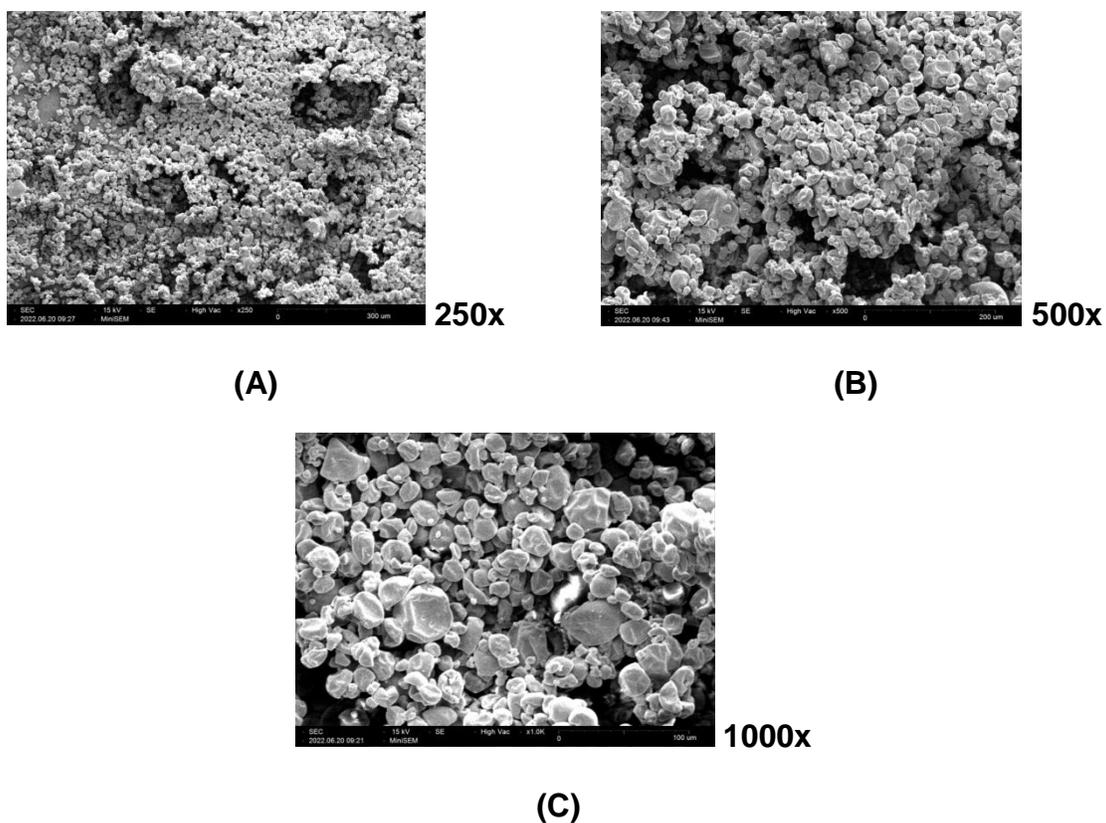
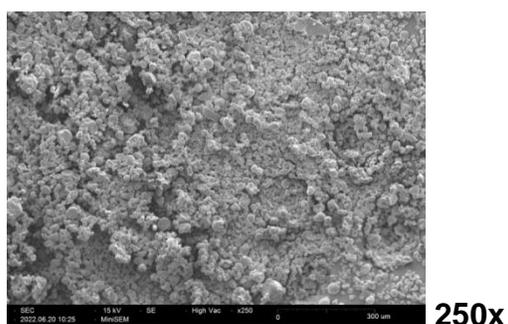


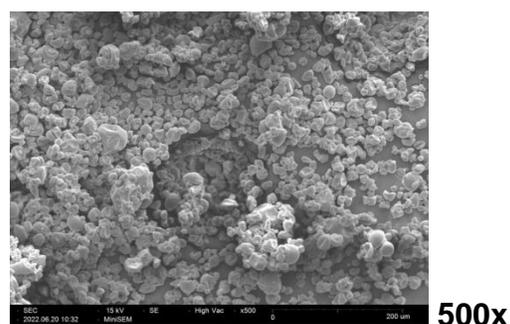
Figura 7.17. SEM de las microcápsulas AT-3 (5) de bioinsecticida. 250x (A), 500x (B) y 1000x (C)

Para la comparación del efecto de las condiciones de operación con la morfología de las microcápsulas, se realizó el SEM a las microcápsulas obtenidas al emplear proporciones de material de pared-matriz de AT-3 (8) las cuales obtuvieron una mayor efectividad contra las plagas blanco y un mayor rendimiento de secado se

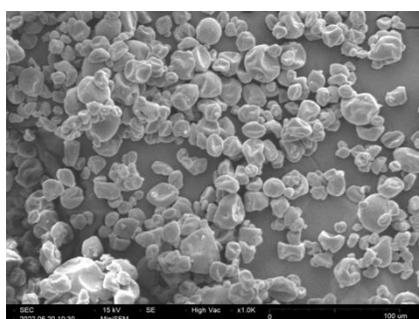
presentan en la Figura 7.18. Se observó una morfología similar a las microcápsulas [AT-3 (5)] a los diferentes aumentos, debido a que presentan la misma composición de material de pared. Con esto se pudo determinar que las condiciones de temperatura, flujo de alimentación y presión de giro de la esprea no afectaron la morfología de las mejores microcápsulas, de manera similar a lo reportado por Corrêa-Filho, L. *et al.*, (2019). Por otra parte, se observó una mayor cantidad de aglomeraciones en [AT-3 (5)] que en [AT-3 (8)] lo que está relacionado con las propiedades de flujo obtenidas en el cuadro 7.10 y el correcto encapsulamiento de los compuestos activos que demostraron tener capacidad surfactante aglomerando las partículas.



(A)



(B)



(C) 1000x

Figura 7.18. SEM de las microcápsulas AT-3 (8) de bioinsecticida. 250x (A), 500x (B) y 1000x (C)

7.3.2.2 Cromatografía líquida de alta eficiencia (HPLC-DAD)

Se realizaron las determinaciones de las mejores microcápsulas AT-3 (5) y AT-3 (8) para verificar la presencia del compuesto activo de interés principal. El estándar de metabolitos específicos utilizado en este proyecto presentó picos característicos de metabolitos secundarios extracelulares de la fermentación de *Streptomyces spp.* a los 4.8 s y 4.2 s respectivamente (Figura 7.19), valores similares a lo reportado por Li, M. *et al.*, 2010 con diferencia de los tiempos característicos de los picos debido al tipo de columna empleada y la longitud de la misma. Con respecto a las microcápsulas, los cromatogramas obtenidos evidencian la presencia de los 2 metabolitos secundarios de mayor interés, AT-3 (5) presentó un pico más alto en metabolito secundario 1 que AT-3 (8), indicando una mayor presencia del compuesto activo, el cual se comprueba mediante el área bajo la curva y una curva de calibración de concentración. Las microcápsulas de AT-3 (5) contienen 315 mg/L de metabolitos secundarios de interés totales y AT-3 (8) contiene 308 mg/L de estos mismos metabolitos. Esto refleja que las condiciones de operación de 110°C, 0.6 L/h y 0.25 Mpa en el proceso de encapsulado son más adecuadas, además que con estas cápsulas se obtuvo una mayor actividad insecticida (apartado 7.4.)

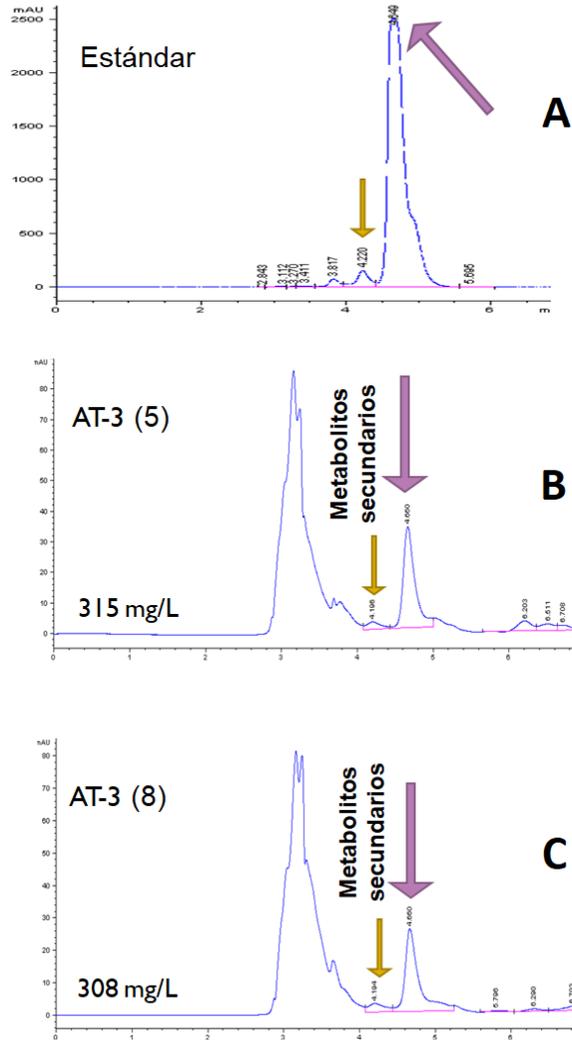


Figura 7.19. Cromatograma HPLC-DAD de los metabolitos secundarios de fermentación de *Streptomyces spp.* estándar (A), las microcápsulas AT-3 (5) [B] y AT-3 (8) [C].

7.3.2.3 Análisis termogravimétrico (TGA) del bioinsecticida líquido y las mejores microcápsulas (bioinsecticida en polvo)

El análisis térmico (Figura 7.20) de la muestra del bioinsecticida líquido presenta una pérdida inicial correspondiente a la materia altamente volátil, que representó

el 81.19% de la masa inicial, un segundo y tercer paso de descomposición se registra a 344.33 y 428.64 °C respectivamente, lo cual evidencia la presencia de dos compuestos en la formulación Bioinsecticida como los aceites esenciales y los metabolitos secundarios de interés.

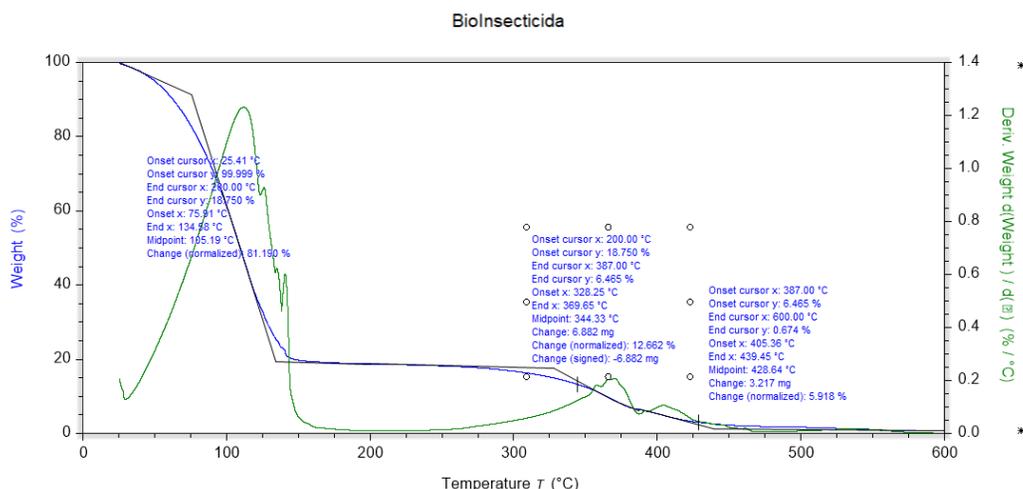
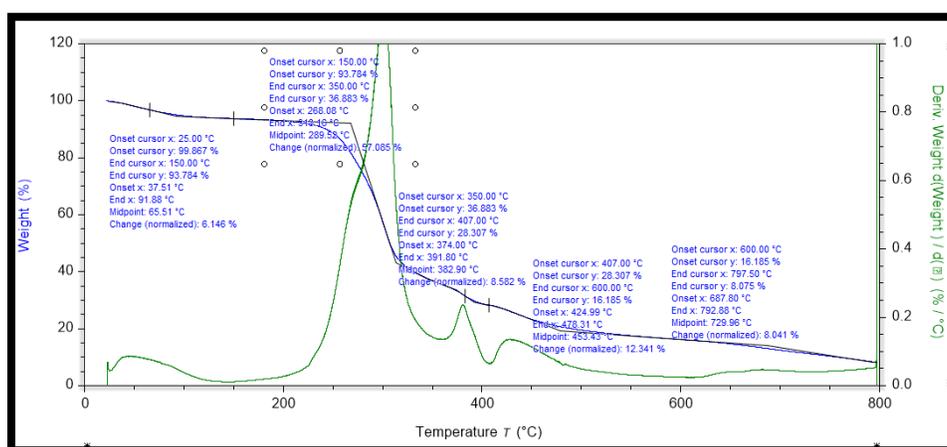


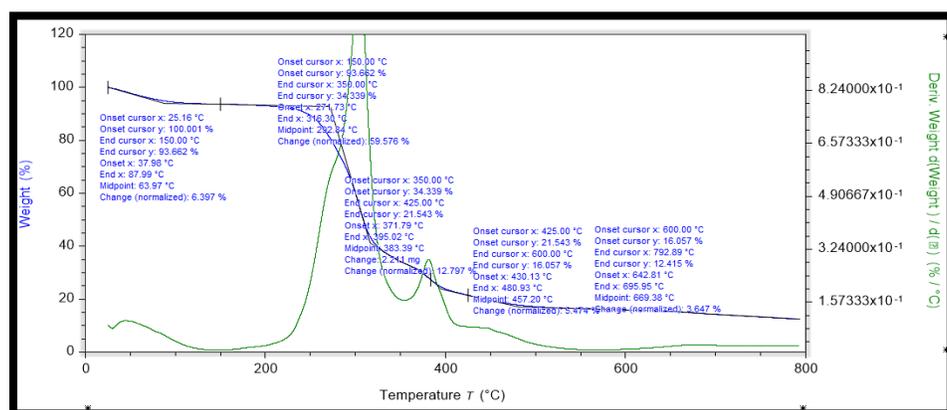
Figura 7.20. Termograma Bioinsecticida líquido

Las microcápsulas obtenidas del secado del bioinsecticida líquido también se evaluaron térmicamente. En la Figura 7.21 se presentan los termogramas obtenidos de las mejores microcápsulas. Las microcápsulas AT-3 (5) y AT-3 (8) mostraron un desplazamiento de la temperatura de descomposición (Td) del primer compuesto de interés observándose un corrimiento de Td de 344.33 °C (en la muestra bioinsecticida líquido) hasta 382.9 y 383.39 °C para AT-3 (5) y AT-3 (8) respectivamente; este comportamiento es similar al observado en otros trabajos donde se ha encapsulado una matriz oleosa y se observa que en las cápsulas se aumenta la temperatura de degradación (Mudgil *et al.*, (2012)). Por otra parte, el segundo compuesto de interés presenta un comportamiento similar, recorriendo su Td debido al recubrimiento de los materiales encapsulantes así, la Td pasó de 428 °C en la muestra de bioinsecticida líquido hasta 453.43 y 457.20 °C para AT-3 (5) y AT-3 (8) respectivamente, la cual se le atribuye a la descomposición y oxidación

de la materia orgánica presente o residuos de carbono (Campos, A. *et al.*, 2017). Finalmente, en la muestra AT-3 (5) se verificó una mayor concentración de los compuestos activos, ya que las pérdidas de masa de los compuestos activos en la formulación AT-3 (8) fue de 18.26% mientras que para la formulación AT-3 (5) fue de 20.92%. Lo anterior indica que las microcápsulas obtenidas bajo las condiciones AT-3 (5) y AT-3(8) anteriormente descritas, tienen la capacidad de proteger los compuestos de interés presentes en el bioinsecticida contra la temperatura, ya que se aumenta en los encapsulados la temperatura de degradación.



(A)



(B)

Figura 7.21. Termogramas de las microcápsulas AT-3 (5) [A] y AT-3 (8) [b]

7.3.2.4 Distribución de tamaño de partícula

Se evaluó el tamaño de partícula de las microcápsulas provenientes de los tratamientos AT-3 (5) y AT-3 (8), los resultados se muestran en el Cuadro 7.11. Dado que ambas muestras tienen las mismas proporciones de material de pared y mismas condiciones de operación, las diferencias encontradas se le atribuyen a la concentración de compuestos activos. AT-3 (5) y AT-3 (8) presentaron distribuciones amplias, es decir PDI mayores a 1 (Cuadro 7.11) para AT-3 (8) tamaños de partícula en $D_{[4,3]_{MAX}}$ de 373 μm y un PDI_{MAX} de 5.077 y AT-3 (5) con un tamaño de partícula $D_{[4,3]_{MAX}}$ de 82.8 μm y un PDI_{MAX} de 28.661 (Cuadro 7.11), los resultados son mayores a lo reportado por Fernández *et al.* (2014) y Campos, A. *et al.*, (2017) y es atribuido al tipo de aceite presente y la cantidad de material de pared. En este trabajo se puede observar que AT-3 (5) presenta una distribución más estrecha (PDI) y tamaños de partícula más pequeños (Cuadro 7.11) en comparación con AT-3 (8).

Cuadro 7.11 Distribución de tamaño de partícula de microcápsulas AT-3 (5) y (8)

| Tratamiento | Anchura (PDI) | Área de Superficie Específica (m^2/kg) | D [3,2] (μm) | D [4,3] (μm) | Dx (10) (μm) | Dx (50) (μm) | Dx (90) (μm) |
|-------------|---------------|--|---------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|
| AT-3 (8)-1 | 54.077 | 491.2 | 21.8 | 373 | 12.2 | 27.8 | 1520 |
| AT-3 (8)-2 | 27.942 | 396 | 27.1 | 336 | 12.7 | 32.3 | 916 |
| AT-3 (8)-3 | 37.579 | 931.3 | 11.5 | 226 | 11.2 | 25.5 | 969 |
| AT-3 (8)-4 | 48.345 | 458.2 | 23.4 | 317 | 11.8 | 27.4 | 1330 |
| AT-3 (5)-1 | 5.085 | 534.5 | 20 | 82.8 | 11.4 | 23.8 | 133 |
| AT-3 (5)-2 | 28.661 | 473.3 | 22.6 | 216 | 11.9 | 26.7 | 776 |
| AT-3 (5)-3 | 1.937 | 535.7 | 20 | 55.9 | 11.5 | 24.3 | 58.5 |
| AT-3 (5)-4 | 1.975 | 542.7 | 19.7 | 59.4 | 11.4 | 24 | 58.7 |

Los resultados indican que las microcápsulas AT-3 (5) y AT-3 (8) (Fig. 7.22) presenta distribuciones de tamaño bimodales, varios autores como Jafari *et al.*,

2007, han reportado comportamientos similares para microcápsulas con compuestos oleosos similares. El comportamiento obtenido es deseable para almacenamiento del polvo, ya que la población de partículas más pequeñas puede penetrar en los espacios entre las partículas más grandes, ocupando un espacio menor (Campos, A. *et al.*, 2017) favoreciendo la fluidez de las partículas y una mayor capacidad de almacenamiento tanto a granel como compreso. Estos resultados indican que AT-3 (5) es una formulación más homogénea que AT-3 (8) propiciando una mayor capacidad de almacenamiento y una mayor fluidez.

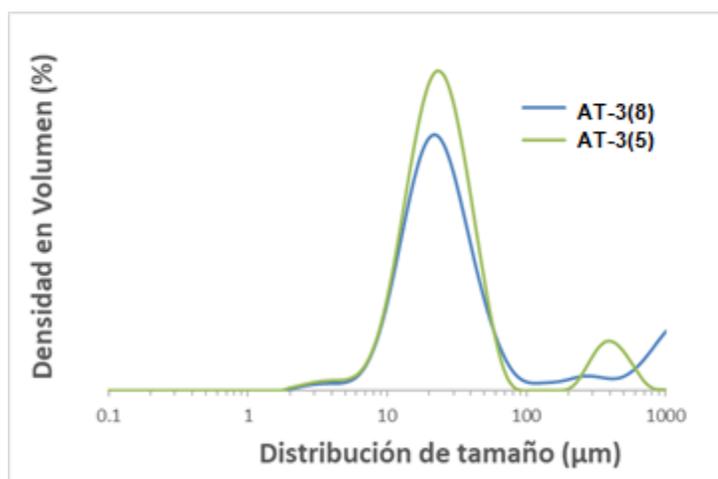


Figura 7.22. Distribución de tamaño de partícula de las microcápsulas AT-3 (5) y AT-3 (8).

7.4 Evaluación de la mortalidad de las plagas blanco

Se realizaron las evaluaciones contra las diferentes plagas de interés mediante metodologías de IRAC 2009, este valor de mortalidad es de importancia, ya que evidencia la encapsulación adecuada de los metabolitos secundarios como compuestos activos del bioinsecticida.

7.4.1 Mortalidad contra las plagas blanco *Tetranychus urticae* y *Polyphagotarsonemus latus*

La mortalidad contra ácaros del género *Tetranychus urticae* y *Polyphagotarsonemus latus* se presenta en el Cuadro 7.12, se observa que los tratamientos AT-2 (3:1) y AT-2 (4:1) presentaron efectos bajos de mortalidad en las dosis bajas y altas. Las mezclas AT-2-T12 (3:1), AT-2-T12 (4:1) y AT-3-T12 (4:1) presentaron niveles de mortalidad bajos en su dosis baja, lo que indica que no son buenos tratamientos, debido a que se busca que un tratamiento efectivo tenga un índice mayor al 70% aún en su dosis baja. Uddin *et al.* (2015) explica que los insecticidas de este género tienen una rápida forma de acción por lo cual, si no presenta una mortalidad mayor al 80% en un tiempo menor a 24 h, se considera un tratamiento con baja efectividad. La mortalidad de los tratamientos AT-3 (3:1) y AT-3 (4:1) concuerdan con mortalidades reportadas por Grafton-Cardwell & Hoy (1983), cabe destacar que en el año que se hizo el estudio existía una menor resistencia a los insecticidas como lo reporta Landeros *et al.*, (2010) con mortalidades del 84% aproximadamente, esto indica que el producto tiene una alta eficiencia como acaricida y que los componentes activos se encapsularon de manera eficiente.

Cuadro 7.12 Mortalidad de las microcápsulas contra *Tetranychus urticae* y *Polyphagotarsonemus latus*.

| Tratamiento (Relación material de pared) | Rendimiento (%) | Mortalidad dosis baja (3.5 g/L) (%) | Mortalidad dosis alta (5 g/L) (%) |
|--|--------------------------|-------------------------------------|-----------------------------------|
| AT-2 (3:1) | 61.59±6.44 ^a | 63.3±1.1 ^{bcddefg} | 58.0±3.0 ^b |
| AT-2 (4:1) | 80.37±0.53 ^b | 44.4±2.0 ^{bcd} | 58.8 ±1.5 ^b |
| AT2-T12 (3:1) | 68.22±8.29 ^a | 44.2±2.6 ^{bcd} | 82.22±1.15 ^{bcddefg} |
| AT2-T12 (4:1) | 76.53±5.54 ^{ab} | 63.3±1.1 ^{bcddefg} | 74.4±1.5 ^{bcddefg} |

| | | | |
|---------------|--------------------------|---------------------------|------------------------------|
| AT-3 (3:1) | 81.92±2.53 ^b | 96.3±0.57 ^{efgh} | 82.22±2.08 ^{bcdefg} |
| AT-3 (4:1) | 85.13±3.50 ^b | 96.3±0.57 ^{gh} | 88.8±1.0 ^{gh} |
| AT3-T12 (3:1) | 78.81±4.55 ^{ab} | 77.7±0.0 ^{defgh} | 85.5±1.15 ^{gh} |
| AT3-T12 (4:1) | 76.72±0.83 ^a | 52.2±1.52 ^{bc} | 60.0±0.57 ^{bc} |
| BIO | ----- | 100.0±0.0 ⁱ | 100.0±0.0 ⁱ |
| ITC | ----- | 100.0±0.0 ⁱ | 100.0±0.0 ⁱ |

BIO: Bioinsecticida líquido; ITC: Insecticida comercial líquido. AT-2 y AT-3: Materiales de pared; T12= 0.18%Q:0.66%A:3.33%F

Los resultados indican que estadísticamente todos los tratamientos evaluados son diferentes ($\alpha > 0.05$) y ejercen un efecto sobre ácaros de los géneros *Tetranychus urticae* y *Polyphagotarsonemus latus*. Los tratamientos más sobresalientes son AT-3 (4:1) alcanzando casi un 100% de efectividad, equiparando su efecto con los controles positivos del bioinsecticida líquido (BIO) y un insecticida comercial (ITC) en ambas dosis 3.5 g/L (Baja) y 5.0 g/L (Alta) de microcápsulas.

En la Figura 7.23 se observa el daño en la cutícula a los ácaros de los 2 géneros como resultado de la aplicación de las microcápsulas disueltas a ambas dosis, debido al modo de acción del compuesto activo que es bloquear la transmisión de la actividad eléctrica en las células nerviosas y musculares, estimulando la liberación y la unión del ácido gamma-aminobutírico (GABA) en las terminaciones nerviosas de los insectos. Como resultado de esto, los iones de cloruro entran en las células, dando lugar a la hiperpolarización y la parálisis de los sistemas neuromusculares (Bloomquist, 1993). Se incluyeron ácaros testigo sin la aplicación del bioinsecticida en polvo.



Figura 7.23. Ácaro rojo (*Tetranychus urticae*) testigo (A). Deshidratación de la cutícula (B) y (C). Ácaro blanco (*Polyphagotarsonemus latus*) testigo (D). Deshidratación de la cutícula (E) y (F).

7.4.2 Mortalidad contra la plaga blanco *Galleria mellonella* y *Spodoptera frugiperda*

Se realizaron las pruebas de efectividad contra las plagas de larvas de los géneros *Galleria mellonella* y *Spodoptera frugiperda*, con la finalidad de tener un espectro mayor con otras plagas de interés y así seleccionar el mejor tratamiento encapsulante en base al rendimiento, la mortalidad de plaga y la humedad, los resultados obtenidos se muestran en el cuadro 7.13.

Cuadro 7.13. Mortalidad contra plagas *Galleria mellonella* y *Spodoptera frugiperda*.

| Tratamiento (Número) | Rendimiento (%) | Mortalidad Dosis baja (3.5g/L) | Mortalidad Dosis alta (5g/L) | Humedad (%) |
|-------------------------|--------------------|--------------------------------------|------------------------------------|----------------|
| | | | | |

| | | | | |
|----------|----------------------------|---------------------------|---------------------------|------------------------|
| AT-3 (1) | 91.58±1.05 ^d | 20.0±0.0 ^{abc} | 40.0±0.0 ^{cde} | 2.28±0.04 ^a |
| AT-3 (2) | 87.43±0.31 ^a | 30.0±14.14 ^{bcd} | 60.0±28.28 ^{efg} | 2.50±1.13 ^a |
| AT-3 (3) | 88.26±0.16 ^{abc} | 20.0±0.0 ^{abc} | 40.0±0.0 ^{cde} | 3.0±0.15 ^a |
| AT-3(4) | 87.69±0.70 ^{ab} | 20.0±0.0 ^{abc} | 10.0±14.14 ^{ab} | 4.50±0.57 ^b |
| AT-3 (5) | 90.40±1.08 ^{bcd} | 30.0±14.14 ^{ab} | 70.0±14.14 ^{fg} | 2.25±0.35 ^a |
| AT-3 (6) | 90.77±0.42 ^{cd} | 10.0±14.14 ^{ab} | 0.0±0.0 ^a | 2.05±0.07 ^a |
| AT-3 (7) | 88.88±0.42 ^{abcd} | 10.0±14.14 ^{ab} | 30±14.14 ^{bcd} | 2.35±0.07 ^a |
| AT-3 (8) | 94.65±2.97 ^e | 50.0±14.14 ^{def} | 50.0±14.14 ^{def} | 2.75±0.07 ^a |
| BL | ----- | 60.0±0.0 ^{efg} | 70.0±14.14 ^{fg} | ----- |

BIO: Bioinsecticida líquido; AT-3: Materiales de pared; T12= 0.18%Q:0.66%A:3.33%F

Los resultados promedios obtenidos conforme a la metodología de IRAC en 2009 indican diferencias significativas en todos los tratamientos. Conforme a los datos los tratamientos que mostraron menor efecto son el AT-3 (4), AT-3 (6) y AT-3 (7) con valores de mortalidad en dosis altas (5g/L) de máximo 30±14.14^{bcd} y dosis baja (3.5g/L) hasta 20.0±0.0^{abc} indicando un bajo nivel en la protección de los componentes activos y efectividad contra las plagas comparado con el control. Esto podría deberse a 2 sucesos, uno donde no se realiza un proceso óptimo de homogenizado y recubrimiento de los componentes activos, que al momento de ser asperjado no se protejan de manera óptima los compuestos de interés (Brazel 1999) provocando una oxidación térmica los aceites esenciales presentes. Por otra parte debido a las propiedades de flujo relativamente malas de los 3 tratamientos el tiempo de retención dentro de la cámara es mayor, debido a que se pega dentro de las paredes de la cámara de secado y no pasa al colector, provocando un daño a los componentes activos y del mismo material protector.

Por otra parte, el tratamiento AT-3 (5) y AT-3 (8) se reportan como los tratamientos con una mayor efectividad contra la plaga con valores de dosis alta hasta de 70.0 ± 14.14^{fg} y dosis de baja hasta de 30.0 ± 14.14^{ab} valores muy cercanos o incluso iguales al control líquido y a estudios reportados con productos similares por Cua-Basulto *et al.*, (2022). En la Figura 7.24 se puede observar los efectos de los tratamientos, principalmente un daño por necrosamiento mayor que el producto comercial. Esto sucede por la composición del producto químico comercial el cual no es igual en composición al bioinsecticida estudiado en este proyecto, este bioinsecticida contiene algunos aceites esenciales que propician diferentes rutas de combate a la plaga y no solo por el efecto insecticida de los metabolitos secundarios obtenidos de la fermentación.

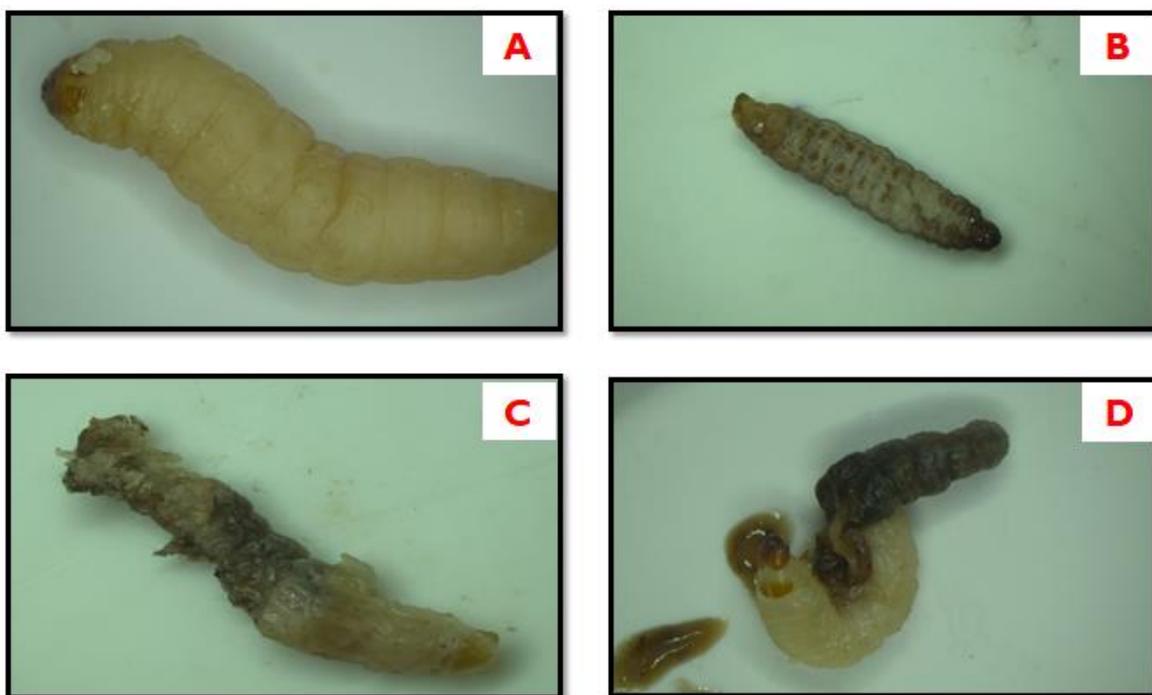


Figura 7.24. Testigo sin aplicar de larva *G. mellonella* (A). Efectos de las larvas con producto comercial (B) y Necrosamiento por exposición de microcápsulas de bioinsecticida (C) y (D)

En la Figura 7.25 se observa los efectos en las larvas de *Spodoptera frugiperda*. Presentaron deshidratación en su cutícula por el bloqueo de la transmisión de la

actividad eléctrica en los nervios y las células musculares, esto significa que las larvas no se alimentaron por los efectos de una parálisis provocada por el bioinsecticida microencapsulado.

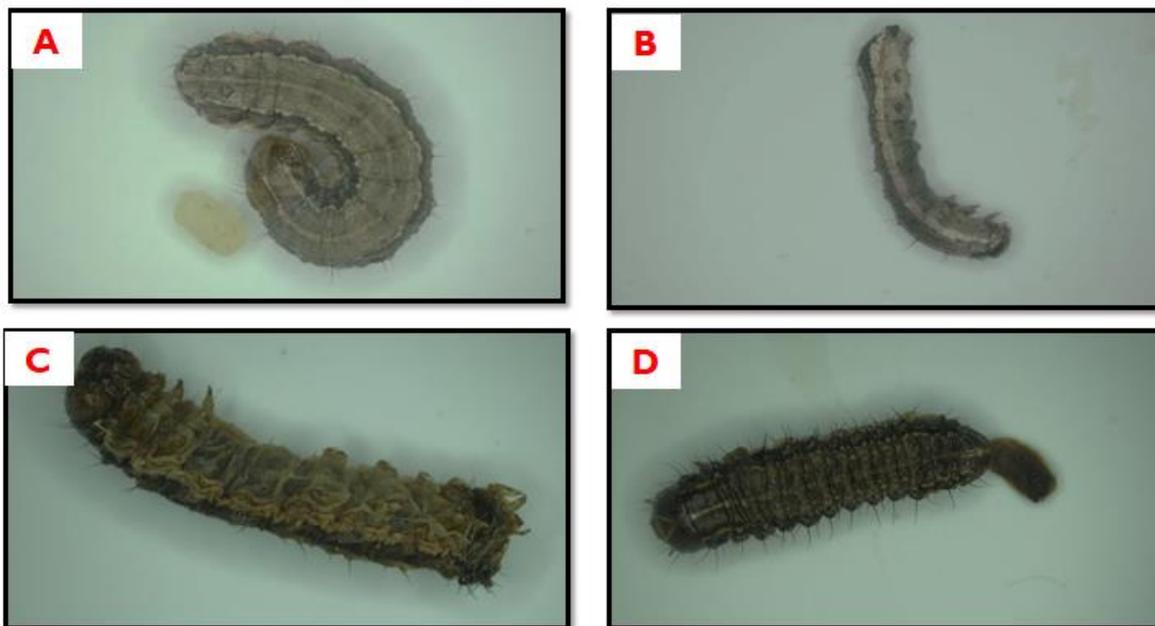


Figura 7.25 Testigo sin aplicar de larva de *Spodoptera frugiperda* (A). Adelgazamiento y deshidratación por efecto de las microcápsulas de bioinsecticida en la larva de *Spodoptera frugiperda* (B), (C) y (D).

De manera global todos los tratamientos tienen bioeficacia sobre las larvas de los géneros *Galleria mellonella* y *Spodoptera frugiperda* y sobre los ácaros de los géneros, *Tetranychus urticae* y *Polyphagotarsonemus latus* con mortalidad similares a las reportadas para productos insecticidas contra estas plagas por Cua-Basulto *et al.*, (2022) y Landeros *et al.*, (2010). Por lo cual el tratamiento AT-3 (5) y AT-3 (8) se consideran como los mejores tratamientos debido a que presentaron una mayor mortalidad contra las plagas blanco.

CAPÍTULO 8. CONCLUSIONES

CAPÍTULO 8. CONCLUSIONES

Los análisis reológicos revelaron que la mezcla Quitosano:Alginato de sodio: Fructanos de agave (0.18%Q:0.66%A:3.33%F) (w/v), presentó interacciones más complejas, buena consistencia y comportamiento adelgazante al flujo, la cual demostró ser un adecuado material de pared con alta capacidad para microencapsular un extracto acuoso de jamaica (*Hibiscus sabdariffa*) obteniendo rendimientos superiores al 80%.

Los análisis de Espectroscopía Infrarroja (FTIR) demostraron la presencia de compuestos fenólicos en las microcápsulas de jamaica (*Hibiscus sabdariffa*).

La microscopía electrónica de barrido reveló demuestra la obtención de microcápsulas con características propias de los componentes de la mezcla empleada como material de pared para la microencapsulación del extracto de jamaica (*Hibiscus sabdariffa*) y la emulsión (Bioinsecticida).

El bioinsecticida mostró un carácter adelgazante al flujo y capacidad de ser atomizado en el secador por aspersión. Sin embargo, la mezcla seleccionada (0.18%Q:0.66%A:3.33%F) presentó rendimientos de secado inferiores al $43.87 \pm 3.54\%$, debido a la presencia de materia oleosa.

El material de pared AT-3 demostró tener una alta capacidad de encapsulación del bioinsecticida con rendimientos de secado hasta del $94.65 \pm 2.97\%$ a condiciones de operación de 110°C , 0.6 L/h y 0.25 Mpa.

El análisis de las microcápsulas de bioinsecticida por cromatografía líquida de alta eficiencia (HPLC-DAD), evidenció la presencia de metabolitos secundarios de interés para el efecto insecticida, confirmando un buen proceso de microencapsulación.

La aplicación de las microcápsulas obtenidas usando como material de pared a AT-3 (5) (4:1) en pruebas in vitro mostró tener un efecto equiparable al bioinsecticida en presentación líquida contra ácaros de los géneros *Tetranychus urticae* y *Polyphagotarsonemus latus* (88-96 %) y contra larvas de los géneros *Galleria mellonella* y *Spodoptera frugiperd* hasta del 85%.

CAPÍTULO 9. BIBLIOGRAFÍA

CAPÍTULO 9. BIBLIOGRAFÍA

- Afshin Faridi Esfanjani, Seid Mahdi Jafari, Biopolymer Nano-particles and Natural Nano-carriers for Nano-encapsulation of Phenolic Compounds, Colloids and Surfaces B: Biointerfaces <http://dx.doi.org/10.1016/j.colsurfb.2016.06.053>
- Aguirre-Güitrón, Lizet; Calderón-Santoyo, Montserrat; Ortiz-Basurto, Rosa Isela; Bautista-Rosales, Pedro Ulises; Ragazzo-Sánchez, Juan Arturo (2018). Optimisation of the spray drying process of formulating the post-harvest biocontrol agent *Meyerozyma caribbica*. *Biocontrol Science and Technology*, 28(6), 574–590. doi:10.1080/09583157.2018.1468997
- Alfonso M, Avilés R, González N, Cruz X, Villasana R, Rodríguez V, (2002) Los plaguicidas botánicos y su importancia en la agricultura orgánica. *Agricultura Orgánica*. 2002; 2:26-30.
- Afzal, Saima; Maswal, Masrat; Dar, Aijaz Ahmad (2018). Rheological Behavior of pH responsive Composite Hydrogels of Chitosan and Alginate: Characterization and its use in Encapsulation of Citral. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. doi:10.1016/j.colsurfb.2018.05.002
- Badawy, Mohamed E. I.; Rabea, Entsar I. (2011). A Biopolymer Chitosan and Its Derivatives as Promising Antimicrobial Agents against Plant Pathogens and Their Applications in Crop Protection. *International Journal of Carbohydrate Chemistry*, 2011(), 1–29. doi:10.1155/2011/460381
- Ballesteros, Lina F.; Cerqueira, Miguel A.; Teixeira, José A.; Mussatto, Solange I. (2015). Characterization of polysaccharides extracted from spent coffee grounds by alkali pretreatment. *Carbohydrate Polymers*, 127(), 347–354. doi:10.1016/j.carbpol.2015.03.047
- Bastos, Daniele S.; Barreto, Bianca N.; Souza, Hiléia K.S.; Bastos, Margarida; Maria Helena M. Rocha-Leão; Cristina T. Andrade; Maria Pilar Gonçalves (2010). Characterization of a chitosan sample extracted from Brazilian

- shrimps and its application to obtain insoluble complexes with a commercial whey protein isolate. , 24(8), 709–718. doi:10.1016/j.foodhyd.2010.03.008
- Bloomquist JR. (1993). Toxicology, mode of action and target site-mediated resistance to insecticides acting on chloride channels. *Comp Biochem Physiol C*;106(2):301–14
- Botrel, D.A.; de Barros Fernandes, R.V.; Borges, S.V.; Yoshida, M.I. (2014). Influence of wall matrix systems on the properties of spray-dried microparticles containing fish oil. *Food Res. Int.* 2014, 62, 344–352
- Brechelt, A. (2004). *Manejo Ecológico de Plagas y Enfermedades*. Santiago de Chile:Red de Acción en plaguicidas y sus Alternativas para América Latina.
- Brewer, B. (2004). Determination of abamectin in soil samples using high-performance liquid chromatography with tandem mass spectrometry. DOI 10.1002/rcm.1537
- Campos, Estefânia Vangelie Ramos; de Oliveira, Jhones Luiz; Fraceto, Leonardo Fernandes; Singh, Baljit (2015). Polysaccharides as safer release systems for agrochemicals. *Agronomy for Sustainable Development*, 35(1), 47–66. doi:10.1007/s13593-014-0263-0
- Cano-Chauca, Milton; Stringheta, P.C.; Ramos, A.M.; Cal-Vidal, J. (2005). Effect of the carriers on the microstructure of mango powder obtained by spray drying and its functional characterization. , 6(4), 0–428. doi:10.1016/j.ifset.2005.05.003
- Cassol, Liliana; Noreña, Cacioano Pelayo Zapata (2020). Microencapsulation and accelerated stability testing of bioactive compounds of *Hibiscus sabdariffa*. *Journal of Food Measurement and Characterization*. doi:10.1007/s11694-020-00757-x
- Ceja-Medina, L. I., Ortiz-Basurto, R. I., Medina-Torres, L., Calderas, F., Bernad-Bernad, M. J., González-Laredo, R. F., ... Manero, O. (2020). Microencapsulation of *Lactobacillus plantarum* by spray drying with mixtures

of Aloe vera mucilage and agave fructans as wall materials. *Journal of Food Process Engineering*, 43(8). doi:10.1111/jfpe.13436

Cervantes-Martínez, C.V.; Medina-Torres, L.; González-Laredo, R.F.; Calderas, F.; Sánchez-Olivares, G.; Herrera-Valencia, E.E.; Gallegos Infante, J.A.; Rocha-Guzman, N.E.; Rodríguez-Ramírez, J. (2014). Study of spray drying of the Aloe vera mucilage (*Aloe vera barbadensis Miller*) as a function of its rheological properties. *LWT - Food Science and Technology*, 55(2), 426–435. doi:10.1016/j.lwt.2013.09.026

Chávez-Rodríguez, Alejandra; López-Muraira, Irma G.; Gómez-Leyva, Juan F.; Luna-Solano, Guadalupe; Ortíz-Basurto, Rosa I.; Andrade-González, Isaac (2014). Optimization of *Agave tequilana Weber* var. Azul Juice Spray Drying Process. *Journal of Chemistry*, 2014(), 1–10. doi:10.1155/2014/915941

Chegini, G. R., y Ghobadian, B. (2007). Spray Dryer Parameters for Fruit Juice Drying. *World Journal of Agricultural Sciences*, 3(2), 230-236.

Choong, Yew Keong; Akmal Mohd Yousof, Nor Syaidatul; Wasiman, Mohd Isa; Jamal, Jamia Azdina; Ismail, Zhari (2016). Determination of Effects of Sample Processing on *Hibiscus sabdariffa* L. Using Tri-step Infrared Spectroscopy. *Journal of Analytical & Bioanalytical Techniques*, 7(5), –. doi:10.4172/2155-9872.1000335

Cid-Ortega, Sandro & Guerrero-Beltrán, José Ángel (2020). Microencapsulation of *Hibiscus sabdariffa* (Roselle) Extracts by Spray Drying Using Maltodextrin and Gum Arabic as Carriers. *Journal of Food Research*; Vol. 9, No. 5; 2020. DOI: 10.5539/jfr.v9n5p53

Corrêa-Filho, Luiz; Lourenço, Sofia; Duarte, Daniel; Moldão-Martins, Margarida; Alves, Vítor (2019). Microencapsulation of Tomato (*Solanum lycopersicum* L.) Pomace Ethanolic Extract by Spray Drying: Optimization of Process Conditions. *Applied Sciences*, 9(3), 612–. doi:10.3390/app9030612

- Cua-Basulto, Marcos Enrique; Ruiz-Sánchez, Esaú; Chan-Cupul, Wilberth; Reyes-Ramírez, Arturo; Ballina-Gómez, Horacio and Hernández Núñez Emanuel. Effects of chemical acaricides on the mortality of the two spotted spider mite *tetranychus urticae koch* (acari: tetranychidae)]. Tropical and Subtropical Agroecosystems 25 (2022): #040 DOI: 10.56369/tsaes.3964
- Dima, C; Cotarlet, M; Tiberius, B; Bahrim, G; Alexe, P; Dima, S. (2014). Encapsulation of coriander essential oil in beta-cyclodextrin: antioxidant and antimicrobial properties evaluation. Romanian Biotechnological Letters 2014 Vol.19 No.2 pp.9128-9140 ref.32. http://www.rombio.eu/vol19nr2/5_19_2_2014%20Cristian%20Dima%20rec%2026.12.2013ac%2015.01.pdf
- Kulig, Dominika; Zimoch-Korzycka, Anna; Jarmoluk, Andrzej; Marycz, Krzysztof (2016). Study on Alginate–Chitosan Complex Formed with Different Polymers Ratio. Polymers, 8(5), 167–. doi:10.3390/polym8050167
- Eastman, J. E., y Moore, C. O. (1984). Cold-water-soluble granular starch for gelled food compositions. In): Google Patents: <https://patents.google.com/patent/US4465702A>
- Espinosa-Andrews, H; Urias-Silvas, J. (2012). Thermal properties of agave fructans (*Agave tequilana Weber var. Azul*). , 87(4), 2671–2676. doi:10.1016/j.carbpol.2011.11.053
- Espinosa-Cavazos, K.G.; Sáenz-Galindo, A.; Castañeda-Facio, A.O (2020). Películas de quitosano propiedades y aplicaciones. Afinidad. Journal of Chemical Engineering Theoretical and Applied Chemistry, Vol. 77, Num. 591, <https://raco.cat/index.php/afinidad/article/view/377418>.
- Fernandes, Regiane Victória de Barros; Borges, Soraia Vilela; Botrel, Diego Alvarenga (2014). Gum arabic/starch/maltodextrin/inulin as wall materials on the microencapsulation of rosemary essential oil. Carbohydrate Polymers, 101(), 524–532. doi:10.1016/j.carbpol.2013.09.083

- Ferrandiz, M., CapaBlanca, L., Franco, E. and Elena, Elena. (2016) Microencapsulation of L-Ascorbic Acid by Spray Drying Using Sodium Alginate as Wall Material. *Journal of Encapsulation and Adsorption Sciences*, 6, 1-8. doi: 10.4236/jeas.2016.61001.
- Gharsallaoui, A (2007). Applications of spray-drying in microencapsulation of food ingredients: An overview. *Food Research International*, 40(9), 1107-1121.
- Goula, Athanasia M.; Adamopoulos, Konstantinos G. (2005). Spray drying of tomato pulp in dehumidified air: II. The effect on powder properties. , 66(1), 35–42. doi:10.1016/j.jfoodeng.2004.02.031
- Goycoolea, F. (2009) Nanopartículas a base de polisacáridos: quitosano.
- G. Prabakaran; S.L. Hoti (2008). Optimization of spray-drying conditions for the large-scale preparation of *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* after downstream processing. , 100(1), 103–107. doi:10.1002/bit.21722
- Grafton-Cardwell, E. E.; Hoy, M. A. (1983). Comparative toxicity of avermectina B1 to the predator *Metaseiulus occidentalis* (Nesbitt) (Acari: Phytoseiidae) and the spider mites *Tetranychus urticae* Koch and *Panonychus ulmi* (Koch) (Acari: Tetranychidae). *Journal of Economic Entomology* 76: 1216- 1220.
- Grube, M.; Bekers, M.; Upite, D.; Kaminska, E. (2002). Infrared spectra of some fructans. *J. Spectroscopy* 2002, 16, 289–296
- Haddad, H. H., H. K. Mohammed, N. Abdul and K. Abdul. (2011). Synthesis, characterization and analytical study of polymer derive from extracted (*Hibiscus Sabdariffa*) leaves plant with 8-hydroxyquinoline. *J. Kerbala Univ.* 9: 53-63.
- Haque M., Prasad-Timilsena Y., Adhikari B. (2015). CHAPTER – 4, Spray Drying. *Drying Technologies for Foods: Fundamentals & Applications* Pp79-106 © Editors, Prabhat K. Nema, Barjinder Pal Kaur, Arun S. Mujumdar, New India Publishing Agency, New Delhi - 110034, India

- Helmiyati, ; Aprilliza, M (2017). Characterization and properties of sodium alginate from brown algae used as an ecofriendly superabsorbent. IOP Conference Series: Materials Science and Engineering, (188), 012019–. doi:10.1088/1757-899X/188/1/012019
- IRAC (2009). Método N° 4 de la serie de métodos para las pruebas de sensibilidad del Insecticide Resistance Action Committee Link: https://irac-online.org/content/uploads/2009/09/Method_004_v3_june09.pdf
- Jafari, Seid Mahdi; He, Yinghe; Bhandari, Bhesh (2007). Role of Powder Particle Size on the Encapsulation Efficiency of Oils during Spray Drying. Drying Technology, 25(6), 1081–1089. doi:10.1080/07373930701397343
- Jakubczyk, E; Gondek, E; Tambor, K. (2011) Characteristics of selected functional properties of apple powders obtained by the foam-mat drying method, Proceedings of the 11th International Congress on Engineering and Food, May 22-26, 2011, Athens, Greece.
- Jimenez, M., García, H. S., y Beristain, C. I. (2006). Spray-dried encapsulation of Conjugated Linoleic Acid (CLA) with polymeric matrices. Journal of the Science of Food and Agriculture, 86(14), 2431-2437. doi:10.1002/jsfa.2636
- Kanwal S, Rehman MH, Hussain A, Nadeem M, Abbas F, Akram M, Inayat M, Sughra F, Ali K. (2021) Development of chitosan based microencapsulated spray dried powder of tuna fish oil: oil load impact and oxidative stability. Braz J Biol. 2021 Oct 29;84:e254010. doi: 10.1590/1519-6984.254010. PMID: 34730703.
- Kathleen, A. (2016). An international database for pesticide riskassessments and management. Human and Ecological Risk Assessment: An International Journal, 22(4), 1050-1064. <https://doi.org/10.1080/10807039.2015.1133242>
- Khorshidian N, Mahboubi A, Kalantari N, Hosseini H, Yousefi M, Arab M, da Cruz AG, Mortazavian AM, Mahdavi FS. Chitosan-Coated Alginate Microcapsules Loaded with Herbal galactagogue Extract: Formulation Optimization and

- Characterization. Iran J Pharm Res. 2019 Summer;18(3):1180-1195. doi: 10.22037/ijpr.2019.1100776. PMID: 32641931; PMCID: PMC6934978.
- Kim SB, Goodfellow M. (2002) *Streptomyces avermitilis* sp. nov., nom. rev., a taxonomic home for the avermectin-producing *streptomyces*. *Int J Syst Evol Microbiol.* 2002;52(Pt 6):2011–4.
- Kumar, Santosh; Koh, Joonseok (2012). Physicochemical, Optical and Biological Activity of Chitosan-Chromone Derivative for Biomedical Applications. *International Journal of Molecular Sciences*, 13(12), 6102–6116. doi:10.3390/ijms13056102
- Landeros, Jerónimo *et al.* (2010) Susceptibilidad y mecanismos de resistencia de *Tetranychus urticae* (Acariformes: Tetranychidae) en rosal de invernaderos. *Rev. Colomb. Entomol.* [online]. 2010, vol.36, n.1, pp.5-9. ISSN 0120-0488.
- Lee, S.V; Balakrishnan, Vengadaesvaran V.; Vengadaesvaran, B.; Arof, A.K.; Abidin, Z.H.Z. (2013). Characterisation of poly(acrylamide-co-acrylic acid) mixed with anthocyanin pigment from *hibiscus sabdariffa l.* *Pigment & Resin Technology*, 42(2), 103–110. doi:10.1108/03699421311301089
- León Martnez, Frank Manuel. (2010). Secado por aspersion del mucilago del nopal (opuntia ficus indica) y su efecto en las propiedades reológicas de los polvos reconstituidos. <http://tesis.ipn.mx/handle/123456789/12330>
- Li Zhensheng; Hassna R. Ramay; Kip D. Hauch; Demin Xiao; Miqin Zhang (2005). Chitosan–alginate hybrid scaffolds for bone tissue engineering. , 26(18), 3919–3928. doi:10.1016/j. biomaterials. 2004.09.062
- Lopez, M. G., Mancilla-Margalli, N. A., y Mendoza-Diaz, G. 2003. Molecular structures of fructans from *Agave tequilana* Weber var. azul. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(27), 7835-7840.
- Martín, M.J., Lara-Villoslada, Federico, Ruiz, María Adolfina, y Morales, María Encarnación. (2015). Microencapsulation of bacteria: A review of different technologies and their impact on the probiotic effects. *Innovative Food*

Science and Emerging Technologies, 27, 15-25.
doi:10.1016/j.ifset.2014.09.010

Masters, K. (1985). Spray drying-The Unit Operation Today. London. pp.
Referencia incompleta.

McClements, D. J., Decker, E. A., Park, Y., y Weiss, J. (2009). Structural design principles for delivery of bioactive components in nutraceuticals and functional foods. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 49(6), 577-606.

Medina-García, L. (2013). Obtención de maltodextrinas por vía enzimática a partir de almidón de camote (*Ipomoea batatas*)
<https://tesis.ipn.mx/bitstream/handle/123456789/12388/Medina%20Garc%C3%ADa%20Luis%20-%20B091334.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

Medina-Torres, L., Calderas, F., Minjares, R., Femenia, A., Sánchez-Olivares, G., González-Laredo, F. R., ... Manero, O. (2016). Structure preservation of Aloe vera (*barbadensis Miller*) mucilage in a spray drying process. *LWT - Food Science and Technology*, 66, 93-100. doi:10.1016/j.lwt.2015.10.023

Medina-Torres, L.; Núñez-Ramírez, D.M.; Calderas, F.; González-Laredo, R.F.; Minjares-Fuentes, R.; Valadez-García, M.A.; Bernad-Bernad, M.J.; Manero, O. (2019). Microencapsulation of gallic acid by spray drying with aloe vera mucilage (*aloe barbadensis miller*) as wall material. *Industrial Crops and Products*, 138(), 111461-. doi:10.1016/j.indcrop.2019.06.024

Mellado-Mojica, E., y López, M. G. 2012. Fructan metabolism in *A. tequilana Weber* Blue variety along its developmental cycle in the field. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60(47), 11704-11713.

Mishra, J.; Tewari, S.; Singh, S.; Arora, N.K. 2015. Biopesticides: Where We Stand? En N. K. Arora (Ed.), *Plant Microbes Symbiosis: Applied Facets*. Springer India. Pp. 37-75

- Mishra, J.; Tewari, S.; Singh, S.; Arora, N.K. 2015. Biopesticides: Where We Stand? En N. K. Arora (Ed.), Plant Microbes Symbiosis: Applied Facets. Springer India. Pp. 37-75
- Mordor Intelligence. 2016. Biopesticides Market-Latin America Biopesticides Market (2016-2021).
- Mudgil D, Barak S, Khatkar B. X-ray diffraction, IR spectroscopy and thermal characterization of partially hydrolyzed guar gum. *Int J Biol Macromol.* 2012;50:1035–1039. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2012.02.031.
- Mutukumira A.N. Ang J. Lee S.J. (2015). Microencapsulation of Probiotic Bacteria. Springer International Publishing Switzerland 2015 M.-T. Liong (ed.), Beneficial Microorganisms in Food and Nutraceuticals, Microbiology Monographs 27, DOI 10.1007/978-3-319-23177-8_3
- Nuran Işıklan, Fatma Kurşun (2013). Synthesis and characterization of graft copolymer of sodium alginate and poly(itaconic acid) by the redox system. , 70(3), 1065–1084. doi:10.1007/s00289-012-0876-x
- Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. (2010). The state of food insecurity in the world: addressing food insecurity in protracted crises. Rome: FAO.
- Ortega-Rivas, E. (2009). Bulk Properties of Food Particulate Materials: An Appraisal of their Characterisation and Relevance in Processing. , 2(1), 28–44. doi:10.1007/s11947-008-0107-5
- Pawiya Pupa;Prasert Apiwatsiri;Wandee Sirichokchatchawan;Nopadon Pirarat;Nongnuj Muangsin;Asad Ali Shah;Nuvee Prapasarakul; (2021). The efficacy of three double-microencapsulation methods for preservation of probiotic bacteria . *Scientific Reports*, (), –. doi:10.1038/s41598-021-93263-z

- Pérez, L. (2009). Metodologías analíticas alternativas para la determinación de plaguicidas en aguas y productos agroalimentarios. La Laguna: Universidad de La Laguna. España. ISBN: 978-84-7756-979-4.
- Piovesana, Alessandra; Noreña, Cacio Pelayo Zapata (2018). Microencapsulation of Bioactive Compounds from *Hibiscus Calyces* Using Different Encapsulating Materials. *International Journal of Food Engineering*, 0(0), -. doi:10.1515/ijfe-2017-0170
- Qiongqiong, Liu; Qingtao, Li; Sheng, Xu; Qiujian Zheng; Xiaodong, Cao (2018). Preparation and Properties of 3D Printed Alginate–Chitosan Polyion Complex Hydrogels for Tissue Engineering. *Polymers*, 10(6), 664–. doi:10.3390/polym10060664
- Quoc-Duy, N. (2021). Microencapsulation of roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.) anthocyanins: Effects of drying conditions on some physicochemical properties and antioxidant activities of spray-dried powder. *Food Sci Nutr*. 2021;00:1–13. Doi: 10.1002/fsn3.2659
- Rajam, R. (2015). Microencapsulation of *Lactobacillus plantarum* (MTCC 5422) with fructooligosaccharide as wall material by spray drying. *LWT - Food Science and Technology*, 60(2), 773-780. doi:10.1016/j.lwt.2014.09.062
- Sarkar S, Gupta S, Variyar PS, Sharma A, Singhal RS. Irradiation depolymerized guar gum as partial replacement of gum Arabic for microencapsulation of mint oil. *Carbohydr Polym*. 2012 Nov 6;90(4):1685-94. doi: 10.1016/j.carbpol.2012.07.051. Epub 2012 Jul 27. PMID: 22944434.
- Solanki, Himanshu K.; Pawar, Dipak D.; Shah, Dushyant A.; Prajapati, Vipul D.; Jani, Girish K.; Mulla, Akil M.; Thakar, Prachi M. (2013). Development of Microencapsulation Delivery System for Long-Term Preservation of Probiotics as Biotherapeutics Agent. *BioMed Research International*, 2013(), 1–21. doi:10.1155/2013/620719

- S.C.S.R. Moura *et al.*, (2018). Encapsulating anthocyanins from *Hibiscus sabdariffa* L. calyces by ionic gelation: Pigment stability during storage of microparticles. *Food Chem.* 241, 317–327
- Tanaka, Toyochi (1981). *Gels.*, 244(1), 124–138. doi:10.1038/scientificamerican0181-124.
- Tsujibo, H.; Kubota, T.; Yamamoto, M.; Miyamoto, K.; Inamori, Y. (2003). Characterization of Chitinase Genes from an Alkaliphilic Actinomycete, *Nocardiosis prasina* OPC-131. *Applied and Environmental Microbiology*, 69(2), 894–900. doi:10.1128/aem.69.2.894-900.2003
- Uddin, Nizam; Alam, Zinnatul; Miah, Ramiz Uddin; Mian, Ismail Hossain; Mustarin, Kishwar-E- (2015). Toxicity of pesticides to *Tetranychus urticae* Koch (Acari:Tetranychidae) and their side effects on *Neoseiulus californicus* (AcariPhytoseiidae). *International Journal of Acarology*, (), 1–6. doi:10.1080/01647954.2015.1094512
- Velázquez-Martínez, José; González-Cervantes, Rina; Hernández-Gallegos, Minerva; Mendiola, Roberto; Aparicio, Antonio; Ocampo, Martha (2014). Prebiotic Potential of *Agave angustifolia* Haw Fructans with Different Degrees of Polymerization. *Molecules*, 19(8), 12660–12675. doi:10.3390/molecules190812660
- Villacres, N. (2014). El uso de plaguicidas químicos en el cultivo de papa (*solanumtuberosum*) su relación con el medio ambiente y la salud. Tungurahua: Universidad Técnica de Ambato. <https://repositorio.uta.edu.ec/jspui/handle/123456789/7003>
- Wilkowska, Agnieszka; Czyżowska, Agata; Ambroziak, Wojciech; Adamiec, Janusz (2017). Structural, physicochemical and biological properties of spray-dried wine powders. *Food Chemistry*, 228(), 77–84. doi:10.1016/j.foodchem.2017.01.115

- Xue, Meiyang; Hu, Steven; Lu, Yifei; Zhang, Yu; Jiang, Xutao; An, Sai; Guo, Yubo; Zhou, Xue; Hou, Huimin; Jiang, Chen (2015). Development of chitosan nanoparticles as drug delivery system for a prototype capsid inhibitor. *International Journal of Pharmaceutics*, (), S037851731530154X-. doi:10.1016/j.ijpharm.2015.08.056
- Yeung, Timothy W.; Üçok, Elif F.; Tiani, Kendra A.; McClements, David J.; Sela, David A. (2016). Microencapsulation in Alginate and Chitosan Microgels to Enhance Viability of *Bifidobacterium longum* for Oral Delivery. *Frontiers in Microbiology*, 7(). doi:10.3389/fmicb.2016.00494
- Yin P, Wang YH, Zhang SL, Chu J, Zhuang YP, Wang ML. (2008). Isolation of soluble proteins from an industrial strain *Streptomyces avermitilis* in complex culture medium for two-dimensional gel electrophoresis. *J Microbiol Methods*. 2008;73(2):105–10.
- Yoojin Kim;Seokmin Oh;Heehyung Lee;Dongsoo Lee;Mihyun Kim;Heung Soo Baek;Won Seok Park;Eunmi Kim;Jae-Hyung Jang; (2021). Chitosan–Alginate–Pectin-coated Suspended-Liquid-Encapsulating CAPSULE marbles for therapeutic agent storage and delivery. *Biomaterials Science*. doi:10.1039/d0bm01504k
- Young, S. L., Sarda, X., y Rosenberg, M. (1993). Microencapsulating Properties of Whey Proteins. 1. Microencapsulation of Anhydrous Milk Fat. *Journal of Dairy Science*, 76(10), 2868-2877. doi:10.3168/jds.S0022-0302(93)7762