**Universidad Nacional Mayor de San Marcos**
**Universidad del Perú. Decana de América**
Facultad de Medicina Veterinaria
Escuela Profesional de Medicina Veterinaria

# Efecto de la nanoemulsión del aceite esencial de *Lantana camara* frente a larvas de *Aedes aegypti*

**TESIS**

Para optar el Título Profesional de Médico Veterinaria

**AUTOR**

Taiz Noemí REY PAUCARPURA

**ASESOR**

Mg. Sofia LÓPEZ GUERRA

Lima, Perú

2025



Reconocimiento - No Comercial - Compartir Igual - Sin restricciones adicionales

https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/

Usted puede distribuir, remezclar, retocar, y crear a partir del documento original de modo no comercial, siempre y cuando se dé crédito al autor del documento y se licencien las nuevas creaciones bajo las mismas condiciones. No se permite aplicar términos legales o medidas tecnológicas que restrinjan legalmente a otros a hacer cualquier cosa que permita esta licencia.

**Referencia bibliográfica**

---

Rey T. Efecto de la nanoemulsión del aceite esencial de *Lantana camara* frente a larvas de *Aedes aegypti* [Tesis de pregrado]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Medicina Veterinaria, Escuela Profesional de Medicina Veterinaria; 2025.

---

## Metadatos complementarios

| | |
|---|---|
| **Datos de autor** | |
| Nombres y apellidos | Taíz Noemí Rey Paucarpura |
| Tipo de documento de identidad | DNI |
| Número de documento de identidad | 75572116 |
| URL de ORCID | https://orcid.org/0009-0004-3926-1344 |
| **Datos de asesor** | |
| Nombres y apellidos | Sofia López Guerra |
| Tipo de documento de identidad | DNI |
| Número de documento de identidad | 40060409 |
| URL de ORCID | https://orcid.org/0000-0002-5478-4707 |
| **Datos del jurado** | |
| **Presidente del jurado** | |
| Nombres y apellidos | Zoyla Mirella Clavo Peralta |
| Tipo de documento | DNI |
| Número de documento de identidad | 07717043 |
| **Miembro del jurado 1** | |
| Nombres y apellidos | Rosa Ysabel Pinedo Vicente |
| Tipo de documento | DNI |
| Número de documento de identidad | 40404904 |
| **Miembro del jurado 2** | |
| Nombres y apellidos | Pedro Angulo Herrera |
| Tipo de documento | DNI |
| Número de documento de identidad | 08517424 |

| **Datos de investigación** | |
|---|---|
| Línea de investigación | B.4.2.4. Bioquímica, Nutrición y Alimentación Animal. |
| Grupo de investigación | Grupo de Investigación de Nutrición y Alimentación animal - GINAA |
| Agencia de financiamiento | Perú. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Vicerrectorado de Investigación y Posgrado. Proyectos de Investigación para Grupos de Investigación con Financiamiento PCONFIGI. RR N° 05753-R-21 con código de proyecto A21040621 |
| Ubicación geográfica de la investigación | Edificio: Facultad de Medicina Veterinaria. Universidad Nacional Mayor de San Marcos.<br>País: Perú<br>Departamento: Lima<br>Provincia: Lima<br>Distrito: San Borja<br>Dirección: Av. Circunvalación 2800.<br>Latitud: -12.08348<br>Longitud: -76.984573 |
| Año o rango de años en que se realizó la investigación | Abril 2024 – Diciembre 2024 |
| URL de disciplinas OCDE | Ciencia Veterinaria<br>https://purl.org/pe-repo/ocde/ford#4.03.01 |

**Universidad Nacional Mayor de San Marcos**
**Universidad del Perú, Decana de América**
**Facultad de Medicina Veterinaria**
**Escuela Profesional de Medicina Veterinaria**

# ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE MÉDICO VETERINARIA

En el **Auditorio de Anatomía** de la Facultad de Medicina Veterinaria, el día **martes 22 de julio de 2025**, a las **11:00 horas**, se constituyó el Jurado Examinador designado mediante **Resolución Directoral N° 000138-2025-EPMV-FMV/UNMSM** integrado por los siguientes docentes:

| | |
|---|---|
| **Blga. Dra. Zoyla Mirella Clavo Peralta** | **Presidenta del Jurado** |
| **Blga. Mg. Sofia López Guerra** | **Asesora de la Tesis** |
| **MV. Mg. Rosa Ysabel Pinedo Vicente** | **Miembro del Jurado** |
| **Q.F. Dr. Pedro Angulo Herrera** | **Miembro del Jurado** |

Luego de la instalación del Jurado, a cargo de la presidenta del Jurado y bajo la dirección de la misma, la Bachiller **TAIZ NOEMÍ REY PAUCARPURA,** para optar el Título Profesional de Médico Veterinaria, procedió a sustentar públicamente la Tesis:

## "Efecto de la nanoemulsión del aceite esencial de *Lantana camara* frente a larvas de *Aedes aegypti.*"

Luego de absolver las preguntas del Jurado y del público asistente, el Jurado deliberó con la abstención reglamentaria de la Asesora de la Tesis y acordó su **APROBACIÓN** por **UNANIMIDAD**, otorgándole la nota de **17 (Diecisiete).**

Habiéndose aprobado la sustentación pública de la Tesis, la presidenta en representación del Jurado recomienda que la Escuela Profesional de Medicina Veterinaria proponga la aprobación del **TÍTULO PROFESIONAL DE MÉDICO VETERINARIA** a la Facultad de Medicina Veterinaria y que ésta proponga al Rectorado el otorgamiento respectivo.

Siendo las **12:00 horas**, concluyó el acto académico de sustentación pública de Tesis en fe de lo cual suscriben la presente acta por cuadruplicado los integrantes del Jurado:

Zoyla Mirella Clavo Peralta; Blga. Dra.
Profesora Principal, Dedicación Exclusiva

UNMSM
Firmado digitalmente por LOPEZ GUERRA Sofia FAU 20148092282 soft
Motivo: Soy el autor del documento
Fecha: 28.08.2025 08:30:31 -05:00

Sofia López Guerra; Blga. Mg.
Profesora Auxiliar, Dedicación Exclusiva

Rosa Ysabel Pinedo Vicente; MV. Mg.
Profesora Auxiliar, Dedicación Exclusiva

UNMSM
Firmado digitalmente por ANGULO HERRERA Pedro FAU 20148092282 soft
Motivo: Soy el autor del documento
Fecha: 01.09.2025 14:16:19 -05:00

Pedro Angulo Herrera; Q.F. Dr.
Profesor Principal, Tiempo Completo

UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE
SAN MARCOS
Universidad del Perú, Decana de América

## Anexo 1
## CERTIFICADO DE SIMILITUD

Yo, **Sofia Lopez Guerra** en mi condición de asesor acreditado con el Dictamen de la UPG o de la EP N° 0209-EPMV/FMV-2023 de la tesis cuyo título es **"Efecto de la nanoemulsión del aceite esencial de *Lantana camara* frente a larvas de *Aedes aegypti*"**, presentado por el bachiller **Rey Paucarpura, Taíz Noemí** para optar el título profesional de **Médico Veterinario** CERTIFICO que se ha cumplido con lo establecido en la Directiva de Originalidad y de Similitud de Trabajos Académicos, de Investigación y Producción Intelectual. Según la revisión, análisis y evaluación mediante la plataforma PIDS, el documento evaluado cuenta con el **2 %** de similitud, nivel PERMITIDO para continuar con los trámites correspondientes y para su **publicación en el repositorio institucional.**

Se emite el presente certificado en cumplimiento de lo establecido en las normas vigentes, como uno de los requisitos para la obtención del título en Medicina Veterinaria.

Lima, 03 de Noviembre de 2025

Firma del Asesor:

Nombres y Apellidos del asesor: Sofia Lopez Guerra

DNI: 40060409

* Según corresponda: bachiller, magíster, doctor; título profesional o título de segunda especialidad

*La vigencia del presente certificado corresponde a un período de noventa (90) días desde la fecha de su emisión; siempre que no haya observaciones en el texto durante el proceso de revisión por el jurado informante o surja alguna contingencia.*

# Dedicatoria

Dedico este trabajo especialmente a mis padres: Carmen Paucarpura, por su amor incondicional, y Tomás Rey por sus palabras y exigencia. A ambos por brindarme su comprensión, refugio y apoyo cuando más lo necesitaba.

A mis hermanos por sus consejos y complicidad desde siempre.

A mis hijos de cuatro patas que dieron cauce a mi futuro: A Drako, por ser mi inspiración. A Uqi, Yana y Misky, simplemente por existir y estar. Y Gru, Mía y Farfita, por consumar a la familia.

A mis sinceras amistades desde la universidad: Maritza, Samantha, Vanesa y Angelo por hacer amena mi etapa universitaria y sostenerme cuando me desoriento.

Finalmente, este trabajo me lo dedico a mí misma, por no rendirme.

# Agradecimiento

A mi Alma Mater, la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, en especial, a mi Facultad de Medicina Veterinaria, por ser el cimiento en mi profesión.

A mi asesora de tesis, la Mg. Sofia Lopez Guerra, por su paciencia y disposición que fue indispensable para culminar este trabajo.

Al Dr. Fernando Carcelén, del Laboratorio de Bioquímica, Nutrición y Alimentación Animal, por el apoyo durante la realización del proyecto.

Al Dr. Pedro Valencia, del Instituto de Medicina Tropical "Daniel Alcides Carrión" de la UNMSM por permitirme realizar la parte experimental.

# Índice de Contenido

**Dedicatoria**.....iv
**Agradecimiento**.....v
**Lista de abreviaturas**.....vii
**Resumen**.....ix
**Abstract**.....x
**Lista de cuadros**.....xi
**Lista de figuras**.....xii
**Lista de anexos**.....xiv
**I. Introducción**.....15
**II. Revisión bibliográfica**.....3
**2.1. *Aedes aegytpi***.....3
**2.2. Aceite esencial**.....12
**2.3. *Lantana camara* L.**.....22
**2.4 Nanoemulsiones**.....28
**III. Materiales y métodos**.....36
**3.1 Lugar de ejecución y periodo de duración**.....36
**3.2 Descripción del material experimental**.....37
**3.3 Diseño experimental**.....40
**3.4 Análisis de información**.....43
**IV. Resultados**.....44
**4.1 Material vegetal**.....44
**4.2 Composición química**.....44
**4.3 Caracterización de la nanoemulsión**.....45
**4.4 Bioensayos**.....46
**V. Discusión**.....50
**VI. Conclusiones**.....56
**VII. Recomendaciones**.....57
**VIII. Literatura citada**.....58
**V. Figuras**.....67
**VI. Anexos**.....75

# Lista de abreviaturas

| | |
|---|---|
| **AE** | Aceite esencial |
| **UNMSM** | Universidad Nacional Mayor de San Marcos |
| **FMV** | Facultad de Medicina Veterinaria |
| **LBNAA** | Laboratorio de Bioquímica, Nutrición y Alimentación Animal |
| **ppm** | Partes por millón |
| **GC-SM** | Cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas |
| **DLS** | Dispersión de luz dinámica |
| **OMS** | Organización Mundial de la Salud |
| **ºC** | Grados centígrados |
| **g** | Gramo |
| **Kg** | Kilogramo |
| **mm** | Milímetro |
| ***Ae.*** | Aedes |
| **AChE** | Acetilcolinesterasa |
| **GABA** | Ácido gamma-aminobutírico |
| **CL** | Concentración letal |
| **µg** | Microgramo |
| **ml** | Mililitro |
| **HLB** | Balance hidrofílico-lipofílico |
| **nm** | Nanómetro |
| **IPD** | Índice de polidispersión |
| **Na2SO4** | Sulfato de sodio anhidro |
| **SOR** | Proporción del surfactante y aceite |
| **o/w** | Nanoemulsión “aceite en agua” (*oil-in-water*) |

| | |
|---|---|
| **rpm** | Revoluciones por minuto |
| **p/v** | Peso por volumen |
| **p/p** | Peso por peso |
| **NE** | Nanoemulsión |
| **LCEO** | Aceite esencial de *Lantana camara* |
| **LCNE** | Nanoemulsión del aceite esencial de *Lantana camara* |

# Resumen

En la actualidad, el *Aedes aegypti* es un vector de diversas enfermedades de alto impacto. En busca de alternativas de origen natural para su control, el aceite esencial de *Lantana camara* L. (llamada comúnmente como Lantana) es reconocido como un novedoso producto que demuestra tener efecto contra el estadío larvario de dicho mosquito. El presente trabajo tuvo como objetivo evaluar el efecto de la nanoemulsión del aceite esencial *L. camara* frente a larvas de *Ae. aegypti*. El aceite esencial se obtuvo con el método "Arrastre de vapor de agua" y sus componentes fueron determinados por el método de cromatografía de gases acoplado a espectrometría de masas. Las nanoemulsiones se prepararon por el método de "alta energía" y con el surfactante Tween 80 en SOR 2:1. La ejecución experimental se realizó según el protocolo de la Organización Mundial de la Salud con algunas modificaciones. Se formularon cinco concentraciones (600, 800, 1000, 1200, 1400 ppm), un grupo blanco (Tween 80 y agua ultrapura) y un grupo control (Temephos 0.03 ppm). Se realizaron cuatro repeticiones por concentración y todo el bioensayo fue repetido 3 veces en días diferentes. La mortalidad se registró después de las 24 y 48 horas de exposición. Los valores de concentración letal para el 50% y el 90% de mortalidad (CL50 y CL90) por método Probit-Log. La composición química del *L. camara* tuvo 44 componentes, siendo los mayoritarios el β-Cariofileno, el Germacreno D, α-Cariofileno y Biciclogermacreno. A las 24 horas, la CL50 y CL90 fue de 842.449 ppm y 1626.255 ppm respectivamente y las 48 horas la CL50 fue 746.142 ppm y la CL90 fue 1434.527 ppm. Por lo tanto, el aceite esencial de *L. camara* bajo la forma de nanoemulsión demostró tener efecto larvicida a las 24 y 48 horas portándose como una alternativa natural y novedosa para el control del *Aedes aegypti*.

**Palabras clave**: Aceite esencial, *Lantana camara*, nanoemulsión, *Aedes aegypti*

# Abstract

*Aedes aegypti* is currently a vector of several high-impact diseases. In the search for natural alternatives for its control, the essential oil of *Lantana camara* L. has emerged as a novel product that has been shown to have an effect against the larval stage of this mosquito. The aim of this study was to evaluate the effect of the nanoemulsion of *L. camara* essential oil against *Ae. aegypti* larvae. The essential oil was obtained by the 'water vapour entrainment' method and its components were determined by gas chromatography coupled to mass spectrometry. Nanoemulsions were prepared by the 'high energy' method and with the surfactant Tween 80 in SOR 2:1. Experimental evaluation was performed according to the World Health Organisation protocol with some modifications. Five concentrations (600, 800, 1000, 1200, 1400 ppm), a blank group (Tween 80 and ultrapure water) and a control group (Temephos 0.03 ppm) were formulated. Four replicates per concentration were performed and the whole bioassay was repeated 3 times on different days. Mortality was recorded after 24 and 48 hours of exposure. Lethal concentration values for 50% and 90% mortality (LC50 and LC90) by Probit-Log method. The chemical composition of *L. camara* had 44 components, the major ones being β-Caryophyllene, Germacrene D, α-Caryophyllene and Bicyclogermacrene. At 24 hours, the LC50 and LC90 were 842.449 ppm and 1626.255 ppm respectively and at 48 hours the LC50 was 746.142 ppm and the LC90 was 1434.527 ppm. Therefore, the essential oil of *L. camara* in the form of nanoemulsion showed larvicidal effect at 24 and 48 hours and is a natural and novel alternative for the control of *Aedes aegypti*.

**Keywords:** Essential oil, *Lantana camara*, nanoemulsion, *Aedes aegypti*

# Lista de cuadros

**Cuadro 1.** Mecanismo de acción de insecticidas de origen vegetal (Rattan, 2010).....21
**Cuadro 2.** Principales compuestos del AE en hojas de *L. camara* de algunos países (Nea *et al.*, 2020).....26
**Cuadro 3.** Porcentaje de rendimiento de *L. camara*…….44

# Lista de figuras

**Figura 1.** Diferencias entre los huevos de las subfamilias Anophelinae y Culicinae (Service, 2012).....4
**Figura 2.** Posición de las larvas en la familia Culicidae (Becker *et al.*, 2010).....5
**Figura 3.** Posición y segmento abdominal de una pupa de culícido (MSAL, 2016).....6
**Figura 4.** Características en el escutelo del adulto y el abdomen puntiagudo en la hembra del *Ae. aegypti* (Becker *et al.*, 2010).....7
**Figura 5.** Diferencias en la cabeza del mosquito adulto *Ae. aegypti* entre macho y hembra (Carrada *et al*., 1984).....7
**Figura 6.** Ciclo de vida del *Ae. aegypti* (MSAL, 2016).....8
**Figura 7.** Tricomas glandulares de plantas aromáticas (Usano *et al*., 2014).....12
**Figura 8.** Fórmula estructural de algunos componentes de AEs (Burt, 2006).....14
**Figura 9.** Muestra representativa de *L. camara* (Elaboración propia).....24
**Figura 10.** Arbusto de *L. camara* ubicado FMV-UNMSM (Elaboración propia).....24
**Figura 11.** Tipos de emulsiones (Calderón, 2015).....28
**Figura 12.** Estructura de una nanoemulsión (Lugo, 2018).....29
**Figura 13.** Estructura de un surfactante (Elaboración propia).....29
**Figura 14.** Clasificación de los surfactantes según su valor de HLB (Gómez, 2014).....31
**Figura 15.** Diferencia entre nanoemulsión y macroemulsión (Solans *et al*., 2005).....32
**Figura 16.** Ambiente del laboratorio "Insectario 1".....37
**Figura 17.** Condiciones de laboratorio……38
**Figura 18.** Distribución de los tapers por concentraciones y repeticiones……..38
**Figura 19.** AE de *Lantana camara*……..45
**Figura 20.** Pre-emulsión después del agitador magnético……...45
**Figura 21.** CL50 y CL90 de la nanoemulsión de aceite esencial de *L. camara* en larvas de *A. aegypti* en 24 horas por bioensayo……46
**Figura 22.** CL50 y CL90 de la nanoemulsión de aceite esencial de *L. camara* en larvas de *A. aegypti* en 48 horas por bioensayo……47
**Figura 23.** Promedio de la CL50 y CL 90 tras 24 horas de exposición……...48
**Figura 24.** Promedio de la CL50 y CL 90 tras 48 horas de exposición……48
**Figura 25.** Porcentaje de mortalidad por concentración a las 24 y 48 horas de exposición…49
**Figura 26.** Arbusto de *Lantana camara* L.……...…67
**Figura 27.** *Lantana camara* deshojadas ……67
**Figura 28.** Equipo de destilación de acero inoxidable……68
**Figura 29.** Aceite separado del hidrolato por la pera de decantación……68
**Figura 30.** Pesaje de reactivos en la balanza analítica……....69
**Figura 31.** Pre-emulsión en el agitador magnético……69
**Figura 32.** Homogeneizador de alta energía ULTRA-TURRAX IKA T25……70
**Figura 33.** Aspecto de la nanoemulsión en su última fase……..70
**Figura 34.** Almacenamiento de las nanoemulsiones en frascos ámbar……...71

**Figura 35.** Distribución de la nanoemulsión en los respectivos tapers……..72
**Figura 36.** Larvas estadío 3 de *Ae. aegypti* cepa Rockefeller…….72
**Figura 37.** Conteo de larvas muertas a las 24 y 48 horas……73
**Figura 38**. Mortalidad de las larvas…….73

# Lista de anexos

**Anexo 1.** Flujograma del proceso experimental……..75
**Anexo 2.** Resumen metodológico……76
**Anexo 3.** Identificación taxonómica de *L. camara*……..77
**Anexo 4.** Composición química de *L. camara*……78
**Anexo 5.** Cromatograma del aceite del *L. camara*……...80
**Anexo 6.** Caracterización de la nanoemulsión……81
**Anexo 7.** Hoja de registro del bioensayo……..82
**Anexo 8.** Resultados en Probit-Log a las 24 horas (Ej. 1º bioensayo).....83
**Anexo 9.** Resultados en Probit-Log a las 48 horas (Ej. 1º bioensayo).....85

# I. Introducción

El mosquito *Aedes aegypti* cumple un papel importante en la transmisión de varias enfermedades infecciosas (ej. Dengue, Chikungunya, Zika, Marayo) que provocan alta tasa de mortalidad y morbilidad, además de estar influenciado por diversos factores como las altas temperaturas, las lluvias y algunos determinantes sociales. El uso exhaustivo de productos químicos por ejemplo en fumigaciones, conlleva a un daño irreversible tanto a la población y al medio ambiente. Aquellos efectos en la biología de estos vectores han conllevado a generar una "resistencia" hacia los productos insecticidas convirtiéndolos cada vez más ineficaces (INS, 2018).

Como parte de enfrentar esta problemática, es necesario tomar nuevas medidas de control y los productos naturales como los aceites esenciales de las plantas aromáticas, han demostrado tener variable actividad biológica entre ellos ser un potente insecticida. El arbusto *Lantana camara* (conocido también como "hierba de la maestranza"), perteneciente de la familia Verbenaceae, tienen principalmente metabolitos de tipo sesquiterpenos y monoterpenos que brindan efecto insecticida. Estudios han demostrado la versatilidad y efecto negativo del extracto crudo y aceite esencial de sus hojas y flores en el crecimiento, desarrollo y reproducción de insectos como Aedes, Culex, Anopheles, entre otros (Inga, 2016).

Sin embargo, una de las desventajas de estos compuestos naturales, es su fácil volatilidad y deterioro por factores externos en el transcurso del tiempo perdiendo su integridad y efectividad (Alzamora *et al.*, 2001).

La nanotecnología es una herramienta multidisciplinaria que ya forma parte en el área de la salud brindando una mejor alternativa para la investigación y desarrollo de administración de fármacos. Estos nanosistemas tienen la ventaja de proteger sustancias activas contra los mecanismos de degradación, además de promover una liberación prolongada y focalizada (Echevarría y Duarte, 2019).

El propósito del presente estudio es evaluar el efecto de la nanoemulsión del aceite esencial de *Lantana camara* frente a larvas de *Aedes aegypti*, así como, determinar los componentes del aceite esencial y determinar la concentración letal (CL50 y CL90) de la nanoemulsión.

# II. Revisión bibliográfica

## 2.1. *Aedes aegytpi*

Es uno de los principales vectores más temidos en la salud pública, ya que pueden transmitir diversas enfermedades, entre ellas virales como el "dengue" y la "fiebre amarilla", así también parasitarias como la "filariasis humana", entre otros (Beserra *et al*., 2006).

Es originario de África y se distribuye geográficamente en regiones tropicales y subtropicales entre los 45º latitud norte y 40º latitud sur. Además predomina en zonas altamente urbanizadas y suburbanas, ya que están bien adaptados a la vida doméstica (Beserra *et al*., 2006; MSAL, 2016).

### 2.1.1. Clasificación taxonómica

Reino: Animalia
Phylum: Arthropoda
Clase: Insecta
Orden: Diptera
Familia: Culicidae
Subfamilia: Culicinae
Tribu: Aedini
Género: *Aedes*
Subgenero: *Stegomyia*
Especie: *Aedes* (*Stegomyia*) *aegypti* (Becker *et al.*, 2010).

Cabe mencionar que existe una nueva clasificación donde algunos mosquitos del género Aedes han sido transferidos a otros géneros como *Ochlerotatus* y *Stegomyia.* Así por ejemplo*, Aedes albopictus* y *Aedes aegypti* se han convertido en *Ochlerotatus albopictus* y *Stegomyia aegypti* respectivamente. Sin embargo, por practicidad y consenso de taxonomistas, las especies atribuidas a estos dos nuevos géneros se conservan en el género Aedes, y por otro lado, *Stegomyia* y *Ochlerotatus* se reconocen como subgéneros (Service, 2012).

## 2.1.2. Características morfológicas

### 2.1.2.1. Huevos

Son de color negro, miden menos de 1 mm. Tiene forma alargada a ovoide. Se depositan como huevos individuales. No poseen flotadores como en el caso de los *Anopheles sp.* (Figura 1) (Service, 2012).

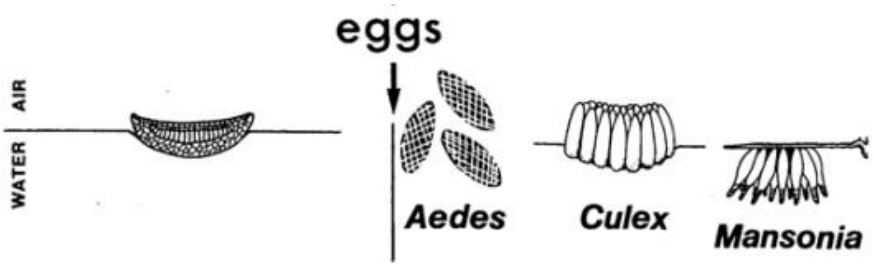



**Figura 1**. Diferencias entre los huevos de las subfamilias Anophelinae (izquierda) y Culicinae (derecha) (Service, 2012).

### 2.1.2.2. Larva

Se distinguen por carecer de patas, tienen un tórax agrandado y más ancho que la cabeza y el abdomen. Poseen una cabeza bien desarrollada con un par de ojos y antenas grandes que son espiculadas (Vasquez y De Abrego, 2017). En la mayoría de las especies hay prominentes **cepillos bucales** que sirven para barrer hacia la boca el agua que contiene diminutas partículas de alimento. El abdomen está compuesto por siete segmentos casi idénticos y tres segmentos posteriores modificados (MSAL, 2016).

Los segmentos posteriores llevan cuatro **papilas anales** que funcionan para la **osmoregulación**. En el segmento abdominal VIII se desarrolla un **sifón**, que es un tubo único y corto en forma de barril y es donde se da la ingesta de oxígeno. Por lo general, las larvas de culícidos cuelgan cabeza abajo de la superficie del agua (Figura 2) (Becker *et al.*, 2010).




**Figura 2.** Posición de las larvas en la familia Culicidae, cabeza abajo y sifón en la superficie del agua (Becker *et al.*, 2010).

### 2.1.2.3. Pupa

Tienen forma de "coma". La cabeza y tórax se fusionan para formar el "cefalotórax", que lleva anterolateralmente un par de "trompetas" respiratorias alargadas y estrechas. En el abdomen tiene ocho segmentos, donde los segmentos abdominales II al VI carecen de espinas laterales, pero presentan numerosas setas pilosas. El último segmento tiene un par de "palas" de forma ovalada y aplanada (Figura 3) (Service, 2012).

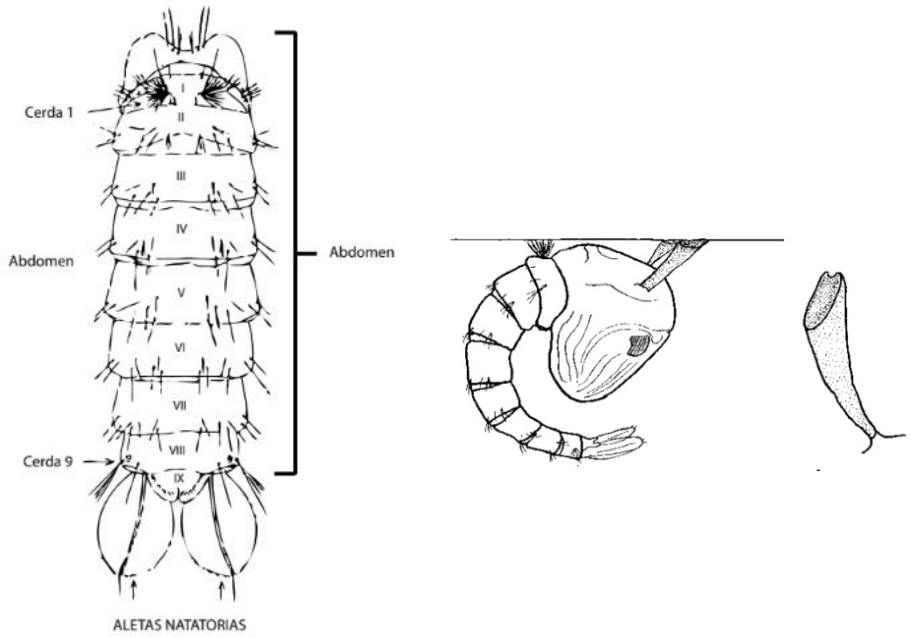



**Figura 3.** Segmento abdominal de una pupa de culícido con diversas setas pilosas y ausencia de espinas (izquierda). Posición pupal con sus dos trompetas respiratorias en la superficie del agua (derecha) (MSAL, 2016).

## 2.1.2.4. Adulto

Cuando están en reposo, éstos se disponen más o menos en paralelo a la superficie. Las patas presentan anillos de color blancos y negros. Además, tienen pequeñas y estrechas escamas en las venas de las alas que suelen ser de color negro, y no están dispuestas areas o en "bloques" distintivos, como ocurre en muchos adultos de otras especies (Service, 2012).

En el tórax, existen patrones conspicuos en el escutelo formado por escamas negras y blancas, inclusive de aspecto metálico. En el caso del *Aedes aegypti*, presenta dos estrechas franjas blancas dorsocentrales separadas del margen anterior y dos franjas blancas anchas en forma de “lira” en los bordes laterales. El abdomen suele estar cubierto de escamas blancas y negras que forman dibujos distintivos, y en la hembra el abdomen es puntiagudo en su extremo (Figura 4) (Becker *et al.*, 2010).

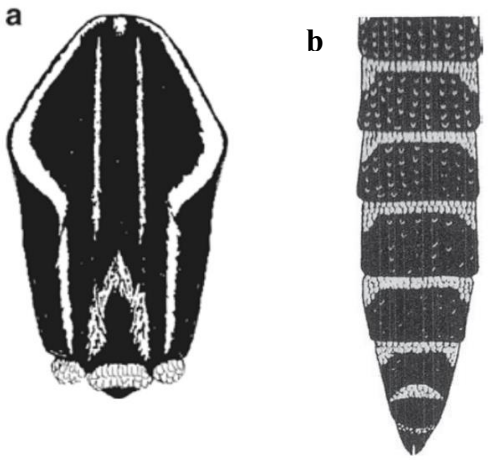



**Figura 4**. Características en el escutelo del adulto (a) y el abdomen puntiagudo en la hembra (b) del *Aedes aegypti* (Becker *et al.*, 2010).

Por otra parte, en las hembras, los palpos son mucho más cortos que la probóscide y en los machos, los palpos son tan largos como su probóscide pero no son hinchados distalmente como en el caso de los *Anopheles*. La mayor diferencia entre hembras y machos, es que éstos últimos poseen unas antenas plumosas y las hembras no (Figura 5). Además, que las piezas bucales de la hembra están desarrolladas para perforar la piel del huésped y obtener sangre (Carrada *et al*., 1984; Becker *et al.*, 2003).

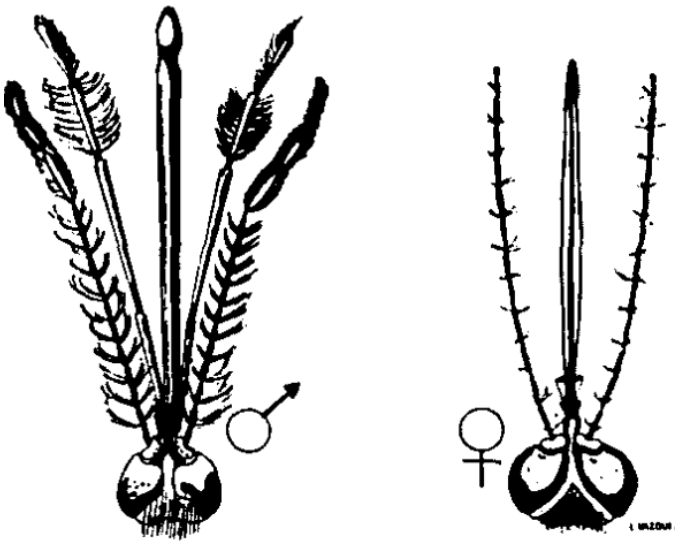


**Figura 5.** Diferencias en la cabeza del mosquito adulto *Aedes aegypti* entre macho y hembra (Carrada *et al*., 1984).

## 2.1.3. Ciclo biológico

Manifiestan una metamorfosis completa y el tiempo de desarrollo desde huevos a adultos puede ser de 10 a 12 días. Sin embargo, esto varía según algunas condiciones externas y puede durar hasta semanas o meses. Es importante conocer el ciclo biológico y su comportamiento para el entendimiento y búsqueda de una mejor medida de control (Service, 2012). Se divide en cuatro estadios y presenta una vida acuática y aérea (Figura 6):

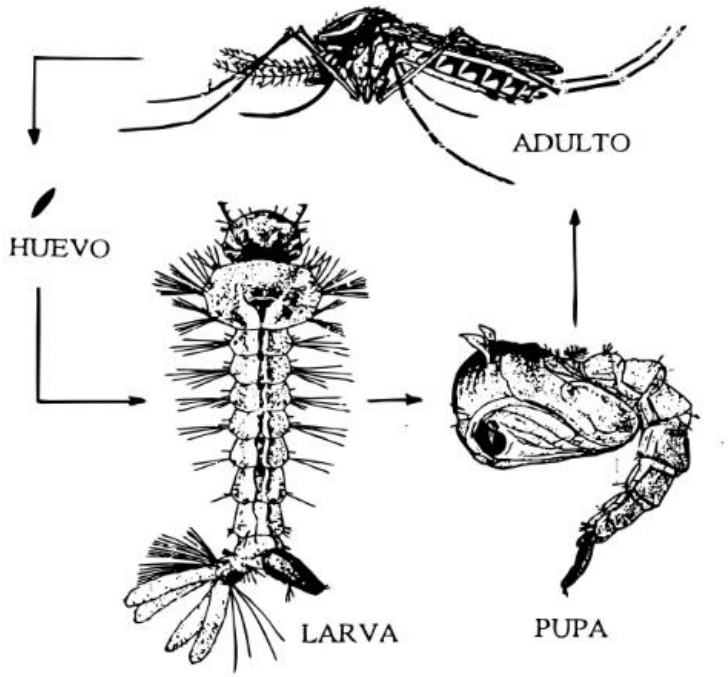



**Figura 6**. Ciclo de vida del *Aedes aegypti* (MSAL, 2016).

### 2.1.3.1 Estadío del huevo

Las hembras, después de alimentarse, pueden poner entre **50 a 150** huevos en una oviposición. Esta especie no pone sus huevos en la superficie del agua, sino por encima de la línea de flotación de recipientes como bebederos, contenedores, hojarasca de los estanques, huecos de árboles y en el interior de los alcorques (Chico *et al*., 2001; MSAL, 2016).

Factores como la calidad del agua, la incidencia de la luz, los huevos existentes, el alimento disponible y la vegetación local son decisivos para seleccionar un lugar de cría favorable (Becker *et al.*, 2010).

Los huevos eclosionan a los **2 a 3 día**s a una temperatura de **27º a 30ºC**, una vez que son liberados por la hembra adulta, sin embargo, en climas más fríos, pueden demorar hasta 7 a 14 días. Los huevos de esta especie, pueden sobrevivir a la **desecación** durante meses o incluso años y siguen siendo viables (Chico *et al*., 2001; Becker *et al.*, 2010).

Cuando se inundan, algunos huevos pueden eclosionar en pocos minutos, mientras que otros del mismo lote pueden requerir una inmersión más prolongada en el agua antes de eclosionar y, en consecuencia, la eclosión puede ser por etapas y extenderse a lo largo de varios días o semanas (Service, 2012).

Otra característica de los huevos, es que pueden entrar en un estado de "diapausa", es decir, no eclosionan hasta que existe algún estímulo ambiental en específico, ya sea un cambio en la duración del día, reducción del contenido de oxígeno del agua o cambio en la temperatura. En las regiones templadas, muchas especies de *Aedes* pasan el invierno en éste estado fisiológico (Becker *et al.*, 2003).

#### 2.1.3.2 Estadío larvario

Tiene cuatro subestadios larvarios, por ende, pasan por cuatro mudas y en todos necesitan agua para desarrollarse. Este proceso está coordinado por las concentraciones relativas y las interacciones de la hormona juvenil y la ecdisona, una hormona de la muda. Se alimentan de levaduras, bacterias, protozoos, invertebrados, detritus, entre otros microorganismos (Vasquez y De Abrego, 2017).

En países tropicales, el desarrollo larvario (desde la eclosión del huevo hasta la pupación) puede ser tan corto como 5-7 días en condiciones óptimas (temperaturas de 25°C a 29°C). En zonas templadas, el periodo larvario puede durar semanas o meses (Chico *et al*., 2001; MSAL, 2016).

El hábitat varía desde grandes acumulaciones de agua permanentes, como pantanos de agua dulce, marismas, arrozales hasta pequeñas acumulaciones de agua temporales, como charcos, zanjas, cisterna sin tapar, macetas y hasta neumáticos (Vasquez y De Abrego, 2017).

En consideración al objetivo del presente estudio, la radicación de larvas es mucho más fácil que la eliminación del mosquito adulto. Dicha susceptibilidad se basa en que es un estadio donde los mosquitos son inmóviles y la aplicación del insecticida en los respectivos hábitats es con mayor precisión (Costa *et al*., 2010; Sugumar *et al*., 2014). Así mismo, para establecer la actividad de diferentes larvicidas y evaluar su eficacia contra diferentes cepas, pueden llevarse a cabo con relativa facilidad en un laboratorio (Becker *et al.*, 2010).

#### 2.1.3.3 Estadío de pupa

Son también acuáticos. No se alimentan y cuando están en reposo, flotan de manera pasiva e inmóvil hacia la superficie del agua, con la punta hidrofóbica de las trompetas sobresaliendo para la respiración y las setas pilosas del primer segmento abdominal en contacto con la superficie. Reaccionan rápidamente a estímulos externos y utilizan sus palas del último segmento para su desplazamiento (MSAL, 2016).

Son relativamente tolerantes a la desecación y los adultos pueden emerger con éxito incluso si las pupas han quedado varadas, o cuando los lugares de cría casi se han secado. En este estadio se producen modificaciones anatómicas y fisiológicas importantes para dar lugar a la última fase del desarrollo (Becker *et al.*, 2010).

En regiones tropicales, el periodo de pupa es de 2-3 días, pero en regiones con mayor frío, el desarrollo pupal puede durar 9-12 días o más (Service, 2012).

#### 2.1.3.4 Estadío adulto

Es la etapa donde surge el apareamiento, poco después de emerger de la pupa. Los espermatozoides entran a la espermateca de la hembra para ser fertilizados y además almacenan suficiente esperma para fertilizar varios lotes de huevos sin necesidad de copular nuevamente (Service, 2012).

#### 2.1.3.4.1 Hembra

Tras la inseminación, la búsqueda de un huésped para obtener su alimentación es la siguiente fase importante en la vida reproductiva de la hembra, es decir, la maduración de los huevos (Becker *et al*., 2010).

Principalmente, la localización del hospedador se basa en estímulos olfativos, visuales y térmicos. Las hembras poseen numerosos receptores antenales que responden a los olores del hospedador. Los principales estímulos olfativos son el dióxido de carbono, el ácido láctico, octenol, acetona, butanona y compuestos fenólicos (Service, 2012; MSAL, 2016).

Por otro lado, los mosquitos responden especialmente a los colores azul, negro y rojo, mientras que la menor atracción la provocan el blanco y el amarillo (Becker *et al.*, 2003).

En su alimentación, parece preferir la sangre humana a la de los animales domésticos. Predominantemente pican durante el día en lugares sombreados y sólo ocasionalmente durante la noche en habitaciones iluminadas, además que suelen descansar en interiores (Chico *et al*., 2001).

#### 2.1.3.4.2 Macho

Éstos no pueden picar, por ende, no transmiten ninguna enfermedad. Se alimentan de néctar de las flores u otras secreciones azucaradas naturales (MSAL, 2016).

La esperanza de vida en los machos es menor al de las hembras. Los primeros viven una semana y las hembras probablemente viven dos semanas, mientras que en los países templados la longevidad de los adultos es probable que sea de 3-4 semanas (Service, 2012).

## 2.2. Aceite esencial

Los aceites esenciales (AEs) son compuestos naturales, volátiles, complejos e insolubles al agua, y forman parte de metabolitos secundarios provenientes de las plantas aromáticas (Usano *et al*., 2014). Desde la antigüedad, estas esencias han presentado propiedades antimicrobianas y medicinales, y en la actualidad ha cobrado importancia comercial en la industria de la cosmética, alimentaria, farmacéutica y entre otros (Bakkali *et al*., 2008).

Estas plantas aromáticas son localizadas generalmente en países de clima templado a cálido y en países tropicales. Pueden ser producidos por diferentes órganos de la planta como tallos, hojas (ej. tomillo, eucalipto, salvia), ramas, flores (ej. jazmín, rosa, lavanda, etc.), frutos (ej. anís, anís estrellado, etc.), corteza (ej. canela), semillas (ej. cardamomo), y raíces (ej. jengibre) (Asbahani *et al.*, 2015).

Son sintetizados y almacenados en células secretoras, cavidades, canales, células epidérmicas o tricomas glandulares (Figura 7). Algunos están situados en la superficie de la planta con secreción exógena (ej. Papilas epidérmicas, tricomas glandulares y los tricomas no glandulares), y otras situadas en el interior de la planta en órganos internos con secreción endógena (ej. Canales secretores, bolsas esquizógenas y células con secreción intracelular) (Usano *et al*., 2014).

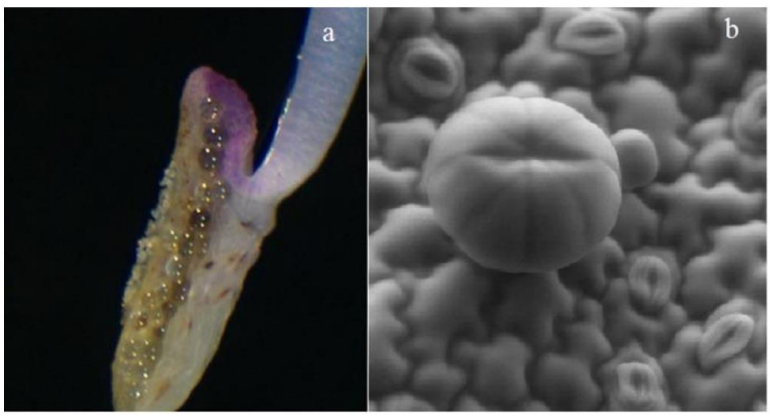



**Figura 7.** Tricomas glandulares de plantas aromáticas en forma de (a) Anteras en *Salvia lavandulifolia*, (b) Cara abaxial de la hoja de *Lavandula angustifolia* con presencia de tricomas (Usano *et al*., 2014).

Son aproximadamente más de 17,000 especímenes de plantas distribuidas por todo el mundo que contienen aceites esenciales y son denominadas como "plantas aromáticas". Se pueden clasificar en un número reducido de familias: Lamiaceae, Lauraceae, Poaceae, Asteraceae, Rutaceae, Myrtaceae, Pinaceae, Verbenaceae y Piperaceae (Bandoni, 2002). Sus rendimientos de extracción varían según las especies y los órganos. Por lo general son muy bajos (en torno al 1%), lo que las convierte en sustancias raras de gran valor (Asbahani *et al*, 2015).

### 2.2.1 Composición química

Los aceites esenciales poseen una amplia variedad en sus componentes y sus respectivas proporciones; existiendo de 2 a 3 compuestos mayoritarios que suelen llegar a ser el 20 a 70% de la esencia, y los minoritarios que están en forma de trazas (Bandoni, 2002; Swamy *et al.*, 2016). Puede abarcar de 20 a 80 sustancias donde tenemos a los terpenos o terpenoides, junto a derivados oxigenados (aldehídos, alcoholes, fenoles, cetonas, ésteres y éteres) y además a compuestos aromáticos (Figura 8) (Burt, 2006; Bakkali *et al*., 2008).

Los *terpenos* son hidrocarburos y se encuentran en mayor cantidad en toda una composición química, están conformados por subunidades de cinco carbonos (5C) denominados "isopreno" que son sintetizados en el citoplasma de célula vegetal por la vía del ácido mevalónico a partir del acetil CoA. Tenemos comúnmente los monoterpenos (10C) y sesquiterpenos (15C), pero también existen los hemiterpenos (5C), diterpenos (20C) y hasta los triterpenos (30C). Como los terpenos más conocidos están: el *p*-cimeno, limoneno, terpineno, timol, germacreno D, sabineno y el pineno (Burt, 2006; Nazzaro *et al*., 2013).

Como derivados oxigenados, también llamados "isoprenoides", están los aldehídos (cinamaldehído, citral), fenoles (eugenol, carvacrol), alcoholes (linalol, alcohol cinámico), derivados metoxílicos (anetol, elemicina, estragol), ésteres (acetato de bornilo, acetato de etilo), y compuestos metilendioxilados (apiole, miristicina, safrol) (Bakkali *et al*., 2008; Nazzaro *et al*., 2013).

Algunos AEs contienen otra clase de moléculas oxigenadas que son los compuestos aromáticos o “fenilpropanoides”, tienen un grupo fenol aromático y una cadena de propeno. Estos compuestos también llamados fenólicos se encuentran en casos especiales y en menor cantidad que los terpenos, por ejemplo, en el clavo y en la corteza de canela (Nazzaro *et al*., 2013; Asbahani *et al.*, 2015).

Los AEs varían continuamente en calidad y cantidad de sus componentes químicos según algunos factores que podemos clasificarlos como intrínsecos y extrínsecos. Dentro de los factores intrínsecos interviene el tipo o especie de planta y las diferentes partes de la misma. Entre los factores extrínsecos están los relacionados al medio ambiente (e.j. época de recolección, ubicación geográfica, clima, suelo, estación, etc.), método de extracción empleado en la planta, además, de las condiciones de almacenamiento de la misma esencia (Reyes *et al*., 2014).

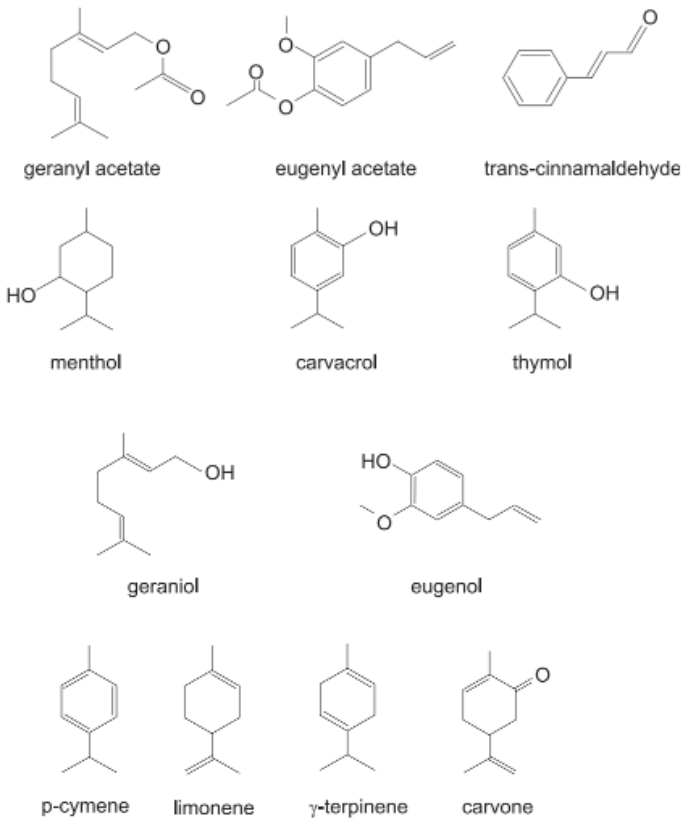



**Figura 8.** Fórmula estructural de algunos componentes de AEs (Burt, 2006).

El análisis detallado de la composición química de un AE se consigue mediante el método de cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC-MS) y la cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) (Reyes *et al*., 2014).

## 2.2.2 Extracción de aceites esenciales

El propósito de los métodos para extraer aceites es generar un cambio en el material sólido para conseguir una separación del conjunto de sustancias de una solución. La elección del método de extracción es en función al tipo de material vegetal a procesar, así que, se debe considerar la localización del aceite esencial dentro de la estructura celular de la planta (Bandoni, 2002). Entre los métodos convencionales para extraer a los aceites esenciales podemos mencionar:

### 2.2.2.1 Hidrodestilación

Es el método más simple y antiguo. El material vegetal es sumergido completamente en el agua para llegar a punto de ebullición. Se realiza en un alambique que posea también un condensador y posteriormente pasa por un proceso de decantación donde se separa el AE del agua (hidrolato). El principio de éste método de extracción se basa en la "destilación azeotrópica". Se recomienda el uso del equipo Clevenger ya que permite el reciclaje de lo condensado mediante la cohobación (Hidalgo y Romero, 2016).

Algunos de los inconvenientes con este método es el tiempo de extracción, que puede durar entre 3h a 6h, hasta 24h y además la presencia de algunos artefactos y alteraciones químicas por el contacto prolongado con el agua hirviendo (ej. hidrólisis, ciclización, etc.) (Asbahani *et al.*, 2015).

### 2.2.2.2 Destilación agua - vapor

También llamado "arrastre por vapor de agua". Este método se realiza dentro del alambique pero existe una separación mediante una rejilla que permite al material vegetal estar suspendido por encima de la base del alambique que contiene agua evitando el contacto directo. Se deja hervir y la extracción se realiza por inyección de vapores de agua que atraviesan el material vegetal de abajo hacia arriba y arrastran los materiales volátiles hasta un condensador donde se enfría pasando a estado líquido, el

aceite puede ser recepcionado por un beaker para posteriormente ser decantado. Una de las ventajas de este método es que no se usan solventes incrementando la pureza del aceite esencial, además que es de bajo costo en la industria (Hidalgo y Romero, 2016).

Un derivado del método anterior es el llamado "destilación por vapor", que tiene el mismo principio y ventajas, pero se diferencia en que se lleva a cabo con vapor seco y sobrecalentado a una presión ligeramente superior a la atmosférica, éste vapor se introduce en la parte inferior del extractor y, por lo tanto, pasa a través del material vegetal continuando el mismo proceso de condensación y decantación (Asbahani *et al.*, 2015).

#### 2.2.2.3 Extracción por solventes

Se realiza con solventes volátiles como la acetona, etanol, hexano o metanol que entran en contacto con el material vegetal (seco y molido) con el fin de solubilizar el aceite, sin embargo, otras sustancias como las grasas pueden ser extraídos, consiguiendo finalmente una esencia con algunos residuos. No se recomienda el uso en la escala industrial, por su alto costo, por la impureza de la esencia y el riesgo de accidentes como incendios o explosiones por algunos solventes. No se recomienda utilizarlos para industrias alimentarias o farmacéuticas (Rodríguez *et al.*, 2012).

#### 2.2.2.4 Enflorado *o Enfleurage*

Es el método que se emplea generalmente para obtener esencias florales, y donde el material vegetal (usualmente flores) entra en contacto con alguna grasa (ej. aceite vegetal) tomando el rol de vehículo extractor. Luego, esta mezcla de aceite y grasa es separada por medios fisicoquímicos. Se usa en rosas, jazmines, azahar, etc. El inconveniente con este método es su alto costo, el bajo rendimiento y la dificultad de obtener la esencia (Rodríguez et al., 2012).

#### 2.2.2.5 Extracción por prensado

Conocido también como "prensado en frío", es utilizado tradicionalmente para extraer los aceites a partir de las cáscaras de cítricos como la naranja, mandarina, limón, lima, etc. Se trata de ejercer presión a las cáscaras de manera mecánica

consiguiendo que los sacos oleosos se rompan y liberen aceites volátiles que se localizan en la parte externa del mesocarpo. Es utilizado en la industria alimentaria y farmacéutica, además como ingredientes aromatizantes o aditivos (Asbahani et al., 2015; Hidalgo y Romero, 2016).

Existen métodos avanzados que reducen el tiempo de extracción, el consumo de energía, el uso de disolventes y las emisiones de CO2. Algunos ejemplos tenemos:

#### 2.2.2.6 Extracción con fluidos supercríticos

Se utilizan fluidos que hayan alcanzado una presión y temperatura crítica. Estos fluidos tienen propiedades como baja viscosidad, alta difusividad y una densidad próxima a la de los líquidos. El dióxido de carbono (CO2) es el disolvente más utilizado para la extracción de aceites esenciales, ya que alcanza fácilmente el punto crítico, no es agresivo para las moléculas termolábiles de la esencia, es químicamente inerte y no tóxico, no es inflamable, está disponible en alta pureza a un costo relativamente bajo, tiene una fácil eliminación de sus trazas del extracto obtenido por simple depresión y su polaridad similar a la del pentano lo hace adecuado para la extracción de compuestos lipofílicos (Rodríguez et al., 2012).

El principio se basa en la reutilización del fluido en varias etapas de compresión/depresión. Al comprimir y calentar, el CO2 alcanza el estado supercrítico. Atraviesa la materia prima vegetal y carga la materia volátil y los extractos vegetales. En la depresión, el extracto es dirigido a unos separadores, donde el CO2 se descomprime gradualmente para separar el extracto obtenido del fluido. El inconveniente para su desarrollo es el elevado costo en los equipos, su mantenimiento y en las instalaciones (Rodríguez *et al.*, 2012; Asbahani *et al.*, 2015).

#### 2.2.2.7 Extracción asistida por microondas (MAE)

Se convirtió en uno de los métodos de extracción de AE más prometedores, ofrece una alta reproducibilidad en tiempos más cortos, una manipulación simplificada, un consumo reducido de disolventes y un menor aporte energético. La innovación de este método condujo al desarrollo de variantes como la hidrodestilación asistida por microondas, la extracción por microondas sin disolventes, la destilación al

vapor acelerada por microondas, la destilación al vapor por microondas y la extracción asistida por microondas portátil (Hidalgo y Romero, 2016).

### 2.2.3 Propiedades de los aceites esenciales

La resaltante variabilidad en los componentes de los AEs permite convertirlo en una herramienta multifuncional, con la capacidad de obstaculizar la viabilidad y/o el crecimiento de patógenos, demostrando tener propiedad antibacteriana, antiparasitarias, antiviral, antifúngico, insecticida, etc. (Stefanakis *et al.*, 2013).

Se ha demostrado que los componentes minoritarios desempeñan un papel fundamental en las propiedades antimicrobianas del aceite esencial, posiblemente al mostrar un ***efecto sinérgico*** entre los demás componentes, y que cada uno de ellos puede presentar diversos sitios dianas y un mecanismo de acción diferente contra los microorganismos (Siddiqui *et al.*, 2016).

La mayoría de los terpenos no poseen una elevada actividad antimicrobiana inherente. El *p*-Cimeno, uno de los componentes más importantes del tomillo, no muestra actividad antibacteriana contra muchos patógenos Gram negativos (Burt, 2006; Nazzaro *et al*., 2013). Otros terpenos, como el limoneno, el α-pineno, el β-pineno, el γ-terpineno y el α-terpineno mostraron una actividad antimicrobiana muy baja o nula contra 25 géneros dentro de las cuales se encontraba: *Enterobacter aerogenes*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* (Dorman y Deans, 2000).

Los fenilpropanos muestran una gama de actividad antibacteriana que depende en su mayoría del anillo aromático en su formulación, induciendo la pérdida progresiva de constituyentes intracelulares de las bacterias tratadas, algunos ejemplares son el timol, cinamaldehído, eugenol y el carvacrol (Siddiqui *et al.*, 2016). Así mismo, se comprobó que dichos componentes obtenidos de plantas aromáticas como *Origanum vulgare*, *Satureja hortensis*, *Thymus mastichina*, *Lippia sidoides,* etc, inhiben eficazmente patógenos transmitidos por los alimentos como *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, *Listeria monocytogenes* y *Vibrio vulnificus* (Swamy *et al.*, 2016).

No existe un mecanismo específico sino una cascada de reacciones que implican a toda la célula bacteriana. Los AEs al ser lipofílicos, atraviesan la pared celular y la membrana citoplasmática con cierta facilidad, alterando estructuralmente las diferentes capas de polisacáridos, ácidos grasos y fosfolípidos, aumentando su permeabilidad y causando un deterioro en la funcionalidad del material genético celular (Stefanakis *et al.*, 2013).

Por otro lado, los AEs de la albahaca, los cítricos, el hinojo, la hierba limón, el orégano, el romero, y el tomillo han mostrado una actividad antifúngica considerable contra una amplia gama de patógenos como la *Candida albicans*, *C. apicola*, *C. tropicalis*, *Aspergillus spp.*, *Saccharomyces cerevisiae*, entre otros (Swamy *et al.*, 2016).

La actividad antiviral de los AEs también ha sido estudiado, varios fenilpropanoides y sesquiterpenos como el eugenol, el transanetol, el □-eudesmol, el □-cariofileno presentes en los aceites esenciales, presentan actividad contra el virus del herpes simple (VHS), y algunas plantas aromáticas como los *Artemisia arborescens*, *Glechon spathulata* y *Glechon marifolia* suprimen fuertemente el VHS-1. Además, se informó que los AEs de *Artemisia douglasiana* y *Eupatorium patens* tienen actividad contra el virus del dengue (Swamy *et al.*, 2016).

### 2.2.4 Actividad insecticida de los aceites esenciales

Existen investigaciones donde se ha verificado la eficacia de los AEs en su actividad biológica como insecticida en diferentes estadios, ya sea larvario o adulto, asimismo como repelentes en los mosquitos del género *Aedes*, *Anopheles* y *Culex* (Andrade *et al.,* 2017). Generalmente ésto se evalúa mediante el protocolo ya estandarizado por la Organización Mundial de la Salud (OMS) tanto en la escala laboratorial como de campo (WHO, 2005).

Dentro de las familias botánicas con aceites esenciales que presentan actividad larvicida y repelente están *Lamiaceae*, *Poaceae*, *Apiaceae*, *Myrtaceae* y *Annonaceae*. Por lo contrario, otras familias que muestran cierta deficiencia en dicha actividad

podrían ser *Alliaceae*, *Pinaceae*, *Rutaceae*, *Lauraceae* y *Pedaliaceae* (Trongtokit *et al.,* 2005; Muñoz *et al.*, 2014).

La repelencia de estos aceites parece estar generalmente asociada con la presencia de uno o más constituyentes monoterpenoides volátiles. Son eficaces cuando se aplican recientemente, sus efectos protectores se disipan relativamente rápido (Trongtokit *et al.,* 2005).

En Colombia se evaluaron ocho aceites esenciales en plantas nativas para determinar su efecto larvicida y adulticida sobre el *Aedes aegypti*. Algunas de las plantas resaltantes fueron *Cymbopogon nardus*, *Cananga odorata*, *Lippia origanoides y Lippia alba*. Los componentes encontrados en la mayoría de las plantas eran terpenos: limoneno, γ-terpineno, linalool y geraniol. Los aceites con mayor actividad larvicida en orden de efectividad fueron *Ca. odorata* (Annonaceae), *Cy. nardus* (Poaeceae) y *L. origanoides* (Verbenaceae), donde el aceite de *Ca. odorata* mostró mejor actividad con una CL50 de 64,9 ppm y una CL99 de 119,8 ppm, seguido de *Cy. nardus*, *L. origanoides* y *L. alba* con CL50 de 106,3 ppm, 88,8 ppm y 110,1 ppm, respectivamente. Cabe mencionar que *Ca. odorata* presentó especificidad en estadios inmaduros y acción ovicida contra el *Aedes aegypti* y una actividad biológica disminuida al ser evaluado en estadios adultos (Muñoz *et al*., 2014).

Coincidentemente, algunos de los terpenos como limoneno, pregeijerene y germacreno D presentes en el aceite esencial de las hojas y tallos de *Chloroxylon swietenia*, tuvieron actividad contra las larvas de *Anopheles stephensi* con una CL50 de 20µg/ml y CL90 de 44µg/ml. Además, en este mismo se demostró que los terpenos tuvieron una mayor respuesta larvicida cuando se usó de manera aislada. Sin embargo, no puede descartarse la acción sinérgica de los otros componentes del aceite (Ravi *et al.*, 2006).

### 2.2.5 Mecanismos de acción

Al igual que sucede con las bacterias, el mecanismo no está completamente definido; una complicación es que el aceite esencial no es una sustancia pura, se basa de una mezcla de distintos compuestos que interactúan y modulan su actividad

biológica. Puede estar direccionado a aquel efecto "neurotóxico" generado en el insecto; los síntomas más destacados son la hiperactividad seguida de hiperexcitación que conduce a un rápido derribo e inmovilización (Rattan, 2010). Entre los mecanismos de acción tenemos: la inhibición de la acetilcolinesterasa (AChE), alteración de la funcionalidad de los receptores del ácido gamma-aminobutírico (GABA), y como agonista del sistema octopaminérgico (Cuadro 1) (Rattan, 2010; Andrade *et al.,* 2017).

**Cuadro 1.** Mecanismo de acción de insecticidas de origen vegetal: los insecticidas botánicos afectan a la fisiología de los insectos de muchas formas diferentes y en varios sitios receptores (Rattan, 2010)

| Sistema | Mecanismo de acción | Compuesto | Origen vegetal |
|---|---|---|---|
| **Sistema colinérgico** | Inhibición AChE | Aceite esencial | *Azadirachtina indica*, *Mentha spp., Lavendula spp.* |
| | Agonista/antagonista de los receptores nicotínicos acetilcolina colinérgico | Nicotina | *Nicotiana spp., Delphinium spp., Haloxylon salicornicum, Stemona japonicum.* |
| **Sistema GABA** | Canal de cloruro activado por GABA | Timol<br>Silfinenos | Thymus vulgaris |
| **Sistema octopaminérgico** | Receptores octopaminérgicos | Aceite esencial | *Cedrus spp., Pinus spp., Citronella spp., Eucalyptus spp.* |
| | Bloquea los receptores de octopamina actuando a través de la cascada de receptores de tiramina | Timol | *Thymus vulgaris* |

Con respecto a la inhibición de la enzima AChE; no se ha encontrado ninguna correlación entre la inhibición *in vivo* de ésta enzima y la toxicidad que caracteriza de los monoterpenos en un estudio realizado con cucarachas. Con los receptores GABA, aún no se puede sacar conclusión ya que tiene una enorme diversidad en la estructura del sitio de unión (Enan, 2005).

El sistema octopaminérgico podría ser el mecanismo más acertado. La octopamina es un neurotransmisor que se encuentra en grandes cantidades en los sistemas nerviosos de los insectos, tiene una influencia moduladora en la interacción nervio-músculo, participa en la regulación de los latidos del corazón en varios insectos. Se propone que además dicho neurotransmisor está integrado en el sistema general de excitación como las funciones de la norepinefrina y la epinefrina en los vertebrados (Enan, 2001).

Dicho lo anterior, se analizó el eugenol, α-terpineol, alcohol cinámico donde se observó un efecto de sinergia en estos componentes y de una efectividad insecticida contra *Periplaneta americana*, *Camponotus pennsylvanicus* y *Blatella germanica*; lo más resaltante fue el incremento de la latidos cardiacos en la cuchara americana con la aplicación tópica de los aceites, y además se observó el bloqueo de los sitios de unión de los receptores de octopamina *in vitro* a concentraciones más bajas de los productos químicos de ensayo como con el eugenol principalmente (Rattan, 2010). Es así, que en este estudio, los efectos conductuales agudos y subletales de éstos compuestos son coherentes con un sitio diana octopaminérgico en insectos (Enan, 2001).

Es importante continuar con los estudios sobre aquellos mecanismos relacionados con las interacciones entre los componentes de los aceites esenciales, también, resaltar las actividades de los mismos componentes de manera individual, ésto con la finalidad de obtener un mecanismo de acción más preciso y exacto que nos permitirá conseguir modelos predictivos basándose en la estructura química del componente y su actividad biológica (Andrade *et al.,* 2017).

## 2.3. *Lantana camara* L.

Conocida en el Perú como “siete colores” o “hierba de la maestranza”, es la especie más extendida del género Lantana y tiene origen en regiones tropicales y subtropicales de América Central y del Sur. Fue introducido hasta Países Bajos, Europa y Gran Bretaña en los años 1600 y posteriormente a África, Asia y etc. (Ghisalberti, 2000; Hung *et al.*, 2021).

Pertenece a las diez malezas más nocivas e invasoras del mundo, abarcando grandes extensiones de pastos, huertos y bosques. Son generalmente cultivadas como plantas ornamentales en parques o jardines. En las regiones donde ha invadido ha provocado la reducción de la diversidad de especies autóctonas y de la productividad agrícola, además de ser tóxico para el humano y los animales por algunas sustancias químicas que ésta planta contiene (Matienzo *et al*., 2003; Hung *et al.*, 2021).

## 2.3.1 Clasificación taxonómica

La identificación se dificulta, ya que existen variedades que difieren en el color de las flores, hábitat y morfología (Inga, 2016).

División: Magnoliophyta
Clase: Magnoliopsida
Orden: Lamiales
Familia: Verbenaceae
Género: *Lantana*
Especie: *Lantana camara* L.

## 2.3.2 Características morfológicas y su uso medicinal

Se trata de un arbusto leñoso y perenne que puede medir de 2 a 5 metros de alto. Posee tallos de cuatro ángulos y ramas que pueden disponer de espinas, hojas ovadas a lanceoladas y aserradas de 2 a 10 cm de longitud y de textura áspera. Tiene flores multicolores que en un inicio podrían ser amarillo y fucsia y después cambiar a rojo y naranja (Figura 9). Los frutos son drupas globulares dulces de color azul o negro dispuestas en racimo. La inflorescencia y los colores de las flores varían con la edad y la madurez (Ghisalberti, 2000; Matienzo *et al*., 2003; Inga, 2016).



**Figura 9.** Muestra representativa de *L. camara* (Elaboración propia).



**Figura 10.** Arbusto de *Lantana camara* ubicado FMV-UNMSM (Elaboración propia).

Diferentes partes de la planta se utilizan en los sistemas de medicina popular y tradicional. La cocción de las hojas de esta planta se utilizaba como agente antitumoral, antibacteriano y antihipertensivo. Además, infusiones preparadas con las hojas y las flores que se tomaban contra la fiebre, la gripe, el asma y el dolor de estómago. Las raíces para el tratamiento de la malaria, el reumatismo. En Perú, el cataplasma de las

hojas se aplica externamente sobre erupciones cutáneas como llagas o eczemas causados por la varicela y sarampión (Dua *et al.*, 2010; Hung *et al.*, 2021).

### 2.3.3 Composición química

Existe gran variedad en los componentes del aceite esencial que puede ser derivado de hojas, flores y tallos. La composición del aceite va depender principalmente de la zona geográfica, método de extracción usado y estación climática; además, la facilidad con la que esta planta se híbrida introduce otras variables que dificultan la definición en sus componentes químicos repercutiendo también en sus diferentes actividades biológicas (Cuadro 2) (Romeu *et al.,* 2004; Benites *et al.*, 2009; Nea *et al.*, 2020).

En aspectos generales, se ha reportado que el **β-cariofileno** es uno de los sesquiterpenos más identificado en todos los componentes principales (6-35%) de aceites esenciales de *Lantana camara* con diferentes orígenes geográficos como en Colombia, Irán, Brasil, Egipto y China (Benites *et al.*, 2009).

Los otros sesquiterpenos que les siguen serían **α-humuleno**, davanona y germacreno D. También se han encontrado algunos monoterpenos en proporciones elevadas, como timol, sabineno, limoneno y α-pineno (Nea *et al.*, 2020).

Sin embargo, en un estudio realizado en Perú, se trabajó con hojas y flores secas y mediante hidrodestilación se colectó el aceite esencial. En la identificación de sus componentes, la **carvona,** era el monoterpeno más abundante y junto con el limoneno conformaron casi el 93% del aceite total, mientras que las trazas eran sabineno, *p*-cimeno, terpineno, β-cariofileno y germacreno D (Benites *et al.*, 2009).

En Cuba, se recolectó aceite mediante hidrodestilación con las hojas secas y trituradas de *Lantana camara* y con GC-MS se demostró que los componentes mayoritario fueron el grupo de sesquiterpenos, entre ellos el γ-cadineno (7,6%), α-humuleno (4,9%) y β-cariofileno (4,8%) y en especial el (E)-nerolidol (43,4%) que podría estar indicando un nuevo quimiotipo (Romeu *et al.,* 2004).

Se puede deducir que son los hidrocarburos sesquiterpénicos los compuestos dominantes en la mayoría de aceites esenciales de hojas, flores, frutos y tallos provenientes de *Lantana camara*, pero ciertas moléculas pueden mostrar fuertes **variaciones estacionales**, como es el caso del **timol**, un monoterpeno oxigenado que no fue detectado en algunos aceites esenciales, pero fue la molécula principal cuando la planta se recolectó en determinados períodos del año (Nea *et al.*, 2020).

**Cuadro 2.** Principales compuestos del AEs en hojas de *L. camara* de algunos países (Nea *et al.*, 2020)

| Habitat | Major Compound(s)/Chemotype | Composition (%) |
|---|---|---|
| North India (Dehra Dun) | (*E*)-β-caryophyllene | 23.3 |
| | α-humulene | 11.5 |
| | germacrene D | 10.9 |
| | davanone | 7.3 |
| Algeria | (*E*)-β-caryophyllene | 26.3–47.1 |
| | caryophyllene oxide | 9.4–18.8 |
| | α-acoradiene | 7.5–15.3 |
| Brazil | germacrene D | 19.8 |
| | (*E*)-β-caryophyllene | 19.7 |
| | bicyclogermacrene | 11.7 |
| | α-humulene | 9.3 |
| Venezuela | germacrene D | 31 |
| | (*E*)-β-caryophyllene | 14.8 |
| South China | germacrene D | 20 |
| | *trans*-caryophyllene | 14.8 |
| Northeast India (Dibrugarh) | cis-davanone | 47.8 |
| | (*E*)-β-caryophyllene | 10.3 |
| Bangladesh | (*E*)-β-caryophyllene | 13.57 |
| | α-caryophyllene | 11.76 |
| | germacrene D | 10.88 |
| | isocaryophyllene | 9.59 |
| | γ-muurolene | 6.85 |
| Benin | sabinene | 38.81 |
| | 1,8-cineole | 28.90 |

## 2.3.4 Actividad larvicida en los mosquitos

A continuación, se presentará estudios que sugieren que la planta *L. camara* actúa como agente insecticida botánico renovable contribuyendo al control del *Ae. aegypti* y otros mosquitos (Hung *et al.*, 2021). La evaluación para corroborar dicha actividad, se realiza según la metodología de la OMS, hallando los valores de la concentración letal para el 50% y el 90% de mortalidad (CL50 y CL90) (WHO, 2005).

El aceite esencial de ésta planta ha mostrado tener actividad larvicida con valores de CL50 de 15,1-29,0 µg/mL, 26,4-53,8 µg/mL y 20,8-59,3 µg/mL contra las especies *Ae. aegypti*, *Ae. albopictus* y *Cx. quinquefasciatus*, respectivamente en 24 horas de exposición. Donde en la composición predominaban los hidrocarburos sesquiterpénicos (ej. β-cariofileno, sabineno, α-humuleno) y germacreno D, lo que podría orientar que éstos son los encargados de la actividad contra las larvas de los mosquitos (Hung *et al.*, 2021).

En otra investigación, se señaló que *L. camara* y *L. montevidensis* tuvieron actividad contra las larvas del 3er estadio de *Ae. aegypti* tras 24 horas de exposición. Calculando los porcentajes de larvas muertas se pudo obtener una CL50 de 42,3 ± 0,85 µg/mL y 117 ± 0,5 µg/mL respectivamente. Teniendo en cuenta que una muestra se considera activa cuando la **CL50 es menos a 1000 µg/mL**, se comprobó ser especies que tienen alto potencial larvicida. Los componentes volátiles de ambas especies revelaron el predominio de sesquiterpenos (ej. biciclogermacreno y β-cariofileno) y algunos terpenoides (Costa *et al.*, 2010).

Se ha informado que algunos de los componentes ya mencionados del aceite de *L. camara* como el β-cariofileno, también fueron aislados en la planta *Thymus capitatus* y demostró tener una buena actividad adulticida contra *Culex. pipiens*. Además, el aceite esencial de *Ocimum americanum* y *O. ratissium* contiene cariofileno como constituyente principal y posee actividad larvicida contra *Ae. aegypti*. Así también, se ha señalado que el farnesol como el germacreno-D tienen actividad pesticida en los mosquitos (Cavalcanti *et al.*, 2004; Dua *et al.*, 2010).

La actividad larvicida de los AEs también se podría relacionar con la presencia de compuestos activos, como terpenos y fenilpropanos que podrían ser neurotóxicos o reguladores en el crecimiento de los insectos. Según las evidencias, los sesquiterpenos son más eficaces que los monoterpenos, ya que esta mezcla compleja podría dificultar el crecimiento y la supervivencia de los insectos (Sonter *et al*., 2024).

## 2.4 Nanoemulsiones

Forma parte de un sistema controlado de liberación que brinda protección a principios activos formando un tipo de red polimérica alrededor, permitiendo que sean expulsados progresivamente y de manera focalizada. Este sistema contribuye a compensar aquellas desventajas de componentes lipofílicos funcionales como los aceites esenciales de la oxidación, volatilidad y fotosensibilidad (Ostertag *et al.,* 2012; Lugo, 2018).

En general, las emulsiones son dispersiones compuesta por dos líquidos inmiscibles, como el agua y aceite. Posee además un agente tensioactivo, que disminuye la tensión interfacial entre éstos dos líquidos, mejorando la estabilidad del sistema (Calderón, 2015; Echevarría y Duarte, 2019)

Una nanoemulsión (NE) presenta 2 fases: La **dispersa** (también llamada discontinua), conformado por gotas de tamaño nanométrico que están dentro y distribuidas en una fase **dispersante** (también llamada continua); cabe resaltar que éstas gotas están rodeadas por una capa fina del componente **tensioactivo.** Según la naturaleza, si la fase dispersa es aceite, se dice que son nanoemulsiones "aceite en agua" (*oil-in-water*, o/w), y si la fase dispersa es agua, se trata de nanoemulsiones "agua en aceite" (*water-in-oil*, w/o) (Figura 11) (Calderón, 2015; Lugo, 2018).

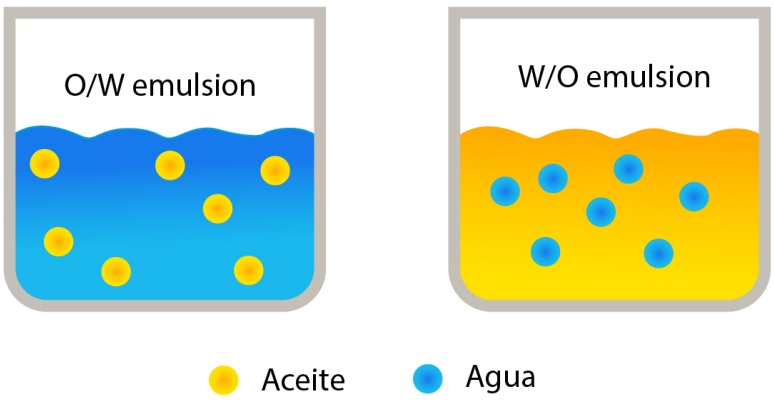



**Figura 11**. Tipos de emulsiones (Calderón, 2015)

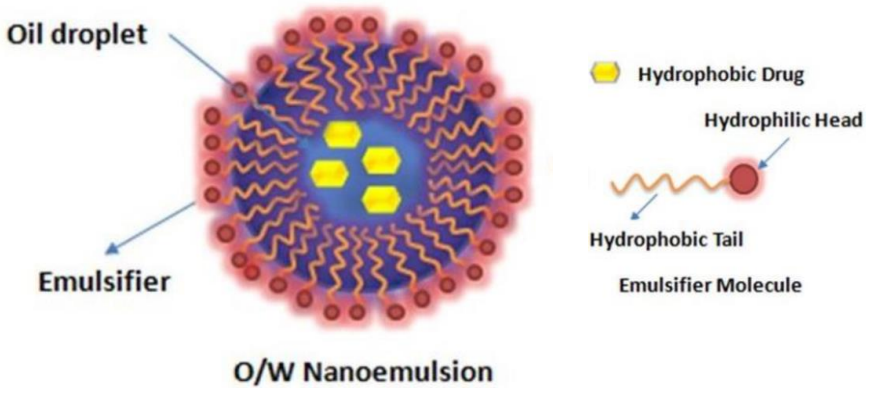



**Figura 12.** Estructura de una nanoemulsión (Lugo, 2018).

## 2.4.1 Surfactante

Conocido también como tensioactivo o emulsionante, es una sustancia química que posee doble afinidad, es decir, está estructurado por una parte hidrofílica (polar) y otra parte lipofílica (apolar). Tiene la capacidad de adsorberse entre las interfases asociándose de manera orientada y disminuyendo su tensión, además que contribuye a minimizar el efecto de coalescencia (Figura 13) (Gómez, 2014). Es por ende que el tipo de surfactante y su proporción es un parámetro fundamental en la formación y estabilización de nanoemulsiones; y según su estructura química, lo podemos clasificar en: aniónicos, catiónicos, no iónicos y otros (anfóteros, poliméricos, siliconados y fluorados) (Calderón, 2015).

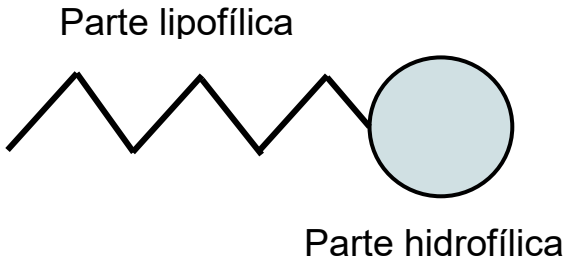



**Figura 13**. Estructura de un surfactante (Elaboración propia)

Para el presente trabajo, nos enfocaremos a mayor detalle en los surfactantes **no iónicos**. En este grupo están los que no se ionizan en una solución acuosa y son compatibles para formar mezclas complejas con otros surfactantes, sin embargo pueden perder su propiedad hidrofílica cuando aumenta la temperatura (Gómez, 2014). Éstos surfactante tienen grupos de óxido de etileno y pueden estar asociados a monoacilgliceroles, ésteres de ácidos grasos, alcoholes grasos etoxilados, ésteres de sorbitan etoxilados (Moreno, 2013).

Los surfactantes tipo Tween están formados por una cabeza de polioxietileno y una cola de ácido graso de distintas longitudes (Ej. Ácido oleico o ác. láurico), ambas moléculas están unidas por un sorbitol. Presentan una mínima toxicidad por lo que son empleados en la industria alimentaria y farmacéutica (Ostertag *et al.,* 2012).

El balance hidrofílico-lipofílico (HLB) se basa en atribuir un valor a la afinidad del surfactante, es decir, que basado en su naturaleza y propiedades como agente tensioactivo, nos indicaría aquel grado en el que es hidrofílico o lipofílico; esto fue determinado por Griffin en 1970. Estos valores también nos orientan a aplicar el surfactante adecuado de acuerdo al tipo de emulsión (Figura 14) (Moreno, 2013; Gómez, 2014).

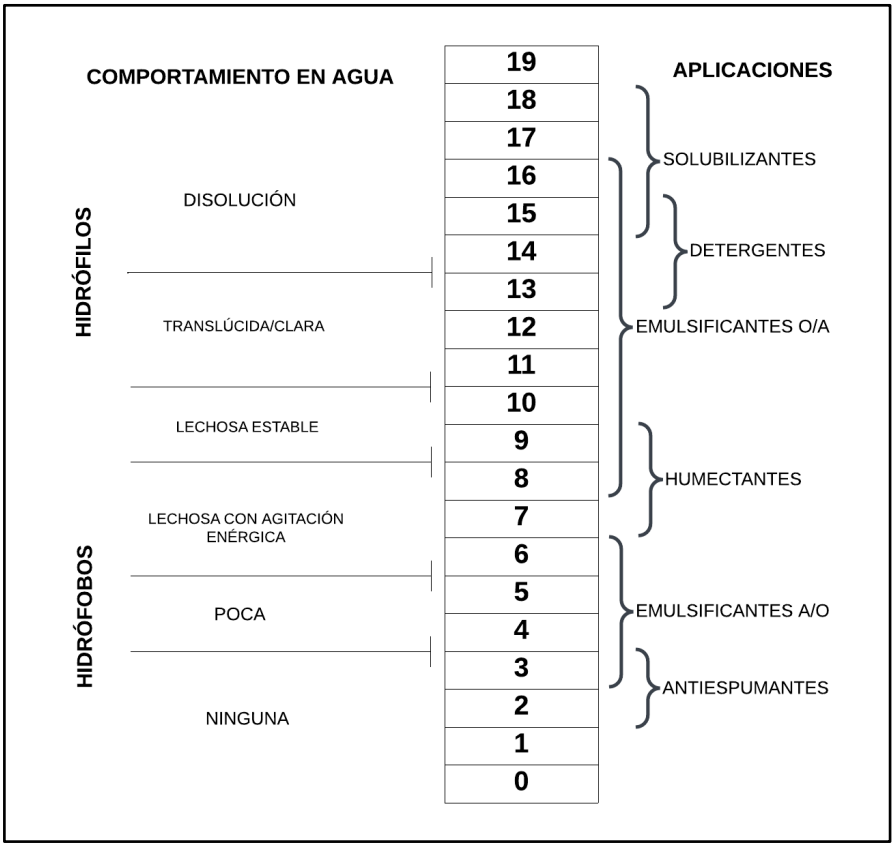



**Figura 14.** Clasificación de los surfactantes según su valor de HLB (Gómez, 2014).

## 2.4.2 Propiedades y caracterización de una nanoemulsión

Tienen un tamaño de 20 a 200 nm. Poseen una transparencia óptica, pero pueden tornarse ligeramente a un color blanquecino. Son cinéticamente estables y podrían ser o no viscosos, dependiendo de la proporción de la fase dispersa. Debido al tamaño nanométrico de la gota, requieren menos cantidad de surfactante (5 al 10%) para optimizar su estabilidad (Figura 15) (Solans *et al*., 2005).



**Figura 15.** Diferencia entre una nanoemulsión (izquierda) y macroemulsión (derecha) debido al tamaño de sus partículas respectivas (Solans *et al*., 2005).

Tienen mayor resistencia a los efectos de sedimentación y cremación, siendo sólo la "maduración de Ostwald" el principal mecanismo de desestabilización de las nanoemulsiones, que se trata de la formación de gotas más grandes a costa de las más pequeñas por la diferencia de solubilidad entre éstas (Solans *et al*., 2005; Calderón, 2015).

Para estar frente a una óptima formulación, en **la caracterización** de una nanoemulsión debemos de considerar lo siguiente: Tamaño de partícula, potencial Z, índice de polidispersión (IPD), viscosidad y estabilidad (Moreno, 2013).

La técnica de dispersión de luz dinámica (**DLS**), es muy utilizada para estudiar procesos de desestabilización de partículas y la medición de diámetros de gotas en tamaño nanométrico. Dicha técnica también es conocida como "**espectroscopia de correlación de fotones**" y podemos determinar el tamaño de la gota, la polidispersidad y el potencial z (Lugo, 2018).

Es importante saber que las propiedades de una nanoemulsión dependen tanto de su **formulación** como del **método de preparación** empleado. Dentro de la formulación debemos tener en cuenta lo siguiente: Variable de composición, que son

las proporciones del aceite, agua y surfactante; y las variables físico-químicas, que involucra a la temperatura, presión y así como la naturaleza de los componentes (Gómez, 2014).

## 2.4.3 Métodos de preparación

Al ser un sistema en desequilibrio termodinámico, su formación no es espontánea, por tanto, es necesario un aporte de energía, que se podría obtener de dispositivos mecánicos o del potencial químico en componentes (Solans *et al*., 2005). Se pueden clasificar en:

### 2.4.3.1 Baja energía

Son los **métodos de condensación**, implican la formación "espontánea" de finas gotas por las transiciones de fases cuando existe una alteración fisicoquímica, como en su composición y/o entorno, que tienen lugar durante el proceso de emulsificación (Ostertag *et al.,* 2012).

Entre los métodos más utilizados tenemos: Temperatura de inversión de fase **(PIT)** que es el más utilizado en la industria y se basa en que una nanoemulsión w/o se convierte en o/w, o viceversa, por un aumento o disminución en la temperatura, así mismo, el surfactante posee la misma afinidad para ambas fases (Moreno, 2013; Gómez, 2014).

Por otro lado está el método Composición de inversión de fase **(PIC)**, donde la nanoemulsión w/o se convierte en o/w por el adicional de agua en el sistema, es decir, existe una dilución en la fase dispersante sin realizar una fuerte agitación y a una temperatura constante (Moreno, 2013; Gómez, 2014).

### 2.4.3.2 Alta energía

Abarca a los **métodos de dispersión,** donde se requieren dispositivos mecánicos especializados capaces de generar intensas fuerzas mecánicas disruptivas. Aquella energía del dispositivo, con el menor tiempo y el flujo más homogéneo es lo produce los tamaños más pequeños de gotas. Entre los equipos más eficaces tenemos a los homogeneizadores de alta presión, mezcladores de alto cizallamiento, molinos

coloidales, generadores de ultrasonidos y microfluidizadores (Solans *et al*., 2005; Ostertag *et al.,* 2012).

Los homogeneizadores de alta presión son las máquinas emulsionadoras más utilizadas para preparar nanoemulsiones, tienen un rango de presiones de entre 50 y 100 MPa. La emulsificación ultrasónica, es también muy eficaz para reducir el tamaño de las gotas, pero sólo es apropiada para lotes pequeños (Solans *et al*., 2005). Estudios han demostrado que para el método de alta energía se necesita mucho menos tensioactivo que el método de baja energía (Ostertag *et al.,* 2012).

### 2.4.4 Nanoemulsiones de AEs y su actividad larvicida

Las nanoemulsiones tienen diversas aplicaciones en varios campos como el farmacéutico, el cosmético, el agrícola, de alimentos, etc. En el escenario actual, nos centraremos en el desarrollo de nanoemulsiones como portadores de aceites esenciales con una eficiente actividad insecticida en larvas de mosquitos, en especial del *Ae. aegypti* (Echevarría y Duarte, 2019)

Por ejemplo, ha sido reportado que larvas de *Culex quinquefasciatus* tratadas con nanoemulsiones a base de AE de eucalipto (*Eucalyptus globulus*), mostraron una mortalidad del 98% a las 4 horas de exposición a una concentración 250 ppm, así como una reducción significativa de los niveles de acetilcolinesterasa y fosfatasa ácida/básica. De este modo, éstas nanoemulsiones desarrolladas pueden utilizarse como una alternativa segura y óptima en el control de filariasis transmitida por vectores (Sugumar *et al.*, 2014).

Existe una diferencia en el dinamismo con la nanoemulsión del AE de Romero (*Rosmarinus officinalis*). Evaluando su actividad contra larvas del 4to estadio de *Ae. aegypti*; se demostró que a 48 horas de exposición se obtuvo una mortalidad de casi el 95% a una concentración de 250 ppm (Duarte *et al.,* 2015). Sin embargo, el aceite de la misma planta no emulsionado mostró una mortalidad del 95% a una concentración de 404 ppm, denotando una mayor acción larvicida con la forma de nanoemulsión (Prajapati *et al.,* 2005).

Por otro lado, ya ha sido demostrado que tanto el extracto como el aceite esencial de *Lantana camara* tiene actividad insecticida contra distintos tipos de vectores. Siendo así, Udappusamy et al. (2022) sometió nanoemulsiones cargados con el aceite esencial de dicha planta y resultó siendo efectivo contra estadios inmaduros (larva y pupa) y adulto del *Ae aegypti* en condiciones de laboratorio. Se obtuvo que la CL50 en estadios larvarios fue de **18,183** ppm (larva I), **23,337** ppm (larva II), **29,731** ppm (larva III), **38,943** ppm (larva IV) y en las pupas fue de **45,295** ppm. En los adultos, la DL50 y DL90 fue de 11.947 mg/cm2 y 47.716 mg/cm2 respectivamente. Además, se notificó que los niveles de AChE y fosfatasa alcalina disminuyeron en un 50% en comparación al grupo control, revelando la eficacia de ésta nanoemulsión para tratar a las larvas (Udappusamy *et al*., 2022).

Los estudios mencionados sugieren que el uso de nanoemulsiones de aceites esenciales, en especial de *Lantana camara*, tiene un papel prometedor en el futuro, especialmente en la gestión de vectores. Y en vista a la resistencia de insecticidas sintéticos, es recomendable optar por éstas alternativas naturales, que son considerablemente más respetuosas con el medio ambiente (Echevarría y Duarte, 2019).

# III. Materiales y métodos

## 3.1 Lugar de ejecución y periodo de duración

La **recolección** de *Lantana camara* se realizó en el campus de la Facultad de Medicina Veterinaria, de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos (FMV - UNMSM), ubicado en el distrito de San Borja, departamento de Lima.

La **extracción del aceite esencial** y la formación de su respectiva **nanoemulsión** se desarrollaron en el Laboratorio de Bioquímica, Nutrición y Alimentación Animal (LBNAA) de la FMV - UNMSM.

Para la determinación de los **componentes químicos** del aceite esencial se realizó en el Laboratorio de la Unidad de Investigación en Productos Naturales de la Universidad Peruana Cayetano Heredia (UPCH).

La ejecución de la actividad larvicida fue en el Laboratorio “Insectario 1” del **área de Entomología Médica** en el Instituto de Medicina Tropical "Daniel Alcides Carrión" de la UNMSM.

El presente trabajo fue realizado durante el mes de Abril a Diciembre del 2024.

## 3.2 Descripción del material experimental

### 3.2.1 Material vegetal

Se colectó, durante los meses de Abril a Junio del 2024, un aproximado de 2.5 kg de *Lantana camara* entre hojas y flores frescas, excluyendo los frutos y ramas residuales. Posteriormente, una pequeña porción de la muestra se utilizó para la identificación taxonómica en el Museo de Historia Natural de la UNMSM.

### 3.2.2 Material biológico

Fueron larvas (de 3° y 4° estadio) del *Aedes aegypti* cepa Rockefeller obtenidos en el Instituto de Medicina Tropical "Daniel Alcides Carrión" de la UNMSM. Dicha población no ha sido sometida a ninguna prueba experimental anteriormente (Figura 16).

En este estadio, donde son netamente acuáticos, se mantuvieron en recipientes con **agua declorada** (50 ml) y fueron alimentadas con **levadura de cerveza** en tableta que contiene *Saccharomyces cerevisiae* (Figura 17). Las condiciones del laboratorio consistían en una temperatura ambiental de 27 ± 1°C, una humedad relativa (HR) de 75 ± 5% y además un fotoperiodo de 12 horas de luz seguido de 12 horas de oscuridad (12L:12O) (Figura 18).



**Figura 16.** Ambiente del laboratorio “Insectario 1”



**Figura 17.** Distribución de los taper por concentraciones y repeticiones




**Figura 18.** Condiciones de laboratorio

## 3.2.3 Materiales de laboratorio

Frasco ámbar de vidrio 5 mL, pera o embudo de decantación de 500 mL, vasos precipitados 250 mL, pipetas 10 mL. Para el ensayo larvicida también se utilizó tapers redondos de 6 y 8 oz, mallas, goteros de 3 mL. Y entre otros materiales utilizamos:

-De campo: tijera de podar, bolsas colectoras de desecho, guantes de seguridad, uniforme de trabajo.

-De escritorio: Lapiceros, marcadores para vidrio, hojas bond, libreta de notas, etc.

-Fósforos o encendedor, cinta aislante.

### 3.2.4 Equipos

- Destilador de acero inoxidable con alambique de 3 kg de capacidad (diseñado según condiciones de laboratorio).
- Cromatógrafo de gases marca Agilent Technologies 7890 con detector espectrómetro de masas Agilent Technologies 5975C.
- Homogeneizador ULTRA-TURRAX® marca IKA T25.
- Zetasizer Nano marca Malvern para la técnica DLS
- Agitador magnético marca DLAB MS-H380-Pro 1500 rpm.
- Microscopio óptico marca Leica DM500.
- Estereoscopio binocular marca Premiere®
- Refrigeradora marca Electrolux IB54B.
- Balanza analítica marca Adam Equipment modelo NBL 214e.
- Vortex marca IKA.
- Micropipeta 100, 1000 µl marca IKA
- Estufa Termo Radiador marca Miray TRM-1105D
- Humidificador Acuario Verde DEM-F329
- Computadora marca DELL.

### 3.2.5 Reactivos

- Sulfato de sodio anhidro (Na2SO4)
- Polisorbato 80 de Omnichem SAC
- Agua ultrapura marca Himedia
- Agua declorada
- Agua destilada
- Etanol 96°
- Levadura de cerveza laboratorio Sherfarma

## 3.3 Diseño experimental

El flujograma y resumen del diseño experimental se muestra en el **Anexo 1 y Anexo 2** respectivamente, y se detalla a continuación:

### 3.3.1 Extracción del aceite esencial

Una vez separado manualmente las hojas y flores de *L. camara*, se colocó al equipo de destilación que ha sido previamente condicionado teniendo en cuenta la capacidad de volumen de agua del tanque y sus conexiones de entrada y salida (Figura 21).

El AE se obtuvo por el método "Arrastre por vapor de agua". En el equipo de destilación, existe una separación por una rejilla que permite al material vegetal estar suspendido por encima de la base del alambique para así evitar el contacto directo con el agua (Figura 22). Al dejar hervir, la inyección de vapores generados por la ebullición del agua atraviesan al material vegetal de abajo hacia arriba y arrastran los compuestos volátiles hacia el condensador donde se enfrían y pasan a estado líquido; el resultado fue recepcionado en un beaker para posteriormente ser decantado. El tiempo de destilación fue de tres horas (Figura 23).

El producto destilado fue vertido a una pera de bromo para la decantación, se dejó reposar por 10 a 20 minutos y cuando se apreció la separación de fases (hidrolato y aceite esencial), se procedió a la apertura de la llave para la eliminación del hidrolato, conservando a su vez al aceite sobrenadante para colocarlo minuciosamente en un frasco ámbar. Posteriormente el aceite se deshidrató con Na2SO4 al 1% y se almacenó a una temperatura de 4ºC (Hidalgo y Romero, 2016).

Cabe mencionar que la planta se pesó previamente al experimento para conocer su rendimiento con la fórmula de a continuación:

$$\%\, RENDIMIENTO = \frac{Peso\ del\ AE\ (gramos)}{Peso\ del\ material\ vegetal\ (gramos)}\ x\ 100$$

### 3.3.2 Identificación de la composición química del aceite esencial

Se realizó por el método de Cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (CG-EM) que permitió determinar las proporciones y examinar los compuestos trazas con un alto grado de efectividad. Se tomó 20 µL de la muestra y se diluyó en 1 mL de diclorometano. Se inyectó 1 µL de la solución al equipo Cromatógrafo de gases Agilent Technologies 7890 con detector espectrómetro de masas Agilent Technologies 5975C. La temperatura empezó en 40 °C y sube a 5 °C/min hasta 180 °C, 2.5 °C/min hasta 200 °C por 2 minutos y finalmente 25 °C/min hasta 300 °C hasta 5 minutos. El tiempo de corrida fue de 47 min.

### 3.3.3 Preparación de la nanoemulsión

La nanoemulsión (O/W) se realizó por el método de "alta energía", como lo planteó Ostertag *et al.* (2012) y Calderón (2015) con algunas modificaciones de acuerdo a las condiciones del laboratorio. Se realizaron las respectivas mezclas para las concentraciones de **600, 800, 1000, 1200, 1400 ppm**. Y la proporción del surfactante y aceite (SOR) que se empleó fue 2:1 para todos los casos. Las preparaciones se detallan a continuación:

Inicialmente, se realizó una pre-mezcla con el surfactante Tween 80 y del AE de *L. camara* durante 30 min a 750 rpm mediante un *agitador magnético*, conformando de esta manera la **fase oleosa** (p/p) Luego, la **fase acuosa** compuesto por agua ultrapura (ml) fue añadida a la fase oleosa (p/v) bajo agitación continua durante unos 30 minutos a 750 rpm. Después, toda la mezcla pasó por una *homogeneización de alta presión* con el ULTRA-TURRAX® a 15000 rpm durante 5 minutos (bajo una chaqueta de agua helada y hielo). Se trabajó con éste equipo por su rendimiento y gran rango de velocidades circunferenciales para la elaboración de la nanoemulsión.

Finalmente, las NEs se mantuvieron en frascos de vidrio color ámbar y previamente rotulados se refrigeraron a una temperatura de 4ºC hasta la evaluación de su actividad larvicida.

### 3.3.4 Caracterización de la nanoemulsión

Para este procedimiento, se tuvo acceso a la Facultad de Ciencias Farmacéuticas de Ribeirão Preto de la Universidad de São Paulo - Brasil. La caracterización se llevó a cabo por la técnica de **Dispersión de luz dinámic**a con el **equipo Zetasizer Nano marca Malvern** que nos determinó el tamaño de partícula así como el IPD principalmente.

### 3.3.5 Actividad de la nanoemulsión hacia las larvas del *Ae. aegypti*

La evaluación experimental de la actividad larvicida de la nanoemulsión del aceite esencial de *L. camara* se realizó según el protocolo de la Organización Mundial de la Salud (OMS, 2005), con algunas modificaciones. Se trabajó con cinco concentraciones (**600, 800, 1000, 1200, 1400 ppm**) realizando cuatro repeticiones por cada concentración, con la designación de tapers con cada una de ellas y para un mejor manejo.

En cada taper hubo 50 ml de la respectiva concentración de la nanoemulsión. Y la distribución de las larvas fue de manera aleatoria con una repartición de 20 larvas por taper.

Para el grupo "blanco" se utilizó Agua ultrapura con Tween 80, y el grupo "control positivo" se basó en el insecticida comercial Temephos al 0.03 ppm. El alimento para todas las larvas del experimento consistió en pequeñas porciones de levadura de cerveza y por cada bioensayo fueron necesarias **560 larvas.**

El tiempo de exposición fue de 24 a 48 horas. Para determinar la mortalidad de las larvas se consideró a todas aquellas que no alcanzaron la superficie y mostraban inmovilidad al realizar una "estimulación" al ser tocadas con un puntero romo.

Esta parte del experimento fue realizado en 3 oportunidades con fechas distintas, empleando en total **1680** larvas**.**

## 3.4 Análisis de información

Todos los datos fueron agrupados para su análisis y así determinar los valores de concentración letal para el 50% y el 90% de mortalidad (CL50 y CL90) empleando método Probit-Log con un intervalo de confianza del 95% (WHO, 2005) y el software SPSS STATISTICS 25.

# IV. Resultados

## 4.1 Material vegetal

El rendimiento de las hojas, flores y tallos de *Lantana camara* se muestra en el **Cuadro 3** y la constancia de su clasificación taxonómica se puede apreciar en el **Anexo 3**.

**Cuadro 3**. Porcentaje de rendimiento[1] del aceite *L. camara*

| [2]MUESTRA | PESO AE (g) | PESO HOJAS (g) | *R | %R |
|---|---|---|---|---|
| **LANTANA** | 1.37 | 2735.5 | 0.0005 | 0.05±0.02 |

*R=rendimiento
[1] valores se dan como media a ± desviación estándar (n=3). [2] Especies en estudio.

## 4.2 Composición química

El aspecto del aceite de *L. camara* era de color amarillo ámbar, aromático y fluido (Figura 19). En su composición química nos mostró que en total presenta 44 componentes (**Anexo 4**). Los mayoritarios (>5.0%) se encuentran el β-Cariofileno (20.05%), el Germacreno D (12.25%), α-Cariofileno (11.93%) y Biciclogermacreno (6.53%). Por otro lado, entre los componentes minoritarios (<5.0%) figuran el γ-Terpineno (4.65%), el β-Cimeno (4.63%), β-Elemeno (4.40%), Ciclofencheno (2.52%), entre otros. Mientras que los componentes como Terpinoleno (0.48%), α-

Felandreno (0.48%) β-Selineno (0.47%), Fitol (0.28%) están presentados como trazas (<0.5%) (**Anexo 5**).



**Figura 19.** AE de *Lantana camara*

## 4.3 Caracterización de la nanoemulsión

El aspecto de la pre-emulsión es levemente traslúcido de color blanquecino (Fig. 20) y una vez homogeneizado con alta energía se torna con mayor transparencia óptica (Fig. 28). El tamaño de partícula fue de 152.0 nm con un IPD < 0.3, indicando que es una muestra óptima (**Anexo 6**).



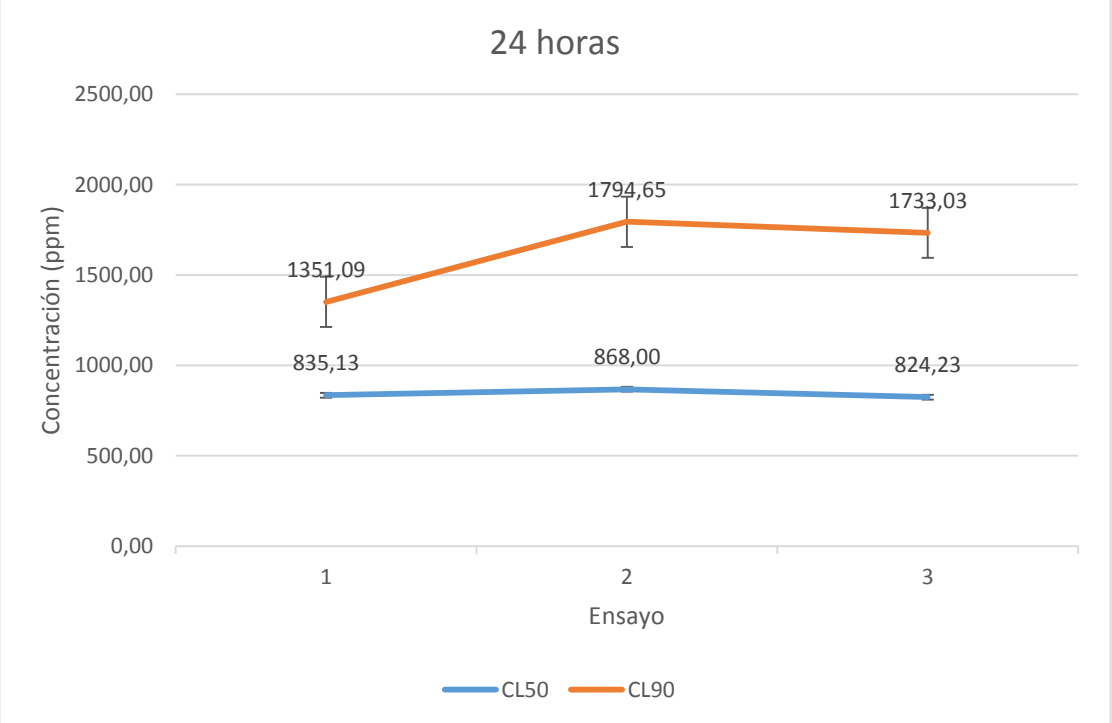

**Figura 20.** Pre-emulsión después del agitador magnético

## 4.4 Bioensayos

Los resultados del efecto de la nanoemulsión del aceite de *L. camara* frente a las larvas de *Ae. aegypti* (cepa Rockefeller) son presentados por ensayo y el tiempo de exposición de 24 horas y 48 horas. Así mismo, la CL50 y CL90 se detallan a continuación:

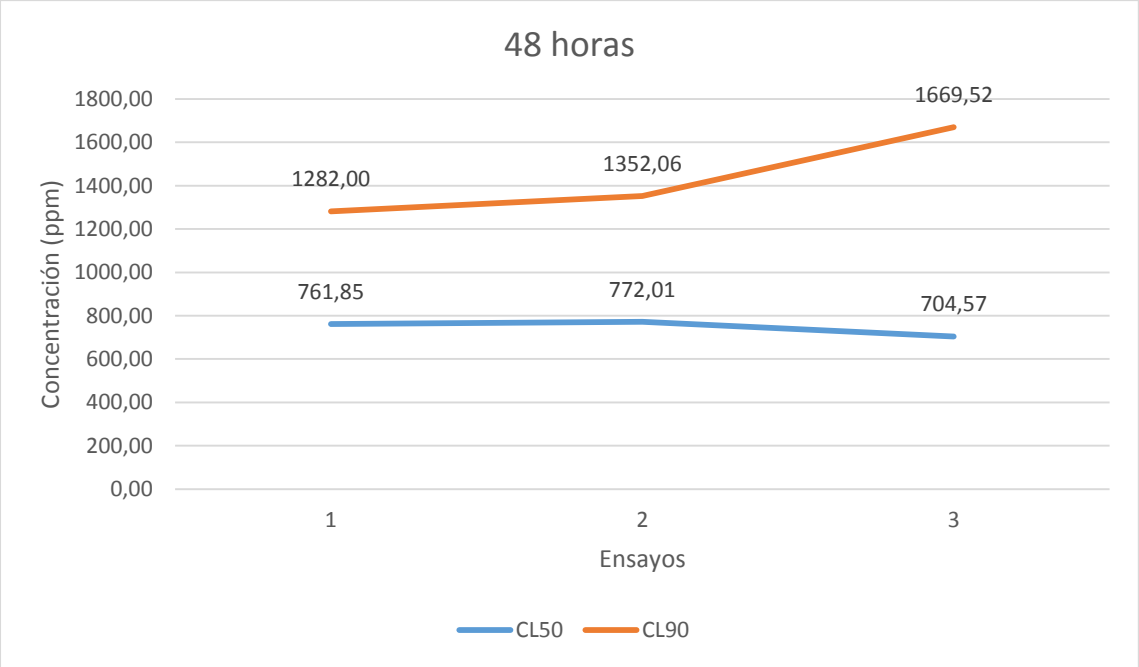
Transcurridas las **24 horas** de exposición, con un intervalo de confianza al 95%, las CL50 muestran similitud entre ellas por cada bioensayo, formando una línea casi recta. Sin embargo, con los valores de la CL90 sugieren cierta diferencia entre 1º bioensayo con el 2º y 3º bioensayo (**Figura 21**).

**Figura 21.** CL50 y CL90 de la nanoemulsión de aceite esencial de *L. camara* en larvas del 3° y 4° estadio de *Aedes aegypti* en 24 horas por bioensayo



A las **48 horas** de exposición, con un intervalo de confianza al 95%, la CL50 y CL90 en el 1º y 2º bioensayo, presentan similitud entre éstas, pero una mínima diferencia comparándolas con el 3º bioensayo. Los valores de CL50 y CL 90 tienen un aumento en el 3º bioensayo (**Figura 22**).

**Figura 22.** CL50 y CL90 de la nanoemulsión de aceite esencial de *L. camara* en larvas del 3° y 4°estadio de *Aedes aegypti* en 48 horas por bioensayo



Se observa que el efecto de la nanoemulsión del aceite esencial es dependiente del tiempo, tras 48 horas de exposición, los valores de CL50 y CL90 disminuyen en comparación de las primeras 24 horas, la cual guarda relación con una acción prolongada del bioactivo (**Figura 23 y 24**).

**Figura 23.** Promedio de la CL50 y CL 90 tras 24 horas de exposición

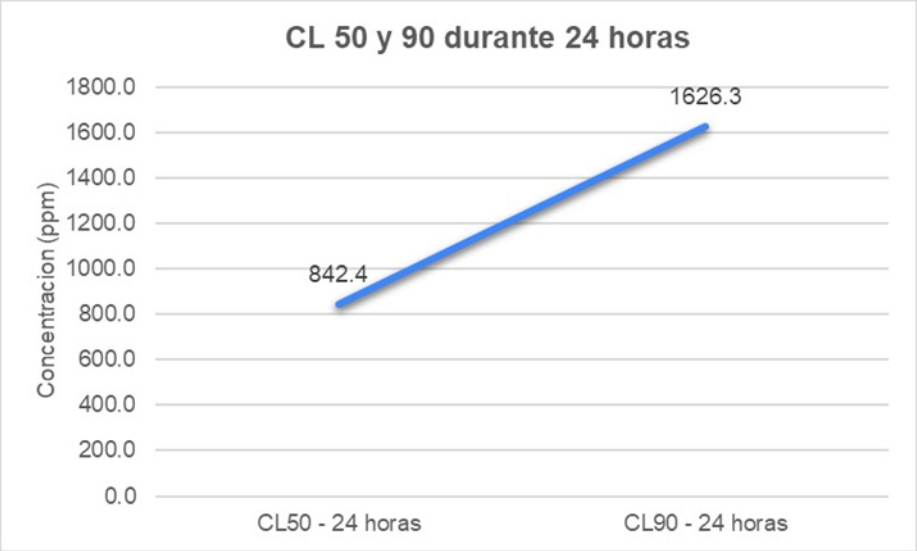
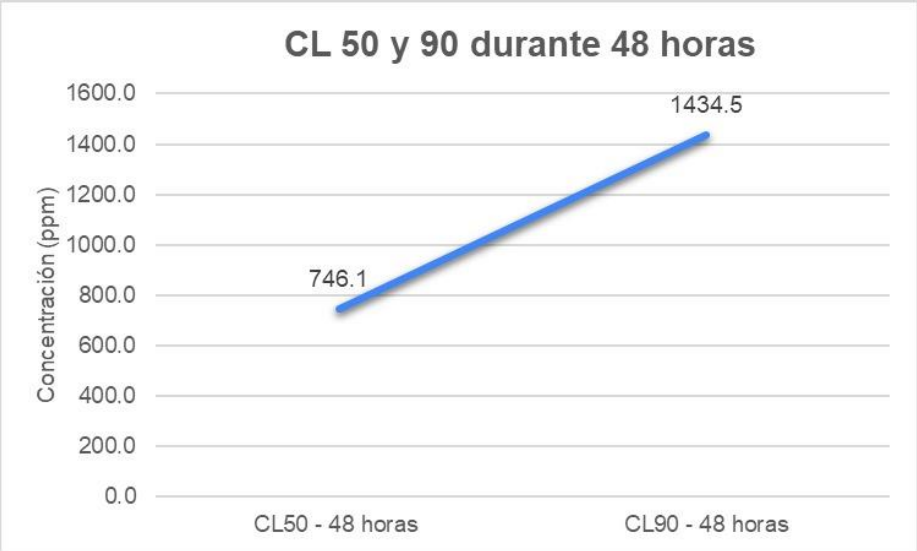
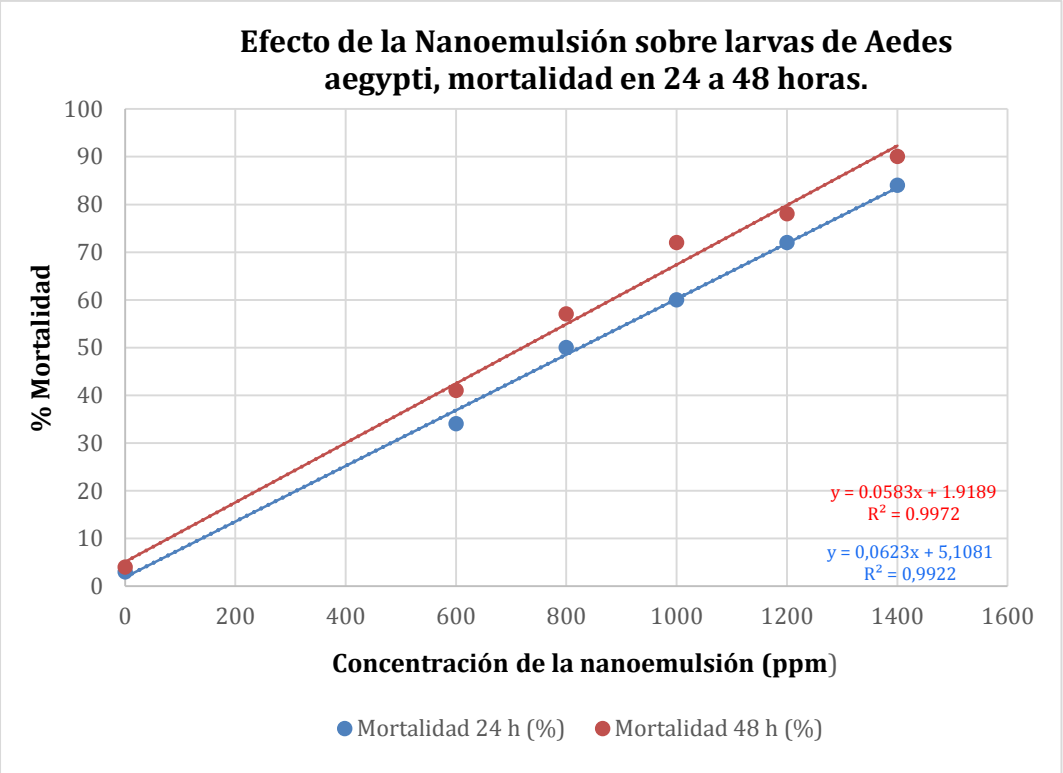



**Figura 24.** Promedio de la CL50 y CL 90 tras 48 horas de exposición



El porcentaje de mortalidad del experimento por cada concentración en las 24 y 48 horas se aprecia en la **Figura 25**, donde a una concentración de 1000 ppm hay una mortalidad mayor al 50% en las 24 y 48 horas. Además, que a la concentración de 1400 ppm se alcanzó el 90% de mortalidad. El conteo de la mortalidad en el laboratorio se plasmó en una hoja de registro que figura en el **Anexo 7**.

**Figura 25.** Porcentaje (%) de mortalidad por cada concentración a las 24 y 48 horas de exposición




Existe una relación directamente proporcional entre la concentración de la nanoemulsión y la mortalidad de las larvas. A mayor tiempo de exposición, aumenta la eficacia, inclusive a las mismas concentraciones

# V. Discusión

Según la clasificación del organismo de Ciencia y Tecnología para el Desarrollo (CYTED), considera al aceite esencial de bajo rendimiento cuando el valor de éste es menor a 5 ml/kg (Vacacela *et al.,* 2023). Dicho esto, el rendimiento del *Lantana camara* en el presente estudio fue equivalente a 0.05% (0.56ml/kg), lo que se podría considerar un bajo rendimiento, apoyando aquellos estudios donde también reportan que plantas pertenecientes a *Lantana spp.* no tienen buena producción en aceite esencial (Ghisalberti, 2000). Para *L. camara*, el rendimiento más óptimo obtenido por hidrodestilación a partir de las hojas alcanzó el 0,2% y, a partir de las flores, hasta el 0,6% (Romeu *et al.,* 2004).

Hay similitud con un trabajo realizado en Vietnam, donde el rendimiento osciló entre 0,043-0,059% en hojas frescas de *L. camara* que fueron recogidas en cuatro lugares diferentes, el método usado para la extracción fue la hidrodestilación (Hung *et al.,* 2021). Sin embargo, existe discordancia entre nuestros resultados con las de otra investigación realizada en Perú, donde el rendimiento del aceite fue de 4,5% cuando se usó 40 g de las partes aéreas y secas de la misma planta, y pasó por hidrodestilación durante 5 h utilizando un aparato de tipo Clevenger (Benites *et al.,* 2009).

Por otro lado, un estudio realizado en Ecuador, el rendimiento del aceite de L. camara que se obtuvo por el método "destilación por arrastre de vapor", fue de 0.0069% (0,07 ml/kg), lo que nos indica que su rendimiento es mucho menor al del presente trabajo (Vacacela et al., 2023). La variabilidad en el rendimiento del AE esta influenciado probablemente a condiciones medioambientales de la planta, calidad del suelo y al método de extracción empleado (Ruiz y Salazar, 2021).

Con respecto a la composición química de *L. camara*, Sousa *et al.* (2020) señala que la composición del *L. camara* (hojas secas) mediante GC-MS tuvo 34 componentes, donde el 71.2% eran hidrocarburos sesquiterpénicos, el 14.2 % hidrocarburos monoterpénicos, el 7.2 % sesquiterpenos oxigenados y el 0.6% eran monoterpenos oxigenados. Y aquellos componentes mayoritarios fueron el Biciclogermacreno, Isocariofileno, Valenceno y Germacreno D, seguidos de (Z)-β-Ocimeno, Sabineno y Óxido cariofileno como componentes minoritarios, y δ-Cadineno, γ-Elemeno, γ-Terpineno, entre otros como trazas (<0.1%); dichos resultado resguardan a los del presente estudio, donde en los componentes mayoritarios también se encuentran Germacreno D y Biciclogermacreno.

En Brasil, compararon la composición química de AEs de plantas pertenecientes a la familia Verbenaceae, y se reveló que *L. camara* estuvo conformada principalmente por Germacreno D (19.8%), β-Cariofileno (19.7%), Biciclogermacreno (11.7%) y α-Humuleno (9.3%), representando el 60.5% del aceite. Los demás componentes como β-Elemeno, Fitol, Germacreno A, δ-Cadineno, y demás, forman parte de la minoría (Passos *et al.*, 2012), lo que también evidencia una gran similitud en nuestros resultados en lo que respecta en la composición de la planta en estudio.

En Ecuador, Valdéz *et al*. (2018) evaluó la actividad adulticida del *L. camara* sobre la especie de mosca *Drosophila melanogaster*, es este estudio se detectó 66 componentes en el aceite, el cual el Germacreno D (19.29%), β-Cariofileno (14.55%), α-Humuleno (9.51%), Biciclogermacreno (8.94%), Germacreno B (7.26%) y γ-Terpineno (5.62%) fueron aquellos componentes con mayor cantidad (>5.0%), habiendo dominancia por los sesquiterpenos, teniendo similitud con el presente

estudio. Y algunos de los componentes con menor cantidad (<5.0%) se encontraban el α-Pineno, Limoneno, Cimeno, Sabineno, α-Copaeno; y en trazas (<0.05%) estaban Borneol, Cyclosativeno, γ-Elemeno, α-Gurjuneno, entre otros. Dando a entender que los compuestos sesquiterpénicos son los encargados principalmente en promover una actividad contra los insectos, ya sea moscas y mosquitos.

En Trujillo, se hizo un estudio de la actividad biológica y composición del aceite *L. camara*. Los resultados en la GC-MS evidenciaron que la Carvona fue el monoterpeno más abundante abarcando un 75.9%, y junto al Limoneno con 16.9%, constituyen el 92,8% del total del aceite. Como trazas aparecen el Sabineno, *p*-Cimeno, Terpineno, β-cariofileno y Biciclogermacreno (Benites *et al.*, 2009). Estos hallazgos son contradictorios a la presente investigación, en donde los monoterpenos son los compuestos minoritarios incluso hasta trazas, existiendo una notable diferencia en los componentes de manera proporcional entre monoterpenos y sesquiterpenos, que puede estar asociado a la distinta localización geográfica en que se encuentra la misma especie de planta.

De igual manera, en Iquitos, existe un quimiotipo peculiar de *L. camara*, en el cual, dentro de sus 26 componentes hallados, el 3% representaban a los sesquiterpenos conformados sólo por β-cariofileno y óxido de cariofileno (Vásquez y Flores, 2021). Dichos resultados, se alejan considerablemente a los del presente estudio, en donde los sesquiterpenos ocupan un mayor porcentaje (>50%). La capacidad de hibridación de la *L. camara* introduce otras variables que dificultan una definición en sus componentes químicos repercutiendo también en sus diferentes actividades biológicas.

Pese a que la composición química de los aceites esenciales de las plantas podrían ser inconstantes y difiere según el origen geográfico y entre otros factores, se ha comprobado que la composición del AE de *Lantana camara* tiene una predominancia por los hidrocarburos sesquiterpénicos. Y, si bien ésta especie, es las más extendida del género *Lantana* y posee diferentes quimiotipos, los componentes principales y encontrados con mayor frecuencia en éste y mayoría de estudios, fueron el Germacreno D, β-cariofileno y Biciclogermacreno.

Varios aceites esenciales ricos en hidrocarburos sesquiterpénicos, han mostrado una notable actividad larvicida contra los mosquitos. Sin embargo, algunos de estos compuestos, como por ejemplo, el β-cariofileno y el α-humuleno trabajados de manera aislada, poseen dicha actividad moderadamente débil si lo comparamos con el total de componentes del aceite esencial del *L. camara*. Sugiriendo que estos componentes no son responsables individualmente de aquellas actividades ya descritas, y corroborando además que una actividad biológica no puede justificarse por un único constituyente (Hung *et al.*, 2021).

El AE de *L. camara* ha demostrado paralelamente tener también un efecto larvicida contra otras especies de mosquitos. Existe mortalidad del 100% contra las larvas de *C. quinquefasciatus* a una concentración de 200 µg/mL con tan solo 15 minutos de ser expuestos. Pese que en este estudio, en los componentes predominaban los triterpenos y no los sesquiterpenos, mantenían de igual manera, una correcta actividad contra las larvas. Entonces, es probable que el sinergismo y/o antagonismo entre todos los diferentes componentes del *L. camara*, tanto los mayoritarios y minoritarios, desempeñan un papel importante en los efectos larvicidas de los aceites esenciales (Dharmagadda *et al*., 2005).

Aparte del efecto larvicida que otorga la *Lantana camara*, otras investigaciones han expuesto adicionalmente una actividad repelente contra los mosquitos. Un estudio realizado en Lima, se trabajó con soluciones (propilenglicol y aceite esencial) a concentraciones de 0%, 2%, 4%, 6%, 8% y 10% en forma de loción en conejos. Se evidenció que no existieron picaduras por parte de los mosquitos a concentraciones bajas, sin embargo, el efecto era corto (<30 minutos) por la volatilidad del producto. A concentraciones mayores a 8%, el efecto era más duradero (>90 minutos) donde hubo una repelencia completa (Inga, 2016). Esto evidencia que trabajar un aceite esencial sin un tensioactivo en conjunto, conlleva a que la duración de sus efectos es relativamente reducido y se ve comprometida la estabilidad de la solución o mezcla, por lo que se necesitaría concentraciones mayores para ver un efecto óptimo.

El efecto contra los insectos de la nanoemulsión del aceite esencial y extracto de *L. camara*, ha demostrado en diferentes estudios ser efectivos contra los estadíos

larvarios de mosquitos en condiciones de laboratorio. Udappusamy *et al.* (2022) trabajó con el extracto etanólico bajo la forma de nanoemulsión y con estadíos inmaduros de *Ae. aegypti* donde se encontró que la CL50 en larvas III y IV fue de 29.731 ppm y 38.943 ppm respectivamente. Al mismo tiempo, la CL90 en larvas III fue de 71.676 ppm y en larvas IV fue de 82.017 ppm. En concentraciones de 10, 20, 30, 40 y 50 ppm, las larvas III murieron en un 26.8, 39.89, 47.95, 64.48, 72.4 % respectivamente. En larvas IV tuvieron un 19.5, 28.3, 38.8, 53.6, 61.6 % de mortalidad a las mismas concentraciones, lo que sugiere que dicha nanoemulsión elaborado con Lantana, ha sido óptima para el control de los mosquitos vectores en estadíos larvarios y, en concordancia a nuestros resultados, el % de mortalidad es proporcional a medida que se aumentaba de concentración y podría variar según el estadío larvario.

Con el aceite de *Pterodon emarginatus* en nanoemulsión, se encontró otra alternativa para combatir a las larvas de *Ae. aegypti*. En este estudio se formularon algunas concentraciones, donde a 250 ppm se logró un 100% de mortalidad a las 24 horas de exposición. También se observó que la tasa de mortalidad dependía del tiempo (entre las 24 y 48 horas) para los grupos tratados a 12,5, 25, 50 y 75 ppm. Esto concuerda con datos anteriores de nanoemulsiones larvicidas, en los que los niveles de mortalidad aumentaban con el tiempo de exposición (Oliveira *et al.*, 2016). Sin embargo, sus concentraciones letales con el *P. emarginatus* (ej. CL50 que fue 34.75 ppm) son menores a los del actual trabajo; cabe resaltar que dentro de los componentes mayoritarios de esta planta está el β-Cariofileno teniendo similitud con la *L. camara*. Por lo tanto, esto indica que el potencial larvicida es diferente entre especie de planta, si bien los aceites tanto de Lantana como Pterodon son efectivos contra las larvas, se necesita mayores concentraciones en caso de *L.camara* para llegar a una mortalidad similar.

Botas *et al.*, (2017) estudió una planta endémica en Brasil (*Baccharis reticularia* DC) donde demostró que esta especie es un agente larvicida para el control del *Ae. aegypti*. Se formularon nanoemulsiones con el aceite a concentraciones de 25, 75, 125, 175 y 250 ppm, donde el grupo control (agua desionizada) no se observó ninguna mortalidad y no hubo diferencia significativa con el grupo de 25 ppm incluso después de las 24 y 48 horas post exposición. También, entre los grupos de 125, 175

y 250 ppm no se observaron diferencias estadísticamente significativas con respecto a la mortalidad y tiempo de exposición con las larvas. En 24 h, la CL50 y CL90 fue de 221.273 ppm y 457.472 ppm respectivamente. De la misma manera, en 48 h, la CL50 fue 144.685 ppm y CL90 fue de 322.368 ppm, existiendo una reducción del 34% en los valores de CL50 de la nanoemulsión de *B. reticularia* en función al tiempo.

En la India, trabajaron con dos formulaciones LCEO y LCNE para evaluar la eficacia larvicida contra el *Anopheles culicifacies*, donde las concentraciones (10, 50, 100, 200, 300, 400 y 500 ppm) fueron las mismas para el control positivo (temefos). En los ensayos, se llegó al 100% de mortalidad en 30 min de exposición a los 500 ppm en todos los grupos. Sin embargo, los porcentajes de mortalidad con LCNE fueron superiores a las del LCEO y temefos en todos los puntos temporales y concentraciones. La CL50 tras 24 horas de exposición para temefos, LCEO y LCNE fueron 86,89, 111,17 y 50,35 ppm, mientras que los valores CL90 fueron 357,27, 450,81 y 222,84 ppm, respectivamente. Si bien es cierto, existe efecto larvicida en ambas formulaciones (LCEO y LCNE), se podría indicar que a menor concentración con la nanoemulsión se logra una adecuado porcentaje de mortalidad (Sonter *et al*., 2024).

La CL50 y CL90, se consideran parámetros principales en la evaluación de la eficacia de cualquier fármaco o agente inhibidor para su caracterización. La concentración necesaria para obtener la máxima mortalidad también depende del estadío del insecto, factores ambientales, la forma de inserción de la sustancia en la cutícula y el mecanismo de acción (Sonter *et al*., 2024).

En lo que respecta a la CL50 de la nanoemulsión contra el *Ae. Aegypti* del presente trabajo, el valor es menor a comparación de ciertos estudios donde sólo se utilizaron aceites esenciales de manera individual (sin forma de nanoemulsión). Esto sucede con los aceites esenciales de *Cymbopogon citratus*, *Cananga odorata*, *Lippia alba*, *Eucalyptus citriodora* y *Citrus sinensis*, donde sus CL50 es >1000 ppm a las 24 horas de exposición (Muñoz *et al*., 2014). Sin embargo, hay una notable diferencia con otros estudios donde la CL50 es mucho menor (<500 ppm) como en los aceites esenciales de *Thymus vulgaris*, Tagetes spp., Salvia spp., Ruta chalepensis, Laurus nobilis, Guaterria spp., Eucalyptus spp., Cupressus spp., *Ocimum basilicum*, *Curcuma*

*longa*, *Artemisia gilvescens*, entre otros (Andrade *et al*., 2017). En general, todo esto revela que no está establecido un valor específico y exacto en las concentraciones letales para indicar si tales aceites con mejores unos más que los otros; los factores como la especie, lugar de origen, forma de extracción del aceite esencial de una planta, influencian probablemente en gran medida en dichos valores letales.

Por otra parte, los resultados de los trabajos ya mencionados, pueden estar asociados a la liberación gradual de los compuestos larvicidas a partir de sistemas nanoestructurados como las nanoemulsiones. Y para su mejor entendimiento de los fenómenos que intervienen en la acción larvicida de las nanoemulsiones, incluidas las basadas en *L. camara*, deberían realizarse más estudios destinados a correlacionar la liberación de compuestos con la mortalidad en función del tiempo (Botas *et al.*, 2017).

En la actualidad, no figuran reportes acerca de la actividad larvicida en *Ae. aegypti* de la nanoemulsión del aceite de *L. camara* en el Perú, existen sólo estudios con extractos etanólicos de dicha planta. Por ende, las concentraciones del actual trabajo derivan de ensayos preliminares realizados bajo las mismas condiciones de laboratorio.

# VI. Conclusiones

- El aceite esencial del *Lantana camara* presentó un porcentaje mayoritario de compuestos sesquiterpénicos conformados principalmente por el β-Cariofileno, Germacreno D, α-Cariofileno y Biciclogermacreno.
- La nanoemulsión del aceite esencial de *Lantana camara* mostró una eficacia larvicida significativa del *Aedes aegypti*, alcanzando mortalidades cercanas al 100% a concentraciones superiores a 1000 ppm.
- Se evidenció que el efecto larvicida es dependiente del tiempo con una reducción de la CL50 y CL90 después de las 48 horas con respecto a las 24 horas.

# VII. Recomendaciones

- Realizar una comparación entre los grupos de terpenos encontrados en la composición química de la planta, para así comprender con exactitud si aquella actividad larvicida descrita es atribuida a un tipo de componente o al conjunto de éstos.
- Realizar muestreos de la planta *Lantana camara* en diferentes puntos geográficos de Lima, para ampliar aquellos conocimientos sobre su composición y rendimiento.
- Trabajar con otras concentraciones de la nanoemulsión del aceite esencial de *L. camara*, con el fin de obtener concentraciones letales menores.

# VIII. Literatura citada


**1.** ***Alzamora L, Morales L, Armas L, Fernández G. 2001.*** Medicina Tradicional en el Perú: Actividad Antimicrobiana *in vitro* de los Aceites Esenciales Extraídos de Algunas Plantas Aromáticas. Anales de la Facultad de Medicina 62(2): 156 - 161.

**2.** ***Andrade S, Sánchez LE, Nevárez GV, Camacho AD, Nogueda B. 2017***. Aceites esenciales y sus componentes como una alternativa en el control de mosquitos vectores de enfermedades. Biomédica 37(Supl.2): 224-243. doi: 10.7705/biomedica.v34i2.3475.

**3.** ***Asbahani A, Miladi K, Badri W, Sala M, Ait Addi EH, Casabianca H, Mousadik A, Hartmann D, Jilale A, Renaud FN, Elaissari A. 2015.*** Essential oils: From extraction to encapsulation. Int J Pharmaceutics 483: 220-243. doi: 10.1016/j.ijpharm.2014.12.069.

**4.** ***Bakkali F, Averbeck S, Averbeck D, Idaomar M. 2008.*** Biological effects of essential oils – A review. Food and Chemical Toxicology 46: 446–475. doi: 10.1016/j.fct.2007.09.106.

**5.** ***Bandoni AL. 2002.*** Los Recursos Vegetales Aromáticos en Latinoamérica. 2º ed. Buenos Aires: Ciencia y Tecnología para el Desarrollo - CYTED. 417p.

**6.** ***Becker N, Petric D, Zgomba M, Boase C, Lane J, Dahl C, Kaiser A. 2003.*** Mosquitoes and Their Control. 1º ed. New York: Springer. 498 p.

**7.** ***Becker N, Petric D, Zgomba M, Boase C, Madon M, Dahl C, Kaiser A. 2010.*** Mosquitoes and Their Control. 2º ed. London: Springer. 577 p.

**8.** ***Benites J, Moiteiro C, Miguel G, Rojo L, López J, Venancio F, Ramalho L, Feio S, Dandlen S, Casanova H, Torres I. 2009.*** Composition and biological activity of the essential oil of Peruvian *Lantana camara*. J. Chil. Chem. Soc. 54(4): 379-384.

**9.** ***Beserra EB, De Castro FP, Dos Santos JW, Fernandes CR. 2006***. Biología e Exigências Térmicas de *Aedes aegypti* (L.) (Diptera: Culicidae) Provenientes de Quatro Regiões Bioclimáticas da Paraíba. Neotropical Entomology 35(6):853-860.

**10.** ***Botas GS, Rodrigo SA, Almeida FB, Duarte JL, Araújo LS, Souto RN, Ferreira R, Carvalho JL, Santos MG, Rocha L, Pereira VL, Fernandes CP. 2017.*** *Baccharis reticularia* DC. and Limonene Nanoemulsions: Promising Larvicidal Agents for *Aedes aegypti* (Díptera: Culicidae) Control. Molecules 22(11): 1990. doi: 10.3390/molecules22111990.

**11.** ***Burt S. 2004.*** Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods - a review. International Journal of Food Microbiology 94: 223–253. doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2004.03.022.

**12.** ***Calderón AM. 2015.*** Elaboración de partículas sólidas lipídicas usando cera de abeja, aceite de palma y sus derivados para la liberación controlada de fármacos. Tesis de Químico. Quito: Universidad Central del Ecuador. 140p.

**13.** ***Carrada BT, Vázquez VL, López GI. 1984.*** Ecología del dengue y el *Aedes aegypti*. Investigación preliminar. Salud Pública México 26: 297-311.

**14.** ***Cavalcanti ES, Morais SM, Lima MA, Santana EW. 2004.*** Larvicidal activity of essential oils from Brazilian plants against *Aedes aegypti* L. Mem Inst Oswaldo Cruz 99 (5): 541-544. doi: 10.1590/s0074-02762004000500015.

**15.** ***Chico A, Hidalgo G, Ochoa E. 2001***. Ciclo de vida del *Aedes aegypti* y manifestaciones clínicas del dengue. Acta Pediátrica de México. 22(2): 114-117.

**16.** ***Costa J, Rodrigues F, Sousa E, Junior D, Campos A, Coutinho H, Lima S. 2010.*** Composition and larvicidal activity of the essential oils of *Lantana camara* and *Lantana montevidensis*. Chemistry of Natural Compounds 46 (2): 313-315.

**17.** ***De Sousa EO, Lima AD, Lopes SG, Costa Junior LM, Da Costa JG. 2020.*** Chemical composition and acaricidal activity of *Lantana camara* L. and *Lantana montevidensis* Briq. essential oils on the tick *Rhipicephalus microplus*. Journal of Essential Oil Research: 1-7. doi: 10.1080/10412905.2020.1752320

**18.** ***Dharmagadda VS, Tandonb M, Vasudevan P. 2005.*** Biocidal activity of the essential oils of *Lantana camara*, *Ocimum sanctum* and *Tagetes patula*. J Sci Ind Res 64: 53-56.

**19.** ***Dorman HJ, Deans SG. 2000.*** Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. Journal of Applied Microbiology 88: 308–316.

**20.** ***Dua VK, Pandey AC, Dash AP. 2010.*** Adulticidal activity of essential oil of *Lantana camara* leaves against mosquitoes. Indian J Med Res 131: 434-439.

**21.** ***Duarte JL, Amado JR, Oliveira A, Cruz R, Ferreira A, Souto R, Falcão DQ, Carvalho J. 2015.*** Evaluation of larvicidal activity of a nanoemulsion of *Rosmarinus officinalis* essential oil. Revista Brasileira de Farmacognosia 25: 189–192. doi: 10.1016/j.bjp.2015.02.010.

**22.** ***Echevarría J, Duarte RD. 2019.*** Nanoemulsions of Essential Oils: New Tool for Control of Vector-Borne Diseases and In Vitro Effects on Some Parasitic Agents. Medicines 6(2): 1-11. doi: 10.3390/medicines6020042.

**23.** ***Enan EE. 2001.*** Insecticidal activity of essential oils: octopaminergic sites of action. Comparative Biochemistry and Physiology Part C 130: 325-337.

**24.** ***Enan EE. 2005.*** Molecular response of *Drosophila melanogaster* tyramine receptor cascade to plant essential oils. Insect Biochemistry and Molecular Biology 35: 309-321. doi: 10.1016/j.ibmb.2004.12.007.

**25.** ***Ghisalberti EL. 2000.*** *Lantana camara* L. (Verbenaceae). Fitoterapia 71: 467-486.

**26.** ***Gómez AG. 2014.*** Formulación y caracterización de nano-emulsiones de aceite de parafina tipo agua-en-aceite (W/O). Tesis de Maestría en Nanotecnología. Monterrey: Universidad Tecnológica de Tula-Tepeji. 84p.

**27.** ***Hidalgo G, Romero A. 2016.*** Diseño de una planta piloto para la extracción de aceites esenciales mediante destilación por arrastre de vapor. Tesis de Ingeniero Industrial y de Sistemas. Piura: Universidad de Piura. 129p.

**28.** ***Hung HN, Dai DN, Satyal P, Huong LT, Chinh BT, Hung DQ, Tai TA, Setzer WN. 2021.*** *Lantana camara* Essential Oils from Vietnam: Chemical Composition, Molluscicidal, and Mosquito Larvicidal Activity. Chem. Biodiversity 18 e2100145: 1-17. doi: 10.1002/cbdv.202100145.

**29.** ***Inga L. 2016.*** Identificación de los componentes del aceite esencial de *Lantana camara* L. Formulación y elaboración de una forma farmacéutica repelente de insectos. Tesis de Químico Farmacéutico. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos. 41 p.

**30.** ***[INS] Instituto Nacional de Salud. 2018.*** Unidad temática N° 7: Vigilancia, prevención y control de enfermedades zoonóticas y metaxénicas selectas. Lima: MINSA. Programa de entrenamiento en salud pública dirigido a personal del servicio militar voluntario. 46p.

**31.** ***Lugo L. 2018.*** Nanoencapsulación de aceites esenciales para el control de *Aedes aegypti*. Tesis de Ciencias Biológicas. Nueva León: Universidad Autónoma de Nueva León. 100p.

**32.** ***Matienzo Y, Ramos B, Rijo E. 2003.*** Revisión bibliográfica sobre *Lantana camara* L. una amenaza para la ganadería. Fitosanidad 7(4): 45-55.

**33.** ***[MSAL] Ministerio de Salud de la Nación. 2016.*** Directrices para la prevención y control del *Aedes aegypti*. Argentina: Dirección de Enfermedades Transmisibles por Vectores. 76 p.

**34.** ***Montanari RM, Barbosa LC, Demuner AJ, Silva CJ. 2011.*** Chemical composition and antibacterial activity of essential oils from Verbenaceae species: Alternative sources of (E)-Caryophyllene and Germacrene-D. Quim. Nova 34(9): 1550-1555.

**35.** ***Moreno MB. 2013***. Desarrollo de nanoemulsiones de aceites esenciales cítricos estabilizadas con gomas de origen natural. Tesis de Maestría en Ciencias de Materiales. Nuevo León: Centro de Investigación en Materiales Avanzados. 145p.

**36.** ***Muñoz JA, Staschenko E, Ocampo CB. 2014.*** Actividad insecticida de aceites esenciales de plantas nativas contra *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). Revista Colombiana de Entomología 40 (2): 198-202.

**37.** ***Nazzaro F, Fratianni F, De Martino L, Coppola R, De Feo V. 2013.*** Effect of Essential Oils on Pathogenic Bacteria. Pharmaceuticals 6: 1451-1474. doi: 10.3390/ph6121451.

**38.** ***Nea F, Kambiré DA, Genva M, Tanoh EA, Wognin EL, Martin H, Brostaux Y, Tomi F, Lognay GC, Tonzibo ZF, Fauconnier ML. 2020.*** Composition, Seasonal Variation, and Biological Activities of *Lantana camara* Essential Oils from Côte d'Ivoire. Molecules 25(10): 1-22. doi: 10.3390/molecules25102400.

**39.** ***Ostertag F, Weiss J, McClements DJ. 2012.*** Low-energy formation of edible nanoemulsions: Factors influencing droplet size produced by emulsion phase inversion. Journal of Colloid and Interface Science 388: 95–102. doi: 10.1016/j.jcis.2012.07.089.

**40.** ***Oliveira AE, Duarte JL, Amado JR, Cruz RA, Rocha CF, Souto RN, Ferreira RM, Santos K, Oliveira LA, Kelecom A, Fernandes CP, Carvalho JC. 2016.*** Development of a Larvicidal Nanoemulsion with *Pterodon emarginatus* Vogel Oil. Plos One 11(1): 1-16. doi:10.1371/journal.pone.0145835.

**41.** ***Passos JL, Barbosa LC, Demuner AJ, Alvarenga ES, Silva CM, Barreto RW. 2012.*** Chemical Characterization of Volatile Compounds of *Lantana camara* L. and *L. radula* Sw. and Their Antifungal Activity. Molecules 17: 11447-11455. doi: 10.3390/molecules171011447.

**42.** ***Prajapati V, Tripathi AK, Aggarwal K, Khanuja S. 2005.*** Insecticidal, repellent and oviposition-deterrent activity of selected essential oils against *Anopheles stephensi*, *Aedes aegypti* and *Culex quinquefasciatus*. Bioresource Technology 96: 1749–1757. doi:10.1016/j.biortech.2005.01.007.

**43.** ***Rattan RS. 2010.*** Mechanism of action of insecticidal secondary metabolites of plant origin. Crop Protection 29: 913-920. doi: 10.1016/j.cropro.2010.05.008.

**44.** ***Ravi S, Bhavani K, Sita P, Rajeswara BR, Janardhan K. 2006.*** Composition and larvicidal activity of leaves and stem essential oils of *Chloroxylon swietenia* DC against *Aedes aegypti* and *Anopheles stephensi*. Bioresource Technology 97: 2481-2484. doi: 10.1016/j.biortech.2005.10.003.

**45.** ***Reyes JF, Franco VA, Ramirez CN, Palou E, López MA. 2014.*** Essential Oils: Antimicrobial Activities, Extraction Methods, and Their Modeling. Food Engineering Reviews 7(3): 275–297. doi:10.1007/s12393-014-9099-2.

**46.** ***Rodríguez MA, Alcaraz LM, Real SM. 2012.*** Procedimientos para la extracción de aceites esenciales en plantas aromáticas. CIB: Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste. México. 38 p.

**47.** ***Romeu C, Pino J, Martí MP. 2004.*** Algunas consideraciones acerca de la composición química del aceite esencial de *Lantana camara* L. presente en Cuba. Fitosanidad 8(3): 59-63

**48.** ***Ruiz QJ, Salazar SM. 2021.*** Composición química y actividad antibacteriana de los aceites esenciales de *Citrus paradisi*, *Juglans neotropica* Diels, *Schinus molle* y *Tagetes elliptica* Smith. Rev Soc Quím Perú 87(3): 228-241. doi: 10.37761/rsqp.v87i3.350.

**49.** ***Service M. 2012.*** Medical Entomology for Students. 5º ed. UK: Cambridge university press. 303 p.

**50.** ***Siddiqui MW, Ayala JF, Hwang A. 2016.*** Postharvest Management Approaches for Maintaining Quality of Fresh Produce. 1º ed. Switzerland: Springer. 222p. doi: 10.1007/978-3-319-23582-0.

**51.** ***Solans C, Izquierdo P, Nolla J, Azemar N, Garcia MJ. 2005.*** Nano-emulsions. Current Opinion in Colloid & Interface Science 10: 102 – 110. doi: 10.1016/j.cocis.2005.06.004.

**52.** ***Sonter S, Dwivedi MK, Mishra S, Singh P, Kumar R, Park S, Jeon B, Singh PK. 2024.*** In vitro larvicidal efficacy of *Lantana camara* essential oil and its nanoemulsion and enzyme inhibition kinetics against *Anopheles culicifacies*. Scientific Reports 14: 16325. doi: 10.1038/s41598-024-67148-w.

**53.** ***Stefanakis MK, Touloupakis E, Anastasopoulos E, Ghanotakis D, Katerinopoulos HE, Makridis P. 2013.*** Antibacterial activity of essential oils from plants of the genus *Origanum*. Food Control 34: 539-546.

**54.** ***Sugumar S, Clarke SK, Nirmala MJ, Tyagi BK, Mukherjee A, Chandrasekaran N. 2014.*** Nanoemulsion of eucalyptus oil and its larvicidal activity against *Culex quinquefasciatus*. Bulletin of Entomological Research 104: 393–402. doi: 10.1017/S0007485313000710.

**55.** ***Swamy MK, Akhtar MS, Sinniah UR. 2016.*** Antimicrobial Properties of Plant Essential Oils against Human Pathogens and Their Mode of Action: An Updated Review. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine: 1-21. http://dx.doi.org/10.1155/2016/3012462

**56.** ***Trongtokit Y, Rongsriyam Y, Komalamisra N, Apiwathnasorn C. 2005.*** Comparative Repellency of 38 Essential Oils against Mosquito Bites. Phytotherapy Research 19: 303–309. doi: 10.1002/ptr.1637.

**57.** ***Udappusamy V, Mohan H, Thinagaran R. 2022.*** *Lantana camara* L. essential oil mediated nano-emulsion formulation for biocontrol application: anti-mosquitocidal, anti-microbial and antioxidant assay. Archives of Microbiology 204 (7): 388. doi: 10.1007/s00203-022-02975-x.

**58.** ***Usano J, Palá J, Díaz S. 2014.*** Aceites esenciales: conceptos básicos y actividad antibacteriana. Reduca (Biología). Serie Botánica 7 (2): 60-70.

**59.** ***Vacacela AW, Guzmán OL, Rey VC, Delgado FE, Benítez GE, Chamba OH, Ortega RR, Ramírez RJ. 2023.*** Composición química y revisión de las propiedades acaricidas de los aceites esenciales de *Melinis minutiflora* y *Lantana camara*. Bol Latinoam Caribe Plant Med Aromat 22 (4): 488 – 499. doi: 10.37360/blacpma.23.22.4.36.

**60.** ***Valdéz AT, Delgado EF, Ramírez JR. 2018.*** Actividad adulticida y composición química del aceite esencial de hojas de *Lantana camara* sobre *Drosophila melanogaster*. Maskana 9 (1): 21–30. doi: 10.18537/mskn.09.01.03.

**61.** ***Vasquez A, De Abrego V. 2017.*** Receptores proteicos en larvas de mosquitos de *Aedes aegypti* de importancia biomédica. Censalud-Ues: 1-18p.

**62.** ***Vasquéz MC, Flores IA. 2021.*** Caracterización fisicoquímica y cromatográfica del aceite esencial de hojas de *Lantana camara* L. Tesis de Químico Farmacéutico. Loreto: Univ. Nac. de la Amazonía Peruana. 66p.

**63.** ***[WHO] World Health Organization. 2005.*** Guidelines for laboratory and field testing of mosquito larvicides. Geneva: WHO. Pesticide Evaluation Scheme. 39p.

# V. Figuras

A continuación se presenta fotografías del experimento:



**Figura 26**. Arbusto de *Lantana camara* L.



**Figura 27**. *Lantana camara* deshojadas



**Figura 28**. Equipo de destilación de acero inoxidable




**Figura 29**. Aceite separado del hidrolato por la pera de decantación



**Figura 30.** Pesaje de reactivos en la balanza analítica




**Figura 31**. Pre-emulsión en el agitador magnético



**Figura 32**. Homogeneizador de alta energía ULTRA-TURRAX IKA T25.



**Figura 33.** Aspecto de la nanoemulsión en su última fase




**Figura 34.** Almacenamiento de las nanoemulsiones en frascos ámbar



**Figura 35**. Distribución de la nanoemulsión en los respectivos tapers



**Figura 36.** Larvas estadío 3 de *Ae. aegypti* cepa Rockefeller



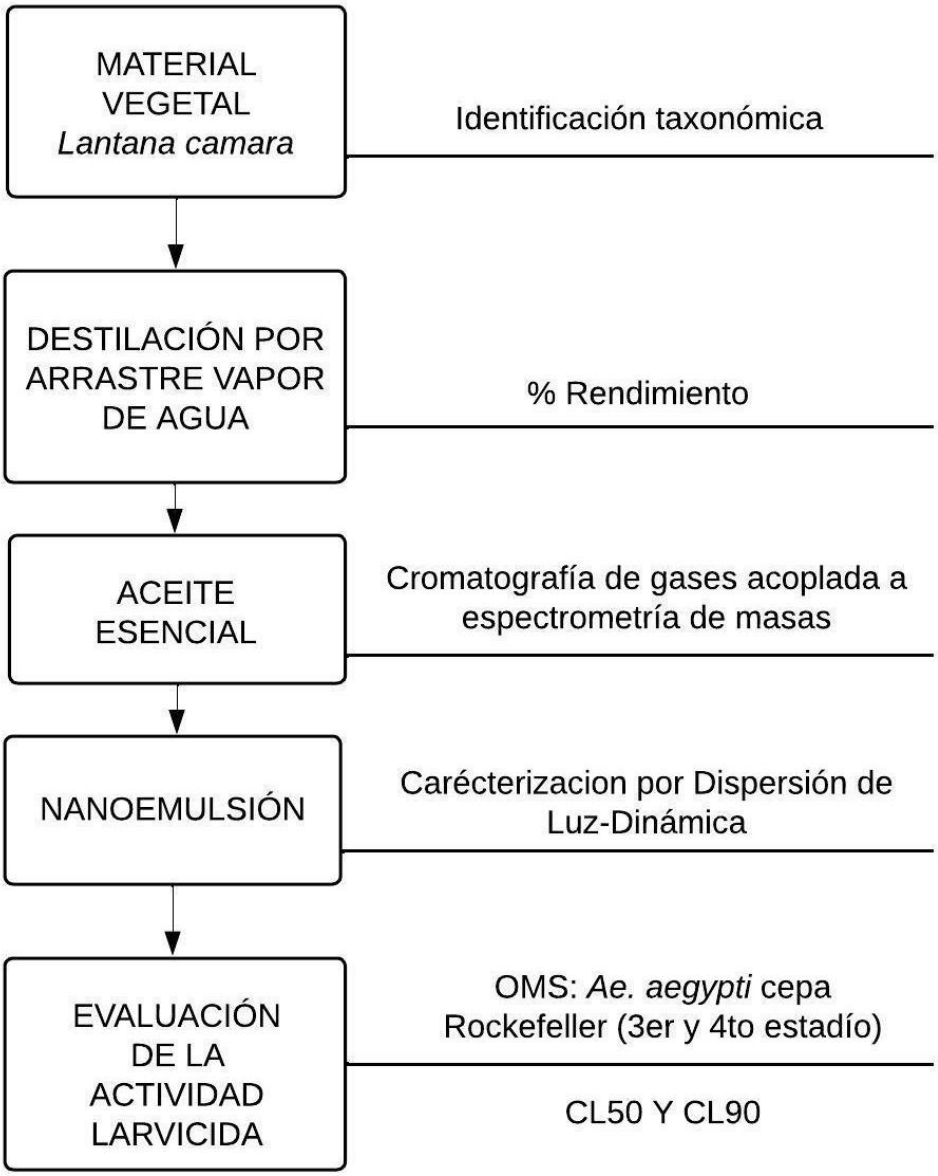
**Figura 37.** Conteo de larvas muertas a las 24 y 48 horas



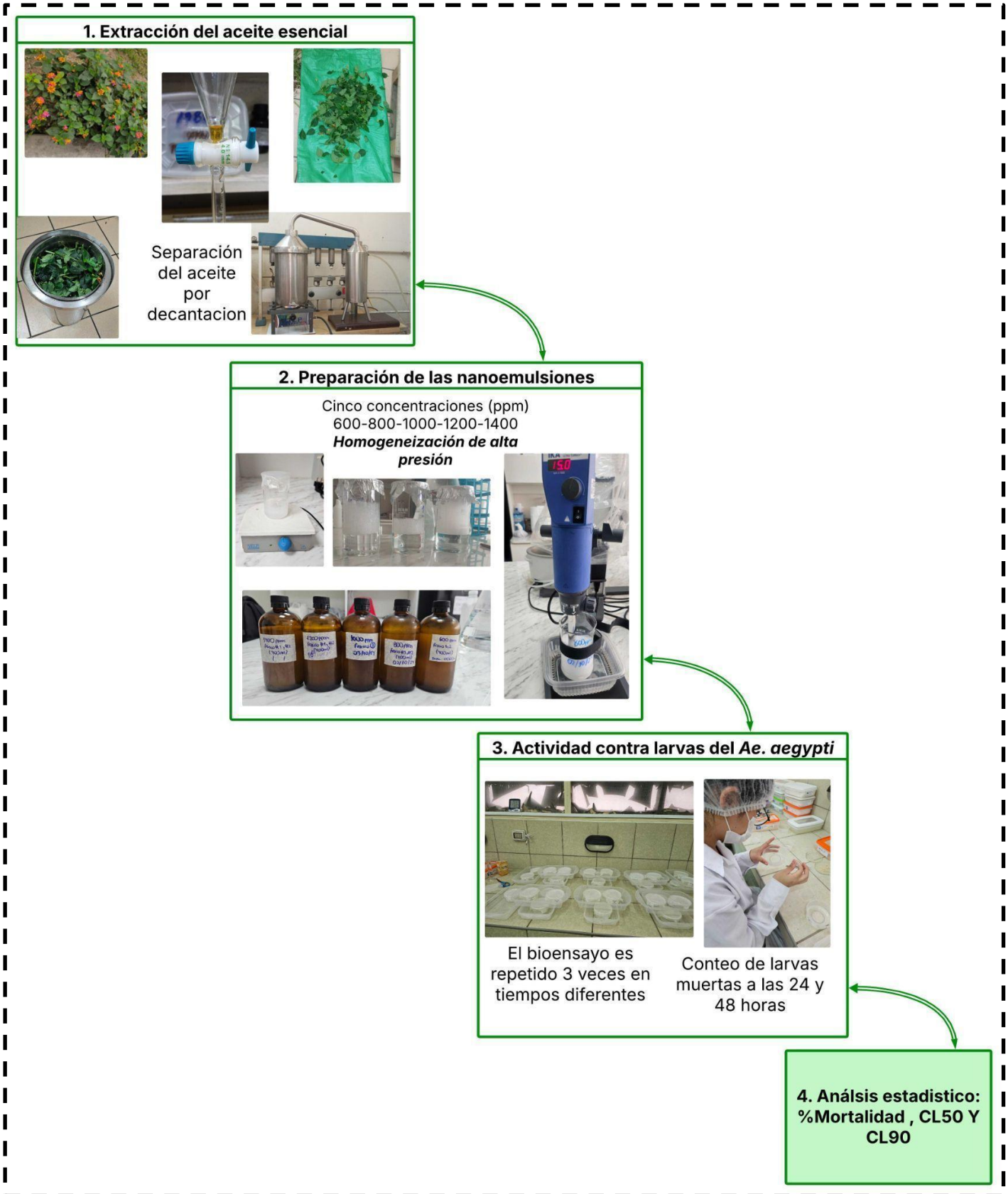
**Figura 38.** Mortalidad de las larvas

# VI. Anexos

**Anexo 1**. Flujograma del proceso experimental



**Anexo 2.** Resumen metodológico



## **Anexo 3.** Identificación taxonómica

UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS
(Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA)
**MUSEO DE HISTORIA NATURAL**

"Año del Bicentenario, de la consolidación de nuestra Independencia, y de la conmemoración de las heroicas batallas de Junín y Ayacucho"

**CONSTANCIA Nº 157-USM-MHN-2024**

LA JEFA DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM) DEL MUSEO DE HISTORIA NATURAL, DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS, DEJA CONSTANCIA QUE:

La muestra vegetal (fértil) recibida de **Taíz Noemí Rey Paucarpura,** estudiante de pregrado de la Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos ha sido estudiada y clasificada como: *Lantana camara* L. y tiene la siguiente posición taxonómica, según el Sistema de Clasificación APG IV (2016).

ORDEN : Lamiales Bromhead

FAMILIA : Verbenaceae J. St.-Hil.

GÉNERO : *Lantana* L.

ESPECIE : *Lantana camara* L.

Nombre vulgar: "Planta de la Maestranza"

Procedencia: Campus de la Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, San Borja

Determinado por: Bach. Julio Torres.

Se extiende la presente constancia a solicitud de la parte interesada, para los fines que estime conveniente.

Lima, 03 de julio de 2024

MUSEO DE HISTORIA NATURAL - USM - Herbario San Marcos - JEFE

Dra. Joaquina Albán Castillo

JEFA DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM)

Av. Arenales 1256, Jesús María, Lima, Perú
Código postal Lima 15072
Celular: +51 932 040 566
Lunes a Viernes 8:00 - 15:45
e-mail: herbariousm@unmsm.edu.pe
https://museohn.unmsm.edu.pe/herbario.html

**Anexo 4.** Composición química de *Lantana camara*

## ACEITE ESENCIAL de *Lantana camara*

Se identificaron 44 compuestos que comprenden el 100% de la composición total del aceite esencial.

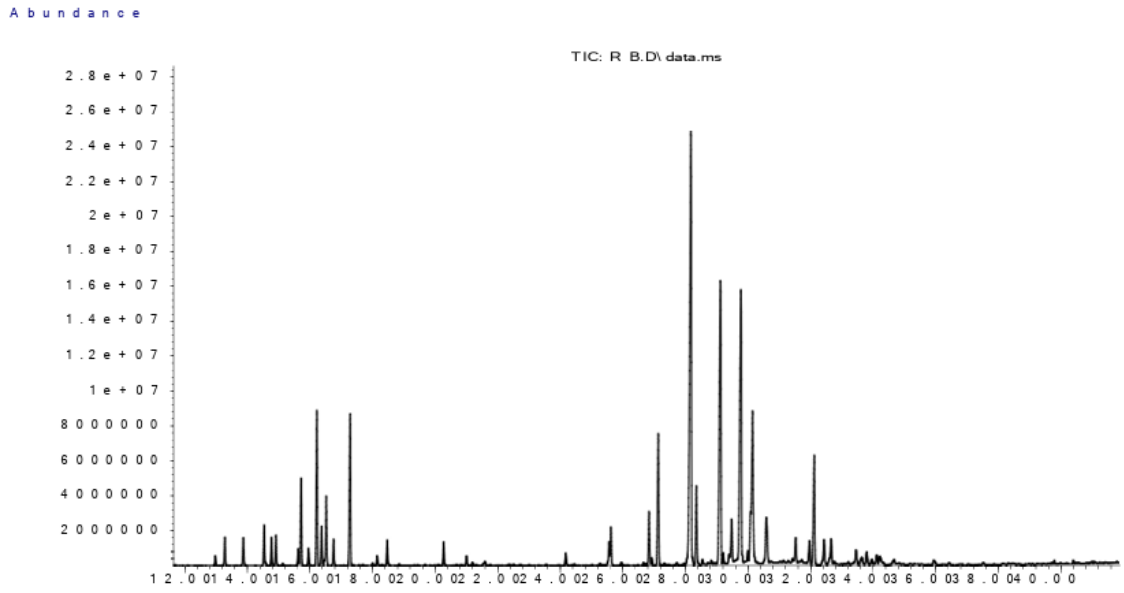
| Número | Nombre del compuesto (NIST08.L) | $t_R$ (min) | % en la muestra (áreas relativas) |
|---|---|---|---|
| 1 | β-Thujeno | 12.98 | 0.25 ± 0.00 |
| 2 | α-Pineno | 13.28 | 0.76 ± 0.00 |
| 3 | Camfeno | 13.87 | 0.76 ± 0.00 |
| 4 | Sabineno | 14.54 | 1.18 ± 0.00 |
| 5 | β-Pineno | 14.77 | 0.78 ± 0.00 |
| 6 | β-Mirceno | 14.92 | 0.79 ± 0.00 |
| 7 | α-Felandreno | 15.63 | 0.48 ± 0.00 |
| 8 | Ciclofencheno | 15.72 | 2.52 ± 0.01 |
| 9 | Terpinoleno | 15.96 | 0.48 ± 0.00 |
| 10 | β-Cimeno | 16.23 | 4.63 ± 0.00 |
| 11 | D-Limoneno | 16.37 | 1.23 ± 0.00 |
| 12 | Eucaliptol | 16.52 | 2.06 ± 0.00 |
| 13 | β-Ocimeno | 16.76 | 0.71 ± 0.00 |
| 14 | γ-Terpineno | 17.29 | 4.65 ± 0.02 |
| 15 | Desconocido ($C_{10}H_{16}$) | 18.15 | 0.27 ± 0.00 |
| 16 | β-Linalool | 18.47 | 0.72 ± 0.00 |
| 17 | Alcanfor | 20.28 | 0.68 ± 0.00 |
| 18 | Camfol | 21.01 | 0.28 ± 0.00 |
| 19 | Desconocido ($C_{10}H_{14}O$) | 24.18 | 0.36 ± 0.00 |

Página **4** de **6**

| | | | |
|---|---|---|---|
| 20 | Desconocido ($C_{15}H_{24}$) | 25.56 | 0.74 ± 0.00 |
| 21 | δ-Elemeno | 25.62 | 1.08 ± 0.00 |
| 22 | α-Copaeno | 26.84 | 1.56 ± 0.00 |
| 23 | Desconocido ($C_{15}H_{24}$) | 26.93 | 0.23 ± 0.00 |
| 24 | β-Elemeno | 27.14 | 4.40 ± 0.00 |
| 25 | β-Cariofileno | 28.18 | 20.05 ± 0.03 |
| 26 | β-Copaeno | 28.35 | 2.48 ± 0.00 |
| 27 | *cis*-β-Farneseno | 28.55 | 0.16 ± 0.00 |
| 28 | α-Cariofileno | 29.12 | 11.93 ± 0.02 |
| 29 | Alloaromadendreno | 29.21 | 0.31 ± 0.00 |
| 30 | Desconocido ($C_{15}H_{24}$) | 29.40 | 0.29 ± 0.00 |
| 31 | α-Curcumeno | 29.48 | 1.65 ± 0.00 |
| 32 | Germacreno D | 29.78 | 12.25 ± 0.01 |
| 33 | β-Selineno | 30.00 | 0.47 ± 0.00 |
| 34 | α-Muuroleno | 30.08 | 1.31 ± 0.01 |
| 35 | Biciclogermacreno | 30.15 | 6.53 ± 0.00 |
| 36 | β-Cadineno | 30.59 | 2.21 ± 0.01 |
| 37 | Desconocido ($C_{15}H_{26}O$) | 31.43 | 0.14 ± 0.00 |
| 38 | *trans*-Nerolidol | 31.53 | 0.84 ± 0.00 |
| 39 | Germacreno B | 31.97 | 0.83 ± 0.00 |
| 40 | 6-metil-2-(tetrahidro-5-metil-5-vinil-2-furyi)-5-Hepten-3-ona | 32.12 | 3.97 ± 0.00 |
| 41 | Spatulenol | 32.44 | 0.98 ± 0.00 |
| 42 | Óxido de Cariofileno | 32.66 | 1.06 ± 0.00 |
| 43 | Desconocido ($C_{15}H_{24}O$) | 33.46 | 0.67 ± 0.00 |
| 44 | Fitol | 42.98 | 0.28 ± 0.00 |

**Anexo 5**. Cromatograma del aceite de *Lantana camara*

**Cromatograma GC-MS del aceite esencial *Lantana camara***



**Anexo 6.** Caracterización de la nanoemulsión

## Size Distribution Report by Intensity

*v2.2*

Malvern

### Sample Details

**Sample Name:** muestra UNMSM 20 de julio 2024
**SOP Name:** mansettings.nano
**General Notes:** 1980:20

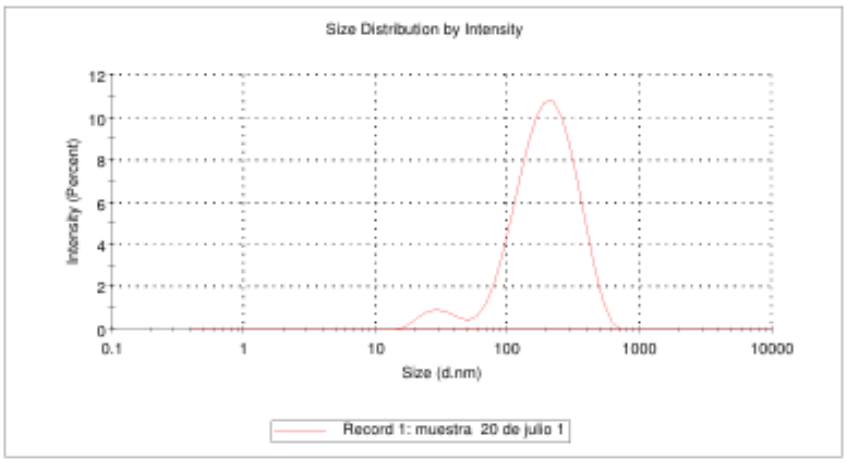
| | | | |
|---|---|---|---|
| **File Name:** | 20-07.dts | **Dispersant Name:** | Water |
| **Record Number:** | 1 | **Dispersant RI:** | 1.330 |
| **Material RI:** | 1.59 | **Viscosity (cP):** | 0.8872 |
| **Material Absorbtion:** | 0.010 | **Measurement Date and Time:** | Thursday, July 20, 2024 |

### System

| | | | |
|---|---|---|---|
| **Temperature (°C):** | 25.0 | **Duration Used (s):** | 60 |
| **Count Rate (kcps):** | 260.6 | **Measurement Position (mm):** | 4.65 |
| **Cell Description:** | Disposable sizing cuvette | **Attenuator:** | 10 |

### Results

| | | | Size (d.n... | % Intensity: | St Dev (d.n... |
|---|---|---|---|---|---|
| **Z-Average (d.nm):** | 152.0 | **Peak 1:** | 218.3 | 94.7 | 104.1 |
| **PdI:** | 0.285 | **Peak 2:** | 31.72 | 5.3 | 9.384 |
| **Intercept:** | 0.953 | **Peak 3:** | 0.000 | 0.0 | 0.000 |
| **Result quality** | Good | | | | |



**Anexo 7.** Hoja de registro del bioensayo

| | | | |
|---|---|---|---|
| **Fecha:** | | **1° Blanco:** | Tween y A.U. |
| **Especie:** | *Ae. aegypti* | **2° Blanco:** | Agua declorada |
| **Estadio larvario:** | L3-L4 | **Control positivo:** | Temephos 0.03 ppm |
| **Larvas por taper:** | 20 unidades | | |
| **Volumen taper:** | 50ml | | |
| **Alimento:** | Levadura cerveza | | |
| **Hora:** | | | |

| N° de larvas muertas en diferentes concentraciones (ppm) pos **"X" horas** de exposición | | | | | | | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **Concentraciones** | **600** | | **800** | | **1000** | | **1200** | | **1400** | | **1° Blanco** | | **2° Blanco** | | **Control positivo** | |
| **Repetición** | Larvas muertas | **% mortalidad** | Larvas muertas | **% mortalidad** | Larvas muertas | **% mortalidad** | Larvas muertas | **% mortalidad** | Larvas muertas | **% mortalidad** | Larvas muertas | **% mortalidad** | Larvas muertas | **% mortalidad** | Larvas muertas | **% mortalidad** |
| R1 | | 0,00% | | 0,00% | | 0,00% | | 0,00% | | 0,00% | | 0,00% | | 0,00% | | 0,00% |
| R2 | | 0,00% | | 0,00% | | 0,00% | | 0,00% | | 0,00% | | 0,00% | | 0,00% | | 0,00% |
| R3 | | 0,00% | | 0,00% | | 0,00% | | 0,00% | | 0,00% | | 0,00% | | 0,00% | | 0,00% |
| R4 | | 0,00% | | 0,00% | | 0,00% | | 0,00% | | 0,00% | | 0,00% | | 0,00% | | 0,00% |
| **Media** | | 0,00% | | 0,00% | | 0,00% | | 0,00% | | 0,00% | | 0,00% | | 0,00% | | 0,00% |
| Observaciones | | | | | | | | | | | | | | | | |

**Anexo 8.** Resultados en Probit-Log a las 24 horas (Ej. 1º bioensayo)

**Confidence Limits**

| | | 95% Confidence Limits for Concentración (ppm) | | |
|---|---|---|---|---|
| | Probability | Estimate | Lower Bound | Upper Bound |
| PROBIT[a] | ,010 | -101,478 | -446,756 | 110,424 |
| | ,020 | 8,273 | -301,780 | 199,637 |
| | ,030 | 77,906 | -209,981 | 256,424 |
| | ,040 | 130,288 | -141,043 | 299,261 |
| | ,050 | 172,897 | -85,057 | 334,196 |
| | ,060 | 209,163 | -37,479 | 364,005 |
| | ,070 | 240,962 | 4,175 | 390,205 |
| | ,080 | 269,434 | 41,413 | 413,722 |
| | ,090 | 295,329 | 75,228 | 435,161 |
| | ,100 | 319,164 | 106,306 | 454,945 |
| | ,150 | 417,851 | 234,367 | 537,465 |
| | ,200 | 496,283 | 335,204 | 603,991 |
| | ,250 | 563,572 | 420,752 | 662,025 |
| | ,300 | 623,998 | 496,526 | 715,192 |
| | ,350 | 679,993 | 565,550 | 765,652 |
| | ,400 | 733,126 | 629,662 | 814,918 |
| | ,450 | 784,533 | 690,074 | 864,201 |
| | ,500 | 835,126 | 747,663 | 914,567 |
| | ,550 | 885,718 | 803,153 | 967,032 |
| | ,600 | 937,125 | 857,271 | 1022,610 |
| | ,650 | 990,258 | 910,868 | 1082,391 |
| | ,700 | 1046,253 | 965,047 | 1147,695 |
| | ,750 | 1106,680 | 1021,315 | 1220,368 |
| | ,800 | 1173,968 | 1081,898 | 1303,368 |
| | ,850 | 1252,401 | 1150,516 | 1402,113 |
| | ,900 | 1351,087 | 1234,784 | 1528,426 |
| | ,910 | 1374,922 | 1254,887 | 1559,184 |
| | ,920 | 1400,817 | 1276,639 | 1592,686 |
| | ,930 | 1429,289 | 1300,463 | 1629,617 |
| | ,940 | 1461,088 | 1326,968 | 1670,966 |
| | ,950 | 1497,355 | 1357,081 | 1718,240 |

| | | | |
|---|---|---|---|
| ,960 | 1539,963 | 1392,325 | 1773,917 |
| ,970 | 1592,346 | 1435,482 | 1842,535 |
| ,980 | 1661,979 | 1492,614 | 1933,989 |
| ,990 | 1771,729 | 1582,239 | 2078,554 |

**Anexo 9.** Resultados en Probit-Log a las 48 horas (Ej. 1º bioensayo)

**Confidence Limits**

| | | 95% Confidence Limits for concentracion (ppm) | | |
|---|---|---|---|---|
| | Probability | Estimate | Lower Bound | Upper Bound |
| PROBIT[a] | ,010 | -182,373 | -511,757 | 26,822 |
| | ,020 | -71,730 | -368,764 | 117,851 |
| | ,030 | -1,531 | -278,200 | 175,766 |
| | ,040 | 51,277 | -210,175 | 219,435 |
| | ,050 | 94,232 | -154,919 | 255,035 |
| | ,060 | 130,794 | -107,950 | 285,398 |
| | ,070 | 162,852 | -66,822 | 312,075 |
| | ,080 | 191,555 | -30,044 | 336,009 |
| | ,090 | 217,660 | 3,360 | 357,819 |
| | ,100 | 241,690 | 34,068 | 377,936 |
| | ,150 | 341,178 | 160,704 | 461,730 |
| | ,200 | 420,249 | 260,585 | 529,091 |
| | ,250 | 488,084 | 345,507 | 587,649 |
| | ,300 | 549,002 | 420,943 | 641,061 |
| | ,350 | 605,452 | 489,915 | 691,487 |
| | ,400 | 659,017 | 554,284 | 740,415 |
| | ,450 | 710,843 | 615,291 | 789,024 |
| | ,500 | 761,846 | 673,834 | 838,359 |
| | ,550 | 812,849 | 730,630 | 889,441 |
| | ,600 | 864,675 | 786,356 | 943,331 |
| | ,650 | 918,240 | 841,779 | 1001,205 |
| | ,700 | 974,690 | 897,906 | 1064,476 |
| | ,750 | 1035,608 | 956,173 | 1135,057 |
| | ,800 | 1103,443 | 1018,786 | 1215,924 |
| | ,850 | 1182,514 | 1089,518 | 1312,435 |
| | ,900 | 1282,002 | 1176,151 | 1436,232 |
| | ,910 | 1306,032 | 1196,789 | 1466,419 |
| | ,920 | 1332,137 | 1219,109 | 1499,313 |
| | ,930 | 1360,840 | 1243,545 | 1535,589 |
| | ,940 | 1392,898 | 1270,719 | 1576,220 |
| | ,950 | 1429,460 | 1301,579 | 1622,691 |
| | ,960 | 1472,415 | 1337,683 | 1677,443 |
| | ,970 | 1525,223 | 1381,875 | 1744,945 |
| | ,980 | 1595,422 | 1440,356 | 1834,944 |
| | ,990 | 1706,065 | 1532,057 | 1977,264 |