



**UNIVERSIDAD JUÁREZ AUTÓNOMA DE TABASCO**  
**DIVISIÓN ACADÉMICA DE CIENCIAS AGROPECUARIAS**



**CARACTERIZACIÓN Y ESTABILIDAD DE NANOEMULSIONES  
FORMULADAS A PARTIR DE ACEITE DE NEEM (*Azadirachta  
indica*) Y GLICEROL**

**TESIS**

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

**INGENIERO EN ALIMENTOS**

PRESENTA:

**RODRIGO CAMPOS RUÍZ**

ASESORES:

**DRA. ANGÉLICA ALEJANDRA OCHOA FLORES**

**DRA. ELOISA LÓPEZ HERNÁNDEZ**

ASESOR EXTERNO

**DR. JOSAFAT ALBERTO HERNÁNDEZ BECERRA**

***“Estudio en la duda. Acción en la fe”***

Villahermosa, Tabasco. Diciembre del 2017



COORDINACIÓN DE ESTUDIOS TERMINALES

**Asunto:** Autorización de Impresión de  
Trabajo Recepcional.

**Fecha:** 15 de noviembre de 2017.

LIC. MARIBEL VALENCIA THOMPSON,  
JEFA DEL DEPARTAMENTO DE CERTIFICACIÓN Y  
TITULACIÓN DE LA UJAT.  
P R E S E N T E.

Por este conducto y de acuerdo a la solicitud correspondiente por parte del Interesado, informo a usted, con base al artículo 86 del Reglamento de Titulación Vigente en esta Universidad, que la Dirección a mi cargo **autoriza** al **C. Rodrigo Campos Ruíz**, matrícula **122C14014**, egresado del Programa Educativo de **Ingeniería en Alimentos**, de la División Académica de Ciencias Agropecuarias, **la impresión de su trabajo recepcional** bajo la modalidad de **Tesis**, Titulado: **"Caracterización y estabilidad de nanoemulsiones formuladas a partir de aceite de Neem (*Azadirachta indica*) y glicerol"**.

Sin otro particular, aprovecho la ocasión para enviarte un cordial saludo.

ATENTAMENTE

  
DR. ROBERTO FLORES BELLO  
DIRECTOR



C.c.p.- Expediente Alumno:  
Archivo  
DR.FB/MCAMA *FB*

Miembro del CENEC desde 2008  
Consortio de  
Universidades  
Mexicanas  
INSTRUMENTO DE ENTENDIMIENTO

Km 25 de la carr. fed. 195, tramo Villahermosa-Tehuacan  
Ra. La Huasteca, 2ª sección, 86298, Centro, Tabasco, México  
Tel. (+52 993) 3581500-Ext. 6014  
Correo electrónico: [terminalesdaca@gmail.com](mailto:terminalesdaca@gmail.com)

[www.ujat.mx](http://www.ujat.mx)

[www.facebook.com/ujat.mx](https://www.facebook.com/ujat.mx) | [www.twitter.com/ujat](https://www.twitter.com/ujat) | [www.youtube.com/UJATmx](https://www.youtube.com/UJATmx)

## CARTA DE AUTORIZACION

A quien corresponda:

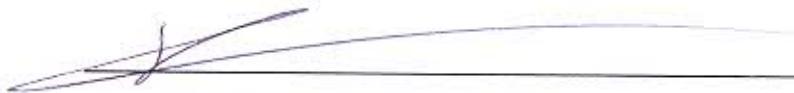
El que suscribe, autoriza por medio del presente escrito a la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco para que utilice tanto física como digitalmente el trabajo recepcional de tesis titulado: **“Caracterización y estabilidad de nanoemulsiones formuladas a partir de aceite de neem (*Azadirachta indica*) y glicerol”** de la cual soy autor y titular de los derechos de autor.

La finalidad del uso por parte de la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco de la tesis antes mencionada será única y exclusivamente para difusión, educación y sin fines de lucro; autorización que se hace de manera enunciativa más no limitativa para subirla a la red abierta de bibliotecas digitales (RABID) y a cualquier otra red académica con las que la universidad tenga relación y la institución.

Por lo antes mencionado, libero a la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco de cualquier reclamación legal que pudiera ejercer respecto al uso y manipulación de la tesis mencionada y para los fines estipulados en este documento.

Se firma la presente autorización en la ciudad de Villahermosa, Tabasco, México a los 16 días del mes de Noviembre de 2017.

AUTORIZO



Pas. I.A. RODRIGO CAMPOS RUÍZ

## DEDICATORIA

A Dios:

Por darme sabiduría e inteligencia para saber tomar las mejores decisiones en mi vida y por darme la perseverancia para terminar

A mis padres Maria Cornelia Ruiz Cortazar y Jose Arcadio Campos Campos por darme su apoyo económico, emocional y por impulsarme a ser mejor cada día.

En especial a mi madre por cada frase diaria escrita de ánimo que me motivaban a seguir adelante cada día, y por confiar en mí

A la Dra. Angelica Alejandra Ochoa Flores, de manera especial, por su dedicación, paciencia y darme la oportunidad de trabajar en la elaboración de esta tesis y sobre todo por su sinceridad

A la Dra. Edith Miranda Cruz de manera muy especial, por brindarme su apoyo incondicional, por su tiempo otorgado, por siempre alimentar mis ganas de superarme y por apoyarnos en los momentos difíciles y siempre tener una palabra de aliento para cada situación

De manera muy especial y cariñosa a mi Abuelito Tomas Campos Zentella que me ha dado sus sabios consejos y por apoyarme economicamente y a mi Abuelita Guadalupe Campos Campos que siempre tendre presente su voz y su rostro y aunque pase el tiempo no podre olvidarla

## AGRADECIMIENTOS

A DIOS:

Por darme sabiduría e inteligencia

A mis padres por darme la oportunidad de culminar una carrera universitaria.

A mis hermanos que me han apoyado emocional y económicamente durante mi tesis y a los cuales aprecio tanto

A mis tías y primos por cada palabra de ánimo y su ayuda incondicional en especial a mis tías: Luz del Alba Campos Campos y Maria del Carmen Campos Campos

A la Dra. Angélica Alejandra Ochoa Flores, por creer en mí, por su paciencia, tiempo, esfuerzo y dedicación

Al Dr. Hugo Sergio García Galindo, pues en sus instalaciones y con el uso de sus equipos de laboratorio, se desarrolló parte de la metodología de este proyecto

Al Dr. Josafat Alberto Hernández Becerra, por brindarnos la oportunidad de utilizar las instalaciones de su laboratorio, por quedarse hasta tarde esperando a que termináramos nuestros experimentos y por su paciencia

A los miembros del jurado por tomarse el tiempo de leer el presente trabajo y por los comentarios hechos al respecto: Dra. Edith Miranda Cruz, Dra. Rosa Maria Salinas, MI. Ramiro Olive López y MC. Hidegard Mayanin Avalos

A la Maestra Adriana Sánchez Cerino, por ser una fuente de inspiración

A mi amada amiga de toda mi carrera universitaria Ana Lidia Sánchez Cerino, por ser un pilar inquebrantable, por los momentos juntos donde lloramos y reímos en donde conquistamos triunfos y perdimos, pero siempre juntos, por tu gran apoyo, dedicación, impulsos a ser mejor persona cada día, por ser la chispa que ilumina mi día y mi corazón, por ser mi mejor amiga y ser una maravillosa persona

¡MUCHAS GRACIAS!

## RESUMEN

Las nanoemulsiones son sistemas fluidos, transparentes y termodinámicamente estables, estabilizados por un surfactante por lo general acompañado de un cosurfactante, como puede ser el glicerol. Los plaguicidas químicos han sido el método convencional para el manejo de las plagas, pero su uso se ha restringido debido a sus efectos negativos en alimentos y humanos. Algunas investigaciones han demostrado que el neem (*Azadirachta indica*) poseen un amplio espectro de acción que abarca a más de 400 especies de plagas. El aceite que se extrae de sus semillas, hojas y corteza, posee azadiractina, un terpenoide cuya actividad biológica ha sido probada, por lo que sus extractos podrían ser precursores de una generación de plaguicidas ecológicamente amigables con el entorno. El objetivo del trabajo fue formular, caracterizar y evaluar la estabilidad de nanoemulsiones de aceite de neem, obtenidas por ultrasonificación, a diferentes concentraciones de glicerol. Para ello se llevo a cabo la extracción y caracterización del aceite de neem obtenido de las hojas y las semillas de sus frutos, por ultrasonificación con diferentes solventes, tiempos de ultrasonificación y temperaturas; con el aceite de neem obtenido de las semillas, se formularon, prepararon y caracterizaron las nanoemulsiones, para optimizar, utilizando la metodología de superficie de respuesta, su tamaño de glóbulo y finalmente se evaluó su estabilidad. Se obtuvieron las mejores condiciones para la extracción con solventes asistida por ultrasonificación de aceite de neem a partir del germen de sus semillas y de sus hojas; así como las condiciones para la obtención del mayor contenido de Azaridactina en el aceite extraído tanto del germen de sus semillas como de sus hojas. Finalmente se obtuvo, a través de la metodología de superficie de respuesta, la formulación óptima a una concentración de aceite de neem del 8.07 %, una relación de aceite-emulsificante de 1:3.63 p/p (29.294 % de tween 20) y una concentración de glicerol en la fase acuosa del 5 %, con un tamaño de glóbulo de 50 nm, estable por 365 días de almacenamiento a 4 °C.

## ÍNDICE GENERAL

	Página
<b>RESUMEN</b>	vi
<b>ÍNDICE DE TABLAS</b>	x
<b>ÍNDICE DE FIGURAS</b>	xii
<b>INTRODUCCIÓN</b>	1
<b>MARCO TEÓRICO</b>	4
1. Nanotecnología	4
1.1. Aplicaciones generales	5
1.2. Beneficios de la nanotecnología	6
2. Nanoemulsiones	8
2.1. Componentes esenciales de las nanoemulsiones	10
2.2. Obtención de las nanoemulsiones	11
2.2.1. Métodos de alta energía	12
2.2.1.1. Ultrasonicación	12
2.2.2. Métodos de baja energía	14
2.3. Caracterización de las nanoemulsiones	14
2.3.1. Dispersión dinámica de la luz	15
2.4. Estabilidad de las nanoemulsiones	15
3. Surfactantes	16
3.1. Glicerol	17
4. Neem	18
4.1. El árbol del neem	18



2.4. Caracterización de las nanoemulsiones	27
2.5. Estabilidad de las nanoemulsiones	28
3. Diseño experimental y análisis estadístico	28
3.1. Obtención del aceite de neem a partir de las semillas	28
3.2. Obtención del aceite de neem a partir de las hojas	29
3.3. Obtención del tratamiento óptimo	30
<b>RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b>	32
1. Obtención y caracterización del aceite de neem	32
1.1. Rendimiento de aceite de neem	32
1.2. Contenido en azaridactina del aceite de neem	39
2. Preparación y caracterización de las nanoemulsiones	42
2.1. Tamaño de glóbulo de la nanoemulsiones	42
2.2. Distribución de tamaños de glóbulo en las nanoemulsiones	45
2.3. Carga superficial de las nanoemulsiones	46
2.4. Tratamiento óptimo	47
2.5. Estabilidad de las nanoemulsiones	48
<b>CONCLUSIONES</b>	51
<b>BIBLIOGRAFÍA</b>	53

## ÍNDICE DE TABLAS

	Página
Tabla 1. Principales características de las nanoemulsiones contra las características de las emulsiones	10
Tabla 2. Formulaciones de las nanoemulsiones preparadas y evaluadas de acuerdo con el diseño experimental propuesto	27
Tabla 3. Tratamientos propuestos para evaluar el rendimiento de extracción de aceite a partir del germen de la semillas de neem	28
Tabla 4. Tratamientos propuestos para evaluar el rendimiento de extracción de aceite a partir de las hojas del árbol de neem	29
Tabla 5. Coordenadas codificadas del diseño central compuesto $2^3$	31
Tabla 6. Tratamientos propuestos para evaluar el tamaño de glóbulo en las nanoemulsiones	31
Tabla 7. Rendimiento en aceite extraído a partir del germen de las semillas de neem, para cada uno de los tratamientos evaluados	32
Tabla 8. Análisis de Varianza que describe la influencia de los diferentes factores evaluados sobre el rendimiento de extracción de aceite a partir del germen de las	

	semillas de neem	33
Tabla 9.	Rendimiento en aceite extraído a partir de las hojas del árbol de neem, para cada uno de los tratamientos evaluados	36
Tabla 10.	Análisis de Varianza que describe la influencia de los diferentes factores evaluados sobre el rendimiento de extracción de aceite a partir de las hojas del árbol de neem	37
Tabla 11.	Contenido en azaridactina en el aceite extraído a partir del germen de las semillas de neem, para cada uno de los tratamientos evaluados	40
Tabla 12.	Contenido en azaridactina en el aceite extraído a partir de las hojas del árbol de neem, para cada uno de los tratamientos evaluados	41

## ÍNDICE DE FIGURAS

	Página
Figura 1. Diferentes tipos de emulsiones	9
Figura 2. Preparación de una nanoemulsión por un método de alta energía	13
Figura 3. Perfil energético de nanoemulsiones	15
Figura 4. Estructura de un surfactante	16
Figura 5. Efecto de los tensoactivos al colocar una gota acuosa sobre una superficie hidófoba	17
Figura 6. El árbol de neem, a) fruto del neem maduro b) árbol de neem de 8 años de edad c) flor de neem en etapa previa a carga de fruto	19
Figura 7. Gráficos de valores medios obtenidos para los efectos principales, (a) tipo de solvente, (b) tiempo de ultrasonificación y (c) temperatura, sobre el rendimiento de extracción de aceite a partir del germen de las semillas de neem	34
Figura 8. Gráfico de valores medios obtenido para la interacción triple entre el tiempo de ultrasonificación, la temperatura y el tipo de solvente (A, acetona; E, éter de petróleo; H, hexano), sobre el rendimiento de extracción de aceite a partir del germen de las semillas de neem	35

Figura 9.	Gráficos de valores medios obtenidos para los efectos principales, (a) proporción de hoja seca:solvente, (b) tiempo de ultrasonificación y (c) temperatura, sobre el rendimiento de extracción de aceite a partir de las hojas de neem	38
Figura 10.	Gráfico de valores medios obtenido para la interacción triple entre el tiempo de ultrasonificación, la temperatura y la proporción de hoja seca:solvente (RSS), sobre el rendimiento de extracción de aceite a partir de las hojas de neem	39
Figura 11.	Tamaño de glóbulo alcanzado, para cada una de las nanoemulsiones correspondientes al diseño experimental propuesto (T1 a T15), a los diferentes tiempos de ultrasonificación	43
Figura 12.	Efecto del tiempo de ultrasonificación sobre el tamaño de glóbulo medio alcanzado en las nanoemulsiones	44
Figura 13.	Tamaño de glóbulo finalmente alcanzado, para cada una de las nanoemulsiones correspondientes al diseño experimental propuesto (T1 a T15), a los nueve minutos de ultrasonificación	44
Figura 14.	Distribución de tamaños de glóbulo alcanzada, para cada una de las nanoemulsiones correspondientes al diseño experimental propuesto (T1 a T15), a los nueve minutos de ultrasonificación	46

- Figura 15. Carga superficial de glóbulo alcanzada, para cada una de las nanoemulsiones correspondientes al diseño experimental propuesto (T1 a T15), a los nueve minutos de ultrasonicación 47
- Figura 16. Tamaño de glóbulo alcanzado, para cada una de las nanoemulsiones correspondientes al diseño experimental propuesto (T1 a T15) y al tratamiento óptimo (T óptimo), durante los primeros 28 días de almacenamiento 49
- Figura 17. Tamaño de glóbulo alcanzado a los 0 y 365 días de preparación, para cada una de las nanoemulsiones correspondientes al diseño experimental propuesto (T1 a T15) y al tratamiento óptimo (T óptimo) 49

## INTRODUCCIÓN

La nanotecnología es la manipulación de la materia a escala nanométrica con el fin de obtener o de mejorar las propiedades de distintos materiales (Meyer, 2001). Los especialistas en la materia afirman que la nanotecnología logrará una nueva revolución industrial, al optimizar y mejorar gran parte de los materiales utilizados en distintas industrias, así como permitir la creación de nuevos equipos (Chaudhury y Sarma, 2009). La literatura demuestra las múltiples posibilidades, tanto a corto, como a mediano y largo plazo, de las nanociencias y nanotecnologías (Vila-Seoane, 2011).

De acuerdo con Salamanca-Buentello et al. (2005), en un estudio realizado con 63 expertos en la materia de nanotecnología, se seleccionaron las áreas que según su impacto, posibilidad práctica de aplicación, conocimientos necesarios y beneficios directos e indirectos, se verán influenciadas por esta nueva tecnología; éstas son: a) producción, conversión y almacenamiento de energía, b) producción agrícola, c) tratamiento y saneamiento de aguas, d) diagnóstico de enfermedades, e) sistemas de elaboración de medicinas, f) procesamiento y almacenamiento de alimentos, g) purificación del aire contaminado, h) construcción, i) control de la salud, j) control y detección de plagas.

En la actualidad, las nanopartículas están entre nosotros, en algunas clases de chicles, en algunos envases plásticos de alimentos y en botellas de cervezas. La nanotecnología ha cambiado la forma de hacer y distribuir productos alimenticios en los últimos años (Charlebois, 2014).

El incremento de la estabilidad y de la biodisponibilidad de los principios activos de plantas y animales, importante en diferentes áreas, incluyendo la ciencia de alimentos, es una de las áreas que la nanotecnología ha abordado con éxito (Moelants et al., 2012; Chhabra et al., 2011); con el diseño de sistemas, incluyendo el desarrollo de nanoemulsiones, nanocápsulas, nanoliposomas, nanotubos de carbono o nanomicelas,

que facilitan su incorporación y disponibilidad desde diferentes formulaciones alimenticias, nutracéuticas o farmacéuticas (Safari y Zarnegar, 2014).

Las nanoemulsiones son sistemas acuosos y oleosos fluidos, transparentes y termodinámicamente estables, estabilizados por un surfactante por lo general acompañado de un cosurfactante, como puede ser el glicerol (Pagliaro y Rossi, 2008). Los cosurfactantes poseen tres funciones esenciales, permiten la obtención de tensiones interfaciales bajas, introducen mayores posibilidades de interacción entre los grupos hidrofílicos y ayudan a mejorar la fluidez (Warisnoicharoen et al., 2000); además mejoran la estabilidad de las formulaciones y facilitan el mezclado de diferentes elementos (Kotta et al., 2012); retardan o evitan también la cristalización y precipitación de algunos principios activos (Salminen et al., 2014).

Los mejores resultados en cuanto a tamaño y estabilidad de una nanoemulsión se han logrado utilizando glicerol como cosurfactante, exhibiendo tamaños de partícula inferiores a 200 nm y potenciales zeta cercanos a los -12.7 mV. Otros cosurfactantes como el alcohol estearílico y el ácido esteárico, permiten la formación de las nanopartículas, teniendo influencia significativa en su tamaño, pero no en su potencial zeta (Crespo-Rodríguez, 2015).

Las nanoemulsiones han sido ampliamente utilizadas en el sector cosmético (Guglielmini, 2008) alimentario (Ochoa-Gómez et al., 2009) y farmacéutico (Zhou et al., 2009), permitiendo vehiculizar compuestos bioactivos o fármacos de carácter hidrofílico o lipofílico (González-Mira et al., 2011). La meta es obtener nanoemulsiones que contengan el principio activo, que perduren con las características deseadas a través de un determinado tiempo, lo que dependerá del co-surfactante (Kosegarten-Conde y Jiménez-Munguía, 2012).

Los plaguicidas químicos han sido el método convencional para el manejo de las plagas, pero algunas investigaciones han demostrado que los plaguicidas elaborados a base del árbol de neem (*Azadirachta indica*) poseen un alto espectro de acción que abarca a más de 400 especies de plagas (Bagle et al., 2013). Más de 100 compuestos terpenoides, en su mayoría tetranotriterpenoides, diterpenoides, triterpenoides,

pentanotriterpenoides y hexanotriterpenoides, además de algunos compuestos no terpenoides han sido aislados de varias partes del árbol, cuya actividad biológica ha sido provada. El compuesto bioactivo más activo es un terpenoide, la azadiractina (Saxena, 1996).

Por todo lo anterior, en el presente trabajo se formuló, caracterizó y evaluó la estabilidad de nanoemulsiones aceite en agua, obtenidas por ultrasonicación, utilizando glicerol como cosurfactante y aceite de neem (*Azadirachta indica*) extraído de las semillas del fruto.

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.  
México.

## MARCO TEÓRICO

### 1. Nanotecnología

La nanotecnología se puede comprender como la creación, manipulación y utilización de materiales en el orden nanométrico ( $10^{-9}$  m) y sus diversas aplicaciones en los campos de la química, la biología, la física, la ingeniería, etc; ésta a permitido grandes avances en la ciencia (Pájaro *et al.*, 2013). La nanotecnología se define como el estudio, la síntesis, el diseño, la caracterización, la producción y la aplicación de la tecnología a niveles atómicos moleculares en una escala de 1 a 100 nm, de estructuras, dispositivos y sistemas. Los objetos de tamaño nanométrico son, basando de las investigaciones, de cien a diez mil veces más pequeños que las células de los mamíferos (Roco, 2003). El fin más importante de la nanotecnología es mejorar la calidad de vida y promover el desarrollo humano. En el presente, la nanotecnología es una gran herramienta que nos ayuda al rápido avance tecnológico (Puurune *et al.*, 2007). La nanotecnología está despertando gran interés en el ámbito de la tecnología moderna, gracias a la nanotecnología se han podido sustituir algunos materiales, equipos y reactivos que eran dañinos para la salud o para el medio ambiente (Mangematin *et al.*, 2012). La nanotecnología se representa como una nueva manera de observación y estudio en los campos de la ciencia e ingeniería. En la naturaleza hay materiales, objetos y procesos que funcionan desde una macroescala hasta una nanoescala, los nanomateriales se encuentran en nuestro alrededor, como pueden ser las cenizas volcánicas, las espumas de mar, el humo del fuego, así como productos resultado de procesos de combustión. Los seres humanos tenemos partes de nuestra estructura a escalas nanométricas, como las proteínas y otras moléculas que controlar muchos sistemas y procesos internos (López-Peralta, 2013). La nanotecnología tiene aplicación en las áreas de la ciencia e ingeniería, donde los fenómenos tienen lugar a escalas nanométricas, por lo que es utilizada en el diseño, caracterización, producción y aplicación de materiales, estructuras, etc. La nanotecnología no solo es la producción de materiales en nanoescala, se requiere de habilidades para su manipulación y control, para satisfacer diferentes necesidades. La nanotecnología se refiere a cualquier

tecnología aplicada a nanoescala en el mundo donde vivimos, en donde la nanotecnología abarca desde la producción y aplicación de sistemas físicos, químicos y biológicos hasta la integración de nanoestructuras en escalas que van desde átomos o moléculas (Ayatollahi *et al.*, 2012). La literatura demuestra las múltiples posibilidades, tanto a corto, como a mediano y largo plazo, de las nanociencias y nanotecnologías (Vila-Seoane, 2011). La nanotecnología tiene el gran potencial para cambiar la industrialización a como la conocemos, gracias a que con ayuda de ella podremos reemplazar varios de los recursos naturales utilizados, por dar un ejemplo, al crear materiales que reemplacen el cobre (Shilpanjali *et al.*, 2009).

### **1.1. Aplicaciones generales**

Las aplicaciones de los avances y descubrimientos en Nanociencias y Nanotecnologías son la principal base sobre la cual se da a conocer la importancia del campo. Presenta amplias posibilidades, tanto a corto, como a mediano o a largo plazo, que dependen también de la metodología utilizada en los estudios y de las áreas geográficas sobre las cuales se ha enfocado. Por ejemplo, en un documento sobre las futuras aplicaciones de la Nanotecnología, se destacan ocho áreas que cubren varios sectores industriales (Otilia, 2005). La nanotecnología y sus aplicaciones están cada vez más presentes en nuestra vida cotidiana, aunque hasta hace poco tiempo se consideraban ciencia ficción. La medicina, la ingeniería, la informática, la mecánica, la física o la química son sólo algunas de las disciplinas que ya se están beneficiando y veremos cómo van aumentando las posibilidades que ofrece la nanotecnología. (Moore *et al.*, 2010). Las posibilidades que ofrece son múltiples y ya hay en el mercado productos aplicados en la medicina y la cirugía (constituyen el 21 % de los negocios nanotecnológicos de los Estados Unidos), en la informática (la potencia de las computadoras ha aumentado y lo seguirá haciendo), la alimentación (suministro de energía), la construcción de edificios (cementos, pinturas especiales), los cosméticos, tejidos textiles y sistemas para purificación y desalinización de agua. Para algunos científicos, la nanotecnología es "comparable al nacimiento de los semiconductores electrónicos en la década de los 50, o al del láser, en los 60" y sus innumerables ventajas (Tiwari *et al.*, 2013).

Con respecto a las aplicaciones en países en vías de desarrollo, en el 2005 se realizó

un estudio Delphi con 63 expertos en Nanotecnología y se seleccionaron un conjunto de áreas de aplicación según su impacto, apreciabilidad, posibilidad práctica de aplicación, conocimientos necesarios y beneficios indirectos (Salamanca-Buentello *et al.*, 2005) A continuación, se las ordena según el puntaje obtenido en el Delphi:

- Producción, conversión y almacenamiento de energía
- Producción agrícola
- Tratamiento y saneamiento de aguas
- Diagnóstico de enfermedades
- Sistemas de entregas de drogas
- Procesamiento y almacenamiento de alimentos
- Purificación del aire contaminado
- Construcción
- Control de la salud
- Control y detección de pestes

## **1.2. Beneficios de la nanotecnología**

La nanotecnología ha surgido como un nuevo conjunto de técnicas capaces de revolucionar las industrias, lo cual se deduce ya que se considera un conjunto de tecnologías de gran ayuda la cual ya está impactando en la mayoría de las ciencias de forma muy positiva, la nanotecnología es un conjunto de tecnologías fuertemente basadas en ciencia, en donde para lograr aplicaciones correctas es necesaria una continua y cercana interrelación entre las comunidades científicas y tecnológicas (Soler Iliá *et al.*, 2009).

El estudio de la nanotecnología y el aprovechamiento de esta, en ciencias como la química, biología molecular, física, informática y medicina, ha provocado que las barreras que dividen al saber científico se derriben, potenciando así la complejidad de

los resultados (Shilpanjali-Deshpande *et al.*, 2009).

De acuerdo con Hurtado *et al.* (2016), el uso de esta ciencia aplicada trae consigo ciertos beneficios, dentro de los cuales destacan:

- Mayor alcance y efectividad al trabajar a niveles microscópicos
- Resultados a largo plazo
- Contribución al cuidado ambiental
- Reducción de gastos futuros
- Innovación constante

Ha tomado tanta importancia la nanotecnología que en algunos países proponen la observación de la nanotecnología en las materias comunes impartidas en la educación media superior como se está dando en Costa Rica y así ganar más interés entre los jóvenes a nivel científico (Rivera-Álvarez *et al.*, 2017). La nanociencia es una disciplina que presenta más avances en el desarrollo de tecnología en los últimos años. Su alcance llega a sectores tan diversos que incluye desde la medicina hasta la industria, y recientemente ha incursionado en el control y la mitigación de la contaminación ambiental (Martínez-Gómez *et al.*, 2017). En Brasil la nanotecnología se está ocupando para los tratamientos de las aguas, con los propósitos de potabilizar, desalinizar entre otros tratamientos, al igual que están ayudando a descontaminar las aguas residuales y ayudar así al medio ambiente (Batista-Silveira *et al.*, 2016). En medicina, la nanotecnología está ayudando en el área de la farmacia, elaborando mejores medicamentos los cuales ayudan a su mayor absorción para el cuerpo humano, también se ha utilizado en terapias terapéuticas también gracias a la nanotecnología combinada con la medicina se han realizado investigaciones para tratar enfermedades de origen genético, con lo cual se ayudará a su tratamiento (Suñé-Pou *et al.*, 2016). En la cirugía médica se han usado robots industriales, después robots asistentes, hasta llegar a los nano-robots, logrando con éstos cirugías muy bien realizadas, gracias a su tan pequeño tamaño logran una mayor precisión, siendo uno de los más grandes avances médicos en cirugía (Chaparro-Velasco *et al.*, 2016). En Chile se implementó un

método nanotecnológico para evitar la licuefacción de depósitos de arena, ya que la licuefacción tiende a desembocar en un sismo; la estrategia implementada consiste en utilizar nano-arcilla para el recubrimiento de los suelos licuables (Ochoa *et al.*, 2017).

## 2. Nanoemulsiones

Las nanoemulsiones son dispersiones finas de aceite en agua, o de agua en aceite, que utilizan pocas cantidades de emulsificante para su estabilización, tienen un pequeño tamaño de glóbulo, el cual no permite la dispersión de la luz en la región visible del espectro; esto permite parezcan ópticamente claras en lugar de opacas (Ochoa-Flores *et al.*, 2016). Las nanoemulsiones puede usarse como sistemas de suministro, capaces de mejorar la solubilidad y biodisponibilidad de los compuestos, además de ser más estables, en comparación de las emulsiones tradicionales (Flores-Miranda *et al.*, 2015). Las emulsiones pueden ser clasificadas de acuerdo a la distribución del espacio relativo entre el aceite y la fase acuosa, en emulsiones aceite en agua o agua en aceite (Izadiyan *et al.*, 2017).

Una emulsión es el resultado de la unión forzada entre dos sustancias líquidas que son inmiscibles entre si de manera natural, formando dos fases: una fase denominada fase dispersa (las gotas) y la otra fase dispersante (fase continua) (Güell *et al.*, 2017). Dependiendo de la condición de la fase dispersa y la fase dispersante, se han definido dos tipos de emulsiones: emulsiones agua-en-aceite y emulsiones aceite-en-agua (Jung-Bae *et al.*, 2017). En las emulsiones agua-en-aceite (denominadas W/O por sus iniciales en inglés) la fase dispersa es agua y la fase dispersante es aceite, el contenido de agua es típicamente menor al 25 %. En las emulsiones aceite-en-agua (denominadas O/W) el contenido del componente acuoso es generalmente mayor a 31 %, pudiendo tener hasta un 80 % de agua; en este tipo de emulsión la fase dispersa es un aceite y la fase dispersante es agua (Ruiz-Márquez *et al.*, 2016).

Por lo general las emulsiones son termodinámicamente inestables, esto se debe a su alta carga de energía libre en la superficie de las gotas, lo que hace que estas tengan mayor tendencia a unirse para reducir su superficie, por lo tanto ocurre el efecto llamado coalescencia, y ocurre que las fases se van separando macroscópicamente

desestabilizando la emulsión, por lo que para evitar la degradación se agrega el agente emulsionante, el cual suele ser un surfactante (Gennaro, 2003). En la Figura 1 se pueden apreciar las diferencias entre diversas emulsiones, y podemos ver claramente cómo se nota más traslúcida la nano-emulsión en comparación de las demás (Santosh-Nemichand y Sharada Laxman, 2017).



**Figura 1. Diferentes tipos de emulsiones (Santosh-Nemichand y Sharada-Laxman, 2017).**

El pequeño tamaño de la gota de las nanoemulsiones (ver Tabla 1), hace que éstas tengan una elevada estabilidad cinética, ante el cremado, la sedimentación, floculación o la coalescencia (Guglielmini, 2008). Las nanoemulsiones por lo general son cinéticamente estables, pero a pesar de esto, son termodinámicamente inestables, siendo necesario la aportación de energía para su elaboración (Díaz-Blancas *et al.*, 2016). Las nanoemulsiones también se clasifican dependiendo de la cantidad agua o de aceite que contengan a la hora de su elaboración, estas son, de fase externa acuosa (O/W) o de fase externa oleosa (W/O) en el cual la “W” representa el agua y la “O” el aceite (Ravi-Theaj y Padma, 2011).

**Tabla 1. Principales características de las nanoemulsiones contra las características de las emulsiones**

Características	Nanoemulsión	Emulsión
Tamaño de gota (fase dispersa)	$\leq 0.1 \mu\text{m}$	$\geq 0.1 \mu\text{m}$
Aspecto	Trasparente o traslucido	Opaco
Formación	Requiere mayor energía	Requiere menor energía
Estabilidad cinética	Alta	Baja

Fuente: Pájaro-Castro *et al.*, 2013; Huang y Song, 2017.

## 2.1. Componentes esenciales de las nanoemulsiones

Para la elaboración de una nanoemulsión es necesario primero comprender las fases del sistema, esto es muy importante porque las propiedades de la nanoemulsión dependen de éstas. El tipo de emulsión, el tamaño de gota y su estabilidad cinética dependerán de su formulación (Huang y Song, 2017). Si se va a formular una emulsión no se debe olvidar que es importante considerar que el surfactante que se utilizará debe ayudar al tipo de emulsión que se pretende preparar (O/W ó W/O); se debe tener en cuenta la cantidad de la fase dispersa en el volumen total de la emulsión ya que siempre la fase que esta en mayor cantidad tiende a ser la fase continua; se debe tener en cuenta la temperatura en la que se trabajará la emulsión, recordado que a mayor temperatura la tensión superficial disminuye pero considerando la sensibilidad al calor de los componentes (Henri, *et al.*, 2017). Según las diferentes metodologías de preparación de nanoemulsiones se debe establecer la utilización del HLB óptimo de cada aceite, pero esto no siempre garantiza la obtención de nanoemulsiones estables con tamaños de gotas a escala nanométrica. Para lograr disminuir el tamaño de las gotas dispersas en una emulsión, mediante el método de temperatura de inversión de fases, es indispensable tener en la mezcla una cantidad de surfactante en exceso, que de la certeza de tener moléculas de surfactante disponibles para cubrir el área entera de las gotas dispersas cuando disminuyen su tamaño, dado que la relación superficie/volumen aumenta drásticamente al disminuir el tamaño de las partículas (Medina-Calderón y Bautista-Barrios, 2015).

Para la formulación de una nanoemulsión siempre se debe de tomar en cuenta dos tipos de variables: las variables fisicoquímicas y las variables de composición. Las variables de composición son las proporciones relativas de los constituyentes del

sistema: aceite, agua y surfactante. Las variables de formulación fisicoquímica incluyen: presión, temperatura, naturaleza de los constituyentes, etc. Normalmente se requiere definir a más de una variable para lograr decidir cuales serán los constituyentes de la terna. Por ejemplo, el surfactante está definido por la naturaleza de su zona hidrofílica y el largo de su cadena lipofílica. Por lo general en el agua, dependerá de los tipos y concentración de electrolitos que tenga disueltos. Por su parte, el aceite se ve influenciado por el largo de sus cadenas hidrocarbonadas, la presencia de grupos funcionales o la isomería de posición (Mor *et al.*, 2016).

Cuando se habla de las variables de formulación se debe entender que son aquellas que caracterizan a los componentes del sistema y su interacción en la interfase, estas por lo general son: longitud de la cadena alquílica del surfactante, los del grupo hidrofílico del surfactante, la salinidad de la fase acuosa, tipo de aceite, presencia de alcoholes, la temperatura y la presión. Debido a la existencia de tantas variables se suele seleccionar la variable que se considere más importante y mantener constantes a las demás (Shrestha *et al.*, 2015).

## **2.2. Obtención de las nanoemulsiones**

Cuando hablamos de la obtención de las nanoemulsiones, debemos de tener en cuenta que esta no ocurrirá de forma espontánea ya que por su naturaleza los aceites con el agua no se unen de forma natural, las nanoemulsiones pueden ser preparadas por métodos de dispersión de alta energía, por ejemplo con los equipos de ultrasonidos o los homogeneizadores de alta presión; o por métodos de condensación o fisicoquímicos, también denominados de baja energía, donde se ocupa ligera agitación y/o cambios de temperatura o composición (Huang y Song, 2017).

Los homogeneizadores de alta presión son muy utilizados en la industria para la preparación de nanoemulsiones. Este método es elegido porque es práctico, fácil y adecuado para la preparación de nanoemulsiones a escala de laboratorio. Las ondas de ultrasonido provocan dispersión de la fase oleosa en la fase acuosa y producen gotitas nanométricas (Oliveira-Arantes *et al.*, 2017).

Sin embargo, las presiones altas no pueden utilizarse para todo tipo de

nanoemulsiones, por ejemplo, los sistemas o/w que utilizan metilcelulosa como emulsionante sólo podrían estabilizarse con un homogeneizador de baja presión debido a que el fuerte flujo de elongación producido a presiones más altas promueve la degradación irreversible de las moléculas de cadena larga (Abbas *et al.*, 2013).

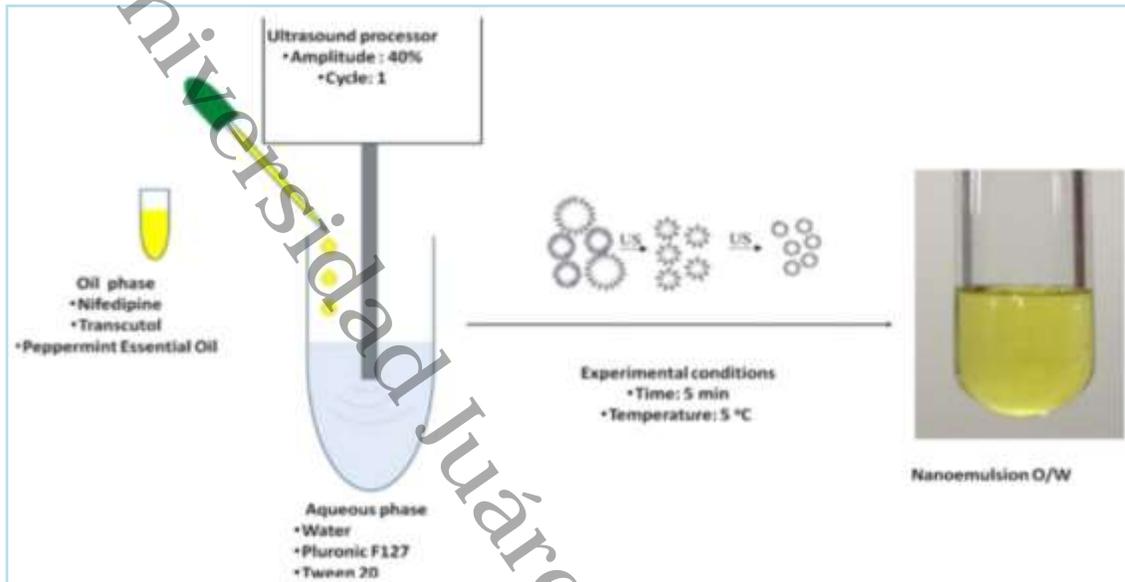
### **2.2.1. Métodos de alta energía**

Cuando se habla de la formación de nanoemulsiones utilizando el proceso de alta energía, este se caracteriza por someter al sistema a la aplicación de una alta cantidad de energía previamente determinada; dicha energía brinda al sistema una predisposición para mantener su estabilidad, aunque se lleven a cabo modificaciones en su composición. Estos procesos se basan en el empleo de dispositivos mecánicos que generan las fuerzas disruptivas necesarias para lograr el rompimiento de las fases macroscópicas. De manera general, estos procesos han mostrado mayor eficiencia tanto en tiempo de formación de las nanoemulsiones como en reducción de tamaño de las gotas de la fase dispersa, sin embargo, su aplicación a nivel industrial aún es escasa. Los principales procesos de alta energía son aplicación de altas presiones, ultrasonido y agitación a altas velocidades (Abbas *et al.*, 2013).

#### **2.2.1.1. Ultrasonificación**

La formación de nanoemulsiones por el uso del ultrasonido se llama cavitación, las ondas de ultrasonido en el rango de 20 a 100 kHz, tienen la posibilidad de llevar a cabo cambios físicos y químicos al interactuar con la materia. Durante el proceso cuando una superficie plana vibra con frecuencia y amplitud, se generan ondas longitudinales y se mueven en el medio líquido o gaseoso circundante (Rodríguez-Burneo *et al.*, 2017). Estas ondas se van moviendo con las partículas del medio a través de una serie de compresiones y rarefacciones bajo presión fluctuante, provocando el fenómeno de cavitación acústica. La cavitación es la formación y colapso de cavidades de vapor dentro de un líquido fluido; el colapso de estas cavidades provoca poderosas ondas de choque que se irradian a lo largo de la solución, rompiendo en el líquido disperso, ver Figura 2. El efecto intenso de las ondas al colapsar explica el porqué de la obtención de gotas de tan pequeño tamaño que permiten la formación de emulsiones dentro de la

escala nanométrica (Abbas *et al.*, 2013).



**Figura 2. Preparación de una nanoemulsión por un método de alta energía (Oliveira-Arantes *et al.*, 2017).**

En la preparación de nanoemulsiones por ultrasonificación deben tomarse en cuenta los parámetros que se evalúan y tienen impacto en la formación de nanoemulsiones, como son la frecuencia, potencia y tiempo de tratamiento. Cuando se analiza la frecuencia, en su mayoría los autores mencionan que el rango más efectivo para la formación de nanoemulsiones es de 20 a 24 kHz (Abbas *et al.*, 2013); asimismo mencionan que se prefieren las frecuencias bajas para la formación de nanoemulsiones. Respecto al tiempo de tratamiento, Ghosh *et al.* (2013) formularon nanoemulsiones de aceite esencial de albahaca probando tiempos en un rango de 5 a 15 minutos; los tamaños de gota se redujeron de 57.75 nm con 5 minutos de tratamiento a 41.15 nm con 15 minutos. Estos resultados confirman que, a mayor tiempo de tratamiento, se incrementa la cantidad de energía disponible para el rompimiento de las gotas y se reduce su tamaño. Leong *et al.* (2009) reportaron una disminución de tamaño de gota de 100 nm a 40 nm, al aumentar el tiempo de tratamiento de 5 a 40 minutos.

### 2.2.2. Métodos de baja energía

Con ayuda de procesos de baja energía podemos lograr la formación de nanoemulsiones por la formación de gotas dentro de sistemas de agua-aceite-emulgente, mediante la alteración intencional de las condiciones del entorno o de la composición del sistema. Entre los procesos más utilizados se encuentran la formación espontánea de emulsiones o sistema de inversión de fases y el proceso de autoensamble, así como otros menos utilizados como la formación de emulsiones por membrana y desplazamiento del solvente (Silva *et al.*, 2011). Los métodos de baja energía permiten obtener nanoemulsiones de tamaño de gota pequeño con muy baja polidispersidad. Comúnmente estos métodos la baja energía requerida proviene de las transiciones o cambios de fase que se producen durante su formación. Cuando se cambian las variables en un sistema que se encuentra en equilibrio termodinámico, pasará que este cambia a un estado de desequilibrio que bajo tales condiciones se traduce en transiciones de fases formándose emulsiones con pequeño tamaño de gota o nano-emulsiones (Márquez *et al.*, 2007).

### **2.3. Caracterización de las nanoemulsiones**

Cuando hablamos de la caracterización debemos de entender que es la identificación de un material mediante el estudio de sus propiedades químicas, físicas o estructurales; tomando en cuenta esta base en la caracterización de una nanoemulsión nos interesa conocer el signo o tipo de la emulsión (O/W o W/O), el tamaño de glóbulo o de gota de la fase dispersa, la dispersión de tamaños de gota y la carga superficial de estas gotas. La técnica de caracterización del tamaño de gota de una nanoemulsión se basa normalmente en la dispersión dinámica de la luz, conocida como DLS (Dynamic Light Scattering) (Gómez-Vega, 2014).

#### **2.3.1. Dispersión dinámica de la Luz**

Para la caracterización del tamaño de las gotas en una nanoemulsión se utiliza una técnica basada en la dispersión dinámica de la luz, en ésta se dice que si un haz de luz

atraviesa un medio donde el índice de refracción es homogéneo en su totalidad, la luz no será desviada; pero cuando hay partículas dispersas en el mismo, variará el índice de refracción lo que hará que parte de la luz sea dispersada en diferentes direcciones. Cuando el haz de luz toca a esas partículas, los átomos y moléculas se polarizan y re-emiten luz, pero más débil, de la misma longitud de onda que la del haz incidente. La técnica de DLS, a la cual también se le conoce como espectroscopia de correlación de fotones, está basada en que las luces dispersadas por partículas con movimiento browniano presentan un desplazamiento pequeño de su longitud de onda debido al efecto Doppler, este desplazamiento solo puede ser medido mediante un rayo láser monocromático y muy intenso (Gómez-Vega, 2014; Heni *et al.*, 2017).

## 2.4. Estabilidad de las nanoemulsiones

Cuando hablamos de estabilidad de las nanoemulsiones nos estamos refiriendo a que éstas no presentarán cambios significativos que alteren su composición. La inestabilidad cinética indica que una sustancia poco a poco va transformándose en otra diferente a la que se tenía originalmente, después de sufrir algunos cambios físicos y químicos (Fonseca y Berrocal, 2004).

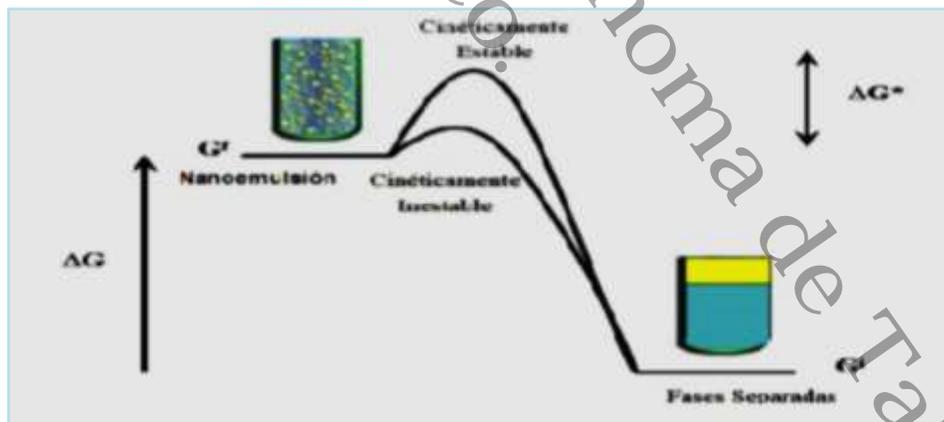


Figura 3. Perfil energético de las nanoemulsiones (Nunes de Godoi *et al.*, 2017).

La estabilidad cinética solo retrasa la separación de fases dado que las nanoemulsiones son termodinámicamente inestables (Figura 3). Las nanoemulsiones se desestabilizan por efecto del paso del tiempo, decreciendo el área total interfacial, lo

que se hace evidente cuando las gotas han aumentado de tamaño. Para determinar el área superficial de una emulsión se emplea la distribución de tamaños de gota mediante la dispersión dinámica de la luz (DLS), para detectar incrementos en sus tamaños de gota, lo que indica que la nanoemulsión está coalesciendo (Fernández-Arteaga, 2006).

### 3. Surfactantes

Los surfactantes ayudan a la estabilización de las nanoemulsiones permitiendo que éstas lleguen a ser termodinámicamente estables; las nanoemulsiones más estables son las que contienen una cantidad adecuada de surfactante el cual ayuda a ésta a hacerle frente a la coalescencia. A los surfactantes también se les conoce como tensoactivos o emulsificantes (Rachmawati *et al.*, 2017). Los surfactantes son sustancias anfifílicas (Figura 4), esto significa que poseen una doble afinidad, por una parte son afines a las fases acuosas, por la otra a las fases oleosas, al contar con una parte polar y una parte no-polar. La parte polar la podemos encontrar en los grupos alcohol, ácido, fosfato, sulfato, amina, amida, cetona, éter, etc. y por lo general presenta afinidad por sustancias como el agua por lo que se le denomina parte hidrofílica. La parte apolar que presenta afinidad a sustancias no-polares como los lípidos, por lo general se les conoce como parte lipofílica (Hussain *et al.*, 2016).

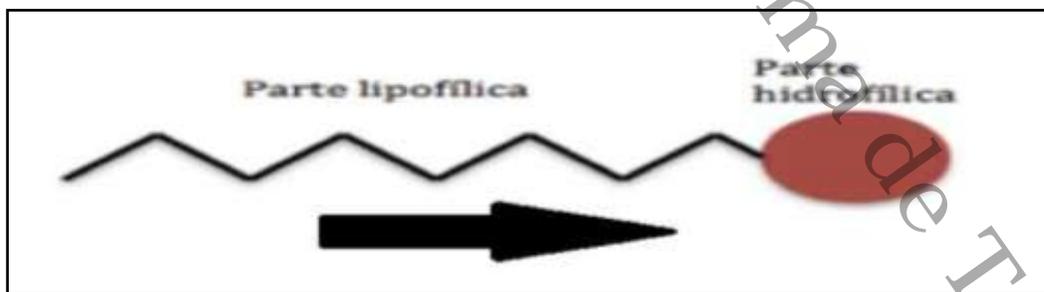
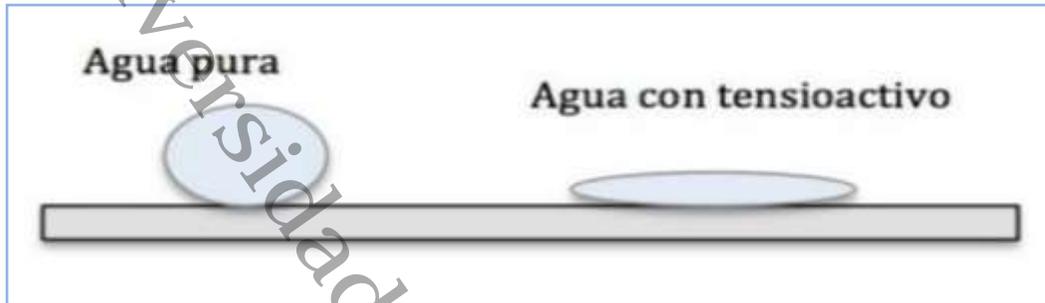


Figura 4. Estructura de un surfactante (Gómez-Vega, 2014).

Los surfactantes tienden a migrar hacia la interfase debido a su doble polaridad, tienden a orientar su porción polar hacia la fase acuosa y la porción apolar hacia la fase oleosa.

Por esta razón los surfactantes reducen la energía libre interfacial, Figura 5 (Rosen y Kunjappu, 2012).



**Figura 5. Efecto de los tensioactivos al colocar una gota acuosa sobre una superficie hidrófoba (Rosen y Kunjappu, 2012).**

### **3.1. Glicerol**

El glicerol se ha utilizado como cosurfactante, en la formulación de nanoemulsiones, por ejemplo para la elaboración de nanoemulsiones de cúrcuma, obteniendo nanoemulsiones con características aceptables entre los rangos de tamaño de glóbulo deseados. Los mejores resultados en cuanto a tamaño y estabilidad de una nanoemulsión se han logrado utilizando glicerol como cosurfactante, exhibiendo tamaños de partícula inferiores a 200 nm y potenciales zeta cercanos a los -12.7 mV. Otros cosurfactantes como el alcohol estearílico y el ácido esteárico, permiten la formación de las nanopartículas, teniendo influencia significativa en su tamaño, pero no en su potencial zeta (Rodríguez, 2015).

El glicerol puede producirse utilizando diferentes procesos y materias primas. Por ejemplo, puede ser obtenido por síntesis de propileno a través de varias vías, por hidrólisis de aceite o por transesterificación de ácidos grasos / aceites. Sin embargo, la producción de glicerol suele realizarse por fermentación con levaduras tales como *Saccharomyces cerevisiae*, *Candida spp.* o bacterias tales como *Bacillus subtilis* o algas como *Dunaliella tertiolecta* (Giuseppe *et al.*, 2017). De acuerdo con Hossein-Saberia *et al.* (2013), el aumento en la concentración de glicerol en una formulación disminuye el tamaño de partícula y la turbidez de las nanoemulsiones; además, se

puede obtener nanoemulsiones a niveles bajos de tensioactivo utilizando altos niveles de glicerol. La estabilidad de las nanoemulsiones es fuertemente influenciada por el glicerol y la temperatura de almacenamiento.

## 4. Neem

El aceite de neem es extraído del árbol del neem, puede ser de las hojas, semillas o de la corteza; es muy estudiado por sus propiedades insecticidas naturales, por su contenido de azadiractina (Muhammad *et al.*, 2016).

### 4.1. El árbol de neem

El árbol de neem (*Azadirachta indica*) perteneciente a la familia meliácea, es originario de la india y se ha distribuido a lo largo de las regiones tropicales y subtropicales de Asia, África, el Caribe y América del sur (Arqam-Bakhtyar *et al.*, 2016).

La *Azadirachta indica* es conocida en la india y sus alrededores desde hace más de 2,000 años. Se trata de una de las plantas más versátiles, con amplio espectro de actividad biológica; el árbol de neem tiene propiedades únicas, tanto para combatir a los insectos, como para mejorar la salud humana (Muhammad *et al.*, 2015).

El árbol puede alcanzar hasta 30 m de altura; la corteza es de color café rojizo y presenta fisuras verticales. Las hojas son de color verde brillante, ubicadas de forma alterna y son paripinadas. Las flores brotan en racimos axilares, son pequeñas, blancas y fragantes. Los frutos por lo general son elipsoidales, de textura lisa, al inicio son verdes y cuando maduran se vuelven amarillos, contienen una pulpa semidulce que envuelve a la semilla, la semilla es oleaginosa y esta recubierta por una casara dura (Mahaney *et al.*, 2016).

El árbol de neem se da en diferentes condiciones climáticas, estos resisten temperaturas de 0 a 49 °C pero su temperatura optima va de 20 °C a 27 °C, se desarrollan en zonas semiáridas y secas. El neem produce grandes cantidades de metabolitos entre los que destacan la azadiractina, el meliantriol, la salannim, el nimbidinim y el nimbin; el meliantriol, el salannim y el nimbin inhiben la alimentación de dípteros; el nimbidinim inhibe el crecimiento de los hongos y es tóxico para algunos

nemátodos. La azadiractina es el componente responsable del control de insectos (Sonali *et al.*, 2017).



**Figura 6.** El árbol de neem, a) fruto del neem maduro, b) árbol de neem de 8 años de edad, c) flor de neem en etapa previa a carga de fruto (Estrella-Rivadeneira, 2017).

## 4.2. Distribución geografía

Los árboles de neem se encuentran distribuidos por el continente africano, en Asia, la parte central y sur del continente americano y en Oceanía; la mayor parte de ellos se encuentran localizados al sudeste de Asia y al sur del Sahara. Actualmente en 78 países existen árboles neem. Se calcula que en todo el mundo existen entre 64 y 91 millones de ejemplares. El árbol del neem se introdujo en México en 1987 por la Universidad de Nuevo León y el Colegio de Postgraduados de Chapingo, con 264 y 100 árboles, respectivamente. Actualmente se encuentra distribuido en varios estados como Yucatán, Veracruz, Oaxaca, Morelos, Chiapas, Guanajuato, Sonora, Tabasco, Tamaulipas, Durango, Baja California Sur y San Luis Potosí (Sosa-Martínez *et al.*, 2012).

## 4.3. Beneficios del Neem

Desde hace muchos años se han reconocido los beneficios que tiene el neem, principalmente en Asia podemos encontrar que se ha utilizado como insecticida, antifúngico y anticonceptivo en la medicina alternativa. Si buscamos los principios activos del árbol los encontraremos en la corteza, ramas, hojas, raíces, semillas y tronco. El aceite extraído de las semillas es conocido por sus usos como antibacteriano, antifúngico, anti-fertilidad, inmunoestimulante, antipirético y acaricida (Gomes *et al.*, 2015). El compuesto activo del neem extraído de las semillas, la azadiractina, es un producto prometedor, gracias a su facilidad para degradarse y por su baja toxicidad en mamíferos. Este complejo el limonoide es el responsable de la toxicidad causada en los insectos (Elton-Luiz *et al.*, 2017).

#### **4.4. Aceite de Neem**

Para la extracción del aceite de neem se recomienda que la semilla esté semimadura. La cantidad de aceite obtenido dependerá de la calidad de la semilla y del tiempo de maduración que presente (Preedy, 2016). De estudios realizados por cromatografía de gases se ha determinado que el aceite de neem está compuesto principalmente por cinco ácidos grasos; los ácidos grasos saturados son el ácido palmítico (12 %), esteárico (30 %) y araquídico (3 %), mientras que los ácidos grasos insaturados son el oleico (50 %) y linoleico (5 %) (Chaudhari *et al.*, 2013).

#### **4.5. Extracción del aceite de Neem**

Para la extracción del aceite, deben tomarse en cuenta las características físicas y químicas de los materiales a utilizar (semillas, corteza u hojas), la cantidad de material que se someterá a la extracción, así como el método que se utilizará. Existen diferentes métodos para la extracción del aceite de neem, como puede ser la extracción por prensado en frío, la extracción con solventes, por Soxhlet, por ultrasonidos, o la extracción acuosa (Divine *et al.*, 2015).

##### **4.5.1. Prensado en frío**

El procedimiento se realiza a las semillas secas y descascaradas. Se colocan en una prensa provista de un tornillo sin fin, el cual moviliza, corta y prensa las semillas que se van adicionando, obteniéndose así un aceite que se colecta y se filtra para eliminar el particulado (Arias *et al.*, 2010).

#### **4.5.2. Extracción con solventes**

De acuerdo con Mahaney *et al.* (2016), para la extracción con solventes se debe tener en consideración que material es el que se someterá a la extracción del aceite para poder seleccionar el solvente a utilizar; el más utilizado para la extracción del aceite de las semillas es el hexano, el material extraído y filtrado se somete al equipo rota evaporador para recuperar el hexano, mientras la fracción aceitosa se recupera y se almacena en frío.

#### **4.5.3. Extracción por Soxhlet**

Este método requiere del equipo de Soxhlet, además de un disolvente en estado líquido que se coloca en él. Por calentamiento, se eleva la temperatura del solvente hasta su ebullición, éste se convertirá en gas que por condensación caerá sobre la muestra, arrastrando consigo la grasa. Debe tenerse en cuenta la temperatura que se utilizará para la extracción del aceite de neem por la degradación de la azadiractina (Nam *et al.*, 2017).

#### **4.5.4. Extracción por ultrasonidos**

Este tipo de extracción consiste en someter al material a extraer, previamente homogenizado, al equipo de ultrasonidos, donde será sometido en un solvente líquido a un esfuerzo tensional. Esto resulta en la formación ininterrumpida de micro burbujas cuyo tamaño aumenta miles de veces en la alternancia de los ciclos de ultrasonificación. Cuando las micro burbujas alcanzan un tamaño crítico implosionan o colapsan violentamente para volver al tamaño original de esta manera se puede obtener la mayor cantidad de aceite, cuidando sus propiedades químicas (Beltrán, 2014).

#### **4.5.5. Extracción acuosa**

Esta extracción consiste en sumergir el material a extraer en agua y dejarlo por un prolongado tiempo. Este método es común entre los productores artesanales de azadiractina (Zinaida *et al.*, 2017).

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.  
México.

## **HIPÓTESIS**

Nanoemulsiones de aceite en agua, formuladas a partir de aceite de Neem, con un tamaño de partícula menor a los 200 nm y una buena estabilidad durante su almacenamiento, podrán ser obtenidas por ultrasonificación, al utilizar diferentes concentraciones de glicerol como cosurfactante.

## **OBJETIVO GENERAL**

Formular, caracterizar y evaluar la estabilidad de nanoemulsiones de aceite de Neem, obtenidas por ultrasonificación, a diferentes concentraciones de glicerol.

## **OBJETIVOS ESPECIFICOS**

- Caracterizar el aceite de Neem obtenido de las hojas y las semillas de sus frutos por ultrasonificación con diferentes solventes, tiempos de ultrasonificación y temperaturas.
- Caracterizar nanoemulsiones de aceite de Neem obtenidas por ultrasonificación, a diferentes concentraciones de glicerol.
- Optimizar, utilizando la metodología de superficie de respuesta (RSM), el tamaño de glóbulo de las nanoemulsiones preparadas por ultrasonificación, a diferentes concentraciones de glicerol.
- Evaluar la estabilidad de las nanoemulsiones de aceite de Neem preparadas por ultrasonificación, a diferentes concentraciones de glicerol.

## METODOLOGÍA

### 1. Materiales

Se utilizaron hojas y semillas obtenidas de los frutos de neem (*Azadirachta indica*), ambos materiales fueron colectados de los árboles de neem localizados en el Área de Plantaciones, perteneciente al Programa Educativo de Ingeniería en Agronomía, de la División Académica de Ciencias Agropecuarias, de la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. Además, se utilizaron sulfato de sodio anhidrido, éter de petróleo, hexano, acetona y metanol para la extracción de los aceites, así como el emulsificante Sorbitán poliexietileno monolaurato, tween 20 (HLB = 16.7), glicerol y agua destilada desionizada para la preparación de las nanoemulsiones. Todos los reactivos fueron grado analítico, adquiridos de Sigma y los solventes de Teqsiquim (CDMX).

### 2. Métodos

#### 2.1. Obtención del aceite de Neem

El aceite de Neem se obtuvo, para ambos materiales (hojas y semillas) por el método de extracción con solventes asistida por ultrasonificación, empleando para ello un equipo ultrasónico de la marca Cole-parmer, modelo cpx-956-217r.

##### 2.1.1. A partir de las semillas

Se extrajeron manualmente las semillas de Neem, a partir de frutos maduros, frescos; las semillas fueron entonces secadas a temperatura ambiente, a la sombra y posteriormente se les extrajo de forma manual, el germen. El germen se secó también a temperatura ambiente, a la sombra; éste fue molido para entonces extraer el aceite. Se utilizaron éter de petróleo, hexano y acetona como solventes de extracción, a una relación de germen de semilla:solvente de 1:10 (peso: volumen). El material se extrajo a diferentes temperaturas (20, 30 y 40 °C) y tiempos de ultrasonificación (10, 20 y 30 min). La mezcla de extracción (aceite de neem:solvente) se separó del germen de las semillas por filtración sobre sulfato de sodio anhidro; el solvente fue separado de la

mezcla de extracción con ayuda de un rotaevaporador.

### **2.1.2. A partir de las hojas**

Las hojas frescas se secaron a temperatura ambiente, a la sombra, posteriormente se molieron para entonces llevar a cabo la extracción del aceite. Se utilizó hexano como solvente de extracción, a diferentes proporciones de hoja seca:solvente (1:2, 1:4 y 1:6 p:v). El material se extrajo a diferentes temperaturas (20, 30 y 40 °C) y tiempos de ultrasonificación (10, 20 y 30 min). La mezcla de extracción (aceite de neem:solvente) se separó de las hojas por filtración sobre sulfato de sodio anhidro; el solvente fue separado de la mezcla de extracción con ayuda de un rotaevaporador.

## **2.2. Caracterización del aceite de Neem**

La caracterización del aceite de Neem consistió en la determinación del rendimiento en la extracción y su contenido de azadiractina.

### **2.2.1. Determinación del rendimiento en aceite**

Para determinar el rendimiento de extracción de aceite a partir de las hojas y las semillas del árbol de neem, para cada uno de los diferentes tratamientos evaluados, una vez separado de los restos del material extraído y del solvente utilizado para su extracción, se pesó. El porcentaje en peso (EO) de la cantidad de extracto oleoso obtenido (WEO; g) para la cantidad de material procesado (WMP; g) se calculó como rendimiento con la ecuación (Esparza-Díaz, 2010):

$$EO (\%) = (WEO \times 100 / WMP)$$

### **2.2.2. Determinación del contenido de azaridactina en el aceite**

La concentración de azaridactina en el aceite extraído a partir de las hojas y las semillas del árbol de neem, para cada uno de los diferentes tratamientos evaluados, se determinó para comparar la eficiencia de extracción; ésta cuantificación se realizó por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC), de acuerdo con la metodología descrita por Kaushik (2002). Se utilizó un cromatógrafo de líquidos de alta resolución equipado con un automuestreador Waters717plus, una bomba binaria HPLC Waters

1525, un detector UV-Visible Waters 2487 y una columna Alltech de 150 x 3.9 mm empacada con alphaBond C18 de tamaño de partícula de 10  $\mu$  y tamaño de poro de 125 Å. La fase móvil consistió en agua-acetonitrilo (60:40) a un flujo isocrático de 1 mL/min por 20 min. La detección de azadiractina se llevó a cabo por absorbancia a una longitud de onda de 217 nm. Todos los análisis se llevaron a cabo a temperatura ambiente. El pico correspondiente a la azadiractina se detectó a los 3.8 minutos y fue validado con un estándar certificado de Sigma-Aldrich (St. Louis MS.) con pureza de 95 %.

### **2.3. Formulación y preparación de las nanoemulsiones**

La formulaciones de las nanoemulsiones aceite en agua, se obtuvieron del diseño experimental propuesto que incluye, diferentes concentraciones de aceite, diferentes proporciones de aceite-emulsificante y diferentes concentraciones de glicerol en la fase acuosa. En la Tabla 2 puede observarse la composición de cada una de las formulaciones evaluadas considerando un diseño experimental central compuesto  $2^3$  (ver tablas 5 y 6). Las nanoemulsiones fueron preparadas por emulsificación, homogeneización a alta velocidad, seguida de ultrasonificación de alta energía, utilizando el aceite de neem, el emulsificante no iónico Tween 20, glicerol y agua destilada desionizada. La fase oleosa se preparó por la adición del aceite de neem al emulsificante; mientras que la fase acuosa se preparó por la adición del agua destilada desionizada al glicerol; se adicionó la fase acuosa (agua destilada desionizada - glicerol) a la fase oleosa (aceite - emulsificante) y la mezcla se homogenizó durante 3 min a 20,000 rpm, usando un homogeneizador Ultra-Turrax T25 digital (IKA Works, Inc. Staufen, Alemania), para producir una emulsión gruesa de aceite en agua. Para obtener las nanoemulsiones, la emulsión gruesa se sometió a ultrasonificación, a 20 % de amplitud y 50 % del ciclo de trabajo, en un Sonicador Branson Digital S-450D (Branson Ultrasonics Corp., Danbury, CT), por 9 minutos, en ciclos de 1 minuto de sonicación, 1 minuto de reposo, siempre sobre un baño de hielo para evitar la elevación de la temperatura durante el proceso.

**Tabla 2. Formulaciones de las nanoemulsiones preparadas y evaluadas de acuerdo con el diseño experimental propuesto**

<b>Formulación</b>	<b>Aceite (g/10 g de NE)</b>	<b>Emulsificante Tween 20 (g/10g de NE)</b>	<b>Glicerol (g/10 g de NE)</b>	<b>Agua destilada desionizada (g/10 g de NE)</b>
1	0.3	0.6	0.91	8.19
2	0.7	1.4	0.79	7.11
3	0.3	1.2	0.85	7.65
4	0.7	2.8	0.65	5.85
5	0.3	0.6	1.82	7.28
6	0.7	1.4	1.58	6.32
7	0.3	1.2	1.7	6.8
8	0.7	2.8	1.3	5.2
9	0.1	0.3	1.44	8.16
10	0.9	2.7	0.96	5.44
11	0.5	0.5	1.35	7.65
12	0.5	2.5	1.05	5.95
13	0.5	1.5	0.4	7.6
14	0.5	1.5	2.0	6.0
15	0.5	1.5	1.2	6.8

#### **2.4. Caracterización de las nanoemulsiones**

Se determinó el tamaño de glóbulo, la distribución del tamaño de glóbulo, como índice de polidispersidad (PDI) y la carga superficial del glóbulo, como potencial zeta, de las nanoemulsiones, utilizando un dispositivo de dispersión de luz dinámica Zetasizer Nano-ZS90 (Malvern Instruments Inc.) a un ángulo fijo de 90° y a una temperatura de 25 °C. Antes de realizar las mediciones del tamaño de glóbulo y distribución del tamaño de glóbulo, las muestras se diluyeron con agua destilada desionizada utilizando un factor de dilución de 1:200 para evitar los efectos múltiples de dispersión. Para determinar la carga superficial, las muestras se diluyeron con agua destilada desionizada usando un factor de dilución de 1:100.

## 2.5. Estabilidad de las nanoemulsiones

Las nanoemulsiones fueron almacenadas a una temperatura de 4 °C; durante los primeros 28 días, cada 7 días se les determinó su tamaño de glóbulo, distribución de tamaños de glóbulo y carga superficial, las mismas determinaciones se realizaron a los 365 días de almacenamiento.

## 3. Diseño experimental y análisis estadístico

### 3.1. Obtención del aceite de neem a partir de las semillas

Para evaluar el efecto del tiempo de ultrasonificación, la temperatura y el tipo de solvente sobre el rendimiento de extracción de aceite a partir del germen de la semillas de neem, se planteó un diseño factorial  $3^3$  considerando como factores al tiempo de ultrasonificación (10, 20 y 30 min), la temperatura de extracción (20, 30 y 40 °C) y el tipo de solvente empleado (éter de petróleo, hexano y acetona). Los tratamientos evaluados se muestran en la Tabla 3.

**Tabla 3. Tratamientos propuestos para evaluar el rendimiento de extracción de aceite a partir del germen de la semillas de neem**

Tratamiento	Solvente	Temperatura (°C)	Tiempo (Min)
1	Éter de petróleo	20	10
2	Éter de petróleo	20	20
3	Éter de petróleo	20	30
4	Éter de petróleo	30	10
5	Éter de petróleo	30	20
6	Éter de petróleo	30	30
7	Éter de petróleo	40	10
8	Éter de petróleo	40	20
9	Éter de petróleo	40	30
10	Hexano	20	10
11	Hexano	20	20
12	Hexano	20	30
13	Hexano	30	10
14	Hexano	30	20
15	Hexano	30	30

16	Hexano	40	10
17	Hexano	40	20
18	Hexano	40	30
19	Acetona	20	10
20	Acetona	20	20
21	Acetona	20	30
22	Acetona	30	10
23	Acetona	30	20
24	Acetona	30	30
25	Acetona	40	10
26	Acetona	40	20
27	Acetona	40	30

Los resultados obtenidos del experimento se analizaron por medio de un análisis de varianza, con posterior análisis de comparación de medias. Se empleó para ello una prueba de Tukey a una  $P < 0.05$ . El paquete estadístico utilizado fue STATISTICA V. 6.0.

### 3.2. Obtención del aceite de neem a partir de las hojas

Para evaluar el efecto de las diferentes proporciones de hoja seca:solvente (1:2, 1:4 y 1:6, p/v), temperaturas (30, 40 y 50 °C) y tiempos de extracción (10, 20 y 30 min), sobre el rendimiento de extracción de aceite a partir de las hojas del árbol de neem, se utilizó un diseño factorial  $3^3$ .

**Tabla 4. Tratamientos propuestos para evaluar el rendimiento de extracción de aceite a partir de las hojas del árbol de neem**

Tratamiento	Proporción de hoja seca:solvente	Temperatura (°C)	Tiempo (Min)
1	1:2	30	10
2	1:2	30	20
3	1:2	30	30
4	1:2	40	10
5	1:2	40	20
6	1:2	40	30
7	1:2	50	10
8	1:2	50	20
9	1:2	50	30
10	1:4	30	10
11	1:4	30	20

12	1:4	30	30
13	1:4	40	10
14	1:4	40	20
15	1:4	40	30
16	1:4	50	10
17	1:4	50	20
18	1:4	50	30
19	1:6	30	10
20	1:6	30	20
21	1:6	30	30
22	1:6	40	10
23	1:6	40	20
24	1:6	40	30
25	1:6	50	10
26	1:6	50	20
27	1:6	50	30

Los resultados obtenidos del experimento se analizaron por medio de un análisis de varianza, con posterior análisis de comparación de medias. Se empleó para ello una prueba de Tukey a una  $P < 0.05$ . El paquete estadístico utilizado fue STATISTICA V. 6.0.

### 3.3. Obtención del tratamiento óptimo

Para determinar el efecto de los factores,  $X_1$  = concentración de aceite,  $X_2$  = relación de aceite-emulsificante y  $X_3$  = concentración de glicerol en la fase acuosa, sobre el tamaño de glóbulo en las nanoemulsiones preparadas por ultrasonificación, para obtener así el tratamiento óptimo, se utilizó un diseño central compuesto  $2^3$ , tres factores a dos niveles, con  $2n = 2(3)$  puntos axiales, así como el  $m$  punto central. Para obtener un total de  $N = 2^3 + 2(3) + m = 8 + 6 + 1 = 15$  tratamientos experimentales; con su réplica, un total de 30 corridas experimentales (Tabla 5).

**Tabla 5. Coordenadas codificadas del diseño central compuesto  $2^3$**

Factorial $2^3$			Axiales 2(3)			Central*		
$x_1$	$x_2$	$x_3$	$x_1$	$x_2$	$x_3$	$x_1$	$x_2$	$x_3$
-1	-1	-1	$-\alpha$	0	0	0	0	0
+1	-1	-1	$+\alpha$	0	0			
-1	+1	-1	0	$-\alpha$	0			
+1	+1	-1	0	$+\alpha$	0			
-1	-1	+1	0	0	$-\alpha$			
+1	-1	+1	0	0	$+\alpha$			
-1	+1	+1						
+1	+1	+1						

\*m réplicas

Los tratamientos a evaluar en el experimento pueden verse en la Tabla 6, en donde: A es la concentración de aceite (%), RAE es la relación de aceite-emulsificante (p/p) y Gly es la concentración de glicerol en la fase acuosa (%).

**Tabla 6. Tratamientos propuestos para evaluar el tamaño de glóbulo en las nanoemulsiones**

Tratamiento	A	RAE	Gly
1	3	1:2	10
2	7	1:2	10
3	3	1:4	10
4	7	1:4	10
5	3	1:2	20
6	7	1:2	20
7	3	1:4	20
8	7	1:4	20
9	1	1:3	15
10	9	1:3	15
11	5	1:1	15
12	5	1:5	15
13	5	1:3	5
14	5	1:3	25
15	5	1:3	15

El análisis estadístico de los resultados obtenidos se realizó con base en la metodología de superficie de respuesta (MSR), para ello se utilizó el paquete estadístico MINITAB versión 14.0

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 1. Obtención y caracterización del aceite de neem

Se obtuvo el aceite de neem, a partir del germen de las semillas y a partir de las hojas, por extracción con solventes asistida por ultrasonificación.

#### 1.1. Rendimiento de aceite de neem

Los resultados obtenidos para el rendimiento, en porcentaje de peso, del aceite extraído a partir del germen de las semillas de neem, para cada uno de los tratamientos evaluados, se presentan en la Tabla 7.

**Tabla 7. Rendimiento en aceite extraído a partir del germen de las semillas de neem, para cada uno de los tratamientos evaluados**

Condiciones empleadas para la extracción			Aceite extraído (%)	
Solvente	Temperatura (°C)	Tiempo (Min)	Promedio	DS
Éter	20	10	29.64	0.28
Éter	20	20	38.25	4.09
Éter	20	30	37.47	2.55
Éter	30	10	35.74	3.81
Éter	30	20	44.23	0.85
Éter	30	30	39.26	3.77
Éter	40	10	43.64	1.85
Éter	40	20	49.57	4.11
Éter	40	30	39.91	4.20
Hexano	20	10	34.67	5.11
Hexano	20	20	36.15	4.27
Hexano	20	30	34.90	5.70
Hexano	30	10	33.96	0.23
Hexano	30	20	34.15	4.47
Hexano	30	30	38.77	4.33
Hexano	40	10	35.87	2.79
Hexano	40	20	41.21	3.03
Hexano	40	30	36.60	1.70
Acetona	20	10	40.64	4.58
Acetona	20	20	35.32	1.08
Acetona	20	30	41.32	2.38
Acetona	30	10	40.35	2.30
Acetona	30	20	39.73	0.84
Acetona	30	30	44.65	4.52
Acetona	40	10	41.77	2.63
Acetona	40	20	49.07	2.19
Acetona	40	30	43.84	9.46

Al evaluar el efecto del tiempo de ultrasonificación, la temperatura y el tipo de solvente sobre el rendimiento de extracción del aceite (Tabla 8), se observa un efecto significativo de los tres factores, así como de las interacciones tiempo-temperatura y tiempo-tipo de solvente.

**Tabla 8. Análisis de Varianza que describe la influencia de los diferentes factores evaluados sobre el rendimiento de extracción de aceite a partir del germen de las semillas de neem**

Factores	Grados de libertad debidos al factor	Suma media de cuadrados debida al factor	Grados de libertad debidos al error	Suma media de cuadrados debida al error	F	Valor de P
S	2	216.148	54	14.133	15.2938	0.00001
TE	2	236.986	54	14.133	16.7682	0.00000
TI	2	84.609	54	14.133	5.9866	0.00449
S x TE	4	25.190	54	14.133	1.7824	0.14582
S x TI	4	40.513	54	14.133	2.8666	0.03164
TE x TI	4	48.286	54	14.133	3.4165	0.01460
S x TE x TI	8	19.377	54	14.133	1.3710	0.23019

El efecto de cada factor (S, solvente; TE, temperatura; TI, tiempo de extracción), así como de sus interacciones dobles y triple, es significativo si el valor de P < 0.05.

En la Figura 7a puede observarse el efecto del tipo de solvente sobre el rendimiento, encontrando que tanto la acetona como el éter de petróleo fueron los solventes que mayor rendimiento de extracción generaron en comparación con el hexano. La temperatura también mostró un efecto significativo sobre el rendimiento, observando que al aumentar ésta mayor era la extracción de aceite (Figura 7b). Por otro lado, el tiempo de ultrasonificación presentó un significativo efecto, sobre el rendimiento de extracción, siendo mayor el rendimiento con 20 minutos de extracción (Figura 7c).

En la Figura 8, se muestra el gráfico de valores medios obtenidos para la interacción triple, en ésta se observa el efecto de la temperatura sobre el rendimiento de extracción al utilizar los diferentes solventes; encontrando que para el éter de petróleo se

incrementa la eficiencia de extracción al aumentar la temperatura, en los tratamientos llevados a cabo durante 10 y 20 minutos. Similar comportamiento mostró la acetona con 20 minutos de tratamiento.

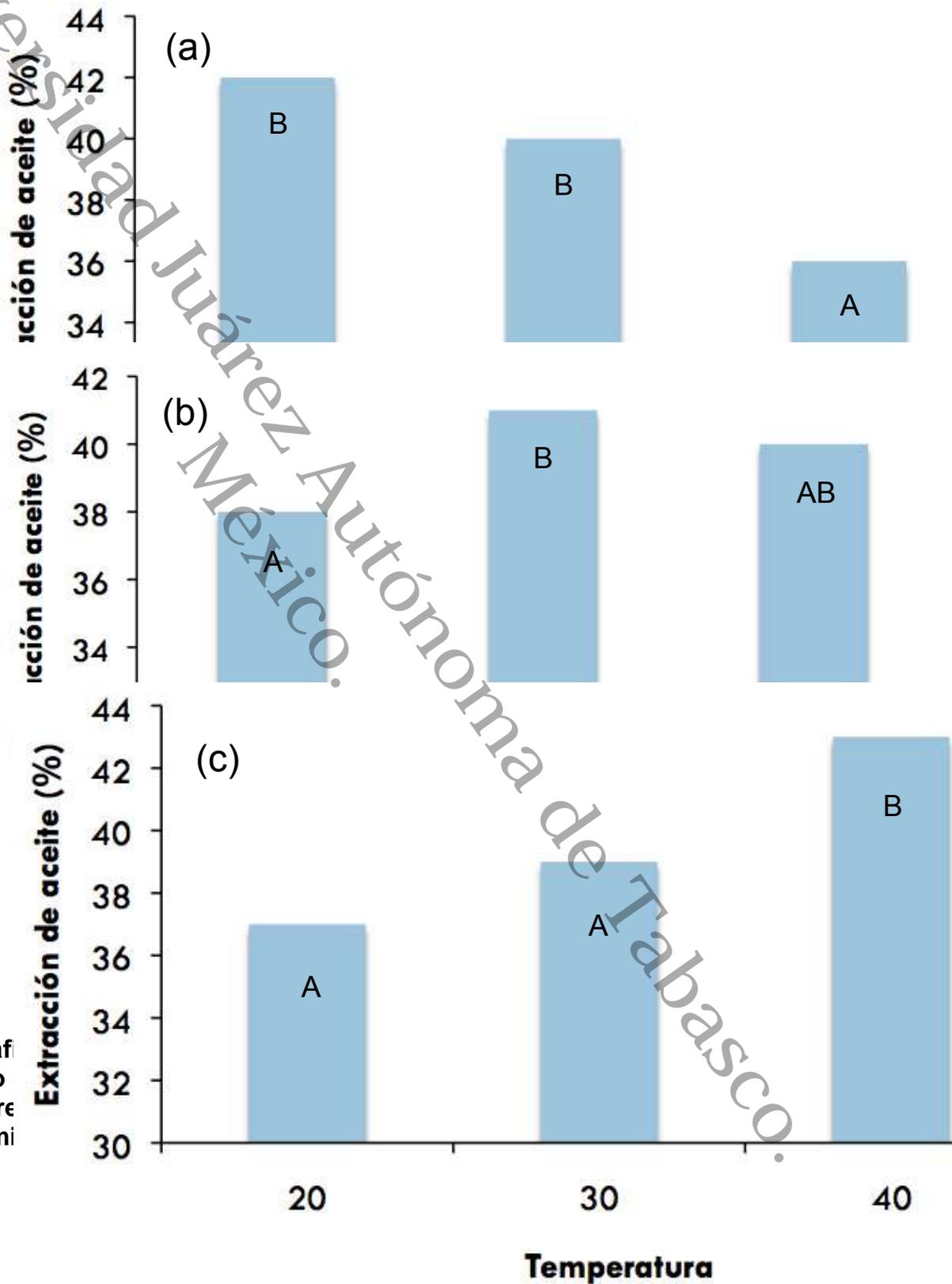
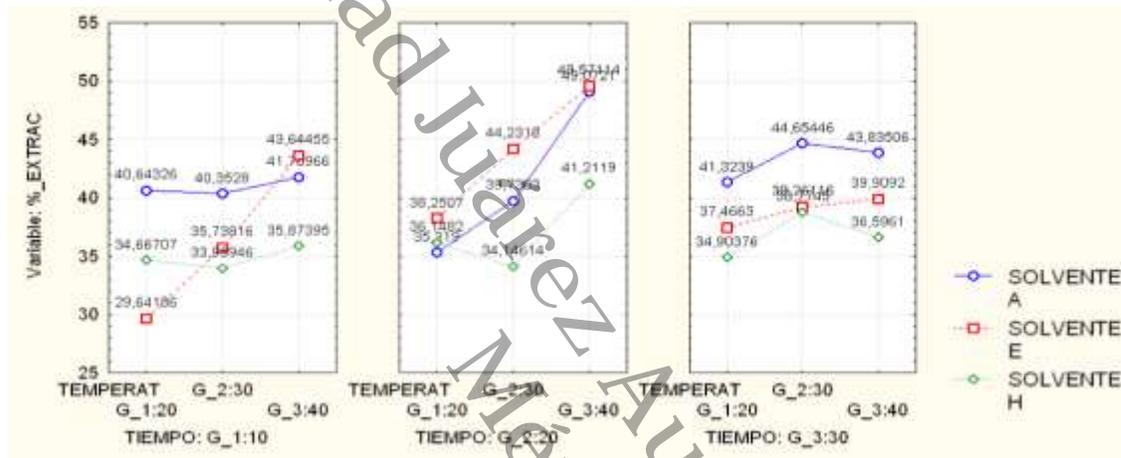


Figura 7. Gráfico de barras que muestra el porcentaje de extracción de aceite en función de la temperatura para tres diferentes tratamientos (a, b y c).

No siendo así para el hexano. Las mejores condiciones de extracción fueron una temperatura de 40 °C, un tiempo de ultrasonificación de 20 min, utilizando éter de petróleo o acetona como solventes; en éstas condiciones el rendimiento en aceite fue de  $49.6 \pm 2.2$  y  $49.1 \pm 4.1$  %, respectivamente. Estos resultados son congruentes con lo reportado por Djibril *et al.* (2015), quien indica que el contenido de aceite en la semilla entera es de alrededor del 29 %, mientras que en el germen éste llega a ser del 49 %.



**Figura 8.** Gráfico de valores medios obtenido para la interacción triple entre el tiempo de ultrasonificación, la temperatura y el tipo de solvente (A, acetona; E, éter de petróleo; H, hexano), sobre el rendimiento de extracción de aceite a partir del germen de las semillas de neem.

Los resultados obtenidos para el rendimiento, en porcentaje de peso, del aceite extraído a partir de las hojas del árbol de neem, para cada uno de los tratamientos evaluados, se presentan en la Tabla 9.

Al evaluar el efecto de la proporción de hoja seca:solvente (p/v), temperatura (°C) y tiempo de ultrasonificación (min), sobre el rendimiento de extracción del aceite a partir de las hojas del árbol de neem (Tabla 10), se obtuvo un efecto significativo de los tres factores, así como de las interacciones dobles, proporción de hoja seca:solvente-temperatura y temperatura-tiempo, al igual que de la interacción triple.

En la Figura 9 (a), se observa que la proporción de hoja seca:solvente, 1:4 (p/v) permite alcanzar un mayor rendimiento en la extracción de aceite de las hojas de neem;

en cuanto al tiempo, Figura 9 (b), no hay diferencia significativa en el rendimiento en la extracción de aceite al ultrasonicar 20 o 30 minutos; lo mismo se observa al ultrasonicar a las temperaturas de 40 o 50 °C, Figura 9 (c).

**Tabla 9. Rendimiento en aceite extraído a partir de las hojas del árbol de neem, para cada uno de los tratamientos evaluados**

Condiciones empleadas para la extracción			Aceite extraído (%)	
proporción de hoja seca:solvente (p/v)	Temperatura (°C)	Tiempo (Min)	Promedio	DS
1:2	30	10	0.96	0.40
1:2	30	20	1.72	0.75
1:2	30	30	2.05	1.22
1:2	40	10	2.21	0.47
1:2	40	20	4.36	1.06
1:2	40	30	4.06	0.82
1:2	50	10	4.22	0.96
1:2	50	20	2.96	1.25
1:2	50	30	4.49	1.18
1:4	30	10	3.61	0.18
1:4	30	20	4.95	0.45
1:4	30	30	5.80	2.02
1:4	40	10	4.23	1.13
1:4	40	20	6.57	1.73
1:4	40	30	5.38	0.40
1:4	50	10	5.92	0.60
1:4	50	20	6.80	1.85
1:4	50	30	5.10	0.50
1:6	30	10	1.65	0.09
1:6	30	20	1.98	1.07
1:6	30	30	0.53	0.05
1:6	40	10	0.51	0.04
1:6	40	20	2.51	0.96
1:6	40	30	2.97	1.36
1:6	50	10	0.58	0.02
1:6	50	20	0.70	0.05
1:6	50	30	0.96	0.13

En la Figura 10, se muestra el gráfico de valores medios obtenidos para la interacción triple, en éste se observa que el mayor rendimiento alcanzado para la extracción de aceite de neem a partir de sus hojas,  $6.81 \pm 1.81$  %, se alcanzó a la proporción de hoja seca:solvente de 1:4 (p/v), a una temperatura de 50 °C y un tiempo de ultrasonicación

de 20 min; seguido por un rendimiento de  $6.57 \pm 1.73$  % de extracción, a las mismas condiciones de proporción de hoja seca:solvente (1:4 p/v) y tiempo de ultrasonificación (20 min), pero a una temperatura de 40 °C.

De acuerdo con Arias *et al.* (2009), el rendimiento de aceite a partir de hojas de neem, extraído con hexano a una proporción de hoja:solvente de 1:2 p/v, en frío y con agitación por 24 horas, fue del 2.37 %; por lo que en este trabajo se ha obtenido un porcentaje de extracción superior con ayuda de la ultrasonificación.

**Tabla 10. Análisis de Varianza que describe la influencia de los diferentes factores evaluados sobre el rendimiento de extracción de aceite a partir de las hojas del árbol de neem**

Factores	Grados de libertad debidos al factor	Suma media de cuadrados debida al factor	Grados de libertad debidos al error	Suma media de cuadrados debida al error	F	Valor de P
RSS	2	109.099	54	0.918	118.8985	0.00000
TE	2	9.112	54	0.918	9.9309	0.00021
TI	2	7.318	54	0.918	7.9756	0.00092
RSS x TE	4	5.698	54	0.918	6.2101	0.00035
RSS x TI	4	1.026	54	0.918	1.1184	0.35747
TE x TI	4	3.312	54	0.918	3.6100	0.01115
RSS x TE x TI	8	1.988	54	0.918	2.1671	0.04475

El efecto de cada factor (RSS, proporción de hoja seca:solvente; TE, temperatura; TI, tiempo de extracción), así como de sus interacciones dobles y triple, es significativo si el valor de  $P < 0.05$ .

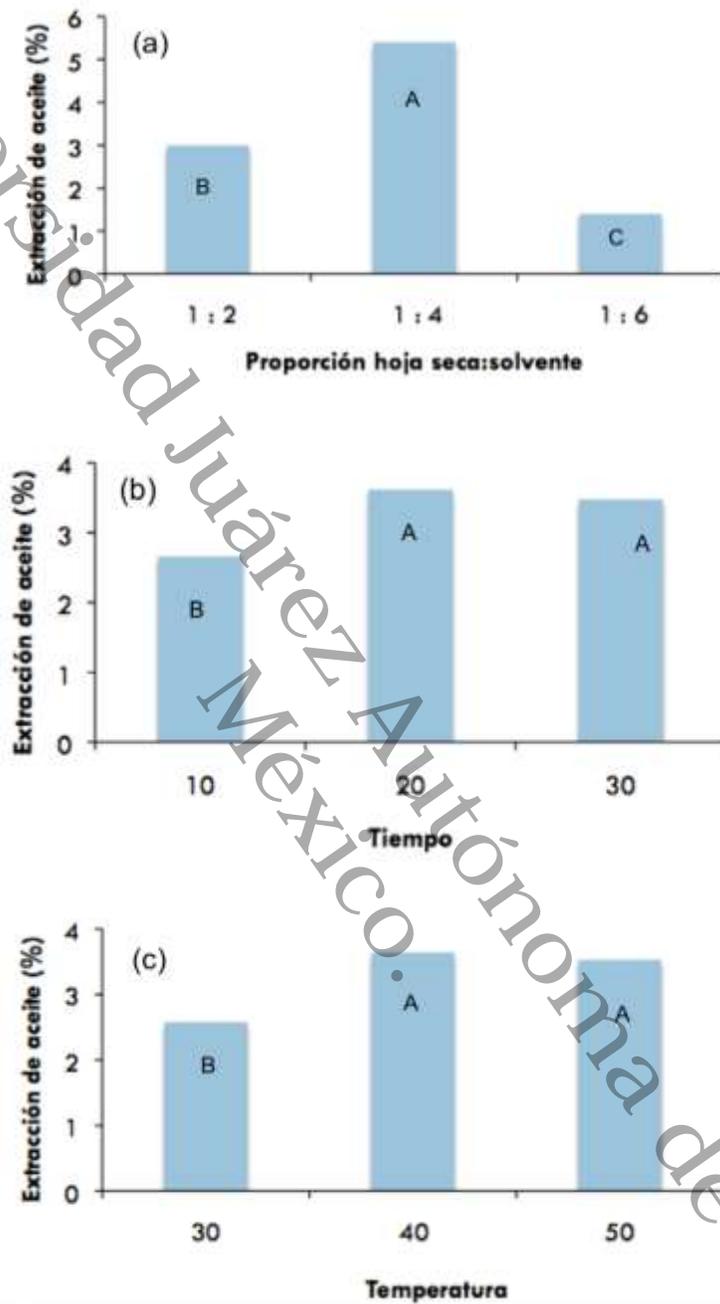
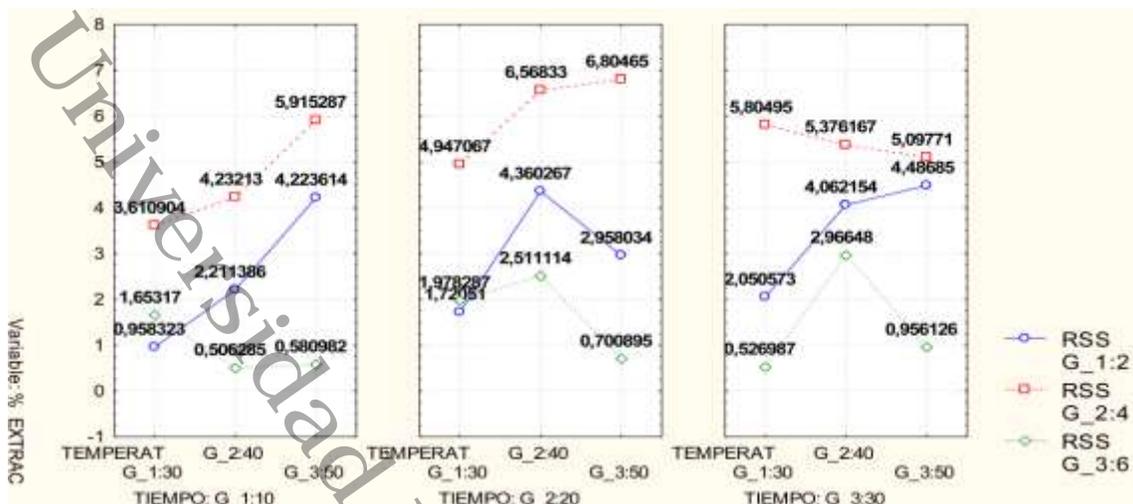


Figura 9. Gráficos de valores medios obtenidos para los efectos principales, (a) proporción de hoja seca:solvente, (b) tiempo de ultrasonificación y (c) temperatura, sobre el rendimiento de extracción de aceite a partir de las hojas de neem.



**Figura 10. Gráfico de valores medios obtenido para la interacción triple entre el tiempo de ultrasonificación, la temperatura y la proporción de hoja seca:solvente (RSS), sobre el rendimiento de extracción de aceite a partir de las hojas de neem.**

### 1.2. Contenido en azaridactina del aceite de neem

Los resultados obtenidos para el contenido en azaridactina del aceite de neem, en porcentaje de peso, del aceite extraído a partir del germen de las semillas y a partir de las hojas del árbol de neem, para cada uno de los tratamientos evaluados, se presentan en las Tablas 11 y 12, respectivamente.

Para el aceite extraído a partir del germen de las semillas de neem, el mayor contenido de azaridactina se alcanzó también a las mejores condiciones de extracción: temperatura de 40 °C, tiempo de ultrasonificación de 20 min y éter de petróleo como solvente; en éstas condiciones, se obtuvo un contenido de azaridactina de  $284.41 \pm 46.53$  mg por g de aceite extraído; un contenido de azaridactina de  $278.51 \pm 71.14$  mg por g de aceite se obtuvo al utilizar las mismas condiciones de temperatura y tipo de solvente, pero con un tiempo de ultrasonificación de 10 min, no obstante en éstas condiciones el porcentaje de aceite extraído es menor (Tabla 11).

**Tabla 11. Contenido en azaridactina en el aceite extraído a partir del germen de las semillas de neem, para cada uno de los tratamientos evaluados**

Condiciones empleadas para la extracción			Azaridactina (mg/g de aceite extraído)	
Solvente	Temperatura (°C)	Tiempo (Min)	Promedio	DS
Éter de petróleo	20	10	39.98	5.42
Éter de petróleo	20	20	157.03	34.58
Éter de petróleo	20	30	103.46	3.83
Éter de petróleo	30	10	157.63	24.08
Éter de petróleo	30	20	128.28	14.82
Éter de petróleo	30	30	191.99	42.46
Éter de petróleo	40	10	278.51	71.14
Éter de petróleo	40	20	284.41	46.53
Éter de petróleo	40	30	208.21	10.66
Hexano	20	10	184.37	18.73
Hexano	20	20	188.52	57.49
Hexano	20	30	164.46	4.56
Hexano	30	10	164.59	7.13
Hexano	30	20	154.98	12.16
Hexano	30	30	164.03	4.35
Hexano	40	10	131.75	12.49
Hexano	40	20	52.11	6.48
Hexano	40	30	141.77	8.78
Acetona	20	10	211.59	15.35
Acetona	20	20	91.49	1.74
Acetona	20	30	245.07	57.10
Acetona	30	10	218.82	11.23
Acetona	30	20	168.65	16.54
Acetona	30	30	219.95	13.79
Acetona	40	10	213.71	16.74
Acetona	40	20	117.69	37.71
Acetona	40	30	-----	-----

Al utilizar acetona como solvente de extracción, pero una temperatura de 20 °C y un tiempo de ultrasonificación de 30 min, se obtuvo un contenido de azaridactina de 245.07 ± 57.10 mg por g de aceite extraído; sin embargo, utilizando también acetona como solvente, a las mejores condiciones de extracción, temperatura de 40 °C, tiempo de ultrasonificación de 20 min, el contenido de azaridactina fue de solo 117.69 ± 37.71 mg por g de aceite extraído (Tabla 11).

**Tabla 12. Contenido en azaridactina en el aceite extraído a partir de las hojas del árbol de neem, para cada uno de los tratamientos evaluados**

Condiciones empleadas para la extracción			Azaridactina (mg/g de aceite extraído)	
proporción de hoja seca:solvente (p/v)	Temperatura (°C)	Tiempo (Min)	Promedio	DS
1:2	30	10	144.63	13.83
1:2	30	20	157.69	5.78
1:2	30	30	559.36	180.64
1:2	40	10	253.30	217.69
1:2	40	20	358.73	116.38
1:2	40	30	580.34	34.27
1:2	50	10	678.08	129.50
1:2	50	20	632.68	68.12
1:2	50	30	470.20	122.88
1:4	30	10	782.16	84.56
1:4	30	20	620.94	80.43
1:4	30	30	825.17	114.20
1:4	40	10	396.29	69.47
1:4	40	20	448.65	103.49
1:4	40	30	619.62	71.15
1:4	50	10	506.85	160.13
1:4	50	20	590.09	122.02
1:4	50	30	551.77	51.21
1:6	30	10	674.87	73.27
1:6	30	20	772.75	130.67
1:6	30	30	175.54	54.85
1:6	40	10	233.11	51.16
1:6	40	20	499.07	55.73
1:6	40	30	560.47	10.86
1:6	50	10	231.10	81.39
1:6	50	20	366.73	96.52
1:6	50	30	410.50	45.08

Para el aceite extraído a partir de las hojas de neem, el mayor contenido de azaridactina se alcanzó a una proporción de hoja seca:solvente de 1:4 (p/v), a una temperatura de 30 °C y un tiempo de ultrasonificación de 30 min; en éstas condiciones, se obtuvo un contenido de azaridactina de  $825.17 \pm 112.20$  mg por g de aceite extraído; al utilizar las mismas condiciones de proporción de hoja seca:solvente (1:4 p/v) y

temperatura (30 °C), pero un tiempo de ultrasonificación de 10 min, se obtuvo un contenido de azaridactina de  $782.16 \pm 84.56$  mg por g de aceite; mientras que al utilizar una proporción de hoja seca:solvente de 1:6 (p/v), una temperatura de 30 °C y un tiempo de ultrasonificación de 20 min, el contenido de azaridactina fue de  $772.75 \pm 130.65$  mg por g de aceite extraído (Tabla 12).

Por otra parte, para las mejores condiciones de extracción de aceite de neem a partir de las hojas: proporción de hoja seca:solvente de 1:4 (p/v), tiempo de ultrasonificación de 20 min y temperatura de 50 o 40 °C; el contenido de azaridactina en el aceite extraído fue de  $590.09 \pm 122.02$  mg y  $448.65 \pm 103.49$  mg por g de aceite, respectivamente (Tabla 12).

Cabe destacar que, a pesar de haber obtenido una menor cantidad de aceite a partir de las hojas de neem con respecto a la cantidad encontrada en el germen de sus semillas, el contenido de azadiractina resultó ser mayor mayor en el aceite obtenido de las hojas, que en el aceite obtenido a partir del germen de sus semillas. En este sentido Arias *et al.* (2009), reporta una concentración de azaridactina similar, entre el aceite obtenido de las hojas de neem y el aceite obtenido de las semillas.

## **2. Preparación y caracterización de las nanoemulsiones**

De acuerdo con el diseño experimental, se prepararon y caracterizaron 15 nanoemulsiones a diferentes concentraciones de aceite (A), relaciones aceite-emulsificante (RAE) y concentraciones de glicerol en la fase acuosa (GLY).

### **2.1. Tamaño de glóbulo de la nanoemulsiones**

Los métodos de alta energía utilizados para la preparación de nanoemulsiones incluyen a la ultrasonificación, que puede reducir el tamaño de glóbulo a escala nanométrica (McClements, 2010). Sin embargo, es necesario evaluar las variables de proceso y de composición durante su formación por ultrasonificación. En este trabajo, las nanoemulsiones preparadas con aceite de neem y glycerol fueron sonicadas en el equipo ultrasonicador a una amplitud del 20 %, a diferentes tiempos de irradiación (Figura 11); a esta amplitud de ultrasonificación, el tiempo de irradiación tuvo un efecto

significativo sobre el tamaño de glóbulo de las nanoemulsiones (ANOVA  $F = 167.3099$ ;  $p < 0.0000$ ).

En la Figura 12 se observa que los tiempos de irradiación de 2 y 4 minutos redujeron significativamente el tamaño de glóbulo de las nanoemulsiones, no así los tiempos de 6, 8 y 9 minutos de ultrasonificación. En este sentido Cavazos-Garduño *et al.* (2014) al estudiar el efecto de la amplitud de ultrasonificación, el tiempo de irradiación y la concentración de emulsificante en el tamaño alcanzado por las nanoemulsiones, encontró que el tamaño de glóbulo se vió afectado principalmente por el tiempo de irradiación.

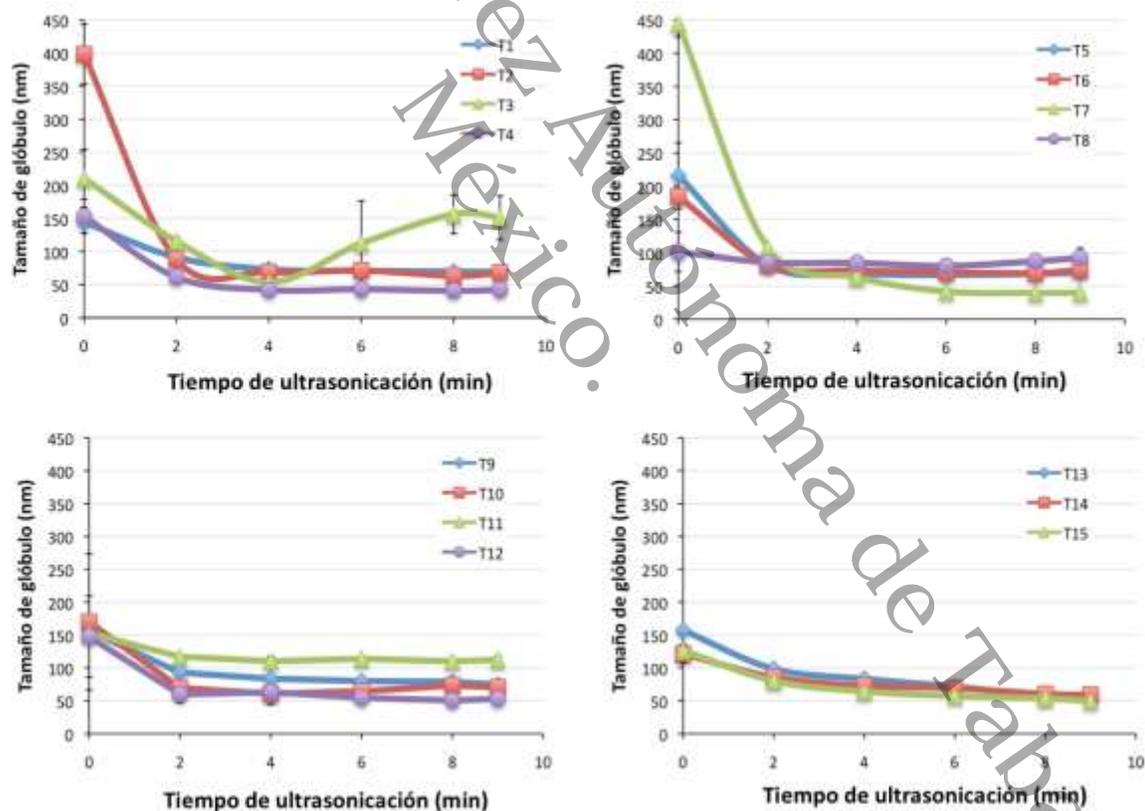


Figura 11. Tamaño de glóbulo alcanzado, para cada una de las nanoemulsiones formuladas correspondientes al diseño experimental propuesto (T1 a T15), a los diferentes tiempos de ultrasonificación.

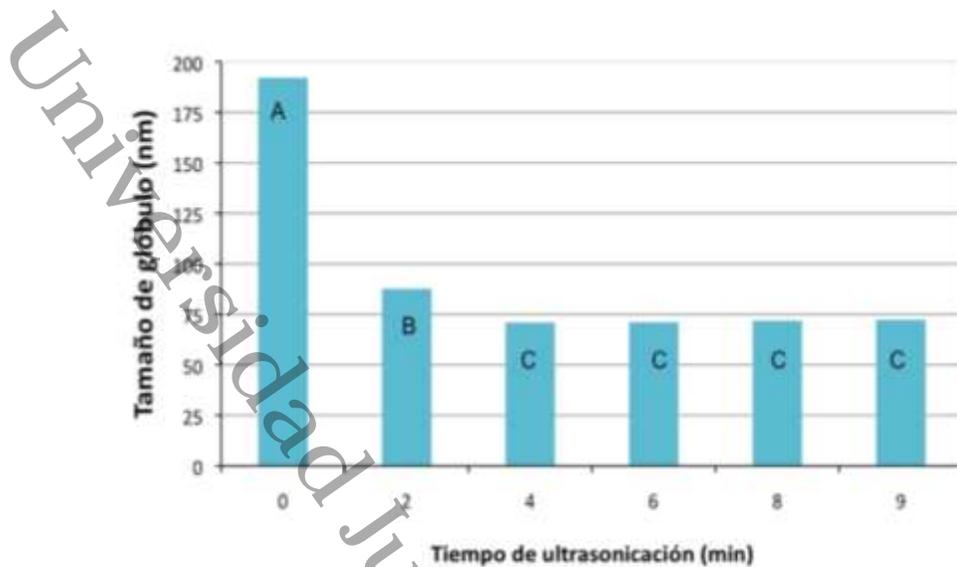


Figura 12. Efecto del tiempo de ultrasonificación sobre el tamaño de glóbulo medio alcanzado en las nanoemulsiones.

La composición de las diferentes formulaciones presentó también un efecto significativo sobre su tamaño de glóbulo (ANOVA  $F = 10.7254$ ;  $p < 0.0000$ ). En la Figura 13, se muestran los tamaños de glóbulo alcanzados para cada uno de los 15 tratamientos.

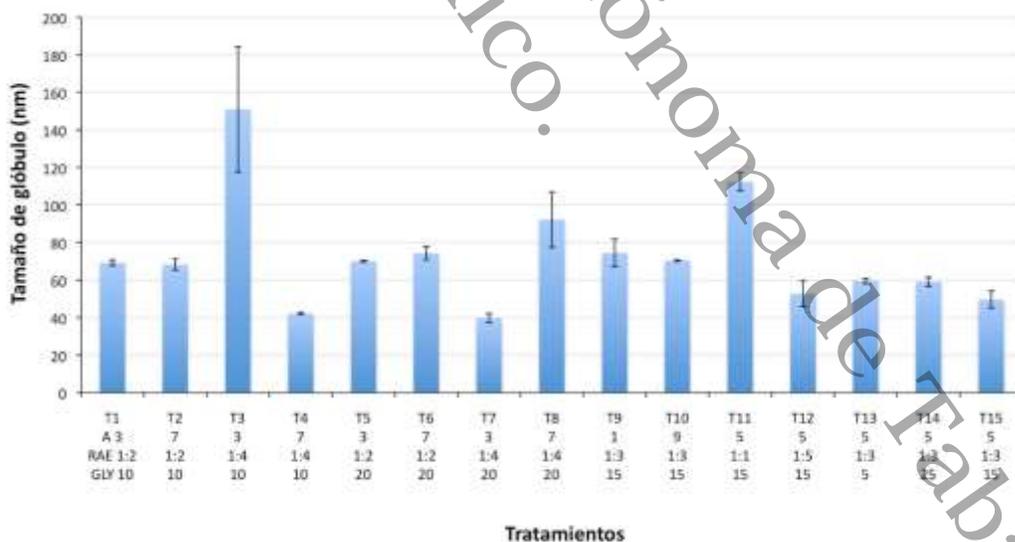
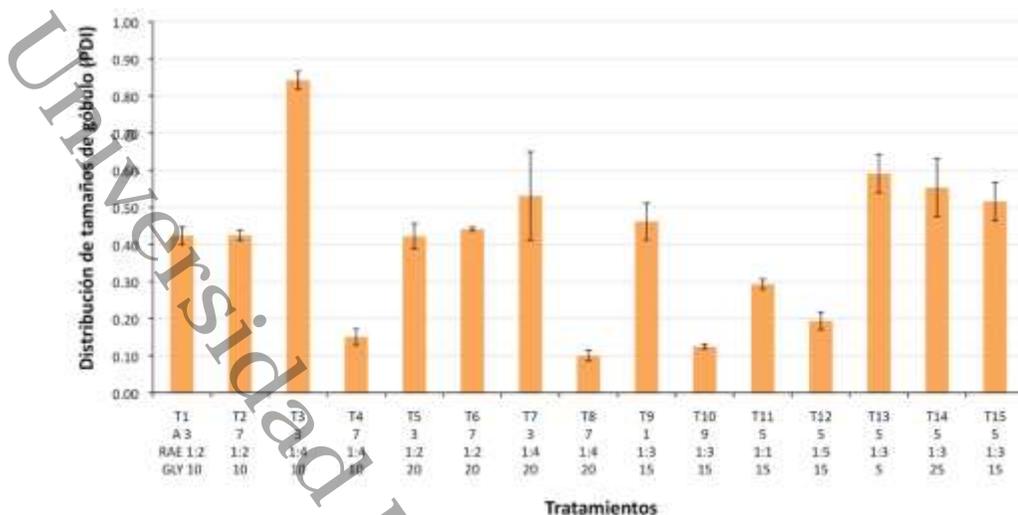


Figura 13. Tamaño de glóbulo finalmente alcanzado, para cada una de las nanoemulsiones correspondientes al diseño experimental propuesto (T1 a T15), a los nueve minutos de ultrasonificación.

De acuerdo con Shah *et al.* (2010), las nanoemulsiones presentan una distribución de tamaño desde 20 hasta 200 nm; como puede observarse en este trabajo, todos los tratamientos evaluados presentaron tamaños de glóbulo a esta escala nanométrica, por lo que todas estas formulaciones pueden ser denominadas como nanoemulsiones. Sin embargo, entre más pequeño sea el tamaño de glóbulo alcanzado por la formulación evaluada, podemos considerarla una mejor formulación. Los mejores tratamientos, con tamaños de glóbulo inferiores a los 50 nm, fueron las formulaciones 4, 7 y 15.

## **2.2. Distribución de tamaños de glóbulo en las nanoemulsiones**

La distribución de tamaños de glóbulo de las nanoemulsiones fue evaluada como índice de polidispersidad (PDI), medida del grado de dispersión entre sus diferentes tamaños de glóbulo que toma valores desde 0 hasta 1. Cuando el índice de polidispersidad es igual a 0, todos los glóbulos tienen el mismo tamaño y por lo tanto no existe dispersión, pero cuanto más grande es el índice de polidispersidad mayor es la dispersión en la distribución de tamaños de glóbulo. Este parámetro es importante porque se relaciona con la calidad de una nanoemulsión, valores de 0.1 o 0.2 indican una muy buena calidad y una alta estabilidad, mientras que valores cercanos a 1 indican una mala calidad y están relacionados con poca estabilidad (Klang and Valenta, 2011). En este trabajo, la composición de las diferentes formulaciones presentó un efecto significativo sobre su PDI (ANOVA  $F = 38.3050$ ;  $p < 0.0000$ ). El PDI de las nanoemulsiones producidas se muestra en la Figura 14. Los tratamientos con índices de polidispersidad inferiores a 0.2, fueron las formulaciones 4, 8, 10 y 12.



**Figura 14. Distribución de tamaños de glóbulo alcanzada, para cada una de las nanoemulsiones correspondientes al diseño experimental propuesto (T1 a T15), a los nueve minutos de ultrasonificación.**

### 2.3. Carga superficial de las nanoemulsiones

Los emulsificantes pueden estabilizar los glóbulos de aceite en una nanoemulsión por la producción de una barrera eléctrica sobre su superficie, la cual permite su estabilización por repulsión electrostática. El potencial zeta es el termino utilizado para referirse al potencial electrocinético del sistema. Un alto potencial zeta implica resistencia a la coalescencia de los glóbulos adyacentes y resulta en la formación de una emulsión estable debido a la repulsión electrostática; valores menores de -30mV o mayores de 30 mV, generalmente representan suficiente repulsión electrostática para obtener nanoemulsiones estables (Silva *et al.*, 2012). En este trabajo, la composición de las diferentes formulaciones presentó también un efecto significativo sobre su potencial zeta (ANOVA  $F = 7.6822$ ;  $p < 0.0002$ ). El potencial zeta de las nanoemulsiones producidas se muestra en la Figura 15. Los tratamientos con los menores valores de potencial zeta, inferiores a -25, fueron las formulaciones 3, 11 y 14.

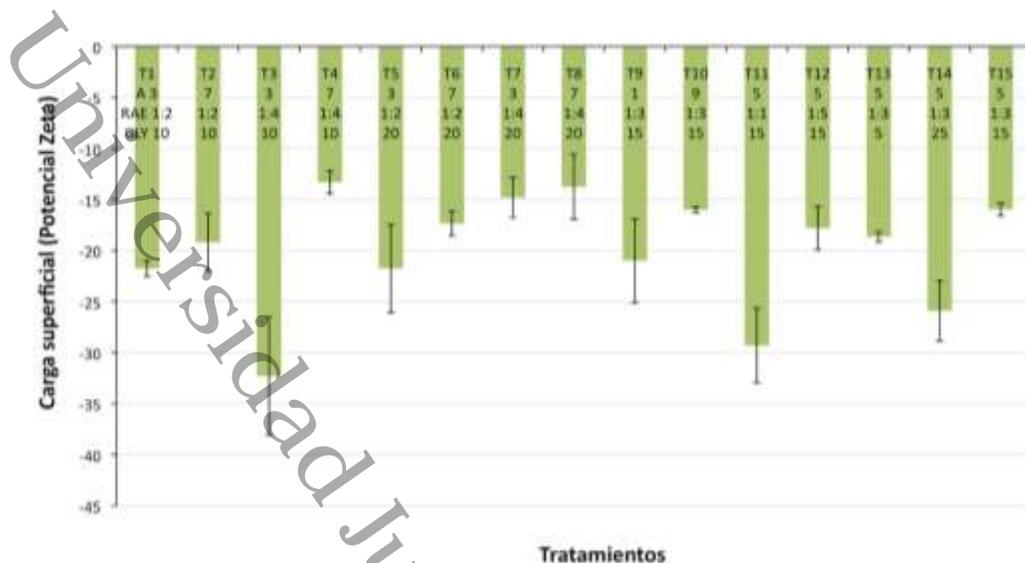


Figura 15. Carga superficial de glóbulo alcanzada, para cada una de las nanoemulsiones correspondientes al diseño experimental propuesto (T1 a T15), a los nueve minutos de ultrasonificación.

#### 2.4. Tratamiento óptimo

Se optimizó, utilizando la metodología de superficie de respuesta, el tamaño de glóbulo de las nanoemulsiones preparadas por ultrasonificación, a diferentes concentraciones de aceite (A), diferentes relaciones de aceite-emulsificante (RAE) y diferentes concentraciones de glicerol en la fase acuosa (GLY); con lo que se obtuvo el tratamiento óptimo, a una concentración de aceite de 8.07 %, una concentración de glicerol en la fase acuosa de 5 % y una relación de aceite-emulsificante de 1:3.63.

Tratamiento	A	RAE	GLY
óptimo	8.07	1:3.63	5

La formulación óptima consistió entonces de 8.07 % de aceite de neem, 29.294 % del emulsificante Tween 20, 3.132 % de glicerol y 59.503 % de agua destilada desionizada.

<b>Formulación óptima</b>	<b>Aceite (g/10 g de NE)</b>	<b>Emulsificante Tween 20 (g/10g de NE)</b>	<b>Glicerol (g/10 g de NE)</b>	<b>Agua destilada desionizada (g/10 g de NE)</b>
	0.807	2.9294	0.3132	5.9503

## 2.5. Estabilidad de las nanoemulsiones

Los cambios en el tamaño de glóbulo de las nanoemulsiones preparadas con aceite de neem y glicerol fue evaluado durante su almacenamiento a 4 °C, a intervalos de 7 días, durante los primeros 28 días, éstos se presentan en la Figura 16. En esta Figura destaca el incremento en el tamaño de glóbulo de la nanoemulsión correspondiente a la formulación 2 (T2), que paso en 28 días de un tamaño de 68 nm a uno de 140 nm, esto indica su alta inestabilidad. Por su parte, los tratamientos que alcanzaron los mayores tamaños de glóbulo al momento de su preparación (T3, T8 y T11), presentaron una mayor estabilidad, conservando su tamaño de glóbulo inicial.

El tamaño de glóbulo de las nanoemulsiones, a los 0 y 365 días de su preparación puede verse en la Figura 17; en ésta se observa que la mayor parte de los tratamientos evaluados presentaron una buena estabilidad, con un incremento en tamaños de glóbulo inferior al 5 %; sin embargo, los tratamientos 2, 10, 4 y 11, presentaron incrementos del 133, 65, 24 y 20 %, respectivamente. En cuanto al tratamiento óptimo, puede observarse que su tamaño de glóbulo (50 nm) se mantuvo sin cambios, presentando así una buena estabilidad.

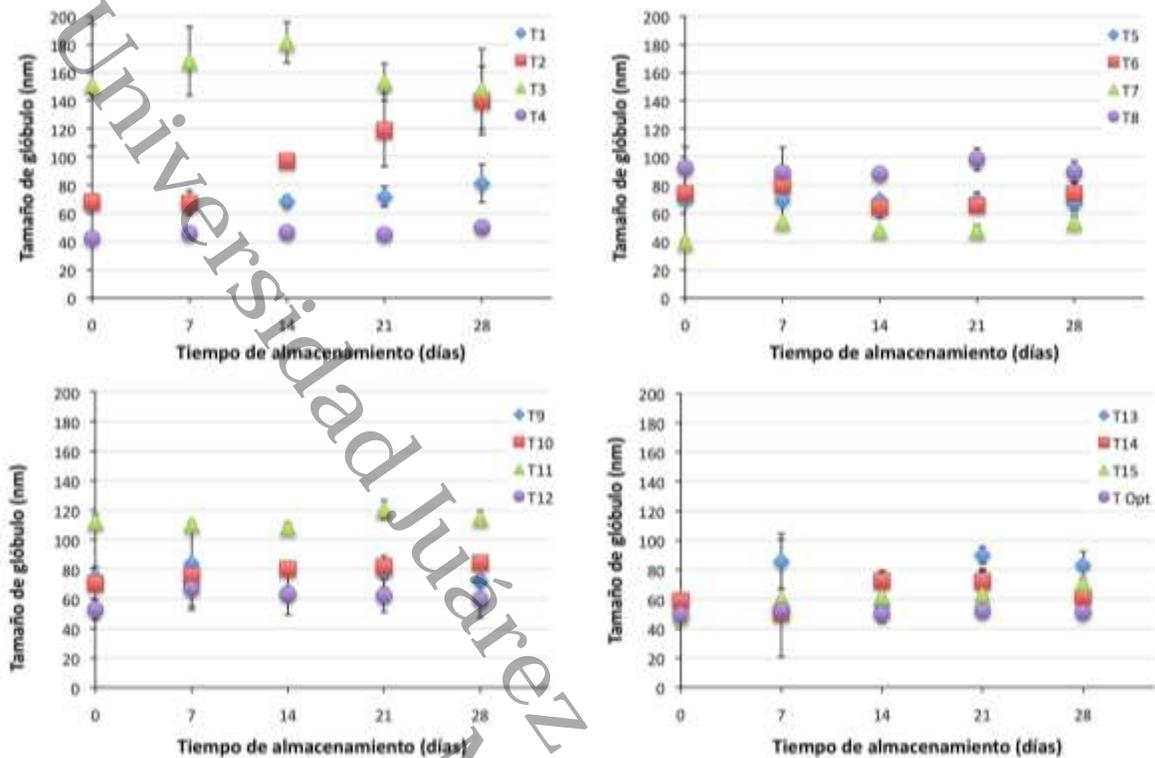


Figura 16. Tamaño de glóbulo alcanzado, para cada una de las nanoemulsiones correspondientes al diseño experimental propuesto (T1 a T15) y al tratamiento óptimo (T óptimo), durante los primeros 28 días de almacenamiento.

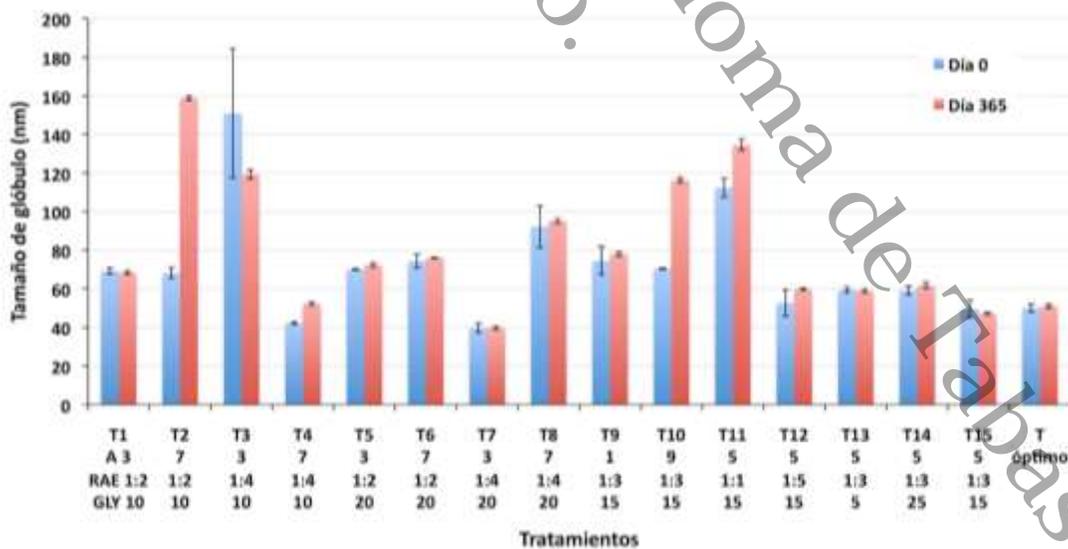


Figura 17. Tamaño de glóbulo alcanzado a los 0 y 365 días de preparación, para cada una de las nanoemulsiones correspondientes al diseño experimental propuesto (T1 a T15) y al tratamiento óptimo (T óptimo).

De acuerdo con Warren *et al.* (2010), el glicerol es un cosurfactante capaz de inhibir la nucleación, crecimiento de cristales y precipitación de los compuestos bioactivos en una nanoemulsión; además, incrementa la micro-viscosidad de la fase continua, disminuye la difusión de los glóbulos de la fase dispersa a través de la solución y retarda su incorporación en la interface, mejorando la estabilidad de estas formulaciones.

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.  
México.

## CONCLUSIONES

Las mejores condiciones para la extracción con solventes asistida por ultrasonificación de aceite de neem a partir del germen de sus semillas son 40 °C de temperatura, 20 min de ultrasonificación y éter de petróleo como solvente, en éstas condiciones el rendimiento en aceite es de 49.6 %. En tanto que, las mejores condiciones para su extracción a partir de sus hojas, 6.8 % de aceite, se alcanza a la proporción de hoja seca:solvente de 1:4 p/v, un tiempo de ultrasonificación de 20 min y una temperatura de 50 °C.

El mayor contenido de azaridactina, 284 mg por g de aceite extraído a partir del germen de las semillas de neem, se alcanza también en las mejores condiciones para su extracción: temperatura de 40 °C, tiempo de ultrasonificación de 20 min y éter de petróleo como solvente; mientras que para el aceite extraído a partir de las hojas de neem, el mayor contenido de azaridactina, 825 mg por g de aceite, se alcanza a una proporción de hoja seca:solvente de 1:4 (p/v), un tiempo de ultrasonificación de 30 min y una temperatura de 30 °C.

Todas las formulaciones evaluadas, preparadas por emulsificación-homogeneización a alta velocidad (3 min a 20,000 rpm) y ultrasonificación de alta energía (9 minutos a 20 % de amplitud y 50 % del ciclo de trabajo), a diferentes concentraciones de aceite de neem, tween 20, glicerol y agua destilada desionizada, presentaron tamaños de glóbulo a escala nanométrica, entre los 40 y 150 nm, por lo que todas pueden ser denominadas como nanoemulsiones.

La formulación óptima, obtenida a través de la metodología de superficie de respuesta, consistió en una concentración de aceite de neem del 8.07 %, una relación de aceite-emulsificante de 1:3.63 p/p (29.294 % de tween 20) y una concentración de glicerol en la fase acuosa del 5 %; y alcanzó un tamaño de glóbulo de 50 nm al ser preparada por emulsificación-homogeneización a alta velocidad (3 min a 20,000 rpm) y ultrasonificación de alta energía (9 minutos a 20 % de amplitud y 50 % del ciclo de trabajo).

De las quince nanoemulsiones evaluadas, once presentaron una buena estabilidad durante su almacenamiento a 4 °C por 365 días, presentando un incremento en sus tamaños de glóbulo inferior al 5 %, mientras que las nanoemulsiones correspondientes a las formulaciones 2, 10, 4 y 11, presentaron incrementos del 133, 65, 24 y 20 %, respectivamente. La formulación óptima mantuvo su tamaño de glóbulo de 50 nm, sin cambios durante todo el periodo de almacenamiento, presentando una muy buena estabilidad.

México.

de Tabasco.

## BIBLIOGRAFÍA

Abbas, S., Hayat, K., Karawan, E., Bashari, M., & Zhang, X. (2013). An Overview of Ultrasound-Assisted Food-Grade Nanoemulsions. *Food Engineering Reviews*, 139–157.

Arias, D., Vazquez, G., Acosta, W., Montañez, L., Alvarez, R., & Perez, V. (2009). Determinacion del Azadiractina de los aceites esenciales del arbol de Neem. *Revista en ingenieria UC*, 22-30.

Arqam-Bakhtyar, A., Muhammad-Arif, M., Soaib Ali, H., Imtinan-Akram, K., Uzair, M., Ali, A., & Shomaila, M. (2016). Adulticidal Efficacy of Azadirachta Indica (Neem Tree), Sesamum Indicum (Til) and Pinus Sabinaena (Pine Tree) Extracts Against Aedes Aegypti under Laboratory Conditions. *Pakistan Journal of Medical Research*, 11-15.

Avinash, V. Bagle, R. S. (2013). Controlled Release Study of Phenol Formaldehyde Microcapsules Containing Neem Oil as an Insecticide. *International Journal of Polymeric Materials and Polymeric* , 421-425.

Ayatollahi, S., & Zerafat, M. (2012). Nanotechnology-Assisted EOR Techniques: New Solutions to Old Challenges. *Society of Petroleum Engineers*, 12-14.

Batista-Silveira, S. M., & Foladori, G. (2016). Nanotechnology and water in Brazil. *Acta Scientiarum: Human & Social Sciences*, 68, 153-161.

Beltran, L. M. (2014). Efecto de tratamientos enzimatico, microondas y ultrasonido en la extraccion de grasa de semilla de mango (mangifera indica l.). *Universidad del tolima facultao de ingenieria agronomica*, 25-26.

Cardoso-Urgarte, G.A., Jiménez-Munguia, M.T. (2015) Nanoemulsiones en alimentos: preparación y aplicaciones. Cholula puebla. *Universidad de las Americas Puebla*.

Crespo-Rodríguez, J. F. (2015). Estudio de la emulsificación-difusión como método para la preparación de partículas lipídicas. Bogota: *Universidad Nacional de Colombia*.

Chaparro-Velasco, M. C., & Vivas-Albán, O. A. (2016). Robótica quirúrgica, desde los grandes asistentes hasta la nanotecnología. *Scientia et Technica*, 182- 190.

Charlebois, D. S. (7 de septiembre de 2014). La industria de los alimentos. *La industria necesita explicar el uso de nanopartículas en los alimentos*, pág. 1.

Chaudhari, A., Abhijeet, A., Rajput, S., Kulkarni, R., & Gite, V. (2013). Synthesis, Characterization and Application of Azadirachta indica Juss (Neem Oil) Fatty Amides (AIJFA) Based Polyurethanes Coatings: A Renewable Novel. *Progress in Organic Coatings*, 1779-1785.

Díaz-Blancas, V., Medina, D. I., Padilla-Ortega, E., Bortolini-Zavala, R., Olvera- Romero, M., & Luna-Bárceñas, G. (2016). Nanoemulsion Formulations of Fungicide Tebuconazole for Agricultural Applications. *Molecules*, 21, 1-12.

Dinesh K, Y., Khushbu, S., Anirban, D., Aditi, K., Akanksha, A., Arnab, G., Supradip, S. (2017). Urtity evaluation of curcuminoids in the turmeric extract obtained by accelerated solvent extraction. *Journal of aoac international*, 586-591.

Divine B, N., Dorin, B., & Carlos, A. (2015). Optimization of microwave assisted extraction parameters of neem (Azadirachta indica A. Juss) oil using the Doehlert's experimental design. *Industrial Crops & Products*, 233-240.

Djibril, D., Mamadou, F., Gérard, V., Geuye, M. C., Oumar, S., and Luc, R. (2015). Physical characteristics, chemical composition and distribution of constituents of the neem seeds (Azadirachta indica A. Juss) collected in senegal. *Research Journal of Chemical Sciences*, 5(7):52–58.

Elton-Luiz, S., Garcia Gimenes, A. S., Pinheiro, F. P., & dos Santos-Carvalho , D. (2017). Neem oil (Azadirachta indica A. Juss) affects the ultrastructure of the midgut muscle of *Ceraeochrysa claveri* (Navás, 1911) (Neuroptera: Chrysopidae). *Acta Histochemica*, 84-91.

Estrella-Rivadeneira, C. R. (2017). Impregnacion de aceite de neem (azadirachta indica) en soporte textil para combatir la mosca de la fruta anastrepha striata. Quito: *Escuela*

*Politecnica Nacional.*

Fernández-Arteaga, A. (2006). Preparación, caracterización y estabilidad de emulsions y microemulsiones O/W. Granada: *Universidad de Granada.*

Flores-Miranda, G. A., Valencia del Toro, G., & Yáñez-Fernández, J. (2015). Stability evaluation of  $\beta$ -Carotene nanoemulsions prepared by homogenization-emulsification process using stearic acid as oil phase. *Revista mexicana de ingeniería química*, 14, 667-680.

Fonseca, L., & Berrocal, L. (2004). Cinética química aplicada a procesos de descomposición de los fármacos. Costa Rica: *Universidad de Costa Rica.*

Gennaro, A. R. (2003). Remington farmacia (Vol. 2). Ed. *Médica Panamericana.*

Ghosh, V., Amitava, M., & Natarajan, C. (2013). Ultrasonic emulsification of food- grade nanoemulsion formulation and evaluation of its bactericidal activity. *Ultrasonics Sonochemistry*, 338-344.

Giuseppe, B., Adolfo, I., Aimaro, S., & Angelo, B. (2017). Glycerol Production and Transformation: A Critical Review with Particular Emphasis on Glycerol Reforming Reaction for Producing Hydrogen in Conventional and Membrane Reactors. *Membranes*, 1-31.

Gomes, S. A., Paula, A. R., Ribeiro, A., Moraes, C. O., Santos, J., Silva, C., & Samuels, R. (2015). Neem oil increases the efficiency of the entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae* for the control of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) larvae. *Parasites & Vectors*, 1-8.

Gómez Vega, A. G. (2014). Formulación y caracterización de nano-emulsiones de aceite de parafina tipo agua-en-aceite (W/O). Nuevo Leon. *Centro de Investigación en Materiales Avanzados.*

Gonzalez-Mira, E. N. (2011). Potential use of nanostructured lipid nanocarriers for topical delivery of flurbiprofen. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 100, 242-251.

Güell, C., Ferrando, M., Trentin, S. (2017). Apparent Interfacial Tension Effects in Protein-Stabilized Emulsions Prepared with Microstructured Systems. *Membranes*, 7, 1-12.

Guglielmini, G. (2008). Nanostructured novel carrier for topical application. *Elsevier*, 26, 341-346.

Guglielmini, G. (2008). Nanostructured novel carrier for topical application. *Clinics in Dermatology*, 26, 341-346.

Heni, R., Novel, M. A., Sri, A., Guntur, B., Olivia Mayasari, T., Raymond Rubianto, T., & Kusnandar, A. (2017). The In Vitro-In Vivo Safety Confirmation of PEG-40 Hydrogenated Castor Oil as a Surfactant for Oral Nanoemulsion Formulation. *Scientia Pharmaceutica*, 85, 1-10.

Hosseini-Saberi, A., Fang, Y., & McClements, D. J. (2013). Effect of glycerol on formation, stability, and properties of vitamin-E enriched nanoemulsions produced using spontaneous emulsification. *Journal of Colloid & Interface Science*, 105-113.

Huang, F., & Song, L. (2017). Nanoemulsion formulation of Abatacept for lupus nephritis therapy. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 1205-1213.

Hurtado, D., Lugones, M., & Surtayeva, S. (2016). Tecnologías de propósito general y políticas tecnológicas en la semiperiferia: el caso de la nanotecnología en la Argentina. *Iberoamericana de ciencia tecnología y sociedad*, 6-13.

Hussain, A., Kumar-Singh, V., Prakash-Singh, O., Shafaat, K., Kumar, S., & Jalees-Ahmad, F. (2016). Formulation and optimization of nanoemulsion using antifungal lipid and surfactant for accentuated topical delivery of Amphotericin B. *Drug Delivery*, 3101-3110.

Izadiyan, Z., Basri, M., Fard-Masoumi, H. R., Karjiban, R. A., Salim, N., & Shamel, K. (2017). Modeling and optimization of nanoemulsion containing Sorafenib for cancer treatment by response surface methodology. *Chemistry Central Journal*, 11, 1-9.

Jung Bae, H., Young Lee, G., Jong-Mi, S., & Sun Gwak, H. (2017). Outcomes with

perioperative fat emulsions containing omega-3 fatty acid: A meta-analysis of randomized controlled trials. *American Journal of Health-System Pharmacy*, 74, 904-918.

Klang, V. y Valenta, C. 2011. Lecithin-based nanoemulsions. *Journal of Drug Delivery Science and Technology* 21, 55-76.

Kosegarten-Conde, C. J.-M. (2012). Factores principales que interviene en la estabilidad de una emulsión doble. *Temas Selectos de Ingeniería de Alimentos*, 6, 1-18.

Kotta, S. W.-S. (2012). Exploring oral nanoemulsions for bioavailability enhancement of poorly water-soluble drugs. *Expert Opinion on Drug Delivery*, 9, 585-598.

Leong, T. S., Wooster, T. J., Kentish, S. E., & Ashokkumar, M. (2009). Minimising oil droplet size using ultrasonic emulsification. *Ultrasonics Sonochemistry*, 721-727.

López-Peralta, A. A. (2013). *Nanotecnología en la Ingeniería Petrolera: Conceptualización, Aplicaciones*. Distrito Federal: Universidad Nacional Autónoma de México.

Mahaney, W., Voros, J., Krishnamani, R., Hancock, R., Aufreiter, S., Milner, M., & Allen, C. (2016). Physico-geochemical and mineral composition of neem tree soils and relation to organic properties. *Geografiska annaler series a: physical geography*, 143-154.

Mangematin, V., & Wals, S. (2012). The future of nanotechnologies. *Elsevier*, 32, 157-160.

Márquez, R., Forgiarini, A., & Bullon, J. (2007). Emulsiones Parenterales. Laboratorio de Formulación, Interfases, Reología y Procesos FIRP S485A. Venezuela: *Universidad de los Andes*.

Martínez-Gómez, M. A., Carrillo-González, R., & González-Chávez, M. A. (2017). Aplicaciones y desafíos de la nanotecnología en el control y mitigación de la contaminación. *Agroproductividad*, 73-79.

McClements, D.J. (2010). Emulsion design to improve the delivery of functional lipophilic

components. *Annual Review of Food Science and Technology* 1, 241-269.

Medina-Calderón, F. A., & Bautista Barrios, L. C. (2015). Aceites esenciales preparados en forma de nanoemulsión para la formulación de productos cosméticos. *Revista Colombiana de Investigaciones Agroindustriales*, 6-15.

Moelants, K. L. (2012). Relation between Particle Size and Carotenoid Bioaccessibility in Carrot- and Tomato-Derived Suspensions. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 60, 11995-12003.

Moore, D., Lin, P., & Allhoff, F. (2010). What Is Nanotechnology and Why Does It Matter? Michigan: *Wiley-Blackwell*.

Mor, S., Diwan, A., & Kalra, R. (2016). Analysis of three component system for nandrolone decanoate to prepare nanoemulsion formulation. *Pharmacophore*, 96-108.

Muhammad, N., Muhammad Asim, S., & Jamshaid, I. (2016). Management of thrips in mungbean crop using neem oil (*azadirachta indica* a. Juss) and different insecticides. *Gomal University Journal of Research*, 1-8.

Muhammad, N., Muhammad, A., Muhammad, S., Jamshaid, I., Waseem, A., Muhammad, A., & Ghaffar, A. (2015). Efficacy of neem oil *azadirachta indica* a. Juss and different synthetic insecticides against thrips (*thrips tabaci* lind) (thysanoptera: thripidae) in mungbean crop. *Gomal University Journal of Research*, 1-8.

Ochoa-Cornejo, F., & Muñoz, S. (2017). Laponita: una nanotecnología que retarda la licuefacción. *Obras y Proyectos*, 6-12.

Ochoa-Flores, A. A., Hernández-Becerra, J. A., Cavazos-Garduño, A., Vernon- Carter, E. J., & García, H. S. (2016). Preparation and characterization of curcumin nanoemulsions obtained by thin-film hydration emulsification and ultrasonication methods. *Revista mexicana de ingeniería química*, 15, 79- 90.

Ochoa-Gómez, J. G., Gómez-Jiménez, O., Maestro-Madurga, A., Pesquera-Rodríguez, A., Ramírez-López, C., Lorenzo-Ibarreta, L., Torrecilla-Soria, J. & Villarán-Velascob, M. (2009). Synthesis of glycerol carbonate from glycerol and dimethyl carbonate by

transesterification: Catalyst screening and reaction optimization. *Applied Catalysis*, 366, 315-324.

Oliveira-Arantes, P., dos Santos, Q. N., Faria de Freitas, Z. M., dos Santos Pyrrho, A., Cerqueira-Coutinho, C., Vazquez Villa, A. L., . . . Ricci-Júnior, E. (2017). Promotion of cutaneous penetration of nifedipine for nanoemulsion. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 106-121.

Otilia, S. (2005). *Nanotechnology: Global Strategies, Industry Trends and Applications*. Liverpool: Jurgen Schulte.

Pájaro-Castro, N., Olivero Verbel, J., & Redondo Padilla, J. (enero de 2013). Nanotecnología aplicada a la medicina. *Guillermo de Ockham*, 11(1), 125- 133.

Phan-Nhut, N., Phan Thi Kim, L., Tran Thanh, H., Chatain Mai, H., & Dao, T. (2017). Microwave assisted Soxhlet extraction of essential oil from Vietnamese Star anise fruits (*Illicium verum* Hook.f.) and their chemical composition. *Emirates Journal of Food & Agriculture (EJFA)*, 131-137.

Preedy, V. (2016). *Essential Oils in Food Preservation, Flavor and Safety*. Ucrania: Elsevier.

Puurune, K., & Vasara, P. (2007). Opportunities for utilising nanotechnology in reaching near-zero. *J Clean Prod*, 15, 1287-1294.

Rachmawati, H., Miranti Anggraeni, N., Sri, A., Guntur, B., Olivia Mayasari, T., Raymond Rubianto, T., & Kusnandar, A. (2017). The In Vitro-In Vivo Safety Confirmation of PEG-40 Hydrogenated Castor Oil as a Surfactant for Oral Nanoemulsion Formulation. *Scientia Pharmaceutica*, 85, 1-10.

Ravi, T. P. (2011). Nanoemulsions for drug delivery through different routes. *Research in Biotechnology*, 2, 1-13.

Ravi-Theaj, P., & Padma, T. (2011). Nanoemulsions for drug delivery through different routes. *Scienceflora*, 1-13.

Rivera-Álvarez, A., & Vega-Baudrit, J. (2017). Propuesta de incorporación de la nanotecnología en la educación formal media en costa rica. *Momento: Revista de Física*, 90-99.

Roco, M. (2003). Nanotechnology: convergence with modern biology and medicine. *Curr Opin Biotechnol*, 14(3), 337-346.

Rodríguez, J. F. (2015). Estudio de la emulsificación-difusión como método para la preparación de partículas lipídicas. Bogotá: *Universidad Nacional de Colombia*.

Rodríguez-Burneo, N., Busquets, M. A., & Estelrich, J. (2017). Magnetic Nanoemulsions: Comparison between Nanoemulsions Formed by Ultrasonication and by Spontaneous Emulsification. *Nanomaterials*, 1-13.

Rosen, M., & Kunjappu, J. (2012). Surfactants and Interfacial Phenomena. Michigan: *Wiley*.

Ruiz-Márquez, D., Partal, P., Franco, J. M., & Gallegos, C. (2016). Emulsiones alimentarias aceite-en-agua estabilizadas con proteínas de atún. *Grasas y Aceites*, 17, 352-360.

Safari, J. Z. (2014). Advanced drug delivery systems: nanotechnology of health design a review. *Journal of the Saudi Chemical Society*, 18, 85-99.

Salamanca-Buentello, F. P. (2005). Nanotechnology and the developing world. *Plos Medicine*, 2, 97-102.

Salamanca-Buentello, F., L Persad, D., B Court, E., K Martin, D., S Daar, A., & A Singer, P. (2005). Nanotechnology and the Developing World. *Journals plos*, 97-98.

Salminen, H. H. (2014). Influence of co-surfactants on crystallization and stability of solid lipid nanoparticles. *Journal of Colloid and Interface Science*, 426, 256- 263.

Samantha Nunes, G., Quatrin, P. M., Sagrillo, M. R., Nascimento, K., Wagner, R., Klein, B., . . . Aline Ferreira, O. (2017). Evaluation of Stability and In Vitro Security of Nanoemulsions Containing Eucalyptus globulus Oil. *BioMed Research International*, 1-

10.

Santosh-Nemichand, K., & Sharada Laxman, D. (2017). Emulsion Micro Emulsion and Nano Emulsion: A Review. *Systematic Reviews in Pharmacy*, 39-47.

Sarma, S. C. (2009). Socio-Economic Implications of Nanotecnolgy Applications: A Case of Copper and Copper Dependent Countries. *Nanotechnology Law and Business*, 6, 278-287.

Shilpanjali Deshpande, S., & Saswata, C. (2009). Socio-Economic Implications of Nanotecnolgy Applications: A Case of Copper and Copper Dependent Countries. *Nanotechnology Law & Business*, 277-278.

Shrestha, S., Jasjeet K, S., Javed, A., & Sanjula, B. (2015). Effect of high-pressure homogenization on formulation of TPGS loaded nanoemulsion of rutin - pharmacodynamic and antioxidant studies. *Drug Delivery*, 541-551.

Silva, H. D., Cerqueira M. A., y Vicente, A. A. 2012. Nanoemulsions for Food Applications: Development and Characterization. *Food Bioprocess Technol.* 5:854–867

Silva, H. D., Cerqueira, M. Â., & Vicente, A. A. (2011). Nanoemulsions for food applications: development and characterization. *Food and Bioprocess Technology*, 854-867.

Soler-Illia, G., & Lucila Violi, L. (2009). Nanotecnología: el desafío del siglo XXI. Buenos Aires: *National University of General San Martín*.

Sonali, T., Praful, D., Sayaji, M., & Mandavgane, S. (2017). Characterization and testing of fine powder formulation of whole neem fruits. *Current Science*, 1942-1948.

Sosa-Martínez, A., Mosqueda-Vázquez, R., Lagunes-Tejeda, A., & Riestra-Díaz, D. (2012). Aspectos fenológicos del árbol del nim (*azadirachta indica* a. juss) en un clima cálido subhúmedo. *Revista Chapingo*, 16-21.

Suñé-Pou, M., & Suñé-Negre, J. M. (2016). Estrategias para la vectorización de fármacos mediante nanotecnología. *El Farmacéutico Hospitales*, 4-9.

Tiwari, A., & Tiwari, A. (2013). *Nanomaterials in drug delivery, imaging, and tissue engineering*. California: *John Wiley & Sons*.

Vila-Seoane, M. F. (2011). *Nanotecnología: Su desarrollo en Argentina, sus características y tendencias a nivel mundial*. Buenos Aires: *Universidad Nacional de General Sarmiento*.

Wang, J., & Philip, S. (2009). Partnering with universities: a good choice for nanotechnology start-up firms? Netherlands. *Small Business Economics*.

Warisnoicharoen, W. L. (2000). Nonionic oil-in-water microemulsions: the effect of oil type on phase behaviour. *International Journal of Pharmaceutics*, 198, 7- 27.

Zeynep, K. (2017). Scientific Collaboration of Turkey with the EU Member States: The Case of Nanotechnology. *Bilgi*, 70-94.

Zhou, H. Y. (2009). Preparation and characterization of a lecithin nanoemulsion as a topical delivery system. *Nanoscale Research Letters*, 5, 224-230.

Zinaida, B., Bryleva , K., Yurchenko, O., & Belikov, K. (2017). Sorption materials based on ethylene glycol dimethacrylate and methacrylic acid copolymers for rare earth elements extraction from aqueous solutions. *Adsorption Science & Technology*, 545-559.

# Caracterización y estabilidad de nanoemulsiones formuladas a partir de aceite de neem (*Azadirachta Indica*) y glicerol

INFORME DE ORIGINALIDAD

# 16%

ÍNDICE DE SIMILITUD

## FUENTES PRIMARIAS

1	<a href="http://ri.ujat.mx">ri.ujat.mx</a> Internet	439 palabras — 4%
2	<a href="http://www.archivos.ujat.mx">www.archivos.ujat.mx</a> Internet	235 palabras — 2%
3	<a href="http://cimav.repositorioinstitucional.mx">cimav.repositorioinstitucional.mx</a> Internet	223 palabras — 2%
4	<a href="http://issuu.com">issuu.com</a> Internet	213 palabras — 2%
5	<a href="http://bibdigital.epn.edu.ec">bibdigital.epn.edu.ec</a> Internet	115 palabras — 1%
6	<a href="http://alejandra24031997.blogspot.com">alejandra24031997.blogspot.com</a> Internet	101 palabras — 1%
7	<a href="http://rinacional.tecnm.mx">rinacional.tecnm.mx</a> Internet	95 palabras — 1%
8	<a href="http://hdl.handle.net">hdl.handle.net</a> Internet	75 palabras — 1%
9	<a href="http://revistas.sena.edu.co">revistas.sena.edu.co</a> Internet	70 palabras — 1%

10	<a href="http://www.ungs.edu.ar">www.ungs.edu.ar</a> Internet	53 palabras — < 1%
11	<a href="http://docplayer.es">docplayer.es</a> Internet	43 palabras — < 1%
12	<a href="http://doi.org">doi.org</a> Internet	34 palabras — < 1%
13	<a href="http://en.calameo.com">en.calameo.com</a> Internet	32 palabras — < 1%
14	<a href="http://bdigital.unal.edu.co">bdigital.unal.edu.co</a> Internet	27 palabras — < 1%
15	<a href="http://archivos.ujat.mx">archivos.ujat.mx</a> Internet	26 palabras — < 1%
16	<a href="http://www.coursehero.com">www.coursehero.com</a> Internet	26 palabras — < 1%
17	<a href="http://doczz.es">doczz.es</a> Internet	25 palabras — < 1%
18	<a href="http://www.scribd.com">www.scribd.com</a> Internet	25 palabras — < 1%
19	<a href="http://www.repositorio.usac.edu.gt">www.repositorio.usac.edu.gt</a> Internet	23 palabras — < 1%
20	<a href="http://www.clubensayos.com">www.clubensayos.com</a> Internet	22 palabras — < 1%

EXCLUIR CITAS

ACTIVADO

EXCLUIR FUENTES

DESACTIVADO

EXCLUIR BIBLIOGRAFÍA

ACTIVADO

EXCLUIR COINCIDENCIAS < 20 PALABRAS

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.  
México.