

EVALUACIÓN DEL EFECTO REPELENTE DE INSECTOS A PARTIR DE EXTRACTOS VEGETALES EN MICRO- ENCAPSULADOS

*Repellent effect
evaluation of
microencapsulated
plant extracts*

**Zárate M. Juan¹,
Pineda B William²,
*Centro de Manufactura en
Textil y Cuero***

1 Investigador para el Centro de Manufactura en Textil y cuero
SENA. juan.zarate@misena.edu.co

2 Líder SENNOVA para el Centro de Manufactura en Textil y
cuero SENA. wrpineda@misena.edu.co

Resumen

Los microencapsulados han sido ampliamente usados en diversas industrias, desde la farmacéutica hasta la textil; debido a su capacidad para el transporte y liberación controlada de compuestos específicos, mejorando la dosificación y el material utilizado respecto a procesos convencionales. En la industria textil, fibras y prendas han sido funcionalizadas para diversas aplicaciones, imprimiendo características adicionales, en procesos y químicos. Estos permiten darles un valor agregado a los elementos, tales como: humectación, sensibilidad térmica, fragancias e incluso protección a los rayos ultravioleta. De acuerdo a estos desarrollos se desea funcionalizar las prendas para obtener propiedades repelentes, como alternativa para reducir la transmisión de diversos virus, que tienen como vector la especie *Aedes Aegypti*. En este documento se desarrollaron los resultados parciales de extracción de compuestos activos con efecto repelente para insectos, determinando concentraciones altas para cordoncillo, respecto a los reportados por *ocimum tenuiflorum* -Albahaca lima- y *Cymbopogon citratus* –Citronela-. Los encapsulados se realizaron con dos métodos de encapsulamiento, *coacervación compleja*₁ *en matrices de gelatina* y *en matrices de alginato*₂, determinando la estabilidad de estos microencapsulados para cada uno, ambos procesos de encapsulados con buenos resultados mecánicos.

ABSTRACT

Microcapsules has been widely used in different industries, pharmaceuticals to textiles; due to its ability to transport and control release of specific compounds, with this dosage techniques were improved release process compared to conventional methods. Fibers and garments have been functionalized in textile industry, enhance mechanical, chemical and others properties for its applications as an added value of these elements; those as humectation, thermal sensitivity, fragrance, and UV skin protection; according to its developments, want to functionalize these garments to obtain repellent properties on them, as an alternative to avoid or reduce transmissions of various virus, avoiding the contact of species vector *Aedes aegypti*.



In this work, partial results of extraction active compounds with insects repellent effect were presented; determining high concentrations on Cordoncillo. Compared to *Cymbopogon citratus* –Citronella- and *Ocimum tenuiflorum* -albahaca lima-. Encapsulated process was performed with two different methods, *complex coacervation*₁ on gel matrix and *alginate matrix*₂. Microencapsulation stability were evaluated for each one, presented good mechanical results for both of them.



PALABRAS *CLAVES*

Microcápsulas, coacervación compleja, repelente, foulard, textil funcional, humectar e hidratar.

KEY *WORDS*

Microencapsulation, complex coacervation, repellent, foulard, functional textile, humect and hydrate.

1. INTRODUCCIÓN

Los microencapsulados son mecanismos de transporte eficiente de diversos compuestos, estos sistemas han sido utilizados en diversos campos, tales como medicina (Serna-Cock 2012). Farmacéutica (Lopretti, 2007). Alimentos a partir del aprovechamiento de los residuos para integrarlos con otras industrias (Gomez-Estaca 2016). Remediación, impresiones y

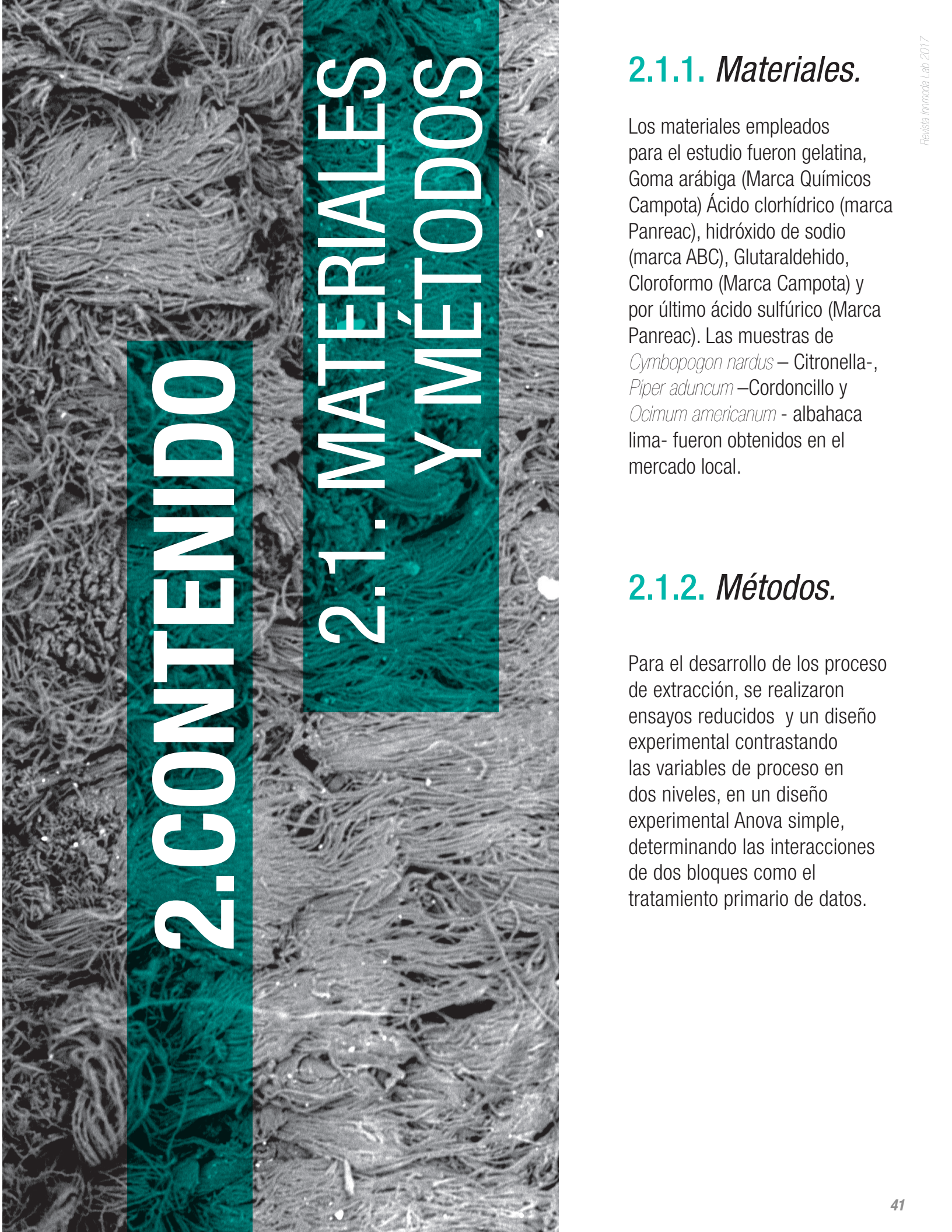
textiles (Sumithra, 2012). Entre otros, los cuales se basan en un compuesto activo que es recubierto por unas membranas de aceite, en el caso de coacervaciones simples, los recubrimientos se basan en las polimerizaciones de los agentes microencapsulantes, para este caso gelatina y goma arábica. Estos sistemas de transporte han sido desarrollados para obtener mejores resultados en la transferencia efectiva de los compuestos respecto a liberaciones convencionales; en la industria textil, a pesar de ser incipiente este tipo de desarrollos, se han obtenido microencapsulados para el transporte de compuestos aromáticos, aceites esenciales, medicamentos, membranas termosensibles, entre otros.

En el área farmacéutica, los compuestos mas complejos en cuanto a estructura y actividad han sido utilizados, logrando buenos resultados en sistemas *in vivo*. A nivel de protección contra diferentes especies de mosquitos y animales; sustancias como la trementina han sido utilizadas en cremas para uso tópico (Fairhurst, 2008). Uno de los grandes inconvenientes de esta sustancia, es que en concentraciones altas, puede generar irritaciones e incluso intoxicaciones en caso de ser ingerido (Thanispong, 2009). Diversas plantas aromáticas generan efectos similares a los presentados por la trementina,

como su carácter repelente de insectos, y poseen una biocompatibilidad y baja toxicidad respecto a este compuesto, convirtiéndolos en una alternativa efectiva para sustituir este tipo de compuestos. Así, dentro de este grupo se encuentran el *Piper aduncum* –Cordoncillo- (Plazas, 2008). La *Cymbopogon nardus* – Citronella- (Sathantriphop et al, 2015). Y la *Ocimum americanum* - albahaca lima- (Bourdy et al, 2008). Plantas que han demostrado altas concentraciones de flavonoides¹.

Este documento se basa en los resultados parciales para la aplicación como agregados textiles de microcápsulas con compuestos activos que actúan como repelentes contra zancudos, en especial la variedad *Aedes aegypti*, responsables de la propagación de virus chikungunya, zika y dengue. Se obtuvieron resultados en la concentración de flavonoides con tres diferentes especies de plantas, con efectos positivos como agente repelente, y su evaluación al ser microencapsulados en composiciones por coacervación compleja. Se estima mantener el efecto al ser impregnado en dos diferentes fibras textiles -algodón y poliéster-, para así realizar la evaluación de los ciclos de lavado.

¹ Flavonoides: Son compuestos que generan efecto repelente en diversas preparaciones, por lo general empleadas en el uso tópico, con potencial uso en la industria textil.

A grayscale microscopic image of plant roots, likely ginger, showing a dense network of fine, fibrous structures. Two vertical teal bars are overlaid on the image, containing white text. The left bar contains the text '2. CONTENIDO' and the right bar contains '2.1. MATERIALES Y MÉTODOS'.

2. CONTENIDO

2.1. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1.1. *Materiales.*

Los materiales empleados para el estudio fueron gelatina, Goma arábica (Marca Químicos Campota) Ácido clorhídrico (marca Panreac), hidróxido de sodio (marca ABC), Glutaraldehído, Cloroformo (Marca Campota) y por último ácido sulfúrico (Marca Panreac). Las muestras de *Cymbopogon nardus* – Citronella-, *Piper aduncum* –Cordoncillo y *Ocimum americanum* - albahaca lima- fueron obtenidos en el mercado local.

2.1.2. *Métodos.*

Para el desarrollo de los procesos de extracción, se realizaron ensayos reducidos y un diseño experimental contrastando las variables de proceso en dos niveles, en un diseño experimental Anova simple, determinando las interacciones de dos bloques como el tratamiento primario de datos.

2.1.3. Extracción de Flavonoides.

Para la extracción de flavonoides, se sometieron las muestras a presiones reducidas con soluciones alcohólicas, bajo un arreglo experimental que evaluaba la relación S:L, así como las variaciones de presión y de temperatura; determinando las mayores concentraciones de flavonoides respecto a estas variables. Plazas (2008) refiere que el diseño experimental para *Piper aduncum* –cordoncillo- se basa en la consideración de variaciones de presión, temperatura, relación sólido: líquido, prelavado y agitación, esta medición permitió la obtención de una pre-experimentación de ocho desarrollos experimentales que son descritos en la *Tabla 1*.

Tabla 1. Diseño experimental extracción *Piper aduncum* – cordoncillo-

#	PRESIÓN	TEMPERATURA	AGITACIÓN	PRELAVADO	RELACIÓN SÓLIDO: LÍQUIDO
1	500	70	50	SI	1:6
2	175	60	100	SI	1:6
3	175	60	100	NO	1:6
4	500	70	50	SI	1:8
5	175	60	100	SI	1:8
6	175	60	100	NO	1:8
7	500	70	50	NO	1:8
8	500	70	50	NO	1:6

#	PRESIÓN	TEMPERATURA	Relación S:L
1	377	60°C	1:6
2	739	65°C	1:4
3	739	65°C	1:6
4	377	60°C	1:6
5	377	60°C	1:4
6	377	60°C	1:4

Tabla 2. Diseño experimental extracción *Citronella*.

Para la extracción de *Cymbopogon nardus* – Citronella-, se desarrollaron a diferentes valores de temperatura y relación sólido : líquido, este arreglo experimental fue planteado de acuerdo a la *tabla 2*, donde las tres variaciones tienen dos niveles, de acuerdo a lo mencionado por (Alvarado-2012). Para la extracción de flavonoides.

Para *Ocimum americanum* - albahaca Lima- fue planteada una pre-experimentación para ensayos simplificada, variando la presión y relación sólido:líquido. Estas relaciones se observan en la **tabla 3**.

Tabla 3. Diseño experimental para la extracción de Albahaca lima

#	PRESIÓN	TEMPERATURA	Relación S:L
1	175	60°C	1:6
2	530	65°C	1:4
3	530	65°C	1:6
4	175	60°C	1:4
5	377	60°C	1:4
6	377	60°C	1:4

Todas las muestras obtenidas, fueron evaluadas por la determinación de Flavonoides presentes con la prueba de Salkowski, donde se evalúan las concentraciones y variaciones de acuerdo a las tinciones² obtenidas (Erum et al, 2015).

2.2. Microencapsulación

El proceso de coacervación compleja se realizó de acuerdo a lo descrito por Sumithra (2012) determinando las mejores condiciones de proceso para la realización de los microencapsulados.

2.1.2. Preparación de las soluciones.

Para la elaboración de las

soluciones, se utilizaron concentraciones iguales de goma arábica y gelatina, las soluciones se prepararon por separado, llevando a temperatura de 55°C con agitación constante hasta la total solubilidad de cada uno de los compuestos. En la solución de gelatina, se adiciona el extracto de las plantas seleccionadas. Una vez emulsificada la solución de gelatina, es mezclada en la solución arábica, manteniendo la temperatura de disolución en 55°C. Se realizó la coacervación de la solución, regulando el pH a 3,6. Una vez se estabilizada la solución, se adiciona agua destilada a 4°C para generar un choque térmico, y así luego agregar Formaldehído lentamente con agitación continua para

generar los microencapsulados. Para endurecer las paredes de las microcápsulas, lentamente se realizó el cambio de pH a 10, controlando la agitación para evitar fenómenos de segregación. Una vez obtenida la solución con los microencapsulados, se realizó el lavado con agua destilada, para remover los excedentes de la solución, separando las microcápsulas de los remanentes.

Estas microcápsulas fueron caracterizadas para su posterior evaluación por microscopía, y así evaluar: morfología, estabilidad y concentración en soluciones para su posterior impregnación de textiles muestra.

² Tinciones: Son las variaciones de color generadas al reaccionar con los flavonoides y los reactivos empleados en la experimentación.

3.RESULTADOS

3.1. PRE-EXPERIMENTACIÓN, EXTRACCIÓN DE FLAVONOIDES POR *Piper aduncum* –Cordoncillo-

De acuerdo con el diseño experimental desarrollado para la extracción de flavonoides, se encuentra presencia de varios compuestos, y la ausencia del extracto, determinando las mejores condiciones de proceso para la extracción de acuerdo a lo reportado en la *Tabla 4*.

Tabla 4. Resultados prueba Salkowski para Flavonoides en *Piper aduncum* –Cordoncillo-

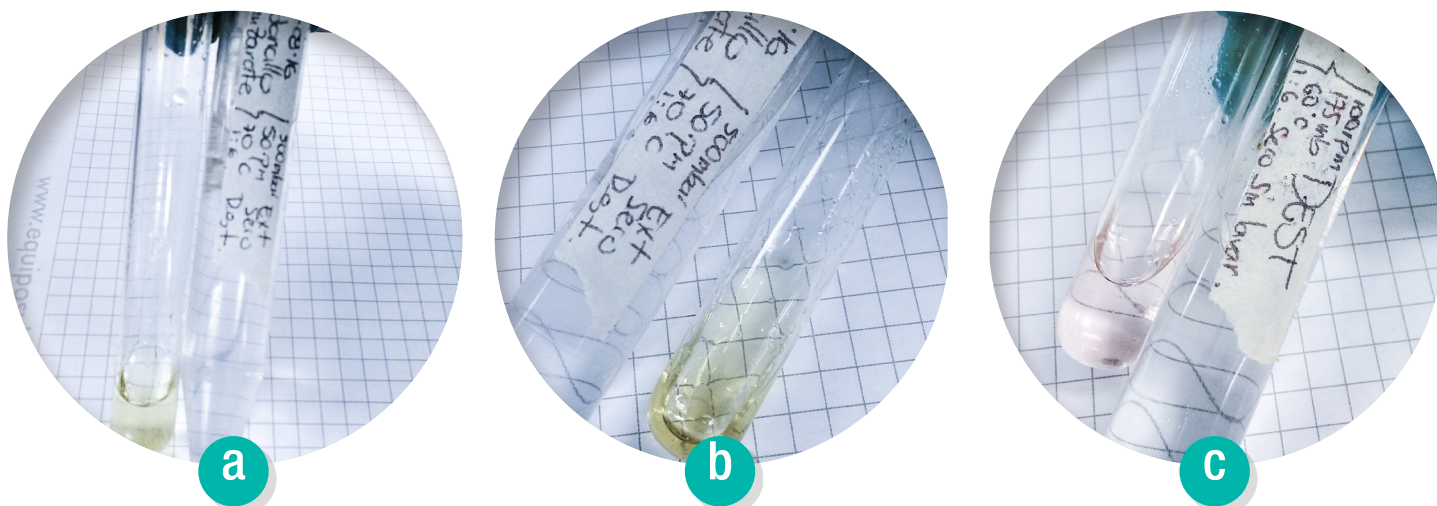
#	PRESIÓN	TEMPERATURA	AGITACIÓN	PRELAVADO	RELACIÓN SÓLIDO: LÍQUIDO	PRESENCIA FLAVONOIDES
1	500	70	50	SI	1:6	Si
2	175	60	100	SI	1:6	No
3	175	60	100	NO	1:6	Quinonas
4	500	70	50	SI	1:8	No
5	175	60	100	SI	1:8	No / Dos fases
6	175	60	100	NO	1:8	NO/ Dos Fases
7	500	70	50	NO	1:8	No
8	500	70	50	NO	1:6	Tenue

De acuerdo a la *tabla 4*, las mejores condiciones para la extracción de Flavonoides, se presentan con etanol como solvente a una relación sólido líquido de 1:6, facilitando el proceso de arrastre para este caso, una presión reducida de 500 mbares, una temperatura de 70°C y un prelavado para las muestras, que permite remover diversos agentes

externos que puedan interferir con la extracción adecuada de flavonoides. La generación de las dos fases para las muestras **5** y **6**, se deben a la relación sólido : líquido alta, que pudo interferir con la dilución de los flavonoides y dejar una cantidad considerable exceso de etanol en las muestras. Las muestras **1** y **3** determinaron altas

concentraciones de compuestos con anillos característicos de flavonoides para el caso de la muestra **1**, como quinonas para el arreglo **3**, diferenciados por la variación de color obtenida al ser realizada la prueba reactiva, como se evidencia en la *figura 1*.

Figura 1. Prueba de Salkowski en extractos de *Piper aduncum* –Cordoncillo-(a) y (b) muestra positiva de flavonoides. (c). Muestra positiva para quinonas.



3.2. *Ocimum tenuiflorum* -Albahaca lima-

Para la evaluación de *Ocimum tenuiflorum* -Albahaca lima-, las inflorescencias y las hojas, no presentaron flavonoides en los extractos obtenidos, esto quiere decir que las condiciones a las cuales fueron sometidos deben ser modificados para un posterior diseño experimental. Las pruebas,

como se muestra en la figura 2, no fueron reactivas; esto determinó que el procedimiento sugerido no realizó el arrastre de flavonoides presentes en la muestra, como se determina en la presencia de flavonoides en el remanente de la extracción.



Figura 2. Análisis cualitativo de los extractos de Albahaca lima. (a) ensayo 1 del diseño experimental. (b) Ensayo 2 Diseño experimental.

Tabla 5. Prueba salkowski para extractos de Albahaca lima.

Se realizaron ensayos a presiones más altas para lograr un mejor arrastre de producto; los resultados se evidencian en la *figura 2*, allí pueden leerse las variaciones con presiones

más altas para cada caso; sin embargo, la ausencia de flavonoides presentes en los extractos obtenidos en los dos niveles, evidencian una muy baja concentración de flavonoides.

#	PRESIÓN	TEMPERATURA	RELACIÓN S:L	FLAVONOIDES	OBSERVACIONES
1	175	60°C	1:6	Ausencia	Presencia de dos fases
2	530	65°C	1:4	Presencia	Amarillo fuerte
3	530	65°C	1:6	Ausencia	Presencia de dos fases
4	175	60°C	1:4	Presencia	Amarillo tenue

3.3. *Cymbopogon nardus* – Citronella-

Los extractos de *Cymbopogon nardus* – Citronella- fueron evaluados de acuerdo al diseño experimental propuesto, para este se modificaban las relaciones de sólido : líquido para solventes, en este caso Metanol; utilizado para mejorar las condiciones de arrastre de los flavonoides presentes en las muestras del material vegetal.

#	PRESIÓN	TEMPERATURA	RELACIÓN S:L	FLAVONOIDES	OBSERVACIONES
1	377	60°C	1:6	Ausencia	Presencia de dos fases
2	739	65°C	1:4	Presencia	Amarillo fuerte
3	739	65°C	1:6	Presencia	Amarillo tenue
4	377	60°C	1:6	Ausencia	Presencia de dos fases
5	377	60°C	1:4	Ausencia	Presencia de dos fases
6	377	60°C	1:4	Ausencia	Presencia de dos fases

Tabla 6. Resultados prueba Salkowski de flavonoides en Citronela

Figura 3. Análisis cualitativo de las muestras de *Cymbopogon nardus* – Citronella- (a) condiciones altas de proceso. (b) Condiciones bajas de proceso.



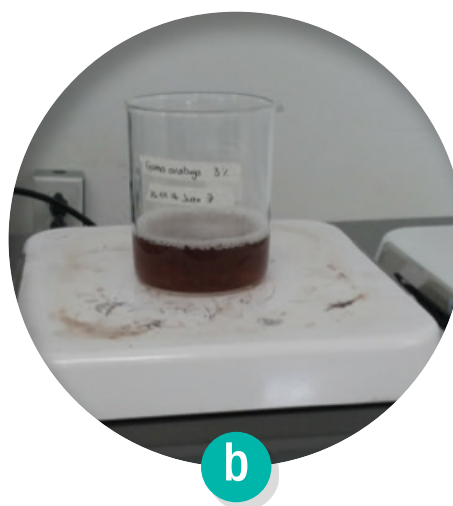
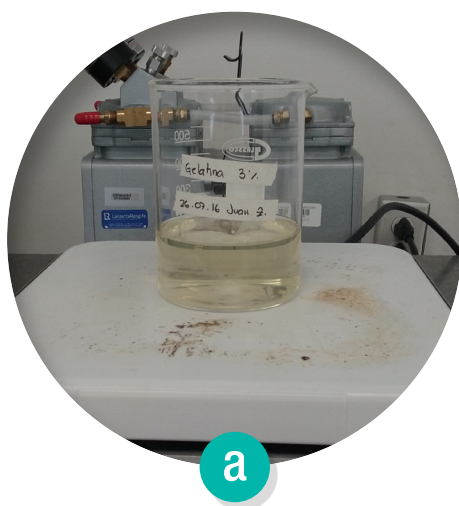
Como se muestra en la *tabla 6*, los ensayos que presentaron flavonoides por prueba de Salkowski, fueron aquellos que obtuvieron las presiones más altas respecto a los arreglos del diseño experimental. Lo que permite definir que la relación de presión es fundamental para la adecuada extracción de este compuesto, así como las variaciones en la relación solvente - material vegetal; definen una relación inferior, la cantidad de extracto obtenido es mayor, determinando estos dos valores como los parámetros adecuados para el proceso de obtención de flavonoides. Las variaciones en la coloración de las muestras evaluadas, determinaron la concentración de flavonoides obtenidos para cada una, como se ve en la *figura 3*, donde se presentan baja miscibilidad en las muestras.

De acuerdo a los extractos obtenidos de las tres plantas, se demostró que el *Piper aduncum* –Cordoncillo- es la mejor opción para las microencapsulaciones, debido a las altas concentraciones de flavonoides en las muestras generadas, respecto a las obtenidas con *Cymbopogon nardus* –Citronella- y *Ocimum tenuiflorum* –Albahaca lima-. Estos extractos fueron utilizados para la elaboración de microencapsulados de acuerdo a la metodología propuesta, y la evaluación de las microcápsulaciones fueron comparadas con las obtenidas con extractos convencionales de aceite de *Eucalyptus tereticornis* –Eucalipto-, alternativa para la funcionalización del efecto repelente en prendas.

3.4. ELABORACIÓN DE LOS MICROENCAPSULADOS

Para la elaboración de los microencapsulados, los extractos obtenidos fueron adicionados a las soluciones de gelatina, logrando mejores solubilidades, respecto a los compuestos oleicos tradicionales. Una vez disuelto en la solución, se adiciona lentamente a la solución de goma arábica, para luego obtener las microcápsulas a partir de choque térmico y variaciones de pH, logrando el endurecimiento de las cápsulas obtenidas.

Figura 4. Soluciones de microencapsulados (a) Goma arábica (b) Gelatina con extractos obtenidos

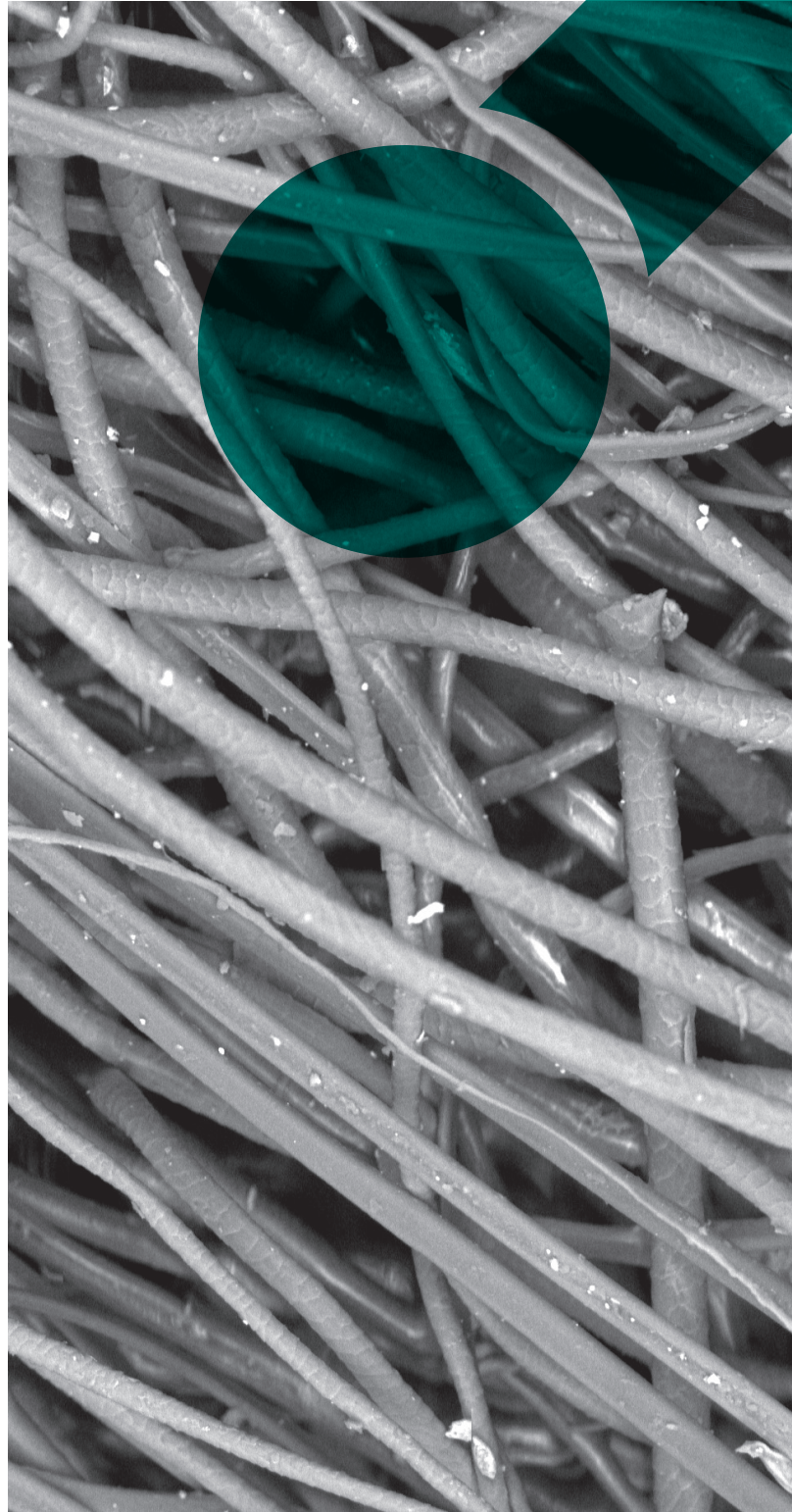
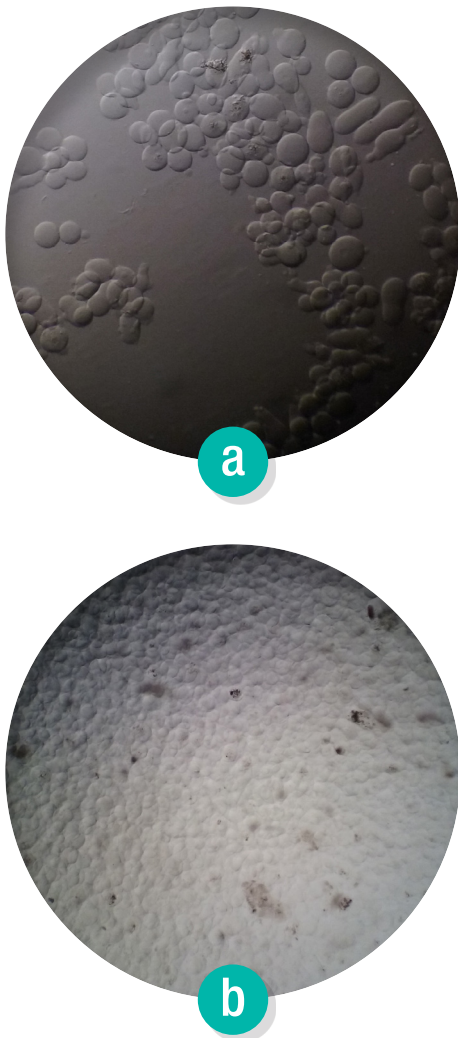


Las soluciones obtenidas, como se muestra en la *figura 4*, tienen diferentes coloraciones, siendo agitadas de manera paralela a la misma temperatura, facilitando la solubilidad de los compuestos. A la solución de gelatina, se adicionaron parte del extracto obtenido de *Piper aduncum* –Cordoncillo- para solubilizar y homogeneizar la muestra, posteriormente se

adiciona la goma arábica diluida. Esta solución fue regulada al pH sugerido, la mezcla reacciona endureciendo sus paredes al adicionar el glutaraldehído y la variación de pH. Las variaciones de pH, y endurecimiento de las paredes, modifican las geometrías de las microcápsulas, determinando: el tamaño, composición y resistencias mecánicas adecuadas para este

proceso. Los microencapsulados obtenidos son lavados con agua destilada, generando tres fases en el sedimentador, donde la interfase contenía los microencapsulados deseados. Una vez separada la muestra, se evalúa por microscopía óptica para ver *figura 5*, determinar las geometrías y concentraciones de los microencapsulados para posteriormente evaluar sus propiedades de fijación e impregnación.

Figura 5. Microcápsulas de *Piper aduncum* –Cordoncillo- obtenidas por coacervación compleja (a) micrografía de la interfase a 40x. (b) Micrografía de la solución a 10x



La investigación se encuentra en un 70% de adelanto frente a los procesos de pruebas y análisis de los diseños experimentales referentes a: Impregnación y evaluación de la reactividad relativo a la repelencia al mosquito *Aedes aegypti*. La determinación de ciclos de lavado, reingeniería del proceso y la capacidad de fijación de los agregados textiles serán posteriormente evaluados en una segunda etapa de la investigación.

4.DISCUSIÓN

- Las concentraciones de flavonoides de acuerdo a los pretratamientos y valores de presión, determinaron las concentraciones más altas a presiones reducidas, determinando los valores de flavonoides a presiones y temperaturas más altas que las sugeridas para extracciones con el solvente empleado el etanol.
- Las muestras de *Piper aduncum* –Cordoncillo-, presentaron mayores concentraciones de flavonoides en muestras secas prelavadas, este material seco redujo el peso para rotaevaporar el material vegetal, y los lavados permitieron que algunos compuestos solubilizaran, facilitando miscibilidades entre los azeótropos generados en la mezcla con etanol, solvente utilizado.
- Las muestras de *Ocimum tenuiflorum* -Albahaca lima- fueron las que presentaron más baja concentración de flavonoides, debido al estado de las inflorescencias utilizadas, que en su mayoría eran muestras frescas, sin pretratamientos, como el secado o lavado. Reduciendo el arrastre de compuestos solubles en alcohol, debido a la concentración de agua presente en la muestra biológica.
- Como se lee en la *figura 3*. Las muestras de *Cymbopogon nardus* –Citronella- determinaron los valores en diferentes procesos, determinando la incidencia de la presión en el sistema como variable crítica en el proceso de extracción .
- Las muestras obtenidas lograron estabilizarse y solubilizar en tiempos más cortos, debido a la miscibilidad de los compuestos respecto al extracto obtenido, ambos hidrófilos. Permitiendo la reducción de los tiempos de coacervación, respecto a los obtenidos con aceites esenciales en las pre experimentaciones.
- Los microencapsulados generados por coacervación compleja, mostraron una buena estabilidad a través del tiempo debido a la composición obtenida de los extractos de *Piper aduncum* –Cordoncillo- las microscopías determinaron estabilidad a los 10 días de realizar la fórmula de acuerdo a lo propuesto por Villena (Villena 2006).
- De acuerdo a esto, mostrar las fotografías obtenidas para soportar los comportamiento y la transparencia de las cápsulas, la estabilidad de las mismas, soportar las variaciones de pH de acuerdo al endurecimiento y la geometría. Soportar con artículos de coacervación y efecto del pH en el tamaño de las mismas.



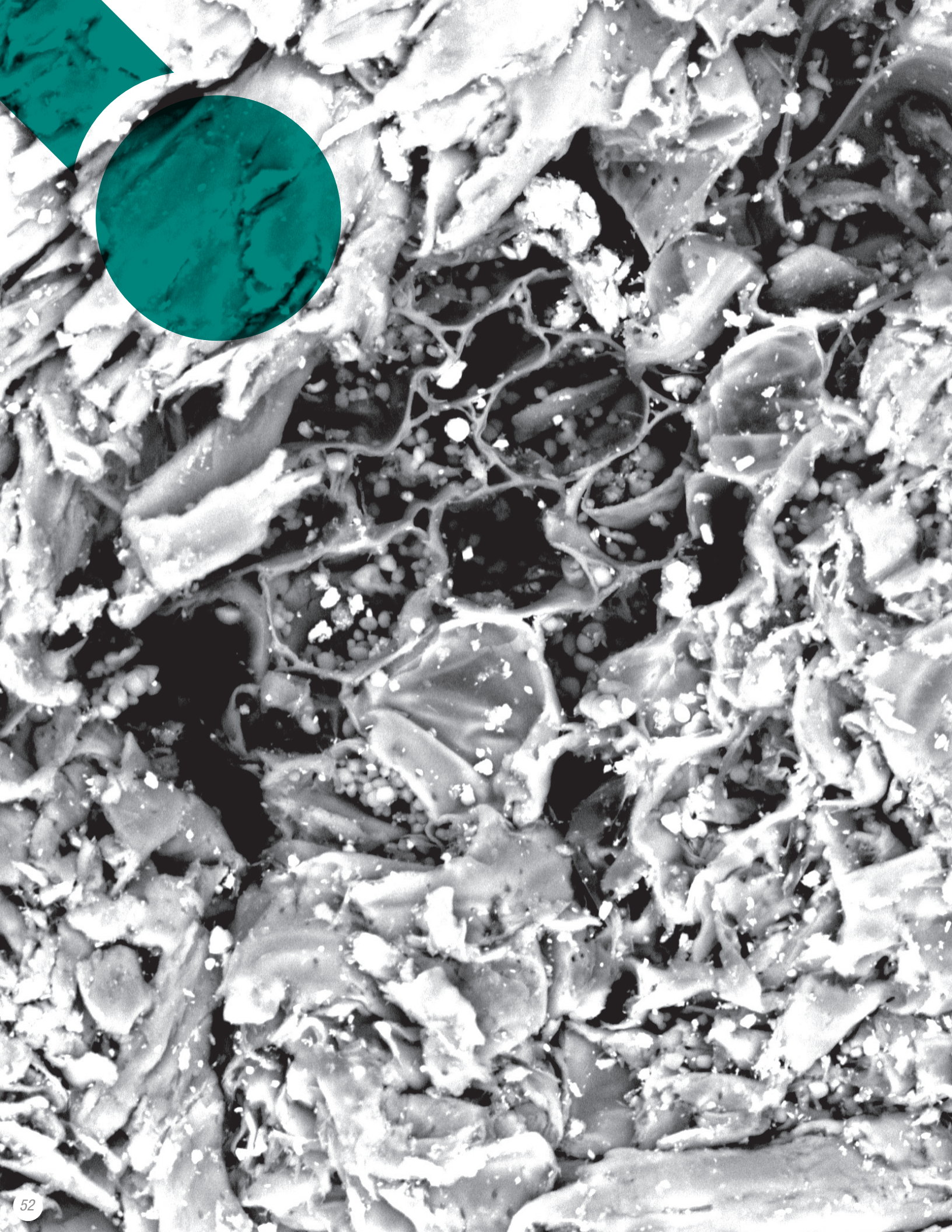
5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1. CONCLUSIONES

- La presencia de flavonoides en las inflorescencias de las tres especies, fue validada bajo las pruebas de Salkowski, determinando las mayores concentraciones en las muestras de *Piper aduncum* –Cordoncillo-, respecto a las de *Cymbopogon nardus* –Citronella- y *Ocimum tenuiflorum* -Albahaca lima-.
- Los procesos de extracción alcohólica de los compuestos repelentes, facilitaron los procesos de coacervación compleja, debido a la alta miscibilidad con los compuestos utilizados.

5.2. RECOMENDACIONES

- La capacidad de las plantas para realizar el efecto repelente de insectos escalada a procesos de microencapsulación de flavonoides, debe ser contrastada con ensayos in vivo con la especie *Aedes aegypti*.
- Lo sugerido para este caso, es determinar la incidencia de los pH en microencapsulados de fracciones fenólicas, para determinar rendimientos en la fijación por foudardado, determinando tiempos adecuados en la impregnación.
- Definir las concentraciones de flavonoides para los microencapsulados y la relación masa microencapsulados por mililitro de solución. Hacer una relación por diluciones seriadas.



6. BIBLIOGRAFÍA

- Bourdy G., Willcox M.L., Ginsburg H., Rasoanaivo Ph., Graz B., Deharo E. (2008). **Ethnopharmacology and malaria: NEw hypothetical leads or old efficient antimalarials?**. International Journal of Parasitology. 38. 33-41.
- Erum I, Kamariah A.S. Linda B. L. (2015). **Phytochemical screening, total phenolics and antioxidant activities of bark and leaf extracts of *Goniothalamus velutinus* (Airy Shaw) from Brunei Darussalam**. Journal of King Saud University-Science. V 27(3). 224.232.
- Fairhurst and Loxley. (2008). **Micro- and Nano- encapsulation of Water-and Oil-soluble Actives for Cosmetic and Pharmaceutical Applications**. En Cosmetic Delivery systems.135-144
- Plazas E., Cuca L., Delgado W. (2008). **Flavonoides aislados de las inflorescencias de *Piper Hispidum kunth* (Piperaceae)y derivados acetilados**. Revista Colombiana de Química, Vol 37, 2.
- Gomez.Estaca J., Comunian T.A., Montero P., Ferro-Furtado R. (2016). **Encapsulation of an astaxanthin-containing lipid extract from shrimp waste by complex coacervation using a novel gelatin-cashew gum complex**. Food Hydrocolloids V61. 155-162.
- Lopretti M., Barreiro F., Fernandes I., Damboriarena A., Ottati C., Olivera A.(2007). **Microencapsulación de compuestos de actividad biológica**.Publicación anual del laboratorio tecnológico del Uruguay.V2. 19-22
- Sathantriphop S., Achee N., Snaguanpong U., Chareonviriyaphap T.(2015). **The effects of plant essential oils on escape response and mortality rate of *Aedes aegypti* and *Anopheles minimus***. Journal of Vector Ecology. 40(2): 318-326.
- Serna-Cock L., Vallejo-Castillo.(2013). **Probiotic encapsulation**. African Journal of Microbiology Research. V 7(40) 4743-4753.
- Sumithra M., Vasugi Raaja N.(2012). **Micro-encapsulation and nano-encapsulation of denim fabrics with herbal extracts**. Indian Journal of Fibre & Textile Research. V 37. 321-325.
- Thanispong K. Achee N., Bangs M., Grieco J., Suwonkerd W., Prabaripal A., Chareonviriyaphap T. (2009). **Irritancy and repellency behavioral responses of three strains of *Aedes aegypti* exposed to DDT and alpha-Cypermethrin**. Vector control, Pest Management Resistance Repellents. J MEd. Entomol. 46(6): 1407-1414.
- Villena M., Morales Hernandez M., Gallardo Lara V y Ruiz Martínez M. (2009). **Técnicas de microencapsulación: una propuesta para microencapsular probióticos**. ARS Pharmaceutica.Universidad de Granada, Departamento de Farmacia. España.