

Microencapsulación de aceite esencial de caléndula para antienviejecimiento cutáneo Microencapsulation of calendula essential oil for skin anti-aging

K. Medina-Gallegos^{a,b,*} , M. Barrera-Lozano^{a,c} , A. Cruz-Gómez^{a,d} , R. Grimaldo-Santos^{a,e} , J. Bravo-Patiño^{a,f} 

^aInstituto de Nanotecnología Aplicada-INA, Estado de México, 54987, México.

^bTecnológico nacional de México campus Ciudad Hidalgo, Ciudad Hidalgo, 2120, México.

^cUniversidad Autónoma del Estado de Hidalgo, Hidalgo, 42082, México.

^dUniversidad de Guadalajara-Centro Universitario de Tonalá, Jalisco, 45425, México.

^eInstituto Tecnológico y de Estudios Superiores de Monterrey, Nuevo León, 64849, México.

^fUniversidad Pontificia Bolivariana, Medellín, 51000, Colombia.

Resumen

La caléndula es una planta que contiene en su estructura, moléculas que poseen actividad antioxidante, lo que conlleva la neutralización de radicales libres derivados del estrés oxidativo. Mediante el presente estudio, se llevó a cabo la extracción del aceite esencial de caléndula mediante el método de macerado. Posteriormente, se formó una emulsificación O/W mediante el método de ultrasonido, a una potencia de 250W. Para la síntesis de la microemulsión se incorporó tween 80 como surfactante anfífilico y alginato de sodio como agente estabilizante. La formación de las microemulsiones se validó mediante microscopía óptica por la presencia de micropartículas de 0.86 μm y 13.2 μm . Mediante caracterización FTIR, se confirmó la presencia de grupos funcionales característicos del aceite esencial, en las microemulsiones. Así, en el presente estudio se detalla la discusión sobre las propiedades atribuidas al sistema, por la incorporación de los diferentes agentes mencionados y por el diseño experimental propuesto. Por ende, se propone la maceración como un método fácil y asequible para la obtención de aceites esenciales, al mismo tiempo que la microemulsificación se postula como una alternativa llamativa para la encapsulación de dichos aceites.

Palabras Clave: aceite esencial, caléndula, maceración, microemulsión.

Abstract

Calendula is a plant that contains in its structure molecules that have antioxidant activity, which entails the neutralization of free radicals derived from oxidative stress. Through the present study, the extraction of calendula essential oil was carried out using the maceration method. Subsequently, an O/W emulsification was formed using the ultrasound method, at a power of 250W. For the synthesis of the microemulsion, tween 80 was incorporated as an amphiphilic surfactant and sodium alginate as a stabilizing agent. The formation of the microemulsions was validated by optical microscopy by the presence of microparticles of 0.86 μm and 13.2 μm . Through FTIR characterization, the presence of functional groups characteristic of the essential oil in the microemulsions was confirmed. Thus, in the present study the discussion on the properties attributed to the system is detailed, due to the incorporation of the different agents mentioned and the proposed experimental design. Therefore, maceration is proposed as an easy and affordable method for obtaining essential oils, at the same time that microemulsification is postulated as a striking alternative for the encapsulation of said oils.

Keywords: essential oil, calendula, maceration, microemulsion

1. Introducción

El envejecimiento ha suscitado el interés de diversas empresas, especialmente la industria cosmética, que ha llevado a cabo numerosas investigaciones con el objetivo de crear productos que contrarresten los efectos del envejecimiento en las personas.

Dentro de las células de la piel, se crea un ambiente reductor gracias a la actividad de ciertas enzimas que mantienen un suministro constante de energía metabólica. Cuando este equilibrio redox se ve perturbado, se propicia la generación de peróxidos y radicales libres, lo que conlleva a una mayor inestabilidad y reactividad, que pueden dañar diversos componentes celulares, incluyendo proteínas, lípidos,

Autor para la correspondencia: dlreykary@gmail.com

Correo electrónico: dlreykary@gmail.com (Karen Medina Gallegos), ba393020@uaeh.edu.mx (Montserrat Barrera Lozano), alexa.cruz3513@alumnos.udg.mx (Alexa Fernanda Cruz Gómez), A00834044@tec.mx (Regina Mariela Grimaldo santos), juan.brabop@upb.edu.co (Juan David Bravo Patiño).

Historial del manuscrito: recibido el 28/09/2023, última versión-revisada recibida el 16/11/2023, aceptado el 17/11/2023, publicado el 12/12/2023. DOI: <https://doi.org/10.29057/icbi.v11iEspecial5.11772>



telómeros y ADN. Como resultado, los radicales libres fomentan el proceso de oxidación y degeneración en la piel (Xu, 2018).

Existen diversas plantas que producen aceites vegetales y tienen propiedades ideales para su utilización dentro de la industria cosmética, como, por ejemplo: el aceite de jojoba, aceite de oliva, aceite de semillas de girasol, aceite de almendras dulces, entre otras. De igual forma, la industria cosmética ha mostrado interés por aquellas plantas que tienen la capacidad de producir extractos, entre las más destacadas se pueden encontrar: aloe, caléndula, manzanilla, té verde, avena, romero, entre muchos otros (Arraiza, 2017).

El potencial de antienviejimiento de los aceites esenciales ha sido evaluado por diversos investigadores a nivel global (Ayaz et al., 2017). Particularmente, la caléndula es una planta que ha atraído gran interés por sus propiedades antioxidantes, antiinflamatorias, inhibitorias, entre otras. En lo que respecta a los compuestos presentes en la caléndula, se tiene en abundancia compuestos fenólicos (flavonoides y ácidos fenólicos) y saponinas, así como también, carotenoides y alcoholes triterpénicos, tanto en su forma libre como esterificada (Sánchez, 2023). Dichos compuestos confieren a la planta características que promueven la regeneración de la piel y la producción de colágeno. Además, los carotenoides y los flavonoides tienen la capacidad de causar la inactivación de especies reactivas de oxígeno. Por un lado, en las flores liguladas de la caléndula, se encuentra una proporción de carotenoides equivalente al 0.078%, mientras que en los receptáculos esta cifra disminuye a un 0.017%. En contraposición, el contenido de flavonoides en la caléndula representa un porcentaje total de 0.88% en las flores liguladas y 0.33% en los receptáculos. (Jan, 2017).

Los métodos de extracción pueden dividirse en dos secciones principales: métodos clásicos (hidrodestilación, maceración, destilación por arrastre de vapor, etc) y métodos especializados (extracción asistida por ultrasonido, extracción asistida por microondas, extracción con fluidos supercríticos, etc.) (Bolouri et al., 2022).

La maceración es un proceso de extracción sólido-líquido en el cual se añaden los componentes de la planta a un recipiente junto con un solvente. Luego, se permite que la mezcla repose durante un período determinado, y finalmente, se lleva a cabo la separación de los componentes mediante filtración o decantación. Durante este proceso, la materia prima contiene una variedad de compuestos bioactivos que se disuelven en el líquido de extracción. Como resultado, se obtienen dos productos que pueden ser utilizados según las necesidades: el sólido y el extracto. Es importante destacar que la naturaleza de los compuestos bioactivos extraídos depende tanto de la materia prima utilizada como del tipo de líquido de extracción empleado. La maceración se destaca por su simplicidad y su eficiencia energética (Rasul, 2018). En términos generales, este proceso ofrece una manera efectiva de obtener los beneficios de los compuestos bioactivos presentes en la materia prima de forma práctica y económica.

Para preservar partículas, sustancias o compuestos bioactivos que son propensos a la degradación, oxidación o pérdida de su actividad debido a condiciones ambientales adversas, se recurre a técnicas como la encapsulación (Ribeiro et al., 2020). Esta técnica realizada para compuestos bioactivos tiene como propósito principal asegurar la eficiencia y la eficacia de los compuestos bioactivos, así como también su

protección ante influencias no deseadas. Además, la encapsulación permite la liberación controlada de dichos compuestos y una mayor biodisponibilidad (Siddiqui, 2022).

La encapsulación ofrece una amplia gama de posibilidades en cuanto a elección de materiales encapsulantes, equipos y métodos, lo que permite la creación de cápsulas con dimensiones que abarcan desde la nanoescala, en un rango de 10 a 1000 nm, hasta la microescala, con dimensiones de 3 a 5000 μm (Abu-Thabit, 2021). Para el empleo de métodos de microencapsulación de alta energía, se inicia preparando una macroemulsión mediante la combinación de dos fases (agua y aceite) y el surfactante o tensoactivo seleccionado. Posteriormente, esta macroemulsión se somete a un proceso de sonicación, donde a través de la generación de presión o cavitación, se logra la fragmentación de las gotas hasta alcanzar un producto final homogéneo con dimensiones micrométricas o nanométricas (Gupta et al., 2016).

Los sistemas de microencapsulación superan a los métodos convencionales en aspectos como: estabilidad termodinámica, penetración cutánea, habilidad de solubilización de componentes lipofílicos y apariencia física (Lee et al., 2022).

Partiendo de las aplicaciones que se le pueden dar al aceite esencial de caléndula por su actividad antimicrobiana, antioxidante y antiinflamatoria debido a su contenido fenólico, así como las ventajas del incremento de su área superficial o de contacto al incorporarlo a un sistema nano o microestructurado; en el presente estudio se propone llevar a cabo la evaluación de una microencapsulación mediante la preparación de un sistema microemulsionado por el método de macerado, como se observa en la Figura 1. Esto con el objetivo de evaluar las condiciones óptimas que requiere el proceso de encapsulación, así como evaluar la presencia de flavonoides y carotenoides en las cápsulas obtenidas.

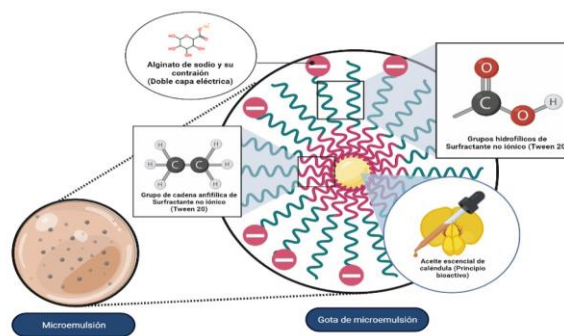


Figura 1: Esquemización de una gota de una microemulsión O/W a base de aceites esenciales de caléndula

2. Desarrollo experimental | Síntesis

2.1 Extracción de aceite esencial de caléndula por método de maceración a partir de flores secas

Se llevó a cabo, previo a la maceración, la esterilización de materiales de laboratorio, lavando cada elemento con jabón neutro (Jalmek) y colocando los frascos en autoclave (T-fal) a una temperatura de 100°C. Se trabajó con flores de caléndula fresca (Fuentes naturales); sus componentes se clasificaron en pétalos, capullos y tallos los cuales fueron pesados en una balanza analítica (Velab). El proceso de maceración se realizó en un frasco de 500 ml con 500 ml aceite de almendra (ROCA grado cosmético), en el cual se depositaron los pétalos y

capullos de la planta con un gramaje de 49.56g; y un segundo frasco de 500 ml con 500 ml aceite de jojoba (Productos el Roble), en el cual se depositó la flor completa con un gramaje de 90.31g. El proceso se realizó en una campana de extracción (ECOSHEL MODEL1200F) (Fenaroli, 1995). Posteriormente, los frascos fueron cerrados herméticamente con manta de cielo de bajo de la tapa para evitar la filtración de humedad. Los frascos se revisaron diariamente para que en caso de humedad se pudiera retirar, así mismo se evaluó pH (tiras de pH CIVEQ) y temperatura cada 5 días hasta alcanzar un tiempo de macerado de 40 días subsecuentemente al terminar este proceso el aceite fue filtrado utilizando un sistema de filtrado (ROCKER 300 MF 31) con una membrana de nanocelulosa (CMR Globe 0.46 μm) con el fin de retirar el material orgánico que pudiera haber quedado suspendido en el aceite. Sucesivamente fue almacenado en un lugar fresco y sin ser expuesto a la luz del sol, para su posterior encapsulado.

2.2 Microencapsulación de aceite esencial de caléndula

Para cada uno de los aceites esenciales obtenidos, se realizó el siguiente procedimiento. Se pesó 4.8 g de alginato de sodio (Grado alimenticio) en una balanza analítica y se disolvió en 288.64 mL de agua desionizada (Mili Q 99.99% $18 \text{ M}\Omega \cdot \text{cm}^2$) a 25°C en un vaso de precipitado de 400 mL. Posteriormente se midieron 3,680 μL de aceite con una micropipeta, y dicha porción se añadió a la solución acuosa. Después se midieron 2,880 μL de Tween 80 (Meyer 98% ACS) con una micropipeta y se agregó a la misma solución acuosa. Todos los reactivos anteriores se mezclaron mediante un homogeneizador de alta velocidad (VELAB) a 15000 rpm durante un tiempo estimado de 5 a 10 minutos. Seguido de esto, la muestra se colocó en un baño de ultrasonido (CO-Z) a 40°C por intervalos de 5 minutos hasta llegar a 15 minutos. Finalmente, las muestras fueron depositadas en viales a temperatura ambiente, para su posterior caracterización (Branco et al., 2020).

2.3 Medición del tamaño de partícula

Para obtener las microfotografías se utilizó un microscopio óptico (Zeigen) con 100 magnificaciones a una resolución de 0.18 μm . El análisis de estas se realizó dentro del software ImageJ, utilizando como referencia la resolución y el número de píxeles contenidos en la imagen. De esta manera se logró medir el tamaño de partícula de ambos sistemas microemulsionados, tanto el de macerado de aceite de jojoba como el de aceite de almendra. Finalmente, se realizaron dos gráficas de distribución de las frecuencias de cada tamaño obtenido en las mediciones.

2.4 Caracterización de las microemulsiones

La caracterización de los extractos de aceite esencial de caléndula obtenidos por el método de maceración y las microemulsiones sintetizadas a partir de dichos extractos, se realizó mediante espectroscopia FTIR. Los espectros de absorbancia se adquirieron con la ayuda de un espectrofotómetro FTIR (Bruker Alpha). Los espectros de absorción se registraron en un rango de longitud de onda de $4000\text{-}400 \text{ cm}^{-1}$ con un tamaño de paso: $0,1 \text{ cm}^{-1}/\text{s}$, y un tiempo de integración de 5 espectros por medida en 2 min. Las mediciones se realizaron en condiciones ambientales.

3. Análisis y discusión de resultados

3.1. Espectroscopia FTIR

Con la finalidad de identificar los grupos funcionales presentes en los extractos de aceite esencial de caléndula y confirmar el éxito en la formación de las microemulsiones preparadas, se procedió a realizar un análisis mediante espectroscopia FTIR en las muestras.

Las Figuras 2 y 3 indican los espectros de absorbancia obtenidos para las muestras correspondientes a extractos de aceite esencial y microemulsiones de almendra y jojoba, respectivamente. En ambas gráficas, M1 corresponde a el extracto de aceite esencial y M2 a la microemulsión formada a partir de dicho aceite.

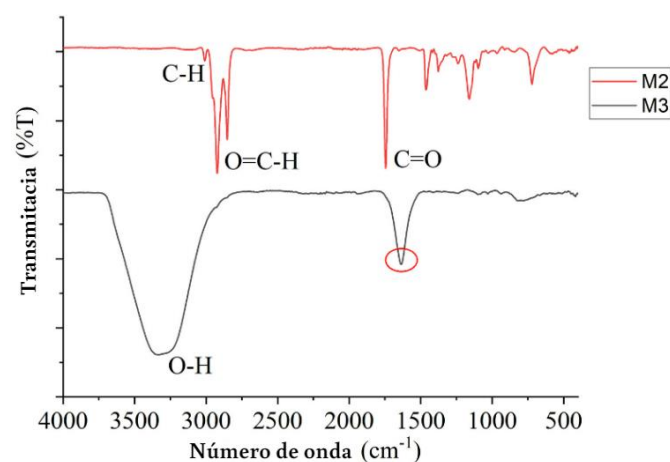


Figura 2. Espectro infrarrojo de M2) Macerado de aceite esencial de caléndula con aceite de almendra y M3) Microemulsión a base de macerado con aceite de almendra

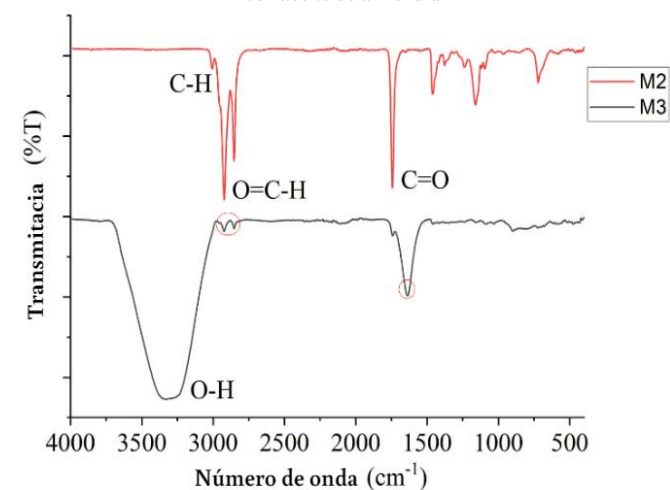


Figura 3. Espectro infrarrojo de M2) Macerado de aceite esencial de caléndula con aceite de jojoba y M3) Microemulsión a base de macerado con aceite de jojoba

A partir de los espectros obtenidos se identificaron los grupos funcionales presentes en las muestras. Las tablas 1 y 2 indican los nombres y los números de onda de absorción de los grupos funcionales obtenidos para las muestras de los extractos de aceite esencial y microemulsiones, de almendra y jojoba, respectivamente.

Tabla 1: Grupos funcionales presentes en extracto de aceite esencial y microemulsión, a partir de macerado con aceite de almendra

Muestra	G.F	Número de onda (cm^{-1})
M2	C-H	3009.42
M2	O=C-H	2922.84
M2	C=O	1743.81
M3	O-H	3386-3219

Tabla 2: Grupos funcionales presentes en extracto de aceite esencial y microemulsión, a partir de macerado con aceite de almendra

Muestra	G.F	Número de onda (cm^{-1})
M2	C-H	3007.35
M2	O=C-H	2922.84
M2	C=O	1743.81
M3	O-H	3401-3219

Las Figuras 2 y 3 evidencian la formación de una microemulsión a partir de extracto de aceite esencial de caléndula por método de macerado.

El tween 80 es un compuesto anfifílico, es decir que en su estructura presenta un extremo hidrofílico y otro extremo lipofílico. Esta característica permite una doble interacción con las diferentes fases de la microemulsión, formando nanopartículas cuya componente externa o cabeza es hidrofílica y cuya componente interna o cola es lipofílica (Cheng *et al.*, 2017).

El extremo hidrofílico del tween 80 se caracteriza por estar conformado por grupos OH. Estas moléculas polares interactúan con las moléculas del agua formando puentes de hidrógeno (Kopanichuk *et al.*, 2018). Las Figuras 2 y 3 muestran una curva característica a ello en el rango de 3500 cm^{-1} a 3000 cm^{-1} . Kopanichuk *et al.* (2018) han reportado la relación de esta curva con la presencia de grupos OH en la estructura de la microemulsión. De esta manera, haciendo un análisis comparativo del espectro de los aceites esenciales puros con la microemulsión formada, se puede percibir un cambio en la intensidad de absorción debido al incremento del momento dipolar del enlace como consecuencia de la mayor polaridad del mismo.

En otros casos, se demostró que la mezcla de Tween 80 con fosfolípidos puede mejorar la estabilidad de la emulsión evitando la coalescencia debido a su capacidad para aumentar las fuerzas de repulsión y con esto favorecer la dispersión de las moléculas. (Jafari, 2018)

La banda correspondiente a estas interacciones se representa en un rango de número de onda de 1780 a 1650 cm^{-1} , misma que corresponde al grupo C=O, que se observaba ya en la estructura alifática y aromática de los aceites esenciales puros. Respecto a ello no se observó más que una ligera reducción en la intensidad, lo cual se puede atribuir a la interferencia de otros componentes de la emulsión en la generación de vibraciones de los átomos de este grupo funcional por la radiación infrarroja.

El alginato de sodio, debido a la presencia de grupos OH en su estructura, muestra una afinidad hidrofílica similar a la del Tween 80, lo que le permite interactuar con las moléculas de agua en la fase acuosa. Esta propiedad facilita la formación de una doble capa eléctrica alrededor de las gotas de la microemulsión (Langford *et al.*, 2022), lo que a su vez, influye en la lectura de absorbancia del grupo aldehído mediante

espectroscopia infrarroja. Es importante destacar que, aunque los picos correspondientes al grupo aldehído en la Figura 3 son más prominentes que los de la Figura 2, esta diferencia podría estar relacionada con el tamaño de las partículas, ya que las partículas en la microemulsión formada a partir del aceite esencial de caléndula extraído con la maceración con aceite de jojoba, son notablemente más grandes que las presentes en la microemulsión formada a partir del aceite esencial de caléndula extraído con la maceración con aceite de almendra.

Debido a que las bandas de absorción analizadas se encuentran en la región del espectro correspondiente a los grupos funcionales, si bien, puede dar una idea de las interacciones formadas, este no provee suficiente información para poder hacer un análisis intrínseco de la estructura de las moléculas que componen el sistema. Al estar todas las bandas identificadas en esta región, se reconoce que el tipo de vibraciones de enlace que estas representan son de estiramiento.

3.2 Microscopía Óptica

Mediante el análisis de microscopía óptica se puede confirmar la formación de la microemulsión mediante la observación de las gotas en esta escala (Figuras 4 y 6). Por medio del análisis de tamaño de partícula, se puede destacar que el sistema formado a partir del aceite esencial de caléndula extraído con la maceración con aceite de jojoba (Figura 5) presenta un tamaño predominante de partícula mayor que el de aceite de almendra (Figura 7), siendo estos 13.2 y $0.86\text{ }\mu\text{m}$ respectivamente.



Figura 4. Microemulsión formada con macerado con aceite de jojoba

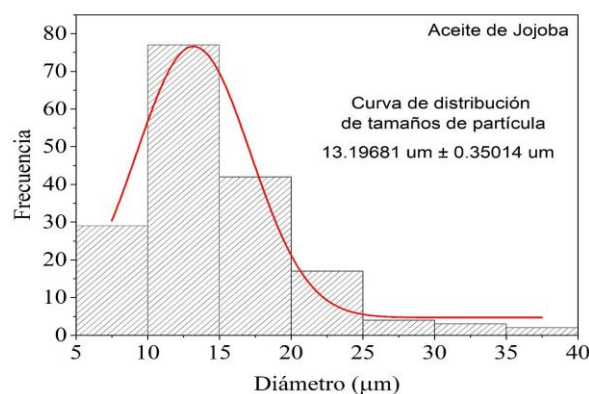


Figura 5. Curva de distribución de tamaño de microencapsulación con aceite esencial de macerado con aceite de jojoba

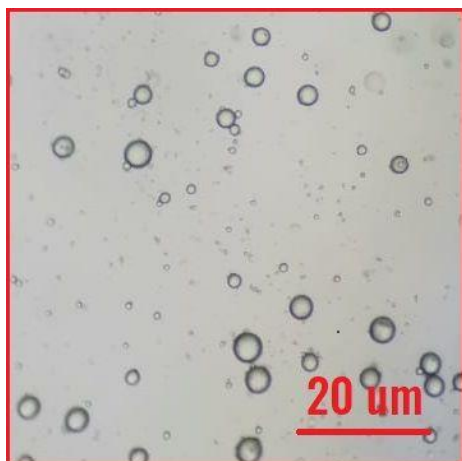


Figura 6. Microemulsión formada con macerado con aceite de almendra

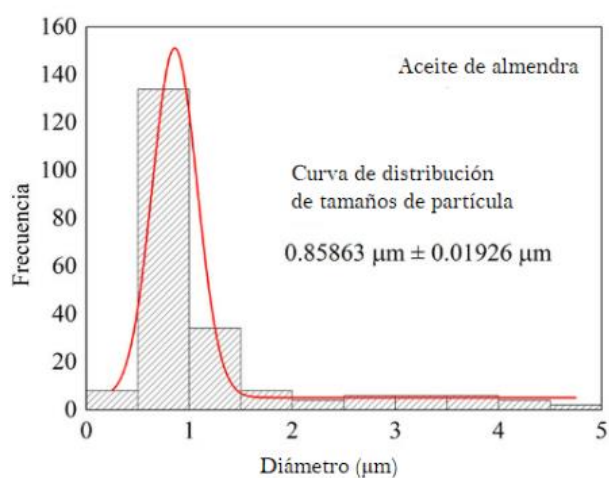


Figura 7. Curva de distribución de tamaño de microencapsulación con aceite esencial de macerado con aceite de almendra

Asimismo, por la anchura de la curva correspondiente al aceite de jojoba, se tiene que este sistema presentó una alta polidispersidad en comparación con el de aceite de almendra. De esta manera, considerando que el primero tiene un mayor tamaño de partícula, se puede atribuir ambos hechos a que en este sistema se está presentando mayormente el fenómeno de Ostwald Ripening como consecuencia de una desestabilización del sistema como resultado de alguna variación en las condiciones de control posterior a la preparación de las microemulsiones, así como una variación en el pH de los macerados previo a la ultrasonificación.

4. Conclusiones

En el presente estudio, se detallan los resultados distintivos de dos sistemas microemulsionados, derivados de la síntesis y microencapsulación del aceite esencial de caléndula. El proceso de microencapsulación se enfocó en una técnica de alta energía mediante el empleo del método de ultrasonido. Aprovechando el fenómeno de cavitación, se logró la formación de partículas con un diámetro reducido, lo cual podría contribuir a mejorar el transporte de componentes bioactivos.

Se eligió Tween 80 como surfactante o tensoactivo anfílico, con una proporción mayormente acuosa en la formulación final (configuración O/W). El alginato de sodio con su contraión se incluyó para la formación de una doble capa eléctrica que prevenga los mecanismos físicos de desestabilización de micro y nanoemulsiones como los son la agregación de gotas y el fenómeno de Ostwald Ripening.

Se evidenció la formación de micropartículas mediante la identificación de grupos funcionales presentes tanto en el extracto de aceite esencial de caléndula como en la microemulsión sintetizada, utilizando microscopía de infrarrojo. No obstante, el alginato de sodio afectó la intensidad de las señales observadas debido a la formación de una doble capa eléctrica que influyó en la absorbancia de los grupos funcionales del aceite esencial. En este contexto, se resalta la maceración como un método sencillo y económico para la obtención de aceites esenciales, mientras que la microemulsificación se presenta como una alternativa atractiva para la encapsulación de dichos aceites.

Agradecimientos

Agradecemos a los doctores Yosemite Arjuna, Edith Bravo e Issis Claudett Romero Ibarra, a los investigadores Valeria Castañeda Beltran, Marianne Michelle Castellanos Hobart, Mariana Castro De Dios, Luis Francisco Emmanuel Frausto Torres, Jatsiri Torres Pineda, Samatzin Uribe Islas, Vázquez Ruiz Sheyka Andrea por su ayuda en el desarrollo de la etapa experimental del presente proyecto. De igual manera agradecemos al Instituto de nanotecnología aplicada (INA) por proporcionar reactivos, materiales e instalaciones para poder realizar la metodología del presente artículo.

Referencias

- Abu-Thabit, N. (Ed.). (2021). Nano- and Microencapsulation - Techniques and Applications. IntechOpen. <https://doi.org/10.5772/intechopen.88590>
- Arraiza, M. P., González Coloma, A., Burillo, J., & Calderón Guerrero, C. (2017). Medicinal and Aromatic Plants: The Basics of Industrial Application. Madrid: Bentham eBooks imprint.
- Ayaz, M., Sadiq, A., Junaid, M., Ullah, F., Subhan, F., y Ahmed, J. (2017). Neuroprotective and Anti-Aging Potentials of Essential Oils from Aromatic and Medicinal Plants. *Frontiers in Aging Neuroscience*, 9. <https://doi.org/10.3389/fnagi.2017.00168>
- Bolouri, P., Salami, R., Kouhi, S., Kordi, M., Asgari Lajayer, B., Hadian, J., & Astatkie, T. (2022). Applications of essential oils and plant extracts in different industries. *Molecules*, 27(24), 8999. <https://doi.org/10.3390/molecules27248999>
- Branco, I. G., Sen, K., & Rinaldi, C. (2020). Effect of sodium alginate and different types of oil on the physical properties of ultrasound-assisted nanoemulsions. *Chemical Engineering and Processing - Process Intensification*, 153, 107942. <https://doi.org/10.1016/j.cep.2020.107942>
- Cheng, M., Zeng, G., Huang, D., Yang, C., Lai, C., Zhang, C., y Liu, Y. (2017). Advantages and challenges of Tween 80 surfactant-enhanced technologies for the remediation of soils contaminated with hydrophobic organic compounds. *Chemical Engineering Journal*, 314, 98-113. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2016.12.135>
- Fenaroli, G. (1995). *Fenaroli's Handbook of Flavor Ingredients*. Washington D.C, Estados Unidos de América: CRC Press.
- Gupta, A., Eral, H. B., Hatton, T. A., y Doyle, P. S. (2016). Nanoemulsions: formation, properties and applications. *Soft Matter*, 12(11), 2826-2841. <https://doi.org/10.1039/c5sm02958a>
- Jafari, S. M., & McClements, D. J. (Eds.). (2018). *Nanoemulsions: formulation, applications, and characterization*. Academic Press

- Jan, N., Andrabi, K. I., & John, R. (2017). Calendula officinalis-an important medicinal plant with potential biological properties. In Proc. Indian Natl. Sci. Acad (Vol. 83, No. 4, pp. 769-787). <https://doi.org/10.16943/ptinsa/2017/49126>.
- Kopanichuk, I. V., Vedenchuk, E. A., Koneva, A. S., y Vanin, A. A. (2018). Structural Properties of Span 80/Tween 80 Reverse Micelles by Molecular Dynamics Simulations. *The Journal of Physical Chemistry B*, 122(33), 8047–8055. <https://doi.org/10.1021/acs.jpcc.8b03945>
- Langford, A., Bruchsaler, M., y Gupta, M. (2022). Suspension properties and characterization of aluminum-adjuvanted vaccines. In *Practical Aspects of Vaccine Development*, 225-266. Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-814357-5.00008-8>
- Lee, S. H., Chow, P. S., & Yagnik, C. K. (2022). Developing Eco-Friendly Skin Care Formulations with Microemulsions of Essential Oil. *Cosmetics*, 9(2), 30. <https://doi.org/10.3390/cosmetics9020030>
- Rasul, M. G. (2018). Conventional extraction methods use in medicinal plants, their advantages and disadvantages. *International Journal of Basic Sciences and Applied Computing (IJBSAC)*, 2(6), 10-14. Recuperado de: <https://www.ijbsac.org/wp-content/uploads/papers/v2i6/F0082122618.pdf>
- Ribeiro, A. M., Shahgol, M., Estevinho, B. N., y Rocha, F. (2020). Microencapsulation of Vitamin A by spray-drying, using binary and ternary blends of gum arabic, starch and maltodextrin. *Food Hydrocolloids*, 108, 106029. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2020.106029>
- Sánchez, V. & Acuña, L. D. (2023). Evaluación de la viabilidad celular en hidrogeles de celulosa bacteriana impregnados con aceites esenciales de caléndula, cúrcuma y orégano con potencial aplicación en apósitos para quemaduras de segundo grado. Recuperado de: <http://hdl.handle.net/20.500.12749/20263>
- Siddiqui, S. A., Bahmid, N. A., Taha, A., Abdel-Moneim, A. E., Shehata, A. M., Tan, C., Kharazmi, M. S., Li, Y., Assadpour, E., Castro-Muñoz, R., & Jafari, S. M. (2022). Bioactive-loaded nanodelivery systems for the feed and drugs of livestock; purposes, techniques and applications. *Advances in Colloid and Interface Science*, 308, 102772. <https://doi.org/10.1016/j.cis.2022.102772>
- Xu, H., Zheng, Y.-W., Liu, Q., Liu, L.-P., Luo, F.-L., Zhou, H.-C., ... Li, Y.-M. (2018). Reactive Oxygen Species in Skin Repair, Regeneration, Aging, and Inflammation. *InTech*. <https://doi.org/10.5772/intechopen.72747>