

Desarrollo de un cosmético

tipo gel con propiedades antioxidante usando como activo aceite esencial de *Citrus sinensis*

Development of a gel-like cosmetic with antioxidant properties using Citrus sinensis essential oil as an active

 Clemente Granados Conde^{1*},  Deisy León-Méndez²,  Glicerio León-Méndez³

¹Ingeniero de Alimentos. Magister en Ciencias y Tecnología de Alimentos. Universidad de Cartagena. Facultad de Ingeniería. Programa de Ingeniería de Alimentos. Grupo de Investigación en Ingeniería, Innovación, Calidad Alimentaria y Salud-INCAS- Cartagena-Colombia. cgranadosc@unicartagena.edu.co;

²Fisioterapeuta, Especialista en Magister en Actividad Física y Salud. Corporación Universitaria Rafael Núñez, Programa de Tecnología en Estética y Cosmetología. GITEC, Cartagena, Colombia. deisy.leon@curvirtual.edu.co

³Químico Farmacéutico, Magister en Ciencias Farmacéuticas, Doctor en Ingeniería. Corporación Universitaria Rafael Núñez, Programa de Tecnología en Estética y Cosmetología. GITEC, Cartagena, Colombia. glicerio.leon@curvirtual.edu.co;

*autor correspondencia

Received/Recibido: 12/28/2020 Accepted/Aceptado: 01/15/2021 Published/Publicado: 02/10/2021 DOI: <http://doi.org/10.5281/zenodo.4676274>

Resumen

El objetivo del estudio fue desarrollar un gel antioxidante usando como componente activo el aceite esencial de *Citrus sinensis*. Se elaboró un gel al cual se le incorporó una concentración del 5% de aceite esencial de *Citrus sinensis*, se evaluó los indicadores de estabilidad físico-química a tiempo de 0, 3, 6, 9, 12, 15, 30 y 60 días; la actividad antioxidante fue determinada mediante las técnicas de actividad antirradicalaria DPPH[•], ABTS^{•+}, y ORAC a los 0, 15, 30 y 60 días. La composición química se evaluó mediante cromatografía de gases/espectrometría de masas a tiempo 0, 15, 30 y 60 días. Los resultados indican que las características organolépticas de la emulsión se mostraron estables, el pH estuvo entre 7,001 y 8,012. La actividad antioxidante inicial por los métodos DPPH[•] y ABTS^{•+} fue de 365,9±0,51 y 28,3±0,11, respectivamente. Los parámetros físicos y químicos evaluados se mantuvieron durante los 60 días de estudio. Con estos resultados se sigue sumando evidencia que avalan a los aceites esenciales, como una buena fuente natural y disponible, para facilitar el desarrollo de diferentes preparaciones cosméticas con actividad biológica definida.

Palabras clave: diseño; actividad antioxidante; productos naturales; composición química.

Abstract

The objective of the study was to develop an antioxidant gel using *Citrus sinensis* essential oil as active compound. A gel was made to which a concentration of 5% of essential oil of *Citrus sinensis* was added; the indicators of physical-chemical stability were evaluated at 0, 3, 6, 9, 12, 15, 30 and 60 days; the antioxidant activity was determined using the anti-radical activity techniques DPPH[•], ABTS^{•+}, and ORAC at 0, 15, 30 and 60 days. The chemical composition was evaluated by gas chromatography / mass spectrometry at time 0, 15, 30 and 60 days. The results indicate that the organoleptic characteristics of the emulsion were stable; the pH was between 7.001 and 8.012. The initial antioxidant activity by the DPPH[•] and ABTS^{•+} methods was 365.9 ± 0.51 and 28.3 ± 0.11, respectively. The physical and chemical parameters evaluated were maintained during the 60 days of study. These results continue to add evidence to support essential oils, as a good natural and available source, to facilitate the development of different cosmetic preparations with defined biological activity.

Keywords: design; antioxidant activity; natural products; chemical composition.

Introducción

Actualmente Colombia ocupa el segundo lugar en biodiversidad de plantas, con un aproximado de 24.528 especies, dicho privilegio natural contribuye a la existencia de una elevada variedad genética. Sin embargo, la gran diversidad de especies nativas o naturalizadas, algunas con metabolitos secundarios como aceites esenciales (AE) hacen que su riqueza natural sea un activo para llevar a cabo investigacio-

nes científicas para el diseño y desarrollo de nuevos productos cosméticos¹⁻⁴. El término “aceite esencial” (AE) es utilizado para referirse a sustancias líquidas, volátiles, de carácter lipofílico y con propiedades aromáticas. Estas sustancias son sintetizadas por las plantas como metabolitos secundarios y pueden ser extraídas mediante métodos físicos como la destilación a vapor o hidrodestilación⁵⁻⁷. Los AE tienen un

Tabla 1. Formulaciones propuestas para el diseño del gel (%). Formulaciones de la F₁ - F₆

Componentes	F ₁	F ₂	F ₃	F ₄	F ₅	F ₆
Carbopol AQUA®	1	2	4	-	-	-
Carbopol Ultrez 30	-	-	-	0,1	0,5	1,0
Glicerina	5	5	5	5	5	5
Trietanolamina	1	2	4	0,1	0,5	1,0
Euxil K® 100	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
Agua	c.s.p. 100%					

Controles a la formulación

Para asegurar, que la formulación mantiene sus características organolépticas tales como color, olor, así como sus características físicas y químicas como pH, viscosidad y composición química por cromatografía de gases/espectrómetro de masa (GC/MS) durante el tiempo, se llevó a cabo el control de las mismas, al momento de elaborar la formulación y a diferentes tiempos a partir de su elaboración (0, 3, 6, 12, 15, 30 y 60 días), igualmente se determinó la actividad antioxidante *in-vitro* del producto terminado¹²⁻¹⁸, a los 0, 15, 30 y 60 días.

Determinación de pH: se tomaron 10 g del gel con agitación constante a una rata moderada por 5 minutos, a la cual se determinó el pH empleando un potenciómetro previamente calibrado⁹.

Determinación de viscosidad: la viscosidad aparente de la emulsión se midió a 25°C en un viscosímetro *Brookfield* (Estados Unidos) hasta estabilizar la lectura⁹.

Evaluación sensorial: Para obtener la mayor aceptabilidad por parte de la mejor formulación, se realizó un análisis sensorial por un panel de esteticistas profesionales, los cuales fueron seleccionados por medio de una encuesta en donde expresen su previo conocimiento sobre la temática. Por lo cual el panel fue conformado por 100 jueces. La medida del grado aceptación del producto se obtuvo mediante el uso de la escala hedónica¹⁵.

Medición de la actividad antioxidante del gel

Para determinar la actividad antioxidante del gel se emplearon tres metodologías: radical 1,1 difenil-2-picrilhidrazilo (DPPH•), radical catión del ácido 2,2'-Azino-bis-(3-Etilbenzotiazolina)-6-sulfónico (ABTS•+) y la capacidad de absorción de radicales de oxígeno (ORAC).

Método del radical DPPH•: la actividad captadora de radicales libres DPPH• se determinó empleando el método descrito por Silva y col.¹⁹ modificado. Brevemente, 75 µL de la muestra fue adicionada a 150 µL de una solución metanólica de DPPH• (100 ppm) y se incubó a temperatura ambiente durante 30 min, luego de los cuales se determinó espectrofotométricamente la desaparición del radical DPPH• a 550 nm en lector de microplacas *Multiskan Ex* (*Thermoscientific*). Se utilizó ácido ascórbico (25 µg/mL como control positivo de captación de los radicales DPPH•). (Ecuación 1)

$$\% \text{ Inhibición} = \frac{(A_0 - A_f)}{A_0} * 100 \quad (\text{Ecuación 1})$$

Donde A₀ y A_f son los valores de absorbancia del blanco (solución de DPPH en alcohol) y la muestra (solución de DPPH más antioxidante disueltos en alcohol), respectivamente.

Método del radical ABTS•+: la actividad captadora del radical libre ABTS• se determinó empleando el método descrito por Re y col.²⁰ con algunas modificaciones. El radical ABTS• se formó tras la reacción de 3,5 mM de ABTS con 1,25 mM de persulfato potásico (concentración final). Las muestras fueron incubadas entre 2-8°C y en oscuridad durante 16-24 h. Una vez formado el radical ABTS se diluyó con etanol hasta obtener una absorbancia de 0,7±0,05 a 734 nm. A un volumen de 190 µL de la dilución del radical ABTS• se le adicionaron 10 µL de la muestra de AE y se incubó a temperatura ambiente durante cinco minutos; luego de transcurrido este tiempo, se determinó espectrofotométricamente la desaparición del radical ABTS• a 734 nm en el lector de microplacas *Multiskan Ex* (*Thermoscientific*). Se utilizó ácido ascórbico (4 µg/mL) como control positivo de captación de los radicales ABTS•²¹.

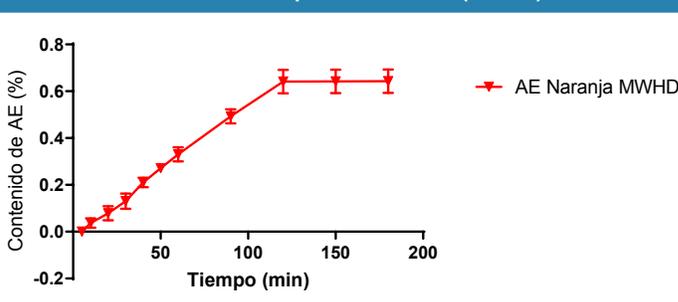
Análisis estadístico

Los resultados correspondientes a tres ensayos independientes se expresaron como el promedio ± desviación estándar (DS). Para la organización de los datos se empleó la hoja de cálculo *MS Excel 2010*. Las comparaciones entre las medias en los diferentes tiempos (0, 3, 9, 12, 15, 30 y 60 días) fueron realizadas mediante análisis de varianza de una vía (ANOVA) y el *postest* de *Dunnett's* para comparaciones múltiples. Para el análisis de los datos se utilizó el programa estadístico *GraphPad* y el *INSTAT*, 3.05. Las diferencias entre las medias fueron consideradas significativas para un valor de p≤0,05.

Resultados

La eficiencia de la extracción del aceite esencial de *C. sinensis* se presenta en la figura 1.

Figura 1. Cinética de extracción del AE obtenido a través del método hidrodestilación asistida por microondas (MWHd)



En la Tabla 2 se presenta la composición química del aceite esencial de *C. sinensis* el cual se llevó a cabo mediante cromatografía de gases/espectrometría de masas (CG/EM).

La composición final de la formulación se basó en la evaluación de las características farmacotécnicas (formación y estabilidad física del gel), hasta obtener productos con características apropiadas para su empleo. Estos se obtuvieron preparando una base de gel, a la cual se adicionó el AE. Posteriormente a la preparación del gel, se determinaron las características físicas (Tabla 3) y organolépticas (Figuras 2 – 4).

Tabla 2. Componentes mayoritarios detectados en el AE de *C. sinensis* obtenido a través del método de hidrodestilación asistida por microondas (MWHD)

Compuesto	% Abundancia relativa, (t _R , min) ^a
	<i>C. sinensis</i>
α-pineno	0,48 (9,40)
β-Mirceno	1,22 (11,25)
Limoneno	89,11 (11,68)
Linalool	0,85 (12,33)

^aTiempo de retención (tr) y abundancia relativa (%) de los aceites esenciales, identificados por comparación con espectro de masas de referencia de la base de datos NIST - 2008.

Tabla 3. Evaluación de los indicadores fisicoquímicos de las formulaciones propuestas para el diseño del gel (%). Formulaciones de la F1 – F6

INDICADORES	F1							
	0	3	6	9	12	15	30	60
pH	7,855±0,33	7,541±0,22	7,512±0,22	7,500±0,15	7,457±0,25	7,455±0,25	7,443±0,22	7,440±0,33
Viscosidad	1600±0,15	1540±0,22	1510±0,17	1500±0,87	1480±0,99	1450±0,15	1400±0,45	1380±0,15
Estrés acelerado (Separación de las fases)	No							
Olor	Característico del AE							
INDICADORES	F2							
	0	3	6	9	12	15	30	60
pH	8,089±0,04	8,000±0,33	7,984±0,78	7,950±0,45	7,944±0,23	7,936±0,11*	7,931±0,78*	7,927±0,55*
Viscosidad	2333±0,15	2300±0,33*	2290±0,37*	2287±0,55*	2273±0,98*	2263±0,35*	2355±0,25*	2350±0,55*
Estrés acelerado (Separación de las fases)	No							
Olor	Característico del AE							
INDICADORES	F3							
	0	3	6	9	12	15	30	60
pH	8,122±0,02	8,044±0,15	8,009±0,15	7,922±0,33	7,912±0,14	7,902±0,52*	7,900±0,33*	7,895±0,55*
Viscosidad	2551±0,15	2542±0,19*	2531±0,45*	2522±0,10*	2515±0,13*	2510±0,15*	2502±0,33*	2500±0,22*
Estrés acelerado (Separación de las fases)	No							
Olor	Característico del AE							
INDICADORES	F4							
	0	3	6	9	12	15	30	60
pH	7,557±0,12	7,498±0,33	7,462±0,14	7,433±0,33	7,411±0,55	7,022±0,33*	7,011±0,25*	7,001±0,45*
Viscosidad	5833±0,53	5789±0,90*	5775±0,15*	5605±0,56*	5593±0,50*	5584,11±0,45*	5573±0,22*	5564,22±0,33*
Estrés acelerado (Separación de las fases)	No							
Olor	Característico del AE							
INDICADORES	F5							
	0	3	6	9	12	15	30	60
pH	7,900±0,04	7,83±0,13	7,752±0,54	7,744±0,53	7,590±0,14*	7,383±0,12*	7,374±0,99*	7,370±0,23*
Viscosidad	6003±1,10	5940±1,20*	5930±0,55*	5905±0,25*	5893±0,70*	5854,25±0,55*	5833±0,57*	5825,10±0,33*
Estrés acelerado (Separación de las fases)	No							
Olor	Característico del AE							
INDICADORES	F6							
	0	3	6	9	12	15	30	60
pH	8,100±0,12	8,032±0,11	8,012±0,12	8,004±0,33	7,906±0,33	7,703±0,11*	7,615±0,33*	7,522±0,15*
Viscosidad	6454,33±0,15	6440±0,30*	6145±0,15*	6005±0,75*	5913±0,07*	5954,11±0,50*	5942±0,57*	5934±0,19*
Estrés acelerado (Separación de las fases)	No							
Olor	Característico del AE							

*Todos los resultados presentaron diferencias estadísticas significativas a un nivel de confianza ($P < 0,05$).

Figura 2. Porcentaje de aceptación del grado de humectación por parte de los panelistas para las diferentes formulaciones.

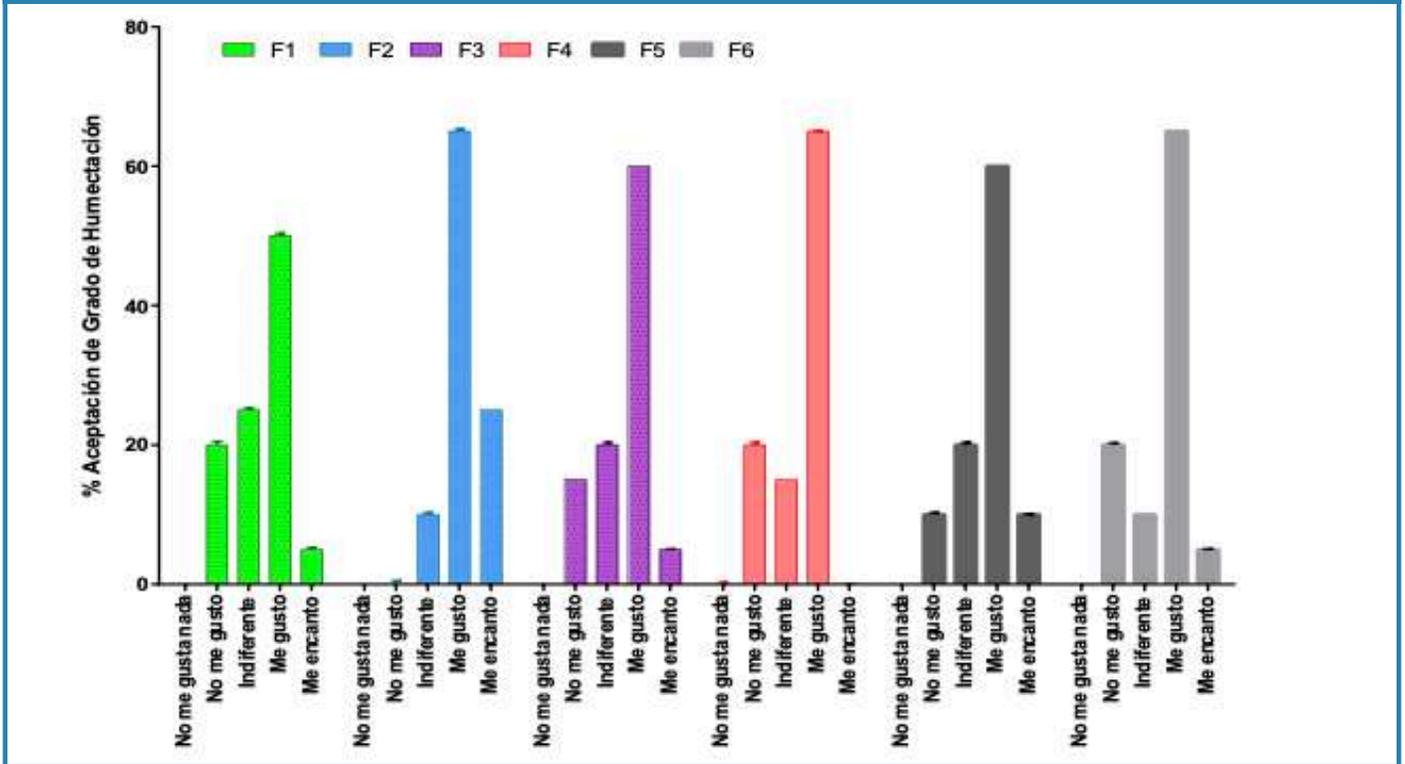


Figura 3. Porcentaje de aceptación de la textura por parte de los panelistas para las diferentes formulaciones.

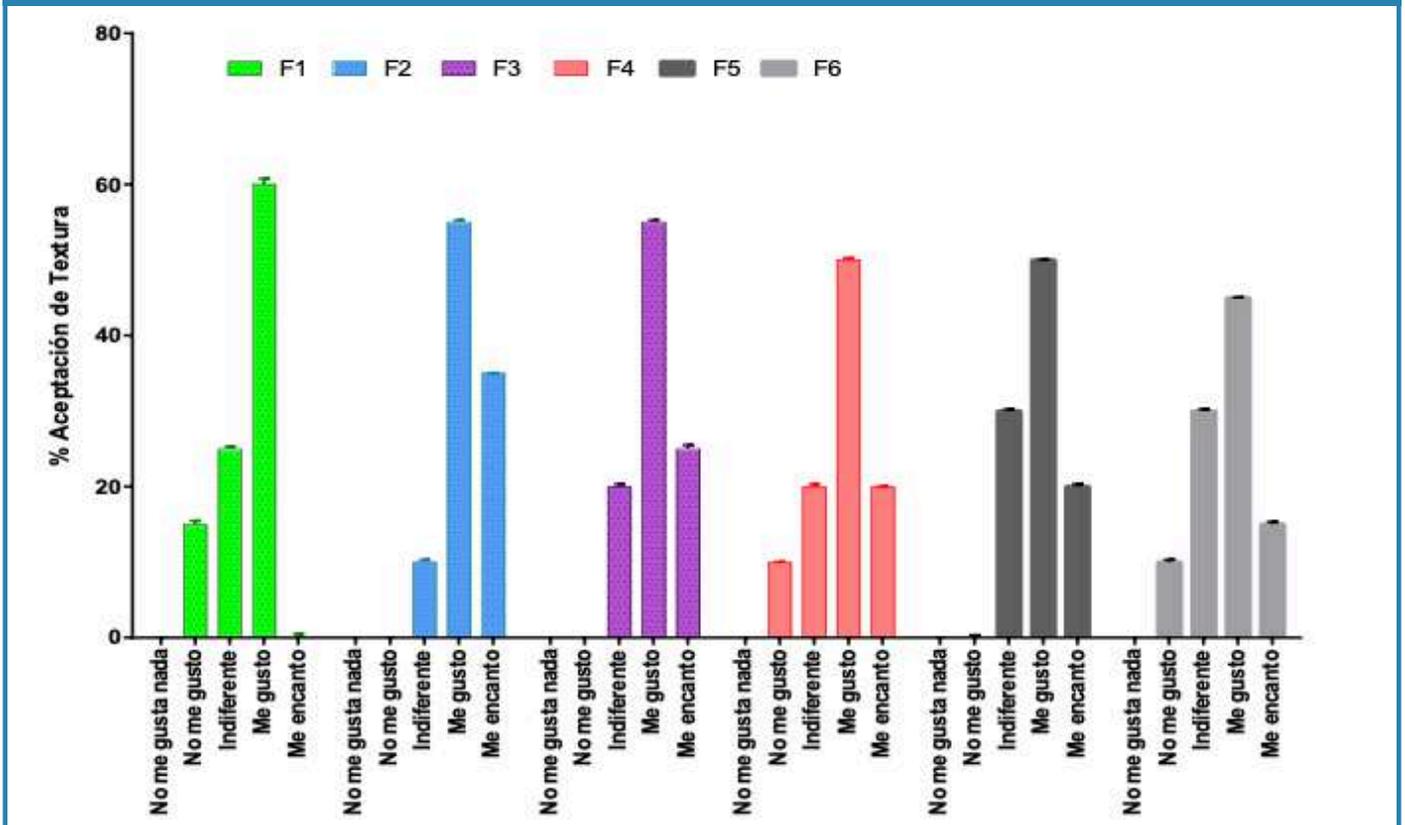
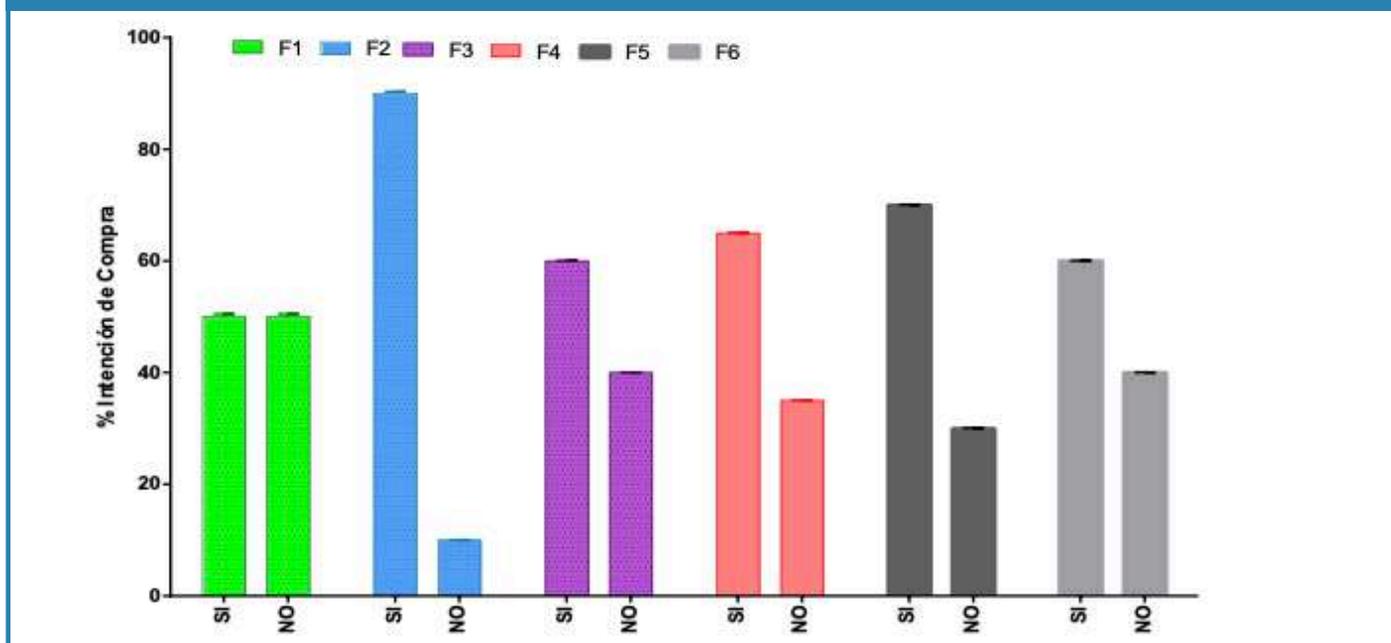


Figura 4. Porcentaje de intención de compra del producto por parte de los panelistas para las diferentes formulaciones.



Posteriormente se llevó a cabo por GC/MS para estimar composición del AE a los tiempos entre 0 y 60 días (Tabla 3). Para determinar si el AE mantiene su actividad antioxidan-

te al ser incorporado dentro de la emulsión, se determinó la actividad antioxidante *in-vitro* del producto terminado, cuyos resultados se presentan en la Tabla 4.

Tabla 3. Componentes mayoritarios detectados en la sustancia activa AE de Citrus sinensis

Composición química	Tiempo (días)															
	0		3		6		9		12		15		30		60	
	% Abundancia relativa	tR, min														
β -mirceno	1,10	11,12	0,90	11,15	0,89	11,10	0,88	11,55	0,86	11,22	0,83	11,00	0,82	11,75	0,80	11,80
Limoneno	88,10	12,90	87,01	13,04	86,02	13,09	86,00	13,50	85,00	13,15	84,5	13,35	84,0	13,8	84,0	13,1
Linalool	0,40	14,5	0,39	14,3	0,37	14,7	0,36	14,1	0,31	14,7	0,29	14,8	0,28	14,1	0,26	14,5

Tabla 4. Capacidad antioxidante del gel analizados por los métodos DPPH y ABTS^{••}.

Gel	Métodos para determinar la actividad antioxidante		
	Tiempo (Días)	DPPH [•] IC ₅₀ (µg/mL)	ABTS ^{••} IC ₅₀ (µg/mL)
	0	365,9±0,51	28,3±0,11
	3	366,1±0,98	28,9±0,51
	6	367,5±0,75	29,5±0,33
	9	368,2±0,33	29,9±0,22
	12	368,5±0,66	30,3±0,11
	15	369,9±0,22	31,5±0,25*
	30	371,3±0,11*	31,9±0,25*
	60	373,7±0,88*	32,5±0,45*

DPPH: 2,2-difenil-1-picrilhidracilo. ABTS^{••}: Ácido 2,2'-azino-bis-(3-etiltiazolinabencenosulfónico-6). *Diferencias significativas comparadas con el tiempo cero, $p < 0,05$.

Discusión

La determinación de la actividad antioxidante de los extractos vegetales es un tema inagotable, pues a pesar de que esta es bien conocida desde tiempos primigenios, emplearlos de manera específica seleccionando una especie, ajustando una dosis, estabilizando una formulación basada en su composición, es una labor que no se puede realizar con información genérica²¹.

La técnica MWHD empleada es un método efectivo en la extracción de los aceites esenciales^{7,8}. Esto es debido a la acción de las microondas sobre las paredes glandulares que contiene el aceite esencial, lo cual hace que el material vegetal se rompa más rápido y eficientemente²². La hidrodestilación asistida por microondas utiliza tres formas de transferencia de calor dentro de la muestra: la irradiación, conducción y convección. Como resultado, produce calor con mayor rapidez dentro y fuera de las glándulas. El aceite esencial

de *C. sinensis* presenta un alto contenido de monoterpenos; destacándose la presencia de limoneno, β -mirceno y linalool. Estos compuestos mayoritarios definen la actividad biológica del aceite esencial, donde no se puede enmarcar a uno solo como el responsable de esta, lo que explica la actividad antioxidante encontrada en el gel²².

El mayor desafío es lograr un diseño cosmético tipo gel efectivo que logre la permeación a través de la piel sin presentar efectos dañinos. Por lo tanto, en el diseño de un gel es indispensable seleccionar la formulación que presente características organolépticas y reológicas idóneas para su administración tópica, es decir, con extensibilidad y textura apropiadas. Es importante asegurarse que la preparación sea estéticamente aceptable para el paciente y fácil de usar²³⁻²⁷.

Al respecto, la forma farmacéutica semisólida tipo gel es una clase relativamente nueva de forma de dosificación creado por atrapamiento de grandes cantidades de líquido acuoso o hidroalcohólico en una red de partículas coloidales, que puede consistir en sustancias inorgánicas, tales como sales de aluminio o polímeros orgánicos de origen natural o sintético, tienen una mayor cantidad de componentes acuosos que permiten una mayor disolución de los principios activos, igualmente permiten la fácil migración del fármaco a través de un vehículo que es esencialmente un líquido, en comparación con los ungüentos de base oleosa y cremas. Además, estos son superiores en cuanto a la aceptabilidad por parte de los usuarios y pacientes.

Teniendo en cuenta todas las ventajas mencionadas anteriormente y el aspecto económico, se tomó como variable fundamental en el proceso para el desarrollo de las formulaciones tipo gel la evaluación de las propiedades sensoriales. Efectivamente, las valoraciones sensoriales representan un método esencial para medir el agrado, la percepción de eficacia, los parámetros de estabilidad, y las características aplicativas más importantes del producto. Permiten la optimización del coste de una fórmula, averiguar la complacencia del consumidor; además son un instrumento de diálogo no verbal entre el formulador y el consumidor, que puede ser una guía para la correcta aplicación del producto. Un instrumento para la percepción de la calidad total. En las figuras 2, 3 y 4 se muestran los valores observados en las pruebas de aceptabilidad utilizando el método de escala hedónica por parte de los panelistas para cada una de las formulaciones de la base nombradas anteriormente, observándose que la F2 fue la que exhibió los mejores resultados en cuanto al grado de humectación, textura e intención de compra.

Es importante tener presente que, en las preparaciones de aplicación en la piel, el pH debe estar comprendido entre 4,5-8,5, de modo que no se produzca irritación y daño a la piel^{11,12,23}. Nuestras diferentes formulaciones presentaron valores de pH en un rango comprendido entre 7,001-8,122, los cuales se encuentran dentro de los valores recomendados para garantizar que el gel no provoque irritación en el momento de su aplicación y, además, constituye un indicador de estabilidad física.

En el análisis reológico se observó un comportamiento característico de los geles, obteniendo valores comprendidos entre 1380 y 5564,22 cP. Además, se determinó que las formulaciones corresponden a un fluido no newtoniano con tixotropía positiva. Las propiedades reológicas deben proporcionar al preparado una adecuada extensibilidad y adaptabilidad a la superficie y cavidades cutáneas^{9,23-27}.

La prueba de centrifugación es uno de los primeros ensayos que se debe realizar a un cosmético durante su etapa de desarrollo, ya que, si existe alguna inestabilidad del producto, éste debe ser reformulado. Se pudo observar que transcurrido el tiempo de ensayo las características de las 6 formulaciones se encontraban invariables comparadas con las que presentaban al inicio de la prueba²³.

Es importante identificar que la promisorio actividad antioxidante del producto usando como activo de AE *Citrus sinensis* (naranja) obtenido mediante MWHD, se debe principalmente a la composición química del mismo, puesto que presenta un alto contenido de monoterpenos; destacándose la presencia de limoneno, β -mirceno, linalool, cabe resaltar que todos estos compuestos definen la actividad biológica del AE, donde no se puede enmarcar a uno solo, como el responsable de las acciones farmacológicas²⁸.

Conclusiones

Con estos resultados se sigue sumando evidencia que avala a los aceites esenciales, como una buena fuente natural y disponible, para facilitar el desarrollo de diferentes preparaciones cosméticas, farmacéuticas o nutricionales con actividad biológica definida. La emulsión antioxidante a partir del aceite esencial de *Citrus sinensis* presentó resultados promisorios; igualmente los indicadores físicos y químicos evaluados se mantuvieron estables durante los 60 días de estudio.

Agradecimientos

Los autores agradecen a la Corporación Universitaria Rafael Núñez y Universidad de Cartagena por facilitar espacio, recursos y tiempo de los investigadores.

Referencias

1. Muñoz-Acevedo A, Kouznetsov VV, Stashenko EE. Composición y capacidad antioxidante in-vitro de aceites esenciales ricos en Timol, Carvacrol, trans-Anetol o Estragol. Salud UIS 2009;41:287-294.
2. Torrenegra M, Matiz G, León G, Gil J. Actividad antibacteriana in vitro de aceites esenciales frente a microorganismos implicados en el acné. Rev Cubana Farm. 2015; 49(3). Disponible en: http://bvs.sld.cu/revistas/far/vol49_3_15/far11315.htm
3. Granados C, Yáñez Y, Santafé G. Evaluación de la actividad antioxidante del aceite esencial foliar de *Calycolpus moritzianus* y *Minthostachys mollis* de Norte de Santander, Bistua, Rev. Fac. Cienc. Bás. 2012; 10 (1): 12-23.
4. Torrenegra-Alarcón M, Granados-Conde C, Durán-Lengua M,

- León-Méndez G, Yáñez-Rueda X, Martínez C, Pájaro-Castro N. Composición Química y Actividad Antibacteriana del Aceite Esencial de *Minthostachys mollis*. Orinoquia. 2016; 20(1): 69-76.
5. Uttara B, Singh AV, Zamboni P, Mahajan RT. Oxidative stress and neurodegenerative diseases: A review of Upstream and Downstream antioxidant therapeutic options. *Current Neuropharmacology*. 2009;7:65-74.
 6. León G, Torrenegra M, Osorio M, Gil J. Extracción, caracterización y actividad antioxidante del aceite esencial de *Plectranthus amboinicus* L. *Rev Cubana Farm*, 2015; 49(4): 708.
 7. Torrenegra M, Granados C, Osorio M, León G. Method comparison of hydrodistillation microwave radiation-assisted (MWHM) front hydrodistillation (HD) in the extraction of essential oil of *Minthostachys mollis*. *Inf Tecnol*, 2015; 26(1): 117.
 8. León G, Osorio MR, Martínez SR. Comparación de dos métodos de extracción del aceite esencial de *Citrus Sinensis* L. *Rev Cuba Farm*, 2015; 49(4): 742.
 9. Pájaro Castro N, León Méndez G, Osorio Fortich M, Torrenegra Alarcón M, García Milano Y. Evaluación de indicadores físicos y químicos de una emulsión con aceite esencial de *Plectranthus amboinicus* L. *Revista Cubana de Farmacia*, 2016; 50(3). Disponible en: <http://www.revfarmacia.sld.cu/index.php/far/article/view/43>
 10. Matiz GE, Osorio MR, Camacho F, Atencia M, Herazo J. Diseño y evaluación in vivo de fórmulas para acné basadas en aceites esenciales de naranja (*Citrus sinensis*), albahaca (*Ocimum basilicum* L) y ácido acético. *Biomédica: Revista del Instituto Nacional de Salud*. 2012; 32(1). Disponible en: <http://www.revistabiomedica.org/index.php/biomedica/article/view/614>
 11. Pérez T, Soler DM, Rodríguez Y, Escobar A, Riverón Y, Morales I, Pérez Z, Llanes M. Estabilidad en anaquel (segundo año) de un gel de *Rhizophora mangle* L. *Rev. Salud Anim*. 2012;34(3):178-183.
 12. Soler DM, Rodríguez Y, Pérez T, Riverón Y, Morales IG. Estabilidad acelerada de un gel de *Rhizophora mangle* L. (mangle rojo) para heridas y quemaduras. *Rev Cubana Farm*. 2011;45(4):563-574.
 13. Matiz GE, Cárdenas PA, Rincón J. Estudios de preformulación de un fitomedicamento Tópico antiinflamatorio con base en fracciones activas de flores y hojas de *Caesalpinia pulcherrima* (L.) Swartz empleando modelos analíticos biológicos. *Lat. Am. J. Pharm*.2007;26(3):332-8.
 14. Almirall I, Fernández T, González HM, Díaz M. Diseño de una crema para masajes con extracto de spirulina cubana. *Rev Cubana Farm*. 2005; 39(3). Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-75152005000300008&lng=es&nrm=iso&tlng=es
 15. Osorio-Fortich M. del R., Matiz-Melo GE, León-Méndez G, López-Olivares D, & Pájaro NP. Evaluación de la acción antiséptica de un jabón líquido utilizando algunos aceites esenciales como agente activo. *Revista Colombiana de Ciencias Químico-Farmacéuticas*, 2017; 46(2). Disponible en: <https://revistas.unal.edu.co/index.php/rccquifa/article/view/67954#textoCompletoXML>
 16. Pajaro N, León-Méndez G, Osorio-Fortich M, Torrenegra-Alarcón M, Roper-Vega J. Microencapsulación del aceite esencial de *Cinnamomum verum* J. mediante secado por aspersion y su potencial actividad antioxidante. *Revista Cubana de Farmacia*, 2018; 51(2). Disponible en: <http://www.revfarmacia.sld.cu/index.php/far/article/view/227>
 17. Tomy GT, Stern GA, Muir DC, Fisk AT, Cymbalisty CD, Westmore JB. Quantifying C10-C13 polychloroalkanes in environmental samples by high-resolution gas chromatography/electron capture negative ion high-resolution mass spectrometry. *Anal Chem*. 1997;69(14):2762-71.
 18. Baharum SN, Bunawan H, GhaniMaA, Mustapha WAW, Noor NM. Analysis of the chemical composition of the essential oil of *Polygonum minus* Huds.using two-dimensional gas chromatography-time-of-flight mass spectrometry (GC-TOF MS). *Molecules*. 2010;15(10):7006-15.
 19. Silva B, Andrade P, Valentao P, Ferreres F, Seabra R., Ferreira M. Quince (*Cydonia oblonga* Miller) Fruit (Pulp, Peel, and Seed) and Jam: Antioxidant Activity. *J. Agric. Food Chem*. 2004;52:4705-4712.
 20. Re R, Pellegrini A, Proteggente A, Pannala A. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Rad. Biol. Med*. 1999;26:1231-1237.
 21. Puello J, León G, Lombana J, Gómez D, Correa R. Physicochemical Characterization of Spent Coffee Ground (*Coffea arabica* L) and its Antioxidant Evaluation. *Advance Journal of Food Science and Technology*, 2018; 16(1): 220-225.
 22. Torrenegra-Alarcón M, Pájaro N, León-Méndez G. Actividad antibacteriana in vitro de aceites esenciales de diferentes especies del género *Citrus*. *Rev. Colomb. Cienc. Quím. Farm*. 2017;46 (2): 160-175.
 23. León G, Osorio M, Ortega R, Pajaro N, Torrenegra M, Herrera A. Design of an Emulgel-Type Cosmetic with Antioxidant Activity Using Active Essential Oil Microcapsules of Thyme (*Thymus vulgaris* L.), Cinnamon (*Cinnamomum verum* J.), and Clove (*Eugenia caryophyllata* T.). *International Journal of Polymer Science*. 2018; 1: 1-16.
 24. Mujica V, Delgado M, Ramírez M, Velásquez I, Pérez C, Rodríguez-Corella M. Formulación de un producto cosmético con propiedades antiarrugas a partir del aceite de semilla de Merey (*Anacardium Occidentale* L). *Revista de la Facultad de Ingeniería U.C.V*. 2010;25(2):119-131.
 25. Rodríguez A, Paños I. Estudio reológico de emulsiones semisólidas de aplicación cutánea. *Anales de la Real Academia Nacional de Farmacia*. 2004;70:307-324.
 26. Abu-Jdayil B. Modelling the time-dependent rheological behavior of semisolid foodstuffs. *Journal of Food Engineering*. 2003; 57:97-102.
 27. León G, Torrenegra-Alarcón ME, Osorio M. Extraction, characterization and antioxidant activity of essential oil from *Plectranthus amboinicus* L. *Revista cubana de Farmacia*. 2015; 49: 708-718.
 28. León G, Crisostomo-Perez T, Gonzalez-Fegali MC, Herrera-Barros A, Pájaro-Castro N, León-Méndez D. Fruits as sources of bioactive molecules. *AVFT Archivos Venezolanos de Farmacología y Terapéutica*. 2020; 39(2): 153-158.