

Encapsulation of *Mentha piperita* and *Nepeta cataria* Essential Oils

Encapsulación De Aceites Esenciales De *Mentha piperita* y *Nepeta cataria*

A. Rojas¹, A. Bolaños², D. Alfonso³, I. Carmona⁴, L. Gómez⁵

ABSTRACT

Take advantage of the repellent biological activity of the essential oil (AE) of *Mentha piperita* (MP) and *Nepeta cataria* (NC), an encapsulation protocol in chitosan polymer (Q) was implemented, which allowed the formation of an emulsion (O/W), in order to increase the stability of the compounds present in the secondary metabolite produced by these two varieties of Lamiaceae. The results obtained from FTIR and DLS analysis allowed to identify the conservation of the main functional groups of both EAs and the formation of different particle sizes influenced by the EA concentrations loaded in the polymer. In addition, the repulsion charges between the emulsion microstructures indicated by the Z potential, evidencing the effectiveness of the proposed method to protect and stabilize the EA of *Mentha piperita* (MP) and *Nepeta cataria* (NC).

[keyword]: [Essential oils] [*Mentha Piperita*], [*Nepeta Cataria*], [emulsion] [repellent activity] [chitosan], [Encapsulation].

Resumen

Para el aprovechamiento de la actividad biológica repelente del aceite esencial (AE) de *Mentha piperita* (MP) y *Nepeta cataria* (NC) se implementó un protocolo de encapsulación en polímero de quitosano (Q), que permitiera la formación de una emulsión (O/W), con el fin de incrementar la estabilidad de los compuestos presentes en el metabolito secundario producido por estas dos variedades de Lamiáceas. Los resultados obtenidos a partir de análisis de FTIR y DLS permitieron identificar la conservación de los grupos funcionales principales de ambos AE y la formación de diferentes tamaños de partículas influenciados por las concentraciones del AE cargadas en el polímero. Además, de las cargas de repulsión entre las microestructuras de la emulsión indicadas por el potencial Z, evidenciando la efectividad del método propuesto para proteger y estabilizar el AE de *Mentha piperita* (MP) y *Nepeta cataria* (NC)

[Palabra clave] [Aceites esenciales], [*Mentha Piperita*], [*Nepeta Cataria*] [Emulsión] [Actividad repelente] [Quitosano] [Encapsulación]

Received: January __th 20xx

Accepted: January __th 20xx

¹Alexis Rojas estudiante de pregrado de Química Farmacéutica, Facultad Ciencias y Biotecnología, universidad CES, Medellín, Colombia/Laboratorio ciencias básicas III rojas.adrian@uces.edu.co

²Angélica Bolaños estudiante de pregrado de Química Farmacéutica, Facultad Ciencias y Biotecnología, universidad CES, Medellín, Colombia/Laboratorio ciencias básicas III bolanosangelica@uces.edu.co

³Danna Alfonso estudiante de pregrado de Química Farmacéutica, Facultad Ciencias y Biotecnología, universidad CES, Medellín, Colombia/Laboratorio ciencias básicas III alfonso.danna@uces.edu.co

⁴Isabel Carmona estudiante de pregrado de Química Farmacéutica, Facultad Ciencias y Biotecnología, universidad CES, Medellín, Colombia/Laboratorio ciencias básicas III Carmonaisabel@uces.edu.co

⁵Luisa Gómez docente, investigador, Facultad de Ciencias y Biotecnología, Universidad CES, Medellín, Colombia lfgomez@ces.edu.co

1. Introducción

A nivel mundial existe una extensa diversidad botánica inexplorada, diversidad con una gran variedad de metabolitos secundarios con propiedades comprobadas, y otras más por identificar. Dentro de esta variedad vegetal se encuentran las *Lamiáceas*, una de las treinta familias más abundantes y menos aprovechadas pese a su valor comercial en ámbitos farmacéuticos, alimenticios, cosméticos y textiles (Bernal et al., 2016). En la actualidad el estudio de extractos botánicos y sus derivados para fines farmacéuticos y cosméticos, es un área atractiva de investigación y desarrollo, sin embargo, en cuanto a *Lamiáceas* se refiere, los estudios y esfuerzos de extracción y caracterización se centran en especies como *Lavandula Officinalis*, *Ocimum Basilicum*, *Eucalyptus Globulus*, *origanum Vulgare* *Salvia* y *Thymus*, (Stankovic, 2020), (Khoury et al., 2016). Entre otras variedades con conocida actividad biológica antiinflamatoria, antioxidante, relajante y repelente, con mayor estabilidad en sus compuestos (Amirmohammadi et al., 2020). A nivel mundial y regional existen proyectos investigativos que dirigen los recursos en indagar y potenciar la actividad repelente de sub géneros de *Lamiáceas*. En Colombia estos estudios no solo representan el aprovechamiento de una familia con 30 géneros y 254 especies reconocidas en el territorio (Bernal et al., 2016), en diferentes áreas industriales, también implica la oportunidad de contrarrestar patologías de interés en la salud pública del país, como aquellas relacionadas con enfermedades tropicales transmitidas por vectores, además de obtener un producto más amigable contra las plagas que afectan los cultivos.

La problemática que enfrenta Colombia en relación a las enfermedades virales transmitidas por vectores, representa 3.61% casos, entre graves, confirmados y probables, del 17% de enfermedades infecciosas que a nivel mundial generan alrededor de 700,000 muertes según reporta la OMS (OMS, 2020). Es por esto que se considera que el aprovechamiento, estudio, caracterización y potencialización de los aceites

esenciales de *Lamiáceas* presentes en el territorio ya sean endémicas o no, puede generar un impacto positivo en el control de este tipo de enfermedades.

Los aceites naturales de *Lamiaceas* como *Mentha piperita* (MP) y *Nepeta cataria* (NC) cuentan con propiedades diuréticas, antitusivas, antiespasmódicas, antiasmáticas, antipirético, y sedantes, pero la propiedad que es de principal interés en este artículo es su propiedad plaguicida natural, esta se da debido a que ambas plantas tienen metabolitos secundarios como lo son las dihidronepetalactonas, una clase de monoterpenoides iridoides que han mostrado una actividad repelente óptima, sin embargo, esto no se ha podido aprovechar debido a que estos aceites esenciales son muy volátiles y esto afecta con la perduración en el tiempo de este principio activo, también son susceptibles a las altas temperaturas las cuales influyen en su actividad repelente. Por lo anterior para poder maximizar su efectividad y duración en el tiempo se debe optar por herramientas de protección del aceite esencial, tales como lo es la microencapsulación. Al encapsular los aceites esenciales, se logra la optimización del efecto repelente, la prolongación de su efecto plaguicida en el tiempo, a la vez que se protege y estabiliza. La encapsulación se puede realizar por diferentes métodos, en este artículo se opta por las nanoemulsiones, estas pueden ser aceite en agua (o/w) o agua en aceite (w/o) en donde los aceites son contenidos dentro de la fase oleosa permitiendo un buen manejo de las partículas y proporcionando protección por el ambiente hidrofóbico que se crea dentro de las gotas con una mejor dispersión de las moléculas en el ambiente acuoso, lo que favorece enormemente lo que estamos buscando con la investigación, que es limitar la degradación de las moléculas bioactivas sin afectación negativa sobre su actividad biológica.

Este proyecto tiene el objetivo de establecer un protocolo de encapsulación del aceite esencia de MP y NC en el polímero de quitosano (Q) figura 1, con el fin de proteger este metabolito secundario de los factores degradantes como la luz y la temperatura y verificar la eficacia de la

nanoemulsión mediante análisis fisicoquímicos como DLS y FTIR para demostrar la eficiencia del preparado para conservar los grupos funcionales característicos del aceite esencial y brindar la estabilidad necesaria para garantizar la conservación de las propiedades de estos en las emulsiones.

2. Materiales y métodos

2.1. Materiales

Los aceites esenciales comerciales de *Mentha piperita* y *Nepeta cataria* son de Plant Therapy, el quitosano 75% desacetilado es de la casa comercial Sigma Aldrich, al igual que el ácido acético, el Tween80 y el diclorometano.

2.2. Preparación de solución de quitosano

Para preparar la solución de quitosano al 1% (p/v), se adiciona 1.00 g de quitosano al 75% desacetilado a un Beaker de 250 mL, luego se agrega 100 mL de agua destilada y 1 mL de ácido acético glacial hasta obtener una mezcla, para luego ser sometida a una temperatura de 50°C por un periodo de 3 horas con agitación continua hasta lograr solubilizar por completo el quitosano en polvo.

2.3. Preparación de emulsión de aceite esencial en quitosano

La fase acuosa se prepara a partir de 20 ml de quitosano al 1% (p/v) y 0,3 g de Tween 80 hasta tener una solución homogénea y la fase oleosa, se obtiene mezclando 10 mg del aceite esencial de *Mentha piperita* en 2 mL de diclorometano. Para obtener la emulsión del aceite esencial de *Mentha piperita*-quitosano (MP-Q) se adiciona lentamente la fase oleosa a los 20 ml de quitosano-Tween 80, se cubre el beaker con papel de aluminio y se deja en agitación por 24 horas a temperatura ambiente hasta obtener la emulsión. Este mismo proceso se realiza para las cantidades de 50 mg, 100 mg, 200 mg y 400 mg de aceite esencial de *Mentha piperita*.

En el caso de las emulsiones de *Nepeta cataria*-quitosano (NC-Q), se realiza el proceso anterior

empleando las cantidades de 10 mg, 50 mg, 100 mg, 200 mg y 400 mg del aceite esencial.

Las emulsiones anteriores se deben llevar a unos tubos falcon recubriendo de papel aluminio para ser almacenados a temperatura ambiente y luego ser sometidos a los análisis de caracterización pertinentes.

2.4. Espectroscopia infrarroja por transformada de Fourier FTIR.

Para determinar si se conservan de los compuestos químicos predominantes en la Emulsión de *Mentha piperita* en quitosano (MP-Q) y en la Emulsión de *Nepeta Cataria* en quitosano (NC-Q) se realiza el análisis de espectroscopia infrarroja por transformada de Fourier por medio del infrarrojo Perkin Elmer a longitudes entre 4000 y 800 cm^{-1} a una resolución 4 cm^{-1} .

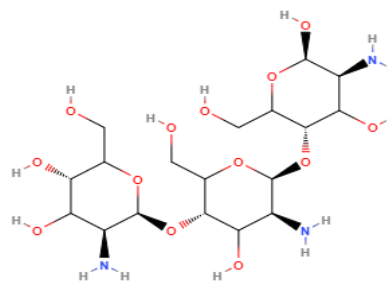


Figura 1 Estructura del quitosano desacetilado

2.5. Determinación del tamaño partícula DLS

El análisis por dispersión de luz permite identificar el tamaño de partícula presente para las emulsiones de MP-Q y NC-Q, se realizó por medio del Mastersizer 3000 (Malvern Instruments) a diferentes concentraciones (20000 ppm, 5000 ppm, 2500 ppm y 500 ppm).

2.6. Potencial Zeta

El potencial zeta se mide por un Mastersizer 3000 (Malvern Instruments). Las mediciones se llevaron a cabo para las emulsiones de MP-Q y NC-Q a diferentes concentraciones (20000 ppm, 10000 ppm, 5000 ppm, 2500 ppm y 500 ppm)

5.7. Índice de polidispersidad PDI

Este análisis permite identificar la variabilidad del tamaño de partícula presente en cada una de las emulsiones, se realizó mediante velocimetría laser Doppler. Las mediciones se llevaron a cabo para las emulsiones de MP-Q y NC-Q a diferentes concentraciones (20000 ppm, 10000 ppm, 5000 ppm, 2500 ppm y 500 ppm)

3. Resultados y discusiones

3.1 FTIR

El desarrollo del análisis FTIR es una caracterización química donde se identifican los grupos funcionales del polímero. Se utiliza el quitosano y el componente activo, es decir, el aceite esencial de MP y NC y las posibles interacciones entre ellos, interacciones que suelen ser débiles. El quitosano es un biopolímero que está compuesto por dos glucopiranosas aminadas, unidas por un enlace O-glicosídico β -1,4. En la figura 1 se muestran los espectros de los principales grupos funcionales de esta estructura, dentro de los cuales se encontraron los más representativos, iniciando con una banda ancha del grupo OH entre 3243-3289 cm^{-1} del alcohol primario, esta señal posiblemente se puede superponer con el estiramiento de un grupo amino primario. La siguiente señal observada entre 2872-2889 cm^{-1} corresponde al estiramiento C-H. También se evidencia una banda entre 1539-1557 cm^{-1} relacionada con una flexión de N-H. Así mismo una señal entre 1633-1644 cm^{-1} que se relaciona con un estiramiento C=O del grupo acetyl unido a una amina. Igualmente se reconoció un estiramiento simétrico (balanceo) de un CH_3

entre 1374- 1405 cm^{-1} . Las dos bandas intensas que se generan entre 1023-1065 cm^{-1} aproximadamente pertenecen a los estiramientos del enlace O-glicosídico β - 1,4 del polímero (O-C-O). Todas estas señales se detectaron tanto en el reactivo de quitosano al 75% desacetilado y la solución al 1% de este reactivo, con algunas diferencias como pérdida de señal de la amina primaria en el preparado de la solución 1% y disminución de la banda característica del enlace O-glicosídico en solución.

Algunos autores han registrado estas señales de quitosano, como lo muestra Barbosa y colegas. En su trabajo reportaron una señal de OH a 3430 cm^{-1} , un estiramiento C-H a 2870 cm^{-1} , una flexión de N-H 1590 cm^{-1} un estiramiento del enlace O-glicosídico a 1030 y 1052 cm^{-1} , una deformación angular de $-\text{CH}_3$ a 1376 cm^{-1} y un estiramiento de C=O del acetyl a 1656 cm^{-1} . (Barbosa et al., 2019)

Otros estudios realizados sobre la caracterización de polímeros como el quitosano para recubrimiento de aceites esenciales como el desarrollado por Ashrafi y su grupo, donde las señales para los principales grupos funcionales del quitosano como C=O fue identificado a 1737 cm^{-1} , indicando una superposición de los grupos carboxílicos por incorporación del aceite esencial, una banda ancha de 3415 cm^{-1} correspondiente a los grupos OH, además de un estiramiento de grupo NH a 2925 cm^{-1} . (Ashrafi et al., 2019).

En el caso del espectro del aceite esencial de la MP-Q se observaron señales correspondientes a los grupos funcionales característicos de los compuestos de este aceite, como son una banda ancha a 3999 cm^{-1} características del grupo O-H que se encuentra presente en el mentol y neomentol, también se evidencian dos bandas intensas entre 2952-2921 cm^{-1} que se relacionan con movimientos vibracionales de tensión del grupo C-H, la señal proporcionada a 1384 cm^{-1} es una señal relacionada con el $-\text{CH}_3$ y el estiramiento en 1455 cm^{-1} con el grupo $-\text{CH}_2$ de compuestos saturados como mentol, neomentol,

metilacetato, isomentona, mentona, D-germacreno, 1,8-cineol, β -pineno y mirceno, la señal fuerte a 1709 cm^{-1} es un estiramiento vibracional de $\text{C}=\text{O}$ presente en el compuesto isomentona, los estiramientos correspondientes a la tensión del grupo $\text{O}-\text{C}-\text{O}$ se observaron a 1024 y 1044 cm^{-1} , señal que se relaciona con el compuesto mentafurano, a 1384 cm^{-1} se identificó la señal del alcohol secundario del mentol y neomentol. (Herrera et al., 2021).

En el artículo de Taylan y colegas del 2019 también fueron observadas las señales de FTIR del aceite esencial de MP. Se registraron estiramientos asimétricos de los grupos $\text{C}-\text{H}$, CH_2 y CH_3 a 2921 y 2970 cm^{-1} , se reportó una señal a 3470 cm^{-1} característica del grupo OH , se detectó la banda vibracional de estiramiento del $-\text{C}=\text{O}$ a 1709 cm^{-1} . Así mismo se hallaron dos bandas de estiramiento y deformación entre 1045 y 1246 cm^{-1} , correspondientes a $-\text{C}-\text{O}$, y dos picos entre 993 a 887 cm^{-1} , relacionados con la flexión vibracional de $-\text{H}-\text{C}=\text{CH}-$. (Taylan et al., 2021) (Ashrafi et al., 2019) (Braga et al., 2020).

La lectura de FTIR del surfactante hidrofílico Tween 80, permitió observar a 3485 cm^{-1} una señal atribuida al estiramiento del grupo $-\text{OH}$, también un pico característico del reactivo entre $2856-2921\text{ cm}^{-1}$ lectura atribuida al estiramiento del grupo $-\text{CH}_2$, el pico a 1734 cm^{-1} se relaciona con el estiramiento del grupo $\text{C}=\text{O}$, adicionalmente se pudo observar la señal a 1600 cm^{-1} característica del solapamiento de $\text{H}-\text{O}-\text{H}$, otro solapamiento evidente es el generado por el grupo $\text{C}-\text{H}$ alrededor 1456 cm^{-1} y el pico intenso a 1093 cm^{-1} característico del grupo $\text{C}-\text{O}-\text{C}$.

Esta información de FTIR para el tween 80 se respalda en el trabajo realizado por (Fu et al., 2015), donde evidenciaron bandas muy similares como la detectada a 3600 cm^{-1} atribuida al estiramiento OH , a 2900 cm^{-1} la señal correspondiente al estiramiento del CH_2 , y un pico característico de grupo $\text{C}=\text{O}$ a 1732 cm^{-1} y un solapamiento del grupo $\text{H}-\text{O}-\text{H}$ a 1600 cm^{-1} . (Fu et al., 2015) (Pramod et al., 2015).

Las emulsiones, a sus diferentes concentraciones (500 ppm , 2500 ppm , 5000 ppm , 10000 ppm y 20000 ppm) presentan dos señales a 1010 cm^{-1} y 1060 cm^{-1} , que corresponden a un estiramiento $\text{O}-\text{C}-\text{O}$. Estos dos picos también se presentan en el quitosano y aceite esencial de MP-Q entre $1030-1050\text{ cm}^{-1}$ y $1030-1070\text{ cm}^{-1}$ respectivamente, en el caso del aceite esencial con una mayor intensidad y para el quitosano con una mayor amplitud.

Dos señales adicionales que se evidencian modificadas en el análisis de las emulsiones son las presentes en el aceite esencial a 1370 cm^{-1} y 1470 cm^{-1} , señales relacionadas con el grupo $-\text{CH}_3$ y con un estiramiento del grupo CH_2 , con una evidente disminución de estas tanto en el aceite esencial encapsulado como en la solución de quitosano en este mismo intervalo, entre $1140-1160\text{ cm}^{-1}$ las emulsiones conservan una señal presente en el quitosano, este pico está relacionado con el estiramiento y vibración del $-\text{C}-\text{O}$, mismo grupo funcional que genera una lectura en el aceite esencial y el tween 80 a 1250 cm^{-1} y que el encapsulado se conserva a esta misma longitud, el pico presente a 1390 cm^{-1} en cada uno de los aceites emulsificados está atenuado en comparación con el mismo pico presente en el quitosano, aceite puro y el tween 80, lo que plantea una posible interacción de los grupos $-\text{C}-\text{H}$ y CH_3 que generalmente allí están representados, estos grupos funcionales también generan una deformación asimétrica en la lectura infrarroja del aceite esencial y el tween 80 a aproximadamente 1450 cm^{-1} , que se atenúa en las emulsiones.

Entre $1730-1740\text{ cm}^{-1}$ el extracto puro de aceite de MP-Q y el tween 80 poseen una señal contundente relacionada con una vibración asimétrica del grupo $-\text{C}=\text{O}$ del éster, que el quitosano no presenta y que si se evidencia con un leve desplazamiento a 1750 cm^{-1} en las emulsiones, además de la pérdida de picos entre $2870-2930\text{ cm}^{-1}$ característicos de los grupos $-\text{C}-\text{H}$ en el aceite esencia y el tween 80, que en las emulsiones toma la forma de una señal amplia tipo meseta similar a la del surfactante debido a

posibles interacciones de estos grupos funcionales y los demás compuestos del preparado. (Pramod et al., 2015) (Dos Passos Braga et al., 2020).

Tabla 1 Datos Experimentales FTIR de *Mentha piperita*

Datos experimentales FTIR de <i>mentha piperita</i>				
Materiales	Grupo funcional	Señal experimental cm⁻¹	Señal teórica cm⁻¹	Autores
<i>Quitosano</i>	<i>O-H</i>	3243-3289	3430 3415	Barbosa, et.al,2019 Ashrafi et.al,2019
	<i>N-H</i>	1539-1557	1585	Deka et.al,2016
	<i>-CH₃</i>	1374-1405	1376	Barbosa, et.al,2019
	<i>C-H</i>	2872-2889	2870	Barbosa, et.al,2019
	<i>C=O</i>	1633-1644	1656 1737	Barbosa, et.al,2019 Ashrafi et.al,2019
	<i>C-O-C</i>	1023-1065	1030-1052 1423	Barbosa, et.al,2019 Taylan et.al,2019
	<i>MP</i>	<i>O-H</i> <i>Mentol</i>	3999	3500 3470
<i>C=O</i> <i>Mentona</i>		1737	1705 1709	Herrera et.al,2001 Taylan et.al,2019
<i>C-H</i> <i>1,8-Cineol</i>		2952-2921	2970-2921	Taylan et.al,2019
<i>O-C-O</i>		1010-1060		dos Passos Braga et al., 2020
<i>MP-Q</i>	<i>-CH₃</i> <i>-CH₂</i>	1250	1400	dos Passos Braga et al., 2020
	<i>-C-O</i>	1370-1470	1045-1246	dos Passos Braga et al., 2020
	<i>-C=O</i>	1730	1720	dos Passos Braga et al., 2020
	<i>C-H</i>	2870-2930	2930	dos Passos Braga et al., 2020

Datos experimentales FTIR de *mentha piperita*

Materiales	Grupo funcional	Señal experimental cm^{-1}	Señal teórica cm^{-1}	Autores
Tween 80	O-H	3485	3600	Fu et al., 2015 Pramod et al., 2015
	-CH ₂	2856-2921	2900	Fu et al., 2015 Pramod et al., 2015
	-C=O	1734	1732	Fu et al., 2015 Pramod et al., 2015
	H-O-H	1600	1600	Fu et al., 2015 Pramod et al., 2015

* MP-Q Emulsión de *Mentha piperita* en quitosano *** MP *Mentha piperita*

** NC-Q Emulsión de *Nepeta cataria* en quitosano **** NC *Nepeta cataria*

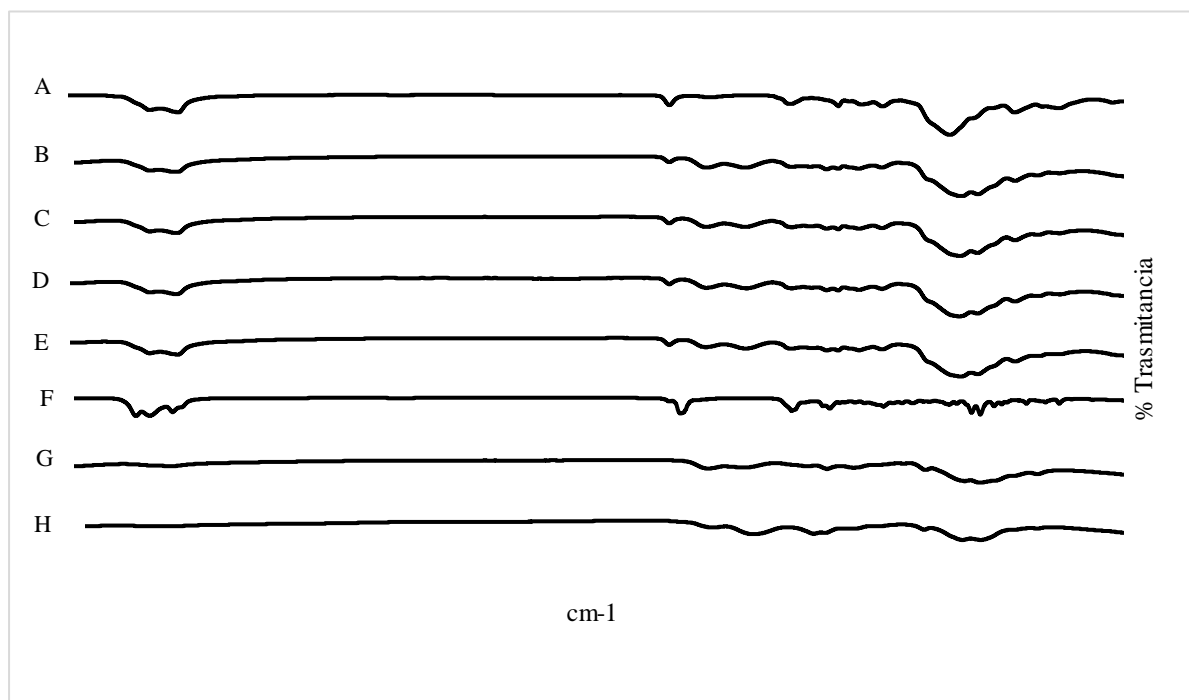


Figura 2 Lectura FTIR MP

A: MP-Q 500ppm B: MP-Q 2500ppm C: MP-Q 5000ppm D:MP-Q 10000 ppm E: MP-Q 20000 ppm F: MP G: Quitosano 75% H: Quitosano 1M

* MP-Q Emulsión de *Mentha piperita* en quitosano ** MP *Mentha piperita*

En el espectro del aceite esencial de NC-Q se pueden observar señales correspondientes a los grupos funcionales de los compuestos que contienen, como por ejemplo la banda ancha del

CH a 2956 cm^{-1} que se encuentra en β -cariofileno, citranelol, Óxido de cariofileno y Nepetalactona; a su lado se puede observar a 2872 cm^{-1} otro pico correspondiente al

estiramiento de vibración simétrico del grupo CH_2 perteneciente al β -cariofileno, también se observa otra señal en 1764 cm^{-1} característica del $\text{C}=\text{O}$ este es un grupo funcional asociado a un anillo de 5 carbonos de una lactona la cual es la estructura principal del esqueleto de la nepetalactona, el $\text{C}=\text{O}$ también se encuentra en el citronelol esta señal solapa la señal del $\text{C}=\text{C}$ que se encuentra aproximadamente a los 1650 cm^{-1} . Además, en 1449 cm^{-1} se puede ver la flexión fuera del plano del CH perteneciente al citronelol, finalmente se logra ver algunos picos que corresponde a estiramientos de grupos CH_3 unidos a un carbono en 1341 cm^{-1} , característico del β -cariofileno. En el artículo Micrografía cuantitativa y perfiles de HPLC y FTIR de *Melissa officinalis* y NC de Argentina, se observaron igualmente las señales FTIR de NC, donde se hace mención de las vibraciones de C-H y O-H, la señal del grupo C-H también se encuentra en nuestro FTIR, pero la diferencia entre ambos artículos es que en el nuestro no se observa ninguna señal del alcohol, esto es porque en el artículo de referencia usan metanol como solvente y por ello deja rastro en el FTIR. Las

emulsiones de NC-Q a diferentes concentraciones (500 ppm, 2500 ppm, 5000 ppm, 10000 ppm y 20000 ppm) presentan dos señales en $1069\text{-}1030\text{ cm}^{-1}$, los cuales se encuentran en el quitosano en $1023\text{-}1065\text{ cm}^{-1}$, también se encuentran señales en 2867 cm^{-1} correspondientes a el grupo funcional CH_2 que se encuentra en la NC y en el tween 80, cabe resaltar que el pico del C-H no es tan definido en las emulsiones como en el espectro solo de NC, el OH del quitosano y del tween 80 también está en todas las emulsiones en un pico de 3363 cm^{-1} , el grupo funcional $\text{C}=\text{O}$ correspondiente a NC y al quitosano se encuentra en 1734 cm^{-1} pero menos definido, la señal del grupo funcional N-H del quitosano también se logra dilucidar en las emulsiones entre $1554\text{-}1561\text{ cm}^{-1}$, por otro lado se presentan señales en $1349\text{-}1375$ del CH_3 unido a carbono presente en el aceite esencial de NC, el CH fuera de flexión de NC se encontró a 1454 cm^{-1} en las emulsiones, hay que resaltar que en general, las emulsiones, el quitosano y el tween 80 se parecen bastante, el espectro con mayores diferencias es el de NC sola.

Tabla 2 Datos experimentales FTIR de *Nepeta cataria*

Datos experimentales FTIR de <i>Nepeta cataria</i>				
Materiales	Grupo funcional	Señal experimental cm^{-1}	Señal teórica cm^{-1}	Autores
<i>Quitosano</i>	<i>O-H</i>	3243-3289	3430	Barbosa, et.al,2019
			3415	Ashrafi et.al,2019
	<i>N-H</i>	1539-1557	1585	Deka et.al,2016
	<i>-CH₃</i>	1374-1405	1376	Barbosa, et.al,2019
	<i>C-H</i>	2872-2889	2870	Barbosa, et.al,2019
	<i>C=O</i>	1633-1644	1656	Barbosa, et.al,2019
1737			Ashrafi et.al,2019	

Datos experimentales FTIR de *Nepeta cataria*

Materiales	Grupo funcional	Señal experimental cm⁻¹	Señal teórica cm⁻¹	Autores
	<i>C-O-C</i>	1023-1065	1030-1052	Barbosa, et.al,2019
			1423	Taylan et.al,2019
<i>NC</i>	<i>-C-H</i>	2956	3071	
	<i>β-cariofileno, citronelol, Óxido de cariofileno y Nepetalactona</i>			De Assis IM, et.al 2019
	<i>-CH₂</i>		2916-2846	Lucindo J. Quintans-Júnior et.al 2016
		2872		
	<i>-C=O</i>	1764		Priscila L.Santos et. Al 2016
	<i>Nepetalactona, Citronelol</i>		1720	
	<i>-C=C,</i>	1650		De Assis IM, et.al 2019
<i>β-cariofileno</i>		1633		
<i>-CH, Citronelol</i>	1449		1449 cm ⁻¹	Priscila L.Santos et. Al 2016
<i>-CH₃,</i>	<i>β-</i> 1341			Lucindo J. Quintans-Júnior et.al 2016
	<i>cariofileno</i>		1368-1322	
<i>NC-Q</i>	<i>O-C-O</i>	1030-1069	-	No hay referencia
		2867	-	No hay referencia
	<i>-CH₂</i>			
	<i>N-H</i>	1554-1561	-	No hay referencia
	<i>-C=O</i>	1734	-	No hay referencia
<i>O-H</i>	3363		-	No hay referencia

Datos experimentales FTIR de *Nepeta cataria*

Materiales	Grupo funcional	Señal experimental cm ⁻¹	Señal teórica cm ⁻¹	Autores
	-CH ₃	1349-1375	-	No hay referencia
	-CH fuera de flexion	1454	-	No hay referencia
Tween 80	O-H	3485	3600	Pramod et al., 2015
	-CH ₂	2856-2921	2900	Pramod et al., 2015
	-C=O	1734	1732	Pramod et al., 2015
	H-O-H	1600	1600	Pramod et al., 2015

* MP-Q Emulsión de *Mentha piperita* en quitosano *** MP *Mentha piperita*

** NC-Q Emulsión de *Nepeta cataria* en quitosano **** NC *Nepeta cataria*

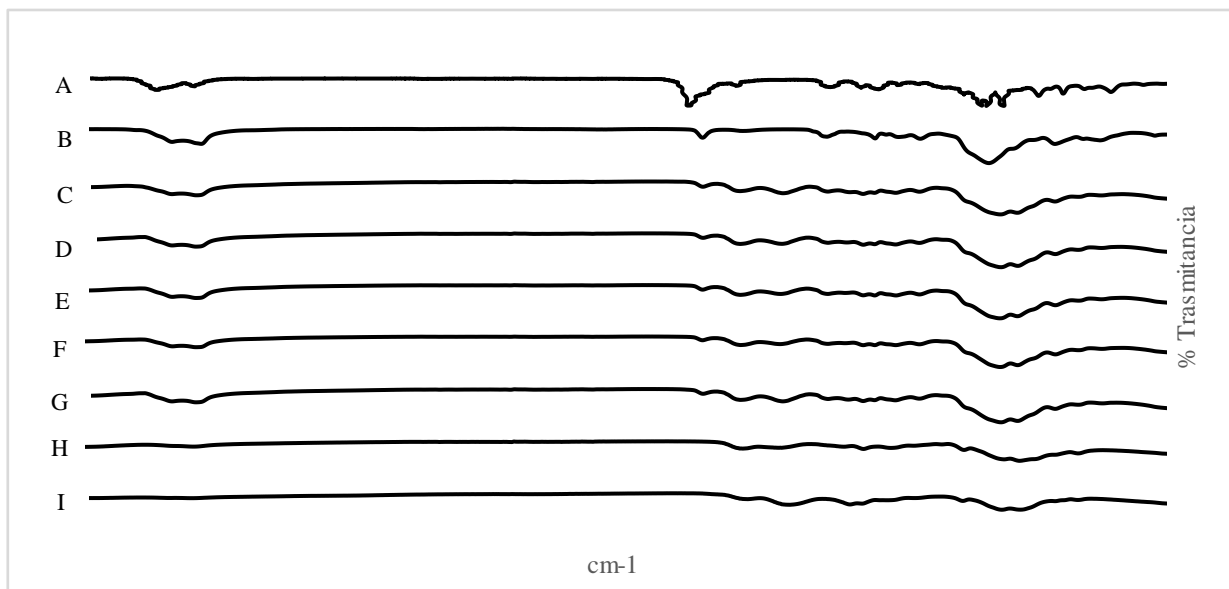


Figura 3 Lectura FTIR NC

A: NC B: Tween 80 C: NC-Q 20000ppm D:NC-Q 5000 ppm E: NC-Q 2500 ppm F: NC-Q 500 ppm G: NC-Q 10000 ppm H: Quitosano 75% I: Quitosano 1M

* NC *Nepeta cataria* ** NC-Q Emulsión de *Nepeta cataria* en quitosano

3.2. Tamaño de partícula

En la encapsulación de aceites esencial MP-Q y NC-Q se trabajó una emulsión tipo agua/ aceite, para la cual se usó una fase acuosa que consta de solución de quitosano al 1% (p/v) y una fase oleosa de MP y NC. Para la estabilidad en una emulsión se evalúa con tres factores críticos, los cuales son tamaño de partícula, potencial Z e índice de polidispersidad (IDP).

En primer lugar, tenemos el tamaño de partícula, el cuál es el diámetro promedio de las gotas de aceite en la nanoemulsión. Para ser considerada una nanoemulsión, se establece que el tamaño de partícula debe estar entre 20 nm y 500 nm (Batalla Mayoral, Cuadros moreno y San Martín). En la tabla 3, se puede ver los tamaños de partículas de MC-Q y NC-Q a diferentes concentraciones, la concentración de 20000 ppm de MP-Q tiene un tamaño de partícula que se sale del rango para ser llamado nanoemulsión, su tamaño es de $577 \pm 6,67$ nm, las otras concentraciones de MP-Q y NC-Q tienen tamaños que se encuentran en el rango (20-500nm), por lo que se puede considerar nanoemulsión. La estabilidad de la nanoemulsión aumenta mientras el tamaño de partícula disminuye, aquellas nanoemulsiones que obtuvieron un tamaño de partícula inferior a

100 nm son más estables al ser menos susceptible a fenómenos de floculación, esto se menciona en el trabajo realizado por Oca-Ávalos y colaboradores (de Oca-Ávalos, Candal y Herrera 2017). Las emulsiones más estables en cuanto a tamaño de partícula son las de 2500 ppm y 500 ppm de NC-Q poseen un tamaño de partícula de $41,38 \pm 9,18$ nm, $45,93 \pm 18,68$ nm respectivamente y la emulsión de 500 ppm de MP-Q con $42,9 \pm 7,3$ nm.

Si vemos el quitosano 1M es posible percatarse que su tamaño de partícula 943,5 nm se sale del rango para una nanoemulsión (20-500 nm), al comparar con las diferentes concentraciones se ve una disminución del diámetro. En diferentes estudios como el de Liu sobre fabricación y caracterización de nanoemulsiones de quitosano cargando timol o aceite esencial de tomillo para la conservación de carne de cerdo refrigerada, se buscó elaborar nanoemulsiones estables con tamaño de partícula de 139,47 nm y 123,30 nm teniendo en cuenta las características, procesos y propiedades que influyen en la elaboración de estas, para evitar fenómenos como la separación gravitacional y segregación, que se ven influenciadas por la distribución de este tamaño de partícula, como se explica en nanoemulsiones: estabilidad y propiedades físicas de Oca-Avalos y colaboradores.

Tabla 3 Datos de tamaño de partícula, potencial Z e IDP de las emulsiones MP-Q y NP-Q

Emulsiones Concentraciones	MP-Q Tamaño de partícula nm	NC-Q Tamaño de partícula nm	MP-Q Potencial Z	NC-Q Potencial Z	MP-Q IDP	NC-Q IDP
Quitosano	943,5	943,5	846,2	846,2	0,126	0,126
20000 ppm	$577 \pm 6,67$	$1,574 \pm 0,033$	$11,5 \pm 0,9$	$16,18 \pm 0,72$	$0,624 \pm 0,196$	$0,5526 \pm 0,034$
10000 ppm	$262 \pm 5,76$	$145,7 \pm 0,4$	$17,2 \pm 2,4$	$26,59 \pm 6,31$	$0,609 \pm 0,009$	$0,3496 \pm 0,0578$
5000 ppm	$305 \pm 21,8$	$206,9 \pm 36,7$	$32,7 \pm 6,1$	$44,69 \pm 1,7$	$0,888 \pm 0,027$	$1,280 \pm 0,528$
2500 ppm	$155 \pm 76,7$	$41,38 \pm 9,18$	$14,4 \pm 2,5$	$54,09 \pm 1,38$	$0,247 \pm 0,020$	$0,2161 \pm 0,0320$
500 ppm	$42,9 \pm 7,3$	$45,93 \pm 18,68$	$38,2 \pm 2,6$	$49,60 \pm 7,58$	$0,163 \pm 0,008$	$0,1866 \pm 0,0156$

* MP-Q Emulsión de *Mentha piperita* en quitosano

** NC-Q Emulsión de *Nepeta cataria* en quitosano

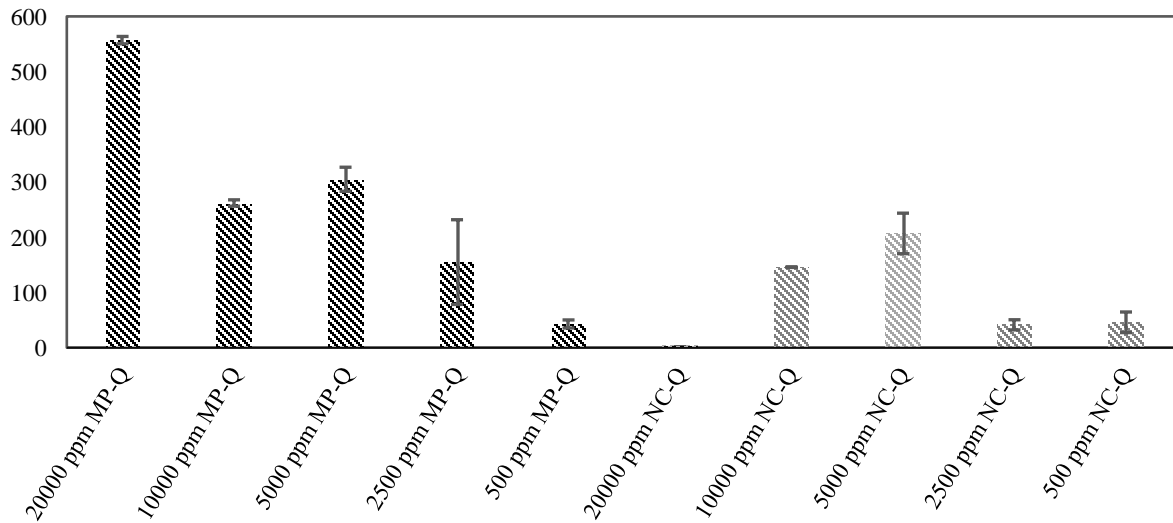


Figura 4 Comparación de tamaño de partículas de NC y MP

* MP-Q Emulsión de *Mentha piperita* en quitosano

** NC-Q Emulsión de *Nepeta cataria* en quitosano

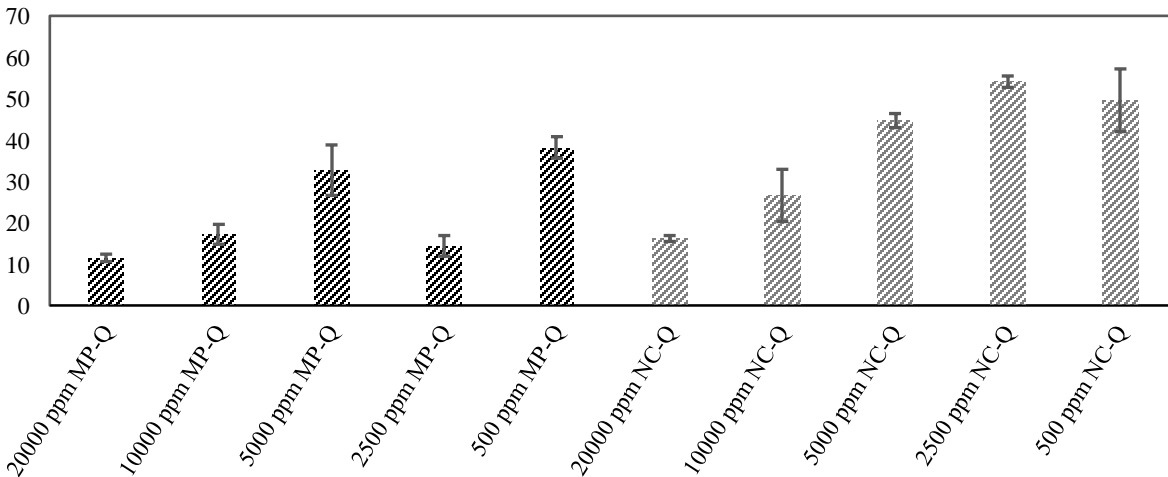
En la tabla 3, se expresan los valores del potencial-Z con sus respectivas variaciones a diferentes concentraciones de MP-Q y NC-Q, se observa que son todos valores positivos debido a que el quitosano posee grupo aminoprotonado ($-\text{NH}_3^+$) lo que provoca que la superficie de la partícula quede cargada positivamente. Gracias a la teoría de atracción de Vander Walls y la repulsión eléctrica de la superficie podemos decir que se da la estabilidad; tener una alta carga en la superficie de cada partícula garantiza un aumento en la repulsión entre ellas dando como resultado un sistema estable. En la Tabla 3 vemos que la mayor carga, y por ende estabilidad, fue a 500 y 5000 ppm de MP-Q con un potencial-Z de $+38,2 \pm 2,6$ mV y $+32,7 \pm 6,1$ mV respectivamente, y 5000, 2500 y 500 ppm de NC-Q con un potencial-Z de $+44,69 \pm 1,7$ mV, $+54,09 \pm 1,38$ mV y $+49,60 \pm 7,58$ mV respectivamente. La menor carga en 20000 y 2500 ppm de MP-Q con un potencial-Z de $+11,5 \pm 0,9$ mV y $+14,4 \pm 2,5$ mV respectivamente y 20000 y 10000 ppm de NC-Q con potencial-Z de $+16,18 \pm 0,72$ mV y $+26,59 \pm 6,31$ mV respectivamente. Según un estudio realizado, presentar un potencial-Z mayor igual a $+30$ mV

o menor igual a -30 mV (Schreiner et. Al. 2020) es significado de una estabilidad alta, en este caso las emulsiones de 500 ppm y 5000 ppm de MP-Q y 5000, 2500 y 500 ppm de NC-Q son las únicas con una estabilidad alta ya que sus valores son superiores a $+30$ mV. Gracias al figura 5 podemos ver que el potencial-z de MP-Q sigue un patrón el cual es que a menos concentración el potencial Z es mayor. Sin embargo, en la concentración de 2500 ppm el potencial z es 14.4 mV lo cual es muy bajo con respecto a los otros y es el único en el que no se puede observar el patrón anteriormente mencionado. Las emulsiones con potencial-Z con bajos valores se pudieron ver influenciados por el método de elaboración de las emulsiones donde se sometieron a agitación constante por un periodo superior a 24 horas, lo cual ayuda a generar un tamaño de partícula con mayor estabilidad en las cargas superficies de atracción y repulsión. También se puede observar la influencia de la concentración de aceite esencial presente en la emulsión y como esta genera un potencial más inestable en lo preparados, como se menciona en el estudio sobre desarrollo de aceite esencial de menta encapsulado en nanopartículas de quitosano: caracterización y eficacia biológica

contra el control de plagas de granos almacenados de Rajkumar y colaboradores. Un fenómeno particular presentado las emulsiones correspondientes a 20000ppm y 10000ppm

disminuyeron la carga superficial por posible desplazamiento de la superficie de cizallamiento en la partícula cómo se menciona Rajkumar, Gunasekaran, Paul y Dharmara 2020.

Figura 5 Comparación de potencial z de NC y MP



* MP-Q Emulsión de *Mentha piperita* en quitosano

** NC-Q Emulsión de *Nepeta cataria* en quitosano

El IDP se define como la medida de dispersión los tamaños de partícula con respecto a un tamaño de partícula promedio, cuando el IDP es cercano a 0 indica que la muestra tiene tamaños de partículas iguales o cercanos al promedio por ende no hay dispersión lo que se conoce como monodisperso, si es próximo a 1 indica que los tamaños de partícula no se encuentran en un solo valor y por ende significa que los valores están alejados del promedio. (Hugo Hernández G. 2005)

El IDP se encuentra en la tabla 3 y en la gráfica 6, se puede ver que en una concentración de 500 ppm MP-Q tiene un tamaño promedio de 26,1 nm dando un resultado de polidispersidad bajo 0,163 ya que los tamaños de partícula se encuentran son cercanos al promedio, En la concentración de 2500 ppm MP-Q los tamaños también evidencian polidispersidad baja 0,247 porque la mayoría se encuentran en 35,7 nm, en la concentración de 5000 ppm MP-Q vemos una situación de polidispersidad alta 0,888 ya que

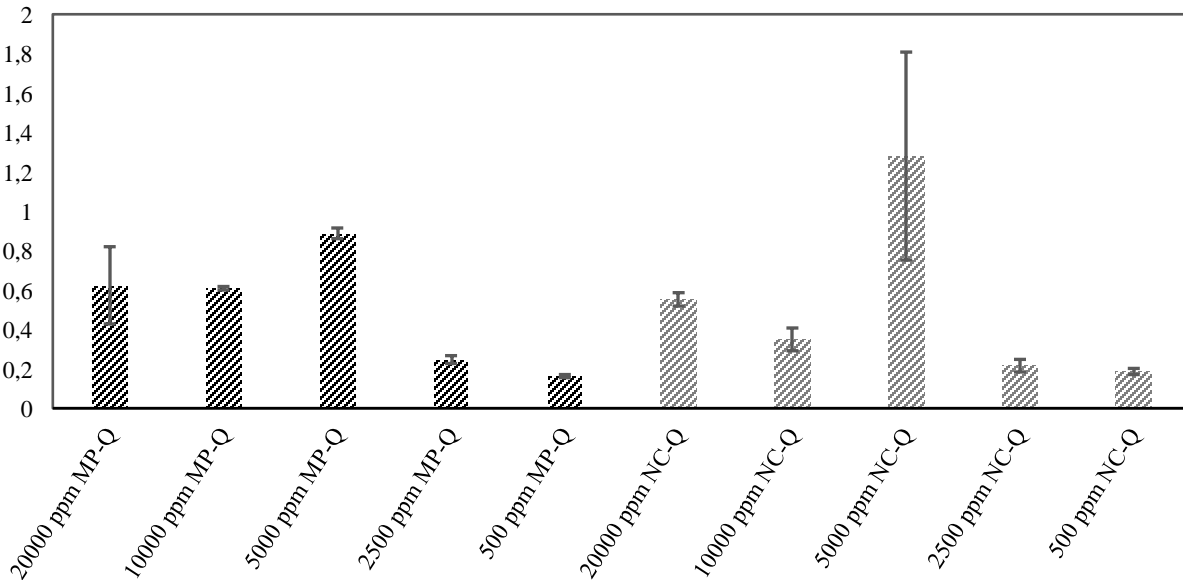
hay tamaños de partícula alejados del promedio, en las concentraciones de 10000 ppm y 20000 ppm de MP-Q se evidencian un IDP alto de 0,609 y 0,625 respectivamente. En cuanto al IDP con las emulsiones de 20000 ppm, 10000 ppm, 2500 ppm y 500 ppm de NC-Q, mostraron índices de 0,5556, 0,3496, 0,2161 y 0,1866 respectivamente los cuales reflejan polidispersidad baja. Resultados similares se observaron en los trabajos de investigación sobre encapsulación de aceites esenciales de *Lamiáceas*, como el realizado de Ashrafi y colaboradores, sobre aceites esenciales de *Mentha piperita* cargados en un nanogel de quitosano con efecto inhibitor sobre la formación de biopelículas contra *S. mutans* en la superficie dental, donde se logró caracterizar el tamaño de partícula por medio de DLS y se obtuvieron valores de IDP para solución de quitosano de 0,325 y quitosano con aceite esencial de *mentha piperita* de 0,584, dato que respalda mayor monodispersidad del quitosano en solución y mayor variabilidad del tamaño de

partícula cuando se incorporaban los aceites esenciales de *Mentha piperita* al polímero.

Estos datos al ser inferiores a un IDP de uno, indican una población monodispersa y homogénea respecto al tamaño de partícula.

Como se muestra en la figura 6, donde las emulsiones de 20000 ppm, 2500 ppm, 10000 ppm y 500 ppm NC-Q tienen valores inferiores a 1, indicando la población monodispersa de partículas o que tienen un tamaño similar.

Figura 6 Comparación Índice de polidispersidad de NC y MP



* MP-Q Emulsión de *Mentha piperita* en quitosano

** NC-Q Emulsión de *Nepeta cataria* en quitosano

En el trabajo de Ashrafi y colaboradores sobre aceites esenciales de *Mentha piperita* cargados en un nanogel de quitosano con efecto inhibitor sobre la formación de biopelículas contra *S. mutans* en la superficie dental (BehnamAshrafi 2019), se logró caracterizar el tamaño de partícula por medio del DLS, donde obtuvieron un IDP del quitosano y el quitosano con aceite esencial fue de 0,325 y 0,584 respectivamente. Se encontró también que el quitosano tenía mayor monodispersidad solo a cuando se incorporaban los aceites esenciales de *Mentha piperita*, esto se puede observar ya que tanto para nosotros como para el artículo los resultados del IDP fueron más cercanos a cero con resultados del artículo de 0,325 y para nosotros 0,126, cabe añadir que los resultados del presente artículo indican aún más

monodispersidad que en el artículo de referencia debido a que es más cercano a cero. De igual modo se resalta que al añadir los aceites esenciales se da un aumento de la dimensión del tamaño de partícula, este suceso es algo normal que se ha demostrado en otros 4 estudios; con respecto al IDP del quitosano con aceite esencial, en este artículo el promedio del IDP fue de 0,516 un poco menor que el del artículo de referencia (0,584), siendo así valores muy cercanos uno del otro. También cabe mencionar que el trabajo de Thing Liu y Liu Liu, sobre la fabricación y caracterización de nanoemulsiones cargando timol o aceite esencial de tomillo para conservación de carne de cerdo refrigerada (ZeinabAhmadi 2018), en donde ellos obtuvieron un promedio de 139,47 nm para el tamaño de partícula del quitosano con aceite esencial de tomillo, el valor para el potencial z del quitosano con aceite esencial fue de 30,87 mV, lo que indica que son estables, de aquí se

resalta que los tamaños de partícula de este artículo tuvieron como promedio 88,29 nm, hay una considerable diferencia entre ambos promedios esto puede deberse a que el tiempo de agitación de las emulsiones (obtenidas en el presente estudio) tuvieron un tiempo de agitación de 24 horas logrando que los tamaños de partícula sean menores, por otro lado los promedios de potencial z no tienen gran diferencia pero el que se obtuvo de estos resultados se considera más óptimo por lo que es mayor de 30mV (ya que siempre se busca que el potencial z sea mayor de 30 mV o por debajo de -30 mV).

Por último se hace mención del artículo de Encapsulación de *Satureja hortensis L.* (Lamiaceae) en nanopartículas de quitosano / TPP con actividad acaricida mejorada contra *Tetranychus urticae Koch* (Acari: Tetranychidae), en donde también utilizaron la técnica de DLS donde obtuvieron un promedio de tamaño de partícula del quitosano de 85 nm y un IDP de 0,37 mientras que para el quitosano con aceite esencial fue de 192,1 nm y IDP de 0,22, en el presente trabajo el tamaño de partícula del quitosano tuvo un valor de 943,5 nm, la diferencia entre los valores del artículo de referencia y este es que ellos utilizaron TPP como entrecruzante haciendo así las partículas del quitosano definidas y más estables, mientras que en este estudio se decidió no usar el TPP; como resultado del IDP se obtuvo un valor de 0,126 al ser menor nos indica que aunque el tamaño de partícula fuera mucho mayor se logró obtener una mayor monodispersidad del quitosano que en el artículo de referencia, por otro lado, el promedio de tamaño de partícula para el quitosano con aceite esencial de NC-Q fue de 88,29 nm y un promedio de IDP de 0,516 aquí vemos que la situación se presenta al revés que con el quitosano, debido a que obtuvimos un tamaño de partícula mucho menor pero tenemos las partículas más dispersas.

Analizando en conjunto MP-Q y NC-Q podemos ver que las emulsiones más estables son la de 500 ppm de MP-Q y 2500 ppm de NC-Q, de

entre las dos nanoemulsiones se consideró que la 2500 ppm de NC-Q tiene mejores resultados y por ende mayor estabilidad, su tamaño de partícula es el menor $41,38 \pm 9,18$ nm, su potencial-Z es el mayor $+54,09 \pm 3,38$ y su IDP pese a no ser el más bajo es cercano a 0 representando monodispersidad $0,2161 \pm 0,0320$.

4. Conclusiones

Se logro establecer un protocolo de encapsulación del aceite esencia de MP y NC en el polímero de quitosano, gracias al FTIR se puede observar que los compuestos de los aceites de MP y NC se preservan en las emulsiones MP-Q y NC-Q. Además, con el análisis de los resultados del DLS se llega a la conclusión que la nanoemulsión de MP-Q más estable es la que tiene una concentración de 500 ppm ya que su tamaño de partícula ($42,9 \pm 7,3$ nm) es inferior a 100 nm, su potencial Z ($+38,2 \pm 2,6$ mV) es superior a +30 mV y su IDP (0.163 ± 0.008) es el más bajo representado una monodispersidad. La nano emulsión de 20000 ppm MP-Q es inestable en primer lugar porque su tamaño no es adecuado ($577 \pm 6,67$ nm), segundo su potencial Z ($+11,5 \pm 0,9$ mV) está entre -30 y +30 mV y su IDP es alto (0.624 ± 0.196) concluyendo que es el resultado menos estable de entre todos. El de 10000 ppm MP-Q cumple con su tamaño de partícula (262 ± 5.76 nm), pero su potencial z ($+17,2 \pm 2,4$ mV) e IDP ($0,609 \pm 0,009$) no son óptimos. El de 5000 ppm MP-Q cumple con tamaño de partícula ($305 \pm 21,8$ nm) al igual que su potencial Z ($+32,7 \pm 6,1$ mV), pero su IDP ($0,888 \pm 0,027$) está muy alto. Por último, el de 2500 ppm MP-Q cumple con su tamaño de partícula ($155 \pm 76,7$ nm) e IDP ($0,247 \pm 0,020$), pero su potencial Z ($14,4 \pm 2,5$ mV) no es óptimo.

En cuanto a la nanoemulsión de NC-Q, la concentración de 2500 ppm es la más estable, esto debido a que su tamaño de partícula ($41,38 \pm 9,18$ nm) es inferior a 100 nm y es el más bajo de todos, su potencial Z ($+54,09 \pm 1,38$ mV) es superior a +30 mV. Además, es el potencial Z

más alto y su IDP ($0,2161 \pm 0,0320$) es bajo representando resultado monodisperso. De entre todas las nanoemulsiones preparadas vemos reflejada mayor estabilidad en 2500 ppm de NC-Q.

Bibliografía

- Ashrafi, B., Rashidipour, M., Marzban, A., Soroush, S., Azadpour, M., Delfani, S., & Ramak, P. (2019). *Mentha piperita* essential oils loaded in a chitosan nanogel with inhibitory effect on biofilm formation against *S. mutans* on the dental surface. *Carbohydrate Polymers*, 212, 142–149.
- Barbosa, H. F. G., Francisco, D. S., Ferreira, A. P. G., & Cavalheiro, É. T. G. (2019). A new look towards the thermal decomposition of chitins and chitosans with different degrees of deacetylation by coupled TG-FTIR. *Carbohydrate Polymers*, 225(115232), 115232.
- Batalla Mayoral, J., Cuadros Moreno, A., & San Martín-Martínez, E. (s/f). Potencial zeta en la determinación de carga superficial de liposomas. *Lajpe.org*. Recuperado el 13 de noviembre de 2021, de http://www.lajpe.org/dec14/4319_San_Martin.pdf
- Birkett, M. A., Hassanali, A., Hoglund, S., Pettersson, J., & Pickett, J. A. (2011). Repellent activity of catmint, NC, and iridoid nepetalactone isomers against Afro-tropical mosquitoes, ixodid ticks and red poultry mites. *Phytochemistry*, 72(1), 109–114.
- de Assis, I. M., de Moraes, M. O. S., da Conceição, R. C., Romaguera Barcelay, Y., de Souza, R. F. B., Larrudé, D. R. G., Rocco, M. L. M., & Brito, W. R. (2019). Novel electrochemical sensor based on molecularly imprinted polymer for selective recognition of sesquiterpene β -caryophyllene. *Spectrochimica Acta. Part A, Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 217, 271–277.
- de Galignani Co-tutora: Dra. Comarrie Fernández Pulido, R. P. F. A. M.
- V. C. T. D. M. del R. B. (s/f). FORMULACIÓN DE UNA NANOEMULSIÓN DERMOCOSMÉTICA, NUTRITIVA Y REGENERADORA DE LA PIEL. *Firp-ula.org*. Recuperado el 13 de noviembre de 2021, de https://es.firp-ula.org/wp-content/uploads/2019/07/04_MS_Villareal_A.pdf
- de Oca-Ávalos, J. M. M., Candal, R. J., & Herrera, M. L. (2017). Nanoemulsions: stability and physical properties. *Current opinion in food science*, 16, 1–6.
- dos Passos Braga, S., Magnani, M., Madruga, M. S., de Souza Galvão, M., de Medeiros, L. L., Batista, A. U. D., Dias, R. T. A., Fernandes, L. R., de Medeiros, E. S., & de Souza, E. L. (2020). Characterization of edible coatings formulated with chitosan and *Mentha* essential oils and their use to preserve papaya (*Carica papaya* L.). *Innovative Food Science & Emerging Technologies: IFSET: The Official Scientific Journal of the European Federation of Food Science and Technology*, 65(102472), 102472.
- Guerra, I. C. D., de Oliveira, P. D. L., de Souza Pontes, A. L., Lúcio, A. S. S. C., Tavares, J. F., Barbosa-Filho, J. M., Madruga, M. S., & de Souza, E. L. (2015). Coatings comprising chitosan and *Mentha piperita* L. or *Mentha villosa* Huds essential oils to prevent common postharvest mold infections and maintain the quality of cherry tomato fruit. *International Journal of Food Microbiology*, 214, 168–178.
- Herrera, J. M., Zygadlo, J. A., Strumia, M. C., & Peralta, E. (2021). Biopesticidal silo bag prepared by co-extrusion process. *Food Packaging and Shelf Life*, 28(100645), 100645.
- Lancheros, R. J., Beleño, J. Á., Guerrero, C. A., & Godoy-Silva, R. D. (2014). Producción de nanopartículas de PLGA por el método de emulsión y evaporación para encapsular N-Acetilcisteína (NAC). *Universitas scientiarum*, 19(2). <https://doi.org/10.11144/javeriana.sc19-2.pnpm>
- Mao, S., Wang, B., Yue, L., & Xia, W. (2021). Effects of citronellol grafted chitosan oligosaccharide derivatives on regulating anti-inflammatory activity. *Carbohydrate Polymers*, 262(117972), 117972.
- Encapsulation of *Satureja hortensis* L. (Lamiaceae) in chitosan/TPP nanoparticles with enhanced acaricide activity against *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae) *Science direct*. Recuperado el 13 de noviembre de 2021, de <https://sciencedirect.cesproxy.elogim.com/science/article/pii/S0147651318304391>
- Mentha piperita* essential oils loaded in a chitosan nanogel with inhibitory effect on biofilm formation against *S. mutans* on the dental surface. *Science direct*. Recuperado el 14 de noviembre de 2021, de <https://sciencedirect.cesproxy.elogim.com/science/article/pii/S0144861719301602>
- Petenatti, M. E., Gette, M. de L. A., Camí, G. E., Popovich, M. C., Marchevisky, E. J., del Vitto, L. A., & Petenatti, E. M. (2014). Quantitative Micrograph, HPLC and FTIR profiles of *Melissa officinalis* and NC (Lamiaceae) from Argentina. *Revista de La Facultad de Ciencias Agrarias*, 46, 2; 11.
- Rajkumar, V., Gunasekaran, C., Paul, C. A., & Dharmaraj, J. (2020). Development of encapsulated peppermint essential oil in chitosan nanoparticles: characterization and biological efficacy against stored-grain pest control. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 170(104679), 104679.
- Schreiner, T. B., Santamaria-Echart, A., Ribeiro, A., Peres, A. M., Dias, M. M., Pinho, S. P., & Barreiro, M. F. (2020). Formulation and optimization of nanoemulsions using the natural surfactant saponin from *Quillaja* bark. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 25(7), 1538.
- Taylan, O., Cebi, N., & Sagdic, O. (2021). Rapid screening of *Mentha spicata* essential oil and L-menthol in *Mentha piperita* essential oil by ATR-FTIR spectroscopy coupled with multivariate analyses. *Foods (Basel, Switzerland)*, 10(2), 202.
- (S/f-a). *Una.ac.cr*. Recuperado el 13 de noviembre de 2021, de <https://www.revistas.una.ac.cr/index.php/uniciencia/article/view/10170/12466>

(S/f-b). Researchgate.net. Recuperado el 13 de noviembre de 2021, de https://www.researchgate.net/publication/349325212_Protective_Action_of_Jania_rubens_Nanoencapsulated_Algal_Extract_in_Controlling_Vegetable_Oils'_Rancidity Fu, X., Weibo, K., Zhang, Y., Jiang, L., wang, jiliang, & Lei, J. (2015). Novel solid-solid phase change materials with biodegradable trihydroxy surfactant for thermal energy storage. *RSC Adv.*, 5. <https://doi.org/10.1039/C5RA11842E>

Pramod, K., Suneesh, C., Shanavas, S., Hus sain, S., & Ali, J. (2015). Unveiling the compatibility of eugenol with formulation excipients by systematic drug-excipient compatibility studies. *Journal of Analytical Science and Technology*, 6. <https://doi.org/10.1186/s40543-015-007>

Hugo Hernández G. (2005). Molecular weight distribution estimation in batch polyesterification using a model-based soft sensor. *SciELO*.