

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACIA

The seal of the University of San Carlos of Guatemala is a circular emblem. It features a central shield with a blue background, a golden crown at the top, and a golden lion rampant on the right. The shield is flanked by two golden columns. The shield is set against a background of green hills and a blue sky. The seal is surrounded by a grey border containing the Latin text "UNIVERSITAS CONSPICUA CAROLINA ACADÉMICA GUATEMALENSIS INTER CAETERA".

**Evaluación de la actividad antioxidante
de extractos frutales como alternativa a
los antioxidantes sintéticos en
preparaciones cosméticas tipo
emulsión**

Evelyn Ninett Rodas Cardona
Karen Andrea López Hurtado
Yeni Andrea Tul Bautista

QUÍMICAS FARMACÉUTICAS

Guatemala, Mayo del 2010

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACIA

The seal of the University of San Carlos of Guatemala is a circular emblem. It features a central figure, likely a saint or religious figure, seated on a throne. Above the figure is a golden dome with a cross on top. To the left and right are golden castles or towers. The background is a light blue sky with a green landscape at the bottom. The Latin motto "VERITAS LIBERABIT VOS" is inscribed around the perimeter of the seal.

**Evaluación de la actividad antioxidante
de extractos frutales como alternativa a
los antioxidantes sintéticos en
preparaciones cosméticas tipo
emulsión**

Seminario de Investigación

Presentado por:

Evelyn Ninett Rodas Cardona
Karen Andrea López Hurtado
Yeni Andrea Tul Bautista

Para optar al título de

QUÍMICAS FARMACÉUTICAS

Guatemala, Mayo del 2010

JUNTA DIRECTIVA

Oscar Cobar Pinto, Ph. D.	Decano
Lic. Pablo Ernesto Oliva Soto, M.A.	Secretario
Licda. Lillian Raquel Irving Antillón, M.A.	Vocal I
Licda. Liliana Vides de Urzar	Vocal II
Lic. Luis Antonio Gálvez Sanchinelli	Vocal III
Br. María Estuardo Guerra Valle	Vocal IV
Br. Berta Alejandra Morales Mérida	Vocal V

INDICE

	Pág.
1. Ámbito de la Investigación	1
2. Resumen	2
3. Antecedentes	4
4. Justificación	22
5. Objetivos	23
6. Hipótesis	24
7. Materiales y Métodos	25
8. Resultados	40
9. Discusión de Resultados	48
10. Conclusiones	53
11. Recomendaciones	55
12. Referencias Bibliográficas	56
13. Anexos	61

1. ÁMBITO DE LA INVESTIGACIÓN (UBICACIÓN DENTRO DEL PROYECTO MACRO)

Esta investigación evaluó la efectividad de extractos frutales como alternativa a los antioxidantes sintéticos en preparaciones cosméticas tipo emulsión. La misma se ubica en el ámbito industrial; específicamente en el área fitocosmética debido a la utilización de principios activos de origen vegetal (frutas) en formulaciones cosméticas tipo emulsión (cremas).

Además se incursionó en el análisis aplicado debido a que se aportaron datos sobre la composición y la cantidad de materia prima utilizando métodos analíticos para tratar las muestras problema.

El proyecto se realizó en las instalaciones de la Universidad de San Carlos de Guatemala en la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia en:

- Laboratorio del Departamento de Farmacia Industrial, Escuela de Química Farmacéutica, Edificio T-12, donde se desarrollaron las fases de:
 - Formulación de los productos cosméticos tipo emulsión.
 - Medición del índice de peróxidos de las cremas cosméticas.

- Laboratorio de Bioquímica, Departamento de Bioquímica, Escuela de Química Biológica, Edificio T-12, donde se desarrollaron las fases de:
 - Elaboración de los extractos frutales.
 - Cuantificación de la capacidad antioxidante y fenoles totales de los extractos frutales en estudio.

- Laboratorio de Investigación de Productos Naturales (LIPRONAT), donde se desarrollaron las fases de:
 - Concentración de los extractos frutales.

2. RESUMEN

El principal objetivo de la investigación fue la evaluación de la efectividad de los extractos frutales como alternativa a los antioxidantes sintéticos en preparaciones cosméticas tipo emulsión. Las frutas brindan una excelente alternativa para ser utilizadas en la industria cosmética por poseer grandes cantidades de antioxidantes (antocianinas y flavonoides) dentro de su composición. Por lo tanto, brindan una oportunidad de explotar los frutos disponibles en el país obteniendo materias primas naturales para ser utilizadas en la elaboración de cosméticos.

Previo al estudio se realizó una selección de 4 frutas de un total de 31, para ello se tomaron 4 criterios: época de cosecha, costo, disponibilidad de adquisición y capacidad antioxidante reportada. Las frutas seleccionadas fueron: fresa, mora, guayaba y mamey.

El estudio se desarrolló en dos fases. En la fase A se determinó la capacidad antioxidante total (IC_{50}) de los extractos etanólicos de las 4 frutas seleccionadas. En base a los resultados se eligió la fresa y la mora por poseer la mayor capacidad antioxidante. El BHT mostró un IC_{50} de 0.018 mg, mientras que el extracto de fresa mostró un valor de 0.625 mg y el de mora 0.499 mg ambos de fruta seca, siendo el BHT 35 y 28 veces más potente que los extractos, respectivamente.

La fase B consistió en la formulación de dos tipos de emulsiones cosméticas (cremas) aceite en agua (O/W) y agua en aceite (W/O); incorporándose los extractos de fresa, mora y una mezcla de fresa y mora. A las preparaciones de 100 g de crema se agregó los extractos por separado. Del extracto de fresa se incorporó 12 ml que corresponden a 1.75 mg de fruta seca, del extracto de mora 10 ml que corresponden a 1.40 g de fruta seca, y 5 ml de extracto de fresa y 6 ml de extracto de mora para obtener la mezcla de ambos extractos.

Para evaluar la efectividad de los extractos como alternativa a los antioxidantes sintéticos se midió semanalmente a temperatura ambiente y a 37-40 °C,

durante 6 semanas, el índice de peróxidos al control positivo (BHT), control negativo y a las formulaciones O/W y W/O con extracto de fresa, extracto de mora y mezcla fresa – mora.

La incorporación del extracto de fresa a las formulaciones de cremas O/W y W/O presentó características organolépticas aceptables. Mientras que el uso del extracto de mora y mezcla fresa – mora no se recomiendan por presentar colores en la gama de verde oscuro y café, siendo estos desagradables a la vista.

Los resultados mostraron que los extractos frutales retrasan el proceso de oxidación en formulaciones cosméticas tipo emulsión, por lo que poseen un alto potencial para ser utilizados. Sin embargo, por la metodología utilizada no se pueden obtener conclusiones definitivas sobre la efectividad de las mismas. Se recomienda continuar con estudios acerca de la propiedad antioxidante del extracto de fresa y mezcla de fresa-mora, los cuales mostraron mejores resultados para ser utilizado en emulsiones cosméticas.

3. ANTECEDENTES

Las emulsiones constituyen una parte importante dentro del mercado de los cosméticos y se consume mucho tiempo en la formulación de materias primas tanto por proveedores como por compañías cosméticas (4).

3.1. COSMÉTICOS

Un producto cosmético es una sustancia o preparado destinado a ser puesto en contacto con las diversas partes superficiales del cuerpo (epidermis, sistema capilar y piloso, uñas, labios y órganos genitales externos) o con los dientes y las mucosas de la cavidad bucal, con el fin exclusivo o propósito principal de limpiarlos, perfumarlos, modificar su aspecto, corregir los olores corporales y protegerlos o mantenerlos en buen estado (1). Estos productos no podrán proclamar actividad terapéutica.

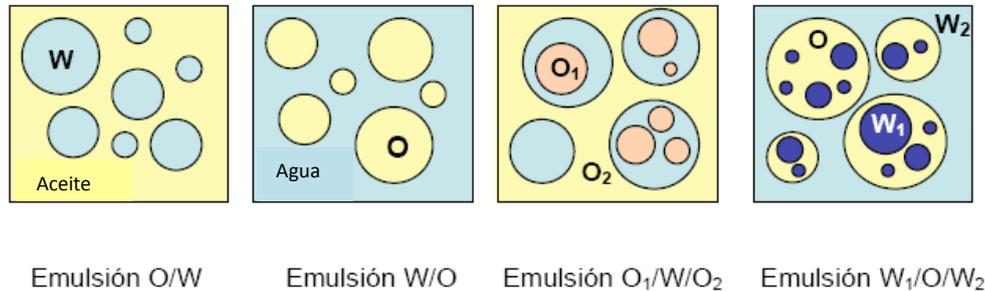
3.2. EMULSIÓN COSMÉTICA

La emulsión es un sistema de dos fases que consta de dos líquidos no miscibles, uno de los cuales es dispersado en el otro en forma de glóbulos. Termodinámicamente es inestable (2). La fase dispersada recibe el nombre de fase interna, mientras que la fase dispersante recibe el nombre de fase continua o externa. Para ser estables, las emulsiones requieren la presencia de un tercer componente, el agente emulsificante. Dada la amplia variedad de agentes emulsionantes existentes, se necesita una gran experiencia para elegir el mejor sistema emulgente para cada producto en particular. La elección final dependerá, en gran medida, de las propiedades y uso del producto final y de los demás excipientes necesarios (3).

Las emulsiones pueden ser de dos tipos: si las gotas de aceite se dispersan a través de la fase acuosa, la emulsión se denomina aceite en agua (O/W en inglés), mientras que un sistema en el que el agua se dispersa a través del aceite es una emulsión de agua en aceite (W/O). También es posible formar emulsiones múltiples, por ejemplo, se pueden encerrar varias gotas de agua en gotas de aceite de mayor tamaño que después se dispersan a su vez en agua.

Con ello, se consigue una emulsión agua en aceite en agua (W/O/W); también es posible conseguir su forma opuesta (O/W/O) (3).

Figura No. 1: Diferentes tipo de emulsiones:



(22)

La decisión de formular una emulsión O/W o W/O depende de la vía de administración y aplicación que se pretenda. Las O/W se prefieren porque provocan una sensación menos grasa, generalmente mejor aceptada por el consumidor, aplicándose y retirándose mejor. En cambio, las W/O producen cierto efecto oclusivo, reduciendo la evaporación de agua, y son más eficaces para evitar la sequedad de la piel; como desventaja producen una sensación más grasa (3).

Entre las emulsiones O/W se encuentran las cremas y lociones faciales, cremas evanescentes, para las manos, para afeitarse, etc. Se pueden formular como emulsiones oleoacuosas o hidrosolubles muchas de las cremas emolientes, cremas hidratantes, los preparados para el cabello, las lociones para repeler insectos y las cremas desodorantes contra el sudor (4).

Desde el punto de vista técnico, las cremas son emulsiones, formadas por dos líquidos no miscibles, en el que uno de ellos está disperso en el otro en forma pequeñas gotas. Éstas Las cremas son la forma de producto cosmético que hasta ahora han representado el 90 % de las preparaciones que se encuentran en el mercado y que tienen más aceptación por parte del consumidor. Se caracterizan por contener sustancias incompatibles, que se hacen compatibles por la adición de surfactantes o emulsificantes (que actúan en la interfase). (5).

3.3. FITOCOSMÉTICOS

La palabra fitocosmética deriva de la palabra griega *kosmein* que significa decorar y de *fitos* que significa planta. La fitocosmética utiliza principios activos de origen vegetal en productos cosméticos, pero es bien sabido que estos productos no sólo se emplean para “adornarnos”, sino también para solucionar alteraciones específicas de la piel (6).

La presencia de ingredientes naturales en un cosmético es un reclamo publicitario que cuenta con gran aceptación entre los consumidores. Por este motivo, los proveedores de materias primas desarrollan continuamente nuevos principios activos, tomando como punto de partida a los alimentos en muchas ocasiones (7).

Los extractos vegetales fueron ingredientes comunes en los productos de belleza más antiguos. Así lo muestran las farmacopeas de China, África, Europa y América. Por ejemplos el empleo de alheña como tinte natural del cabello y el uso de sábila (*aloe vera*) para tratar heridas. Los ingredientes vegetales se combinaban con otros compuestos para buscar un efecto sinérgico, pero también para preservar el secreto del principio activo (6).

Dependiendo de la naturaleza y el uso que se dará al agente vegetal será el método de extracción que se elija, siempre cuidando que el producto final esté libre de impurezas (6).

Los ingredientes activos no siempre se encuentran en toda la planta, la mayoría de las veces solamente las hojas, el tallo, los frutos, las flores, los bulbos o la corteza presentan la mayor concentración. Los griegos empleaban el aceite extraído de los bulbos de las flores del lirio para tratar las quemaduras por el sol, sin embargo, el agua que se extrae de estas flores es tóxica (6).

Las frutas son los alimentos más empleados como activos cosméticos (ver tabla No.3.1). Los aceites de las semillas, ricos en ácidos grasos insaturados,

son componentes de los preparados antienvjecimiento. Los extractos frutales, especialmente los de los cítricos, son muy apreciados en los productos limpiadores e hidratantes por su contenido en hidroxiaácidos (7).

Tabla No.3.1: Extractos de fruta utilizados en cosmética

Nombre Común	Denominación INCI	Acciones
Aguacate	<i>Persea gratissima</i>	Suavizante Cicatrizante Antiarrugas Tratamiento de pieles secas
Albaricoque	<i>Armeniaca vulgaris</i>	Suavizante Antiarrugas Regenerador tisular Tonificante
Arándano	<i>Vaccinium myrtillus</i>	Antiséptico Astringente y prevención de fragilidad capilar
Fresa	<i>Fragaria vesca</i>	Limpiador de pieles grasas Suavizante
Limón	<i>Citrus limonum</i>	Antiséptico Tónico Despigmentante Cicatrizante Hidratante
Manzana	<i>Pyrus malus</i>	Suavizante Antiséptico Refrescante
Papaya	<i>Carica papaya</i>	Limpiador Cuidado de las pieles grasas Tratamiento de la celulitis
Piña	<i>Ananas sativa</i>	Tónico Astringente Cuidado de las pieles grasas
Pomelo	<i>Citrus decumana, C. paradisi</i>	Tónico Refrescante Astringente Antiséptico Despigmentante
Vid	<i>Vitis vinifera</i>	Astringente, Vasoconstrictor Tratamiento cuperosis Tónico

Fuente: Villagra A. 2004 Formulación de una nanoemulsión dermocosmética, nutritiva y regeneradora de la piel. (7)

3.4. ANTIOXIDANTES

Un antioxidante es toda sustancia capaz de inhibir la oxidación y que se puede agregar con esta finalidad a los productos farmacéuticos o cosméticos expuestos a deterioro por procesos oxidativos, como rancidez en los aceites y grasas (2).

La capacidad del oxígeno atmosférico de actuar como agente oxidante para grasas, ácidos grasos y muchas otras sustancias orgánicas es de importancia comercial. En algunos casos, el fenómeno puede utilizarse beneficiosamente, pero, en los cosméticos, normalmente los efectos de la oxidación son deteriorantes, y pueden conducir a una descomposición completa.

Dos de los problemas asociados con una comprensión de las reacciones generales de oxidación son el amplio espectro de sustancias orgánicas que están sujetas a este tipo de descomposición y, en segundo lugar, el gran número de factores que pueden afectar tanto a la velocidad como el curso de las reacciones. Entre estos últimos, puede enumerarse los efectos de la humedad, concentración de oxígeno, temperatura, radiación ultravioleta y la presencia o ausencia de anti y pro-oxidantes (4).

Los antioxidantes sintéticos más frecuentemente utilizados son los compuestos butilhidroxianisol (BHA) y butilhidroxitolueno (BHT), pero hay un gran interés en el empleo de antioxidantes extraídos de fuentes naturales o ingredientes que los contengan para desarrollar tal función (8).

Existen requerimientos que deben cumplir los antioxidantes para cosméticos. Entre ellos se puede mencionar que las concentraciones utilizadas no deben ser irritantes o alérgicas, no deben causar decoloración u olor en la preparación y deben ser lo suficientemente liposolubles para desarrollar su efecto. Además el antioxidante debe ser estable y efectivo en un intervalo amplio de pH y ser soluble en su forma oxidada, y sus productos de reacción deben ser incoloros e inodoros. Otros requerimientos obvios y esenciales son

que no debe ser tóxico, debe ser estable y compatible con los ingredientes del producto y la composición del envase (2).

3.4.1. AUTOOXIDACIÓN

El mecanismo de acción responsable de la oxidación de lípidos se inicia con la formación de radicales libres. Esta es una reacción en cadena que puede ser descrita en etapas de iniciación, propagación y procesos de terminación. Esta reacción puede retardarse o inhibirse mediante la incorporación de antioxidantes (8).

El grado de oxidación se relaciona con la estructura química del compuesto o ácido graso en donde la fijación del oxígeno será más rápida, cuando la molécula está con un mayor número de insaturaciones, aunque no existe proporcionalidad entre la insaturación y velocidad de fijación (9).

La autooxidación está comprendida en las siguientes etapas:

Iniciación: El primer paso en la oxidación, es la adición de oxígeno al enlace doble de la cadena de un ácido graso, donde el hidrógeno es removido de la molécula de los ácidos grasos insaturados, dando lugar a un radical libre lipídico el cual reacciona con el oxígeno activado formando compuestos inestables que se designan, generalmente, con el nombre de peróxidos (32).

Propagación: En esta fase se producen interacciones lípido – lípido, en donde el radical peroxil abstrae un hidrógeno de una molécula adyacente, formando un hidroperóxido y un nuevo radical lipídico. Este tipo de interacciones ocurren entre 10 y 100 veces antes que se combinen dos radicales para terminar el proceso. Los hidroperóxidos, uno de los principales productos primarios de la oxidación, se descomponen para formar hexanal, pentanal y malondihidro, que son productos secundarios responsables del sabor a rancio característicos. Estos productos secundarios de oxidación, específicamente malonadehído, son altamente reactivos y se unen a otros (31).

Terminación ó Finalización: Los diferentes radicales libres (R^*) reaccionan entre sí formando dímeros (RR), hidroperóxidos ($ROOH$), y peróxidos ($ROOR$); la ruptura de estos últimos genera compuestos más estables como aldehídos y cetonas responsables del olor rancio de las grasas. (34).

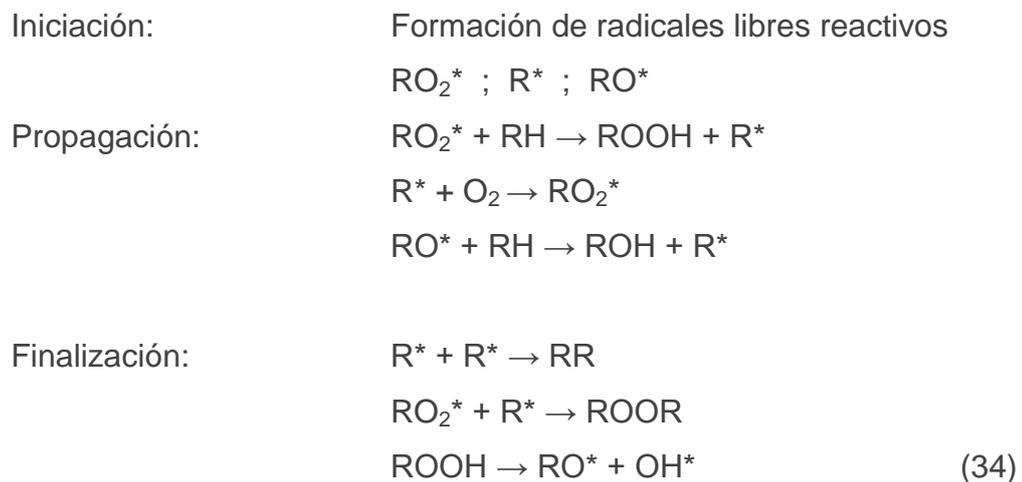
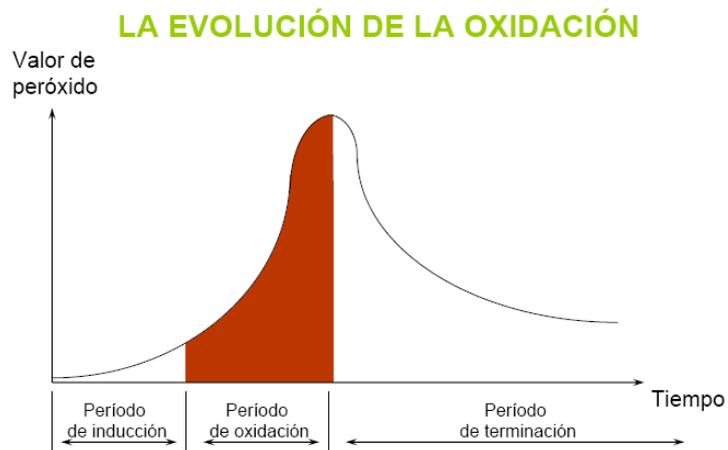


Figura No. 2: Evolución de la Oxidación



(33)

Las principales evidencias de un proceso autooxidativo se manifiestan cuando existe un aumento de los índices de acidez y saponificación, valores que son una medida que determina el peso molecular promedio de los glicéridos componentes de la muestra, un número elevado indica la presencia de glicéridos de ácidos grasos inferiores a la molécula original (10).

También se presenta una disminución de los valores de índice de yodo, el cual aumenta con la presencia de glicéridos no saturados, fenómeno que no se presenta en la autooxidación, pues se generan moléculas saturadas. Otro parámetro importante es el valor de peróxidos, en donde lo más frecuente es un aumento inicial y posterior disminución del índice de peróxidos (10).

La autooxidación es generalmente llamada rancidez y podemos dividirla en dos tipos: cetónica y oxidativa.

La rancidez cetónica ocurre en ácidos grasos que contienen menos de 14 átomos de carbono y es el resultado de la acción de ciertos mohos (en particular, *Aspergillus* y *Penicillium*) en la presencia de humedad y sustancias nitrogenadas. Esta rancidez resulta en la formación de cetona que es detectable por el olor que emite y su presencia se demuestra químicamente de una forma sencilla. Esta rancidez puede ser prevenida con la adición de preservantes a las preparaciones cosméticas (17).

La rancidez oxidativa es la forma más importante en la práctica. Esta ocurre mayormente en ácidos grasos insaturados y lleva a la ruptura de la molécula de ácido graso en el punto del doble enlace. Los fragmentos formados son aldehídos que son los responsables del mal olor y de la irritación que causan los ácidos grasos rancios en la piel. La rancidez oxidativa es un proceso de oxidación causado por el oxígeno atmosférico y resulta principalmente por el contacto de la grasa o el aceite con el aire (17).

Oxidación de Sistemas Insaturados:

En los sistemas con monoinsaturaciones, la velocidad de reacción es baja respecto a otras moléculas insaturadas, debido a la presencia de un doble enlace (11).

Para los sistemas poliinsaturados la velocidad de autooxidación de la molécula depende de la conjugación de los dobles enlaces; sabiendo que en sistemas poliinsaturados no conjugados la velocidad es mucho más rápida que aquellos

que poseen un solo doble enlace, debido a la activación provocada por la presencia de un grupo metileno adyacente a dos dobles enlaces. En sistemas conjugados poliinsaturados existe una diferencia en el mecanismo oxidativo, principalmente en que los productos oxidativos parecen ser peróxidos polímeros no cíclicos producidos por la adición de oxígeno al sistema dieno (11).

Oxidación de Sistemas Saturados

La mayoría de compuestos saturados parecen ser inertes en condiciones normales “experimentales” de oxidación. La velocidad de oxidación de compuestos hidrocarburos saturados aumenta con la longitud de cadena, lo que genera un hidroperóxido como producto inicial y como productos secundarios: alcoholes y cetonas, que pueden oxidarse posteriormente (11).

3.4.2. FACTORES QUE AFECTAN LAS REACCIONES DE AUTOOXIDACIÓN

Potencial de Hidrógeno (pH): Según investigaciones es posible arribar a posiciones generales que indican al medio neutro y alcalino como los más proclives al cambio aunque en un buen número de casos, la reacción debe atribuirse a la actividad sinérgica del pH y de agentes catalizadores (10).

Oxígeno: Se necesitan cantidades muy pequeñas de oxígeno para iniciar la alteración (desde 10^{-5} meq en el caso de la acroleína), deben extremarse las medidas para evitar que dicho gas se origine en el medio, mediante adecuada estabilización y el contacto con el oxígeno del aire, envase o cierre seguro del mismo donde se almacena el producto (10).

Calor: El aumento de la temperatura acelera notablemente el proceso. Charonnat calculó que por cada 10 °C que disminuye la temperatura, la velocidad de autooxidación disminuye a la mitad (10).

Efectos Fotoquímicos: La luz es capaz de originar o de coadyuvar a fenómenos de oxidación. Estudios realizados por Jaminet demostraron que las longitudes de onda más próximas a las radiaciones ultravioletas son las más activas (10).

Radiaciones ionizantes y ultrasonido: Ambas tienden a formar radicales libres, hidrógeno molecular; de los cuales el primero es más común (10).

Catálisis por metales: Los metales plurivalentes demuestran ser los más activos, por la capacidad de transportar mejor los electrones. Se mencionan principalmente al cobre y el hierro (10).

3.4.3. ANTIOXIDANTES QUÍMICOS

Tabla No. 3.2: Clasificación de los principales antioxidantes según su función.

Antioxidante	Primarios	Secundarios	Terciarios
Función	Previenen la formación de nuevos radicales libres. Convierte los radicales libres existentes en moléculas menos perjudiciales antes de que puedan reaccionar o evitando la formación de radicales libres a partir de moléculas.	Capturan los radicales, evitando la formación de las reacciones en cadena de radicales libres.	Reparan las biomoléculas dañadas por los radicales libres.
Ejemplos	Superóxido dismutasa (SOD), glutatión peroxidasa (GPx), proteínas de unión a metales como la ferritina y ceruloplasmina.	Vitamina E (alfa-tocoferol), vitamina C (ascorbato), vitamina A (betacaroteno), ácido úrico, bilirrubina y albúmina.	Enzimas reparadoras de ADN y la metionina sulfóxido reductasa.

Fuente: Caballeros K. 2001, Optimización de dos métodos para el tamizaje de la actividad antioxidante de extractos vegetales. (12)

Tabla No. 3.3: Clasificación de antioxidantes según su estructura

Antioxidante Fenólicos	
Resina Guaiacum	Antioxidante menos eficaz, es más eficaz en aceites animales que en vegetales. Es igualmente efectivo en presencia de agua y no se afecta seriamente con el calor.
Tocoferoles	Sustancias naturales que no son ampliamente utilizadas por su alto costo. Tiene cierto efecto antioxidante con las grasas animales. Presenta sinergia con ácido cítrico, lecitina y ácido fórmico.
Galatos	Clase más importante de antioxidantes. Se utilizan en cosméticos: galatos de metilo, etilo, propilo, octilo y dodecilo.
Hidroxianisol butilado (BHA)	Compuesto por dos isómeros, 2- y 3-tert-butil-hidroxianisol. Raramente es utilizado solo
Hidroxitolueno butilado (BHT)	Ampliamente utilizado para ácidos grasos y aceites vegetales. Tiene ventajas sobre los demás antioxidantes fenólicos: estabilidad al calor y baja toxicidad. En cosméticos se debe de utilizar a concentraciones de 0.01 – 0.1 por 100, con adición de un agente secuestrante tal como el ácido cítrico o EDTA
Antioxidantes no fenólicos	
Ácido ascórbico	Agente quelante que parecen actuar deteniendo el proceso radical libre de oxidación.
Palmítico de ascorbilo	Agente quelante que parecen actuar deteniendo el proceso radical libre de oxidación. Especialmente efectivo en aceites vegetales y presenta sinergia con lecitina y tocoferol.
Citrato de monoisopropilo	Similar al ácido ascórbico, pero con mayor solubilidad en grasa.

Fuente: Caballeros K. 2001, Optimización de dos métodos para el tamizaje de la actividad antioxidante de extractos vegetales. (12)

Tabla No. 3.4: Clasificación de antioxidantes según en donde son producidos en el organismo.

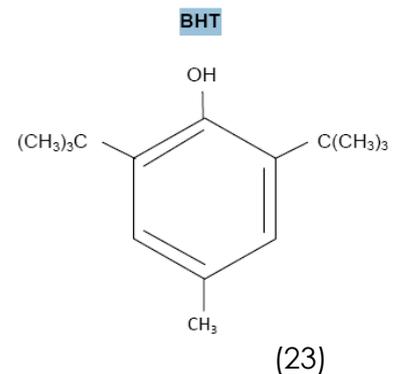
Antioxidante	
Endógenos	Exógeno
<p>Producidos por el organismo que incluyen a las enzimas superóxido dismutasa, sistema glutatión peroxidasa, catalasa, etc.</p>	<p>No son producidos por el organismo, por lo que es necesario su ingesta.</p> <p>Compuestos fenólicos: Se encuentran en frutas y vegetales. Poseen una estructura fenólica la cual está conformada por un núcleo aromático que contiene un grupo hidroxílico libre o sustituido. Generalmente son solubles en agua, y se encuentran en la cáscara de frutas y vegetales.</p> <p>Vitamina C (C₆H₈O₆): Sustancia de color blanco soluble en agua, estable en su forma seca.</p> <p>Vitamina E: Antioxidante liposoluble. El alfa-tocoferol es la forma más común de vitamina E.</p>

Fuente: Téllez M. 2006. Determinación de las propiedades antioxidantes de seis vegetales comestibles autóctonos del departamento de Alta Verapaz. (13)

Hidroxitolueno Butilado (BHT)

- **Sinónimos:** 2,6-(1,1-Dimetiletil)-4-metil-fenol; hidroxitolueno butilado cristalino, tenox BHT. (2)
- **Descripción:** Sólido, blanco, cristalino, olor característico (14).
- **Propiedades:**
 - Punto ebullición: 265 °C
 - Gravedad específica: 20/4°C: 1.006 (14).
- **Estabilidad y condiciones de almacenamiento:** La luz causa la decoloración y pérdida de la actividad. Se debe de guardar en un recipiente hermético y protegido de la luz (14).
- **Incompatibilidades:** Luz y trazas de metales causa decoloración y pérdida de la actividad. Es incompatible con agentes oxidantes y sales de hierro. Es un fenol, muchas de sus reacciones son características de los compuestos fenólicos (14).
- **Toxicología:**
 - DL50 oral rata; 1350 – 3900 mg/Kg (14).

- **Tolerancia local y sistemática:** El material sólido puede ser un poco irritante en la piel o en los ojos si no se remueve rápidamente.
- **Alergénico:** Se ha reportado casos de alergias (14).
- **Aplicación farmacéutica o tecnología:** Es utilizado para prevenir la oxidación, rancidez de aceites y en la pérdida de la actividad de las vitaminas solubles (14).
- **Sugerencias de concentración del BHT en:**
 - Vitamina : 10 mg por 1,000,000 de unidades
 - Beta-caroteno: 0.01%
 - Grasas y aceites: 0.02%
 - Aceites esenciales y aceites saborizantes: 0.02 – 0.5% (14).
 - Productos cosméticos: 0.01 – 0.1% (4)



3.4.4. ANTIOXIDANTES NATURALES Y LOS COSMÉTICOS

La principal fuente de antioxidantes naturales son las frutas y vegetales los cuales contienen compuestos fenólicos en abundancia. Estos compuestos están estrechamente asociados con el color y sabor de los alimentos de origen vegetal, así como con su calidad nutricional por sus propiedades antioxidantes comprobados (15).

En varios estudios se ha evaluado la capacidad antioxidante de las frutas y bebidas de frutas. Éstos mismos concluyen que los compuestos polifenólicos son los principales responsables de la actividad antioxidante «in vitro». Las frutas con menor valor de capacidad antioxidante (CI_{50}) tienen mayor actividad antioxidante. Además según varios artículos se conoce que las frutas con más compuestos polifenólicos poseen mayor actividad antioxidante (16).

3.4.5 SINERGISMO

Se dice que el sinergismo se produce cuando dos o más antioxidantes presentes en un sistema muestran un efecto total superior al que se puede estimar por una simple adición de sus efectividades individuales. Aunque este fenómeno es bien conocido, la mayoría de los sistemas se ha estudiado sobre una base empírica. El fenómeno está asociado con dos sistemas separados:

Mezcla de aceptores de radicales libres: Podría parecer que el efecto de la mezcla de aceptores de radicales libres es debido tanto a factores estéricos como a cambios en la energía de activación (4).

El procedimiento de activación molecular mejora muy considerablemente la actividad biológica y la reactividad bioquímica de todas las moléculas antioxidantes.

Este método de activación ha sido mucho más efectivo al ser aplicado a un espectro mucho más amplio de moléculas, tanto hidrosolubles como liposolubles y también al mejorar algunos parámetros del procedimiento.

Relacionado con el mencionado mecanismo hemos observado un aumento de sinergismo entre algunos antioxidantes utilizados que a veces logran incrementar en un alto porcentaje su capacidad antioxidante global. Muchos factores pueden influir en la activación de todos los antioxidantes.

Entre los factores químicos más importantes están: la estructura molecular, los grupos funcionales activos, catalizadores antioxidantes específicos, el peso molecular, el pH, los dobles enlaces de carbono, su coeficiente de solubilidad, así como la capacidad antioxidante de cada molécula. Entre los factores físicos el más importante es el tiempo y la intensidad de la activación molecular.

No todos los antioxidantes requieren el mismo tiempo de activación para alcanzar su máxima capacidad antioxidante, siendo su optimización el más importante parámetro para el control del mayor rendimiento. Una vez alcanzado

el tiempo más favorable para su mayor capacidad antioxidante es muy importante suspender la activación porque a partir de este máximo pico suele iniciarse una suave o rápida pérdida de su capacidad antioxidante. Esta zona posterior al tiempo óptimo de activación implica una oxidación, por lo que es necesario fijar con gran exactitud el tiempo más adecuado en cada caso en concreto.

Cuando se trata de una mezcla de dos o más antioxidantes el tiempo óptimo de activación se calcula previamente para cada preparado, manteniendo éste parámetro siempre fijo (27).

Agentes quelantes de metales: El efecto normal de los agentes quelantes de metales es reaccionar con los iones metálicos prooxidantes y, de este modo, evitar su efecto catalítico en la reacción de oxidación normal, de reacción en cadena. Por esto, esta reacción no previene que se realice la oxidación normal, sino únicamente retarda la formación del peróxido, mientras que al tiempo, prolonga el período de inducción (4).

Tabla No.5: Antioxidantes para uso en sistemas cosméticos

Sistemas acuosos		
Sulfito sódico		Ácido ascórbico
Metabisulfito sódico		Ácido isoascórbico
Bisulfito sódico		Tioglicerol
Tiosulfato sódico		Tiosorbitol
Formaldehido sulfoxilato sódico		Ácido tioglicólico
Acetona metabisulfito sódico		Clorhidrato de cisteína

Sistemas no acuosos		
Palmitato de ascorbilo		Hidroxianisolato butilado
Hidroquinona		α -Tocoferol
Galato de propilo		Fenil α -naftilamina
Ácido nordihidroguayarético		Lecitina
Hidroxitolueno butilado		

Sistemas Sinérgicos		
Antioxidante	Porcentaje	Sinérgicos
Galato de propilo	0.005-0.15	Ácido cítrico y fosfórico
α -Tocoferol	0.01-0.1	Ácido cítrico y fosfórico
Ácido nordihidroguayarético (NDGA)	0.001-0.01	Ácidos ascórbico, fosfórico, cítrico (25,50 por 100 de contenido de NDGA) y BHA
Hidroquinona	0.05-0.1	Lecitina, ácido cítrico y ácido fosfórico, BHA, BHT
Hidroxianisolato butilado (BHA)	0.005-0.01	Ácidos cítrico y fosfórico, y lecitina, BHT, NDGA
Hidroxitolueno butilado (BHT)	0.01	Ácidos cítricos y fosfórico hasta doble del peso de BHT y BHA

Fuente: Harry PG. 2000. *Harry's Cosmetology*. (4)

3.5. ESTUDIOS PREVIOS

La actividad antioxidante de frutos ha sido descrita en varios estudios, pero existen muy pocos que describen su compatibilidad de algunas en formulaciones cosméticas, y no existen estudios que abarquen los cosméticos tipo emulsión en estas tres frutas.

Valle, K en el 2006, realizó un estudio en el cual evaluó la capacidad antioxidante del extracto de Romero (*Rosmarinus officinalis*) en aceite de girasol, maleato de aceite de soya, lanolia y manteca de cacao; las cuales son

materias primas utilizadas en fase oleosa de emulsiones cosméticas. El grado de oxidación se evaluó cuantitativamente por medio del índice de peróxidos que se determinó durante varias semanas, hasta obtener valores de índice de peróxido mayores a veinte miliequivalentes para ácidos grasos de origen animal (lanolina) o mayores a setenta miliequivalentes para ácidos grasos de origen vegetal (aceite de girasol, maleato de aceite de soya y manteca de cacao). En el estudio se encontró que el extracto de romero presenta un efecto antioxidante a las temperaturas ensayadas, siendo más significativo para el extracto de romero al 0.1%.

Bucarito y colaboradores en el 2005, estudiaron los compuestos fitoquímicos presentes en frutas autóctonas de Venezuela, determinando la cantidad de polifenoles, en cáscaras liofilizadas de mandarina (*Citrus reticulada*), guayaba (*Psidium guayaba*), níspero (*Manilkara achras*), naranja (*Citrus cimensis* (L.) Osbeck), pomagás (*Syzygium malaccense*) y toronja (*Citrus paradisi*). Destaca el alto contenido de polifenoles y la capacidad antioxidante en el extracto de guayaba, así como su compatibilidad en diferentes bases cosméticas. Debido a la alta capacidad antioxidante de la guayaba, se realizaron extractos tanto de la cáscara como de la pulpa del fruto, observándose una mayor capacidad antioxidante en la cáscara.

Pineda, A en el 2005, determinó la cantidad de sustancias antioxidantes presentes en frutos de injerto (*Pouteria viridis*) cultivados en tres diferentes zonas de Guatemala, se realizaron extractos etanólicos en los cuales se determinó los siguientes parámetros: actividad antioxidante total mediante el método α, α -difeníl- β -picrilhidrazilo (DPPH), contenido de fenoles totales mediante el método de folin Ciocalteu y concentración de vitamina C mediante cromatografía líquida de alta resolución (HPLC). En el estudio se concluyó que el contenido de sustancias antioxidantes está influenciado por el lugar de cultivo de los frutos de injerto así como el genotipo de las mismas. Los injertos cultivados en la región correspondiente al bosque húmedo subtropical templado presentaron el mayor contenido de los parámetros medidos.

Barahona y colaboradores en el 2002, describieron la actividad antioxidante de diversos frutos autóctonos de Guatemala, los cuales fueron el banano morado (*Mussa sp.*), cereza (*Prunus capuli Cav*), mamey (*Mamea americana L.*), pitaya (*Epiphyllum crenatum*), carambola, tuna (*Napolea guatemalensis Rose*), anona (*Annona diversifolia Safford*) y guanaba (*Annona muricata L.*). En este estudio, se determinó la capacidad antioxidante total, contenido total de fenoles y vitamina C de dichas frutas. La guanaba presentó mayor capacidad antioxidante total, seguida por la pitaya, el mamey y carambola. Por otra parte, la carambola presenta una alta cantidad de fenoles, el cual es más bajo en el caso del mamey.

Torres, N en el 2002, validó una metodología analítica para determinar la capacidad autooxidativa de materias primas utilizadas en fase oleosa de emulsiones cosméticas, utilizando manteca de cacao, lanolina anhidra, ácido estéarico triple prensado y monoestearato de glicerilo. En dicho estudio se concluyó que la metodología analítica para determinar la capacidad autooxidativa en compuestos grasos de fase oleosa en cremas cosméticas, es válido únicamente para cada materia prima y no en una fase oleosa.

4. JUSTIFICACIÓN

La utilización de productos y materias primas de origen natural cada vez es más frecuente en la industria cosmética debido a su gran aceptación entre los consumidores, sin embargo no existen suficientes estudios científicos sobre la aplicación de las propiedades de éstos en productos cosméticos (7).

Unos de los productos más comunes en cosmética son las cremas. Las mismas son emulsiones, formadas por dos fases distintas y no compatibles, una acuosa y una oleosa. Para ésta última fase es necesaria la adición de antioxidantes para evitar procesos de degradación que generaría un cambio en la apariencia del producto, lo cual afectaría la calidad del mismo (5).

Se conoce que muchas frutas poseen actividad antioxidante debido a su gran contenido de polifenoles y otros compuestos que le confiere dicha propiedad (19). Además, los extractos de frutas le confieren propiedades organolépticas a las formulaciones cosméticas, por eso su preferencia sobre vegetales y plantas.

Poder aplicar la capacidad antioxidante de extractos frutales en formulaciones cosméticas tipo emulsión (cremas) sería de gran importancia para la industria cosmética guatemalteca.

De esta forma se podrían explotar los frutos disponibles en el país de los cuales se pueden obtener materias primas naturales para ser utilizadas en la elaboración de cosméticos.

5. OBJETIVOS

5.1. Objetivo General

Evaluar la efectividad de extractos frutales como alternativa a los antioxidantes sintéticos en preparaciones cosméticas tipo emulsión.

5.2. Objetivos Específicos

- 5.2.1. Seleccionar frutas disponibles en el país con potencial para ser utilizados como alternativa a antioxidantes sintéticos en preparaciones cosméticas tipo emulsión.
- 5.2.2. Evaluar la oxidación de la fase oleosa en emulsiones cosméticas al utilizar extractos frutales como antioxidantes.
- 5.2.3. Evaluar la influencia que puede tener la fuente de antioxidante (tipo de fruta) en el efecto protector de los extractos frutales en emulsiones cosméticas.
- 5.2.4. Evaluar la influencia que tiene el tipo de preparación (emulsión agua/aceite, emulsión aceite/agua) en el efecto protector de los extractos frutales en emulsiones cosméticas.
- 5.2.5. Evaluar la influencia que tiene la temperatura de almacenamiento en el efecto protector de los extractos frutales en emulsiones cosméticas.

6. HIPÓTESIS

Al menos un extracto frutal de los estudiados puede generar una actividad antioxidante comparable a un antioxidante sintético (Butilhidroxitolueno, BHT) en preparaciones cosméticas tipo emulsión.

7. MATERIALES Y MÉTODOS

7.1 Universo de Trabajo

Extractos frutales

Preparaciones cosméticas tipo emulsión formulados en el departamento de Farmacia Industrial de la Universidad San Carlos de Guatemala, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia.

7.2 Recursos

Investigadores:

Evelyn Ninett Rodas Cardona

Karen Andrea López Hurtado

Yeni Andrea Tul Bautista

Jefe del proyecto:

Licda. Lucrecia de Haase

Asesor:

Dr. Rubén Velásquez

7.2.1 Equipo de laboratorio

Vortex

Agitadores magnéticos

Desecadora

Balanza analítica (sensibilidad 0.0001g)

Balanza semianalítica (sensibilidad 0.001g)

Espectrofotómetro

Horno (de 90-100°C)

Refrigeradora

7.2.2 Cristalería:

Erlenmeyer de 25, 50, 250 y 500 ml

Erlenmeyer con boca esmerilada de 250 ml

Varilla de vidrio

Embudo de vidrio

Vidrio de reloj pyrex

Beaker de 50, 100 y 500 ml

Probetas 25, 50 y 100 ml

Bureta de 25 o 50 ml, graduada en 0,1 ml.

Micropipeta marca Stanbio de 5-50 y 100- 1000 μ l

Balones aforados de 10, 25, 50, 100, 250 y 1000 ml.

Tubos de ensayo con capacidad 10 ml

Frascos de vidrio ámbar con capacidad de 250 ml y tapón de rosca

7.2.3 Reactivos:

Preparación extracto

Metanol

Nitrógeno gaseoso

Determinación Capacidad Antioxidante

Reactivo DPPH (1,1-difenil-2-picrihidrazo)

Metanol absoluto

Buffer acetato

Acetato de sodio anhidro

Agua destilada

Ácido acético

Hidróxido de sodio

Índice de peróxidos

Cloroformo

Ácido acético

Yoduro potásico

Agua destilada

Solución tiosulfato sódico

Tiosulfato de sodio

Carbontao de sodio

Estándar primario de dicromato de potasio

Bicarbonato sódico

Ácido clorhídrico

Solución de almidón

Cloroformo para análisis, exento de oxígeno por borboteo de una corriente de gas inerte puro y seco.

Ácido acético glacial para análisis, exento de oxígeno por borboteo de una corriente de gas inerte puro y seco.

Solución acuosa saturada de yoduro potásico, recién preparada, exenta de yodo y yodatos.

Solución acuosa de tiosulfato sódico 0,01N o 0,002N valorada exactamente; la valoración se efectuará inmediatamente antes del uso.

Solución de almidón, en solución acuosa de 10 g/l, recién preparada con almidón soluble.

Tabla No. 4.1: Recomendación PANREAC de los reactivos a utilizar

Reactivo	Recomendación PANREAC	
	Código	Denominación
Ácido acético glacial para análisis	131008	Ácido acético glacial PA-ACS-ISO
Almidón soluble	121096	Almidón de patata soluble PA
Cloroformo para análisis	131252	Triclorometano estabilizado con etanol PA-ACS-ISO
Solución acuosa de tiosulfato sódico 0.01 N	181723	Prepararlo a partir de sodio tiosulfato 0.1 mol/l (0.1 N) SV diluido convenientemente en agua
Solución de almidón, en solución acuosa de 10 g/l	283146	Almidón soluble 1% RV
Yoduro potásico	131542	Potasio yoduro PA-ACS-ISO

Nota: Las cantidades expuestas anteriormente son para la realización de un ensayo o un extracto únicamente.

7.2.4 Papelería y equipo:

Computadora

Hojas

Impresora

Tinta

Fotocopias

Folder con gancho

7.2.5 Otros:

Papel filtro
Papel aluminio
Papel mayordomo
Papel parafilm
Micropipeteador
Macropipeteador
Magnetos
Termómetro
Gradillas
Baño maría
Pizeta
Espátula
Tarros plásticos blancos de 4 onzas

7.2.6 Recursos Institucionales

Departamento de Bioquímica Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia
Universidad San Carlos de Guatemala

Departamento de Farmacia Industrial, Ciencias Químicas y Farmacia
Universidad San Carlos de Guatemala

7.3. Métodos

7.3.1 Selección de frutas a utilizar en la investigación

- Se realizó una investigación previa para seleccionar las frutas para el estudio. Para ello se elaboró un cuadro resumen en donde se incluyó la siguiente información: fruta, nombre científico, actividad antioxidante total, fenoles totales, vitamina C, composición química de la pulpa, temporada, disponibilidad de la fruta y el precio (Ver Anexo No. 2).
- Con la información recaudada se prosiguió a la selección de las frutas en base a cuatro criterios: época de cosecha, costo, disponibilidad de adquisición y capacidad antioxidante reportada.

- Se adquirió las frutas seleccionadas en el Mercado de La Florida, zona 19. Se tomó en cuenta que las frutas tuvieran una madurez adecuada y que estuvieran en buenas condiciones (sin golpes, lastimadas o infestadas por insectos).

7.3.2 Preparación de la muestra y extracto

- Se lavó con agua potable las frutas en estudio y se cortó la pulpa en pedazos pequeños.
- Se pesó 10 g de cada fruta.
- Se realizó una extracción con metanol por medio del método de maceración.
- Se saturó con atmósfera de nitrógeno gaseoso los recipientes cubiertos de la luz donde se almacenaron los extractos.
- Se agitó por dos horas con un agitador magnético protegiendo las muestras de la luz.
- Luego se procedió a filtrar utilizando un embudo y papel filtro.
- Se filtraron los residuos y se extrajo repetidamente con alícuotas de 25 ml hasta obtener extractos incoloros. Todas las fracciones se colectaron en el mismo recipiente de cada fruta.
- Al final de las extracciones se midió el volumen total del extracto obtenido. Se almacenó el extracto bajo atmósfera de nitrógeno en frascos ámbar a temperatura de refrigeración. El almacenamiento no excedió más de 29 días bajo refrigeración (4 - 7 °C).
- Con el volumen total del extracto y el peso seco de la fruta se calculó la concentración de materia seca vegetal por volumen de extracto.

(13)

7.3.3 Determinación de peso seco

- Se colocó la muestra un vidrio de reloj identificado en el horno a una temperatura de 90 a 100 °C por 1 hora.
- Se colocó el vidrio de reloj en un desecadora por 15 minutos hasta que alcanzó la temperatura ambiente.
- Se taró un vidrio de reloj.

- Se pesó 1 g de muestra en el vidrio de reloj previamente tarado.
- Se introdujo la muestra en horno a 105°C por 1 hora.
- Se colocó la muestra en la desecadora por 15 minutos.
- Se repitió el proceso hasta que la muestra no presentó variación en el peso o esta sea mínima.

(13)

7.3.4 Ensayos a realizar en el extracto obtenido

- **Ensayos Físico-Químicos**

Ensayos organolépticas: Se evaluó la apariencia y color.

- **Determinación de la Capacidad Antioxidante Total**

- **Preparación de reactivos**

DPPH (1,1-difenil-2-picrihidrazilo)

Se pesó 2.19 mg del reactivo DPPH por cada 10 ml de metanol absoluto grado reactivo. El reactivo se preparó el día de su utilización y se mantuvo aislado de la luz cubriendo el recipiente con papel aluminio o con nylon negro.

Buffer de acetatos pH 6

- Se disolvió 2.72 g de acetato de sodio anhidro en 100 ml de agua destilada.
- Se agregó 2.4 ml de ácido acético a 47.5 ml de la solución de acetato de sodio
- Se ajustó la solución a un pH 6.0 con una solución de NaOH. (Disolver 24 g de NaOH en 100 ml de agua destilada)

- **Medición de la actividad antioxidante**

Se realizó una prueba preliminar de la actividad antioxidante total de los extractos puros. Para ello se preparó un blanco, el tubo control, el blanco de muestra y una muestra. Se incubó a temperatura ambiente por 30 min, en oscuridad. Se leyó la absorbancia del extracto a 517 nm. y se

calculó el porcentaje de disminución de la absorbancia causada por el extracto. Con este resultado se estableció las diluciones de trabajo.

Se rotuló los tubos de ensayo y se midió las cantidades de los reactivos que se indican en la tabla No. 4.2.

Para cada muestra se realizó un blanco de muestra, y se trabajó las muestras por duplicado. Se repitió el ensayo con diluciones de extracto de 1:5, 2:5, 3:5 y 4:5. Las diluciones se realizaron con metanol absoluto grado reactivo. Luego de haber medido las sustancias anteriormente descritas, se agitó en un Vortex por 30 seg. Luego se incubó a temperatura ambiente por 30 min, protegiéndolas de la luz. Posteriormente se realizó la medición de absorbancia en espectrofotómetro a 517 nm contra el blanco respectivo.

Se calculó por el porcentaje de disminución de la absorbancia causado por el extracto como se indica a continuación:

$$\% \text{ Disminución} = \frac{\text{absorbancia del control} - \text{absorbancia de la muestra}}{\text{Absorbancia del control}}$$

Tabla No. 4.2: Cantidades necesarias para la medición de la capacidad antioxidante

	Blanco control	Control	Blanco ensayo	Ensayo
Buffer de acetatos	1 ml	1 ml	1 ml	1 ml
Metanol	2 ml	1.5 ml	1.9 ml	1.4 ml
Solución de DPPH		0.5 ml		0.5 ml
Muestra			0.1 ml	0.1 ml

Tabla No. 4.3: Diluciones de extracto que se realizarán

Extracto	Metanol	Dilución
1	4	0.2
2	3	0.4
3	2	0.6
4	1	0.8
5	0	1.0

Nota: A la absorbancia del control se restó la absorbancia del blanco, así como las muestras se restó la absorbancia del blanco de muestra. Los valores a obtener se colocaron en la fórmula.

Se elaboró una gráfica con la concentración del extracto en el eje x y la disminución de la absorbancia en el eje Y. Luego se interpoó la concentración de inhibición al 50 % (IC₅₀).

○ **Preparación de la curva de lectura**

Se realizó una serie de diluciones del extracto como se indica en la tabla No.4.3, conservando siempre las mismas proporciones

Las mediciones de cada una de estas diluciones se realizaron siguiendo el paso anterior en el que se citó como se preparan los tubos de reacción. Cada dilución corresponde a una muestra. Se realizó cada uno de los ensayos de las diluciones por duplicado.

○ **Registro de los resultados de la curva y cálculo del porcentaje de inhibición de la absorbancia**

Los valores obtenidos de la curva se registraron en base como se indicó en la tabla No. 4.4.

En la casilla promedio de absorbancias, se estimó la medida de la absorbancia 1 y 2. Para calcular el porcentaje de inhibición de la concentración se utilizó la siguiente fórmula:

$$\frac{\text{Absorbancia de control} - \text{absorbancia de la dilución}}{\text{Absorbancia del control}} * 100 = \%$$

Tabla No. 4.4: Registro de Mediciones

Dilución o control	Medición de absorbancia 1	Medición de absorbancia 2	Promedio de absorbancia	Porcentaje de inhibición de la concentración
Control				
1+4 (0.2)				
2+3 (0.4)				
3+2 (0.6)				
4+1 (0.8)				
5+0 (1.0)				

- **Cálculo de la concentración de la materia seca vegetal**

Se determinó el peso de la planta en fresco, peso seco y el volumen final del extracto obtenido. Luego de obtener todos estos datos se determinó la concentración de materia seca vegetal utilizando la siguiente fórmula:

$$\frac{\text{Peso en fresco} * \text{Peso seco}}{\text{Volumen final}} = \text{g/ml} * 1000 = \text{mg/ml}$$

- **Cálculo de la concentración de inhibición al 50% (IC₅₀)**

Los datos que se utilizaron para el cálculo de la regresión lineal se encuentran en la tabla No. 4.5.

La concentración de materia vegetal inicial que corresponde a la casilla de la dilución 1.0 debe se determinó mediante el peso de la planta, peso seco y volumen total del extracto como se citó anteriormente.

Se multiplicó el resultado colocando en la casilla anteriormente mencionada por la dilución siguiente inferior para calcular la

concentración de materia seca vegetal. Se realizó el mismo ejercicio con el resto de las casillas.

Tabla No. 4.5: Datos que se utilizaran para regresión lineal

Dilución	Porcentaje de inhibición de la concentración	Concentración de materia seca vegetal
1.0		
0.8		
0.6		
0.4		
0.2		

Luego se realizó la regresión lineal de los datos graficando en el eje de las abscisas (y) y el porcentaje de inhibición de la concentración y en el eje de las ordenadas (x) la concentración de la materia seca vegetal.

De la fórmula de la ecuación de la línea recta: $y = mx + b$, se despejó "x" cuando "y" es igual a 50, este fue el resultado de IC_{50} .

(18)

7.4.4. Utilización de los extractos obtenidos en formulaciones cosméticas:

- **Formulación de emulsión cosmética:**

Se formuló una emulsión cosmética tipo O/W y una W/O.

Tipo de producto cosmético: crema.

- **Cantidad de Antioxidante a agregar**

Se agregaron 12 ml de extracto de fresa y 10 ml de extracto de mora, cantidad calculada por medio de los datos obtenidos de la capacidad antioxidante total de los mismos y del control positivo, el BHT.

Límite de BTH en formulaciones cosméticas: 0.01 – 0.1 % (4)

- **Pruebas en cremas**

- **Muestra**

- Se colocó la muestra en tarros plásticos de 100 g de capacidad. Los recipientes estaban limpios, tenían una tapa que garantizó un buen cierre evitando pérdida de gases o vapor para el medio.
 - En el momento del envasado no se completó el volumen total del recipiente. Esto permitió un espacio vacío de aproximadamente un tercio de la capacidad del frasco para posibles intercambios gaseosos.

- **Parámetros evaluados durante el tiempo de estudio:**

- Parámetros Organolépticos: aspecto y color.
 - Parámetros Físico-Químicos: Monitoreo de la oxidación de los componentes grasos del producto (índice de peróxidos).

- **Condiciones que fueron sometidas las muestras:**

- Incubadora (37°C)
 - Temperatura Ambiente (15-30°C)

- **Índice de Peróxidos**

Se llenó previamente los matraces con cuello y tapón esmerilados secos con gas inerte puro y seco (nitrógeno o, preferiblemente, dióxido de carbono).

Procedimiento: Las mediciones del índice de peróxidos fueron realizadas cada 7 días, durante 6 semanas. El ensayo se realizó con luz natural difusa o con luz artificial. Se pesó con precisión en 5 g de muestra en un matraz con cuello y tapón esmerilados, de 250 ml de capacidad aproximadamente, previamente secado y lleno de gas inerte puro y seco (nitrógeno o, preferiblemente, dióxido de carbono). Se añadieron 5 ml de cloroformo. Se disolvió rápidamente la muestra problema mediante agitación. Se añadió

7.5 ml de ácido acético y, a posteriormente, 0.5 ml (10 gotas) de solución de yoduro potásico. Se cerró rápidamente el matraz, y se mantuvo en la oscuridad durante 5 minutos exactamente, a una temperatura comprendida entre 15 y 25°C., se agitó durante 1 minuto y se agregó 37.5 ml de agua destilada. Se valoró (se agitó al mismo tiempo vigorosamente) el yodo liberado con la solución de tiosulfato sódico utilizando la solución de almidón como indicador (0.125 ml = 2.5 gotas). Se efectuó tres determinaciones por muestra. Se realizó simultáneamente un ensayo en blanco (sin aceite). Si el resultado del ensayo en blanco sobrepasó 0,05 ml de la solución de tiosulfato sódico 0,01N, se sustituyó los reactivos.

Expresión de los Resultados: El índice de peróxidos (I.P.), expresado en miliequivalentes de oxígeno activo por kg de grasa se calculó mediante la fórmula siguiente:

$$IP = \frac{V \times N \times 1000}{P}$$

siendo:

V: ml de solución valorada de tiosulfato sódico empleados en el ensayo, convenientemente corregidos para tener en cuenta el ensayo en blanco (resta de ml tiosulfato de la muestra y ml tiosulfato usado en blanco)

N: normalidad exacta de la solución de tiosulfato sódico empleada.

P: peso, en gramos de la muestra problema.

El resultado fue la media aritmética de las tres determinaciones efectuadas (20).

7.4.5. Análisis Estadístico

La fase oleosa de una emulsión cosmética puede oxidarse, por ello se debe de agregar un antioxidante químico como el Butilhidroxitouelo (BHT).

En este estudio se prepararon emulsiones cosméticas tipo emulsión (crema agua/aceite y crema aceite/agua), a las cuales se les agregó los extractos frutales en estudio, para evitar la oxidación de la fase oleosa como alternativa al antioxidante químico BHT.

El índice de peróxidos es una medida química del grado de oxidación de lípidos. Esto se utilizó para evaluar el grado de oxidación de la fase oleosa en emulsiones cosméticas.

Diseño metodológico: Experimental (totalmente al azar con mediciones repetidas)

Factores utilizados:

- Tratamientos: Emulsiones cosméticas con 3 tipos de antioxidantes de fuente frutal (extracto de fresa, extracto de mora y mezcla de extracto de fresa y mora), además de un control positivo (BHT) y un control negativo (fórmula sin antioxidante).
- Tipo de emulsiones: 2 formulaciones cosméticas tipo emulsión (crema agua en aceite (w/o) y crema aceite en agua (o/w))
- Temperatura de almacenamiento: 2 temperaturas (temperatura ambiente (15-30°C) y 37°C)

Los factores estudiados representan 6 preparaciones experimentales distintas (3 emulsiones cosméticas tipo w/o y 3 emulsiones cosméticas tipo O/W), 2 controles positivos y 2 controles negativos, en total son 10. De cada preparación se realizó 4 repeticiones (4 tarros). Dos tarros de cada preparación se almacenaron a temperatura ambiente y dos a 37-40 °C. De cada tarro se tomó una alícuota una vez por semana, a la cual se le midió el índice de peróxidos, las determinaciones se hicieron por duplicado. Las mediciones se realizaron hasta que se cumplió con 6 semanas de estudio.

Análisis

- Se realizó un análisis cinético para cada preparación almacenada en estudio (temperatura ambiente (15-30 °C) y 37-40 °C), representado gráficamente las variables de índice de peróxidos en el eje de las ordenadas y el tiempo en el eje de las abscisas, en una gráfica de dispersión para evaluar la tendencia de los datos. Cada gráfica realizada se evaluó por medio del análisis descriptivo debido a que no se pudo realizar el análisis de regresión, con o sin transformación a logaritmo, según se observó las tendencias en el diagrama de dispersión, ya que las gráficas no siguieron un modelo estadístico definido.
- Se compararon los modelos de las preparaciones con extractos frutales contra el modelo del control positivo por medio de pruebas de hipótesis sobre la pendiente y el intercepto.

$H_0 = \text{Preparación con extracto frutal} = \text{Preparación control.}$

Además se realizó un análisis multifactorial con los resultados obtenidos durante las seis semanas de medición utilizando una matriz de datos de la siguiente manera: 5 fuentes de antioxidante (incluye a 2 extractos frutales, 1 mezcla, control positivo, control negativo), 2 tipos de preparación (emulsión agua/aceite y emulsión aceite/agua) y 2 temperaturas de almacenamiento (temperatura ambiente 15-30°C y 37°C), esto corresponde a un diseño factorial 5 x 2 x 2. La producción se realizó por duplicado (2 tarros) y se midió el índice de peróxidos por duplicado, dando n=4 por tratamiento.

8. RESULTADOS

Previo al estudio se realizó una investigación, en la cual se escogió 4 frutas de un total de 31 (ver Anexo 2 y 3). Las frutas seleccionadas fueron: mamey (*Mammea americana* L), guayaba (*Psidium guajava*), fresa (*Fragaria chiloensis*), y mora (*Rubus glaucus*).

Posteriormente se realizaron extractos etanólicos de las 4 frutas seleccionadas por triplicado. El volumen total en ml de los extractos de las frutas varió, siendo la fresa con el menor volumen, 85.5 ml; y la guayaba con el mayor volumen, 300 ml. La concentración de los extractos frutales se obtuvo con el peso de la fruta inicial (g) y el volumen final de los extractos. Al obtener los extractos finales se procedió a determinar la capacidad antioxidante (IC₅₀).

Tabla No. 8.1.: Extractos etanólicos de las frutas seleccionadas, pruebas preliminares a selección definitiva.

Fruta	Peso fruta (g)	A	B	C (ml)	[] (g/mL)
Guayaba	10,21	3	8	300	0,03
Mamey	10,11	3	11	225	0,04
Fresa	10,11	3	3	85,5	0,11
Mora	10,18	3	8	184	0,05

Fuente: Datos experimentales

A= No. de repeticiones de extracciones

B= No. De Extracciones en serie de cada repetición

C= Promedio del volumen final del extracto etanólico.

[]= Concentración

El método utilizado para determinar la capacidad antioxidante total (IC₅₀) fue el del 1,1-difenil-2-picrilhidrazilo (DPPH). En este se determina la cantidad de antioxidante que neutraliza la mitad del radical libre DPPH, por lo que un valor pequeño de IC₅₀ significa una alta capacidad antioxidante (30).

Los extractos de las frutas fueron comparados con el BHT con respecto a su actividad antioxidante, siendo el BHT 35 veces más potente que el extracto de fresa, y 28, que el extracto de mora. Este dato permitió determinar la cantidad de fruta que se utilizó en las preparaciones cosméticas tipo emulsión.

Tabla No. 8.2.: Capacidad Antioxidante Total de los extractos frutales y antioxidante químico (BHT).

	IC ₅₀ (mg fruta seca)	Potencia del BHT
BHT	0.018	--
Extracto fresa	0.625	35
Extracto mora	0.499	28

Fuente: Datos experimentales

Los extractos frutales (extracto fresa, extracto de mora y extracto de fresa-mora) fueron incorporados a dos distintas formulaciones de emulsiones cosméticas (O/W y W/O), en este caso cremas (ver Anexo No. 4). Estas fueron formuladas y preparadas por los investigadores.

Los cambios en la coloración de las emulsiones de la formula O/W y de la formula W/O, a temperatura ambiente y a temperatura de 37-40 °C se muestran en la tabla 8.3. Los cambios de color observables fueron disminución en la tonalidad de los mismos.

Tabla No. 8.3.: Coloración de cremas cosméticas formuladas

Temperatura	Fórmula	Variación de color		Tarros descartados	Semana del descarte
Ambiente (15 – 20 °C)	Crema Emulsión O/W	Control negativo	Sin variación	0	--
		Control positivo	Sin variación	0	--
		Extracto fresa	Disminución de intensidad	0	--
		Extracto de mora	Disminución de intensidad	0	--
		Extracto de fresa y mora	Disminución de intensidad	0	--
	Crema Emulsión (W/O)	Control negativo	Sin variación	0	--
		Control positivo	Sin variación	0	--
		Extracto fresa	Disminución de intensidad	0	--
		Extracto de mora	Disminución de intensidad	4	Segunda
		Extracto de fresa y mora	Disminución de intensidad	0	--
Temperatura 37-40°C	Crema Emulsión (O/W)	Control negativo	Sin variación	0	--
		Control positivo	Sin variación	0	--
		Extracto fresa	Disminución de intensidad	0	--
		Extracto de mora	Disminución de intensidad	0	--
		Extracto de fresa y mora	Disminución de intensidad	0	--
	Crema Emulsión (W/O)	Control negativo	Sin variación	0	--
		Control positivo	Sin variación	0	--
		Extracto fresa	Disminución de intensidad	0	--
		Extracto de mora	Disminución de intensidad	4	Segunda
		Extracto de fresa y mora	Disminución de intensidad	4	2 tarros en la Segunda, 2 tarros en la Quinta.

Fuente: Datos experimentales

El método de índice de peróxidos (IP) determina la cantidad de compuestos intermedios formados en las reacciones de oxidación, por lo que se utilizó para determinar el estado de oxidación de la fase oleosa de las emulsiones cosméticas (W/O y O/W) a las cuales se les incorporó los extractos en estudio (fresa, mora, combinación fresa mora) y a los controles positivo (BHT) y negativo. Este parámetro se evaluó a dos temperaturas: ambiente y a 37-40°C.

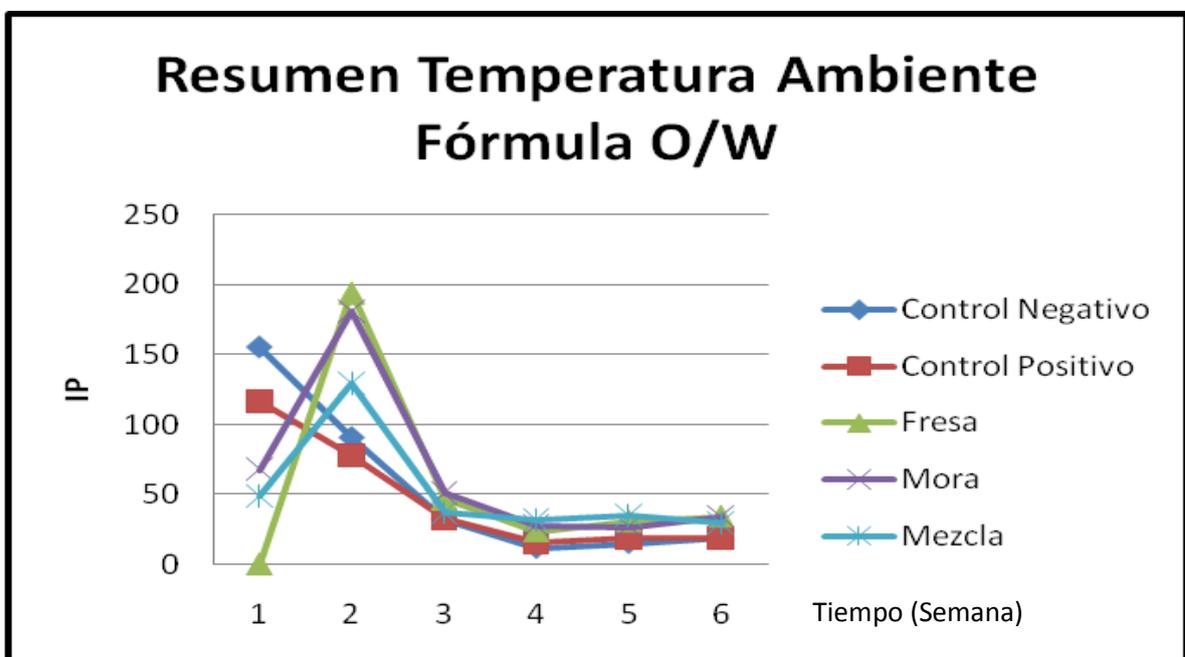
A continuación se muestran los resultados del índice de peróxidos en donde se graficó el índice de peróxidos en meq O₂/Kg de grasa, en función del tiempo en semanas. Se encontró que el comportamiento de las muestras fue un modelo matemático no definido (ver tablas de la 8.4 a la 8.7).

Tabla No. 8.4.: Determinación del índice de peróxidos (IP) en meq O₂/Kg de grasa en función del tiempo en semanas de la fórmula O/W a temperatura ambiente

IP Temperatura Ambiente					
Tiempo (Semana)	Control Negativo	Control Positivo	Fresa	Mora	Mezcla
1	155	116	0	68	48
2	91	78	194	181	129
3	32	32	46	51	37
4	12	16	24	28	32
5	15	19	31	27	35
6	19	19	34	34	29

Fuente: Datos Experimentales

Gráfica 8.1.: Determinación del Índice de Peróxidos (IP) en meq O₂/Kg de grasa en función del tiempo en semanas de la fórmula O/W a temperatura ambiente



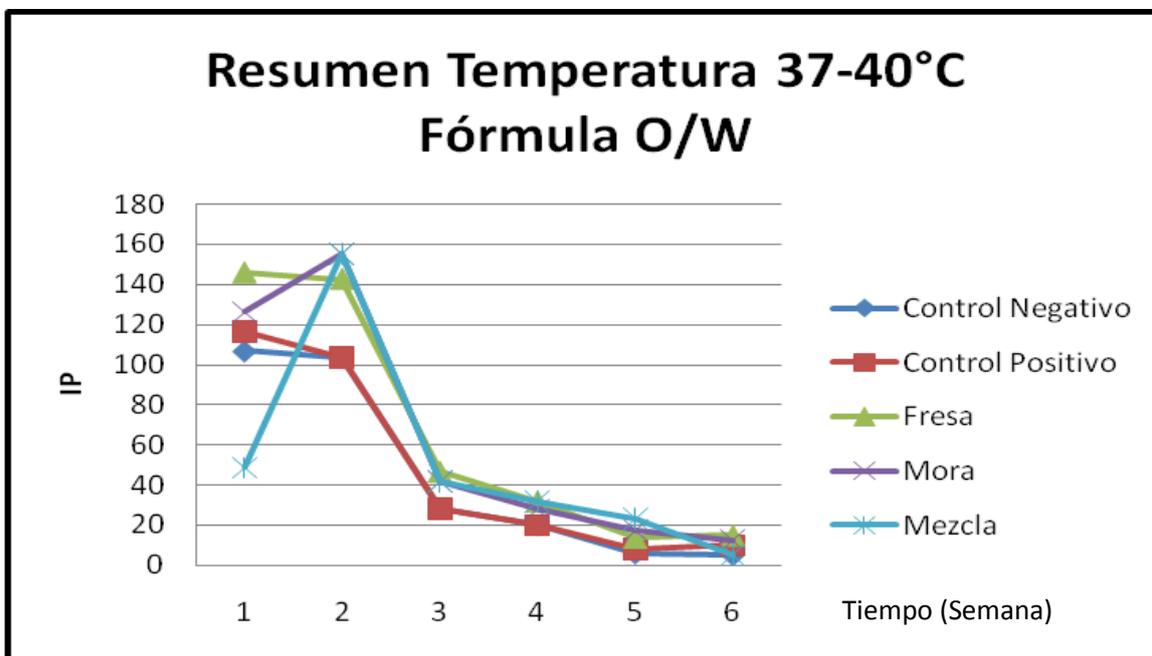
Fuente: Datos Experimentales

Tabla No. 8.5.: Determinación del Índice de Peróxidos (IP) en meq O₂/Kg de grasa en función del tiempo en semanas de la fórmula O/W a temperatura 37-40°C

IP Temperatura 37-40°C					
Tiempo (Semana)	Control		Fresa	Mora	Mezcla
	Negativo	Positivo			
1	107	116	146	126	48
2	104	104	142	155	155
3	28	28	46	42	42
4	20	20	32	28	32
5	6	8	13	17	23
6	5	10	15	12	5

Fuente: Datos Experimentales

Gráfica 8.2.: Determinación del Índice de Peróxidos (IP) en meq O₂/Kg de grasa en función del tiempo en semanas de la fórmula O/W a temperatura 37-40°C



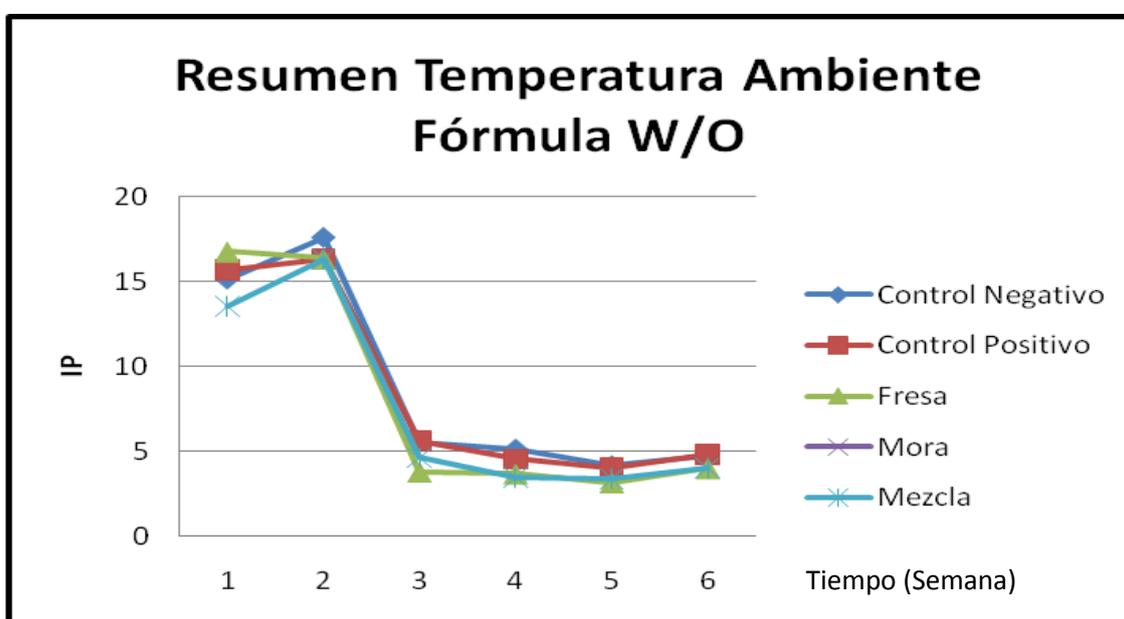
Fuente: Datos Experimentales

Tabla No. 8.6.: Determinación del Índice de Peróxidos (IP) en meq O₂/Kg de grasa en función del tiempo en semanas de la fórmula W/O a temperatura ambiente

IP Temperatura Ambiente					
No. Medición	Control Negativo	Control Positivo	Fresa	Mora	Mezcla
1	15	16	17	-	13
2	17	16	16	-	16
3	5	5	4	-	4
4	5	4	4	-	3
5	4	4	3	-	3
6	5	5	4	-	4

Fuente: Datos Experimentales

Gráfica 8.3.: Determinación del Índice de Peróxidos (IP) en meq O₂/Kg de grasa en función del tiempo en semanas de la fórmula W/O a temperatura ambiente



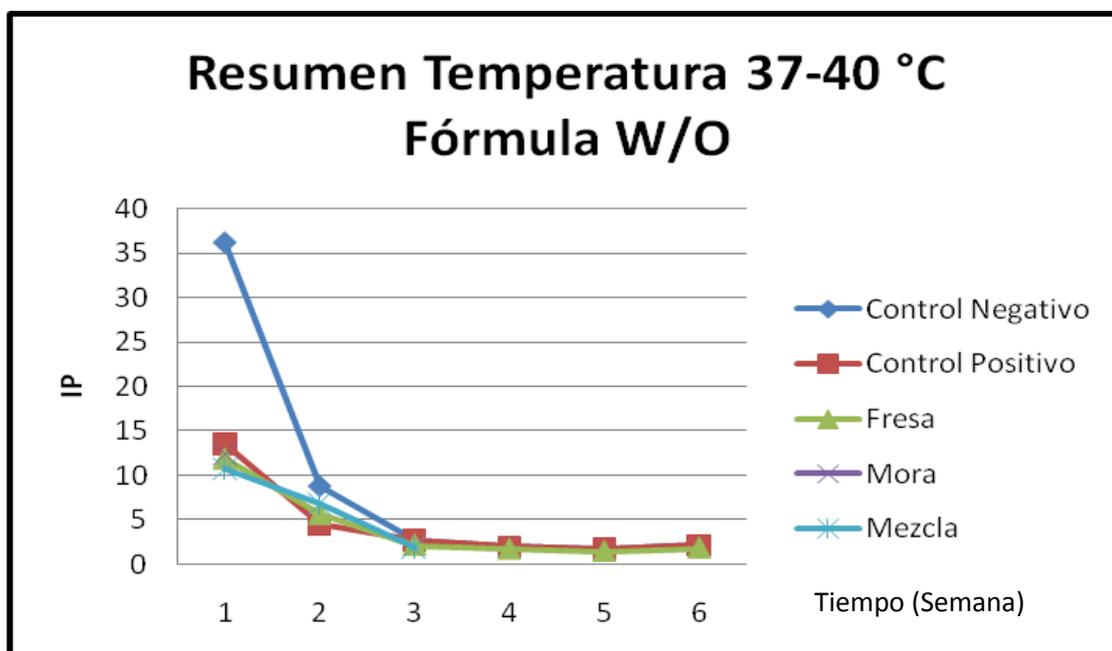
Fuente: Datos Experimentales

Tabla No. 8.7.: Determinación del Índice de Peróxidos (IP) en meq O₂/Kg de grasa en función del tiempo en semanas de la fórmula W/O a temperatura 37-40°C

IP Temperatura 37-40°C					
No.	Control Negativo	Control Positivo	Fresa	Mora	Mezcla
1	36	13	12	12	11
2	9	4	6	-	7
3	3	3	2	-	2
4	2	2	2	-	-
5	2	2	1	-	-
6	2	2	2	-	-

Fuente: Datos Experimentales

Gráfica 8.4.: Determinación del Índice de Peróxidos (IP) en meq O₂/Kg de grasa en función del tiempo en semanas de la fórmula W/O a temperatura 37-40°C



Fuente: Datos Experimentales

9. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

El principal objetivo de la investigación fue la evaluación de la efectividad de los extractos frutales como alternativa a los antioxidantes sintéticos en preparaciones cosméticas tipo emulsión. Las frutas brindan una excelente alternativa para ser utilizadas en la industria cosmética por poseer grandes cantidades de antioxidantes (antocianinas y flavonoides) dentro de su composición. Por lo tanto, brindan una oportunidad de explotar los frutos disponibles en el país obteniendo materias primas naturales para ser utilizadas en la elaboración de cosméticos.

Previo al estudio se realizó una investigación en donde se seleccionaron 4 frutas de un total de 31 (ver anexo No. 2), las cuales poseían un elevado potencial como antioxidante. Los parámetros tomados en cuenta para la selección fueron la época de cosecha, costo y disponibilidad de adquisición. Las frutas cumplieron con dichos criterios ya que se encontraron disponibles durante los meses mayo a julio en el Mercado La Florida y los precios no excedieron los Q.10.00 por unidad o libra de fruta (ver Anexo 3). Las frutas seleccionadas fueron: fresa, mora, guayaba y mamey.

Luego se procedió a realizar extractos etanólicos de las frutas seleccionadas obteniéndose entre 86 y 300 ml de extracto (ver tabla 8.1). Los extractos fueron protegidos de la luz y del oxígeno para controlar la oxidación y descomposición de los compuestos antioxidantes.

Posteriormente, se les evaluó la capacidad antioxidante total (IC_{50}) lo que indicó que las frutas con mayor potencial eran la fresa y la mora en comparación con la guayaba y el mamey. Éstos últimos tenían poca cantidad de compuestos antioxidantes por lo que fue necesario concentrarlos para obtener el IC_{50} con el procedimiento planteado. La concentración de los extractos representa un problema, debido a que es necesaria la saturación con nitrógeno gaseoso para evitar que el extracto se exponga al oxígeno, y dejar que el etanol se evapore; lo cual conlleva a una inversión de tiempo y costos. Por lo tanto, dichas frutas fueron eliminadas del estudio.

Conocer el volumen final de los extractos etanólicos fue de suma importancia para conocer la concentración y posteriormente realizar los cálculos pertinentes para comparar la potencia de éstos con el BHT (estándar).

El BHT mostró IC_{50} de 0.018 mg, mientras que el extracto de fresa mostró un valor de 0.625 mg y el de mora, 0.499 mg ambos de fruta seca. Por ello el BHT fue 35 y 28 veces más potente, que el extracto de fresa y extracto de mora, respectivamente (ver tabla 8.2). Con los datos anteriores se realizó los cálculos respectivos y se determinó que era necesario agregar 12 ml del extracto de fresa que corresponden a 1.75 mg de fruta seca y 10 ml del extracto de mora que corresponden a 1.40 mg de fruta seca, a las formulaciones cosméticas (tarros de 100 g) para que ejercieran el mismo efecto del BHT al 0.05% de la formulación total.

Los extractos frutales fueron incorporados en las formulaciones cosméticas. Adicionalmente a la utilización de los extractos de fresa y mora, se realizó una mezcla de los mismos para evaluar un posible sinergismo.

Para utilizar la cantidad necesaria de extracto y equiparar la potencia del BHT fue necesario hacer uso del rotavapor, en donde se encontró una limitante, la eliminación de la mezcla azeotrópica etanol/agua, ya que la temperatura utilizada no sobrepasó los 50 °C. Esta mezcla se formó debido a que las frutas poseen en su composición entre el 80-95% de agua y la cantidad de etanol utilizada en las extracciones. El pequeño porcentaje de agua presente en los extractos finales pudo afectar el proceso de oxidación en las formulaciones cosméticas ya que ésta posee una estructura tetraédrica irregular en donde el oxígeno se sitúa en el centro, lo que favoreció el contacto con la fase oleosa y con ello se aceleró el proceso de oxidación. Una alternativa a la técnica del rotavapor puede ser el uso de la técnica del liofilizado para evitar éstas complicaciones.

Se formularon dos tipos de emulsiones (W/O y O/W) (ver anexo No. 4), de las cuales se obtuvieron 5 muestras de cada una, estas fueron: control negativo

(sin antioxidante), control positivo (BHT), con extracto de fresa, con extracto de mora y mezcla de fresa-mora. Las muestras se expusieron a distintas temperaturas: ambiente y 37- 40 °C.

A las formulaciones cosméticas se les evaluó las características organolépticas, color y olor. El olor de las muestras que contenían los extractos fue agradable, y el de los controles fue inodoro. La intensidad del color varió en el transcurso del tiempo en aquellas muestras en donde se incorporaron los extractos frutales, presentando una disminución (ver tabla No. 8.3). La razón de ello es el contenido de antocianinas, las cuales se degradan al ser expuestas a la luz. En base a las propiedades organolépticas evaluadas no se recomienda el uso del extracto de mora y mezcla de fresa-mora para una formulación cosmética tipo emulsión por presentar colores en la gama de verde oscuro y café, siendo estos desagradables a la vista.

Las formulaciones cosméticas preparadas presentaron una estabilidad física observable al inicio. Las preparaciones a las que se les agregó extracto de mora y algunas con mezcla de fresa-mora presentaron separación de fases en el transcurso del tiempo por lo cual se descartaron 12 tarros de un total de 40 (ver tabla No. 8.3). Al separarse los componentes acuosos y oleosos, el antioxidante experimental que fue el extracto frutal, ya no estuvo disperso uniformemente en la formulación, y por lo tanto su función fue afectada. Esto afirma que no es aconsejable el uso del extracto de mora en las formulaciones cosméticas tipo emulsión.

El método de índice de peróxidos fue utilizado para determinar el estado de oxidación de las grasas en las formulaciones cosméticas. Éste es útil para determinar el proceso de oxidación en la fase inicial, en donde los valores del índice de peróxidos aumentarán proporcionalmente. Para las fases de propagación y terminación los peróxidos se transforman en compuesta más estables como aldehídos y cetonas los cuales no son detectables con este método. No se realizó una estandarización del método por ser de uso rutinario en estudios similares de evaluación de la propiedad antioxidante.

Se realizaron equivalencias de los datos de índice de peróxidos obtenidos ya que el método especifica que debía pesarse 2.5 g. de grasa y en los ensayos realizados se pesó 2.5 g. de muestra para ambas formulaciones (W/O y OW/), lo que equivale a 0.0625 g. de grasa en la formulación W/O y 1.15 g. de grasa en la formulación OW.

A los resultados de las gráficas de las muestras y controles (Ver gráfica 8.1, 8.2, 8.3 y 8.4) se les realizó un estudio estadístico y se estableció que ninguno seguía un modelo matemático. Por lo que fue necesario realizar un análisis multifactorial para determinar la diferencia entre la primera y última semana de medición del índice de peróxidos.

En la fórmula OW (ver gráfica 8.1 y 8.2), los controles positivo y negativo presentaron un comportamiento similar entre sí. Puesto que el control negativo no posee ningún antioxidante, el comportamiento debió ser distinto al control positivo en el cual se retrasa el proceso oxidativo por la presencia del antioxidante sintético (BHT). Dicho comportamiento pudo deberse a la descomposición del BHT por la exposición a la luz y calor. También se observa que durante las primeras dos semanas los controles se encuentran en la fase de terminación de la oxidación, mientras que las fórmulas que contienen los extractos se encuentran en la fase de iniciación y propagación. De la segunda semana a la sexta semana las fórmulas que contienen los extractos se encuentran en la fase de terminación, lo que indicó que los extractos retrasan el proceso de oxidación de las formulaciones cosméticas y poseen el mismo comportamiento. La formulación que contenía la mezcla del extracto fresa-mora alcanzó un índice de peróxidos menor a las demás muestras lo cual se pudo deber a un posible sinergismo al combinar estos extractos.

En la fórmula W/O se observó que a temperatura ambiente tanto las muestras como los controles tuvieron la misma tendencia; y a una temperatura comprendida entre 37-40 °C solamente el control negativo se desvió. En las gráficas 8.3 y 8.4 se observó que todas las muestras se encuentran en la etapa de terminación de la oxidación lo cual se debe a que en esta fórmula los

antioxidantes debían proteger una mayor proporción de grasa en comparación con la fórmula O/W.

Al realizar un análisis de varianza de 4 factores (fórmula, temperatura, extracto y tiempo) se observó que existió una diferencia significativa ($p < 0.00001$) entre los valores del índice de peróxidos en donde la fórmula W/O mostró valores menores a los de la fórmula O/W. Esto se debió a que las etapas de oxidación en ambas fórmulas fue distinta, además que la proporción de grasa fue mayor en la fórmula W/O. Se puede concluir que el retraso de oxidación en la fórmula O/W fue mayor. Además el análisis mostró que no existe diferencia significativa ($p = 0.3048$) entre los valores del índice de peróxidos de temperatura ambiente y $37 - 40$ °C debido a que muestran la misma tendencia en las gráficas.

Se pudo observar (ver gráfica 8.2 y 8.4) que el factor temperatura puede acelerar el proceso de oxidación mostrando valores de índice de peróxidos más cercanos a la fase de terminación.

Con lo anterior se puede inferir que los extractos frutales retrasan el proceso de oxidación en formulaciones cosméticas tipo emulsión, por lo que poseen un alto potencial para ser utilizados. Sin embargo, no se puede obtener conclusiones definitivas sobre la efectividad de los mismos debido a que el método del índice de peróxidos no mostró la sensibilidad requerida para este estudio. Se recomienda continuar con estudios acerca de la propiedad antioxidante del extracto de fresa y mezcla de fresa-mora, los cuales mostraron mejores resultados para ser utilizado en emulsiones cosméticas.

10. CONCLUSIONES

- 10.1 La fresa y la mora son frutas disponibles en el país con potencial para ser utilizadas como alternativa a antioxidantes sintéticos en preparaciones cosméticas tipo emulsión por presentar un IC_{50} de 0.625 mg de fruta seca y el de mora de 0.499 mg de fruta seca , siendo 35 y 28 veces más potente el BHT.
- 10.2 El método del índice de peróxidos es útil para medir únicamente la fase de iniciación del proceso oxidativo.
- 10.3 El extracto de fresa y la mezcla de fresa-mora retrasaron el proceso de oxidación en formulaciones cosméticas tipo emulsión, por lo que poseen un alto potencial para ser utilizados por sus propiedades organolépticas, actividad antioxidantes y estabilidad.
- 10.4 El extracto de mora no es estable en las preparaciones cosméticas tipo emulsión por mostrar separación de fases, por lo que fue descartado del estudio.
- 10.5 El tipo de preparación influye en el proceso de oxidación, ya que en la fórmula O/W el retraso fue mayor en comparación a la de W/O, además que en ésta última los antioxidantes debían de proteger una mayor proporción de grasa; por lo que la fase de terminación fue más rápida puesto que el proceso de oxidación se aceleró.
- 10.6 La temperatura aceleró el proceso de oxidación de la fase oleosa de las formulaciones cosméticas; lo que disminuyó el efecto protector de los extractos frutales en las preparaciones cosméticas.

10.7 El extracto de fresa y la mezcla fresa – mora poseen el mayor potencial para ser utilizados como antioxidantes en preparaciones cosméticas tipo emulsión por retrasar el proceso de oxidación de las grasas y por presentar una estabilidad física observable al incorporarlo a las formulaciones.

11. RECOMENDACIONES

- 11.1 Realizar más estudios acerca de la efectividad de los extractos, en donde el extracto sea liofilizado para ser incorporado a las preparaciones cosméticas tipo emulsión.
- 11.2 Realizar más estudios en donde se utilice el límite superior e inferior del intervalo permitido de BHT en preparaciones cosméticas, lo cual permitiría una mejor comparación con la actividad de los extractos.
- 11.3 El método de índice de peróxidos no tiene la sensibilidad requerida para determinar la oxidación de la fase oleosa de una emulsión cosmética en las fases de propagación y terminación; por lo que es recomendable medir el índice de peróxidos con el método Active Oxygen Method (AOM) debido a que permite medir índice de peróxidos hasta de 100 meq O₂/kg de grasa en tiempo acelerado lo que economizaría tiempo y costos.
- 11.4 Realizar los cálculos respectivos para que en el desarrollo del método de índice de peróxidos se pesen 2.5 g. de grasa y no de muestra.

12. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Carrasco F. 2005. Diccionario de Ingredientes Cosméticos. 3er. Edición. Málaga. Versión online disponible en: http://www.imagenpersonal.com/nov/dic_muestra_web_3_ed.pdf.
2. Genaro Alfonso R. 2003. Remington Farmacia 20 ed. Editorial médica Panamericana. Argentina.
3. Olivia A. Y Santovena, A. 2008-2009. Prácticas De Tecnología Farmacéutica II. Curso académico 2008-2009. P. 30.
4. Harry PG. 2000. Harry's Cosmetology, 8th ed. New York Publishing Co., P. 966.
5. Villarreal A. 2004. Formulación de una nanoemulsión dermocosmética, nutritiva y regeneradora de la piel. 142 p. Tesis Maestría. Universidad De Los Andes, Facultad De Ciencias, Laboratorio De Espectroscopia Molecular Postgrado En Química Analítica (Pqa). Venezuela.
6. Zepeda M. Septiembre 17, 2008. Fitocosmética: las plantas y su aplicación en cosmética. Dossier. Disponible online en: <http://www.revistadossier.com/?p=191>.
7. M. Teresa Alcalde. 2007. Alimentos Usados en Formulaciones Cosméticas. Propiedades y Aplicaciones. Offarm (26):100-108.
8. Romero A. Et al. Eficiencia antioxidante de extractos fenólicos de soja fermentada. Facultad de Agroindustrias –UNNE.

9. Universidad Politécnica de Madrid. Etapas de Oxidación. Disponible online en: http://ocw.upm.es/tecnologia-de-alimentos/industria-alimentaria-y-su-repercusion-en-la-salud/contenidos/radicales_libres/tema_3.htm. Revisado Noviembre 2008.
10. Torres N. Noviembre 2002. Validación de metodología analítica para determinar la capacidad autooxidativa de materias primas utilizados en fase oleosa de emulsiones cosméticas. Tesis licenciatura en Química Farmacéutica. Universidad de San Carlos de Guatemala. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia).
11. The Merck Index. 1996. 12 Edición. Merck Research Laboratories Inc. EEUU. P. 1982, 506-5064.
12. Caballeros K. Junio 2001. Optimización de dos métodos para el tamizaje de la actividad antioxidante de extractos vegetales. 54 p. Tesis Licenciatura en Química biológica. Universidad de San Carlos de Guatemala. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia.
13. Téllez M. 2006. Determinación de las propiedades antioxidantes de seis vegetales comestibles autóctonos del departamento de Alta Verapaz. 50 p. Tesis licenciatura en Química Biológica. Universidad de San Carlos de Guatemala. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia.
14. Pharmaceutical Association. 1986. Handbook of pharmaceutical excipients. Estados Unidos. P. 369.
15. Bucarito K. Et al. Septiembre 2005. Composición química y compuestos bioactivos de las harinas de cáscaras de naranja (*Citrus sinensis*), mandarina (*Citrus reticulata*) y toronja (*Citrus paradisi*) cultivadas en Venezuela. *ALAN*. 55(3):305-310. Disponible online en: http://www.scielo.org.ve/scielo.php?pid=S0004-06222005000300013&script=sci_arttext.

- 16.** Murillo E. 2006. Actividad antioxidante «in vitro» de las bebidas de frutas. Universidad de Panamá. Instituto de Alimentación y Nutrición (IANUT). Laboratorio de Bioquímica de Alimentos y Nutrición. Disponible online en: <http://www.alfa-editores.com/bebidas/Junio-Julio%2006/Actividad.pdf?phpMyAdmin=alj69rg0MYWn18mTYfYRyPHZ2T4>. Revisado 27/01/2009.
- 17.** Valle K. 2006. Evaluación de la capacidad antioxidante del extracto de Romero (*Rosmarinus officinalis*) en aceite de girasol, maleato de aceite de soya, lanolina y manteca de cacao; utilizada en fase oleosa de emulsiones cosméticas. . Tesis licenciatura en Química Farmacéutica. Universidad de San Carlos de Guatemala. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia.
- 18.** Pineda A. 2005. Determinación de las propiedades antioxidantes de variedades de injerto (*Pouteria vidris*) que se cultivan en tres regiones de Guatemala. 52 p. Tesis licenciatura en Química Biológica. Universidad de San Carlos de Guatemala. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia.
- 19.** Barahona A. et al. 2002. Determinación de Actividad Antioxidante en Frutas Autóctonas Disponibles en los Principales Mercados de la Ciudad Capital de Guatemala. Revista Científica 15:41-44.
- 20.** Analíticos en Alimentaria: Métodos Oficiales de Análisis. Aceites y Grasas. Panreac Química S.A. 1999. Disponible online en: <http://www.usc.es/caa/MetAnalisisStgo1/aceites.pdf>.
- 21.** Anvisa. Serie de Calidad en Cosméticos. Agencia de Nacional de Vigilancia Sanitaria. Vol. 1. Mayo 2005. Brasil. Disponible en: www.anvisa.gov.br/esp/cosmeticos/guia_serie_tematica_cosmeticos_espanhol.pdf.

- 22.**Pascuali R. Seminario sobre Emulsiones. Cátedra de Farmacotecnia I. Facultad de Farmacia y Bioquímica. Universidad de Buenos Aires.
- 23.**Specifications for identity and purity and toxicological evaluation of some antimicrobials and antioxidants. Disponible en línea: <http://www.inchem.org/documents/jecfa/jecmono/v38aje02.htm>.
- 24.**Barcel A. et al. 2001. Handbook of Cosmetic Science and Technology. Editors Marcel Dekker. United States. P. 151-155.
- 25.**Aulton, M. 2004. Farmacia la ciencia del diseño de las formas farmacéuticas. 2ª. Edición. Elsevier. España. P. 93-99, 335-358.
- 26.**Thompson J. 2006. Práctica Contemporanea en Farmacia. Mc Graw Hill Interamericana. 2a. edición. México. P. 431-447.
- 27.**Activación Molecular de los antioxidantes. Consejo Superior de Investigaciones Científicas, Catalysis L.S. 2006. Disponible en: <http://www.granex.us/pdf/activacion.pdf>.
- 28.**Handbook of Pharmaceutical Excipients. 5th. Edition. 2006. P. 155-156, 467-470, 498-500, 629-631, 737-739, 794, 795, 819-820.
- 29.**Calderon, P. et al. Determinación de Actividad Antioxidante en Frutas Autóctonas Disponibles en los Principales Mercados de la Ciudad Capital de Guatemala. Revista Científica 2002; 15:41-44.
- 30.** Determinación de la actividad antioxidante total mediante el método de DPPH. Universidad de San Carlos de Guatemala. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. Departamento de Bioquímica. Agosto 2007.
- 31.**Valderrama, J. Información Tecnológica. Volumen 11, No. 1. 2000. Chile pagina 54

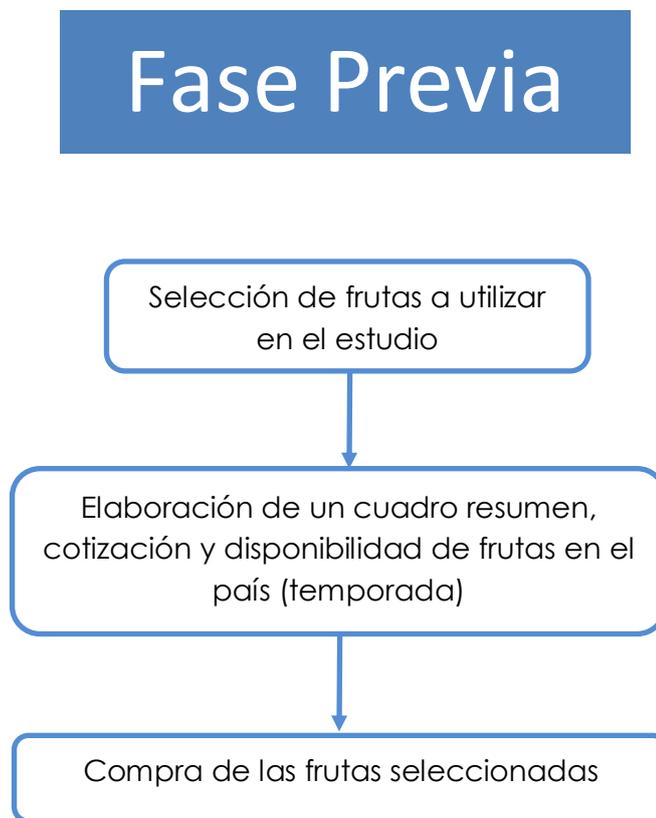
- 32.** Aceites y grasas industriales. Alton Bailey. Editorial reverté.s.a. 1984 741 paginas. Pp 41-43
- 33.** Bacal C, Van Beek E. Riesgo de Oxidación en los alimentos. Facultad Cs. Veterinarias U. Chile. Trademarks of Kemin Industries, Inc. USA 2005.
- 34.** N. Cubero, et.al. 2002. Tecnología de alimentos. Aditivos Alimentarios. Madrid. Disponible en http://books.google.com.gt/books?id=d_8WL8l-5ooC&printsec=frontcover#v=onepage&q=&f=false.

13. ANEXOS

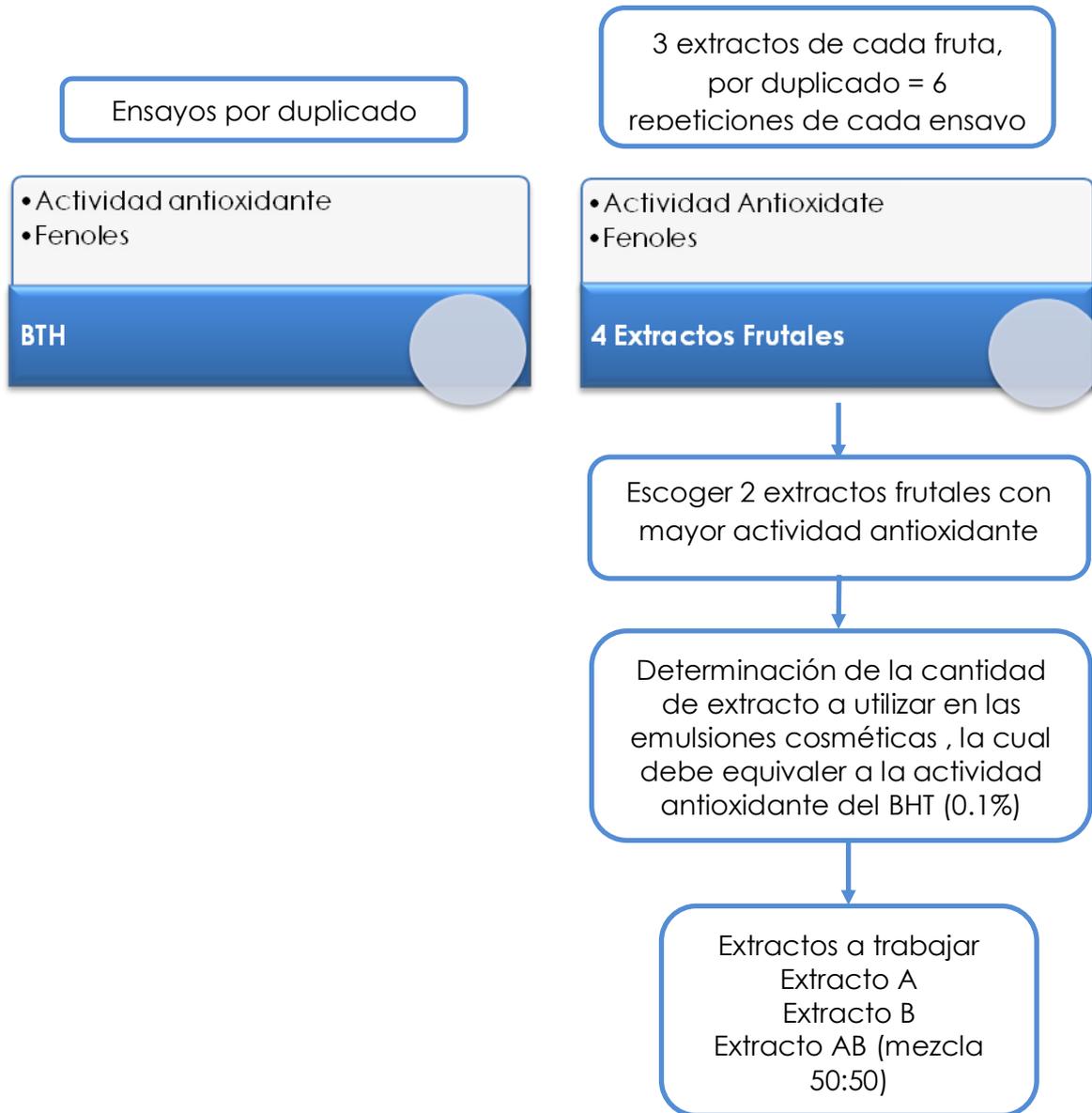
ANEXO No. 1: FASES DE LA INVESTIGACIÓN

DIAGRAMA INVESTIGACIÓN

Evaluación de la actividad antioxidante de extractos frutales en alternativa a antioxidantes sintéticos en preparaciones cosméticas tipo emulsión



Fase A



Fase B

Fórmula 1 (Crema Emulsión tipo agua en aceite (w/o))

Fórmula 2 (Crema Emulsión tipo aceite en agua (o/w))

Índice de peróxidos

Mediciones 1 vez por semana, en total se realizarán 5 mediciones (5 semanas)

Para cada ensayo se necesitan 5 g
2 tarros, de cada uno se hará el ensayo por triplicado = 15 g necesarios para cada medición, en total se necesitan 90 g de muestra para todo el análisis (tarros de 100 g de crema = 20 tarros en total en cada temperatura = 40 tarros en total (20 para la fórmula 1 y 20 tarros para fórmula 2)).

Cada día de medición se realizarán 24 titulaciones (12 para la fórmula 1 y 12 para la fórmula 2). Se realizarán las mediciones diarias, un extracto experimental por día.

- Crema control negativo
- Crema control positivo (BHT)
- Crema con extracto A
- Crema con extracto B
- Crema con extracto AB

T1 = Temp. ambiente

- Crema control negativo
- Crema control positivo (BHT)
- Crema con extracto A
- Crema con extracto B
- Crema con extracto AB

T2 = 37-40°C

ANEXO No. 2: CUADRO DE FRUTAS

Fruta	Nombre Científico	Actividad antioxidante total IC ₅₀ (mg)	Fenoles Totales	Vitamina C	Composición química pulpa	Temporada/ Disponible en mercados durante el año
Guinda	<i>Prunus cerasus</i>	1.8± 0.2 ⁽²⁾	448 ± 32 mg/100 g ⁽²⁾	No se reporta	Contiene compuestos ácidos como ácido cítrico, ácido málico y ácido, taninos, flavonoide, genisteína. ⁽⁶⁾ 30 mg calcio por 100 g de fruto, 264 mg potasio por 100 g de fruto, 0.4 mg hierro por 100 g de fruto, gran valor vitamínico en las del grupo B (ninguna fruta fresca posee tan alto contenido de vitaminas B1, B2 y B6), también es fuente de vitamina C y de pequeñas cantidades de vitamina A. ⁽⁸⁾	Junio-Julio Frutos: De abril a septiembre, su madurez se alcanza de septiembre a enero. ⁽⁷⁾
Chirimoya	<i>Annona cherimola</i>	2.4 ± 0.3 ⁽²⁾	401 ± 2 mg/100 g ⁽²⁾	Sí contiene	Tamizaje del fruto indica presencia de: polifenoles, taninos, terpenos, glicósidos esteroideos (cardenólicos, bufadienólicos, saponinas),	Sí, poco.
Guayaba	<i>Psidium guajava</i>	2.5 ± 0.6 ⁽²⁾	210 ± 28 mg/100 g ⁽²⁾ 83,0±1,3 mg/100 g ⁽³⁾	28,17 ± 2,18 mg/100 g ⁽⁹⁾		

Fruta	Nombre Científico	Actividad antioxidante total IC ₅₀ (mg)	Fenoles Totales	Vitamina C	Composición química pulpa	Temporada/ Disponible en mercados durante el año
Guanaba	<i>Annona muricata</i> L	2.1 ⁽¹⁾	108.1 Eq. Ac. Gal/g ⁽¹⁾	1.31 mg/g ⁽¹⁾	<p>antraquinonas.^(4:196)</p> <p>100 g de fruta comestible contiene: 83.4 g agua, 1.1. g proteína, 0.2 g grasa, 13.0 g de carbohidratos, 1.6 g fibra 0.7 g ceniza, 22 mg de calcio, 28 mg de fósforo, 0.4 mg hierro, 0.04 mg tiamina, 0.07 mg riboflavina, 0.09 mg niacina, 25 mg ácido ascórbico.^{(10:}</p>	Diciembre
Plátano verde	<i>Musa paradisíaca</i> (AAB)	4.5 ± 0.6 ⁽²⁾	145 ± 36 mg/100 g ⁽²⁾	No se reporta	No se reporta	Todo el año
Pitaya	<i>Epiphyllum crenatum</i>	4.6 ⁽¹⁾	43.2 Eq. Ac. Gal/g ⁽¹⁾	0.89 mg/g ⁽¹⁾	<p>Análisis proximal de 100 g fruto fresco: calorías 54, 84.4 g humedad, 1.4 g proteína, 0.4 g grasa, 13.2 g carbohidratos totales, 1.4 g fibra, 0.6 g ceniza, 10 mg calcio, 26 mg fósforo, 1.3 mg hierro, 0.04 mg tiamina, 0.04 mg riboflavina, 0.3 mg niacina, 8 mg</p>	Verano

Fruta	Nombre Científico	Actividad antioxidante total IC ₅₀ (mg)	Fenoles Totales	Vitamina C	Composición química pulpa	Temporada/ Disponible en mercados durante el año
Marañón	<i>Anacardium occidentale</i>	3.1 ± 0.5 ⁽²⁾	186 ± 35 mg/100 g ⁽²⁾	No se reporta	<p>ácido ascórbico.^(4:312)</p> <p>En la goma, existe una gran cantidad de galactosa preponderantemente, arabinosa y ramnosa como azúcares neutros. La acidez de la goma está representada por el ácido glucurónico y su 4-O-metil derivado, parcialmente neutralizado por iones metales. ⁽¹¹⁾</p> <p>Una gran cantidad de compuestos han sido identificados en el noni, como la escopoletina, ácido octanoico, potasio, vitamina C, terpenoides, alcaloides, antroquinonas como nordamnactal, moridona y rubiadina, caroteno, citamina A, glicosidos de flavonas, ácido linoleico, acubina, L-asperulosida, ácido caproico y caprilico, ácido urosilico, rutina. ^(12, 15)</p>	Marzo-Abril
Noni	<i>Morinda citrifolia</i>	5.1 ± 0.4 ⁽²⁾	138 ± 42 mg/100 g ⁽²⁾	Sí contiene		--

Fruta	Nombre Científico	Actividad antioxidante total IC ₅₀ (mg)	Fenoles Totales	Vitamina C	Composición química pulpa	Temporada/ Disponible en mercados durante el año
Ciruela	<i>Spondia purpurea</i>	5.3 ± 0.3 ⁽²⁾	140 ± 13 mg/100 g ⁽²⁾	No se reporta	No se reporta	Junio-Julio
Mamey	<i>Mammea americana</i> L	6.0 ⁽¹⁾	65.9 Eq. Ac. Gal/g ⁽¹⁾	1.74 mg/g ⁽¹⁾	Composición de 100 g de Mamey: Proteínas 0,5 g; Grasas 0,1 g; Carbohidratos 9,7 g; Calcio 5,0 mg; Fosforo 46,0 mg; Hierro 0,5 mg; Caroteno 0,37 mg; Tiamina 0,02 mg; Riboflavina 0,04 mg; Niacina 0,61 mg; Acido ascórbico 2,00 mg. ⁽¹³⁾	Mayo-Julio
Carambola	<i>Averrhoa carambola</i>	6.5 ⁽¹⁾	332.6 Eq. Ac. Gal/g ⁽¹⁾	6.85 mg/g ⁽¹⁾	Acido <i>cis</i> -abscisico, ester acido abscisic β-Dglucopyranosyl abscisico , acido <i>trans</i> -abscisico, alcohol abscisic alcohol, eter acido-β-D-glucopyranosyl abscisico, vomifoliol, roseoside y epicatecina. Acido malico, succínico, oxalic y abscórbico. ⁽¹⁴⁾	Verano
Granada	<i>Púnica granatum</i>	No se reporta	No se reporta	No se reporta	Fruto alcaloides, flavonoides, taninos y triterpenos. ^(5:69)	--

Fruta	Nombre Científico	Actividad antioxidante total IC ₅₀ (mg)	Fenoles Totales	Vitamina C	Composición química pulpa	Temporada/ Disponible en mercados durante el año
Granadilla	<i>Passiflora ligularis</i>	7.6 ± 0.5 ⁽²⁾	100 ± 11 mg/100 g ⁽²⁾	20 mg/100 g pulpa fresca	El análisis proximal de 100 g fruto fresco: 94 calorías, 76.3 g agua, 2.4 g proteína, 2.8 g grasa, 17.3 g carbohidratos, 4.2 g fibra, 1.2 g ceniza, 10 mg calcio, 64 mg fósforo, 0.9 mg hierro, 400 µg carotenos, 0.04 mg riboflavina, 1.5 mg niacina, 20 mg ácido ascórbico. ^(4:183) 100 g de pulpa comestible contiene: 79 calorías, 77.9 % humedad, 0.9 g proteína, 0.2 g grasa, 0.5 g fibra, 0.5 g ceniza, 15 mg calcio, 35 mg fósforo, 0.9 mg hierro, 2 mg sodio, 270 mg potasio, 370 UI vitamina A, 0.4 mg niacina, 51 mg ácido ascórbico. ^(10:33)	Noviembre - Diciembre
Jocote	<i>Spondias purpúrea</i> L.	No se reporta	No se reporta	51 mg/100 g pulpa fresca	La fruta contiene: 21% de agua, ácido tartárico, cítrico, málico, mangnifero, (galactorsoro), glucono citrine, y	Octubre- Noviembre
Mango	<i>Mangúífera indica</i>	8.4 ± 1.5 ⁽²⁾	102 ± 10 mg/100 g ⁽²⁾ 544,9±7,3 mg/100 g ⁽³⁾	65 mg / 100 g pulpa fresca		Verano

Fruta	Nombre Científico	Actividad antioxidante total IC ₅₀ (mg)	Fenoles Totales	Vitamina C	Composición química pulpa	Temporada/ Disponible en mercados durante el año
Nance	<i>Byrsonina crassifolia</i>	8.5 ± 1.2 ⁽²⁾	129 ± 17 mg/100 g ⁽²⁾	90-200 mg/100 g pulpa fresca	<p>quercitina, y además es rica en vitamina C. la semilla, contiene taninos y ácido gáliza. ^(5:105). 100 g de pulpa comestible contiene: 46 g calorías, 0.9 g proteína, 0.1 g de grasa, 19 mg calcio, 11 mg de fósforor, 1.50 mg hierro, 0.08 mg riboflavina, 0.6 mg niacina, 65 mg ácido ascórbico. ^(10:39)</p> <p>Análisis proximal 100 g de pulpa fresca: 66 calorías, 79-83 g humedad, 0.10-0.12 g proteína, 0.2-1.8 g grasa, 14.4 mg carbohidratos totales, 2.5-5.8 g fibra, 0.5-0.7 g ceniza, 23-36 mg calcio, 12-17 mg fósforo, 0.6-2.0 mg hierro, 20 mg vit. A, 0.1-0.2 mg tiamina, 0.1-0.4 mg riboflavina, 0.2-0.4 mg niacina, 90-200 mg ácido</p>	Abril

Fruta	Nombre Científico	Actividad antioxidante total IC ₅₀ (mg)	Fenoles Totales	Vitamina C	Composición química pulpa	Temporada/ Disponible en mercados durante el año
Tuna	<i>Nopolea guatemalensis</i> <i>Rose</i>	8.9 ¹⁾	34.4 Eq. Ac. Gal/g ⁽¹⁾	1.53 mg/g ¹⁾	ascórbico. ^(4:281) 100 g de pulpa fresca contiene: 36 calorías, 86.4 g agua, 1.0 g proteínas, 0.4 g grasa, 7.1. g carbohidratos, 0.3 mg minerales, 40 mg caroteno, 18 mg vitamina B ₁ , 30 mg vitamina B ₂ , 380 mg nicotinamida, 25 mg vitamina C. ^(10:105)	--
Papaya	Carica papaya	11.4 ± 1.0 ⁽²⁾	60 ± 7 mg/100 g ⁽²⁾	35.5-71.3 mg /100g de pulpa fresca	Análisis proximal 100 g fruto fresco: 23-25 calorías, 85-92 g humedad, 0.1-0.5 g proteína, 0.1-1.0 g grasa, 6-11 g carbohidratos, 0.5-1.3 g fibra cruda, 0.31-0.66 g ceniza, 12.9-40.8 calcio, 5.3-22.2 mg fósforo, 0.25-0.78 mg hierro, 0.01-0.67 mg caroteno, 0.02-0.04 mg tiamina, 0.02-0.06 mg riboflavina, 0.22-0.55 niacina, 35.5-71.3 mg ácido ascórbico, 4-5 mg	Todo el año

Fruta	Nombre Científico	Actividad antioxidante total IC ₅₀ (mg)	Fenoles Totales	Vitamina C	Composición química pulpa	Temporada/ Disponible en mercados durante el año
Cereza	<i>Prunus capuli</i> Cay	13.4 ⁽¹⁾	241.1 Eq. Ac. Gal/g ⁽¹⁾	0.72 mg/g ⁽¹⁾	triptofano, 1 mg metionina, 15-16 mg lisina. ^(4:300) No se reporta	Agosto
Naranja	<i>Citrus sinensis</i>	18.3 ± 0.8 ⁽²⁾	64.2 ± 7 mg/100 g ⁽²⁾	103 mg/100 g pulpa fresca	La especie <i>C. Aurantium</i> : Análisis proximal 100 g fruto fresco comestible: 37-66 calorías, 77-83 g humedad, 0.1 g proteína, 0.05-0.07 g grasas, 9-15 g carbohidratos, 1-2 g fibra, 0.5-0.7 g ceniza, 64-81 mg calcio, 0.22-0.85 mg hierro, 20 mg fósforo, 0.05-0.07 µg vit. A, 0.04-0.06 mg tiamina, 0.03-0.04 mg riboflavina, 0.2-0.4 mg niacina, 55-103 mg ácido ascórbico. ^(4:284)	Todo el año
Limón	<i>Citrus limón</i>	18.8 ± 1.1 ⁽²⁾	66.7 ± 4 mg/100 g ⁽²⁾	Sí contiene	La especie <i>C. Aurantifolia</i> : Análisis proximal 100 g de pulpa de fruto: 36 calorías, 91.0 g agua, 0.5 g proteína, 2.4 g grasa, 5.0 g carbohidratos, 0.3 g	Todo el año

Fruta	Nombre Científico	Actividad antioxidante total IC ₅₀ (mg)	Fenoles Totales	Vitamina C	Composición química pulpa	Temporada/ Disponible en mercados durante el año
Toronja	<i>Citrus paradisi</i>	20.4 ± 2.1 ⁽²⁾	64 ± 2 mg/100 g ⁽²⁾	28.17 ± 2.18 mg/100 g	fibra, 0.2 g ceniza, 13 mg calcio, 11 mg fósforo, 0.1 mg hierro, 2 mg sodio, 82 mg potasio, 10µg caroteno, 0.03 mg tiamina, 0.02 mg riboflavina, 0.2 mg niacina, 43 mg ácidos orgánicos (cítrico y málico) y vitamina C. ^(4:229) Vitamina C y los carotenoides, (9)	--
Aguacate	<i>Persea americana mil.</i>	No se reporta	No se reporta	14 mg/100 g pulpa fresca	100 g pulpa fresca contiene: 2 g proteínas, 18 g grasa, 5.9 g carbohidratos, 0.4 g fibra, 23 mg calcio, 42 mg fósforo, 0.6 mg hierro, 604 mg potasio, 250 UI vitamina A, 1.53 mg vitamina E, 0.11 mg tiamina, 0.10 mg riboflavina, 1.7 mg niacina, 14 mg ácido ascórbico. ^(10:193)	Todo el año
Maracuyá	<i>Possiflora edulis</i>	20.8 ± 2.0 ⁽²⁾	60 ± 5 mg/100 g ⁽²⁾ 20,0±2,6 mg/100 g ⁽³⁾	No se reporta	Fruto rico en vitaminas A y C. ⁽¹⁶⁾	--

Fruta	Nombre Científico	Actividad antioxidante total IC ₅₀ (mg)	Fenoles Totales	Vitamina C	Composición química pulpa	Temporada/ Disponible en mercados durante el año
Zapote	<i>Quararibea cordata</i>	21.4 ± 1.3 ⁽²⁾	102.9 ± 5 mg/100 g ⁽²⁾	Si contiene	Agua 79,7 g, Valor energético 73,0 cal, Proteínas 0,9 g, Grasas 0,3 g, Carbohidratos 18,8 g, Fibra 0,9 g, Calcio 22,0 mg, Fósforo 17,0 mg, Hierro 1,8 mg, Caroteno 0,84 mg, Tiamina 0,02 mg, Riboflavina 0,09 mg, Niacina 0,62 mg, ácido ascórbico 8,90 mg. ⁽¹⁷⁾	Octubre
Anona	<i>Annona diversifolia Safford</i>	21.5 ⁽¹⁾	408.6 Eq. Ac. Gal/g ⁽¹⁾	4.79 mg/g ⁽¹⁾	No se reporta	
Níspero	<i>Manilkara zapota</i>	22.3 ± 1.4 ⁽²⁾	66.1 ± 3 mg/100 g ⁽²⁾	No se reporta	No se reporta	Si
Mora	<i>Rubus glaucus</i>	No se reporta	118,9±2,1 mg/100 g ⁽³⁾	No se reporta	36 Kcal , Proteínas 1.3 g, Hidratos de carbono 8.1 g, Grasas totales 0.6 g, Fibra 1.7 g, Sodio 2 mg, Calcio 36 mg.	Mayo-Julio
Uva	<i>Vitis vinifera</i>	No se reporta	117,1±0,6 mg/100 g ⁽³⁾		No se reporta	Noviembre - Enero
Fresa	<i>Fragaris</i>	No se reporta	132,1±3,8 mg/100 g ⁽³⁾	70 mg/100	Análisis de 100 g fruto fresco: 62	Mayo-Julio

Fruta	Nombre Científico	Actividad antioxidante total IC ₅₀ (mg)	Fenoles Totales	Vitamina C	Composición química pulpa	Temporada/ Disponible en mercados durante el año
	<i>chicoensis</i>			pulpa fresca	calorías, 90 g agua, 0.8 g proteína, 0.3 g grasa, 8.5 g carbohidratos, 1.3 g fibra, 0.4 g ceniza, 29 mg calcio, 29 mg fósforo, 1.0 mg hierro, 20 µg caroteno, 0.03 mg tiamina, 0.04 mg riboflavina, 0.4 mg niacina, 70 mg ácido ascórbico. ^(4:178)	
Piña	Ananas comusus (bromelia ananas)	No se reporta	21,7±4,5 mg/100 g ⁽³⁾	No se reporta	Composición: la hoja contiene alcaloides, flavonoides, glicósidos, saponínicos, triterpenos; y el fruto alcaloides y triterpenos ^(5:128)	--

Fuentes:

- (1) Calderon, P. et al. Determinación de Actividad Antioxidante en Frutas Autóctonas Disponibles en los Principales Mercados de la Ciudad Capital de Guatemala. Revista Científica 2002;15:41-44.
- (2) Murillo Franco, E. Actividad antioxidante «in vitro» de las bebidas de frutas. Universidad de Panamá. Instituto de Alimentación y Nutrición (IANUT). Laboratorio de Bioquímica de Alimentos y Nutrición. 2006. Disponible en: <http://www.alfa-editores.com/bebidas/Junio-Julio%2006/Actividad.pdf?phpMyAdmin=alj69rg0MYWn18mTYfYRyPHZ2T4>. Revisado 27/01/2009.
- (3) E. Marta KUSKOSKI, et al. APLICACIÓN DE DIVERSOS MÉTODOS QUÍMICOS PARA DETERMINAR ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE EN PULPA DE FRUTOS. Cienc. Tecnol. Aliment., Campinas, 2005; 25(4): 726-732. Disponible en: <http://www.scielo.br/pdf/cta/v25n4/27642.pdf>

- (4) Cáceres, A. Plantas de Uso medicinal en Guatemala. 1996. Editorial Universitaria Dirección General de Extensión. 402pp.
- (5) Finkelman, J. Plantas de uso medicinal en Centro América. USAC.
- (6) Botanical online. Disponible en: <http://www.botanical-online.com/cerezo.htm>. Revisado 04/02/2009.
- (7) Agustín, J. A. y A. Rebollar. 1996. El Cultivo de la Chirimoya (*Annona cherimola* Mill.) en el Estado de Michoacán, México. Universidad Autónoma Chapingo. México. Disponible en: <http://www.conafor.gob.mx/portal/docs/secciones/reforestacion/Fichas%20Tecnicas/Annona%20cherimola.pdf> . Revisado 04/02/2009.
- (8) Moreu Burgos, María del Carmen. La Chirimoya. Disponible en: http://www.pulevasalud.com/ps/contenido.jsp?ID=56915&TIPO_CONTENIDO=Articulo&ID_CATEGORIA=90. Revisado 04/02/2009.
- (9) BUCARITO K, C. Et al. FITOQUÍMICOS PRESENTES EN EL EXOCARPIO DE FRUTAS LATINOAMERICANAS: APLICACIÓN EN COSMÉTICA. Cátedra Tecnología Cosmética. Facultad de Farmacia. Universidad Central de Venezuela. Unidad de Investigación Análisis de Alimentos. Facultad de Farmacia. Universidad Central de Venezuela. Cosmetic, Toiletry and Fragrance Association.
- (10) Robledo, J. Descubre los frutos exóticos. Ediciones Norma-Capitel. Madrid. 2004. 455 pp. Versión en Internet Disponible en: http://books.google.com.gt/books?id=DFI1ZhGk614C&pg=PA3&source=gbs_selected_pages&cad=0_1#PPA11,M1.
- (11) GUERRERO, Rocío, RINCON, Fernando, CLAMENS, Carmen *et al.* Parámetros analíticos de la goma de anacardium occidentale I. y su potencial industrial. *Bol. Centro Invest. Biol.*, abr. 2003, vol.37, no.1, p.44-55. ISSN 0375-538X. http://www.serbi.luz.edu.ve/scielo.php?pid=S0375-538X2003004000004&script=sci_arttext
- (12) Levand O, Larson HO. Some chemical constituents of *Morinda citrifolia*. *Planta Med* 1979; 36: 186-7.
- (13) Collazos, C., P. L. White, H. S. White *et al.* 1975. La composición de los alimentos peruanos. Instituto de Nutrición. Minist. de Salud. Lima. 35 p.
- (14) Gunawardena, D. y Jayasinghe, U. Phytotoxic Constituents from the Fruit Juice of *Averrhoa carambola*. *Proceedings of the Peradeniya University Research Sessions, Sri Lanka, Vol.12, Part I, 30thNovember 2007.* Disponible en: <http://www.pdn.ac.lk/purse/purse07/papers/041.pdf>
- (15) Wang MY *et al* / *Acta Pharmacol Sin* 2002 Dec; 23 (12): 1127-1141. Disponible en: <http://www.chinaphar.com/1671-4083/23/1127.htm>
- (16) Infojardín. Disponible en: <http://fichas.infojardin.com/trepadoras/passiflora-edulis-maracuya-granadilla-frutos-de-pasionaria.htm>. Revisado 05/02/2009.
- (17) Tipos de Cultivos - Frutas Amazonicas – Zapote. Disponible en: http://www.concope.gov.ec/Ecuaterritorial/paginas/Apoyo_Agro/Tecnologia_innovacion/Agricola/Cultivos_Tradicionales/Cultivos/Frutas/frutas_am/textos/zapote.htm. Revisado 05/02/2009.

**ANEXO No. 3: COTIZACIÓN DE COSTOS DE FRUTAS PREVIO A
SELECCIÓN DE LAS FRUTAS DEL ESTUDIO.**

Fruta	Cantidad	Precio
Guinda	-	-
Pitaya	-	-
Marañón	Bolsa 5 unidades pequeñas	Q.5.00
Noni	Bolsa 5 unidades pequeñas	Q.10.00
Ciruela	2 unidades grandes	Q.5.00
Mamey	Unidad	Q.5.00, Q.10.00
Guayaba	5 Unidades	Q.10.00
Carambola	Bolsa 10 unidades pequeñas (aprox.)	Q.2.00
Aguacate	3 Unidades	Q.10.00
	Unidad	Q.1.00
Mora	Libra	Q.5.00, Q.5.50
Fresa	Libra	Q.5.00, Q.6.50

Fuente: Datos experimentales

ANEXO No. 4: FORMULACIÓN DE LAS EMULSIONES COSMÉTICAS

Fórmula emulsión aceite en agua (O/W).

Fórmula aceite en agua (o/w)	Función en la formulación	% en peso	Resultados
Ácido estéarico	Agente emulsionante ¹	5.00	Color: blanco amarillo Olor: a aceite de oliva Esparcimiento: Bueno Textura: suave, acuosa Formulación físicamente estable durante 4 días bajo refrigeración y 8 meses en temperatura ambiente.
Alcohol cetílico	Agente emulsionante ¹	4.00	
Aceite de oliva	Fase oleosa	2.50	
Monoestearato de glicerilo	Agente emulsionante, emoliente ¹	1.00	
Trietanolamina	Agente Emulsificante ¹	1.00	
Propilparaben	Preservante ¹	0.10	
Metilparaben	Preservante ¹	0.20	
Agua desmineralizada	Fase continua	86.10	
BTH o extracto frutal experimental	Antioxidante	--	

Fuente: Datos experimentales

Fórmula emulsión agua en aceite (W/O).

Fórmula agua en aceite (w/o)	Función en la formulación	% en peso	Resultados
Monoestearato de glicerilo	Agente emulsionante, emoliente ¹	4.00	Color: blanco amarillo
Ácido estéarico	Agente emulsionante ¹	8.00	Olor: a aceite de oliva
Cera de abeja	Fase oleosa	16.00	Esparcimiento: Bueno
Aceite de oliva	Fase oleosa	30.00	
Propilenglicol	Preservante, humectante ¹	10.00	Textura: aceitosa
Trietanolamina	Emulsificante ¹	3.00	Formulación físicamente estable durante 4 días bajo refrigeración y 8
Agua	Fase dispersa	29.00	
BTH o extracto frutal	Antioxidante	--	

Fuente: Datos experimentales

El método de preparación utilizado para las emulsiones cosméticas consistió en la mezcla de los componentes acuosos en un recipiente y de los componentes no acuosos en otro recipiente, ambos a una temperatura no mayor de 70°C. Luego la incorporación de las fases consistió en agregar la fase de mayor volumen a la fase de menor volumen con movimiento constante y a una temperatura entre 50 y 70°C.

La preparación emulsionada se colocó en tarros plásticos de polietileno con una capacidad de 100 g. Cada tarro se llenó completamente y se dejó enfriar.

Ambas fórmulas de cremas cosméticas presentaron una estabilidad física observable después de someterlas a condiciones extremas de temperatura.

ANEXO No. 5: MATERIAS PRIMAS UTILIZADAS EN LA FORMULACIÓN DE LAS EMULSIONES COSMÉTICAS

Materia Prima	Descripción	Solubilidad	Usos
Alcohol cetílico	Copos, gránulos, cubos o modles untuosos, blancos, ligero olor característico y sabor suave. Funde entre 45°C y 50°C.	Insoluble en agua; soluble en alcohol, cloroformo, éter o aceites vegetales	Imparte una textura suave a la piel y se usa ampliamente en cremas cosméticas y lociones.
Ácido estéarico	Sólido duro, blanco o ligeramente amarillo, algo vidrioso y cristalino, o polvo blanco o polvo amarillo, olor y sabor similares a las del sebo. Funde a 55.5°C y no congela a temperatura inferiores a 54°C.	Prácticamente insoluble en agua; 1g en alrededor de 20 mL de alcohol, 2 mL de cloroformo, 3 mL de éter, 25 mL de acetona o 6 mL de tetracloruro de carbono; completamente soluble en disulfuro de carbono; también soluble en acetato de amilo, benceno o tolueno	Para la preparación de estearato de sodio, que es el agente solidificante para los supositorios oficiales de glicerina, para recubrir comprimidos entéricos, ungüentos y muchos productos comerciales, como cremas de tocador, cremas evanescentes, alcohol solidificado,

Materia Prima	Descripción	Solubilidad	Usos
Monoestearato de glicerilo	Sólido blanco, parecido a la cera, o en forma de perlas blancas, c�reas, o copos; olor y sabor suaves, grasos, agradables; no funde por debajo de 55�C, es afectado por la luz	Insoluble en agua, pero puede ser dispersado en agua caliente con la ayuda de una pequeña cantidad de jabón y otro agente tensioactivo adecuado; se disuelve en solventes orgánicos calientes como el alcohol, los aceites fijos o minerales, el benceno, el éter o la acetona.	etc. Es un agente espesante y emulsificante para ungüentos.
Propilparaben	Cristales blancos, sin olor.	Soluble en acetona, éter, etanol al 95% 1 en 1.1, en glicerina 1 en 250, en agua 1 en 4350 a 15�C, agua 1:225 a 80�C.	Utilizado ampliamente como antimicrobiano en cosméticos y preparaciones farmacéuticas. Utilizado solo o en combinación con otros parabenos.

Materia Prima	Descripción	Solubilidad	Usos
Metilparaben	Cristales incoloros o polvo blanco. Es casi inodoro.	Soluble en etanol 1 en 2, en éter 1 en 10, en glicerina 1 en 60, en agua 1 en 400, agua a 50°C 1 en 50 y a 80°C 1 en 30.	Utilizado ampliamente como antimicrobiano en cosméticos y preparaciones farmacéuticas. Utilizado solo o en combinación con otros parabenos.
Trietanolamina	Líquido claro de color amarillo pálido con un olor amoniacal leve.	Miscible en acetona, metanol y agua, a 20°C soluble en: benceno 1 en 24, etil éter 1 en 63.	Ampliamente utilizado en preparaciones farmacéuticas específicamente en emulsiones.

1. Handbook of Pharmaceutical Excipients. 5th. Edition. 2006.
2. Genaro Alfonso R. 2003. Remington Farmacia 20 ed. Editorial médica Panamericana. Argentina.

ANEXO No.6: RESUMEN DE ÍNDICE DE PERÓXIDOS DURANTE 6 SEMANAS DE MEDICIÓN

			No. De Mediciones (Semanas)					
			1	2	3	4	5	6
Fórmula O/W	Temperatura Ambiente	Control Negativo	155,4317858	90,66854172	32,5224117	11,8732614	15,4031499	19,5399959
		Control Positivo (BHT)	116,5738394	77,7158929	32,5224117	15,8310152	19,2539374	19,5399959
		Fresa	0	194,2897323	46,4605881	23,7465228	30,8062999	34,1949929
		Mora	68,00140629	181,3370834	51,106647	27,7042766	26,9555124	34,1949929
		Mezcla	48,57243306	129,5264882	37,1684705	31,6620304	34,6570874	29,3099939
	Temperatura 37-40°C	Control Negativo	106,8593527	103,6211905	27,8763529	19,788769	5,77618123	4,88499898
		Control Positivo (BHT)	116,5738394	103,6211905	27,8763529	19,788769	7,70157497	9,76999796
		Fresa	145,7172992	142,479137	46,4605881	31,6620304	13,4777562	14,6549969
		Mora	126,288326	155,4317858	41,8145293	27,7042766	17,3285437	12,2124975
		Mezcla	48,57243306	155,4317858	41,8145293	31,6620304	23,1047249	4,88499898
Fórmula W/O	Temperatura Ambiente	Control Negativo	15,12670312	17,579682	5,56559129	5,16228757	4,18563857	4,77880335
		Control Positivo (BHT)	15,66694251	16,32399043	5,56559129	4,51700163	3,97635664	4,77880335
		Fresa	16,74742131	16,32399043	3,77492279	3,65662036	3,13922893	3,98233613
		Mora	X	X	X	X	X	X
		Mezcla	13,50598493	16,32399043	4,59766237	3,44152505	3,34851086	3,98233613
	Temperatura 37-40°C	Control Negativo	36,1960396	8,789841001	2,66180453	1,93585784	1,67425543	2,1239126
		Control Positivo (BHT)	13,50598493	4,3949205	2,66180453	1,93585784	1,04640964	1,85842353
		Fresa	11,88526674	5,650612072	2,17784007	1,71149117	1,4649735	1,85842353
		Mora	12,42550613	X	X	X	X	X
		Mezcla	10,80478794	6,906303643	1,93585784	X	X	X

Fuente: Datos Experimentales