

Evaluación del efecto antioxidante y de protección solar de un extracto de cacao al incorporarse a una crema cosmética.

Gisel Álvarez León y Jesús Sleyder Sánchez Acevedo

Trabajo de grado para optar por el título de ingeniero químico

Trabajo de investigación

Director

Luis Javier López Giraldo

Ing. Químico, PhD. Química Bioquímica y ciencia de Alimentos

Codirector

Laura Carolina Aguilar Navas

Ing. Química.

Universidad Industrial de Santander

Facultad de Ingenierías Físicoquímicas

Escuela de Ingeniería Química

Bucaramanga

2023

Agradecimientos

Agradezco profundamente a mis queridos padres, Doris Acevedo y Eleyder Sanchez, por su apoyo incondicional a lo largo de este arduo viaje. Su confianza depositada en mí y ese amor inquebrantable que han sido mi fuente constante de inspiración y superación.

A mis hermanos, que han sido mis modelos a seguir como yo lo he sido para ellos brindándome lecciones de optimismo, alegría y ejemplos fundamentales en mi vida.

A mi novia, por su energía y entusiasmo contagioso que han iluminado mis días y me han recordado la importancia de disfrutar cada momento.

A mis amigas, a las cuales les agradezco su apoyo incondicional en todo momento con su ánimo y alegría cuando más lo necesitaba.

A mi compañera Gisel Álvarez por ser parte de esta experiencia académica con su compromiso y apoyo excepcional.

A mi director, Luis Javier López y codirectora Laura Aguilar, por su paciencia inagotable y guía experta brindada para el desarrollo de este proyecto de investigación.

Al grupo de investigación CICTA, por su constante apoyo siempre con la mayor paciencia y por sus experiencias y conocimientos compartidos que fueron fundamentales para este proyecto.

A mis compañeros Natalia Gonzales y Nicolas Hernandez, por orientarnos, apoyarnos y ser tan paciente en todo momento.

Agradecimientos

Agradezco a mis padres Arnulfo Álvarez y Lucymar León por el apoyo, paciencia y guía otorgada a lo largo de este proceso de formación, la confianza depositada en mi durante este viaje lleno de experiencias y enseñanzas que me han hecho crecer como persona.

A la persona con quien quiero pasar el resto de mis días, mi novio que me apoyo en todo momento y me brindo conocimiento profesional y personal, por su energía que me lleno de calma cuando mas lo necesitaba y su incondicional acompañamiento.

A la ingeniera química Natalia Gonzalez por orientarme y enseñarme de forma paciente y desinteresada convirtiéndose en un ejemplo a seguir como profesional.

Finalmente agradezco a mi director Luis Javier López y codirectora Laura Aguilar Navas por el acompañamiento brindado, sus conocimientos, aportes y la paciencia durante el proyecto realizado. Al Grupo de investigación en Ciencia y Tecnología de Alimentos CICTA y a los profesionales que hacen parte de este por la guía ofrecida durante este proyecto.

Tabla de contenido

Introducción	11
1. Objetivos	13
1.1 Objetivo General	13
1.2 Objetivos específicos	13
2. Marco Conceptual	14
2.1. Emulsión	14
2.2 Crema cosmética	14
2.3 Antioxidante	15
2.4 Extracto	15
2.5 Compuestos fenólicos	15
2.6 Acetato de tocoferol	16
2.7 ORAC	16
2.8 Estabilidad preliminar	16
2.9 Factor de Protección Solar	17
2.10 Absorbancia	17
2.11 Espectrofotometría	17
3. Estado del arte	17
4. Metodología	19
4.1 Extracción y cuantificación de polifenoles de los granos de cacao	20
4.1.1 Choque térmico a los granos de cacao	20

4.1.2 <i>Desengrasado y Extracción de polifenoles al cacao</i>	21
4.1.2 <i>Cuantificación de polifenoles</i>	22
4.2 Estudio de la propiedad como filtro solar de los polifenoles	23
4.2.1 <i>Evaluación del FPS de los extractos polifenólicos por medio de espectrofotometría</i>	23
4.2.2 <i>Incorporación de los polifenoles a la crema cosmética</i>	25
4.2.3 <i>Evaluación de la absorbancia por medio de espectrofotometría a las cremas</i>	26
4.2.4 <i>Cálculo de la eficiencia dosis respuesta como filtro solar usando una aproximación espectrofotométrica</i>	26
4.3. Determinación de la capacidad antioxidante del extracto de cacao	26
4.3.1 <i>Evaluación de la formulación cosmética apropiada para realizar ORAC</i>	26
4.3.2 <i>Estabilidad preliminar de la crema cosmética</i>	27
4.3.3 <i>Evaluación de la capacidad antioxidante por el método ORAC</i>	27
4.3.4 <i>Comparación de la capacidad antioxidante respecto a formulación con vitamina E</i>	28
5. Resultados	28
5.1 Extracción y cuantificación de polifenoles de los granos de cacao	28
5.1.1 <i>Desengrasado y Extracción de polifenoles al cacao</i>	29
5.1.2 <i>Cuantificación de polifenoles</i>	29
5.2 Estudio de la propiedad como filtro solar de los polifenoles	31
5.2.1 <i>Evaluación del FPS por medio de espectrofotometría a los polifenoles</i>	31
5.2.2 <i>Incorporación de los polifenoles a la crema cosmética</i>	32
5.2.3 <i>Evaluación de la absorbancia por medio de espectrofotometría a las cremas</i>	35

<i>5.2.4 Cálculo de la eficiencia dosis respuesta como filtro solar usando una aproximación espectrofotométrica.....</i>	<i>37</i>
5.3 Determinación de la capacidad antioxidante del extracto de cacao	37
<i>5.3.1 Evaluación de la formulación cosmética apropiada para realizar ORAC</i>	<i>38</i>
<i>5.3.2 Estabilidad preliminar de la crema cosmética</i>	<i>39</i>
<i>5.3.3 Evaluación de la capacidad antioxidante por el método ORAC</i>	<i>43</i>
<i>5.3.4 Comparación de la capacidad antioxidante respecto a formulación con vitamina E</i>	<i>45</i>
7. Recomendaciones	47
Referencias Bibliográficas	48

Lista de Tablas

Tabla 1 Soluciones usadas para cuantificación de polifenoles.	22
Tabla 2 Composición de las soluciones patrón de ácido gálico.	22
Tabla 3 Relación entre el efecto Eritemogénico y la intensidad de la Radiación de cada Longitud de Onda.	25
Tabla 4 Formulación O/W y su proceso de elaboración.	25
Tabla 5 Cantidad de extracción y cantidad de polifenoles obtenidos.	29
Tabla 6 Resultados cuantificación.	30
Tabla 7 Absorbancias obtenidas para el extracto concentrado de polifenoles	32
Tabla 8 Formulación para la evaluación de FPS por medio de espectrofotometría y sus variaciones para cada prototipo.	35
Tabla 9 Absorbancias obtenidas para cada uno de los prototipos (E1:0,1%, E2:0,45% y E3:1%) y sus respectivos duplicados (D1:0,1%, D2:0,45% y D3:1%).	35
Tabla 10 Porcentaje de reducción de radiación UV vs FPS.	36
Tabla 11 Formulación para la medición de la capacidad antioxidante y sus variaciones para cada prototipo.	38
Tabla 12 Valores de capacidad antioxidante medida por el método ORAC en $\mu\text{mol/g}$ de muestra medidos a los prototipos E1, E2, E3 y E0 con sus respectivos duplicados.	43
Tabla 13 Valores de capacidad antioxidante medida por el método ORAC en $\mu\text{mol/g}$ de muestra medidos a los prototipos E1, E2 y E3 con vitamina E.	45

Lista de Figuras

Figura 1 Diagrama de la metodología.....	20
Figura 2 Diagrama de la metodología de desengrasado y extracción de polifenoles diseñada por el profesional Pico-Hernandez (Toro-Uribe, 2018)	21
Figura 3 Curva de calibración con Ácido gálico.....	30
Figura 4 Resultados microscopía tomada con el objetivo 4x, para emulsión O/W agregando polifenoles en la fase C (a) en comparación con una emulsión O/W sin polifenoles (b).	33
Figura 5 Resultados microscopía tomada con el objetivo 4x, al agregar más de un 1% p/p de polifenoles a la emulsión O/W (b) y (c), comparados con una emulsión en la que si se lograron homogenizar de forma correcta los polifenoles (a).....	34
Figura 6 Crema O/W con polifenoles (a), (b), (c) y crema O/W con vitamina E (d), (e), (f) en los diferentes porcentajes planteados, E1: 0,1%, E2:0,45% y E3:1%. Fotos tomadas el día 1 de la fabricación de cada prototipo.....	39
Figura 7 Polifenoles extraídos de granos de cacao	40
Figura 8 Comparación en la coloración para una emulsión con polifenoles (a), (b), (c) y (d) y una con Vitamina E (e), (f), (g) y (h), cremas almacenadas durante 12 días a temperatura ambiente (23°C).	40
Figura 9 Histogramas de prototipos con polifenoles (a), (b) y (c) y con vitamina E (d), (e) y (f), en azul se resalta el valor promedio otorgado por el software ImageJ a cada una de las cremas.	41
Figura 10 Recopilación de resultados para cremas almacenadas durante 12 días a temperatura ambiente (a) y cremas sometidas a estabilidad preliminar (b).....	43
Figura 11 Comparación de la capacidad antioxidante medida por ORAC entre crema con polifenoles y crema con vitamina E.....	46

Resumen

Título: Evaluación del efecto antioxidante y de protección solar de un extracto de cacao al incorporarse a una crema cosmética. *

Autores: Gisel Álvarez León y Jesús Sleyder Sánchez Acevedo **

Palabras Clave: Polifenoles, Antioxidante, Factor de protección solar, Crema cosmética, Emulsión O/W.

Descripción:

Los antioxidantes son componentes protectores que pueden ser naturales o sintéticos, su función principal es prevenir o retardar la acción de los radicales libres en células o compuestos que sean susceptibles de oxidación. Tal función se cumple naturalmente en alimentos como frutas y vegetales gracias a la presencia de polifenoles, que también poseen acción fotoprotectora. Actualmente las empresas de cosméticos vienen adaptándose a cambios en el mercado, como lo son los productos con materias primas naturales.

El objetivo de este estudio fue evaluar el efecto antioxidante y de protección solar de un extracto de cacao al incorporarse a una crema cosmética. Para ello se realizó la extracción desde granos de cacao sin fermentar y posterior cuantificación del contenido de polifenoles totales por espectrofotometría (Folin- Ciocalteu). Los polifenoles obtenidos se agregaron a una emulsión O/W en porcentajes de 0,1%, 0,45% y 1% p/p, siendo estos los prototipos E1, E2 y E3 respectivamente. Se utilizó ORAC para determinar la capacidad antioxidante y el barrido espectrofotométrico de 290 a 320nm para calcular el Factor de Protección Solar (FPS). Así mismo, se evaluó la estabilidad preliminar a los prototipos con el fin de observar la compatibilidad de los polifenoles con la crema cosmética; ésta se determinó por medio de registros fotográficos en los que se observaron cambios de color en la emulsión. Los resultados mostraron que el extracto liofilizado tuvo un contenido de polifenoles totales de 211,37 mgEAG/gms. En lo que respecta a los prototipos E1, E2 y E3, la capacidad antioxidante determinada por el método ORAC fue de 1731,38±543,88, 4884,46±605,16 y 9492,57±370,74 $\mu\text{mol trolox/g}$ muestra, respectivamente; valores que fueron significativamente mayores a los obtenidos con vitamina E (antioxidante comercial generalmente usado para este tipo de formulaciones) a las mismas concentraciones formuladas: 1168,93±210, 1340,91±114,44 y 1525±198 $\mu\text{mol trolox/g}$ muestra. El desempeño del extracto de cacao según el FPS fue de 4,09 y el de las cremas con polifenoles para E1, E2 y E3 fue de 3,11, 3,33 y 3,55 respectivamente. A partir de los resultados, se observó que E3 posee la mayor eficiencia dosis para la medición de FPS con un 86,82%. Finalmente, es posible decir que los polifenoles extraídos del grano de cacao cumplen con los resultados esperados, sin embargo, al incorporarlos a la formulación cosmética generan un cambio de color producto de una degradación, lo que disminuye la vida útil del producto.

*Trabajo de grado

**Facultad de Ingenierías fisicoquímicas. Escuela de Ingeniería Química. Grupo de Investigación en Ciencia y Tecnología de Alimentos. Director: Luis Javier López Giraldo. Ingeniero Químico, PhD. Codirectora: Laura Carolina Aguilar Navas. Ing. Química.

Abstract

Title: Evaluation of the of antioxidant effect and sun protection of a cocoa extract when incorporated into a cosmetic cream. *

Authors: Gisel Álvarez León and Jesús Sleyder Sánchez Acevedo **

Keywords: Polyphenols, Antioxidant, Sun protection factor, Cosmetic cream, O/W emulsion.

Description:

Antioxidants are protective components that can be natural or synthetic, their main function is to prevent or delay the action of free radicals in cells or compounds that are susceptible to oxidation. This function is naturally fulfilled in foods such as fruits and vegetables thanks to the presence of polyphenols, which also have photoprotective action. Currently, cosmetic companies are adapting to changes in the global market, such as products with natural raw materials.

The objective of this study was to evaluate the antioxidant and sun protection effect of a cocoa extract when incorporated into a cosmetic cream. For this purpose, extraction from unfermented cocoa beans and subsequent quantification of the total polyphenol content by spectrophotometry (Folin-Ciocalteu) was performed. The polyphenols obtained were added to an O/W emulsion in percentages of 0.1%, 0.45% and 1% w/w, these being prototypes E1, E2 and E3, respectively. ORAC was used to determine the antioxidant capacity and spectrophotometric scanning from 290 to 320nm to calculate the Sun Protection Factor (SPF). The preliminary stability of the prototypes was also evaluated in order to observe the compatibility of the polyphenols with the cosmetic cream; this was determined by means of photographic records in which color changes in the emulsion were observed. The results showed that the freeze-dried extract had a total polyphenol content of 211.37 mgEAG/gms. Regarding prototypes E1, E2 and E3, the antioxidant capacity determined by the ORAC method was 1731.38 ± 543.88 , 4884.46 ± 605.16 and 9492.57 ± 370.74 $\mu\text{mol trolox/g}$ sample, respectively; values that were significantly higher than those obtained with vitamin E (commercial antioxidant generally used for this type of formulations) at the same formulated concentrations: 1168.93 ± 210 , 1340.91 ± 114.44 and 1525 ± 198 $\mu\text{mol trolox/g}$ sample. The performance of the cocoa extract according to SPF was 4.09 and that of the creams with polyphenols for E1, E2 and E3 was 3.11, 3.33 and 3.55 respectively. From the results, it was observed that E3 has the highest dose efficiency for SPF measurement with 86.82%. Finally, it is possible to say that the polyphenols extracted from the cocoa bean meet the expected results; however, when incorporated into the cosmetic formulation, they generate a color change due to degradation, which reduces the shelf life of the product.

*Bachelor tesis.

**Faculty of Physicochemical Engineering. School of Chemical Engineering. Food Science and Technology Research Group. Director: Luis Javier López Giraldo. Chemical Engineer, PhD. Co-director: Laura Carolina Aguilar Navas. Chemical Engineer.

Introducción

En la actualidad las empresas de cosméticos vienen adaptándose a los nuevos cambios y tendencias del mercado, tales como los productos naturales en los que las materias primas convencionales son sustituidas por ingredientes como: aceites esenciales, aguas vegetales, mantecas y extractos frutales (*Materias primas para la producción de cosmética natural.*, s. f.), teniendo estos últimos un alto contenido de polifenoles lo que les otorga propiedades como antioxidante y protección solar. Colombia es el segundo país con mayor biodiversidad (Marín, s. f.) lo cual lo hace altamente competitivo en productos con ingredientes naturales, cuya demanda en el sector cosmético viene creciendo desde el año 2000 (Marín, s. f.) permitiendo afirmar que el espacio que tiene el país para crecer en este campo es bastante amplio.

Día a día el número de consumidores que se sienten atraídos por los llamados productos naturales aumenta, ya que son una opción de cuidado personal respetuosa con el entorno; sin embargo, estos representan todavía un segmento minoritario de consumo frente a la cosmética convencional. A pesar de esto, los estudios de mercado confirman que el 58% de las personas expresan que prefieren productos cosméticos de origen natural, lo cual evidencia una alta demanda en el mercado de artículos de cuidado personal (*Tendencias de Mercado de los Productos Naturales - All Natural / Prodotti Stella*, s. f.).

En el cuidado personal, uno de los segmentos de mayor crecimiento y desarrollo tecnológico es el de los protectores solares, en Colombia este mercado registró ganancias de USD \$25,5 millones en 2022, y se espera que experimente un alza de más del 63% en los próximos 5 años (*Las Ventas de Protectores Solares Crecerán 14% en 2023*, s. f.). La National Library of Medicine asegura que no se puede hablar de piel sin pensar en el sol, la piel utiliza la luz solar para ayudar a fabricar la vitamina D, la cual es importante para la formación de los huesos (*Efectos del*

sol en la piel - Videos de salud, s. f.), no obstante, una exposición prolongada de la piel a los rayos UV genera afecciones como manchas, fotoenvejecimiento, inmunosupresión, eritemas o cáncer de piel (*La importancia de la fotoprotección solar en la piel del recién nacido y niño | Hospital Universitario Virgen de la Victoria*, s. f.), teniendo este último una incidencia estimada en Colombia correspondiente a 4,6 por 100.000 mujeres y 4,4 por 100.000 hombres (Pozzobon et al., 2018). Debido a esto es importante implementar fotoprotección solar de piel, la cual puede ser aplicada por medio de cremas con factor de protección solar (FPS), que se define como la capacidad que tiene una sustancia de poder absorber la radiación UV (Batlle, 2005). Estos productos a su vez deben poseer un agente antioxidante que evite la degradación de sus elementos activos al estar en contacto con el oxígeno, previniendo la formación de radicales libres y retardando la degradación oxidativa que afecta principalmente a los lípidos (Samillan Moya, 2018).

Tomando en consideración lo expuesto en los párrafos anteriores, este proyecto tiene como finalidad evaluar la capacidad que posee un extracto de cacao, rico en polifenoles, como agente antioxidante y filtro solar al incorporarse a una crema cosmética, buscando brindar una alternativa natural y a su vez fomentar el biocomercio en Colombia.

1. Objetivos

1.1 Objetivo General

Evaluar el efecto antioxidante y de protección solar de un extracto de cacao al incorporarse a una crema cosmética.

1.2 Objetivos específicos

- Identificar la concentración de extracto que presenta la mayor eficiencia dosis respuesta como filtro solar usando una aproximación espectrofotométrica.
- Determinar la capacidad antioxidante del extracto de cacao para proteger de los procesos de oxidación a una crema cosmética.

2. Marco Conceptual

2.1. Emulsión

Se entiende por emulsión química a la unión, más o menos homogénea, de dos líquidos inmiscibles, es decir, que no se mezclan totalmente el uno con el otro. Las emulsiones consisten en la dispersión de un líquido en otro, ambos en diferentes fases líquidas formando lo que se conoce como coloide («Emulsión Química - Concepto, fases, tipos y ejemplos», s. f.), debido a la presencia de un emulsificante, siendo esta una sustancia con moléculas compuestas por partes lipofóbicas y lipofílicas que se encargan de mantener unida y estable la mezcla al impedir que sus fases se dispersen. Las emulsiones pueden ser de tipo:

- Directas (O/W). Conformada por una fase dispersa lipofílica (atraída por las grasas) y una fase continua hidrofílica (atraída por el agua). («Emulsión Química - Concepto, fases, tipos y ejemplos», s. f.)
- Inversas (W/O). Emulsión que combina una fase dispersa hidrofílica y una fase continua lipofílica («Emulsión Química - Concepto, fases, tipos y ejemplos», s. f.).

2.2 Crema cosmética

Una crema es una emulsión. Las cremas lipofílicas son las preparaciones denominadas emulsiones agua en aceite (W/O), mientras que las cremas hidrofílicas son emulsiones aceite agua (O/W) (Torrado Durán & Torrado Durán, 1994). Esta preparación es realizada con el objetivo de modificar la apariencia, hidratar, embellecer y dar un aroma agradable a las diferentes superficies del cuerpo humano.

2.3 Antioxidante

Un antioxidante es una sustancia empleada con el fin de inhibir la oxidación, esta propiedad hace que se pueda agregar a productos alimenticios, farmacéuticos o cosméticos expuestos al deterioro oxidativo como lo son aceites y grasas, retrasando la síntesis de los productos generados por la oxidación lipídica (*Evaluación de la actividad antioxidante de extractos frutales como alternativa a los antioxidantes sintéticos en preparaciones cosméticas tipo emulsión.--/, s. f.*).

2.4 Extracto

Se conoce que las plantas, sintetizan una gran variedad de metabolitos secundarios (alcaloides, esteroides, flavonoides, terpenoides, quinonas, entre otros), los cuales están implicados en los mecanismos de defensa hacia distintos factores de estrés biótico y abiótico. Muchos de estos compuestos son producidos y almacenados en tejidos jóvenes, como hojas, flores, semillas y frutos. Debido a sus propiedades, los metabolitos son apetecidos para la formulación de fármacos, pesticidas y cosméticos, dando lugar a los extractos. Estos últimos son obtenidos a partir de diferentes materiales vegetales permitiendo que los mismos se encuentren en presentaciones acuosas, polvos o utilizar otros disolventes para extraer diferentes compuestos según su polaridad (Monardez, 2014).

2.5 Compuestos fenólicos

Los compuestos fenólicos son el grupo más extenso de sustancias no energéticas presentes en los alimentos de origen vegetal (Quiñones et al., 2012), un ejemplo de estos son los polifenoles, que se caracterizan por tener más de un grupo fenol en su estructura y poseer propiedades antioxidantes y capacidades para absorber la radiación UV; sin embargo, esta última propiedad varía dependiendo del número de anillos fenólicos presentes en la molécula (Samillan Moya, 2018).

2.6 Acetato de tocoferol

Es una forma sintética de la vitamina E, nutriente liposoluble presente en muchos alimentos (*Office of Dietary Supplements - Vitamina E*, s. f.), usado en cosmética por su capacidad antioxidante ya que ayuda a proteger las formulaciones contra los daños causados por los radicales libres («Vitamina E Acetato. Tocoferol», s. f.).

2.7 ORAC

La capacidad de absorción de radicales de oxígeno (ORAC, por sus siglas en inglés) es un análisis de laboratorio que ofrece una medición general de la capacidad antioxidante de una sustancia. El análisis consiste en someter una muestra de interés a un agente oxidante, luego se mide la capacidad general que tiene un compuesto o un extracto para resistir la oxidación. Mientras más alto sea el puntaje del ORAC, mayor será la capacidad antioxidante (*¿Qué es el ORAC?*, s. f.).

2.8 Estabilidad preliminar

La estabilidad preliminar es uno de los estudios a realizar en las primeras etapas de diseño y desarrollo, en este proceso se ingresan diferentes formulaciones a escala laboratorio, las cuales son sometidas a estrés, ya sea por cambios de temperatura, centrifugación, exposición a la luz o vibración, con el objetivo de acelerar reacciones y evidenciar posibles inestabilidades del producto. La estabilidad preliminar no tiene como objetivo estimar el tiempo de vida útil, se emplea para orientar la selección de la formulación más idónea, plantear una reformulación y/o buscar alternativas de materia prima. La duración del estudio es generalmente de 7 a 15 días. A partir de este estudio se espera obtener la identificación de los parámetros críticos a controlar, tendencia del comportamiento de la formulación, aprobación o rechazo de los ingredientes utilizados y las propiedades a monitorear en los posteriores estudios de estabilidad que se realicen (Hernández Mesa, 2022).

2.9 Factor de Protección Solar

Se denomina factor de protección solar (FPS) al número de veces que el fotoprotector aumenta la capacidad de defensa natural de la piel frente al eritema o enrojecimiento previo a la quemadura (Batlle, 2005). Su medición se realiza conociendo la absorbancia del compuesto dispuesto en soluciones etanólicas por medio de espectrofotometría.

2.10 Absorbancia

La Absorbancia(A), también conocida como densidad óptica (DO) (*Qué es la absorbancia, medición de absorbancia, ensayos de absorbancia / Molecular Devices, s. f.*), es la atenuación de la intensidad de la radiación cuando esta incide sobre una muestra, es la cantidad de energía que es absorbida para pasar a un estado más excitado (*Técnicas espectrofotométricas de absorción ultravioleta-visible (página 2), s. f.*). La absorbancia es una variable determinante para la medición del FPS, debido a que esta determina qué tan efectiva es la barrera de protección solar que brindan las sustancias sobre la piel.

2.11 Espectrofotometría

Se denomina espectrofotometría a la medición de la cantidad de energía radiante que absorbe un sistema químico en función de la longitud de onda de la radiación, basada en la interacción materia –radiación electromagnética, y a las mediciones a una determinada longitud de onda (Díaz et al., s. f.).

3. Estado del arte

La industria cosmética en Colombia ha tenido un crecimiento anual del 8,7%, superior al de sus similares en Latinoamérica, lo que lo ha convertido en uno de los motores de producción más importantes de la región y el de mayor proyección (*Colombia: La industria cosmética un*

sector que crece y promete, s. f.), marcando un aumento en los documentos de investigación en la cosmética verde, con el objetivo de reemplazar materias primas tradicionales por extractos naturales, haciendo un respectivo aprovechamiento de la biodiversidad de nuestro país, priorizando ciertas especies, debido a su disponibilidad y características que fortalecen el cuidado de la piel como lo son la maracuyá, café, cacao, entre otros (Hernández Castillo & Pardo Ruíz, 2015).

El apogeo generado por el mercado demarca una centralización de los esfuerzos investigativos en calificar y evaluar los diferentes extractos que se pueden obtener de materias primas naturales analizando sus posibles usos, conscientes de las problemáticas en las que está sumergida la cosmética, como la estabilidad de sus productos y su eficiencia ante la protección de los rayos UV.

De esta manera, los polifenoles presentes en frutas y vegetales son realmente valiosos para este tipo de estudios debido a su alta capacidad antioxidante y valor como protector de rayos UV, valor que es corroborado por Q. Nicole (Quizhpi Cuesta, 2019). quien estudia los polifenoles extraídos de la cáscara de papa realizando mediciones de FPS y efecto antioxidante; encontrando que este puede ser utilizado como filtro de protección solar, ya sea como ingrediente principal o como sinergista. Sin embargo, al no ser un estudio realizado directamente sobre una formulación cosmética la capacidad de absorción de la radiación UV puede aumentar o disminuir.

Como se mencionó anteriormente, una de las propiedades de los polifenoles es la capacidad antioxidante; en este contexto, es importante destacar que el extracto de cacao, con una notable concentración de más de 64 mg EAG(gramos equivalentes de ácido gálico)/g de extracto, demuestra ser una fuente significativa de estos compuestos beneficiosos (*Actividad antioxidante de clones de cacao (Theobroma cacao l.) finos y aromáticos cultivados en el estado de Chiapas-México*, s. f.). Para determinar cuantitativamente la actividad antioxidante al incorporar los

polifenoles dentro de una emulsión, el grupo de Investigación en Tecnología Farmacéutica, Cosmética y de Alimentos determina esta propiedad por el método, *in vitro*, capacidad de absorción de radicales libres de oxígeno (ORAC) (*Evaluación de indicadores físicos y químicos de una emulsión con aceite esencial de Plectranthus amboinicus L | Pájaro Castro | Revista Cubana de Farmacia*, s. f.). Los resultados obtenidos para la actividad antioxidante inicial de la emulsión por este método fueron de 2010,12 $\mu\text{mol trolox/g mtra}$. Este valor destaca como altamente promisorio, respaldando la consideración de que los aceites esenciales son una excelente fuente natural y accesible para facilitar el desarrollo de diversas formulaciones cosméticas.

Al tratar con polifenoles, se hace énfasis en su conservación, debido a que la unión entre proteínas u otro compuesto con polifenoles siempre ocurrirá, sin embargo, en temperaturas de refrigeración estas reacciones tardarán más en suceder (Aguilar & Sofía, 2014). Para aumentar su estabilidad, generalmente los extractos son liofilizados; por ejemplo, Samillan estudió la capacidad antioxidante y FPS del liofilizado de maracuyá y desarrolló una crema cosmética; conservando el extracto a -80°C después liofilizando y posteriormente conservando a 4°C ; además encuentra una diferencia al cuantificar FPS en extracto y directamente en la formulación cosmética siendo este considerablemente inferior al estar presente en la crema (Samillan Moya, 2018).

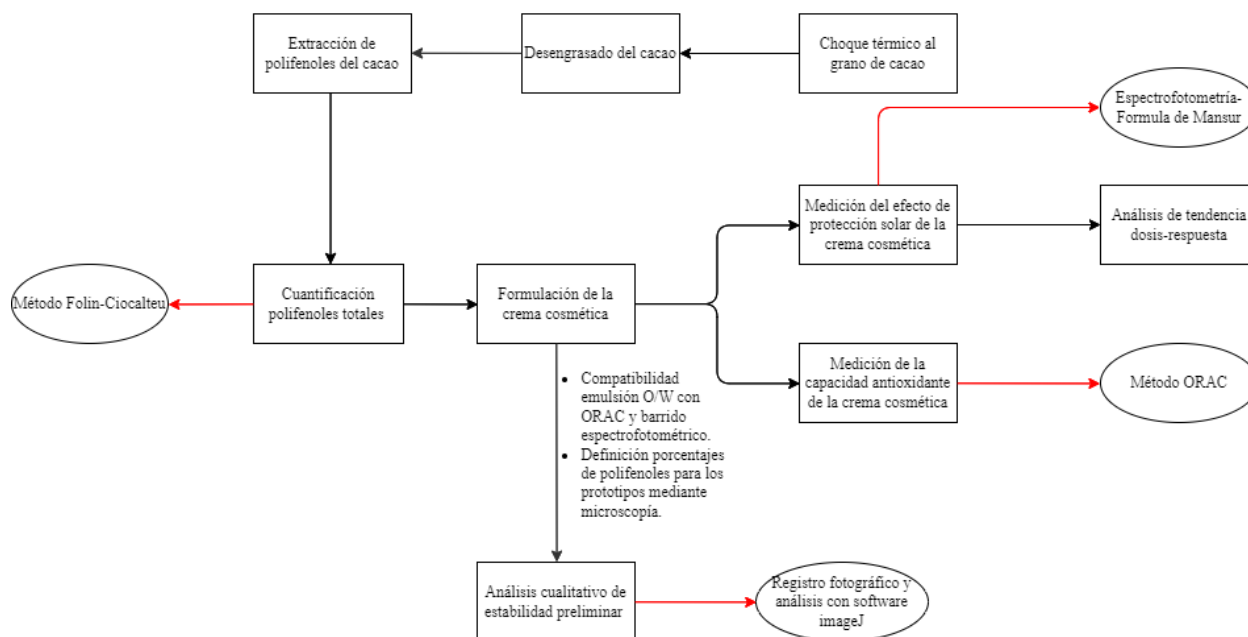
Para el caso específico de los extractos de granos de cacao no hay precedente en el que se evalúe su capacidad antioxidante y FPS en formulaciones cosméticas. Por lo tanto, el presente proyecto de investigación busca la evaluación de un extracto de los granos de cacao con el fin de desarrollar nuevos fitocosméticos que tengan una formulación innovadora y permitan el aprovechamiento de esta materia prima.

4. Metodología

La metodología que se empleó para cumplir con los objetivos planteados en este proyecto se presenta en la Figura 1.

Figura 1

Diagrama de la metodología.



4.1 Extracción y cuantificación de polifenoles de los granos de cacao

4.1.1 Choque térmico a los granos de cacao

Se siguió la metodología establecida por Pico-Hernández para la extracción, separación y evaluación del efecto antioxidante de las diferentes fracciones de polifenoles de los granos de cacao (Pico-Hernández et al., 2020), en la cual inicialmente se busca inhibir por medio de un choque térmico la enzima polifenol Oxidasa (PPO) que ocasiona la degradación de los polifenoles (Toro-Urbe et al., 2018). Una vez extraídos, lavados y despulpados los granos de cacao se sumergen en agua a 96°C por 6 minutos para después pasar a agua con hielo y mantener la

temperatura a 4°C durante 30 min, una vez realizado este proceso, se retiran los granos del agua y se ponen en un horno a 70°C durante 16 horas para realizar el secado.

4.1.2 Desengrasado y Extracción de polifenoles al cacao

Se siguió la metodología descrita por el protocolo de extracción con desengrasado elaborado por Pico-Hernández para el grupo de investigación CICTA (centro de investigación en ciencias y Tecnología de Alimentos) (Toro-Uribe, 2018). Se inició realizando el desengrasado al cacao ya previamente seco, descascarillado y molido con una licuadora, este proceso se puede apreciar en la Figura 2. Donde desde los pasos 1 a 4 se explica el desengrasado y del 5 al 10 el proceso de extracción.

Figura 2

Diagrama de la metodología de desengrasado y extracción de polifenoles diseñada por el profesional Pico-Hernandez (Toro-Uribe, 2018)



Luego los extractos se liofilizaron durante 36 horas al vacío a una temperatura que osciló entre los -50°C a -120°C. Finalmente, los polifenoles obtenidos son almacenados en frascos color ámbar y refrigerados a 4°C hasta su uso.

4.1.2 Cuantificación de polifenoles

Se siguió la metodología descrita por el protocolo de cuantificación del contenido de polifenoles totales (CPT) presentes en extractos polifenólicos de grano de cacao y cáscara de cacao descrita por Pico-Hernandez para el grupo de investigación CICTA (Toro-Uribe, 2018). A continuación, se describen los pasos realizados:

4.1.2.1 Preparar las soluciones presentes en la Tabla 1

Tabla 1

Soluciones usadas para cuantificación de polifenoles.

Soluciones	Condiciones
Folin-Ciocalteu: agua	Proporción: 10ml:100ml. Agitar a través de un mezclador de vórtice durante 15 segundos y almacenar en frascos de vidrio color ámbar. La solución es de un color amarillo verdoso.
Carbonato de sodio: agua	Proporción: 7,5g:100ml. Agitar y almacenar en frascos de vidrio color ámbar. El carbonato de sodio demora en disolverse.
Ácido gálico: agua	Proporción: 0,2g:100ml. Agitar y almacenar en frascos de vidrio ámbar. El ácido gálico demora en disolverse. Tener en cuenta que la señal de absorbancia se satura al superar una concentración de 1,8mg/ml

Nota. Adaptado de (Toro-Uribe, 2018).

4.1.2.2 Construir la curva de calibración tomando como patrón ácido gálico.

Inicialmente se prepararon diluciones a partir de la solución madre como se presenta en la Tabla 2.

Tabla 2

Composición de las soluciones patrón de ácido gálico.

Concentración final de la solución patrón (mg/ml)	Volumen tomado de la solución madre de ácido gálico: agua (µl)	Volumen agregado de agua (µl)
Blanco	0	5000
0,05	125	4875
0,1	250	4750
0,2	500	4500
0,4	1000	4000
0,8	2000	3000
1,6	4000	1000

Nota. Adaptado de (Toro-Uribe, 2018).

Luego se determinó la absorbancia de las soluciones a una longitud de onda de 756nm. En todos los casos, se mezclaron 1,5ml de la solución Folin-Ciocalteu: agua y 50µl de la solución patrón de ácido gálico, agitándolos en un mezclador de vórtice durante 15 segundos. La mezcla permanece en reposo y protegida de la luz durante 5 minutos. Luego se agregaron 1,5ml de la solución de carbonato de sodio: agua y se agitó en un mezclador de vórtice durante 15 segundos. Esta mezcla permaneció en reposo y protegida de la luz durante 60 minutos. Finalmente, la absorbancia de todas las soluciones se evaluó por duplicado, y la concentración se correlacionó usando la Ecuación 1.

$$y = mX + b \quad (\text{Ec. 1})$$

Donde:

m: pendiente de la recta

b: Intercepto de la recta con el eje y (Igual a 0).

$$R^2 > 0,98.$$

Usando la Ecuación 2, se calcularon los mg EAG (miligramos equivalentes de ácido gálico) por gramo de muestra.

$$\frac{\text{mg EAG}}{\text{g muestra}} = \frac{\left(\frac{\text{Absmuestra} - b}{m}\right) * 15\text{ml}}{\text{Peso de la muestra (gramos)}} \quad (\text{Ec.2})$$

4.2 Estudio de la propiedad como filtro solar de los polifenoles

4.2.1 Evaluación del FPS de los extractos polifenólicos por medio de espectrofotometría

Una vez obtenidos los polifenoles del grano de cacao, se pesó 0,5g de extracto concentrado de polifenoles y se transfirió a un matraz de 100ml que contenía 30ml de etanol al 70% para disolver los polifenoles y posteriormente se completó el volumen con el mismo solvente. De esta

solución se tomó una alícuota de 1ml y se transfirió a un matraz aforado de 25ml, se completó el volumen con alcohol y se homogenizó, alcanzando una concentración final de 0,2mg/ml, que es una concentración estandarizada (Samillan Moya, 2018). Esta solución fue medida por duplicado en un espectro UV UVB, en el rango de 290 a 320nm en un espectrofotómetro (*Glosario: Radiación ultravioleta*, s. f.), los rayos UVA causan el envejecimiento prematuro de la piel, mientras que los rayos UVB son los responsables de las quemaduras y el bronceado (*¿Cuál es la diferencia entre rayos UVA y UVB?*, s. f.). Una vez realizadas las mediciones de las longitudes de onda antes mencionadas, se calculó el factor de protección solar mediante la fórmula desarrollada por Mansur (Quizhpi Cuesta, 2019).

$$FPS = FC \sum_{290}^{320} EE(\lambda) \cdot I(\lambda) \cdot Abs(\lambda) \quad (\text{Ec.3})$$

Donde:

FPS: Factor de protección solar.

FC: Factor de corrección (igual a 10).

EE(λ): Efecto eritemogénico de la radiación de la onda λ .

I(λ): Intensidad del sol en la longitud de onda λ .

Abs(λ): Absorbancia de la solución en la longitud de onda λ .

La relación existente entre el Efecto Eritemogénico y la intensidad de la radiación de cada longitud de onda es constante (Quizhpi Cuesta, 2019) y se pueden encontrar los respectivos valores en la Tabla 3.

Tabla 3

Relación entre el efecto Eritemogénico y la intensidad de la Radiación de cada Longitud de Onda.

Longitud de onda (nm)	290	295	300	305	310	315	320	Total
$EE(\lambda) \cdot I(\lambda)$	0,0150	0,0817	0,2874	0,3278	0,1864	0,0839	0,0180	1,000

Nota. Adaptado de (Quizhpi Cuesta, 2019).

4.2.2 Incorporación de los polifenoles a la crema cosmética

Se realizó la incorporación de los polifenoles a la crema cosmética tras llevar a cabo pruebas en las que se observaron cualitativamente factores como: dilución de los polifenoles en la emulsión y compatibilidad de la crema con la metodología establecida para medir FPS por medio de espectrofotometría.

Para el desarrollo del proyecto se usó una crema cosmética O/W diseñadas por L.Aguilar y J.Hernández durante el curso “Cosméticos: análisis sensorial y producción” avalado por el Comité Operativo de Investigación y Extensión en la sesión del 03 de agosto de 2022. (Hernández Mesa, 2022). En la Tabla 4 se pueden observar las materias primas, porcentajes y proceso de elaboración de la crema.

Tabla 4

Formulación O/W y su proceso de elaboración.

Formula General		%Base	Proceso de elaboración.
Fase	Ingredientes		
A	Cetiol C5	15,400	1) Pesar la fase A en un recipiente auxiliar. 2) Pesar B en el recipiente principal. 3) Calentar A a 80°C, posteriormente mezclar con homogeneizador por 3 minutos a 3000rpm.
	Emulium Dolcea	6,160	
	Brij L23	2,053	
B	Agua	63,203	4) Calentar B a 75°C, a continuación, incorporar la fase A y homogenizar con ultra turrax a 3000rpm por 10 minutos. 5) Aumentar la agitación a 5000rpm por 3 minutos.
	Glicerina	10,267	
	Goma Xanthana	0,513	
C	Euxyl PE 9010	1,027	
	Ácido cítrico (solución al 10%)	0,144	
	Patch H2O	1,027	
	Vitamina E	0,103	

Formula General		%Base	Proceso de elaboración.
Fase	Ingredientes		
	Fragancia	0,103	6) Dejar enfriar la emulsión, cuando la temperatura sea inferior a 40°C agregar la fase C y mezclar con homogeneizador a 3000rpm por 5 minutos.
	TOTAL	100,0	

4.2.3 Evaluación de la absorbancia por medio de espectrofotometría a las cremas

A cada una de las cremas seleccionadas en 4.2.2 se les realizó la metodología establecida en 4.2.1, reemplazando la muestra inicial, es decir, los 0,5g de extracto concentrado de polifenoles fueron sustituidos por 0,5g de la emulsión cosmética a evaluar.

4.2.4 Cálculo de la eficiencia dosis respuesta como filtro solar usando una aproximación espectrofotométrica

Se compararon el valor de FPS obtenidos para el extracto y los obtenidos para cada una de las cremas enriquecidas con polifenoles, para tal fin, se usó la Ecuación 4 que calcula el porcentaje de la eficiencia dosis respuesta como filtro solar desarrollada por Mansur (Quizhpi Cuesta, 2019).

$$\% \text{ Eficiencia dosis respuesta FPS} = \frac{FPS_{crema}}{FPS_{polifenoles}} * 100 \quad (\text{Ec.4})$$

4.3. Determinación de la capacidad antioxidante del extracto de cacao

4.3.1 Evaluación de la formulación cosmética apropiada para realizar ORAC

Se seleccionó la fórmula que presentó mayor compatibilidad con el método ORAC; es decir aquella que tiene la mayor capacidad de disolverse en tampón fosfato pH 7,4. Para esto se realizaron ensayos preliminares en los que se comparó cualitativamente una formulación O/W y otra W/O con el criterio anteriormente mencionado. Al mismo tiempo se revisó la bibliografía para

seleccionar los porcentajes a agregar de polifenoles a la formulación finalmente seleccionada. No se realizó un diseño de experimentos.

4.3.2 Estabilidad preliminar de la crema cosmética

Con el fin de determinar la compatibilidad de las materias primas, las cremas se sometieron a una prueba de estabilidad preliminar de 12 días, en donde cada crema se incubó a 4° C y a 40° C cada 24 horas. Adicionalmente, se realizó un registro fotográfico cada 4 días para evaluar el cambio de coloración y determinar su compatibilidad.

4.3.3 Evaluación de la capacidad antioxidante por el método ORAC

Para la determinación de la capacidad antioxidante de la crema cosmética se realizó el ensayo de capacidad de absorción de radicales de oxígeno (ORAC) siguiendo la metodología propuesta por Ou (Ou et al., 2001). Se preparó fluoresceína de trabajo ($8,16 \cdot 10^{-5}$ M en 75 mM de tampón fosfato con pH 7,4); de esta solución se agregaron 150 μ L en microplacas de noventa y seis pozos. De la misma forma, se agregaron 25 μ L de tampón fosfato a 75 mM y pH 7,4 como blanco y 4,8,12,16,20 μ M Trolox se utilizaron como patrones en las placas. De igual manera, se prepararon soluciones de 4-20 μ M de crema cosmética después de haber agregado el extracto de cacao a ésta. Después de esto, se incubaron a 37° C por 10 minutos en un lector de microplacas (Ou et al., 2001).

La reacción se inició mediante la adición de 25 μ L de solución de APPH (153 mM en tampón fosfato 75 mM, pH 7,4). Las muestras y las soluciones patrón de Trolox se analizaron por duplicado. El decaimiento de la fluoresceína se monitoreó cada minuto por una hora, utilizando longitudes de onda de 485 nm.

Los valores finales de ORAC se calcularon utilizando una ecuación de regresión entre la concentración de Trolox y el área neta bajo la curva del decaimiento de la fluoresceína y se expresó como equivalentes de Trolox en micromoles por gramo de muestra.

El área bajo la curva (AUC) se calculó como:

$$AUC = 1 + \frac{f_1}{f_0} + \frac{f_2}{f_0} + \frac{f_3}{f_0} \dots \frac{f_{i-1}}{f_0} + \frac{f_i}{f_0} \quad (\text{Ec.5})$$

Donde f_0 es la lectura inicial de fluoresceína en el minuto 0 y f_i es la lectura de fluoresceína en el minuto i .

Los datos se analizaron aplicando la ecuación 5 en una hoja de cálculo de Microsoft Excel para calcular el AUC. El AUC neto se obtuvo restando el AUC del blanco de la muestra. El valor de ORAC (equivalentes de Trolox) se calculó como:

$$ORAC = \frac{AUC_{muestra} - AUC_{Blanco}}{AUC_{Trolox} - AUC_{Blanco}} * \frac{\text{Molaridad del trolox}}{\text{Molaridad de la muestra}} \quad (\text{Ec.6})$$

4.3.4 Comparación de la capacidad antioxidante respecto a formulación con vitamina E

Se realizó el método ORAC presentado en 4.3.1 reemplazando los polifenoles en la formulación de la crema cosmética en 4.2.2 por vitamina E y se comparó cuantitativamente los resultados obtenidos entre las muestras.

5. Resultados

5.1 Extracción y cuantificación de polifenoles de los granos de cacao

5.1.1 *Desengrasado y extracción de polifenoles al cacao*

En la Tabla 5 se puede apreciar la cantidad de extracciones, las fechas en que se realizaron cada una ellas, las fechas en que fueron ingresados los extractos ricos en polifenoles al proceso de liofilización y la cantidad de polifenoles obtenidos. Es importante mencionar que cada extracción usaba 12g de cacao desengrasado. Con estos resultados es posible decir que el rendimiento de las extracciones es de un 6% lo que concuerda con los rendimientos mostrados en (Toro-Urbe et al., 2018).

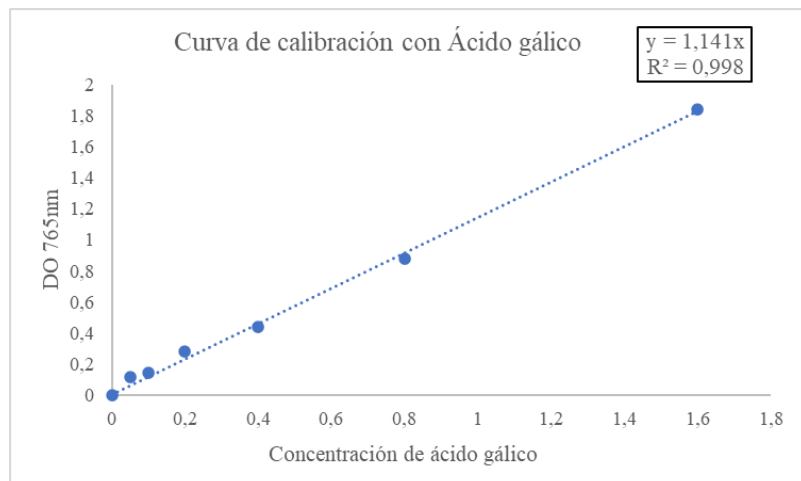
Tabla 5

Cantidad de extracción y cantidad de polifenoles obtenidos.

Lote	Fecha Extracción	Cantidad Extracciones	Fecha Liofilizado	Polifenoles Liofilizados (g)
1	22/02/23	1	06/03/23	1,821
2	16/03/23	4	28/04/23	5,093
3	23/03/23	4	15/05/23	7,703
4	29/03/23	3	15/05/23	3,809

5.1.2 *Cuantificación de polifenoles*

Para realizar la cuantificación se mezclaron todos los lotes de polifenoles e inicialmente se trazó una curva de calibración usando las diluciones indicadas en la Tabla 2. En la Figura 3 se puede apreciar la curva de calibración obtenida con su respectiva ecuación de la recta y R^2 .

Figura 3*Curva de calibración con Ácido gálico.*

Con la ecuación de la recta obtenida se realizó el cálculo de mg EAG por gramo de muestra usando la Ecuación 2, para esto se determinó la DO (densidad óptica) por duplicado a 765nm a una solución polifenoles: agua destilada. Se iteró para obtener la cantidad (g) de polifenoles a utilizar ya que la DO leída por el espectrofotómetro no podía superar los 1,836nm siendo este es el valor máximo en la curva de calibración, de esta forma se llegó a que la solución madre para cuantificación fuera de 0,051g de polifenoles liofilizados en 15ml de agua destilada. A continuación, se siguió la metodología presentada en 4.1.2.2. Finalmente, la absorbancia de todas las soluciones se evaluó a la longitud de onda antes mencionada. Las densidades ópticas obtenidas para muestra y duplicado fueron 0,791 nm y 0,866 respectivamente. Los datos recopilados fueron utilizados en la Ecuación 2, dando como resultado los valores escritos en la Tabla 6.

Tabla 6*Resultados cuantificación.*

	Concentración ($\frac{\text{mg EAG}}{\text{g de polifenoles}}$)
Muestra	201,5002
Duplicado	221,2396
Concentración promedio	211,3699±13,958

El extracto de cacao muestra un alto contenido de polifenoles, esto comparado con resultados como los encontrados por Ibarra Cabrera (Ibarra Cabrera, 2018) quienes cuantificaron los polifenoles presentes en diferentes clones de cacao regionales de Nariño, y encontraron un contenido de polifenoles totales entre los 35,34 a 56,33 mg EAG/g de extracto. En este mismo estudio se menciona el trabajo de Zapata et al, 2013, denominado “Efecto de la fermentación sobre la actividad antioxidante de diferentes clones de cacao colombiano” donde se reporta un intervalo entre 21,69 a 38,64 mg EAG/g de extracto de contenido de polifenoles en granos sin fermentar (Zapata Bustamante et al., 2013).

Sin embargo, en estudios realizados, los valores reportados se encuentran en un intervalo mayor el cual está entre los 63 y 66 mg EAG/g (*Actividad antioxidante de clones de cacao (Theobroma cacao l.) finos y aromáticos cultivados en el estado de Chiapas-México, s. f.*). La alta concentración de polifenoles en este estudio se debe a factores como la variedad del grano utilizado, el lugar de origen, las condiciones de recolección, el proceso de postcosecha, la inactivación de la enzima PPO y el almacenamiento teniendo en cuenta lo reportado por Wollgast & Anklam (Wollgast & Anklam, 2000).

5.2 Estudio de la propiedad como filtro solar de los polifenoles

5.2.1 Evaluación del FPS por medio de espectrofotometría a los polifenoles

Siguiendo la metodología explicada en 4.2.1, se recopilaron los valores de absorbancia medidos en la Tabla 7.

Tabla 7*Absorbancias obtenidas para el extracto concentrado de polifenoles*

		Longitud de onda (nm)						
		290	295	300	305	310	315	320
Absorbancia	Muestra	1,2790	0,7975	0,4510	0,3435	0,2910	0,2595	0,2753
	Duplicado	1,3305	0,8235	0,4550	0,3440	0,2910	0,2585	0,2335
	Media	1,3048	0,8105	0,4530	0,3438	0,2910	0,2590	0,2544

Para el cálculo de FPS del extracto rico en polifenoles se usó la Ecuación 3, las constantes de la Tabla 3 y las absorbancias medias previamente citadas en la **Tabla 7**, dando como resultado un FPS de $4,0885 \pm 0,024$.

En el estudio de Hernández y Pardo (Hernández Castillo & Pardo Ruíz, 2015) se calculó el FPS utilizando extracto de cáscara de papa con diferentes solventes; alcohólico y glicólico, dando valores de 4,39 y 4,33 respectivamente, siendo clasificados como aptos para filtros solares. Por lo tanto, los extractos usados en este trabajo también pueden considerarse como promisorios para ser usados como filtros solares.

Sin embargo, mencionan el hecho de que, al ser medido en extracto, el valor FPS puede aumentar o disminuir debido a que existen factores que afectan la determinación de este cuando están presentes en la formulación.

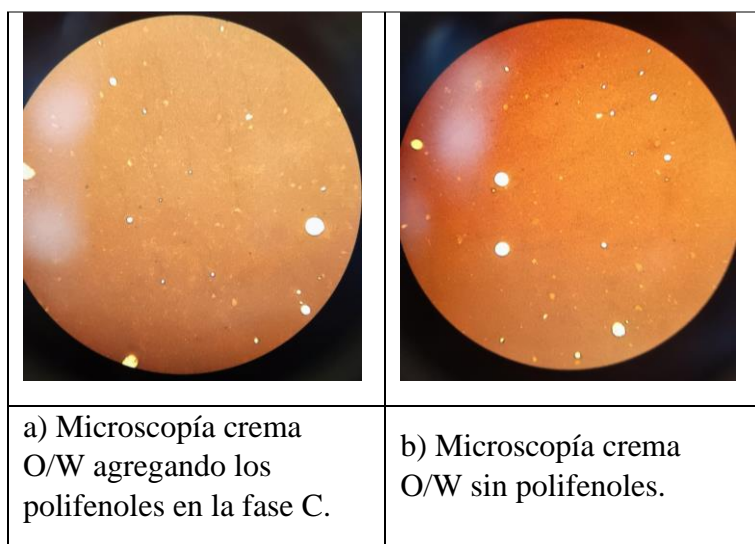
5.2.2 Incorporación de los polifenoles a la crema cosmética

Para el desarrollo del proyecto se usó la formulación presentada en la Tabla 4 en 4.2.2. Se realizaron pruebas para elegir la fase en la cual era mejor incorporar los polifenoles ya que estos son sensibles al calor, por lo que al ser sometidos a altas temperaturas se destruyen parte de ellos (*¿Qué son los polifenoles y por qué son buenos?* / *Newscience*, s. f.), por este motivo se descartó la posibilidad de incorporarlos en las fases A y B, se tomó la decisión de agregarlos en la fase C

cuando la emulsión ya se encuentra formada; además, para verificar la incorporación de los polifenoles a la emulsión se realizó microscopía y los resultados obtenidos se pueden observar en la Figura 4, donde la fase dispersa de la emulsión tiene una apariencia uniforme, sin partículas presentes, ni burbujas de aire en exceso, es por esto que con ella se puede concluir que los polifenoles logran homogenizarse de forma correcta al agregarlos en la fase seleccionada.

Figura 4

Resultados microscopía tomada con el objetivo 4x, para emulsión O/W agregando polifenoles en la fase C (a) en comparación con una emulsión O/W sin polifenoles (b).

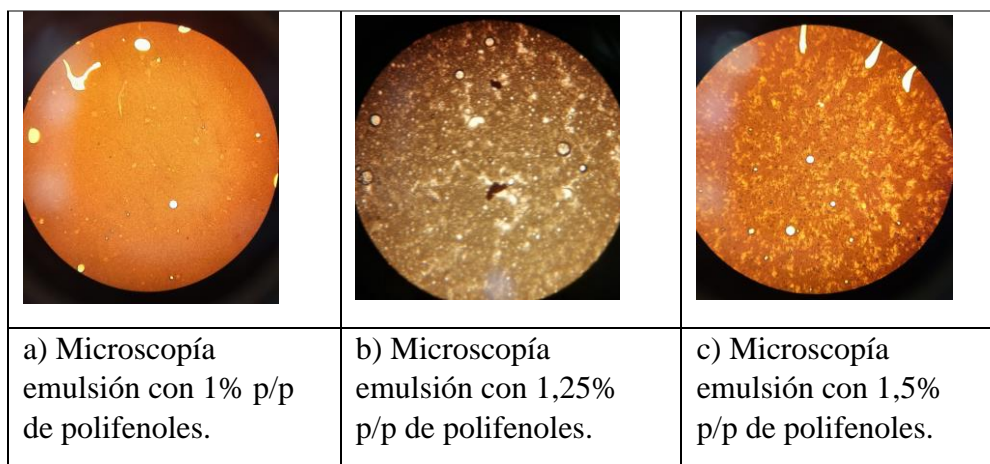


Una vez seleccionada la fase de incorporación para los polifenoles, éstos se agregaron a la emulsión en diferentes porcentajes, notando así que cuando se superaba el 1% p/p en la crema, los polifenoles no se homogenizaban en su totalidad como se puede apreciar en la Figura 5, en donde en (b) se presenta una emulsión con 1,25% p/p de polifenoles y se puede apreciar que la fase dispersa no es homogénea, ya que tienen diferentes tamaños de gota y de distintas formas, similar al agregar polifenoles al 1,5 % como se aprecia en la (c), por otra parte, en la (a) se muestra la emulsión al incorporarle 1% de polifenoles, allí se presenta una fase dispersa homogénea, donde los tamaños de gota son similares y no se presentan diferentes formas en la fase continua, por esto

los porcentajes seleccionados para este estudio fueron el 0,1%, 0,45% y 1% p/p, estos valores se encuentran dentro del sugerido por la bibliografía en donde el porcentaje para filtros solares orgánicos esta entre 0,1% y 30% p/p (Rosevear et al., 2010); mientras que para filtros solares inorgánicos el Comité Científico de la Seguridad de los Consumidores reglamenta un máximo de 25% (BOE.es - DOUE-L-2021-80676 Reglamento (UE) 2021/850 de la Comisión de 26 de mayo de 2021 por el que se modifica y corrige el anexo II y se modifican los anexos III, IV y VI del Reglamento (CE) n° 1223/2009 del Parlamento Europeo y del Consejo, sobre los productos cosméticos., s. f.).

Figura 5

Resultados microscopía tomada con el objetivo 4x, al agregar más de un 1% p/p de polifenoles a la emulsión O/W (b) y (c), comparados con una emulsión en la que si se lograron homogenizar de forma correcta los polifenoles (a).



A continuación, se realizaron pruebas siguiendo la metodología para la evaluación de FPS, no se presentaron problemas al realizar las diluciones en etanol al 70%, por esto se procedió a diseñar las cremas con las cuales se realizarían las mediciones finales, en la Tabla 8 se pueden observar los 3 prototipos con polifenoles E1:0,1%, E2:0,45% y E3:1%. El proceso de elaboración es el mismo que se explicó en la Tabla 4.

Tabla 8

Formulación para la evaluación de FPS por medio de espectrofotometría y sus variaciones para cada prototipo.

Fase	Formula General		E1	E2	E3
	Ingredientes	% Base	%	%	%
A	Cetiol C5	15,400	15,385	15,331	15,246
	Emulium Dolcea	6,160	6,154	6,132	6,099
	Brij L23	2,053	2,051	2,044	2,033
B	Agua	63,203	63,140	62,919	62,571
	Glicerina	10,267	10,257	10,221	10,164
	Goma Xanthana	0,513	0,513	0,511	0,508
C	Euxyl PE 9010	1,027	1,026	1,022	1,016
	Ácido cítrico (solución al 10%)	0,144	0,144	0,143	0,142
	Extracto	0,000	0,100	0,450	1,000
	Patch H2O	1,027	1,026	1,022	1,016
	Vitamina E	0,103	0,103	0,102	0,102
	Fragancia	0,103	0,103	0,102	0,102
TOTAL		100,00	100,00	100,00	100,00

5.2.3 Evaluación de la absorbancia por medio de espectrofotometría a las cremas

Siguiendo la metodología explicada en 4.2.3 se recopilaron en la Tabla 9 los valores de absorbancia medidos, para cada uno de los prototipos (E1: 0,1%, E2:0,45% y E3:1%) y sus respectivos duplicados (D1: 0,1%, D2:0,45% y D3:1%).

Tabla 9

Absorbancias obtenidas para cada uno de los prototipos (E1:0,1%, E2:0,45% y E3:1%) y sus respectivos duplicados (D1:0,1%, D2:0,45% y D3:1%).

		Longitud de Onda(nm)						
		290	295	300	305	310	315	320
Absorbancia	E1	0,874	0,627	0,361	0,270	0,225	0,200	0,182
	D1	0,847	0,605	0,345	0,256	0,213	0,189	0,172
	Media 1	0,861	0,616	0,353	0,263	0,219	0,195	0,177
	E2	0,909	0,663	0,376	0,281	0,235	0,210	0,191
	D2	0,933	0,681	0,386	0,289	0,243	0,216	0,197
	Media 2	0,921	0,672	0,381	0,285	0,239	0,213	0,194
	E3	0,981	0,724	0,439	0,344	0,298	0,271	0,250
	D3	0,885	0,632	0,356	0,264	0,220	0,195	0,177
	Media 3	0,933	0,678	0,398	0,304	0,259	0,233	0,214

Para el cálculo de FPS de cada uno de los prototipos de crema cosmética se usó la Ecuación 3, las constantes de la Tabla 3, y las absorbancias medias previamente citadas en la Tabla 9, dando como resultado los siguientes valores, para E1 el FPS se calculó usando la media 1 dando un valor de $3,1122 \pm 0,104$, para E2 se usó la media 2 y el FPS resultante fue de $3,3284 \pm 0,033$ y el FPS de E3 se evaluó usando la media 3 dando como resultado $3,5495 \pm 0,575$.

En la Tabla 10, se establece el % de reducción de la radiación UV producida por diferentes números de FPS.

Tabla 10
Porcentaje de reducción de radiación UV vs FPS

FPS	REDUCCIÓN (%)
2	50
4	75
8	87,5
16	93,75
32	96,88
64	98,44

Nota. Adaptado de (*Dermatología Práctica. Actualización de Conocimientos y Experiencia Docente. 2007 – Segunda Edición, s. f.*).

Teniendo en cuenta los valores de reducción de la radiación UV a los diferentes números FPS en la Tabla 10, se observa una diferencia significativa entre el valor FPS de los polifenoles (4,0885) y de las cremas cosméticas (3,1122; 3,3284; 3,5495). Mientras que el extracto del grano de cacao por si solo reduce en un 75% la radiación UV, cuando se agrega a la crema cosmética reduce solamente entre un 60 y 75 % de esta misma.

Esta disminución se corrobora al observar los resultados obtenidos por Samillan (Samillan Moya, 2018) en su trabajo de investigación para determinar el factor de protección solar de una crema a base de liofilizado de cáscara de maracuyá, donde obtienen un valor FPS de 5,52 para la

crema cosmética y de 28,06 para el extracto de cascara de maracuyá. Tal como se muestra en los resultados anteriormente mencionados y los resultados obtenidos en el presente estudio, el valor FPS se ve disminuido significativamente al incorporar el extracto en formulaciones cosméticas.

El valor FPS varía dependiendo del extracto polifenólico utilizado; valores FPS encontrados para formulaciones cosméticas con extracto de Maca a concentraciones entre el 1% al 10% presentan una actividad fotoprotectora del 75% al 87,5% de reducción UV con números FPS del 5,202 al 8,354 respectivamente (Prudencio Quiroz & Bustamante Arroyo, 2018), demostrando que estos presentan actividad fotoprotectora en sus formulaciones en mayor proporción al extracto de grano de cacao.

5.2.4 Cálculo de la eficiencia dosis respuesta como filtro solar usando una aproximación espectrofotométrica

Se utilizó la Ecuación 4 para calcular el porcentaje eficiencia dosis respuesta para cada uno de los prototipos evaluados, dando como resultado los siguientes valores, para E1 el porcentaje eficiencia dosis es de 76,1219%, para E2 es de 81,4082% y para E3 el porcentaje es 86,8166%. Con estos resultados es posible concluir que entre mayor porcentaje de polifenoles se incorporen a la formulación mayor será el FPS de las cremas, igualmente, la eficiencia posee una relación directa con el FPS, esto se puede apreciar en la Ecuación 4, es por esto que crece conforme sea mayor la cantidad de polifenoles agregados. Adicionalmente, al comparar con la bibliografía fue posible concluir que el aumento del FPS es proporcional conforme se incrementa la cantidad de polifenoles (Prudencio Quiroz & Bustamante Arroyo, 2018), resultado que se cumple en este estudio.

5.3 Determinación de la capacidad antioxidante del extracto de cacao

5.3.1 Evaluación de la formulación cosmética apropiada para realizar ORAC

Se utilizó la misma formulación mencionada en 5.2.2 para realizar pruebas preliminares que buscaban estudiar la compatibilidad de la metodología ORAC con la emulsión O/W observada en la Tabla 4, para esto se realizaron diluciones de prueba en tapón fosfato pH 7,4 dando un resultado positivo al no presentar dificultad para disolverse.

La emulsión de la Tabla 4 usa el tocoferol acetato (vitamina E) como protector de la degradación de la fórmula evitando la oxidación de las grasas que dan lugar a enranciamientos que hacen que el aspecto y olor de las cremas se tornen desagradable (*Por qué se enrancian las grasas y aceites?* / Palmas, s. f.), esta materia prima, según la bibliografía, se usa en dosis que oscilan entre 0,1% y 1% p/p («Vitamina E Acetato. Tocoferol», s. f.), por lo que para el desarrollo de este proyecto se decidió usar 0,1%, 0,45% y 1% p/p de agente antioxidante. En la Tabla 11 se pueden observar los prototipos E0:0%, E1:0,1%, E2:0,45% y E3:1%, cuyo proceso de elaboración se especifica en la Tabla 4, se fabricaron 2 cremas para cada porcentaje, una con tocoferol acetato y otra con polifenoles.

Tabla 11

Formulación para la medición de la capacidad antioxidante y sus variaciones para cada prototipo.

Fase	Fórmula General		E0	E1	E2	E3
	Ingredientes	% Base	%	%	%	%
A	Cetiol C5	15,416	15,416	15,401	15,347	15,262
	Emulium Dolcea	6,166	6,166	6,160	6,139	6,105
	Brij L23	2,055	2,055	2,053	2,046	2,035
B	Agua	63,268	63,268	63,205	62,984	62,636
	Glicerina	10,277	10,277	10,267	10,231	10,175
	Goma Xanthana	0,514	0,514	0,513	0,512	0,509
C	Euxyl PE 9010	1,028	1,028	1,027	1,023	1,017
	Ácido cítrico (solución al 10%)	0,144	0,144	0,144	0,143	0,142
	Antioxidante	0,000	0,000	0,100	0,450	1,000
	Patch H2O	1,028	1,028	1,027	1,023	1,017

Fórmula General		E0	E1	E2	E3
Fase	Ingredientes	% Base	%	%	%
	Fragancia	0,103	0,103	0,102	0,102
	TOTAL	100,00	100,00	100,00	100,00

5.3.2 Estabilidad preliminar de la crema cosmética

Durante la elaboración de las cremas se hizo evidente que al agregar los polifenoles a la formulación; éstos le otorgaban una coloración como se puede apreciar en la Figura 6. Este cambio en la emulsión fue completamente esperado ya que en la Figura 7 se observa que los polifenoles poseen una tonalidad morada oscura.

Figura 6

Crema O/W con polifenoles (a), (b), (c) y crema O/W con vitamina E (d), (e), (f) en los diferentes porcentajes planteados, E1: 0,1%, E2:0,45% y E3:1%. Fotos tomadas el día 1 de la fabricación de cada prototipo.

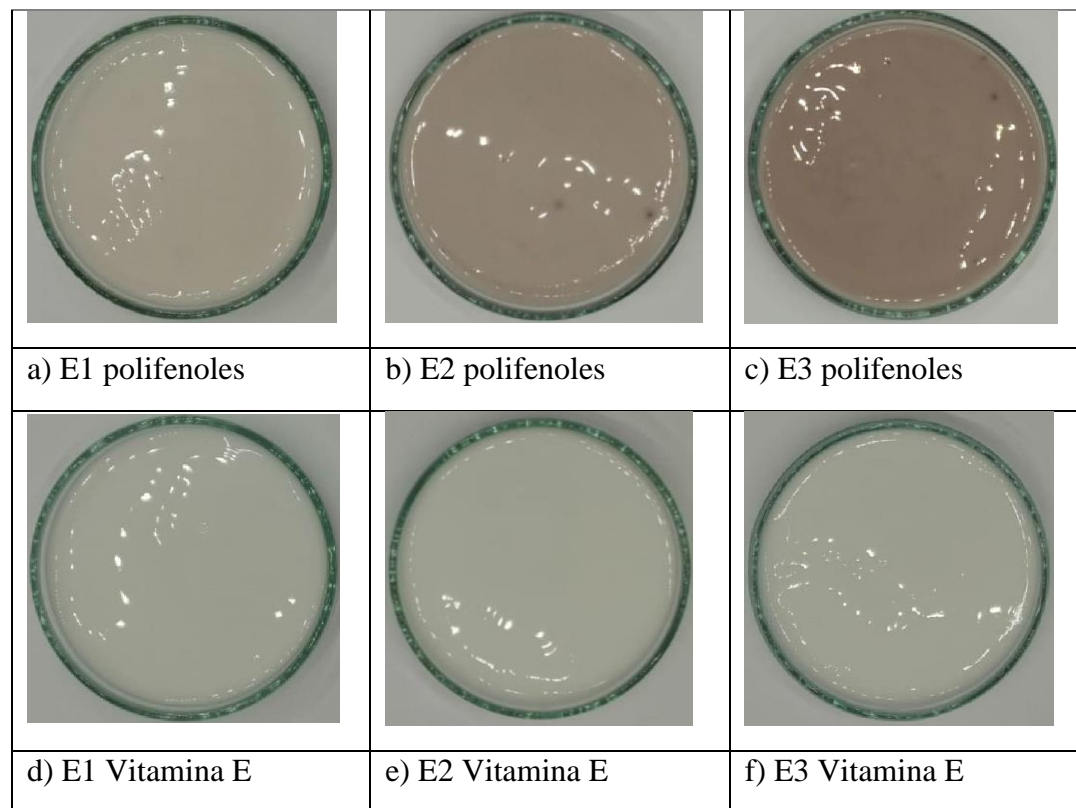


Figura 7

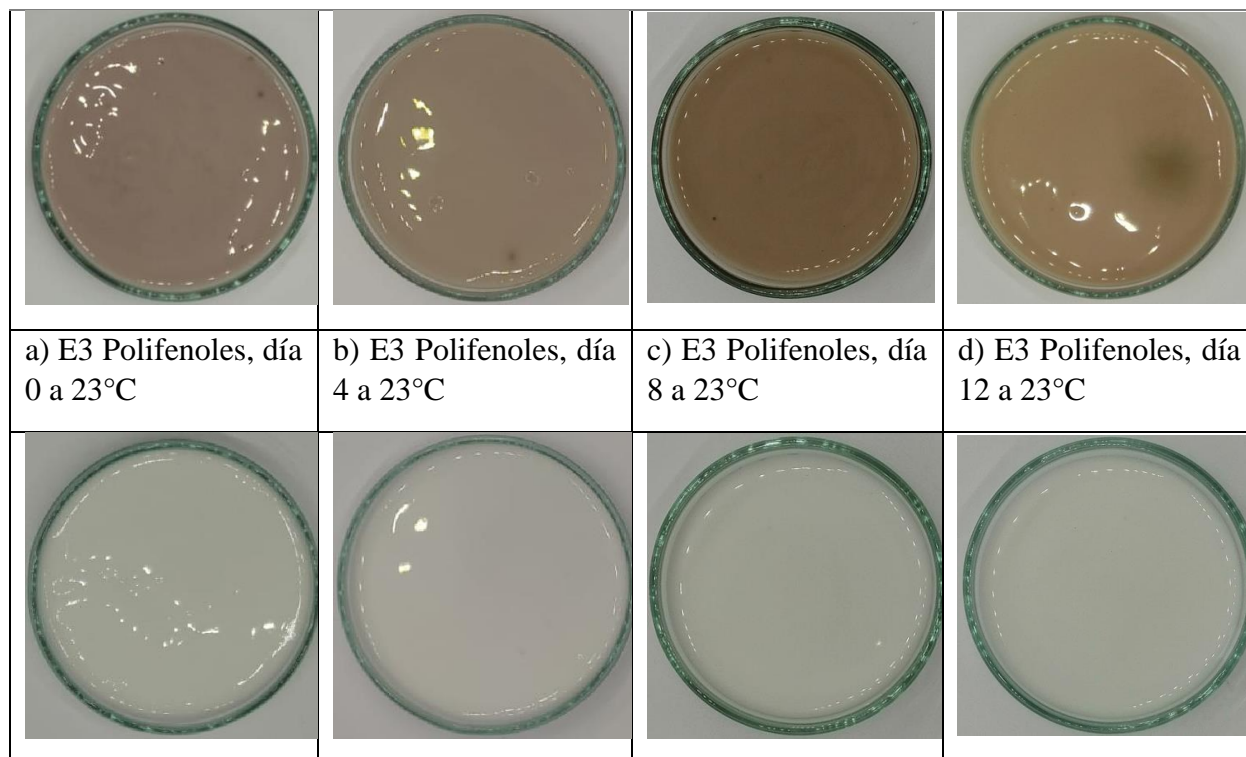
Polifenoles extraídos de granos de cacao



Igualmente se evidenció que los prototipos con polifenoles al pasar los días presentaban un cambio en su coloración, como se puede observar en la Figura 8 para las cremas con 1% p/p de polifenoles comparado con las cremas con el mismo porcentaje de Vitamina E.

Figura 8

Comparación en la coloración para una emulsión con polifenoles (a), (b), (c) y (d) y una con Vitamina E (e), (f), (g) y (h), cremas almacenadas durante 12 días a temperatura ambiente (23°C).

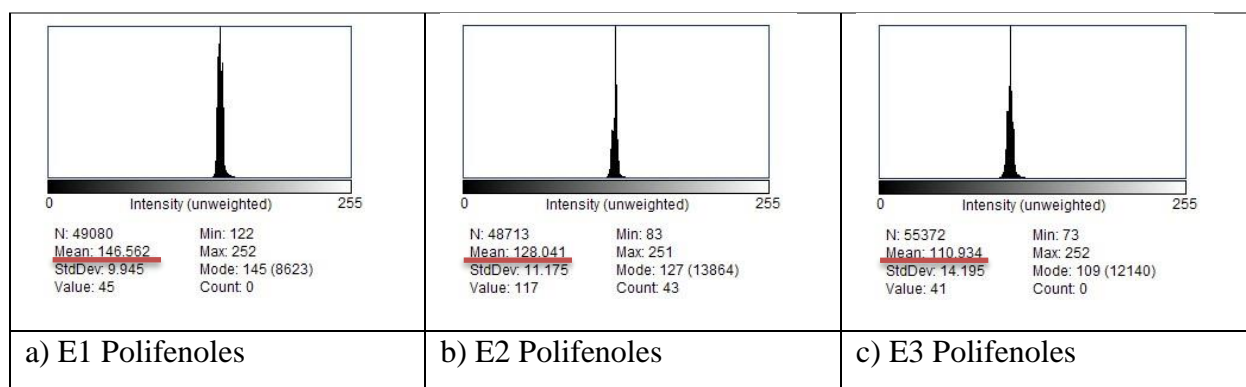


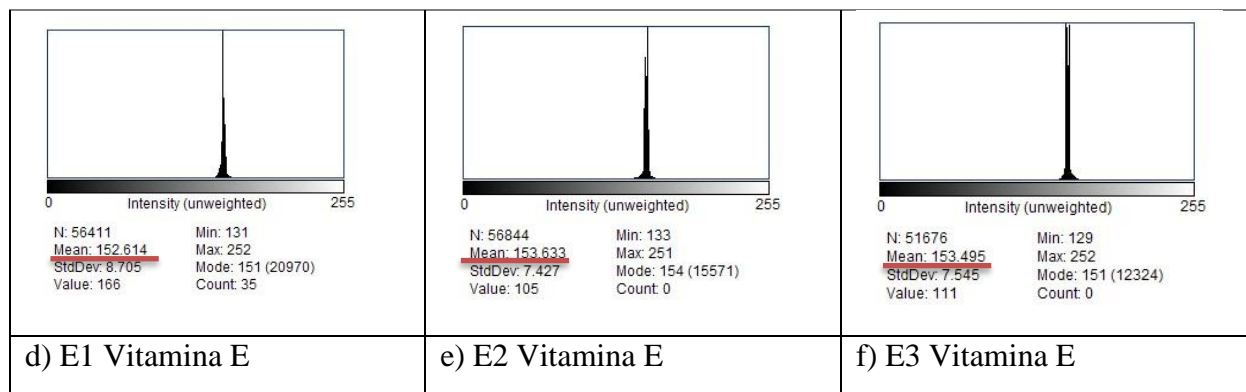
e) E3 Vitamina E, día 0 a 23°C	f) E3 Vitamina E, día 4 a 23°C	g) E3 Vitamina E, día 8 a 23°C	h) E3 Vitamina E, día 12 a 23°C
--------------------------------	--------------------------------	--------------------------------	---------------------------------

Debido a lo mencionado anteriormente, se determinó una estabilidad preliminar de 12 días a los prototipos (se llevó un registro fotográfico cada 4 días) en la que se siguió la metodología explicada en 4.3.2, esto con la intención de aclarar si el cambio de color en las cremas se debía a un proceso oxidativo o a una incompatibilidad de los polifenoles con la formulación. Se usó el Software ImageJ para analizar cuantitativamente la colorimetría por medio de histogramas donde el programa le otorgaba un valor promedio al color de la emulsión, valor que se encuentra en el rango de 225 a 0, siendo 225 el blanco y 0 el negro en escala de grises (Kunik, s. f.), de modo que entre más alto el valor asignado al prototipo, más se acercaba al color blanco la emulsión y entre más bajo el número más oscura se observaba la crema. En la Figura 9 se pueden observar los histogramas de los prototipos mostrados en la **Figura 6**.

Figura 9

Histogramas de prototipos con polifenoles (a), (b) y (c) y con vitamina E (d), (e) y (f), en azul se resalta el valor promedio otorgado por el software ImageJ a cada una de las cremas.

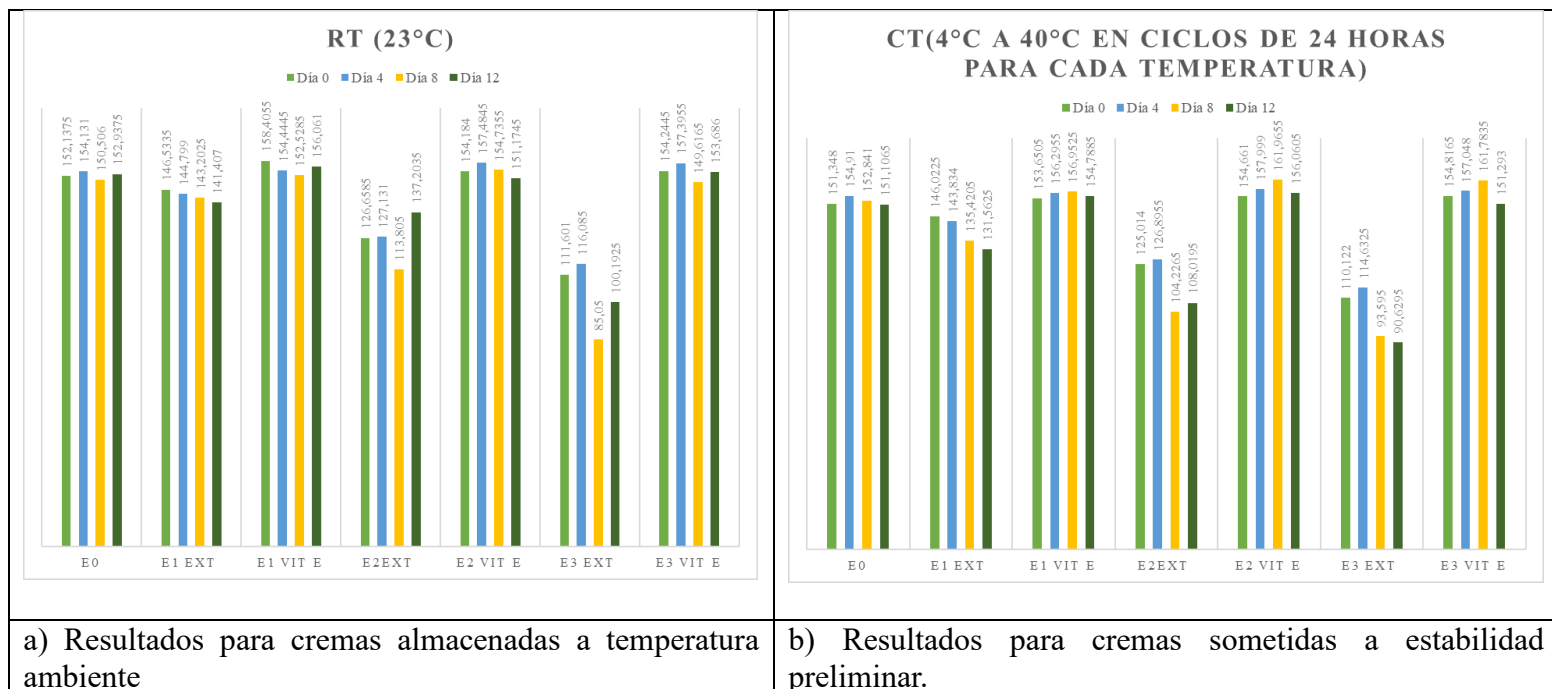




En la Figura 10 se pueden apreciar los valores promedio del mean proporcionado por los histogramas para cada uno de los prototipos durante el estudio de estabilidad preliminar (CT, Cambios de temperatura), se tomó como referencia una crema de cada prototipo almacenada a temperatura ambiente (RT, Temperatura de la habitación). Con estos resultados fue posible concluir que el cambio de color que se presenta es debido a los polifenoles, pues las emulsiones con vitamina E no presentaron un cambio significativo de color, del mismo modo la crema que no poseía ningún agente antioxidante, no presento cambios. Esto se atribuye a dos propiedades que poseen los polifenoles, su sensibilidad a luz y a la temperatura, factores que inducen una degradación en los compuestos fenólicos (*¿Qué son los polifenoles y por qué son buenos? / Newscience, s. f.*). Las emulsiones cosméticas fueron estudiadas en temperaturas y exposición lumínica superiores a las sugeridas por la bibliografía para la correcta conservación de los polifenoles liofilizados (frascos ámbar y temperatura de 4°C) (Toro-Uribe, 2018), ocasionando una clara degradación de estos lo cual se refleja en las cremas con un cambio de color.

Figura 10

Recopilación de resultados para cremas almacenadas durante 12 días a temperatura ambiente (a) y cremas sometidas a estabilidad preliminar (b).



Nota. En la ordenada Y se presentan los valores promedio otorgados por el software ImageJ para cada uno de los prototipos (eje X), estos valores oscilan entre 225 (blanco) y 0 (negro) para la escala de grises (Kunik, s. f.).

5.3.3 Evaluación de la capacidad antioxidante por el método ORAC

Siguiendo la metodología explicada en 4.3.3 se recopilieron los valores de capacidad antioxidante medidos por el método ORAC en la Tabla 12 para los prototipos (E1:0,1%, E2:0,45% y E3:1% p/p) y un blanco que no presenta polifenoles ni vitamina E en su composición (E0), con sus respectivos duplicados (D1: 0,1%, D2:0,45%, D3:1% y D0:0% p/p).

Tabla 12

Valores de capacidad antioxidante medida por el método ORAC en $\mu\text{mol/g}$ de muestra medidos a los prototipos E1, E2, E3 y E0 con sus respectivos duplicados.

ORAC ($\mu\text{mol trolox/g mtra}$)			
	Muestra	Duplicado	Valor de p
E1	1731,38 \pm 543,88	1297,21 \pm 205,96	0,5839
E2	4884,46 \pm 605,16	5282,58 \pm 448,08	0,9935
E3	9492,57 \pm 370,74	9478,47 \pm 11,05	0,9997

ORAC ($\mu\text{mol trolox/g mtra}$)			
	Muestra	Duplicado	Valor de p
E0	596,77 \pm 320,38	633,52 \pm 205,96	0,5566

Se empleó un análisis de varianza (ANOVA) como una herramienta para determinar las diferencias significativas entre las muestras y duplicados recolectados en la Tabla 12. De esta manera, se determinó que para ambas mediciones no existe variación estadísticamente relevante entre la muestra y duplicado debido a que el valor de p es en todos los casos $>0,05$ por lo que acepta la hipótesis nula.

Los valores de capacidad antioxidantes varían considerablemente entre los tres prototipos que contienen polifenoles. Se observa un aumento significativo proporcional a la cantidad de polifenoles en la crema cosmética, siendo 596,77 \pm 320,38; 1731,38 \pm 543,8; 4884,46 \pm 605,16 y 9492,57 \pm 370,74 $\mu\text{mol/g mtra}$ los valores obtenidos para las concentraciones de 0; 0,1%; 0,45% y 1% respectivamente, lo cual indica un aumento en la capacidad antioxidante en la formulación cosmética. Este mismo método fue empleado para determinar la capacidad antioxidante de diferentes clones de cacao colombiano por Zapata (Zapata Bustamante et al., 2013), encontrando que este valor varía entre 1473,22 y 2873,58 $\mu\text{mol trolox/g mtra}$. De igual manera el Grupo de Investigación en Tecnología Farmacéutica, Cosmética y de Alimentos, GITFCA, realizó mediciones de capacidad antioxidante a una emulsión de aceite esencial de *Plectranthus amboinicus* L encontrando resultados entre 1990,97 y 2010,11 $\mu\text{mol trolox/g mtra}$ (*Evaluación de indicadores físicos y químicos de una emulsión con aceite esencial de Plectranthus amboinicus L* / Pájaro Castro / *Revista Cubana de Farmacia*, s. f.); con base en estos resultados se evidencia que las formulaciones cosméticas enriquecidas con extractos polifenólicos de cacao tienen una alta

capacidad antioxidante para las formulaciones E2 y E3 teniendo en cuenta que los valores anteriormente mencionados fueron tomados de extractos puros y de una emulsión estable.

5.3.4 Comparación de la capacidad antioxidante respecto a formulación con vitamina E

Los valores obtenidos de capacidad antioxidante para las cremas con vitamina E se muestran en la Tabla 13.

Tabla 13

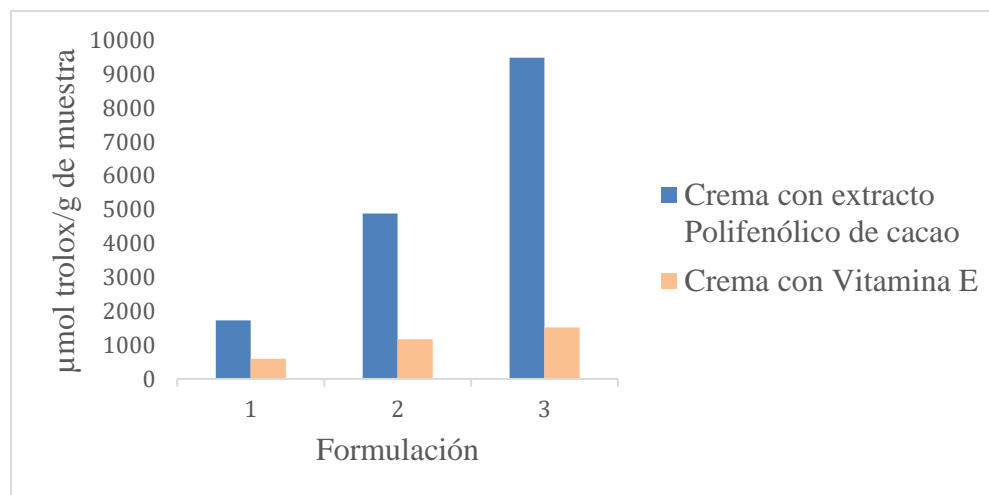
Valores de capacidad antioxidante medida por el método ORAC en $\mu\text{mol/g}$ de muestra medidos a los prototipos E1, E2 y E3 con vitamina E.

	ORAC ($\mu\text{mol/g mtra}$)
E1	1168,93 \pm 210
E2	1340,91 \pm 114,44
E3	1525,44 \pm 198

En la Figura 11, se muestra la comparación entre los valores de capacidad antioxidante, en donde se aprecia una diferencia significativa, siendo mayor para las formulaciones que contienen polifenoles en su composición, demostrando cuantitativamente que es un buen aditivo para prevenir del daño oxidativo en cremas cosméticas.

Figura 11

Comparación de la capacidad antioxidante medida por ORAC entre crema con polifenoles y crema con vitamina E.

**6. Conclusiones**

Este estudio concluye que existe un aumento en la capacidad antioxidante en la formulación cosmética cada vez que aumenta el contenido de polifenoles, mostrándose como una alternativa viable, a la vitamina E, la cual es el antioxidante comúnmente utilizado en la industria cosmética. En efecto, el extracto presentó 6 veces más capacidad antioxidante que el tocoferol, según las mediciones ORAC realizadas.

La mayor eficiencia dosis-respuesta del factor de protección solar se presenta a 1% p/p de concentración de polifenoles, con un porcentaje del 86,81% en relación con el extracto puro; además estos valores representan un factor de protección que permite el bronceado moderado con una reducción de ente 60 a 75% la radiación UV.

Con base en los datos y análisis presentados se puede concluir que, los polifenoles obtenidos a partir del grano de cacao son una buena fuente natural con un elevado potencial en el desarrollo de diferentes formulaciones en los campos de la cosmética ya sea como ingrediente principal o sinergista para actuar como protector solar o agente antioxidante. También se destaca

que esta formulación se debe conservar en condiciones específicas de temperatura y exposición a la luz, ya que presenta fotosensibilidad debido a la presencia de los polifenoles.

7. Recomendaciones

Se recomienda realizar pruebas de DPPH y FRAP a las cremas cosméticas con el fin de corroborar la capacidad antioxidante obtenida para cada uno de los prototipos evaluados.

Se sugiere realizar un estudio de estabilidad acelerada a la emulsión con polifenoles y con Vitamina E, con el fin de comparar el comportamiento mediante la determinación del “Period After Opening”.

Se recomienda evaluar el comportamiento de los polifenoles en una bb cream dado que la que las cremas obtenidas en este estudio poseían color.

Referencias Bibliográficas

- Actividad antioxidante de clones de cacao (Theobroma cacao l.) finos y aromáticos cultivados en el estado de Chiapas-México.* (s. f.). Recuperado 5 de septiembre de 2023, de http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0124-41082013000100002
- Aguilar, R., & Sofía, L. (2014). *Efecto de procesamiento sobre la estabilidad de polifenoles en extracto de mango (Mangifera indica L.)*.
- Battle, C. (2005). Factor de protección solar. *Offarm*, 24(6), 65-72.
- BOE.es—DOUE-L-2021-80676 *Reglamento (UE) 2021/850 de la Comisión de 26 de mayo de 2021 por el que se modifica y corrige el anexo II y se modifican los anexos III, IV y VI del Reglamento (CE) n° 1223/2009 del Parlamento Europeo y del Consejo, sobre los productos cosméticos.* (s. f.). Recuperado 5 de septiembre de 2023, de <https://www.boe.es/buscar/doc.php?id=DOUE-L-2021-80676>
- Colombia: La industria cosmética un sector que crece y promete.* (s. f.). Recuperado 26 de noviembre de 2022, de <https://www.legiscomex.com/Documentos/colombia-industria-cosmetica-sector-crece-promete>
- ¿Cuál es la diferencia entre rayos UVA y UVB? | Blog Garnier.* (s. f.). Recuperado 21 de septiembre de 2023, de <https://www.garnier.es/consejos-belleza/proteccion-solar/diferencias-rayos-uva-uvb>
- Dermatología Práctica. Actualización de Conocimientos y Experiencia Docente. 2007 – Segunda Edición.* (s. f.). Recuperado 5 de septiembre de 2023, de <https://blogs.sld.cu/marionod/2008/11/04/dermatologia-practica-actualizacion-de-conocimientos-y-experiencia-docente-2007-segunda-edicion/>

Díaz, N. A., Ruiz, J. A. B., Reyes, E. F., Cejudo, A. G., Novo, J. J., Peinado, J. P., Meléndez-Valdés, F. T., & Fiñana, I. T. (s. f.). 8. *Espectrofotetría: Espectros de absorción y cuantificación colorimétrica de biomoléculas*.

Efectos del sol en la piel - Videos de salud: MedlinePlus enciclopedia médica. (s. f.).

Recuperado 5 de septiembre de 2023, de

<https://medlineplus.gov/spanish/ency/anatomyvideos/000125.htm>

Emulsión Química—Concepto, fases, tipos y ejemplos. (s. f.). *Concepto*. Recuperado 26 de noviembre de 2022, de <https://concepto.de/emulsion-quimica/>

Evaluación de indicadores físicos y químicos de una emulsión con aceite esencial de

Plectranthus amboinicus L | Pájaro Castro | *Revista Cubana de Farmacia*. (s. f.).

Recuperado 5 de septiembre de 2023, de

<https://revfarmacia.sld.cu/index.php/far/article/view/43>

Evaluación de la actividad antioxidante de extractos frutales como alternativa a los antioxidantes sintéticos en preparaciones cosméticas tipo emulsión.—/. (s. f.).

Recuperado 26 de noviembre de 2022, de [https://biblioteca-](https://biblioteca-farmacia.usac.edu.gt/library/index.php?title=1563&query=@title=Special:GSMSearchPage@process=@autor=RODAS,%20A.%20@mode=&recnum=33)

[farmacia.usac.edu.gt/library/index.php?title=1563&query=@title=Special:GSMSearchPage@process=@autor=RODAS,%20A.%20@mode=&recnum=33](https://biblioteca-farmacia.usac.edu.gt/library/index.php?title=1563&query=@title=Special:GSMSearchPage@process=@autor=RODAS,%20A.%20@mode=&recnum=33)

Glosario: Radiación ultravioleta. (s. f.). Recuperado 21 de septiembre de 2023, de

https://ec.europa.eu/health/scientific_committees/opinions_layman/es/lamparas-bajo-consumo/glosario/pqrs/radiacion-ultravioleta.htm

Hernández Castillo, J. R., & Pardo Ruíz, J. D. (2015). *Estudio monográfico del uso y aplicación de productos naturales en la industria cosmética natural y ecológica*.

<https://repository.udca.edu.co/handle/11158/387>

Hernández Mesa, J. N. (2022). *Evaluación de la incorporación de una biocera para la formulación de una crema cosmética.*

Ibarra Cabrera, C. A. (2018). *Optimización del proceso de extracción por ultrasonido de polifenoles en grano, cuantificación y determinación de su capacidad antioxidante en materiales de cacao regionales de Nariño* [Monografía]. Universidad de Nariño.
<https://sired.udenar.edu.co/8164/>

Kunik, D. (s. f.). *Introducción al programa ImageJ.*

<file:///C:/Users/57317/Downloads/ImageJ.pdf>

La importancia de la fotoprotección solar en la piel del recién nacido y niño | Hospital

Universitario Virgen de la Victoria. (s. f.). Recuperado 26 de noviembre de 2022, de

<https://www.huvv.es/profesionales/revista-enfermeria-docente/la-importancia-de-la-fotoproteccion-solar-en-la-piel-del-re>

Las Ventas de Protectores Solares Crecerán 14% en 2023. (s. f.). Recuperado 5 de septiembre de 2023, de <https://www.sectorial.co/informativa-cosmetico-y-aseo-itemlist/item/651838-las-ventas-de-bloqueadores-solares-creceran-14-en-2023>

Marín, D. M. L. (s. f.). *La industria cosmética colombiana, orígenes, evolución y retos.* 63.

Materias primas para la producción de cosmética natural. (s. f.). Portal de productos del grupo PCC. Recuperado 24 de septiembre de 2023, de <https://www.products.pcc.eu/es/blog/materias-primas-para-la-produccion-de-cosmetica-natural/>

Monardez, C. S. (2014). *Uso de extractos vegetales acuosos como estrategia alternativa para el control poscosecha de Monilinia fructicola, agente responsable de la podredumbre*

morena de los frutales de carozo. Universidad Nacional de Cuyo. Facultad de Ciencias Agrarias.

Office of Dietary Supplements—Vitamina E. (s. f.). Recuperado 26 de noviembre de 2022, de <https://ods.od.nih.gov/factsheets/VitaminE-DatosEnEspanol/>

Ou, B., Hampsch-Woodill, M., & Prior, R. L. (2001). Development and Validation of an Improved Oxygen Radical Absorbance Capacity Assay Using Fluorescein as the Fluorescent Probe. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49(10), 4619-4626. <https://doi.org/10.1021/jf010586o>

Pico-Hernández, S. M., Murillo-Méndez, C. J., & López-Giraldo, L. J. (2020). Extracción, separación y evaluación del efecto antioxidante de las diferentes fracciones de polifenoles de los granos de cacao. *Revista Colombiana de Química*, 49(3), 19-27. <https://doi.org/10.15446/rcq.v49n3.84082>

Por qué se enrancian las grasas y aceites? | Palmas. (s. f.). Recuperado 5 de septiembre de 2023, de <https://publicaciones.fedepalma.org/index.php/palmas/article/view/990>

Pozzobon, F. C., Acosta, Á. E., & Castillo, J. S. (2018). Cáncer de piel en Colombia: Cifras del Instituto Nacional de Cancerología. *Revista de la Asociación Colombiana de Dermatología y Cirugía Dermatológica*, 26(1), Article 1. <https://doi.org/10.29176/2590843X.25>

Prudencio Quiroz, J. M., & Bustamante Arroyo, E. V. (2018). Determinación in vitro de la actividad fotoprotectora UVB en una crema de protección solar formulada con extracto hidroglicólico de *Lepidium meyenii* (maca). *Universidad Nacional Mayor de San Marcos*. <https://cybertesis.unmsm.edu.pe/handle/20.500.12672/7820>

¿Qué es el ORAC? (s. f.). Ask The Scientists. Recuperado 5 de septiembre de 2023, de <https://askthescientists.com/es/qa/que-es-el-orac/>

¿Qué es la absorbancia, medición de absorbancia, ensayos de absorbancia | Molecular Devices. (s. f.). Recuperado 21 de septiembre de 2023, de <https://www.moleculardevices.com/technology/absorbance>

¿Qué son los polifenoles y por qué son buenos? | Newscience. (s. f.). Recuperado 5 de septiembre de 2023, de <https://newscience.cl/los-polifenoles-buenos/>

Quiñones, M., Miguel, M., & Aleixandre, A. (2012). Los polifenoles, compuestos de origen natural con efectos saludables sobre el sistema cardiovascular. *Nutrición Hospitalaria*, 27(1), 76-89.

Quizhpi Cuesta, N. C. (2019). *Evaluación in vitro de la actividad fotoprotectora de los extractos alcohólico y glicólico de la cáscara de papa (Solanum tuberosum L.) variedad superchola para su uso en la elaboración de un protector solar* [bachelorThesis]. <http://dspace.ups.edu.ec/handle/123456789/17968>

Rosevear, J. W., Siciliano, M., Dobkowski, B. J., Dasgupta, B. R., & Huang, L. (2010). *Emulsiones cosméticas de agua en aceite con filtros solares orgánicos y ácido linoleico conjugado* (Patent ES2333475T3). <https://patents.google.com/patent/ES2333475T3/es>

Samillan Moya, A. (2018). Capacidad antioxidante, regeneradora y factor de protección solar del liofilizado de *Passiflora edulis* “maracuyá” y desarrollo de una crema. *Universidad Nacional de Trujillo*. <http://dspace.unitru.edu.pe/handle/UNITRU/9705>

Técnicas espectrofotométricas de absorción ultravioleta-visible (página 2). (s. f.). Recuperado 5 de septiembre de 2023, de <https://www.monografias.com/trabajos106/tecnicas->

espectrofotometricas-absorcion-ultravioleta-visible/tecnicas-espectrofotometricas-absorcion-ultravioleta-visible2

Tendencias de Mercado de los Productos Naturales—All Natural | Prodotti Stella. (s. f.).

Recuperado 24 de septiembre de 2023, de

<https://www.prodottistella.com/es/landing/allnaturalgelato-tendencia.html>

Toro-Uribe, S. (2018). *Encapsulation of antioxidants from Theobroma Cacao L. for food applications: In vitro bioaccessibility and kinetic release profile.*

<https://digital.csic.es/handle/10261/195999>

Toro-Uribe, S., López-Giraldo, L. J., & Decker, E. A. (2018). Relationship between the Physiochemical Properties of Cocoa Procyanidins and Their Ability to Inhibit Lipid Oxidation in Liposomes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 66(17), 4490-4502. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.8b01074>

Torrado Durán, S., & Torrado Durán, S. (1994, julio 7). *Estudio farmacéutico de nuevas formulaciones galénicas de Albendazol* [Info:eu-repo/semantics/doctoralThesis].

Universidad Complutense de Madrid, Servicio de Publicaciones.

<https://eprints.ucm.es/id/eprint/3890/>

Vitamina E Acetato. Tocoferol. (s. f.). *Instituto de Dermocosmética.* Recuperado 26 de noviembre de 2022, de <https://www.institutodermocosmetica.com/fichas-tecnicas/antioxidantes/vitamina-e-acetato-tocoferol/>

Wollgast, J., & Anklam, E. (2000). Review on polyphenols in Theobroma cacao: Changes in composition during the manufacture of chocolate and methodology for identification and quantification. *Food Research International*, 33(6), 423-447.

[https://doi.org/10.1016/S0963-9969\(00\)00068-5](https://doi.org/10.1016/S0963-9969(00)00068-5)

Zapata Bustamante, S., Tamayo Tenorio, A., & Alberto Rojano, B. (2013). Efecto de la fermentación sobre la actividad antioxidante de diferentes clones de cacao colombiano.

Revista Cubana de Plantas Medicinales, 18(3), 391-404.