



POSGRADOS

Maestría en

PRODUCTOS

FARMACÉUTICOS NATURALES

RPC-SO-09-NO.174-2020

Opción de Titulación:

Tesis

Tema:

Capacidad antioxidante en una crema y un gel elaborados a base de extractos hidroalcohólicos y eutécticos profundos de *Solanum nigrum L.*

Autor(es)

Jhonatan Isaac Criollo Criollo

Jessica Carolina Becerra Noguera

Director:

Tatiana De Los Ángeles Mosquera
Tayupanta

QUITO – Ecuador

2022

Autor(es):



Jhonatan Isaac Criollo Criollo

Ingeniero Químico

Candidato a Magíster en Productos Farmacéuticos Naturales por la Universidad Politécnica Salesiana – Sede Quito.

criollojon@gmail.com



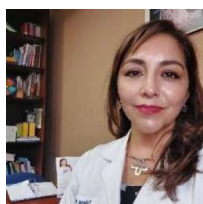
Jessica Carolina Becerra Noguera

Química Farmacéutica

Candidata a Magíster en Productos Farmacéuticos Naturales por la Universidad Politécnica Salesiana – Sede Quito.

jecabeno@hotmail.com

Dirigido por:



Tatiana de los Ángeles Mosquera Tayupanta

Bioquímica Farmacéutica

Magíster en ciencias y tecnologías cosméticas

tmosquera@ups.edu.ec

Todos los derechos reservados.

Queda prohibida, salvo excepción prevista en la Ley, cualquier forma de reproducción, distribución, comunicación pública y transformación de esta obra para fines comerciales, sin contar con autorización de los titulares de propiedad intelectual. La infracción de los derechos mencionados puede ser constitutiva de delito contra la propiedad intelectual. Se permite la libre difusión de este texto con fines académicos investigativos por cualquier medio, con la debida notificación a los autores.

DERECHOS RESERVADOS

2022 © Universidad Politécnica Salesiana.

QUITO– ECUADOR – SUDAMÉRICA

Jhonatan Isaac Criollo Criollo; Jessica Carolina Becerra Noguera

“Capacidad antioxidante en una crema y un gel elaborados a base de extractos hidroalcohólico y eutécticos profundos de *Solanum nigrum* L.”

DEDICATORIA

Jhonatan Isaac Criollo Criollo

Dedico este proyecto a las personas más importantes para mi vida, mi familia, por la confianza depositada en mi persona, el amor incondicional y sobre todo por la apertura e insuperable apoyo que me han extendido a lo largo de mi formación académica y profesional. Con una dedicatoria especial hacia mi madre que ha sido una inspiración y modelo de paciencia, sabiduría e integridad en todos los aspectos de la vida junto con mi padre, que en su tiempo fue el mejor modelo de sabiduría, amor, gracia y pasión sincera. Por último, dedico este proyecto a Dios debido a la oportunidad que me ha brindado de compartir esta experiencia de crecimiento.

Jessica Carolina Becerra Noguera

Este proyecto lo dedico a mi amada familia, a mis mejores amigos, a mi cómplice de alegrías y tristezas, pero especialmente a mi hermana quién ha sido el pilar fundamental para este trabajo por su paciencia y cariño. Ellos han sido quienes me han regalado su fortaleza, durante.

AGRADECIMIENTO

Jhonatan Criollo

Quisiera agradecer considerablemente a mi familia por la confianza, visión y amor que me han brindado en cada etapa del desarrollo de este proyecto de estudio. Inspirándome y apoyándome en absolutamente todo momento. Sobre todo, a mi madre María Isabel que siempre ha creído en mi capacidad personal y a mi padre José Juan que en el tiempo que compartió con nosotros, siempre veló por mi bienestar e inteligencia emocional. Agradezco a la docente y modelo profesional Lourdes Orejuela por la transmisión de conocimientos, innovación y sobre todo por la calidad de persona que es. Ha sido un modelo de inspiración para apasionarme por la ciencia. También agradezco a la docente Tatiana Mosquera y directora de este proyecto, por su apertura y seguimiento emitido en todo momento del proyecto, así como su fe y motivación para el desarrollo de este proyecto. Por último, agradezco a Dios por el hecho de tener esta oportunidad y el gran reto que ha sido superar este programa de cuarto nivel.

Jessica Becerra

Agradezco a mis maestros, especialmente al director y tesis, el Dr. Paco Noriega y a mí tutora de tesis la Dra. Tatiana Mosquera por el soporte y orientación brindados en este tiempo de estudio, a mi compañero de investigación Jhonatan Criollo por su colaboración y dedicación en todo momento, a la universidad por la apertura de nuevas experiencias y por el conocimiento otorgado.

Tabla de Contenido

Resumen.....	8
Abstract	10
1 Introducción.....	12
2 Determinación del Problema	14
3 Objetivos.....	15
3.1 Objetivo General	15
3.2 Objetivos Específicos	15
4 Marco teórico referencial	16
4.1 Antecedentes	16
4.2 <i>Solanum nigrum L.</i>	18
4.2.1 Clasificación taxonómica:.....	18
4.2.2 Hábitat y distribución:.....	19
4.2.3 Propiedades y usos etnomédicos:.....	19
4.2.4 Fitoconstituyentes de <i>Solanum nigrum L.</i> :	20
4.3 Cosmética.....	21
4.3.1 Definición de cosméticos	22
4.3.2 Formas cosméticas.....	22
4.4 Extractos naturales.....	30
4.5 Métodos comunes de preparación de extractos	30
4.6 Métodos comúnmente utilizados en la extracción de plantas medicinales. ...	31
4.7 Solventes comunes utilizados para obtener extractos	32
4.8 Solventes Eutécticos Profundos	34
4.9 Estudio Del Mercado De La Industria Cosmética Con Respecto A Productos Anti-Edad	35
5 Materiales y metodología	38
5.1 Recolección de material vegetal.....	38
5.2 Limpieza y pretratamiento del material vegetal.....	38
5.3 Preparación de solventes para extracción.....	38
5.3.1 Ácido cítrico – glucosa.....	39
5.3.2 Ácido cítrico – glucosa – fructosa – agua.....	39
5.3.3 Betaína – glicerina – agua	39
5.3.4 Ácido cítrico – Betaína – agua	39

5.4	Método de extracción maceración.....	40
5.4.1	Maceración en etanol 96°	40
5.4.2	Método de extracción maceración asistida por ultrasonido	40
5.5	Cuantificación de fenoles totales en extractos.....	40
5.5.1	Preparación de reactivo de Folin-Ciocalteu.....	40
5.5.2	Preparación de soluciones patrón de ácido gálico	41
5.5.3	Lectura en espectrómetro UV-VIS.....	41
5.6	Elaboración de crema antioxidante.....	42
5.7	Elaboración de gel antioxidante	44
5.8	Cuantificación de capacidad inhibitoria de radicales DPPH y determinación de capacidad antioxidantes	45
5.8.1	Preparación de reactivo DPPH	45
5.8.2	Curva de calibración con ácido ascórbico como solución patrón	45
5.8.3	Adecuación de extractos para lectura en espectrofotómetro.....	46
5.8.4	Procesamiento de las muestras crema y gel	46
5.8.5	Adecuación de las muestras para lectura por espectrometría ultravioleta (UV) de extractos y formulaciones.....	47
6	Resultados	49
6.1	Maceración de Solanum nigrum L.	49
6.2	Características sensoriales de la crema y gel.....	50
6.3	Cuantificación de fenoles totales en extractos.....	51
6.4	Capacidad inhibitoria y actividad antioxidante relativa de extractos	58
6.4.1	Curvas de calibración con ácido ascórbico	58
6.4.2	Capacidad inhibitoria de radicales DPPH y concentraciones equivalentes en ácido ascórbico para las diferentes concentraciones de extractos.	59
6.4.3	Capacidad inhibitoria y actividad antioxidante relativa de crema/gel antioxidante.....	70
6.4.4	Capacidad inhibitoria y actividad antioxidante relativa de crema/gel antioxidante.....	74
7	Discusiones	79
8	Conclusiones	82
	Referencias	83

Capacidad antioxidante de una crema y un gel elaborados a base de extractos alcohólico y eutécticos profundos de *solanum nigrum l.*

Autor(es):

JHONATAN ISAAC CRIOLLO CRIOLLO. JESSICA
CAROLINA BECERRA NOGUERA

Resumen

Entre las especies vegetales de amplio uso medicinal se encuentra *Solanum nigrum* Linn, perteneciente a la familia de las solanáceas, conocida como “Hierba Mora”, es una planta nativa de América, todas las partes de esta planta se utilizan en la medicina tradicional como tratamiento para diversas enfermedades, especialmente: tos, fiebre, asma, enfermedades de la piel, del aparato gástrico y problemas hepáticos, estas propiedades se le atribuyen a sus compuestos químicos: alcaloides, flavonoides, taninos, saponinas, glucósidos, proteínas, carbohidratos, cumarinas y fitoesteroles. Este espécimen es de interés para la industria cosmética, por sus diversos mecanismos de neutralización de especies reactivas de oxígeno (EROs), que se originan por factores endógenos propios del metabolismo y también por factores exógenos, como exposición a: luz solar, ordenadores; que desencadenan en la población envejecimiento prematuro.

En el presente estudio se extrajeron compuestos fenólicos de *S. nigrum* Linn en extractos hidroalcohólico y eutécticos profundos macerados por 72 y 168 horas, en etanol al 96°, ácido cítrico: glucosa, en proporción molar 1:1, ácido cítrico: glucosa: fructosa: agua, en relación molar 1:1:1:9, ácido cítrico: betaína: agua en proporción molar 1:1:1, y betaína: glicerina: agua en proporción molar 1:2:1 con 5% adicional de agua; evaluando la capacidad inhibitoria de los extractos por el método químico de 2,2- difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH). Posteriormente se desarrolló formulaciones antioxidantes de una crema y gel cosmético empleando los extractos a una concentración del 2, 5 y 10%. Se determinó que todos los extractos y las formulaciones tienen capacidad inhibitoria de radicales DPPH, pero fue mayor en el extracto eutéctico de betaína: glicerina: agua, puesto que inhibió un 24.92% de los radicales DPPH en el gel y 18.95% de los radicales DPPH en la crema. Esto plantea la posibilidad de que la industria cosmética podría considerar a los solventes eutécticos para reemplazar a los solventes tradicionales, como una alternativa saludable para la población y amigable con el medio ambiente.

Palabras clave:

Extractos eutécticos, extracto alcohólico, gel, crema, *Solanum nigrum* L., maceración

Abstract

Among the plant species of wide medicinal use is *Solanum nigrum* Linn, belonging to the Solanaceae family, known as "Hierba Mora", it is a plant native to America. All parts of this plant are used in traditional medicine as a treatment for various diseases, especially cough, fever, asthma, skin diseases, gastric system and liver problems, these properties are attributed to its chemical compounds: alkaloids, flavonoids, tannins, saponins, glycosides, proteins, carbohydrates, coumarins and phytosterols. This specimen is of interest to the cosmetics industry, due to its various neutralization mechanisms of reactive oxygen species (ROS), which are caused by endogenous factors of metabolism and also by exogenous factors, such as exposure to: sunlight, computers; that trigger premature aging in the population.

In the present study, phenolic compounds were extracted from *S. nigrum* Linn in hydroalcoholic and deep eutectic extracts macerated for 72 and 168 hours, in 96° ethanol, citric acid: glucose, in a 1:1 molar ratio, citric acid: glucose: fructose: water, in a 1:1:1:9 molar ratio, citric acid: betaine: water in a 1:1:1 ratio and betaine: glycerin: water in a 1:2:1 ratio with an additional 5% water; evaluating the inhibitory capacity of the extracts by the chemical method of 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH). Subsequently, antioxidant formulations of a cosmetic cream and gel were developed using the extracts at a concentration of 2, 5 and 10%. It was determined that all the extracts and formulations have an inhibitory capacity for DPPH radicals, but it was greater in the eutectic extract of Betaine: glycerin: water, since it inhibited 24.92% of the DPPH radicals in the gel and 18.95% of the DPPH radicals. In the cream This raises the possibility that the cosmetic industry could consider eutectic solvents to replace traditional solvents, as a healthy alternative for the population and friendly to the environment.

Keywords:

Eutectic extracts, alcoholic extract, gel, cream, Solanum nigrum L., maceration

1 Introducción

En la actualidad la tecnología es una herramienta indispensable que contribuye al desarrollo de la sociedad. Los dispositivos como ordenadores, tabletas digitales, televisores y móviles forman parte del entorno común, contribuyen ampliamente en el desarrollo de la sociedad e industria. Sin embargo, la luz azul o luz visible de alta energía que emiten algunos dispositivos, es la responsable del efecto oxidativo y anti proliferativo en piel, ocasionando una hiperpigmentación. La luz artificial (Lorrio et al., 2020, pág. 988) en conjunto con la luz solar (Vega, 2011, pág.134), son causantes de un fotoenvejecimiento prematuro de la piel al estar expuesta a radiación ultravioleta induce la formación de especies reactivas de oxígeno (ERO). (Púmariega, et al., 2009, pág.71)

Adicionalmente, existen los factores endógenos causantes de especies reactivas, producidas a partir del metabolismo mitocondrial, provocando un daño progresivo, por el consumo de oxígeno en el proceso metabólico aeróbico mitocondrial, que posteriormente es convertido en ERO. (Campos & Barzuna, 2004,págs.33-47)

Las ERO, son derivados de la cadena respiratoria mitocondrial, incluyendo el anión superóxido, el cual favorece la liberación de hierro libre que es tóxico para el organismo. El superóxido puede convertirse en peróxido de hidrógeno por la acción de la enzima peróxido dismutasa, este reacciona con el hierro libre y produce el radical hidroxilo capaces de dañar el ADN, proteínas y membranas lipídicas. (Campos & Barzuna, 2004, págs.33-47) A nivel cutáneo las ERO pueden provocar acumulación de lesiones oxidativas en algunas moléculas como colágeno y elastina; también pueden inducir la degradación de los mucopolisacáridos de la matriz extracelular, que favorece la acumulación de moléculas de lipofuscina o pigmento de envejecimiento en los tejidos. (Ramos, & Alcalá, 2010, pág.273)

El bloqueo del proceso de oxidación de estas especies reactivas, puede realizarse a través del uso de antioxidantes presentes en plantas, puesto que poseen moléculas

con capacidad de neutralizar o inhibir radicales libres, con efectividad dependiente de la concentración de antioxidantes, estabilidad y del vehículo que los contiene (Avello, 2006, pág.164). Algunos extractos han demostrado actividad anti proliferativa, anti carcinogénica, efecto fotoprotector y efecto anti envejecimiento en administración por vía tópica. (Ramos, & Alcalá, 2010, pág.273) Como consecuencia, las industrias cosméticas y farmacéuticas han incrementado su inversión en estudiar las propiedades de especies vegetales con efecto terapéutico, aplicando técnicas como la cromatografía y espectrometría además del estudio de extractos de plantas en ensayos in vitro e in vivo (González Minero & Bravo Díaz, 2017, pág.10), con el objetivo de desarrollar formas cosméticas que incluyan en su formulación sustancias antioxidantes (Abril-Ibarra, 2022, pág.3) y así responder al creciente mercado en productos para mitigar el efecto de envejecimiento a nivel dérmico.

Por otro lado, gracias al conocimiento ancestral se han identificado plantas con beneficios medicinales, como en el caso de *Solanum nigrum* Linn; caracterizado por sus propiedades antibacterianas, antiinflamatorias, antitumorales y antioxidantes (Chen et al., 2022, pág. 2), que hacen de esta especie, un material de interés para el desarrollo de formulaciones cosméticas.

2 Determinación del Problema

En los seres humanos se produce una serie de reacciones químicas una de ellas es la oxidación ocasionada por diversos factores sobre todo los factores externos, específicamente la luz del sol, que se caracteriza por lesionar las células del tejido epidérmico, promoviendo el envejecimiento celular y aumentando el riesgo de cáncer.

Los antioxidantes presentes en las plantas son compuestos de gran interés, por sus benéficas implicaciones para la salud humana; desarrollo tecnológico y comercial de alimentos, medicamentos y cosméticos, debido a su poder neutralizante de radicales libres, proporcionan un valor agregado en cada producto. *Solanum nigrum* L., se ha utilizado en la medicina tradicional de diferentes partes del mundo para curar un sinnúmero de enfermedades, por su actividad antitumoral, antibacterial y antioxidante. (Chen et al., 2022, pág 2),

Considerando su acción farmacológica y la presencia de sus componentes activos despierta interés a los investigadores para innovar formulaciones con *Solanum nigrum* L., identificando su actividad antioxidante y sus posibles aplicaciones en la industria farmacéutica, cosmética o de alimentos.

Problema: Se desconoce si los compuestos fenólicos de *Solanum nigrum* Linn, pueden ejercer efecto antioxidante

Hipótesis: Los radicales libres pueden ser neutralizados por los compuestos fenólicos de *Solanum nigrum* Linn, capacidad determinada por medio de ensayos in vitro.

3 Objetivos

3.1 Objetivo General

Determinar la capacidad antioxidante de una crema y gel elaborados con extractos hidroalcohólico y eutécticos profundos de *Solanum nigrum* L.

3.2 Objetivos Específicos

Extraer compuestos fenólicos de las hojas de *Solanum nigrum* L. (hierbamora) con solventes eutécticos profundos e hidroalcohólico y cuantificar en cada extracto los fenoles totales por el método de Folin-Ciocalteu.

Desarrollar una crema y un gel tópico incorporando los extractos de *Solanum nigrum* L.

Determinar el mayor porcentaje de inhibición de radicales libres en las formulaciones de la crema y el gel con 2%, 5% y 10% de extractos hidroalcohólico y eutécticos profundos de *Solanum nigrum* L., utilizando el método espectrofotométrico con el radical 1,1-difenil-2-picrilhidrazil (DPPH).

4 Marco teórico referencial

4.1 Antecedentes

Los países megadiversos de América son: Ecuador, Brasil, Colombia, Perú, Venezuela, México y finalmente los Estados Unidos; mientras que en Oceanía abarcan países como Australia y Papúa Nueva Guinea; en el continente africano corresponden a regiones como Madagascar, República Democrática del Congo y Sudáfrica; en el continente asiático, los países correspondientes son: Indonesia, India, Filipinas, Malasia y China.

Estos países albergan aproximadamente el 70% de la biodiversidad del planeta, en América Latina y el Caribe comprenden aproximadamente el 60% de la vida terrestre, con diversa flora y fauna (Baeza & Del Villar, 2020). Ecuador, sobresale por ser el más megadiverso, al considerar la relación de área superficial territorial y cantidad de especies, a pesar de ser la nación más pequeña a diferencia de los mencionados previamente, abarcando aproximadamente un área superficial terrestre apenas al 0.19% del planeta (Banco Mundial, 2020)

Varios estudios permiten identificar la biodiversidad floral como una fuente relevante de materias primas para el sector cosmético, considerando, además la tendencia de dicho sector en fomentar procesos de producción sostenibles, sustentables e incluyentes (Cossio et al., 2016, pág. 2).

Solanum nigrum L. (Solanaceae) se ha utilizado ampliamente en la medicina tradicional de Bangladesh y otras partes del mundo para curar trastornos hepáticos, enfermedades crónicas de la piel (psoriasis y tiña), condiciones inflamatorias, períodos dolorosos, fiebres, diarreas, enfermedades oculares, etc.

De hecho, existen estudios con respecto a la especie *Solanum nigrum L.* que demuestran su potencial en distintos sectores. En Nigeria, las semillas y hojas de la especie *Solanum nigrum L.* variedad *virginicum* presentan un contenido considerable de proteína 24.90 y 17.63% correspondientemente, fibras

aproximadamente 6.25% para ambos, cenizas 10.18 y 8.05%, carbohidratos 53.51 en semillas y 55.85% en hojas (Akubugwo et al., 2007, pág.323). Valores que respaldan su potencial aplicación para la industria alimenticia como fuente de proteínas y minerales sin embargo, también presentan un alto contenido de oxalatos y cianuros (Akubugwo et al., 2007, pág.325), factores anti nutricionales, que deben ser reducidos a través de un tratamiento térmico u otras prácticas. Por lo tanto, las hojas y semillas de esta especie poseen potencial como harinas proteicas o suplementos de minerales para la fabricación de preparados alimenticios.

Por otro lado, en la República Democrática del Congo, se realizó un estudio de las propiedades del aceite de las semillas de la especie *Solanum nigrum L.*, donde encontraron que el contenido del lípido en el material seco de las semillas es del 34.5 al 37.5%, además este aceite se encontraba constituido principalmente por ácido linoleico 67.9% junto con ácido palmítico, esteárico y ácidos oleicos (Dhellot et al., 2006, pág. 989). Este estudio determinó que las semillas de la especie poseen un alto contenido en lípidos y minerales, el alto contenido en ácido linoleico puede ser aprovechado por la industria alimenticia. A su vez, el alto contenido de materia insaponificable (color verdoso) presenta potenciales aplicaciones para la industria cosmética (Dhellot et al., 2006, pág.990).

En la India, se evaluó la capacidad antioxidante de los extractos en metanol, cloroformo y acetona de hojas y frutos de dos especies tradicionalmente utilizadas en esta cultura, *Solanum nigrum L.* y *Solanum toivum*. Donde determinaron que los extractos presentaban capacidad antioxidante utilizando el método de eliminación de radicales (DPPH), donde la mayor cantidad de fenólicos totales fue significativamente más alta en los extractos de cloroformo, seguidos de los de acetona y en metanol. (Loganayaki et al., 2010, pág. 126) Ambos exhibieron capacidad con una correlación significativa al contenido fenólico total, de gran utilidad tanto para la industria alimenticia como para la cosmética.

A la especie *Solanum nigrum L.* también se le atribuye ciertas actividades terapéuticas, cuando es utilizado como coadyuvante para el tratamiento de las

ulceras gástricas, de hecho en el 2006, se realizó un estudio con modelo animal (*in vivo*) donde se encontró que los extractos de la fruta de la especie bloquean la secreción de ácidos por la inhibición de una enzima (H+K+ATPasa) y disminuye las secreciones gástricas además, en dicho estudio sugieren que la especie posee propiedades antiulcerogénicas así como propiedades curativas de úlceras. (Jainu & Devi, 2006, pág.156)

Para la industria cosmética, la especie *Solanum nigrum L.* puede ser utilizada tópicamente como cicatrizante, al unirse a la piel genera una capa protectora que induce la regeneración de tejidos por otro lado, a través de la coagulación de proteínas de la dermis disminuye la permeabilidad, secreción, inflamación y escozor. (Carrera & Gil, 2019, pág.94)

En Ecuador específicamente en el cantón Tulcán de la provincia del Carchi, se emplea esta planta como potente cicatrizante y como coadyuvante para el cáncer. Considerando su actividad terapéutica y presencia de potenciales grupos funcionales de interés para la industria, se plantea la investigación con los extractos de *Solanum nigrum L.* para la formulación de productos cosméticos (crema y gel) con el objetivo de demostrar su capacidad antioxidante, efectividad y posible potencial económico para el aprovechamiento de esta especie.

4.2 *Solanum nigrum L.*

4.2.1 Clasificación taxonómica:

- División – Subdivisión: Embryophyta
- Clase: Angiosperma
- Orden: Dicotiledonea
- Suborden: Tubeflora
- Familia: Solanaceae
- Género: Solanum

4.2.2 Hábitat y distribución:

Solanum nigrum L. solo se cultiva parcialmente en algunos países como África e Indonesia, esta especie se desarrolla espontáneamente como malas hierbas en campos sembrados, o debajo de árboles, a lo largo de cercas y caminos, en áreas sombreadas, cerca de edificios y en terrenos baldíos. Por lo tanto, constituyen un cultivo voluntario. (Mohamed et al., 2009,pág. 392)

En Ecuador se distribuye desde el nivel del mar hasta los 3.048 metros de altura, es una especie bastante común en los bosques húmedos, como en la amazonia y aledaña a zonas agrícolas, esta especie es tolerante a condiciones extremas como pH ácidos o alcalinos, si bien se adapta a condiciones de estrés y baja fertilidad, prefiere los suelos con alto contenido de nitrógeno y fósforo. (Tafur et al., 2020, pág.160)

4.2.3 Propiedades y usos etnomédicos:

Todas las partes de la planta; tallos, bayas, hojas, flores se emplean para fines medicinal, especialmente las hojas se utilizan como cataplasma para las articulaciones reumáticas y gotosas, se le atribuyen propiedades como sedante (Deprime el sistema nervioso central – SNC y los reflejos de la médula espinal), antiinflamatoria, antitusígena, antiespasmódico, antiasmático y tratamiento de herpes zóster. La planta también es eficaz para curar la cardiopatía, la lepra, las hemorroides, la nefropatía, la oftalmopatía, la hidropesía y la debilidad general. (Mohamed et al., 2009, págs.342-343)

Además, se utiliza como remedio para tratar otras enfermedades tales como: fiebre, enfermedades de la piel y problemas hepáticos. (Tafur et al., 2020, pág.166) Sin mencionar aún que presenta actividad antitumoral, antibacterial y antioxidante. (Chen et al., 2022, pág 2)

4.2.4 Fitoconstituyentes de *Solanum nigrum* L.:

Solanum nigrum L. contiene alcaloides, flavonoides, taninos, saponinas, glucósidos, proteínas, carbohidratos, cumarinas, fitoesteroles y glicoproteínas que muestran actividad antitumoral.

Estudios han demostrado el aislamiento de una nueva glicoproteína 150 KDa de esta planta, que está conformada por 69,74 % de carbohidratos y un contenido de proteínas 30,26 % que contienen más del 50 % de aminoácidos hidrofóbicos como la glicina y la prolina. Se ha informado que la glicoproteína tiene un efecto citotóxico sobre la línea celular de cáncer de mama (MCF-7) y que el extracto etanólico tiene efectos antiproliferativos, apoptóticos y citotóxicos sobre las células MCF-7 (Mohamed et al., 2009, pág.344) Las MCF-7 son empleadas en múltiples investigaciones de medicamentos contra el cáncer, puesto que los modelos *in vitro* son fáciles de adaptar a un modelo *in vivo*. (Babeş, COMŞA, CÎMPEAN, & RAICA, 2015, pág. 3148) También, el extracto de hojas se puede administrar tanto como profiláctico como complemento terapéutico para la eliminación de radicales libres; debido a que la actividad antioxidante de la proteína se ha evaluado por método de DPPH, radical superóxido y ensayo de radical hidroxilo. (Mohamed et al., 2009, pág 344)

Además, los frutos verdes inmaduros contienen glicoalcaloides, solamargina, solasonina, solanina, α y β -solamargina, solasodina, solanidina. Los dos primeros compuestos se presentan también en las hojas, la solanina se encuentra en todas las partes de las plantas. Mientras el fruto madura disminuye la concentración de estos alcaloides presentes en *Solanum nigrum* L (Mohamed et al., 2009, pág. 343). De todos los alcaloides mencionados la Solamargina posee actividad inhibidora contra el cáncer de hígado, de útero, de pulmón, de laringe, colangiocarcinoma, cáncer de esófago. (Chen et al., 2022,pág.11).

También los estudios fitoquímicos revelaron la presencia de otros compuestos de importancia en la planta, como son:

- Oligoglucósidos esteroideos llamados nigrumnin I y nigrumnin II

- Flavonoides: Representan más de la mitad de los compuestos fenólicos de las plantas con actividad antiinflamatoria y antioxidante (Chen et al., 2022, pág.2), se identifica la Quercetina[3-O-β-glucosil(1→6)]-O-[β-ramnosil(1→2)-O-β-galactósido] y 3-O-α-ramnosil (1→2)-O-β-galactósido y otros glucósidos de quercetina son también presente en *Solanum nigrum L.* (Chen et al., 2022, pág 9)
- Cumarinas: 6-metoxihidroxicumarina, (II) siringaresinol-4-O-β-D glucopiranósido, (III) pinoresinol-4-O-β-D-glucopiranósido, (IV) ácido 3,4-dihidroxibenzoico, (V) adenosina, (VI) ácido phidroxibenzoico, (VII) ácido 3-metoxi-4-hidroxibenzoico, II, III y V fueron aislados de este género por primera vez. (Chen et al., 2022, pág 9)
- Sapogeninas esteroides: Identificadas como diosgenina y tigogenina. La importancia de estas sustancias se relaciona con su uso potencial como materia prima para la producción industrial de esteroides hormonales. Los frutos contienen glucosa y fructosa (15-20%), y β-caroteno (Potawale, 2008, pág.147).
- Saponinas esteroides: Spirostanol, progesterona, furostanol y saponinas colestéricas, presentan actividad citotóxica, mientras que Solanigraside Y1 presenta actividad antiinflamatoria (Chen et al., 2022,pág.11).
- Ácidos benzoicos: Se han identificado como componentes de *Solanum nigrum* al ácido gálico, al ácido 2, 4-dihidroxibenzoico, al ácido protocatechico, al ácido vanílico, al 4- ácido hidroxibenzoico, al ácido salicílico, al 2-5 ácido dihidroxibenzoico; estos compuestos otorgan a *Solanum nigrum L.* actividades antiinflamatorias, antioxidantes, antibacterianas y antivirales. (Chen et al., 2022, pág.16)
- Otros compuestos presentes en *Solanum nigrum Linn* son: ácido ursólico es un triterpeno antitumoral, además de carotenos y xantofila. (Chen et al., 2022, pág.16).

4.3 Cosmética

4.3.1 Definición de cosméticos

Se conoce como cosmético a toda sustancia o preparado destinado a ser puesto en contacto con la epidermis, cuero cabelludo, cabello, labios, uñas, órganos genitales externos; dientes, mucosa de la cavidad bucal, en fin, con cualquier superficie externa del cuerpo humano, para humectar, limpiar, perfumar, corregir los olores, especialmente embellecer las distintas zonas corporales. (Díez, 2020, pág.9).

4.3.2 Formas cosméticas

Los productos cosméticos son cada vez más complejos, con gran cantidad de principios activos debido a una tendencia del mercado cada vez más competitiva y a las necesidades de los consumidores cada vez más exigentes. Un producto cosmético puede tener en su formulación alrededor de 15 componentes entre sustancias funcionales que son las que definen su acción específica, vehículos o bases, que son las encargadas de darle la forma cosmética. (Schvartzman & Cestilli, 2021, págs.9 - 987)

Para determinar la forma de cada cosmético, se debe considerar factores como:

- La función de su forma cosmética
- La función de su lugar de aplicación
- En base a su función principal como cosméticos de higiene, acondicionamiento, mantenimiento etc.

Los cosméticos se pueden presentar de diversas formas, ya sean líquidas, sólidos y semisólidos o pastosos. (Sánchez, 2014, pág.29)

Lociones:

Se caracterizan por ser soluciones tonificantes, aplicados sobre la piel, actúan como soluciones para mejorar la funcionalidad y apariencia estética de la piel. En las lociones, el componente mayoritario es el agua, mezclada con uno o varios tipos de alcoholes o polialcoholes (como la glicerina o el propilenglicol) y principios orgánicos o inorgánicos de diferente naturaleza.

Según su acción biológica, se clasifican:

- Refrescantes: Soluciones hidroalcohólicas con perfumes florales, sustancias moderadamente alcalinas como el bórax, algo de alcanfor que actúa como vasodilatador, glicerina para aumentar su densidad, soluciones extractivas por sus efectos emolientes, refrescantes y estimulantes.
- Astringentes: Dependiendo de su principio activo, puede precipitar las proteínas, los principios astringentes pueden ser catión activo de zinc y aluminio, o fenosulfonato.
- Tónicas: Estas soluciones son escasas de alcohol, pero algunas contienen alcohol hasta el 60 % a los cuales se les puede agregar emolientes para compensar la acción desecante del alcohol. Se les puede agregar también mentol, alcanfor y alantoína, la cual posee cualidades regeneradoras, suavizantes y calmantes. (Sánchez, 2014, págs.29-30)

Dentro de las formas semisólidas se puede encontrar:

Geles:

Son soluciones monofásicas sólidas, de aspecto semisólido transparente, por la adición de un excipiente gelificante al líquido. Son elásticos y líquidos, pueden ser hidrófilos o lipófilos. (Sánchez, 2014, pág.34)

Los geles están conformados por un sistema disperso de partículas disimétricas que, al formar uniones entre sí, forman una red donde se retiene el líquido, la consistencia de esta red estará en función del agente gelificante, que es el que permite la incorporación de lípidos dándole el aspecto de una crema. (Sánchez, 2014, pág.34)

Los tres tipos de geles más utilizados en dermocosmética son:

- Los que gelifican por si solos
- Los que necesitan neutralizante para gelificar
- Las bases de geles.

Para su clasificación, existen varios criterios, dependiendo de la aplicación tópica

Tabla 1

Criterios de Clasificación para Geles de Aplicación Tópica

Criterio de clasificación	Tipo de gel / Denominación	Características
Según su comportamiento frente al agua	Gel hidrófobos u oleo geles	El líquido que se gelifica es el aceite o una grasa
	Geles hidrófilos	El líquido que se gelifica es el agua
	Geles monofásico	-
Según el número de fases que lo constituyan	Geles bifásicos	- TOW geles (aceite/agua), Sistema de cristales líquidos, pueden ser liposolubles o hidrosolubles.
		- TAS geles (agua/silicona), Gel transparente, basados en emulsiones de silicona.

Geles Monofásicos: Son los más empleados en el área farmacéutica y cosmética por presentar un aspecto claro, semisólido y de fácil remoción. Están constituidos por agentes gelificantes, los más usados son: alginato de sodio, gelatina, metilcelulosa, carbomero y también por alcoholes de polivinilo. Estos componentes pueden emplearse en baja (Ejemplo: Para saliva artificial) o en alta proporción (Ejemplo: Para base dermatológica) dependiendo del uso. (Remington, 2000, pág.356)

Geles Bifásicos: Son geles que contienen bentonita u otras sustancias como el hidróxido de aluminio, son formas semisólidas que se caracterizan por tener un aspecto seco. (Remington, 2000, pág.867)

Cremas:

La emulsión es una mezcla de aspecto homogéneo, en donde una solución se dispersa en otra, llamándola dispersante o continua, están incorporadas gracias a los emulsificantes, emulgentes o emulsionante. (Mosquera et al., 2012, pág.16)

Se conocen también como un sistema heterogéneo formado por dos líquidos inmiscibles. Las emulsiones ofrecen la posibilidad de incorporar activos

hidrosolubles, liposolubles y hasta insolubles en un sistema estable, además de su elegante aspecto. (Schvartzman & Cestilli, 2021, págs.9-987)

Tipos de emulsiones:

- Aceite en agua: Aquellas emulsiones en que las partículas de aceite se hallan dentro de un sistema acuoso. Estas emulsiones se simbolizan frecuentemente O/W.
- Agua en aceite: En estas emulsiones la partícula de agua se encuentra dentro de un sistema oleoso. Se simbolizan frecuentemente W/O.
- Emulsiones múltiples: Se consideran sistemas trifásicos porque están compuestos por una emulsión primaria dispersa en una fase externa o continua. Se consideran como emulsiones de emulsiones. (Schvartzman & Cestilli, 2021, págs.9-987)

Fases de una emulsión:

En toda emulsión existe una fase interna constituida por pequeñas partículas, y una fase externa que es la que se encarga de suspender esas partículas. La fase dispersa o interna siempre está en menor cantidad y la fase continua o externa, se encuentra en mayor proporción (Valdés, 2012, pág.7).

El tipo de emulsión O/W (aceite-agua) o W/O (agua-aceite), depende de la proporción fase-volumen. Esto significa que la fase en mayor proporción corresponde a la fase externa. Aunque en algunas emulsiones la fase interna puede presentarse en un 74%. (Remington, 2000, pág.859) Las emulsiones trifásicas son una buena alternativa para incorporar principios activos de fácil degradación, en su fase interna. (Schvartzman & Cestilli, 2021, págs.9-987)

La estabilidad de las emulsiones se puede ver afectada por la combinación de la tensión interfacial, la extensa superficie de la fase dispersa y las diferentes densidades de las dos fases. Es aquí en dónde se requieren de los distintos componentes de las emulsiones, especialmente de los llamados agentes emulsificantes. (Remington, 2000, pág. 858-859)

El empleo de fase externa acuosa u oleosa depende de la formulación a realizar, es así que las emulsiones con fase externa oleosa son ideales cuando la fracción de sustancias lipófilas en el preparado es alta, al contrario de una formulación con base externa acuosa, porque las sustancias lipófilas se encuentran en baja proporción. (Schvartzman & Cestilli, 2021, págs. 9-987)

Componentes de las emulsiones:

- Emulsionantes, emulgentes o tensioactivos

Su finalidad es disminuir la tensión superficial si es formador y aumentar la viscosidad si es estabilizador. Cumplen con la miscibilidad, disminuyendo la tensión superficial o aumentando la viscosidad. (Schvartzman & Cestilli, 2021, págs.9-987)

Los tensoactivos presentan en su estructura molecular una parte hidrófoba (Conformada por una cadena hidrocarbonada alifática) y otra hidrófila (Conformada por un grupo aniónico). (Rodríguez & Mayero, 2000, pág. 437) **Aniónicos:** Son jabones que se obtienen mezclando un álcali del tipo KOH, NaOH, trietanolamina, con un ácido graso como: esteárico, oleico, palmítico. (Schvartzman & Cestilli, 2021, págs. 9-987)

Catiónicos: En las emulsiones cutáneas producen suavidad y efecto antiséptico, y al ser utilizados en productos capilares poseen una elevada afinidad que los vuelve muy buenos como suavizantes y acondicionadores del cabello. Algunos ejemplos: Cloruro de trimetil cetil amonio, cloruro de benzalconio, cloruro de dimetil diestearil amonio, cloruro de esteralconio. (Schvartzman & Cestilli, 2021, págs. 9-987)

Anfóteros: Se denominan de esta forma porque de acuerdo con el pH se puede comportar como aniónicos o catiónicos, por lo que vale lo descrito para cada caso. (Schvartzman & Cestilli, 2021, págs. 9-987)

No iónicos: Contienen una cabeza hidrófila y una cola lipófila. La cabeza hidrófila puede ser un alcohol polihídrico, sorbitol, glicerina, óxido de etileno (PEG), mientras que la cola lipófila puede ser un alcohol o ácido graso. Sus ventajas son su buena

compatibilidad con ácidos, sales. Poco irritantes, muy eficientes, estables en diferentes pH. Algunos ejemplos: esteres de glicoles, esteres grasos de sorbitan, esteres grasos de sorbitan, alcoholes grasos oxietilenados. (Schvartzman & Cestilli, 2021, págs. 9-987)

Un tensoactivo se puede seleccionar en base al equilibrio hidrófilo – lipófilo (HBL), porque mide la fuerza relativa de los extremos hidrófilo y lipófilo de cada emulgente, mientras que el valor de HBL es elevado es el carácter hidrofílico y menor es lipófilo y viceversa. De esta manera se puede seleccionar el mejor emulgente. Un valor deHLB entre 4 y 6 es apropiado para formar emulsiones W/O y entre 8 y 18 para emulsiones O/W. (Olmos, 2017, pág.5)

- Espesantes o modificadores de la viscosidad

Son sustancias que aumentan la viscosidad, sobre todo los coloides hidrófilos como las gomas, derivadas de la celulosa y algunos polímeros semisintéticos. (Remington, 2000, pág.353). Algunos ejemplos: goma guar, goma tragacanto, monoestearato de glicerilo, alcohol cetílico, alcohol estearílico, alcohol cetoestearílico, estearato de dietilenglicol, mono y diestearato de glicerilo, espermaceti o aceite blanco, palmitato de cetilo, cera de abejas, estearato de propilenglicol, ácido esteárico, ceras autoemulsionables. (Schvartzman & Cestilli, 2021, págs. 9-987)

- Conservadores

Su principal propiedad es de inhibir el desarrollo de microorganismos, como hongos, bacterias levaduras, entre otros; evitando el deterioro de la emulsión. Algunos ejemplos: eiazolinidil urea, DMDM hidantoína, hidroxibenzoato de metilo y propilo, imidazonilidyl urea etc. Puesto que las emulsiones presentan una fase acuosa y otra no acuosa, el conservador puede suspenderse en la fase oleosa, originando un crecimiento de microorganismo en la fase acuosa, por lo tanto, se aconseja el uso de conservadores hidrosolubles (Remington, 2000, pág.858-859).

- Aromatizantes

Son sumamente importantes, porque es un atractivo que tiene un producto, para el usuario, tanto así que tenga la instintiva reacción de olerlo de inmediato. (Schvartzman & Cestilli, 2021, págs.9-987).

- Antioxidantes

Evitan la oxidación de sustancias de origen graso o los aceites que se incorporan en la formulación. Algunos ejemplos: butilhidroxitolueno (BHT), butilhidroxianisol (BHA), tocoferoles, propilgalatos, etc. (Schvartzman & Cestilli, 2021, págs. 9-987).

- Colorantes

Pueden ser de origen animal o vegetal como ejemplo: alizarina obtenida de la granza o el índigo extraído del añil, otro ejemplo es el ácido carmínico extraído de la cochinilla. Son de gran importancia psicológica, (Remington, 2000, pág.1180), puesto que forman parte del aspecto del producto, todo dependerá de la tendencia en el mercado. A nivel mundial se utiliza el color INDEX. (Schvartzman & Cestilli, 2021, págs.9-987)

Otras formas cosméticas son:

Mascarillas: Formas semisólidas, son cosméticos para el cuidado de la piel, cabello, poseen sustancias activas que pueden ser: metales, metaloides, vegetales, vitaminas y enzimas. (Sánchez, 2014, pág.38)

Protectores solares: Poseen ingredientes de filtro solar y conformados por principios activos antioxidantes e hidratantes. Existen dos grupos: Los filtros físicos que forman una película sobre la piel e inhiben la penetración de radiación solar (acción de espejo). Los más comunes son el óxido de zinc y el dióxido de titanio. (Sánchez, 2014, págs.53 -54) Los filtros químicos son compuestos aromáticos con grupos funcionales carboxílicos; poseen un grupo donador de electrones, como una amina o un grupo metoxilo, en la posición orto o para del anillo aromático. La Benzofenona 3 es un representante característico de este tipo de filtros solares (2-hidroxi-4-metoxi-fenilafenil-metanona). (Flor et al.,2007, pág.154-155)

Serum: Se conocen como sueros para la piel, pueden ser geles, lociones, o productos hidratantes; con consistencia penetrante donde suspenden compuestos activos; también mejoran la firmeza, textura y evitan las arrugas en la piel. (Ojha, et al., 2019, pág.1100)

Polvos: Sustancias sólidas, orgánicas o inorgánicas, con bajo tamaño de partícula. Son cosméticos para el tratamiento, protección y mejora de la apariencia de la piel, debido a cualidades absorbentes, refrescantes, emolientes o colorantes. (Schvartzman & Cestilli, 2021, págs.9-987)

Espumas: Formas cosméticas, que mantienen dentro de su envase una cierta cantidad de gas en un líquido favoreciendo su dispersión. (Sánchez, 2014, pág.45)

Aerosoles: Pueden ser emulsiones, geles, disoluciones e incluso suspensiones, son mezclas de un gas propelente y un líquido contenidos en un envase metálico a presión; los más habituales suelen ser los desodorantes y lacas. (Sánchez, 2014, pág.46)

Soportes impregnados: Son toallitas de celulosa o parches adhesivos con distintas funciones dependiendo del producto añadido, pueden ser refrescantes, ayudan en la eliminación de impurezas, en la absorción de grasa, otros favorecen la penetración de activos. (Sánchez, 2014, pág.44)

Esmalte: Mezcla de solventes que forma una película al ser aplicada sobre las uñas. (Comunidad Andina, 2017, pág.2)

Pasta: Cosméticos semisólidos con abundantes sólidos dispersos, de consistencia firme. (Comunidad Andina, 2017, pág.2)

Pomada: Característicos por la presencia de una sustancia anhidra de naturaleza grasa, que logran suspender una serie de activos y permiten su aplicación tópica. (Comunidad Andina, 2017, pág.2)

4.4 Extractos naturales

Se denominan así a las mezclas complejas de metabolitos secundarios, separados de las plantas por algunos métodos como la destilación por arrastre de vapor, por maceración o por medio de soxhlet, obteniéndose por estos métodos aceites esenciales y extractos vegetales.

Los componentes químicos de las mezclas por lo general son: mono y sesquiterpenos incluyendo carbohidratos, alcoholes, éter, aldehídos y cetonas, los cuales son responsables de las fragancias y de las propiedades biológicas de las plantas aromáticas y medicinales.

Los extractos vegetales, al igual que los aceites esenciales cubren un amplio espectro de efectos farmacológicos mostrando variedad de propiedades como antiinflamatorios, antioxidantes, y anticancerígenos. (García, et al., 2010, pág. 87)

4.5 Métodos comunes de preparación de extractos

Al hablar de preparación de extractos se habla de extracción, esto significa, obtener un compuesto químico mediante una operación de separación y purificación, fundamentada en la solubilidad del o los compuestos químicos a separar (Cervantes Nemer et al., 2009, pág. 150)

El elegir un método de extracción apropiado, depende de algunos factores como de la naturaleza del material vegetal, el solvente utilizado, la temperatura, tiempo de extracción, método de extracción empleado y la proporción del solvente en la muestra y posible presencia de sustancias de interferencia. También depende del uso previsto de los productos finales y de los compuestos químicos a extraer. (Guntero et al., 2015, pág.2)

Existe una variedad de técnicas de extracción, pero la más empleada es la extracción sólido-líquido, en la separación de compuestos naturales. (Cervantes Nemer et al., 2009, pág. 150) Dentro de los factores a priorizar en la elección de un método de

extracción, es sumamente importante considerar la estabilidad que tienen los compuestos en el calor.

Las moléculas a extraer termoestables se extraen mediante extracción Soxhlet o extracción asistida por microondas, mientras que las moléculas termosensibles se recomienda el método de maceración o percolación. Cuando se requiere una exposición prolongada al menstuo se recomienda la maceración, mientras que la extracción asistida por microondas o ultrasonido se utilizan para una duración más corta.

4.6 Métodos comúnmente utilizados en la extracción de plantas medicinales.

Maceración: Es un procedimiento de extracción en el cual el material de la droga en polvo grueso ya sea hojas o corteza del tallo o raíz, se coloca dentro de un recipiente, el menstuo se vierte encima hasta cubrir completamente el material del fármaco, posteriormente se cierra el recipiente y se mantiene durante al menos tres días. Se debe agitar de vez en cuando para asegurar la extracción completa. Al final de la extracción, la micela se separa del orujo por filtración o decantación. Posteriormente, la micela se separa del menstuo por evaporación en un horno o encima de un baño de agua. Este método es conveniente y adecuado para material vegetal termolábil (Abubakar & Haque, 2020, pág. 7-8).

Extracción asistida por ultrasonido: Es un proceso en donde se aplica de energía de sonido a una frecuencia muy alta superior a 20 KHz para interrumpir las células de la planta y aumentar el área de superficie del activo para la penetración del disolvente; en consecuencia, se liberan metabolitos secundarios. En este método el material vegetal debe secarse primero, triturarse hasta obtener una potencia fina, tamizarse adecuadamente, posteriormente empaquetar en un filtro el material, colocar la muestra en contacto con el solvente y colocarla en el ultrasonido. Es un proceso de extracción en dónde se maximiza el rendimiento de la extracción, reduce la cantidad de solvente utilizado y el tiempo de extracción es corto (Abubakar & Haque, 2020, pág.10).

4.7 Solventes comunes utilizados para obtener extractos

Los solventes cumplen dos funciones; se emplea como medio de reacción y en los procesos de purificación. Algunos, se caracterizan por ser volátiles, por lo tanto, son contaminantes del entorno ambiental y de la salud de las personas, los más característicos de este grupo son la acetona, el etanol, el metanol, el isopropanol, el hexano, el ácido acético y el acetato de etilo. (Serrano, 2009, pág. 415).

Estos solventes son empleados en algunas técnicas de extracción de compuestos orgánicos como plantas como extracción Soxhlet u otras técnicas más perfeccionadas como microondas o extracción asistida con ultrasonido, alcanzando altos rendimientos de extracción, pero desencadenando efectos dañinos para la salud, por la imposibilidad de eliminar totalmente los residuos de solventes en el producto final. (Díaz et al.,2013, pág.29).

Tabla 2

Propiedades del disolvente de extracciones

Solvente	Polaridad	Ventaja	Desventaja
Agua	Polar	Disuelve una amplia gama de sustancias, es barato no tóxico no inflamable y altamente polar.	Promueve el crecimiento de bacterias y moho, puede causar hidrólisis y se requiere una gran cantidad de calor para concentrar el extracto
Alcohol	Polar	Auto conservante a una concentración superior al 20 %. Se requiere una pequeña cantidad de calor para concentrar el extracto.	No disuelve grasas, gomas y cera. Es inflamable y volátil
Cloroformo	No polar	Útil en la extracción de compuestos como terpenoides,	Tiene propiedades

Éter	No polar	<p>flavonoides, grasas y aceites. Es incoloro, tiene un olor dulce y es soluble en alcoholes</p> <p>Útil en la extracción de compuestos como alcaloides, terpenoides, cumarinas y ácidos grasos.</p> <p>Es miscible con agua, tiene un punto de ebullición bajo y es de naturaleza insípida. También es un compuesto muy estable y no reacciona con ácidos, bases y metales</p> <p>Es un solvente de extracción único y extremadamente estable al calor. Puede permanecer en estado líquido incluso a 3000 °C y se puede utilizar cuando se aplican altas temperaturas. Tiene un excelente solvente que atrae y transmite microondas y por lo tanto es adecuado para la extracción asistida por microondas.</p>	<p>sedantes y cancerígenas</p> <p>Es altamente volátil e inflamable por naturaleza.</p>
Líquido iónico	Altamente polar		No es ideal para preparación de tinturas.

Fuente: Abubakar & Haque, 2020 pág. 5-26

También, se conocen otra clase de solventes llamados, solventes verdes, por ser seguros para las personas e inofensivos para el entorno, poseen un impacto ambiental limitado, además para proteger el medio ambiente se ha desarrollado reacciones que se llevan a cabo sin disolventes, y también disolventes alternativos como los siguientes: agua, líquidos iónicos, sistemas bifásicos basados en compuestos fluorados, fluidos supercríticos como el dióxido de carbono - CO₂, solventes biodegradables, bio-solventes. (Serrano, 2009, pág. 415).

4.8 Solventes Eutécticos Profundos

Con el crecimiento de la industria de productos naturales e incremento en la gradiente de preferencia hacia alternativas verdes. Los solventes tradicionales requieren de alternativas seguras, económicas, amigables con el medioambiente y compatibles con la salud humana junto con rendimientos o características adecuadas para cumplir las rigurosas especificaciones de las industrias. (Lomba et al., 2021, pág.1) Inicialmente, los líquidos iónicos (sales en estado líquido con puntos de ebullición por debajo de 100°C) ganaron interés como alternativa verde a solventes tradicionales, debido a los altos rendimientos de extracción que presentaron para sus diferentes aplicaciones, (Lei et al., 2017, pág.6633) sin embargo, a pesar de que se resalta que poseen presiones de vapor despreciables, poseen una solubilidad en agua considerablemente alta, esto permite discriminar que existe un importante potencial de impacto ambiental para suelos y ecosistemas marinos. Estudios con respecto a la biodegradabilidad y toxicidad en la naturaleza de los líquidos iónicos, han demostrado que estos solventes poseen un alto índice de riesgo de impacto ambiental, puesto que las sales en contacto con el agua pueden inducir ecotoxicidad al medio, adicionalmente no poseen un índice de degradación bajo por lo que su uso supone un riesgo para el equilibrio del ecosistema. (Thuy et al., 2010, pág.353).

En la búsqueda de un solvente verde; con altos rendimientos y bajo impacto medioambiental, surgieron investigaciones que introdujeron el concepto de solventes eutécticos profundos (Deep Eutectic Solvents – DES), que se elaboran a través de la combinación eutéctica de especies capaces de donar (HBD) y aceptar (HBA) enlaces de hidrogeno bajo una relación molar específica. (Hansen et al., 2021, pág.1233)

Los DES presentan características similares a la de los líquidos iónicos: alta estabilidad térmica, baja volatilidad, baja presión de vapor y polaridad modificable. A diferencia de los líquidos iónicos, los solventes eutécticos son considerablemente más baratos, son biodegradables, son particularmente sencillos

de elaborar y no poseen toxicidad. (Hansen et al., 2021, págs. 1240; Lomba et al., 2021 pág.2)

Los solventes eutécticos pueden ser de 4 tipos: I - Combinación de una sal de amonio cuaternaria con un cloruro metálico; II – combinación de sal de amonio cuaternario y un cloruro hidrato metálico; III – mezcla de una sal de amonio cuaternaria con un donador de enlace de hidrógeno (HBD) y IV – consiste en un cloruro hidrato metálico con un HBD. (Hansen et al., 2021, pág.1233) En general, los más utilizados son los de tipo III, empleando amidas, ácidos carboxílicos y polioles. Independientemente del tipo de solvente eutéctico empleado, la interacción entre los componentes del solvente se fundamenta en fuerzas intermoleculares auto asociativas como entropía de mezcla, fuerzas de Van Der Waals, enlaces de hidrogeno y/o enlaces iónicos (Achkar et al., 2021, pág.3398).

4.9 Estudio Del Mercado De La Industria Cosmética Con Respecto A Productos Anti-Edad

La longevidad especialmente de la epidermis, a diferencia de la vejez de cualquier órgano interno, juega un papel importante en la vida social de cada ser humano. Por lo tanto, la intranquilidad por la degeneración superficial es totalmente distinta a la que genera la degeneración del organismo interno. (González M. & Bravo D., 2017, pág.9) Existen dos tipos de envejecimiento el natural que se origina con el paso del tiempo y el acelerado ocasionado por los factores externos; los dos casos desencadenan la formación de EROS y ROS que dañan la estructura celular afectando al ADN, enzimas y membrana celular. (González M. & Bravo D., 2018, pág.9).

Como consecuencia las empresas cosméticas y farmacéuticas, buscan incluir un nuevo término como es “Cosmecéutico”, que engloba a la farmacia y cosmética; conjuntamente planteando la estructura entre disciplinas como la física, química y biología, por lo que es posible estudiar con más profundidad las propiedades de las plantas, aplicando técnicas como la cromatografía y espectrometría además del estudio de extractos de plantas en ensayos *in vitro* e *in vivo*. (González M. & Bravo

D., 2017, pág.9-10) El cuidado de la piel ocasiona un impacto económico bastante factible para las organizaciones químico- cosméticas. De acuerdo a un estudio económico del año 2014, España compra 6435 millones de euros en productos de belleza, exporta un valor de 2928 millones, determina 120 millones de euros a investigación y desarrollo, es una fuente de empleo de 35000 personas (González M. & Bravo D., 2017, pág.6)

A nivel mundial, las empresas con sede en América del Norte y en Europa Occidental, cuentan con un promedio de ventas de 86%: 43% por cada región, en lo que respecta a productos cosméticos. Mientras que las empresas con sede en Japón y Corea del Sur en el año 2003, representan el 14 % de las ventas de productos de belleza. (Chang & Rugman, 2006, pág. 4)

Las empresas multinacionales como L’Oreal, Shiseido, Estée Lauder, Avon, cubrieron los mil millones de dólares en productos cosméticos en los países más grandes (EE. UU., Reino Unido, Francia, Alemania y Japón) destacando el 93 % de las ventas, en el año 2003. (Chang & Rugman, 2006, pág.4)

El mercado de la belleza en el Ecuador se ha extendido enormemente no solo en ventas si no en marca representada por 1,6% del producto interior bruto. En el Ecuador una persona con pocos recursos económicos se estima que gasta \$30 en cosméticos al mes, mientras que una persona con buenos ingresos consume al mes un estimado de \$600. (Mancheno & Gamboa, 2018, pág.83) El crecimiento de consumo de cosméticos es claramente notorio, tanto que varias secciones se ven involucradas, la más pequeña, niños de 8 a 12 años usan productos suavizantes, protectores solares, gel para el cabello, en tanto que la sección de adolescentes, usualmente consumen cremas y productos antiacné, por presentar variaciones hormonales. También están los hombres y mujeres de 20 a 30 años, que a partir de esta edad comienza el uso de antioxidantes, optando siempre por un aspecto joven. (Mancheno & Gamboa, 2018, pág.84).

Todos los casos anteriormente mencionados indican crecimiento, pero tenemos que ser conscientes de que también existen barreras que lo impiden como obtener

la NSO (Notificación sanitaria obligatoria), esto tiene un costo de 900\$, se considera también las materias primas que por ser importadas también tienen aranceles altos, obteniéndose productos de belleza costosos un claro ejemplo son los perfumes. (Mancheno & Gamboa, 2018, pág.84). De tal forma que los productores ecuatorianos, deben enfocarse cada vez más en las necesidades del consumidor, puesto que la gente también busca sustentabilidad en cada cosmético. Por lo tanto, es un reto para estas industrias innovar nuevos productos para mantener su competitividad y sostenibilidad en el mercado, sobre todo porque enfrentan dificultades en cuanto a los ingredientes de formulación por sus elevados costos (Bom et al., 2019, pág.270)

5 Materiales y metodología

5.1 Recolección de material vegetal

Solanum nigrum L. fue recolectada en la provincia del Carchi, en la zona rural de la ciudad de Tulcán (Longitud: 077°43'2.17" y Latitud: N0°48'42.73"), el 5 de marzo del año 2022; en condiciones ambientales: 40% de humedad relativa y 20°C de temperatura. Se seleccionó especímenes maduros, se recolectó el material vegetal realizando cortes limpios a tallos que no presentaran hojas en mal estado. Se dispuso en bolsas plásticas como envase primario y empaclaron en cartón corrugado, se trasladó el material a la Ciudad de Quito, al cabo de 24 horas se procedió con el pretratamiento a fin de evitar degradación natural o solar en la especie vegetal.

5.2 Limpieza y pretratamiento del material vegetal

Se retiró las hojas de los tallos manualmente y se procedió a realizar un lavado con solución al 0.5% de hipoclorito de sodio por 5 minutos, inmediatamente se enjuago el material vegetal y se realizó un segundo enjuague con agua purificada. Posteriormente, la planta se ingresó a una estufa con sistema de convección para la remoción del excedente de humedad, se dejó secar por 24 horas a 55°C. Hasta determinar un contenido de humedad menor al 2%, para ello, se pesaron 5 gramos de material vegetal en una balanza para determinación de humedad modelo PCE-MA 100 con el programa respectivo para análisis de humedad.

Bajo la humedad especificada, la materia seca fue almacenada a vacío en bolsas plásticas Ziploc, se recubrió con aluminio; se almaceno en un lugar limpio, seco y alejado de la luz solar hasta su uso posterior.

5.3 Preparación de solventes para extracción

5.3.1 Ácido cítrico – glucosa

El solvente se preparó bajo una relación molar 1:1 (Dheyab et al. pág.9, 2021; Liu et al., 2019), para ello, se pesó 154.82 g de ácido cítrico anhidro y 145.18 g de glucosa. Se colocaron en un vaso de precipitación cilíndrico de 500 ml y se agitó continuamente a 80°C hasta formar una mezcla líquida transparente y homogénea. Se almacenó el solvente en frascos ámbar de polietileno de baja densidad (PEBD) hasta su uso posterior.

5.3.2 Ácido cítrico – glucosa – fructosa – agua

Se preparó el solvente considerando una relación molar 1:1:1:9 (González et al., 2018, pág.92), para ello, se pesaron 80.66g de ácido cítrico anhidro, 75.63g de glucosa, 75.64g de fructosa y 68g de agua purificada. Se colocaron en un vaso de precipitación cilíndrico de 500 ml y se agitó continuamente a 80°C, hasta incorporar todos los componentes en una mezcla homogénea. Se almacenó el solvente en frascos ámbar de polietileno de baja densidad (PEBD) hasta su uso posterior.

5.3.3 Betaína – glicerina – agua

Se preparó el solvente con una relación molar de 1:2:1 (Khodaverdian et al., 2018, pág. 2578) con un 5% de agua. Se pesaron las cantidades adecuadas, se transfirió a un vaso de precipitación cilíndrico de 500 ml y se agitó continuamente a 80°C hasta alcanzar una solución homogénea. Se almacenó el solvente en frascos ámbar de polietileno de baja densidad (PEBD) hasta su uso posterior.

5.3.4 Ácido cítrico – Betaína – agua

Se preparó el solvente con una relación molar de 1:1:1 (Khodaverdian et al., 2018, pág. 2575), con un 5% de agua. Se pesaron las cantidades adecuadas, se transfirió a un vaso de precipitación cilíndrico de 500 ml y se agitó continuamente a 80°C hasta alcanzar una solución homogénea. Se almacenó el solvente en frascos ámbar de polietileno de baja densidad (PEBD) hasta su uso posterior.

5.4 Método de extracción maceración

5.4.1 Maceración en etanol 96°

Se pesó 10 g de materia seca de *Solanum nigrum L.*, y se colocó cantidad suficiente de solvente para una proporción p/p 1:10; en un vaso de precipitación cilíndrico de 300 ml, se calentó a 35-40°C y se agitó por 10 minutos. Se recubrió con papel aluminio el vaso y se dejó macerar por 3 y 7 días en una zona limpia, seca y alejada de la luz solar directa.

5.4.2 Método de extracción maceración asistida por ultrasonido

A diferencia del solvente tradicional (etanol 96°), los solventes eutécticos no presentan riesgo de inflamación/explosión en procesos de extracción asistida con ultrasonido. Por ello, en un vaso de precipitación cilíndrico se pesaron 10 g de materia seca de *Solanum nigrum L.* con el respectivo solvente eutéctico en proporción 1:10 p/p, se sonicó por 10 minutos a 60°C en equipo ultrasonido. Se retiró el vaso de precipitación del equipo y se recubrió con papel aluminio, se dejó macerar por 3 y 7 días en una zona limpia, seca y alejada de la luz solar directa. Cada extracción se llevó a cabo en triplicado.

5.5 Cuantificación de fenoles totales en extractos

5.5.1 Preparación de reactivo de Folin-Ciocalteu

Se pesaron 10 g de tungstato de sodio dihidratado en un matraz aforado ámbar de 100 ml, se agregó 75 ml de agua purificada, se añadió 0,2 g de ácido fosfomolibdico y se transfirió 5 ml de ácido fosfórico al 85%. (Ndhlala, 2010, pág. 6908) La solución se colocó en un sistema de reflujo por 2 horas, en un medio sin exposición de luz solar directa y tras el periodo de tiempo descrito, se dejó enfriar la solución, se aforó a volumen con agua purificada, se homogenizó y se refrigeró la solución a 2 – 8°C en una botella de vidrio ámbar de 100 ml recubierta con papel aluminio, hasta su uso posterior.

5.5.2 Preparación de soluciones patrón de ácido gálico

Se preparó una solución madre de 1000 mg/L de ácido gálico. Para ello, se pesó 50 mg de ácido gálico en un matraz aforado de 50 ml, se transfirió 30 ml de etanol 96° y se homogenizó incorporando un agitador magnético por 10 minutos. Posteriormente, se aforó a volumen y se almaceno la solución en un frasco de vidrio ámbar bajo refrigeración a 2 – 8°C.

Posteriormente, se preparó los diferentes puntos de soluciones patrón, transfiriendo una cantidad adecuada de solución madre a un matraz aforado de 10 ml, se homogenizó con la ayuda de un vortex y se almacenó las soluciones en un ambiente seco y alejado de la luz solar. En la Tabla 3, se detalla las cantidades de solución madre de ácido gálico empleadas para la preparación de los diferentes puntos de la curva.

Tabla 3

Preparación de las soluciones patrón a partir de la solución madre de ácido gálico de 1000 mg/L

Concentración (mg/L)	Volumen de solución madre (ml)	Volumen de etanol 96° (ml)	Volumen final (ml)
0	0.0	10.0	10.0
100	1.0	9.0	10.0
200	2.0	8.0	10.0
500	5.0	5.0	10.0
750	7.5	2.5	10.0
1000	10.0	0.0	10.0

5.5.3 Lectura en espectrómetro UV-VIS

Para la lectura, de las soluciones patrón/extracto se procedió de la siguiente manera: se colocó 50 µL de solución patrón/extracto en un tubo de ensayo, se transfirió 3950 µL de agua destilada, se homogenizó y se añade 250 µL de reactivo de Folin-Ciocalteu. Se unifica la mezcla por 2 minutos y se transfiere 750 µL de carbonato de sodio (Na₂CO₃) (elaborado pesando 50 g de carbonato de sodio en un

balón aforado de 250 ml y llevado a volumen con agua destilada). (Cruzado et al., 2013, pág.79)

Se deja reposar en un ambiente en ausencia completa de la luz solar por 2 horas. Se transfiere de 1 a 2 ml de la muestra a una celda plástica para espectrometría UV. Se mide el blanco y se lee por duplicado la absorbancia de cada muestra a 765 nm, se registró los valores obtenidos y se realizó la respectiva curva de calibración con las soluciones patrón.

Para el procesamiento de los extractos se diluyeron 1/10 y se midió la absorbancia de cada solvente respectivo para desarrollar la corrección pertinente. Por otro lado, la concentración equivalente en ácido gálico para los extractos se determinó utilizando la ecuación de regresión lineal obtenida con la curva de calibración de las soluciones patrón.

En la Tabla 4, se resume el procedimiento mencionado para la lectura de las soluciones patrón y extractos.

Tabla 4

Síntesis para el procesamiento de muestras para la lectura en espectrómetro UV-VIS

Muestra	Volumen de muestra (μL)	Volumen de agua destilada (μL)	Reactivo de Folin-Ciocalteu (μL)	Volumen Na_2CO_3 al 20% (μL)	Volumen Final (ml)
Blanco	0	4000	250	750	5.0
Solución patrón	50	3950	250	750	5.0
Extracto diluido (1:10)	50	3950	250	750	5.0

5.6 Elaboración de crema antioxidante

Para la elaboración de la crema antioxidante, se consideró una base funcional para humectación, protección solar y restauración cutánea. Para ello, se trabajó las formulaciones plasmadas en la Tabla 5.

Tabla 5

Formulaciones de cremas propuestas para el estudio

Ingrediente	Fase	Justificación	F1 (%)	F2 (%)	F3 (%)
Dióxido de titanio	^a G	Pantalla solar y opacificante	10	20	20.00
Propilenglicol	^b A	Hidratante	25	15	12.00
Glicerina	A	Hidratante	0.00	5.00	20.00
Alcohol cetílico	G	Emoliente	10.00	6.00	3.00
Ácido esteárico	G	Emoliente / emulsificante	7.00	5.00	4.00
Metil parabeno	G	Conservante	0.09	0.09	0.09
Propil parabeno	G	Conservante	0.02	0.02	0.02
Cetomacrogol	G	Emulsificante	3.00	2.00	1.50
Aceite de parafina	G	Emoliente y protector dermatológico	0.00	0.00	15.00
Ceramidas	G	Hidratación y restauración cutánea	0.30	0.00	0.30
Siliconas	A	Mejorador de textura	1.00	1.00	1.00
Perfume	-	Incorporación de aroma	0.20	0.20	0.20
Agua	A	Vehículo	c. s. p 100%	c. s. p 100%	c. s. p 100%
Trietanolamina	-	Regulador de pH	c. s. p. pH 6.5	c. s. p. pH 6.5	c. s. p. pH 6.5

^a G. Fase grasa.

^b A. Fase acuosa.

Con respecto al protocolo de preparación de la forma cosmética, se mezclaron los ingredientes según el grado de solubilidad para desarrollar la emulsión O/W. Para ello, se pesaron los ingredientes de fase acuosa (A) en un vaso de precipitación de 250 ml y se calentó a una temperatura de 60 – 80°C con agitación continua hasta la incorporación de cada ingrediente.

Simultáneamente, se preparó la fase oleosa (G) en un vaso de precipitación de 250 ml, se calentó a 60 – 80°C con agitación continua hasta la fundición de todas las grasas y formación de una solución homogénea. Se igualaron las temperaturas de ambas fases y se desarrolló la emulsión incorporando la fase acuosa sobre la oleosa.

Se utilizó un equipo emulsificador con velocidad gradiente, de 750 rpm a 200 rpm a

medida que disminuye la temperatura. La incorporación del perfume y diferentes concentraciones del extracto se realizó con la temperatura de la emulsión a 30 – 40°C. Se homogenizó la crema y se midió el pH, en este punto, se incorporó la trietanolamina hasta alcanzar un pH de 6.5.

Se realizó en triplicado cada crema a fin de evaluar la estabilidad en las características sensoriales. Cada crema fue envasada en potes con trampas transparentes y color natural con capacidad para 60 cm³ con material de polietileno de baja densidad.

5.7 Elaboración de gel antioxidante

Para la elaboración del gel antioxidante, se consideró una base funcional simple con humectante y conservantes cosméticos. Ver Tabla 6

Tabla 6

Formulaciones de gel propuestos para el estudio

Ingrediente	Fase	Justificación	F1 (%)	F2 (%)
Propilenglicol	^a A	Hidratante	10	15
Propil parabeno	^b G	Conservante	0.02	0.02
Metil parabeno	G	Conservante	0.09	0.09
Cetomacrogol	G	Emulsificante	1.00	-
Carbopol	A	Gelificante	1.50	1.10
Agua	A	Vehículo	c. s. p. 100%	c. s. p. 100%
Trietanolamina	-	Regulador de pH	c. s. p. pH 6.5	c. s. p. pH 6.5

^a A. Fase acuosa.

^b G. Fase grasa.

Para la F1 se calentó el cetomacrogol se añadió los parabenos hasta mezcla homogénea. Simultáneamente, se humectó el carbopol con el propilenglicol y agua. Cuando ambas soluciones se encontraban homogenizadas, se calentó la fase acuosa a la misma temperatura que la fase oleosa y se mezcló ambas hasta formar un

emulgel ligero. Se midió el pH y se añadió suficiente cantidad de trietanolamina hasta alcanzar un pH de 6.50

Para la F2 en cambio, se generó una formulación sencilla de gel con humectación a fin de evitar el impacto del extracto etanólico. Se humectó el carbopol con propilenglicol por 10 minutos, en simultaneo; se calentó el agua a 90°C y se disolvieron los parabenos. Se dejó enfriar a 40°C y se incorporó el carbopol, con agitación continua. Se dejó enfriar y se midió el pH. Por último, se ajustó el pH a 6.50 con trietanolamina.

5.8 Cuantificación de capacidad inhibitoria de radicales DPPH y determinación de capacidad antioxidantes

5.8.1 Preparación de reactivo DPPH

La metodología para determinación de capacidad inhibitoria de radicales fue adaptada de (Castañeda et al., 2008, págs. 61-62), para ello, se pesaron 19.7 mg de reactivo DPPH en un matraz ámbar aforado de 250 ml, se añadió 200 ml de etanol 96°, se mezcló con un agitador magnético por 15 minutos o hasta completa disolución. Se aforó a volumen, homogenizó; se etiquetó como Solución DPPH, se almacenó el reactivo en un frasco ámbar de vidrio recubierto con aluminio en una zona alejada de la luz solar y se refrigeró hasta su uso posterior.

5.8.2 Curva de calibración con ácido ascórbico como solución patrón

Se preparó una solución madre de ácido ascórbico de 1000 mg/L, para esto, se pesó 50 mg de ácido ascórbico en un matraz aforado de 50 ml, se aforó con etanol 96° y se mezcló por 10 minutos o hasta completa disolución. Posteriormente se transfirió un volumen adecuado de solución madre a matraces aforados de 10 ml para generar los respectivos puntos patrón de 60,120,180,240 y 300 mg/l.

Tabla 7*Resumen de preparación de soluciones patrón.*

Concentración de Patrón de Ác. Ascórbico (mg/l)	Volumen de Solución Madre (ml)	Volumen de Etanol 96° (ml)	Volumen Final (ml)
0	0.0	10.0	10.0
60	0.6	9.4	10.0
120	1.2	8.8	10.0
180	1.8	8.2	10.0
240	2.4	7.6	10.0
300	3.0	7.0	10.0

La curva de calibración fue realizada por triplicado y cada solución patrón fue leída por duplicado en el espectrofotómetro UV. Por último, las soluciones patrón fueron almacenadas en un ambiente seco y en ausencia de la luz solar.

5.8.3 Adecuación de extractos para lectura en espectrofotómetro

Para la lectura de los extractos en el espectrofotómetro UV-VIS, se consideraron 3 concentraciones a fin de obtener más información del rango de actividad de estos. Para ello, se trabajó con una concentración pura (extracto sin dilución), al 50% (dilución en proporción 1:2 m/m en etanol 96°) y al 10% (dilución en proporción 1:10 m/m en etanol 96°).

5.8.4 Procesamiento de las muestras crema y gel

Se transfirió 1 g de crema/gel a un tubo falcón de 15 ml, se diluyó a 1/10 con etanol 96°. Se agitó por 10 minutos con vortex y se centrifugó a 4000 rpm por 10 minutos. Se procedió de la misma manera para cada crema/gel con las diferentes concentraciones de extracto y se utilizó el sobrenadante para la metodología DPPH.

5.8.5 Adecuación de las muestras para lectura por espectrometría ultravioleta (UV) de extractos y formulaciones

Para el desarrollo de la inhibición de radicales DPPH se procedió de la siguiente manera: se transfirió 100 µL de solución patrón/extracto/muestra a un tubo de ensayo y se añadió 2.9 ml de solución DPPH. Se colocó todos los tubos de ensayo en una gradilla cubierta con papel aluminio y se dejó agitar a 200 rpm en una plancha de agitación mecánica por 30 minutos a condiciones ambientales en ausencia de luz solar.

Tras el periodo de tiempo designado, se transfirió una cantidad adecuada de solución a cubetas plásticas para espectrofotómetro, se procedió a leer cada una de ellas a 517 nm de maneras ascendente, iniciando con el blanco. La concentración equivalente en ácido ascórbico fue obtenida por interpolación de las absorbancias de los extractos/muestras en las respectivas ecuaciones de regresión lineal obtenidas en la curva de calibración con las soluciones patrón.

La capacidad inhibitoria de los extractos/muestras fueron determinados a través de la siguiente fórmula:

$$\%inhibición = \frac{A_b - A_m}{A_b} * 100\%$$

A_b = Absorbancia del blanco

A_m = Absorbancia de la muestra/extracto

Considerando la curva de calibración y el porcentaje de capacidad inhibitoria de las soluciones patrón/extractos/muestras, se calculó la actividad antioxidante relativa ($\%A_{AR}$) (Paucar et al., 2021, pág.111), bajo la siguiente ecuación:

$$\%AAR = \frac{IC50_m}{IC50_r} * 100\%$$

IC_{50m} = Coeficiente de inhibición de la muestra/extracto

IC_{50r} = Coeficiente de inhibición de referencia (Ácido ascórbico)

El IC_{50m} o coeficiente de inhibición de la muestra/extracto corresponde a la concentración de muestra/extracto requeridos para inhibir el 50% de los radicales DPPH. En cambio, el IC_{50r} o coeficiente de inhibición de referencia corresponde a la concentración de la solución de referencia (en este caso: ácido ascórbico) requerida para inhibir el 50% de los radicales DPPH.

6 Resultados

6.1 Maceración de *Solanum nigrum* L.

Tras el proceso de maceración a las 72 h y 168h, se recuperó las siguientes cantidades de extracto de 90, 70, 65 y 20% para el solvente etanólico, glicerina: betaína, ácido cítrico: betaína, correspondientemente.

El 20% de recuperación corresponde para los solventes de ácido cítrico: glucosa: fructosa y ácido cítrico: glucosa; esta disminución de recuperación significativa se debe principalmente a la viscosidad de los solventes eutécticos, que aumenta en consideración a la relación molar de los ingredientes que generan la matriz del solvente. Para los solventes con 20% de recuperación en específico, la viscosidad de las soluciones a temperatura ambiente era considerablemente alta similar a la del betún o textura de caramelo sólido.

Con el objetivo de facilitar la manipulación de los solventes eutécticos, se recalentó a 60°C y se procedió con los ensayos de cuantificación de fenoles totales, sin embargo, la alta viscosidad no permitió desarrollar correctamente los análisis correspondientes bajo los métodos propuestos, por lo que se descartaron dichos solventes para la cuantificación de fenoles y actividad antioxidante. Cabe recalcar estos solventes podrían ser cuantificados o purificados por métodos con equipos más sensibles como HPLC o cromatografía de gases.

Por otro lado, se observó una coloración característica en los diferentes solventes de maceración. Para el etanólico se observó un tono verde oscuro, en tanto que los solventes de ácido cítrico: betaína y glicerina: betaína presentaron un tono marrón a verde marrón. Adicionalmente, los solventes eutécticos profundos presentaron una viscosidad mayor en comparación al etanol, sin embargo, no presentó dificultades para los análisis tanto de cuantificación como de capacidad inhibitoria.

6.2 Características sensoriales de la crema y gel

Tras la preparación de las cremas base, se evaluó las características sensoriales y se ingresó a estabilidad acelerada por 15 días a condiciones de zona IV, $40^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$; 75% HR \pm 5%. (ONUDI, 2018, pág.38) Se observó que durante el día cero (día de manufactura) las fórmulas F1 y F2 presentaron una textura de crema carrasposa y de apariencia reseca de coloración blanca, crema que fue descartada debido a que la especificación para la crema es de una textura mucho más suave y debido a que presento cambios por separación de fases tras 15 días en condiciones de estabilidad. La crema F2 en cambio, presento una textura menos robusta que la F1, sin embargo, también presentó separación de fases a los 15 días por lo que fue descartada. Por último, la crema F3 presento una apariencia más suave en comparación a las otras 2 fórmulas, con una textura ligeramente sólida, que, si bien no presentó una fluidez alta, visualmente no era desagradable, presentó un tono blanco mate ligeramente brillante y tras los 15 días en condiciones de estabilidad, no hubo cambios significativos más allá, de una disminución en la rigidez. Por ello, se utilizó esta base para la incorporación de los extractos y evaluar su respectiva capacidad inhibitoria.

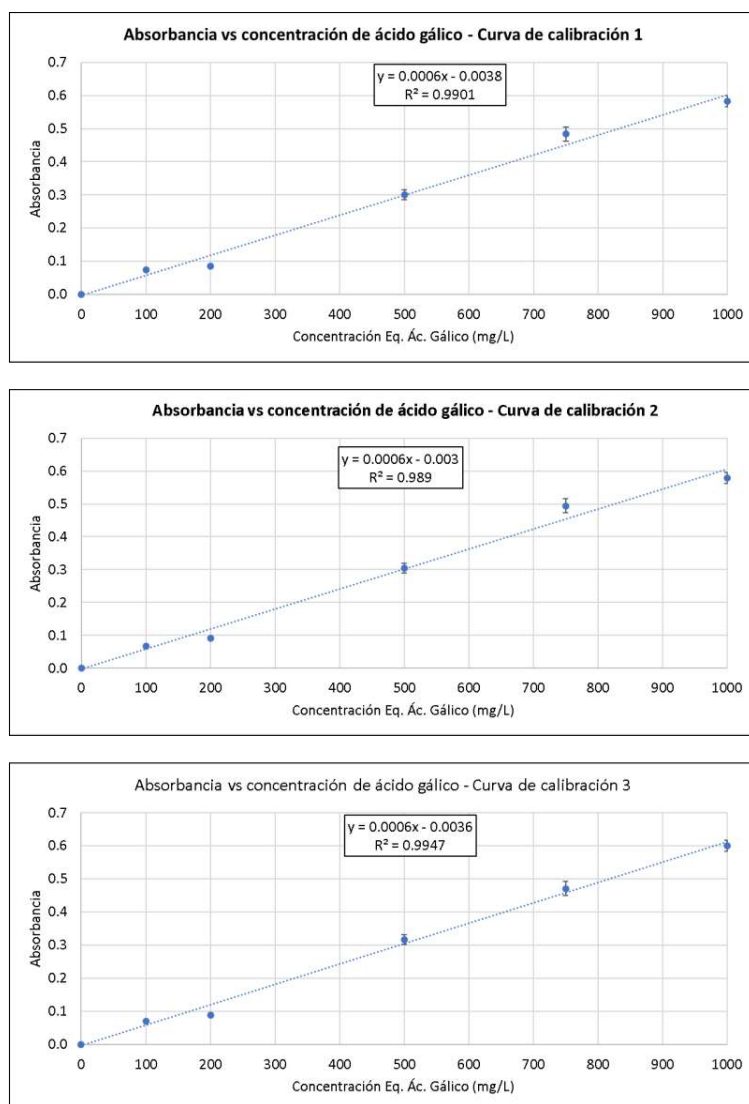
Con respecto a las fórmulas del gel, F1 presentó una viscosidad considerablemente mayor a F2, dado que se planteó una especificación de un gel fluido similar a una loción aceitosa. Se descartó esta fórmula, en tanto que F2 presentó una viscosidad adecuada al tacto, similar al de un aceite corporal y tras su ingreso a estabilidad no existió cambios significativos, más allá de la disminución de la viscosidad. Por ello, se utilizó la fórmula F2 del gel debido a que presenta una mejor apariencia dentro de la especificación requerida (gel de aspecto similar a un aceite ligero), no presenta cambios significativos en estabilidad y es más económica.

Los programas informáticos empleados para el procesamiento de datos, construcción de gráficos y análisis estadísticos fueron Microsoft Office Excel 2016 y Minitab ®19.

6.3 Cuantificación de fenoles totales en extractos

Figura 1

Curvas de calibración para determinación de fenoles totales, gráficas de la absorbancia en función de la concentración de ácido ascórbico

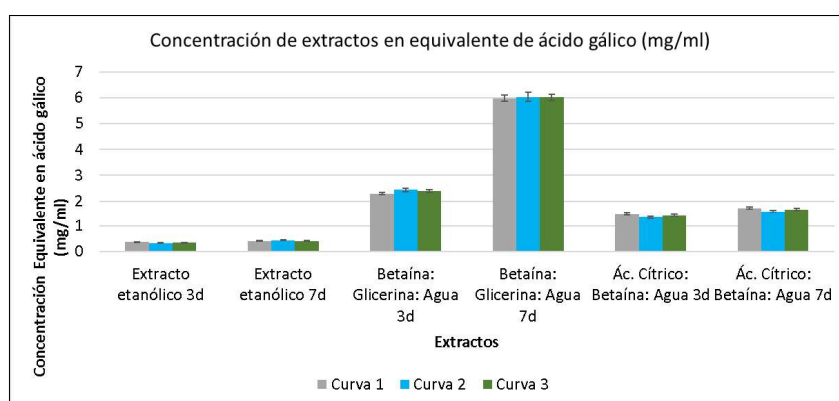


En la Figura 1, se muestran las curvas de calibración promedio obtenidas para el ácido gálico como patrón positivo para la determinación de fenoles totales en equivalentes de este ácido. Cada curva promedio fue elaborada en diferentes fechas a fin de evaluar la repetitividad del método. Se graficó las curvas bajo un modelo lineal utilizando el

software de Excel de Microsoft Office, donde se obtuvo los siguientes coeficientes de determinación: 0.9901, 0.989 y 0.9947 para cada curva respectivamente, estos valores permiten verificar que existe un ajuste de datos aceptable bajo un modelo de regresión lineal. Por ello, tras verificar la linealidad del método para el rango asignado, se procedió con la lectura de fenoles totales para los extractos elaborados.

Figura 2

Concentración equivalente en ácido gálico (mg/ml) de los diferentes extractos



En la Figura 2 se muestra la concentración equivalente en ácido gálico para cada extracto tras macerar por 72 y 168 horas, las concentraciones se determinaron por interpolación empleando las ecuaciones obtenidas de las respectivas curvas de calibración.

Se determinó que el solvente de betaína: glicerina: agua tras 7 días presentó la mayor cantidad de fenoles recuperados; seguido por el ácido cítrico: betaína: agua, por último, el etanol 96° fue el solvente que menor cantidad de fenoles extrajo.

En un estudio que evaluó el efecto de solventes alcohólicos en el contenido fenólico total y propiedades antioxidantes de *Trigonella foenum-graecum L.*, determinaron que los extractos obtenidos en etanol al 70 y 96 % permiten obtener mayor selectividad de fenoles totales, sin embargo, poseen los rendimientos de extracción más bajos. (Lohvina et al., 2022, pág. 8)

Esta es una de las posibles razones que permiten justificar la baja tasa de extracción para el solvente etanólico; otra razón que permita explicar este rendimiento podría deberse a que tras el proceso de maceración, se observó una suspensión del material vegetal sobre el solvente durante la preparación del primer lote de extracto, por ello, en los siguientes lotes se humectó con el solvente previamente el material seco con el solvente a fin de evitar este escenario sin embargo, en los dos lotes subsecuentes se repitió este escenario; esto pudo generar una reducción en el área de contacto del material vegetal con el solvente y por ende, limitar la difusión de los compuestos fenólicos del material vegetal al solvente.

Por otro lado, se han desarrollado estudios que consideran que la incorporación de ultrasonido en los procesos de extracción incrementa considerablemente la recuperación de fenoles totales. En una investigación se encontró que la extracción en solventes con concentraciones aproximadas del 50% en etanol a 29°C por 15.94 minutos en equipo de ultrasonido para la especie vegetal *Zizyphus lotus*, permiten recuperar la máxima cantidad de compuestos fenólicos con actividad anticancerígena y en una cantidad considerablemente menor de tiempo, en comparación a procesos de extracción tradicionales. (Berkani et al., 2020, págs.8-9) De la misma manera en otro estudio, describen que un tiempo de contacto de 6.5 minutos con una amplitud de 34.8% en ultrasonido empleando un solvente etanólico al 50% para la especie *Thymus comosus*, son las condiciones ideales para recuperar moléculas bioactivas de interés con capacidad antioxidante o actividad enzimática inhibitoria. (Babotă et al., 2022, pág.8)

El extracto etanólico no fue sometido a un proceso de sonicación debido a la alta concentración del solvente, debido a que existe riesgo de inflamación / explosión y emisión de vapores. Por ello, no se realizó este procedimiento para este solvente, puesto que representa un riesgo para la seguridad de los investigadores y en el escalado industrial, para los operadores del equipo o bien, requeriría de inversiones estructurales adicionales que permitan efectuar dicho procedimiento.

Mientras tanto, para los solventes eutécticos, se observó un rendimiento mucho más alto de recuperación de fenoles totales expresados como equivalentes en ácido gálico. La viscosidad ligeramente mayor al del solvente etanólico, evitó la formación/acumulación de suspensiones de materia vegetal sobre la superficie del solvente, tras las 72 horas y 168 horas de maceración; la materia vegetal se mantuvo en la matriz del solvente, favoreciendo la transferencia de masa entre la materia vegetal seca y el medio de extracción. (Ruesgas et al., 2017, pág. 3593) Los solventes fueron calentados a 60 – 80°C a fin de mejorar la fluidez de la sustancia, se filtraron los extractos a fin de remover el material vegetal; se observó una disminución en el volumen final del extracto, que puede deberse a pérdidas por filtración y adherencia del solvente al material empleado para la recuperación de los extractos. Si bien representa un factor importante a considerar para el escalado industrial, la alta tasa de recuperación de fenoles permite justificar esta pérdida, sin embargo, se requeriría de un análisis económico para evaluar el grado de impacto de la pérdida.

Se observó que, en los solventes eutécticos, la tasa de extracción es considerablemente mayor en comparación al solvente etanólico; la razón de este incremento en la tasa de extracción podría deberse a la polaridad de los solventes eutécticos, la mezcla de sustancias que compone la matriz del solvente eutéctico, se basa en sustancias con capacidad de donar y aceptar enlaces de hidrógeno, lo que permite generar una matriz molecular de afinidades no covalentes, obteniendo un medio que genera interacciones intermoleculares fuertes entre los fenoles totales y el solvente eutéctico, y por ende, favorece la tasa de recuperación de los fenoles. (Ruesgas et al., 2017, pág.3593)

Por otro lado, la optimización de las condiciones de extracción en solventes eutécticos es desafiante, debido a que se debe considerar la polaridad de las moléculas de interés y la polaridad del solvente tradicional, a fin replicarlo en el solvente eutéctico generando una matriz que favorezca la transferencia de masa de las moléculas de interés.

En un estudio de la actividad antioxidante *in vitro* de *Solanum nigrum L.* se recuperó 92.2 mg de contenido fenólico total por g de extracto a través de una extracción con una mezcla de metanol: agua 80: 20 v/v con rendimiento de 26,1%. (Campisi et al., 2019, pág.3)

Para obtener un rendimiento similar en la extracción de compuestos fenólicos sin el empleo de un solvente tradicional como el metanol, se debe replicar o ajustar la polaridad de los solventes eutécticos lo más similar posible al solvente de referencia, como mezclas de metanol: agua que son los medios más utilizados para la extracción de moléculas polifenólicas (García et al., 2016, págs.555-556); International Olive Council, 2007) para ello, se tomó en consideración que las polaridades individuales correspondientes del metanol: agua son de 55.00 y 63.10 kcal/mol. El solvente eutéctico de ácido cítrico: glucosa con relación molar 1:1 posee una polaridad de 47.81 kcal/mol (Ruesgas et al., 2017, pág.3593) que es ajustada con agua con el objetivo de alcanzar una polaridad similar al de la mezcla metanol: agua y por ende, obtener un rendimiento de extracción cercano al solvente tradicional.

Por otro lado, tanto el solvente eutéctico de glicerina: betaína como el de ácido cítrico: betaína; poseen mayor medio de adquisición debido a que los precios de los ingredientes individuales son económicos y accesibles, en comparación a solventes como metanol o etanol. Además, la matriz de ambos solventes eutécticos podría ser útil y viable para la aplicación directa en formulación cosmética debido a la funcionalidad y bondades que pueden atribuir cada uno de sus componentes individuales. Por ejemplo: el ácido cítrico suele ser empleado como un agente regulador de pH o conservante cosmético, la betaína posee propiedades hidratantes y es un agente protector de la dermis frente a la irritación; de la misma manera, la glicerina es utilizado como agente hidratante (Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios, 2006).

La cantidad de fenoles totales recuperados se expresa como concentración en equivalentes de ácido gálico. El extracto etanólico tras 3 días de maceración, presento

en promedio una recuperación de 3.47 mg de ácido gálico / g de muestra seca; el extracto etanólico tras 7 días de maceración, presentó un promedio de recuperación de 4.19 mg de ácido gálico / g de muestra seca. Mientras que, el extracto de glicerina-betaína tras 3 días de maceración, recuperó 23.74 mg de ácido gálico / g de muestra seca y tras 7 días de maceración, 60.10 mg de ácido gálico / g de muestra seca. En tanto que el extracto en ácido cítrico-betaína recuperó 14.10 mg de ácido gálico / g de muestra seca y tras 7 días de maceración, 16.77 mg de ácido gálico / g de muestra seca, como se muestra en la Tabla 8.

Considerando que el extracto de glicerina-betaína extrajo una mayor cantidad de fenoles, se debe tomar en cuenta que no todos los grupos fenólicos presentan capacidad inhibitoria de radicales libres, de allí, la importancia de identificar las moléculas que podrían tener funcionalidades de interés, a fin de optimizar las condiciones para elaborar medios más adecuados para generar extractos con mayor cantidad de sustancias activas. Por ello, es importante considerar en estudios futuros el empleo de metodologías como cromatografías líquidas de alto rendimiento o cromatografías de gases, espectrometría infrarroja u otros métodos más selectivos, para identificar y aislar las moléculas de interés o generar un screening completo del extracto.

Tabla 8

Fenoles totales expresados como equivalentes en mg de ácido gálico por g de muestra seca para los diferentes lotes de extractos obtenidos por maceración tras 72 y 168 h (3 y 7 días respectivamente). Los valores descritos para cada lote corresponden a los valores promedio

Extracto	CEqP (mg/g) 1 ^a	CeqP (mg/g) 2 ^b	CeqP (mg/g) 3 ^c	p ^d	D ^e
Etanólico 3d	3.63	3.33	3.43	3.47	0.15
Etanólico 7d	4.13	4.33	4.10	4.19	0.13
Betaína:					
Glicerina:	22.97	24.33	23.93	23.74	0.70
Agua 3d					

Betaína:					
Glicerina:	59.80	60.33	60.10	60.08	0.27
Agua 7d					
Ác. Cítrico:					
Betaína:	14.63	13.33	14.10	14.02	0.65
Agua 3d					
Ác. Cítrico:					
Betaína:	17.30	15.83	16.77	16.63	0.74
Agua 7d					

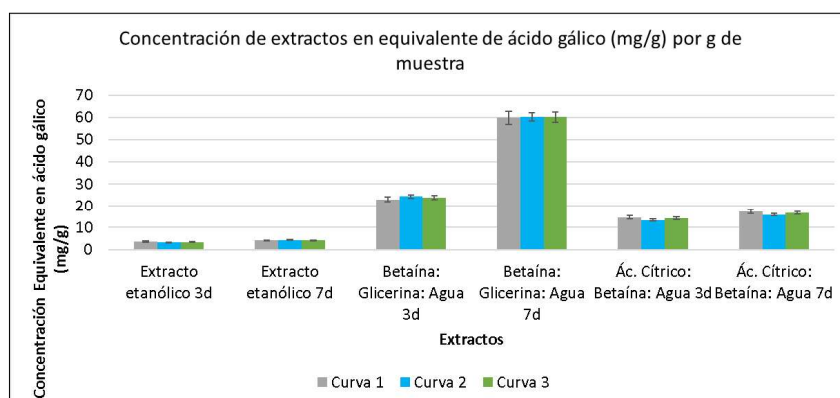
^{abc} CeqP: Concentración equivalente en ácido gálico promedio.

^d P: Promedio.

^e D: desviación estándar.

Figura 3

Fenoles totales expresados como equivalentes en mg de ácido gálico por g de muestra seca para los diferentes lotes de extractos obtenidos por maceración a las 72 y 168 h (3 y 7 días respectivamente)



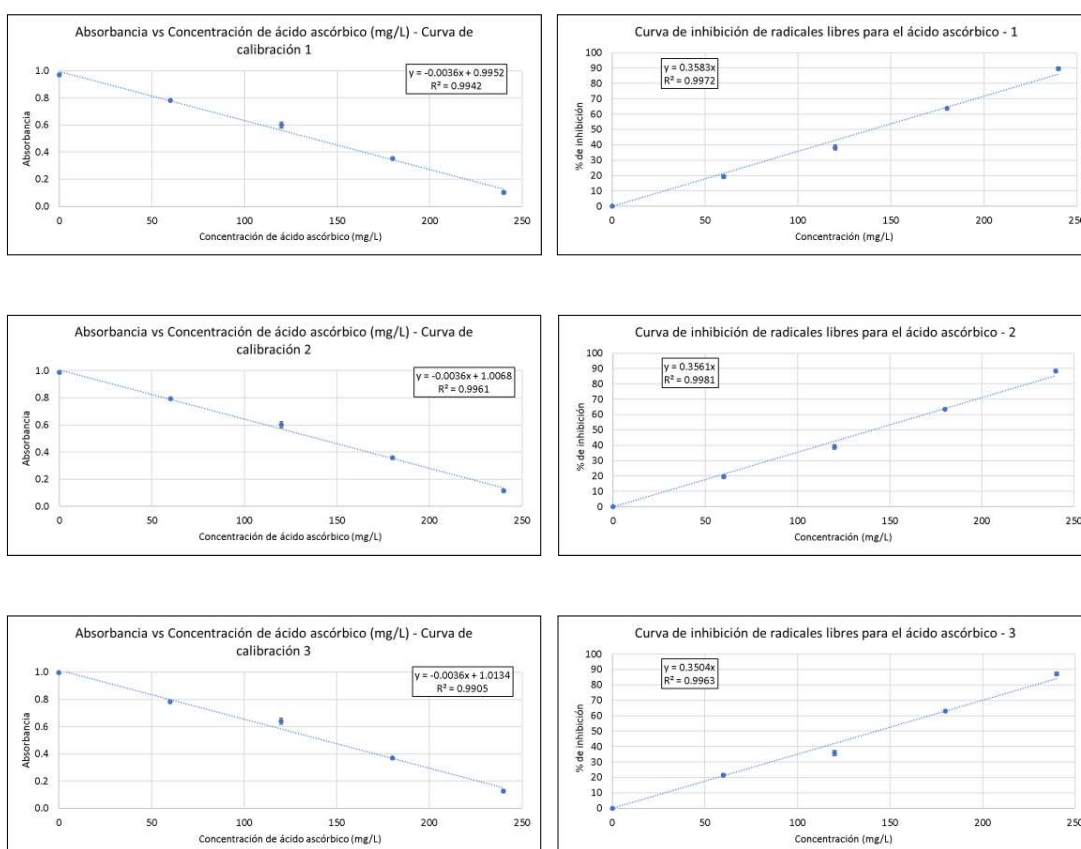
En la Figura 3, se muestran la concentración equivalente en ácido gálico obtenida para los diferentes extractos, los valores obtenidos fueron obtenidos por interpolación en las ecuaciones de la regresión lineal obtenidas para las diferentes curvas de calibración.

6.4 Capacidad inhibitoria y actividad antioxidante relativa de extractos

6.4.1 Curvas de calibración con ácido ascórbico

Figura 4

Curvas de calibración obtenidas para la absorbancia en función de la concentración de ácido ascórbico (mg/L) y curvas de inhibición de radicales DPPH en función de la concentración de ácido ascórbico (mg/L)



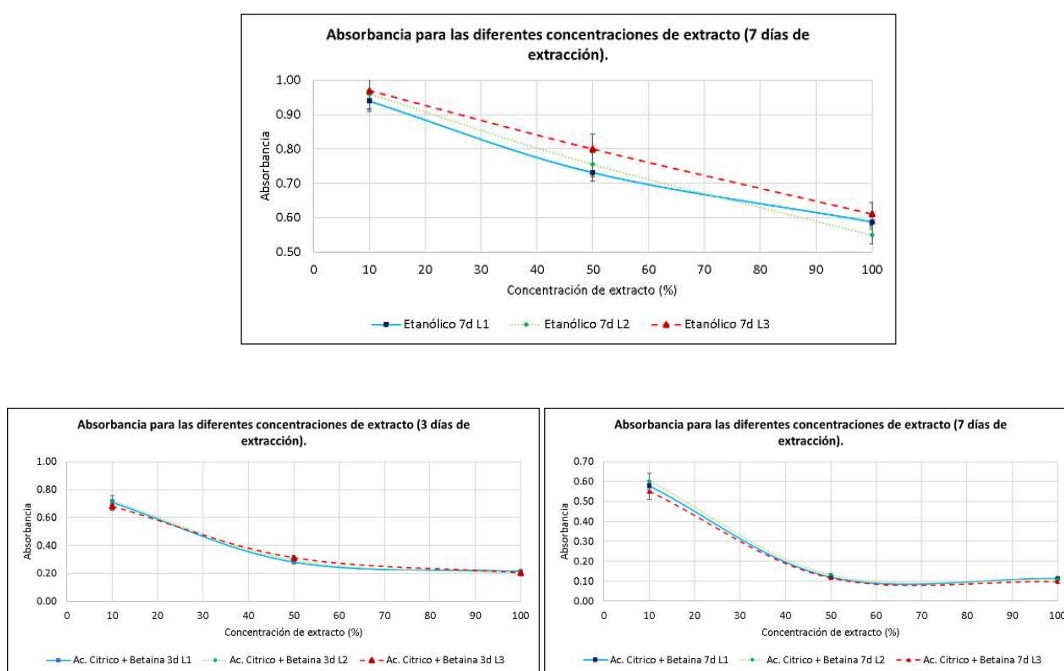
Se desarrollaron tres curvas de calibración promedio con ácido ascórbico como patrón positivo, efectuadas en diferentes días a fin de validar la repetividad del método. Se empleó esta sustancia como control debido a la importante cantidad de bibliografía existente para la determinación de la actividad inhibitoria de radicales DPPH. A través del empleo del software Excel para el procesamiento de datos de Microsoft Office, se

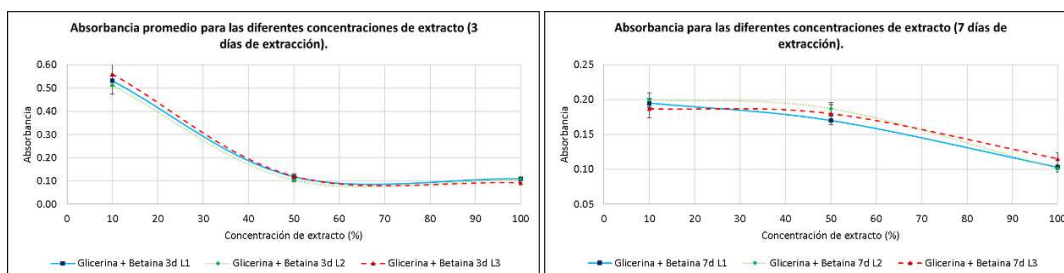
obtuvieron coeficientes de determinación de 0.99452, 0.9961 y 0.9905; valores que permiten corroborar que existe un buen ajuste de los datos para un modelo regresión lineal. Tras determinar la linealidad del método en el rango asignado, se determinaron las curvas de inhibición de radicales DPPH para el ácido ascórbico como solución de referencia.

6.4.2 Capacidad inhibitoria de radicales DPPH y concentraciones equivalentes en ácido ascórbico para las diferentes concentraciones de extractos.

Figura 5

Gráfica de las absorbancias promedio obtenidas en función de la concentración de extracto 10, 50 y 100%





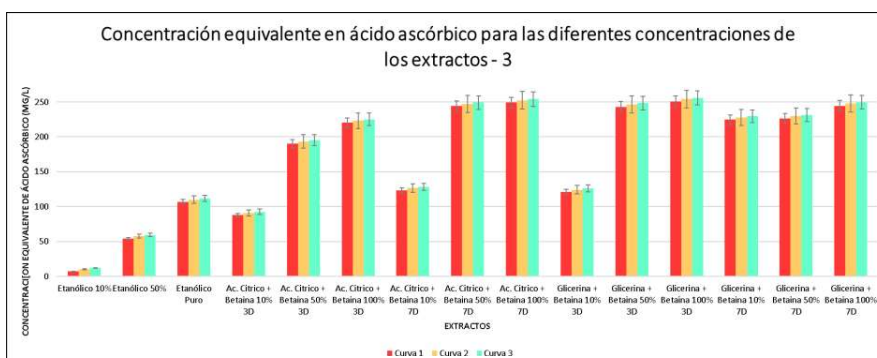
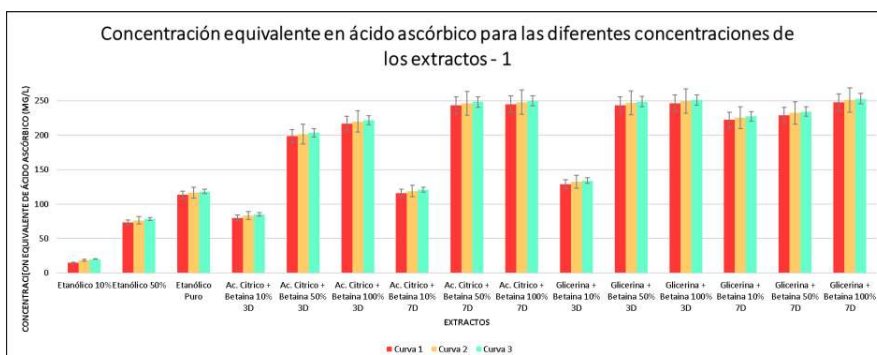
Se desarrollaron 3 lotes de extractos, a fin de evaluar la reproducibilidad en los rendimientos de extracción para los extractos. En la Figura 5, se observan las absorbancias obtenidas para cada concentración de extracto macerado por 3 y 7 días. Una absorbancia alta o cercana al valor obtenida por los blancos (0.971; 0.987 y 0.996 para las curvas de calibración 1; 2 y 3 respectivamente) implica una baja actividad de inhibición de radicales DPPH. Por lo tanto, la relación entre absorbancia e inhibición de radicales DPPH es inversamente proporcional.

Con respecto al extracto etanólico se evaluó únicamente el extracto obtenido tras 7 días de maceración debido a la baja cantidad de fenoles totales que posee el extracto tras 3 días de maceración.

En las siguientes figuras se muestran los valores promedio obtenidos por los extractos como concentración en equivalentes de ácido ascórbico para los diferentes porcentajes de extracto de ensayo. En rojo, se muestra la concentración obtenida considerando la ecuación de regresión de la curva de calibración 1, en naranja la respectiva concentración bajo la ecuación obtenida por la curva 2 y en verde la concentración descrita según el modelo lineal aproximado de la curva de calibración 3.

Figura 6

Concentración equivalente en ácido gálico (mg/L) para cada lote de extracto, cada color del gráfico de barras, describe la ecuación de referencia obtenida de la respectiva curva de calibración



En la Figura 6 se denota las concentraciones equivalentes obtenidas para cada extracto y el valor obtenido para cada curva de calibración, aquí se observa nuevamente que el extracto etanólico posee la menor cantidad de fenoles con actividad inhibitoria, debido a que los fenoles que se recuperan poseen una equivalencia con el ácido ascórbico baja, es decir, se requeriría de mayor cantidad de extracto o de un tratamiento adicional para concentrar los extractos a fin de que estos presenten actividades más altas o similares a la del patrón positivo y por ende, reflejen mayor capacidad inhibitoria.

Por otro lado, las concentraciones equivalentes en ácido ascórbico de mayor magnitud fueron obtenidos por los solventes eutécticos, siendo la concentración más interesante aquella obtenida por el extracto de glicerina: betaína al 10% tras 7 días de maceración, por lo tanto, con este extracto existe la posibilidad de requerir de pequeñas porciones en formulaciones para brindar una actividad inhibitoria de radicales importante.

Para los solventes eutécticos, podría existir la factibilidad de agregar pequeñas cantidades de los extractos a formulaciones cosméticos y brindar a los producto una actividad de inhibición de radicales considerable, sin embargo, se requeriría de estudios de factibilidad/funcionabilidad y de rentabilidad, así como análisis específicos a fin de evaluar la estabilidad y actividad *in vitro/in vivo* del prototipo u extracto a fin de ofertar un producto seguro y eficaz, adicionalmente, se requerirían de ensayos de compatibilidad de los extractos en diferentes matrices de fórmula a fin de valorar la integridad final de los extractos. En tanto que, para el extracto etanólico, la metodología de preparación e instrumentación se encuentra más estandarizada y difundida en comparación a los nuevos solventes, debido a la abundante referencia existente para otras especies vegetales y facilidades del método, a nivel de escalado industrial, la cantidad de extracto liquido etanólico podría implicar un costo más alto, debido al requerimiento de volúmenes mayores para almacenamiento del material, capacidad de equipos para procesamiento y volumen de extracto requerido para obtener una actividad importante u procesarlos para concentrarlos.

Los extractos en solventes eutécticos demostraron una importante capacidad de inhibición de radicales DPPH, el solvente eutéctico de glicerina: betaína al 10% tras 7 días de maceración, presento en promedio una magnitud superior al 80% de inhibición de los radicales. Considerando que todos los valores fueron ajustados con sus respectivos blancos de solvente a fin de evitar ruido por la matriz en las lecturas, estos valores permiten validar que los solventes eutécticos poseen la capacidad de extraer moléculas con capacidad inhibitoria de radicales DPPH y podrían ser una alternativa a

solventes tradicionales que tienden a ser tóxicos, requeridos en grandes cantidades, no biodegradables, entre otros.

Tabla 9

Porcentaje de inhibición de radicales DPPH para cada lote (L) en concentraciones de 100%, 50 y 10% de extracto

Extracto	Nombre	^a P: In. – L1	^b P: In. – L2	^c P: In. – L3	^d P: In.	^e D.
Etanólico 10%	ETD	3.19	2.74	2.61	2.85	0.31
Etanólico 50%	ETM	24.72	23.51	19.68	22.63	2.63
Etanólico Puro	EtP	39.55	44.38	38.65	40.86	3.08
Ac. cítrico + Betaína 10% 3D	ABDn	27.19	27.05	31.73	28.66	2.66
Ac. cítrico + Betaína 50% 3D	ABMn	71.06	70.21	68.78	70.02	1.16
Ac. cítrico + Betaína 100% 3D	ABPn	77.86	80.04	79.62	79.17	1.16
Ac. cítrico + Betaína 10% 7D	ABDa	40.37	38.91	44.68	41.32	3.00
Ac. cítrico + Betaína 50% 7D	ABMa	87.64	86.63	88.25	87.51	0.82
Ac. cítrico + Betaína 100% 7D	ABPa	88.26	88.86	90.06	89.06	0.92
Glicerina + Betaína 10% 3D	GBDn	45.31	48.13	43.78	45.74	2.21
Glicerina + Betaína 50% 3D	GBMn	87.85	89.46	87.95	88.42	0.90
Glicerina + Betaína 100% 3D	GBPn	88.77	89.16	90.76	89.57	1.05
Glicerina + Betaína 10% 7D	GBDa	79.92	79.74	81.22	80.29	0.81

Glicerina + Betaína 50% 7D	GBMa	82.49	81.05	81.93	81.82	0.72
Glicerina + Betaína 100% 7D	GBPa	89.39	89.77	88.45	89.20	0.68

^a P:In. – L1. Corresponde a promedio de inhibición de radicales DPPH, del lote 1 de extractos.

^b P:In. – L2. Corresponde a promedio de inhibición de radicales DPPH, del lote 2 de extractos.

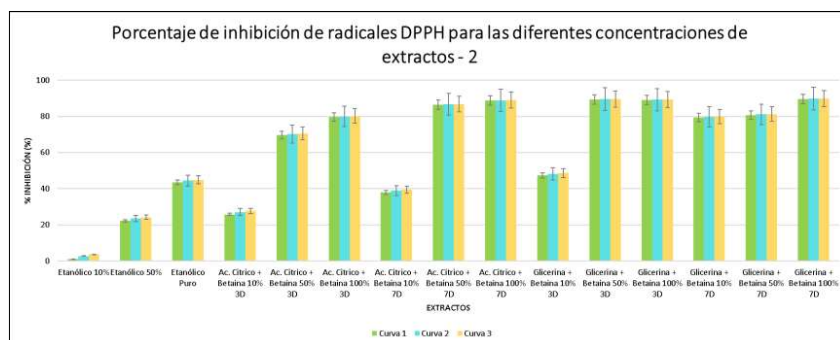
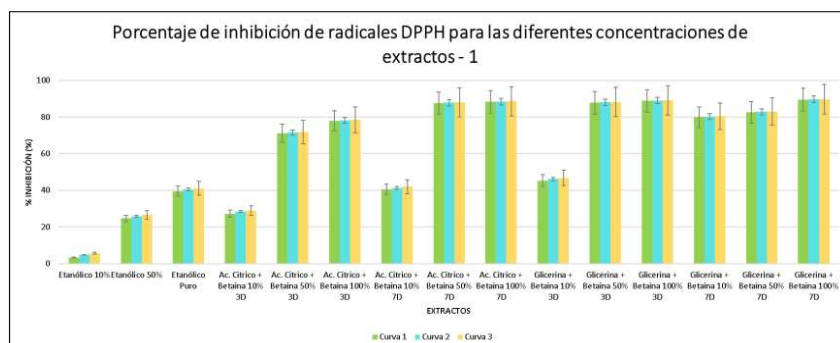
^c P:In. – L3. Corresponde a promedio de inhibición de radicales DPPH, del lote 3 de extractos.

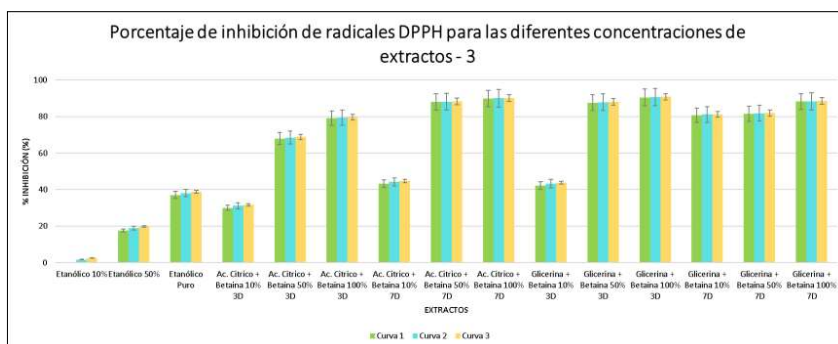
^d P:In.: Promedio.

^e D.: desviación estándar. D: Diluido 1/10 M: diluido 1:1 P: extracto puro sin diluir a: extracto macerado 3d n: extracto macerado 7d.

Figura 7

Porcentaje de inhibición de radicales DPPH para cada extracto del lote 1, 2 y 3 a porcentajes de extracto del 100, 50 y 10%





En la Figura 7, las barras en color verde corresponden a los porcentajes de inhibición de radicales DPPH, considerando la curva de calibración 1, las barras celestes proceden de la misma manera, pero considerando la curva 2 y las barras en color naranja en cambio considera la curva de calibración 3 respectivamente.

Durante el ensayo con reactivo DPPH, se observó que el extracto en betaína: glicerina presenta mayor capacidad inhibitoria de radicales en comparación al resto. Pues, parte de la alta capacidad de inhibición de radicales DPPH se puede correlacionar en parte con el alto contenido de fenoles totales presentes en el extracto a diferencia los otros extractos. Los solventes eutécticos obtuvieron un contenido de fenoles totales equivalentes en ácido gálico de 23.74 y 60.08 mg/g para el extracto de betaína: glicerina tras 3 y 7 días de extracción correspondientemente; de 14.02 y 16.63 para el extracto en ácido cítrico: betaína: agua tras 3 y 7 días de extracción respectivamente. Es importante considerar que la capacidad de inhibición de radicales libres puede estar vinculada con el contenido de fenoles totales. De hecho, algunos estudios han demostrado que existe una correlación fuerte entre el contenido total de fenoles y la capacidad inhibitoria de radicales DPPH. (Aryal et al., 2019, pág.3-4); Osman et al., 2020, pág.10645-10648) Considerando el porcentaje de extracto colocado y los porcentajes de inhibición es posible interpolar el valor IC50 de los extractos. Este valor es útil para determinar la capacidad antioxidante relativa en relación con el ácido ascórbico. Nota. La barra en verde corresponde al porcentaje de inhibición de radicales DPPH, considerando la curva de calibración 1, la barra celeste procede de la misma

manera, pero considerando la curva 2 y la barra naranja en cambio considera la curva de calibración 3 respectivamente.

Tabla 10

Coefficiente IC50m promedio de cada lote de extracto obtenido por interpolación considerando el % de extracto colocado y porcentaje de inhibición de radicales DPPH obtenido para cada curva de calibración

Extracto	^a IC50m (%) – C1	^b IC50m (%) – C2	^c IC50m (%) – C3	^d P: IC50m (%)
Etanólico	-	-	-	-
Ác. Cítrico: betaína: agua 3d	48.99	48.83	48.52	48.78
Ác. Cítrico: betaína: agua 7d	39.80	40.23	38.74	39.59
Glicerina: Betaína: agua 3d	38.87	37.96	38.89	38.57
Glicerina: Betaína: agua 7d	32.72	32.95	32.54	32.74

^aIC50m (%) – C1. Coeficiente de la concentración inhibitoria 50, expresado en porcentaje, correspondiente a la curva de calibración N°1.

^bIC50m (%) – C1. Coeficiente de la concentración inhibitoria 50, expresado en porcentaje, correspondiente a la curva de calibración N°2.

^cIC50m (%) – C1. Coeficiente de la concentración inhibitoria 50, expresado en porcentaje, correspondiente a la curva de calibración N°3.

^dP. Promedio del Coeficiente de la concentración inhibitoria 50, expresado en porcentaje.

Tabla 11

Coefficiente IC50m promedio de cada lote de extracto obtenido por interpolación considerando el extracto colocado (mg/L) y porcentaje de inhibición de radicales DPPH obtenido para cada curva de calibración

Extracto	^a IC50m (mg/L) – C1	^b IC50m (mg/L) – C2	^c IC50m (mg/L) – C3	^d P: IC50m (mg/L)
Etanólico	-	-	-	-
Ác. Cítrico: betaína: agua 3d	716.89	651.07	684.13	684.03
Ác. Cítrico: betaína: agua 7d	688.54	636.98	649.54	658.35
Glicerina: Betaína: agua 3d	892.71	923.69	930.77	915.73
Glicerina: Betaína: agua 7d	1956.66	1987.98	1955.65	1966.76

^aIC50m (%) – C1. Coeficiente de la concentración inhibitoria 50, expresado en ppm, correspondiente a la curva de calibración N°1.

^bIC50m (%) – C1. Coeficiente de la concentración inhibitoria 50, expresado en ppm, correspondiente a la curva de calibración N°2.

^cIC50m (%) – C1. Coeficiente de la concentración inhibitoria 50, expresado en ppm, correspondiente a la curva de calibración N°3.

^dP. Promedio del Coeficiente de la concentración inhibitoria 50, expresado en ppm.

Tabla 12

Coefficiente IC50r para cada curva de calibración con ácido ascórbico como patrón positivo

Curva de calibración	IC50r (mg/l)
Concentración 1	139.55
Concentración 2	140.41
Concentración 3	142.69

Tabla 13

Porcentaje de actividad antioxidante relativa para cada lote de extracto según la curva de calibración respectiva

Extracto	^a %AAR – C1	^b %AAR – C2	^c %AAR – C3	^d %AARP
Ác. Cítrico: betaína: agua 3d	513.72	466.55	490.25	490.17
Ác. Cítrico: betaína: agua 7d	493.41	456.46	465.46	471.77
Glicerina: Betaína: agua 3d	639.72	661.92	666.99	656.21
Glicerina: Betaína: agua 7d	1402.14	1424.59	1401.42	1409.38

^a%AAR – C1. Actividad antioxidante relativa del extracto, expresado en porcentaje, correspondiente a la curva de calibración N°1.

^b%AAR – C2. Actividad antioxidante relativa del extracto, expresado en porcentaje, correspondiente a la curva de calibración N°2.

^c%AAR – C3. Actividad antioxidante relativa del extracto, expresado en porcentaje, correspondiente a la curva de calibración N°3.

^d%AARP. Promedio de la actividad antioxidante relativa del extracto, expresado en porcentaje.

Considerando la Tabla 11, Tabla 12 y Tabla 13, se observa que el coeficiente de inhibición del 50% de los radicales DPPH de la muestra o IC_{50m}, permite describir la concentración en la cual se inhibe el 50% de los radicales DPPH presentes en la solución. Bajo esta consideración, durante el desarrollo experimental de este estudio, no se logró determinar el valor IC₅₀ para el solvente etanólico debido a que el máximo valor de inhibición para este solvente fue aproximadamente 44.38% y para determinar el coeficiente en el punto en el cual el 50% de los radicales DPPH son atrapados, se requeriría realizar una sobreestimación sin respaldo experimental que permita argumentar un valor propuesto. Por ello, no se aproximó este coeficiente. Por otro lado, para el solvente de glicerina: betaína con 7 días de extracción, medio que

presentó la mayor cantidad de fenoles totales, se determinó el IC50 considerando que a concentración cero, se tendría una capacidad inhibitoria de radicales nula y con ello, se realizó la aproximación respectiva.

Se ha observado que, para este extracto, se obtuvo un porcentaje de inhibición más alto con una concentración de extracto de apenas 10% (con una inhibición promedio de radicales DPPH sobre el 80%) en comparación al resto. Esto puede deberse a su contenido de fenoles totales superior al resto también, tomando en consideración la premisa de que hay una correlación fuerte entre estas variables.

En tanto, los extractos de ácido cítrico: betaína tras 72/168 horas de extracción y el extracto de glicerina: betaína a los 3 días de extracción también presentaron un valor IC50 mucho más alto que el extracto etanólico, se demuestra que existe un mejor rendimiento de recuperación de moléculas con capacidad antioxidante en la matriz de los solventes eutécticos en comparación al tradicional.

Adicionalmente, los ingredientes individuales de la matriz de los solventes eutécticos pueden ser de interés para aplicaciones cosméticas, debido a que la mayoría de ellas son reconocidas como GRAS – Generally recognized as safe (generalmente reconocidas como seguras) con CFR: 21CFR184.1033 para el ácido cítrico (U.S. Food and Drug Administration, 2022a), 21CFR184.1033 para la betaína (U.S. Food and Drug Administration, 2022b). En tanto que la betaína posee incluso aplicaciones terapéuticas; (Arumugam et al., 2021, pág.2) nutricionales (Craig, 2004, pág. 539) y en cosmética es empleado como buffer, coordinador de agua, anti irritativo, surfactante agente modificador de características sensoriales al tacto, entre otros (Rigano et al., 2000, pág.48)

6.4.3 Capacidad inhibitoria y actividad antioxidante relativa de crema/gel antioxidante

Considerando los resultados obtenidos en capacidad antioxidante y fenoles totales para los extractos, se emplearon los macerados por 7 días, debido a que presentaron las mayores capacidades inhibitorias.

Figura 8

Porcentaje de inhibición de radicales DPPH para el gel a concentraciones de 2/5/10% de extracto para el lote 1 y 2.

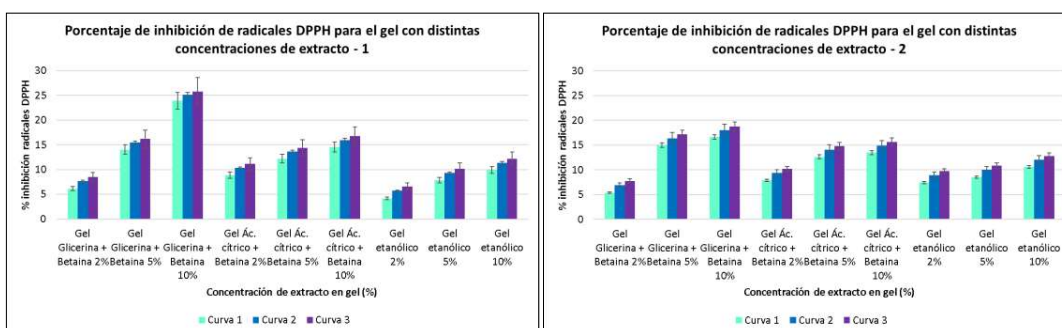


Tabla 14

Valor promedio de porcentaje de inhibición de radicales DPPH y concentración equivalente en ácido ascórbico para el gel elaborado para los respectivos lotes 1 y 2

Muestra	^a P. %In. - L1	^b P. %In. - L2	^c Prom. In. (%)	^d P: C. Eq. - L1	^e P: C. Eq. - L2	^f Prom. C. Eq. (mg/L)
Gel Glicerina + Betaína 2%	7.43	6.68	7.06	24.96	24.00	24.48
Gel Glicerina + Betaína 5%	15.22	16.18	15.70	46.25	49.95	48.10
Gel Glicerina + Betaína 10%	24.92	17.78	21.35	72.80	54.33	63.56
Gel Ác. cítrico + Betaína 2%	10.10	9.14	9.62	32.25	30.70	31.48

Gel Ác. cítrico + Betaína 5%	13.40	13.83	13.62	41.30	43.54	42.42
Gel Ác. cítrico + Betaína 10%	15.75	14.68	15.22	47.71	45.87	46.79
Gel etanólico 2%	5.51	8.71	7.11	19.71	29.54	24.63
Gel etanólico 5%	9.14	9.78	9.46	29.63	32.45	31.04
Gel etanólico 10%	11.16	11.80	11.48	35.17	38.00	36.58

^a P. %In. – L1. Corresponde al valor promedio del porcentaje de inhibición de radicales libres considerando el blanco de la curva de calibración N°1.

^b P. %In. - L2. Corresponde al valor promedio del porcentaje de inhibición de radicales libres considerando el blanco de la curva de calibración N°2.

^c Prom. In. (%). Corresponde al valor promedio del porcentaje de inhibición de radicales libres. ^d P:

C. Eq. - L1. Corresponde al valor promedio de la concentración equivalente en ácido ascórbico (mg/L), del primer lote de gel.

^eP: C. Eq. - L2. Corresponde al valor promedio de la concentración equivalente en ácido ascórbico (mg/L), del segundo lote de gel.

^fProm. C. Eq. (mg/L). Corresponde al valor promedio de la concentración equivalente en ácido ascórbico.

En la Figura 8, se muestra los diferentes valores de inhibición de radicales DPPH obtenidos para las formulaciones en gel y en la Tabla 14, se resume los valores de porcentajes de inhibición alcanzados para los diferentes geles elaborados. La incorporación de los extractos en el gel, brinda características organolépticas atractivas. El extracto etanólico añadido al gel base, agrega una coloración muy ligera similar a un color oliva de tono extremadamente ligero y translucido. Por otro lado, la incorporación de los extractos eutécticos en los geles inicialmente brinda un tono marrón casi imperceptible. Con respecto a la capacidad inhibitoria en las formulaciones

de crema y gel, se observó que los productos que contenían extractos de glicerina: betaína presentaron en promedio, la mayor capacidad inhibitoria.

La máxima capacidad inhibitoria de radicales DPPH fue alcanzado por el gel con el extracto de glicerina betaína con un valor de 24.92% para el lote 1 y 17.78% para el lote 2. Para el extracto de ácido cítrico: betaína: agua, el incremento de extracto en la fórmula del gel no incrementa considerablemente la capacidad inhibitoria de radicales DPPH. En tanto, que al aumentar la cantidad extracto de glicerina: betaína, se observó un incremento apreciable de la capacidad de inhibición de radicales DPPH.

Figura 9

Porcentaje de inhibición de radicales DPPH para crema a concentraciones de 2/5/10% de extracto para el lote 1 y 2.

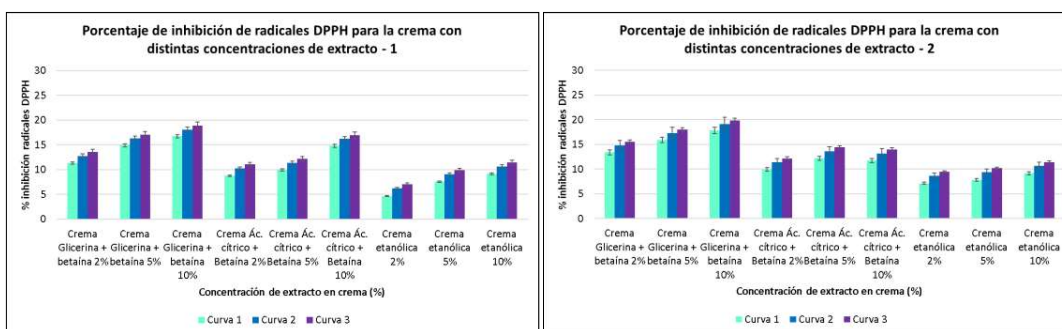


Tabla 15

Valor promedio de porcentaje de inhibición de radicales DPPH y concentración equivalente en ácido ascórbico para las cremas elaboradas para los respectivos lotes 1 y 2

Muestra	^a P. %In. - L1	^b P. %In. - L2	^c Prom. In. (%)	^d P. C. Eq. - L1	^e P. C. Eq. - L2	^f Prom. C. Eq. (mg/L)
Crema Glicerina + betaína 2%	12.55	14.58	13.57	38.96	45.58	42.27
Crema Glicerina + betaína 5%	16.07	17.03	16.55	48.59	52.29	50.44
Crema Glicerina + betaína 10%	17.88	18.95	18.42	53.55	57.54	55.54

Crema Ác. cítrico + Betaína 2%	9.99	11.16	10.58	31.96	36.25	34.10
Crema Ác. cítrico + Betaína 5%	11.16	13.40	12.28	35.17	42.37	38.77
Crema Ác. cítrico + Betaína 10%	15.96	12.98	14.47	48.30	41.20	44.75
Crema etanólica 2%	5.94	8.39	7.17	20.88	28.66	24.77
Crema etanólica 5%	8.82	9.14	8.98	28.75	30.70	29.73
Crema etanólica 10%	10.42	10.42	10.42	33.13	34.20	33.67

^aP. %In. – L1. Corresponde al valor promedio del porcentaje de inhibición de radicales libres considerando el blanco de la curva de calibración N°1.

^bP. %In. - L2. Corresponde al valor promedio del porcentaje de inhibición de radicales libres considerando el blanco de la curva de calibración N°2.

^cProm. In. (%). Corresponde al valor promedio del porcentaje de inhibición de radicales libres.

^dP: C. Eq. - L1. Corresponde al valor promedio de la concentración equivalente en ácido ascórbico (mg/L), del primer lote de crema.

^eP: C. Eq. - L2. Corresponde al valor promedio de la concentración equivalente en ácido ascórbico (mg/L), del segundo lote de crema.

^fProm. C. Eq. (mg/L). Corresponde al valor promedio de la concentración equivalente en ácido ascórbico.

Con respecto a la crema, la incorporación de los extractos en la fórmula base brindo un color característico de tono ligeramente oliva, crema y marrón extremadamente ligeros para los extractos etanólico, ácido cítrico-betaína-agua y glicerina: betaína-agua respectivamente.

En la Figura 9, se muestra gráficamente los porcentajes de inhibición de radicales DPPH obtenidos para las cremas con diferente concentración de extracto. En tanto que en la Tabla 15, se resumen los valores promedio obtenidos de los porcentajes de inhibición de radicales DPPH con su respectiva concentración equivalente en ácido ascórbico para los lotes 1 y 2 de formulaciones con extractos. Se observó que la mayor capacidad inhibitoria de radicales DPPH para la crema con extracto de glicerina: betaína: agua seguido por la fórmula con extracto de ácido cítrico: betaína: agua. Sin embargo, se debe considerar que los rendimientos de capacidad inhibitoria de radicales DPPH son relativamente bajos, debido a que ninguna formulación de crema supero la inhibición de radicales del 20%.

6.4.4 Capacidad inhibitoria y actividad antioxidante relativa de crema/gel antioxidante

Por último, se empleó el software de MINITAB[®]19 para determinar si existe diferencia estadísticamente significativa entre los porcentajes de inhibición de los radicales DPPH obtenidos para las formulaciones con los extractos, a través de un análisis de varianza (ANOVA), donde se planteó un nivel de significancia de 0,05 y como hipótesis nula que: las medias obtenidas para los porcentajes de inhibición de radicales DPPH para cada formulación son iguales. Como hipótesis alterna se planteó que: No todas las medias de inhibición de radicales DPPH para cada formulación son iguales.

Para ello, se determinó la media, desviación estándar e intervalos de confianza al 5% de nivel de significación. Los valores para cada parámetro se resumen en la Figura 10.

Figura 10

Estadísticos para porcentajes de inhibición de radicales DPPH para cada gel con 10% de su respectivo extracto

Medias

Factor	N	Media	Desv.Est.	IC de 95%
Gel Glicerina/Betaina %In.	6	23,710	0,573	(23,069; 24,350)
Gel Ac.C/Bet/Agua %In.	6	14,174	0,874	(13,534; 14,814)
Gel Etanólico %In.	6	9,139	0,730	(8,499; 9,780)

Desv.Est. agrupada = 0,735872

En la Figura 11 se muestran los valores obtenidos para el análisis ANOVA, por regla general, se debe considerar que se rechaza la hipótesis nula si el valor p (valor de probabilidad) es mayor que el nivel de significación establecido (0,05).

En este caso se obtuvo un valor de probabilidad (p) menor al nivel de significancia (α) esto permite concluir que existe evidencia estadística significativa para detallar que los valores promedio del porcentaje de inhibición de los radicales DPPH para cada extracto no son iguales.

Figura 11

Resumen de valores obtenidos para los diferentes parámetros de ANOVA para la comparación de los geles con 10% de los diferentes extractos.

Análisis de Varianza

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Factor	2	657,125	328,562	606,75	0,000
Error	15	8,123	0,542		
Total	17	665,247			

Resumen del modelo

S	R-cuad. (ajustado)	R-cuad. (pred)
0,735872	98,78%	98,24%

Adicionalmente, se realizó la prueba de comparaciones en parejas de Tukey, los valores las medias y agrupaciones obtenidas, se muestran en la Figura 12.

Figura 12

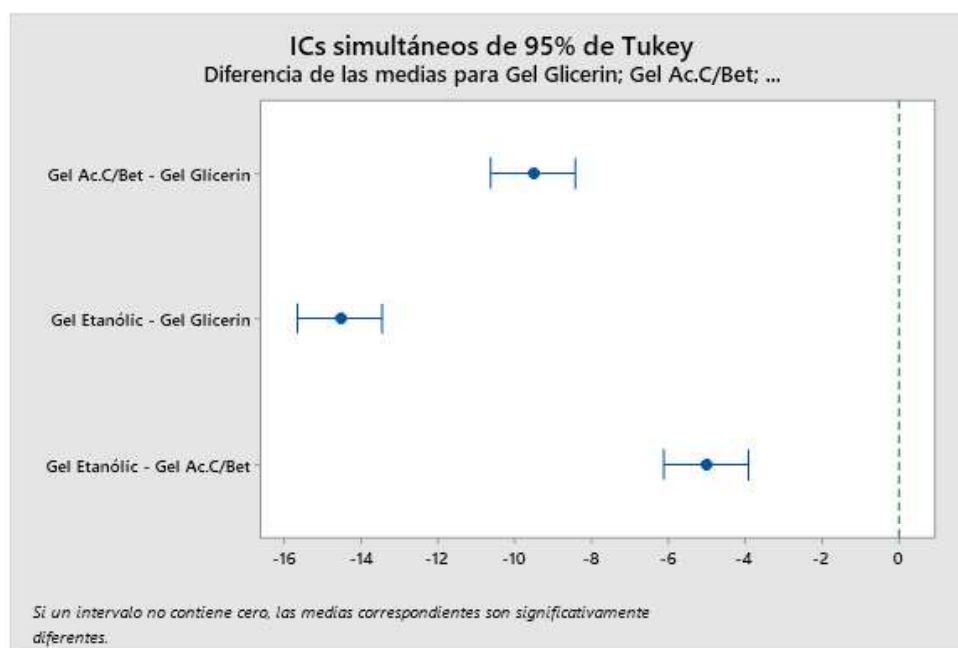
Comparaciones en pareja – Prueba de Tukey – para las formulaciones de gel.

Comparaciones en parejas de Tukey

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

Factor	N	Media	Agrupación
Gel Glicerina/Betaina %In.	6	23,710	A
Gel Ac.C/Bet/Agua %In.	6	14,174	B
Gel Etanólico %In.	6	9,139	C

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.



En la Figura 12, a través del análisis estadístico obtenido con el software, se concluye que los geles son significativamente diferentes y que el gel de glicerina: betaína: agua posee el mayor porcentaje de inhibición de radicales DPPH. Además, bajo la prueba de Tukey, se logró determinar que los rendimientos obtenidos por cada solvente eutéctico son significativamente diferentes del rendimiento obtenido por el solvente etanólico.

Se procedió de la misma manera para las formulaciones en crema con los diferentes extractos, los valores de los estadísticos obtenidos por el software, se resumen en la Figura 13.

Figura 13

Estadísticos para porcentajes de inhibición de radicales DPPH para cada crema con 10% de su respectivo extracto.

Medias

Factor	N	Media	Desv.Est.	IC de 95%
Crema Glicerina/Betaina %In.	6	16,713	0,456	(16,159; 17,267)
Crema Ac.C/Bet/Agua %In.	6	14,447	0,518	(13,893; 15,001)
Crema Etanólica %In.	6	8,723	0,861	(8,169; 9,278)

Desv.Est. agrupada = 0,636950

Figura 14

Resumen de valores obtenidos para los diferentes parámetros de ANOVA para la comparación de los geles con 10% de los diferentes extractos

Resumen del modelo

S	R-cuad. (ajustado)	R-cuad. (pred)
0,636950	97,10%	95,82%

Análisis de Varianza

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Factor	2	203,451	101,725	250,74	0,000
Error	15	6,086	0,406		
Total	17	209,536			

Por último, se realizó la prueba de comparaciones en parejas de Tukey; donde el valor de las medias y agrupaciones obtenidas por el software, se muestra en la Figura 15.

Figura 15

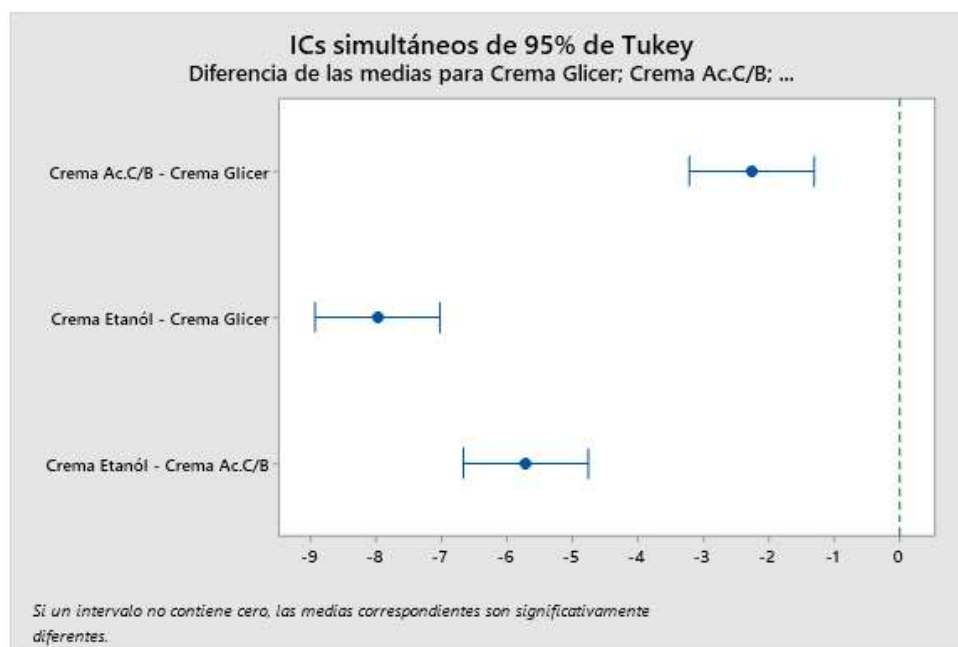
Comparaciones en pareja – Prueba de Tukey – para las formulaciones de crema.

Comparaciones en parejas de Tukey

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

Factor	N	Media	Agrupación
Crema Glicerina/Betaina %In.	6	16,713	A
Crema Ac.C/Bet/Agua %In.	6	14,447	B
Crema Etanólica %In.	6	8,723	C

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.



Nota. La información obtenida del software para el ANOVA y prueba de comparación de Tukey, se resumen en la Figura 14 y Figura 15, respectivamente. Donde, se observó que el valor de probabilidad menor (p) es menor que el valor de significancia planteado (α), por lo tanto, se aprecia que existe diferencia estadísticamente significativa entre cada formulación de crema. Por ello, ninguna de las cremas que posee extractos con solventes eutécticos es similar al de las formulaciones con extractos etanólicos.

7 Discusiones

Acerca de la preparación de los extractos de *Solanum nigrum L.* en medio etanólico y en solventes eutécticos profundos, inicialmente, se prepararon 4 medios eutécticos, sin embargo los correspondientes a ácido cítrico-glucosa y ácido cítrico-glucosa-fructosa, presentaron una viscosidad elevada, que puede ser disminuida considerablemente a través de la aplicación de calor, sin embargo este parámetro podría tener un impacto en el desarrollo de las metodologías de análisis, por ello, se redujo el número de extractos a 3: etanol 96°, ácido cítrico-betaína-agua y glicerina-betaína. Un procedimiento adicional de ultrasonido a los solventes eutécticos a fin de mejorar el rendimiento de extracción, este adicional no se replicó para el solvente etanólico por el riesgo de emanación de gases, así como de explosión. Los diferentes extractos adquirieron diferentes tonalidades de coloración, verde para el etanólico, marrón verdoso para el de glicerina-betaína y un tono marrón para el de ácido cítrico-betaína.

En cuanto a la evaluación de los fenoles totales por el método de Folin-Ciocalteu, se determinó que el solvente que presentó la mayor cantidad de fenoles fue el de glicerina-betaína con un promedio de 60.08 mg de ácido gálico / g de muestra seca, esto permitió observar que los solventes eutécticos poseen una mayor capacidad de extracción de compuestos fenólicos y por ello, podrían ser una alternativa viable a solventes tradicionales. Sin embargo, la calidad de la capacidad inhibitoria de radicales libres a pesar de que posee una correlación fuerte con el contenido de fenoles totales, puede variar en función de la presencia de moléculas específicas con acción antioxidante, dado el alcance del estudio no se identificaron estas sustancias de interés, sin embargo, metodologías con cromatografías líquidas de alta resolución o de gases podrían ser útiles para identificar dichas moléculas y de esta manera estandarizar los extractos.

Aunque se desarrollaron algunas formulaciones de crema y gel, el estudio se limitó a la incorporación de los extractos a 2 formulas: la formula F3 para la crema y F2 para

el gel. F3 de crema debido a que presentó una textura más sólida visualmente de color blanca, lisa y homogénea; sin cambios tras ingreso a condiciones de estabilidad. Y F2 del gel debido a que la textura era de un aceite ligero y no hubo cambios significativos en el aspecto tras ingreso a estabilidad más allá de un aumento en la fluidez de la formulación.

La incorporación de los extractos en las cremas les brindó coloraciones pasteles ligeros y agradables de sus respectivos colores, en tanto que en el gel tras la incorporación de los extractos no se observó una coloración notable en el medio.

La evaluación de la capacidad inhibitoria de radicales DPPH para los extractos y formulaciones, obtuvieron curvas de calibración con coeficientes de determinación aceptables (0.99452, 0.9961 y 0.9905), la mejor capacidad inhibitoria de radicales DPPH fue para el extracto al 10% de glicerina-betaína tras 7 días de extracción, con una inhibición porcentual del 80.29% de los radicales DPPH. En tanto que el extracto etanólico al 100% en promedio inhibió el 40.86% de los radicales. Nuevamente, permite observar que existe una diferencia significativa y los extractos eutécticos podrían ser aprovechados como alternativa a solventes tradicionales.

Por último, en los extractos etanólicos y eutécticos profundos de 7 días de extracción para su incorporación en las fórmulas cosméticas debido a que presentaron mejores rendimientos de capacidad inhibitoria. Con respecto a la incorporación de extractos en el gel, se obtuvo que la mayor capacidad inhibitoria fue para los extractos de glicerina betaína al 10% con un 21.35%, en tanto que el gel etanólico al 10% presentó una capacidad inhibitoria de radicales DPPH en promedio de 11.48. Por otro lado, la crema que presentó mayor capacidad inhibitoria aquella que fue incorporada con 10% de extracto de glicerina-betaína con un 19.42% de inhibición de radicales DPPH en promedio, en tanto que la crema etanólica presentó una capacidad inhibitoria de 10.42%. Esto permite concluir que se ha desarrollado formulaciones con extractos de *Solanum nigrum L.*, se incorporó exitosamente los extractos etanólicos y eutécticos profundos, en una formulación de crema y gel con capacidad inhibitoria de radicales DPPH. Todos los extractos presentaron una capacidad inhibitoria característica y los extractos eutécticos profundos

presentaron la mayor capacidad de neutralización de radicales libres a nivel *in vitro*. Esto determina que los extractos eutécticos profundos poseen la capacidad de extraer compuestos antioxidantes, siendo una alternativa verde/segura y biodegradable. Sin embargo, se requeriría de más estudios alrededor de la especie a fin de identificar las moléculas a las cuales se les puede atribuir esta capacidad, así como análisis de factibilidad, para validar la viabilidad del escalado a nivel industrial previamente con estudios de citotoxicidad y estudios de estabilidad a largo plazo para los extractos, con el fin de validar su seguridad y eficacia, para la sociedad.

8 Conclusiones

- Se determinó la capacidad antioxidante de una crema y gel elaborados a base de extractos hidroalcohólico y eutécticos profundos de *Solanum nigrum L.*, en donde la mayor capacidad antioxidante fue para el gel con extractos eutécticos de glicerina: betaína: agua.
- Se extrajeron compuestos fenólicos de las hojas de *Solanum nigrum L.* mediante el método de maceración en solventes, en medio alcohólico (etanol 70%) y en solventes eutécticos profundos (Ácido cítrico-glucosa, Ácido cítrico-glucosa-fructuosa-agua, betaína-glicerina-agua, Ácido cítrico-betaína-agua). Consecutivamente, se cuantificó los fenoles totales por la metodología de Folin-Ciocalteu obteniendo la mayor cantidad de fenoles totales para el extracto de glicerina-betaína-agua con un promedio de 60.08 mg de ácido gálico / g de muestra seca.
- Se desarrolló una crema y un gel con la incorporación adecuada de extractos de *Solanum nigrum L.* Además, en las formulaciones planteadas se evidencio mayor capacidad inhibitoria de radicales DPPH en las formulaciones con glicerina: betaína: agua.
- Se determinó el mayor porcentaje de inhibición de radicales libres, correspondiente a la fórmula del gel elaborado con 10% de extracto eutéctico de glicerina-betaína, correspondiente a 21.35%.

Referencias

- Abril-Ibarra, Z. (2022). Antioxidantes producidos por microorganismos acuáticos y terrestres con uso potencial en cosméticos. *SciELO*, 44(116), 3.
<https://doi.org/10.17533>
- Abubakar, A. R., & Haque, M. (2020b). Preparation of Medicinal Plants: Basic Extraction and Fractionation Procedures for Experimental Purposes. *Journal of Pharmacy & Bioallied Sciences*, 12(1), 1-26.
https://doi.org/10.4103/JPBS.JPBS_175_19 Disponible en:
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7398001/?report=reader>
- Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios. (2006). *DECISIÓN DE LA COMISIÓN de 9 de febrero de 2006 que modifica la Decisión 96/335/CE, por la que se establece un inventario y una nomenclatura común de ingredientes empleados en los productos cosméticos.*
- Alam, M. N., Roy, S., Anisuzzaman, S. M., & Rafiquzzaman, M. (2012). Antioxidant activity of the ethanolic extracts of leaves, stems and fruits of *Solanum nigrum*. *Pharmacogn. Commun*, 2, 67-71. Disponible en:
https://www.researchgate.net/profile/Sharif-Anisuzzaman/publication/233986850_Antioxidant_activity_of_the_ethanolic_ extracts_of_leavesstems_and_fruits_of_Solanum_nigrum/links/02bfe50ddb66d58eaf000000/Antioxidant-activity-of-the-ethanolic-extracts-of-leaves-stems-and-fruits-of-Solanum-nigrum.pdf
- Akubugwo, I. E., Obasi, A. N., & Ginika, S. C. (2007). Nutritional potential of the leaves and seeds of black nightshade - *Solanum nigrum* L. Var virginicum from Afikpo-Nigeria. *Pakistan Journal of Nutrition*, 6(4), 323–326.
<https://doi.org/10.3923/pjn.2007.323.326>
- Ndhlala, Ashwell R., Moyo, Mack and Van Staden, Johannes. Natural Antioxidants: Fascinating or Mythical Biomolecules?, *molecules*, 2010, 15, 6905-6930 DOI: 10.3390/molecules15106905 Disponible en:
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6259562/pdf/molecules-15-06905.pdf>

- Arumugam, M. K., Paal, M. C., Donohue, T. M., Ganesan, M., Osna, N. A., & Kharbanda, K. K. (2021). Beneficial effects of betaine: A comprehensive review. *Biology*, 10(6), 1–24. <https://doi.org/10.3390/biology10060456> Disponible en: <file:///C:/Users/dell.DESKTOP-LL5VB9F/Downloads/biology-10-00456.pdf>
- Aryal, S., Baniya, M. K., Danekhu, K., Kunwar, P., Gurung, R., & Koirala, N. (2019). Total Phenolic content, Flavonoid content and antioxidant potential of wild vegetables from western Nepal. *Plants*, 8(4). <https://doi.org/10.3390/plants8040096> Disponible en: [file:///C:/Users/dell.DESKTOP-LL5VB9F/Downloads/plants-08-00096%20\(1\).pdf](file:///C:/Users/dell.DESKTOP-LL5VB9F/Downloads/plants-08-00096%20(1).pdf)
- Avello, M. M. S. (2006). Radicales libres, antioxidantes naturales y mecanismos de protección. *SciELO*, (0718–0462), 162–170. Retrieved from https://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0718-04622006000200010
- Babeş, V., COMŞA, Ş., CÎMPEAN, A. M., & RAICA, M. (2015). The Story of MCF-7 Breast Cancer Cell Line: 40 years of Experience in Research. *ANTICANCER RESEARCH*, 3147–3154. Retrieved from <https://ar.iijournals.org/content/anticancer/35/6/3147.full.pdf>
- Babotă, M., Frumuzachi, O., Gâvan, A., Iacoviţă, C., Pinela, J., Barros, L., ... Mocan, A. (2022). Optimized ultrasound-assisted extraction of phenolic compounds from *Thymus comosus* Heuff. ex Griseb. et Schenk (wild thyme) and their bioactive potential. *Ultrasonics Sonochemistry*, 84(February), 1–10. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2022.105954> Disponible en: <https://reader.elsevier.com/reader/sd/pii/S1350417722000475?token=6B2FC9CD45497E1C0F53A59F15ACDD2180B96C538914823D1C932A1221FDABA07A54460EE49AA3C6A1FB15DDDB8B4A45&originRegion=us-east-1&originCreation=20221201051609>
- Baeza, D., & Del Villar, S. (2020). Indicadores de Biodiversidad en América Latina y el Caribe América Latina y el Caribe. In *Estadísticas Ambientales, División de Estadísticas y Cambio Climático - CEPAL*. Disponible: <https://www.cepal.org/sites/default/files/presentations/6-indicadores-biodiversidad-america-latina-el-caribe-cepal.pdf>

- Banco Mundial. (2020). Área de tierra (kilómetros cuadrados) - Ecuador, World.
- Berkani, F., Serralheiro, M. L., Dahmoune, F., Ressaissi, A., Kadri, N., & Remini, H. (2020). Ultrasound assisted extraction of phenolic compounds from a jujube by-product with valuable bioactivities. *Processes*, 8(11), 1–17.
https://doi.org/10.3390/pr8111441 Disponible en:
file:///C:/Users/dell.DESKTOP-LL5VB9F/Downloads/processes-08-01441-v3.pdf
- Bom, S., Jorge, J., Ribeiro, H. M., & Marto, J. (2019). A step forward on sustainability in the cosmetics industry: A review. *Journal of Cleaner Production*, 225, 270–290.
Retrieved from
https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0959652619309655#!
- Campisi, A., Acquaviva, R., Raciti, G., Duro, A., Rizzo, M., & Santagati, N. A. (2019). Antioxidant Activities of *Solanum nigrum* L. Leaf extracts determined in *in vitro* cellular models. *Foods*, 8(2), 1–12. https://doi.org/10.3390/foods8020063
Disponible en: file:///C:/Users/dell.DESKTOP-LL5VB9F/Downloads/foods-08-00063-v2.pdf
- Campos, R., & Barzuna, L. (2004). Estudio del Envejecimiento. *Revista Médica Del Hospital Nacional de Niños Dr. Carlos Sáenz Herrera*, 39(2), 33–47.
- Carrera, K., & Gil, Y. (2019). Efecto cicatrizante de las cremas tópicas elaboradas a base del extracto seco de los tallos y hojas de *Sonchus oleraceus* L. “cerraja” y *Solanum nigrum* L “hierba mora” sobre heridas incisas en *Rattus rattus* var. *Albinus*. Universidad Privada Antonio Guillermo Urrelo. Disponible en:
http://repositorio.upagu.edu.pe/handle/UPAGU/1023
- Castañeda, B. C., Ramos, L. E., & Ibáñez, V. L. (2008). Evaluación de la capacidad antioxidante de siete plantas medicinales peruanas. *Revista Horizonte Medico*, 8(1), 56–72. Disponible en:
https://www.horizontemedico.usmp.edu.pe/index.php/horizontemed/article/view/196
- Cervantes Nemer, B. V., Enriquez, J. L., De, C. la colaboración, Serrano, D. M. del C., & Infante, F. A. (2009). *MANUAL PEDAGOGICO DE PRÁCTICAS DE QUÍMICA GENERAL EN MICROESCALA* (3era. Edic; A. C. D.R. Universidad Iberoamericana & IBERO, Eds.). México. págs. 19-182

- Chang, H. O., & Rugman, A. M. (2006). The Regional Sales of Multinationals in the world Cosmetics Industry. *KELLEY SCHOOL OF BUSINESS*, 3–26. Retrieved from <http://kelley.iu.edu/riharbau/repec/iuk/wpaper/bepp2006-20-oh-rugman.pdf>
- Chen, X., Dai, X., Liu, Y., Yang, Y., Yuan, L., He, X., & Gong, G. (2022). *Solanum nigrum* Linn.: An Insight into Current Research on Traditional Uses, Phytochemistry, and Pharmacology. *Frontiers*, 13(918071), 1-32. Retrieved from <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fphar.2022.918071/full>
- Comunidad Andina. (2017). *RESOLUCIÓN N° 1906: Modifica la Resolución 797 de la Secretaría General de la Comunidad Andina - Reglamento de la Decisión 516 sobre Control y Vigilancia Sanitaria de Productos Cosméticos*. Retrieved from <https://www.comunidadandina.org/StaticFiles/DocOf/RESO1906.pdf>
- Cossio, N. S., Radice, M., Murillo, M. L., & Fuentes, N. M. (2016, December). Biocomercio y Biodiversidad en el Ecuador. Oportunidades. *Revista Científica ECOCIENCIA*, 3(6), 1–27.
- Craig, S. A. S. (2004). Betaine in human nutrition. *American Journal of Clinical Nutrition*, 80(3), 539–549. <https://doi.org/10.1093/ajcn/80.3.539> Disponible en: AQECAHi208BE49Ooan9kkhW_Ercy7Dm3ZL_9Cf3qfKAc485ysgAAAsEwggK9BgkqhkiG9w0BBwagggKuMIICqgIBADCCAqMGCSqGSib3DQEHATAeBgIghkgBZQMEAS4wEQQMxtMGvPzWp2MxWIE6AgEQgIICdPmtfrkS2KmlORJAjppEYnqPsNXq4Tpxp0Uhx1rAjvWUSP4PybZD_h9nrf638FyxD5TUxufyNR9PCZ
- Cruzado, M., Pastor, A., Castro, N., & Cedrón, J. C. (2013). DETERMINACIÓN DE COMPUESTOS FENÓLICOS Y ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DE EXTRACTOS DE ALCACHOFA. *Rev Soc Quím Perú*, 57-79. vol.79 (n.1) Disponible en: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1810-634X2013000100008
- Dhellit, J. R., Matouba, E., Maloumbi, M. G., Nzikou, J. M., Dzondo, M. G., Linder, M., ... Desobry, S. (2006). Extraction and nutritional properties of *Solanum nigrum* L seed oil. *African Journal of Biotechnology*, 5(10), 987–991. <https://doi.org/10.4314/ajb.v5i10.42831>
- Dheyab, A. S., Bakar, M. F. A., Alomar, M., Sabran, S. F., Hanafi, A. F. M., & Mohamad, A. (2021). Deep eutectic solvents (DESs) as green extraction media of beneficial bioactive phytochemicals. *Separations*, 8(10), 1–24.

- <https://doi.org/10.3390/SEPARATIONS8100176> Disponible en:
<file:///C:/Users/dell.DESKTOP-LL5VB9F/Downloads/separations-08-00176-v2.pdf>
- Díaz, S. C., Partida, A. P. Z., Montalvo, J. A. A., & Merklings, P. J. (2013). No Title. *Revista Química De La Universidad Pablo De Olavide*, 9(2173–0903), 29.
- Díez, O. (2020). *Desarrollo y elaboración de productos cosméticos: Cuadernos formativos*. Universidad de València.
- El Achkar, T., Greige-Gerges, H., & Fourmentin, S. (2021). Basics and properties of deep eutectic solvents: a review. *Environmental Chemistry Letters*, 19(4), 3397–3408.
<https://doi.org/10.1007/s10311-021-01225-8>
- Flor, J., Davolos, M. R., & Correa, M. A. (2007). Protectores solares. *Química Nova*, 30(1), 153–158. Disponible en <https://doi.org/10.1590/S0100-40422007000100027>
- García, A., Rodríguez-Juan, E., Rodríguez-Gutiérrez, G., Rios, J. J., & Fernández-Bolaños, J. (2016). Extraction of phenolic compounds from virgin olive oil by deep eutectic solvents (DESs). *Food Chemistry*, 197, 554–561.
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.10.131> Disponible en:
https://www.researchgate.net/profile/Jose-Rios-10/publication/284075927_Extraction_of_phenolic_compounds_from_virgin_olive_oil_by_deep_eutectic_solvent_DES/links/5f05b545458515505094892a/Extraction-of-phenolic-compounds-from-virgin-olive-oil-by-deep-eutectic-solvent-DES.pdf
- García, L., Martínez, A. R., Ortega, J., & Castro, F. B. (2010). Componentes químicos y su relación con las actividades biológicas de algunos extractos vegetales. *Química Viva*, 9(2), 86–96. Disponible en:
<https://www.redalyc.org/pdf/863/86314868005.pdf>
- Ramos, I. C., & Alcalá Pérez, D. (2010). *Antioxidants in Dermatology*, 8(4):272-277. Retrieved from <https://www.medigraphic.com/pdfs/cosmetica/dcm-2010/dcm104j.pdf>
- González, C. G., Mustafa, N. R., Wilson, E. G., Verpoorte, R., & Choi, Y. H. (2018). Application of natural deep eutectic solvents for the “green” extraction of

- vanillin from vanilla pods. *Flavour and Fragrance Journal*, 33(1), 91–96.
<https://doi.org/10.1002/ffj.3425>
- González M., J. F., & Bravo D., L. (2017). Historia y actualidad de productos para la piel, cosméticos y fragancias. Especialmente los derivados de las plantas. *Ars Pharmaceutica*, 58(1), 5–12. Disponible en:
https://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2340-98942017000100005
- Guntero, V. A. *, Longo, M. B., Ciparicci, S. A., Martini, R. E., & Andreatta, A. E. (2015). *Comparación De Métodos De Extracción De Polifenoles A Partir De Residuos De La Industria Vitivinícola*. Buenos Aires, Córdoba. Retrieved from
https://www.aaiq.org.ar/SCongresos/docs/06_029/papers/05c/05c_1775_727.pdf
- Hansen, B. B., Spittle, S., Chen, B., Poe, D., Zhang, Y., Klein, J. M., ... Sangoro, J. R. (2021). Deep Eutectic Solvents: A Review of Fundamentals and Applications. *Chemical Reviews*, 121(3), 1232–1285.
<https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.0c00385>
- International Olive Council. (2007). Análisis Sensorial Del Aceite De Oliva Norma: Guía Para La Instalación De Una Sala De Cata Coi/T.20/Doc N°6/Rev. 1 Septiembre de 2007. Disponible en: <https://www.internationaloliveoil.org/que-hacemos/unidad-de-quimica-y-normalizacion/normas-coi-metodos-y-guias/?lang=es>
- Jainu, M., & Devi, C. S. S. (2006). Antiulcerogenic and ulcer healing effects of *Solanum nigrum* (L.) on experimental ulcer models: Possible mechanism for the inhibition of acid formation. *Journal of Ethnopharmacology*, 104(1–2), 156–163.
<https://doi.org/10.1016/j.jep.2005.08.064>
- Khodaverdian, S., Dabirmanesh, B., Heydari, A., Dashtban-moghadam, E., Khajeh, K., & Ghazi, F. (2018). Activity, stability and structure of laccase in betaine based natural deep eutectic solvents. *International Journal of Biological Macromolecules*, 107, 2574–2579.
<https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.10.144>

- Lei, Z., Chen, B., Koo, Y. M., & Macfarlane, D. R. (2017). Introduction: Ionic Liquids. *Chemical Reviews*, *117*(10), 6633–6635.
<https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.7b00246>
- Liu, Y., Li, J., Fu, R., Zhang, L., Wang, D., & Wang, S. (2019). Enhanced extraction of natural pigments from *Curcuma longa* L. using natural deep eutectic solvents. *Industrial Crops and Products*, *140*(May), 111620.
<https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.111620> Disponible en:
<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0926669019306302?via%3Dihub>
- Loganayaki, N., Siddhuraju, P., & Manian, S. (2010). Antioxidant activity of two traditional Indian vegetables: *Solanum nigrum* L. and *Solanum torvum* L. *Food Science and Biotechnology*, *19*(1), 121–127. <https://doi.org/10.1007/s10068-010-0017-y>
- Lohvina, H., Sándor, M., & Wink, M. (2022). Effect of ethanol solvents on total phenolic content and antioxidant properties of seed extracts of fenugreek (*Trigonella foenum-graecum* L.) varieties and determination of phenolic composition by hplc-esi-ms. *Diversity*, *14*(1), págs.2-21 <https://doi.org/10.3390/d14010007>
Disponible en: <https://www.mdpi.com/1424-2818/14/1/7>
- Lomba, L., Ribate, M. P., Sangüesa, E., Concha, J., Garralaga, M. P., Errazquin, D., ... Giner, B. (2021). Deep Eutectic Solvents : Are They Safe ? *Applied Sciences MDPI*, *11*(21), 10061. <https://doi.org/https://doi.org/10.3390/app112110061>
- Lorrio, S., Rodríguez-Luna, A., Delgado-Wicke, P., Mascaraque, M., Gallego, M., & Pérez-Davó, Azahara, González, Salvador Juarranz, Á. (2020). Protective Effect of the Aqueous Extract of *Deschampsia antarctica* (EDAFENCE®) on Skin Cells against Blue Light Emitted from Digital Devices. *International Journal of Molecular Sciences*, *21*(3),988. <https://doi.org/10.3390/ijms21030988>
- Mancheno, Saá M., & Gamboa, Salinas J. M. (2018). El Branding como herramienta para el posicionamiento en la industria cosmética. *Universidad y Sociedad*, *10* (1)(ISSN: 2218-3620), 82–88. Retrieved from
https://www.researchgate.net/publication/335034213_Branding_as_a_tool_for_positioning_in_the_cosmetic_industry

- Rodriguez, M. E., & Mayero, F. L. Mm. (2000). *Manual de toxicología básica* (Díaz De Sa). pág. 4 - 483 Madrid. Retrieved from https://books.google.com.ec/books?id=tGifQZogzZ0C&pg=PA437&dq=tensoactivos&hl=es&sa=X&ved=2ahUKEwjltP3COL_6AhX_ZTABHdtIAIIQ6AF6BAgDEAI#v=onepage&q=tensoactivos&f=false
- Mohamed, T., Madhusudhana, C., Ramkanth, S., Alagusundaram, M., Gnanaprakash, K., Thiruvengada, V., & Angalaparameswathi, S. (2009a). *Solanum nigrum* Linn. – A Review. *Pharmacognosy Reviews*, 3(6), 342–345. Retrieved from <https://www.phcogrev.com/sites/default/files/PhcogRev-3-6-342.pdf>
- Mosquera1, T., & , Paco Noriega1, Wilson Tapia1, S. H. P. (2012). Evaluación de la eficacia cosmética de cremas elaboradas con aceites extraídos de especies vegetales Amazónicas: *Mauritia Flexuosa* (Morete), *Plukenetia Volubilis* (Sacha Inchi) y *Oenocarpus Bataua* (Ungurahua). *LA GRANJA*, 15(2), 16. págs.14-22 Retrieved from <https://lagranja.ups.edu.ec/index.php/granja/article/view/16.2012.02>
- Ojha, S., Aggarwal, B., & Chadha, H. (2019). Gel, Formulation And Evaluation Of Face Serum Containing Bee Venom And Aloe Vera. *World Journal of Pharmaceutical Research*, 8(2), 1100–1105. <https://doi.org/10.20959/wjpr20192-14104> Disponible en: file:///C:/Users/dell.DESKTOP-LL5VB9F/Downloads/article_wjpr_1549001865.pdf
- Olmos, S. S. (2017). EMULSIONES (I). *Panorama Actual Del Medicamento*, 41(402), 5.págs.1-9 Disponible en: <https://botplusweb.farmaceuticos.com/documentos/2017/4/11/114468.pdf>
- ONUUDI. (2018). Recomendaciones para el desarrollo de Estudios de estabilidad de productos cosméticos. In *Programa de Calidad para el Sector Cosmético (Safe+)*. págs. 5-89 Disponible en: [https://www.unido.org/sites/default/files/files/2019-02/ONUUDI_Gu%C3%ADa%20de%20Estabilidad_FINAL%20\(003\).pdf](https://www.unido.org/sites/default/files/files/2019-02/ONUUDI_Gu%C3%ADa%20de%20Estabilidad_FINAL%20(003).pdf)
- Osman, M. A., Mahmoud, G. I., & Shoman, S. S. (2020). Correlation between total phenols content, antioxidant power and cytotoxicity. *Biointerface Research in Applied Chemistry*, 11(3), 10640–10653. <https://doi.org/10.33263/BRIAC113.1064010653> Disponible en:

- <https://scholar.cu.edu.eg/sites/default/files/osman-mo/files/20695837113.10640106534.pdf>
- Paucar Cuba, K., Tufinio Miranda, K., Ames Canchaya, H., Vergara Sotomayor, A., & Fukusaki Yoshizawa, A. (2021). Determinación De La Actividad Antioxidante De Extractos De Hojas De Buddleja Inkana, Oreocallis grandiflora y Chuquiraga spinosa. *Revista de La Sociedad Química Del Perú*, 87(2), 107–119.
<https://doi.org/10.37761/rsqp.v87i2.343> Disponible en:
<http://www.scielo.org.pe/pdf/rsqp/v87n2/2309-8740-rsqp-87-02-107.pdf>
- Potawale, S. (2008). *Solanum Nigrum* Linn: A Phytopharmacological Review. *Newsletter Potawale et Al. Pharmacologyonline*, 3, 140–163. Disponible en:
<https://pharmacologyonline.silae.it/files/newsletter/2008/vol3/16.%20POTAWALE.pdf>
- Púmariega, G. M., Vernhes Tamayo, M., Sánchez-Lamar, Á., & *. (2009). La Radiación Ultravioleta. Su Efecto Dañino Y Consecuencias Para La Salud Humana. *Revisión / Revision*, Vol18(2),(69-80). Retrieved from
<https://www.ubiobio.cl/miweb/webfile/media/194/v/v18-2/06.pdf>
- Remington, A. G. (2000). *Remington FARMACIA* (20 a; E. médica panamericana, Ed.). Buenos Aires, Panamá, Caracas, Madrid, México, Sao Paulo, págs.4-1082. Disponible en: https://books.google.com.ec/books?id=Av4IIsyH-qcC&pg=PR3&dq=Remington&hl=es-419&sa=X&ved=2ahUKEwiOhf-o_ej7AhVsUjABHa_PAuAQ6AF6BAgLEAI#v=onepage&q=Remington&f=false
- Rigano, L., Dell'Acqua, G., & Leporatti, R. (2000). Benefits of trimethylglycine (betaine) in personal-Care formulation. *Cosmetics & Toiletries Magazine*, 115(12), 47–54. Disponible en:
https://img.cosmeticsandtoiletries.com/files/base/allured/all/document/2022/10/Benefits_of_Trimethylglycine_download_edit.63583e84c00aa.pdf
- Ruesgas-Ramón, M., Figueroa-Espinoza, M. C., & Durand, E. (2017). Application of Deep Eutectic Solvents (DES) for Phenolic Compounds Extraction: Overview, Challenges, and Opportunities. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 65(18), 3591–3601. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.7b01054>
- Sánchez, A. (2014). *UF0086 - Cosméticos y equipos para los cuidados estéticos de higiene, depilación y maquillaje*. (5th ed.; Editorial Elearning S.L., Ed.).

- España.págs. 1-151 Disponible en:
https://books.google.com.ec/books?id=27RWDwAAQBAJ&pg=PA1&dq=S%C3%A1nchez+cosméticos&hl=es&sa=X&ved=2ahUKEwj5vvXf_ej7AhU1mYQIHQtDCwoQ6AF6BAgLEAI
- Schvartzman, S., & Cestilli, M. (2021). *Dermatocósmética. Criterios de formulación: Enfoque estético y terapéutico*. Universidad Católica de Córdoba, 9-987.
 Disponible en: https://books.google.com.ec/books?id=-xlDEAAAQBAJ&printsec=copyright&hl=es&source=gbs_pub_info_r#v=onepage&q&f=false
- Serrano, D. M. del C. (2009). Química verde: un nuevo enfoque para el cuidado del medio ambiente Green Chemistry: a new approach for environmental care No Title. *Journals & Books, Science Direct, 20(4)*, 412–420. Disponible en:
<https://www.scielo.org.mx/pdf/eq/v20n4/v20n4a4.pdf>
- Tafur, V., Tello, E., Torres, D., García, Y., & Brito, J. (2020). Uso medicinal del Solanum nigrum y su relación con la presencia de metabolitos secundarios. *Agroindustria, Sociedad Y Ambiente, 1(14)*, 158–176. Disponible en:
<https://revistas.uclave.org/index.php/asa/article/view/2837/1774>
- Thuy Pham, T. P., Cho, C. W., & Yun, Y. S. (2010). Environmental fate and toxicity of ionic liquids: A review. *Water Research, 44(2)*, 352–372.
<https://doi.org/10.1016/j.watres.2009.09.030>
- U.S. Food and Drug Administration. (2022a). Subpart B - Listing of Specific Substances Affirmed as GRAS Sec. 184.1033 Citric acid.
- U.S. Food and Drug Administration. (2022b). Subpart B - Multiple Purpose GRAS Food Substances Sec. 182.1320 Glycerin.
- VALDÉS, M. Á. S. (2012). *Emulsificación Con Membranas: Emulsiones Monodispersas Y Parámetros De Paso De Escala*. págs. 3-282. Retrieved from
https://digibuo.uniovi.es/dspace/bitstream/handle/10651/13459/TD_miguelan_gelsuarezvaldes.pdf?sequence=2
- Vega, O. (2011). Cosmética solar: el envejecimiento prematuro y la protección solar. *Ciencia y Salud, 3(2145–5333)*, 134. Retrieved from
<https://pdfs.semanticscholar.org/7be6/f0ae998c20bac3860a06f9d945e6af1e2fa2.pdf>