



UNIBE
UNIVERSIDAD DE IBEROAMERICA

UNIVERSIDAD DE IBEROAMERICA

FACULTAD DE FARMACIA

**EVALUACIÓN DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DEL *FUCUS VESICULOSUS*
(SARGAZO VEJIGOSO) Y CAPACIDAD ANTIBACTERIANA DEL ÁCIDO
SHIKÍMICO CON EL OBJETIVO DE DESARROLLAR UNA PREFORMULACIÓN
DE PARCHES DE BIOPOLÍMEROS PARA EL CONTORNO DE OJOS Y UNA
CREMA HIDRATANTE DIRIGIDA A LA INDUSTRIA COSMÉTICA EN COSTA
RICA**

AUTORES:

JULISSA SOLANO ALVARADO

SERGIO RODRÍGUEZ RODRÍGUEZ

TUTOR:

DRA. KAROLINA GONZÁLEZ VILLALOBOS

2025

MODALIDAD DE TESIS PARA OPTAR POR EL GRADO

ACADÉMICO DE LICENCIATURA EN FARMACIA

Resumen

El presente estudio tiene como propósito expandir los conocimientos de carácter científico y experimental acerca de los compuestos ácido shikímico y *Fucus vesiculosus*, mediante el análisis de sus propiedades y su potencial aplicación en la industria cosmética. Para esto, se llevaron a cabo diversos procedimientos incluyendo la extracción del anís estrella para identificar el ácido shikímico de manera cualitativa y cuantitativa, ensayos de capacidad antioxidante y capacidad antimicrobiana, para finalmente sugerir una formulación de una crema humectante y unos parches de biopolímeros.

En primer lugar, se realizó la extracción del anís estrella (*Illicium verum*) mediante el método Soxhlet, utilizando agua como disolvente. Posteriormente, dicho extracto se liofilizó y posteriormente fue identificado mediante espectrofotometría infrarroja y ultravioleta para lograr cuantificar su concentración y compararlo con un extracto patrón importado desde China. Para la identificación cualitativa el análisis infrarrojo brindó información clave acerca de los grupos funcionales del extracto obtenido en laboratorio y el extracto patrón.

Seguidamente, se realizaron pruebas para evaluar la capacidad antioxidante del *Fucus vesiculosus* y del ácido shikímico utilizando el ensayo DPPH para determinar su potencial como neutralizador de radicales libres. Los resultados obtenidos permitieron confirmar que el extracto del alga posee una capacidad antioxidante, respaldando así su posible aplicación para formulaciones cosméticas con propiedades antienvjecimiento.

Adicionalmente, se llevaron a cabo pruebas de capacidad antimicrobiana mediante el método de cultivos en placa de agar, evaluando la inhibición del crecimiento de *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*. Se probaron diferentes concentraciones de los extractos de ácido shikímico y *Fucus vesiculosus*, tanto de manera individual como en combinación para determinar su eficacia frente a estos microorganismos.

Finalmente, se desarrollaron dos formulaciones cosméticas: una crema hidratante y parches de biopolímeros para el contorno de ojos, con el fin de explorar su viabilidad en productos para el cuidado de la piel. Este estudio no solamente confirma el potencial de ambos extractos para formulaciones cosméticas, sino que también abre nuevas posibilidades para el desarrollo de productos cosméticos innovadores basados en ingredientes naturales.

Dedicatoria

Dedicamos este trabajo a nuestros padres Teresita, Saúl, Luis y María, Silvia, hermanos y familiares, quienes han sido un pilar fundamental en nuestro crecimiento académico y personal. Su apoyo constante, tanto emocional como material, ha sido clave para la culminación de esta investigación. Agradecemos su paciencia y confianza en nosotros durante todo este proceso. Ellos son nuestra principal motivación para continuar nuestro camino en el mundo del conocimiento y el crecimiento individual.

También queremos reconocer a nuestros amigos y compañeros, quienes han compartido este camino con nosotros, brindándonos apoyo, motivación y un espacio de colaboración y aprendizaje. A Venus y Scout, cuya compañía ruidosa nos acompañó en largas horas de investigación, aportando momentos de aullidos y diversión aún en los días más exigentes y de menor tiempo libre. Debemos agradecer su presencia y su enseñanza cada día.

Finalmente, expresamos nuestro agradecimiento a nuestros tutores y profesores, quienes con su orientación y conocimientos nos han guiado en el desarrollo de esta tesis. Su compromiso con la enseñanza y la investigación ha sido fundamental para la construcción de este trabajo. A nuestra tutora, la Dra. Karolina González, por su paciencia, su conocimiento y sus enseñanzas que fueron claves para la culminación de este proyecto. Al Dr. Douglas Oviedo, por tomarse el tiempo durante su tiempo de trabajo para enseñarnos y guiarnos durante procesos de laboratorio que no fueron nada sencillos. También, agradecemos a todo el personal de laboratorio que siempre se mostró anuente a ayudar y compartir su conocimiento.

Tabla de contenido

CAPÍTULO I: INTRODUCCIÓN	13
1.1 Introducción	14
1.2 Planteamiento del problema	15
1.3 Objetivos	17
1.3.1 Objetivo general.....	17
1.3.2 Objetivos específicos	17
1.3 Justificación	18
1.4 Antecedentes	20
CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO	33
2.1 Ácido shikímico obtenido del anís estrella (<i>Illicium verum</i>)	35
2.1.1 Generalidades	36
2.1.2 Características y propiedades	36
2.1.3 Propiedades antimicrobianas	37
2.1.4 Propiedades antioxidantes.....	38
2.1.5 Propiedades analgésicas y antiinflamatorias	41
2.1.6 Propiedades anticoagulantes	41
2.1.7 Medición de la capacidad antibacteriana.....	42
2.1.8 Métodos de extracción del ácido shikímico.....	43
2.1.9 Métodos de análisis del ácido shikímico	45
2.2 Sargazo vejigoso (<i>Fucus vesiculosus</i>)	46
2.2.1 Generalidades.....	47
2.2.2 Composición química del <i>Fucus vesiculosus</i>	48
2.2.3 Propiedades antioxidantes.....	49
2.2.4 Medición de la capacidad antioxidante del <i>Fucus vesiculosus</i> (Prueba DPPH)	49
2.2.5 Propiedades antimicrobianas	51
2.2.6 Propiedades anticancerígenas	52
2.2.7 Métodos de análisis	52
2.3 Metodología calidad por diseño enfocada en el desarrollo de productos cosméticos	54
CAPÍTULO III: MARCO METODOLÓGICO	56
3.1 Enfoque	57
3.3 Fuentes de información	58
3.4 Criterios de búsqueda de la información	58
3.5 Criterios de inclusión y exclusión	61
3.6 Variables de la investigación	61

3.7 Descripción del procedimiento de recolección y análisis de datos	64
<p>La recolección y análisis de datos de esta investigación se llevará a cabo en varias etapas, cubriendo la totalidad de los objetivos propuestos. Estos incluyen la extracción del anís estrella (<i>Illicium verum</i>) para la obtención de un extracto que contenga ácido shikímico, permitiendo también su posible identificación mediante técnicas cualitativas y cuantitativas.....</p>	
	64
<p>En una segunda etapa, se lleva a cabo el ensayo DPPH para verificar la capacidad antioxidante del ácido shikímico y del <i>Fucus vesiculosus</i>, tanto de manera individual como conjunta, con el fin de determinar su posible sinergismo. Asimismo, se realiza una prueba de capacidad antimicrobiana de estos compuestos, igualmente de forma individual y en combinación, evaluando un posible efecto sinérgico.....</p>	
	64
3.8 Descripción del método de extracción de anís estrella (<i>Illicium verum</i>)	65
<p>El proceso de extracción del anís estrella (<i>Illicium verum</i>) consiste, en primer lugar, en adquirir la materia prima. La estrella de anís puede obtenerse en pequeñas cantidades en diversos puntos de venta. En Costa Rica, este producto puede adquirirse en el Barrio Chino, en diferentes tiendas dedicadas a la venta de productos importados de China. Seguidamente, en el laboratorio, se tritura la materia prima (material vegetal) utilizando un mortero o una licuadora, con la finalidad de disminuir el tamaño del fruto seco y favorecer su proceso de extracción.....</p>	
	65
3.8.1. Materiales utilizados	68
3.8.2 Reactivos	68
3.8.3 Equipos y condiciones	69
3.9 Descripción de la identificación y cuantificación de ácido shikímico	70
3.9.1 Materiales utilizados	71
3.9.2 Reactivos	71
3.9.3 Equipos y condiciones	72
3.10 Descripción del ensayo de capacidad antioxidante DPPH.....	72
3.10.1 Procedimiento del ensayo DPPH	75
3.10.2 Materiales utilizados	78
3.10.3 Reactivos y extractos.....	78
3.10.4 Equipos y condiciones	78
3.11 Descripción del ensayo de capacidad antibacteriana	79
3.11.1 Procedimiento	80
3.11.2 Materiales	81
3.11.3 Equipos y condiciones.....	81
3.12 Descripción de la fabricación de crema hidratante	82
3.12.1 Procedimiento de fabricación de crema	83
3.12.2 Fórmula cuali cuantitativa	83
3.12.3 Materiales utilizados	84
3.12.3 Equipos y condiciones	84

3.13 Descripción de la fabricación de parches de biopolímeros	84
3.13.1 Procedimiento de fabricación de parches de biopolímeros.....	86
3.13.2 Fórmula cualicuantitativa	89
3.13.3 Materiales utilizados	90
3.13.4 Equipos y condiciones.....	90
<i>CAPÍTULO IV: ANÁLISIS DE RESULTADOS</i>	92
4.1 Extracción y cuantificación del anís estrella en laboratorio.....	93
4.2 Análisis de espectrofotometría infrarroja	105
4.3 Análisis de capacidad antioxidante de los compuestos.....	109
4.4 Determinación de la capacidad antimicrobiana de los compuestos.....	121
4.5 Formulación de crema humectante y parches de biopolímeros con los extractos de ácido shikímico y <i>Fucus vesiculosus</i>	130
<i>CAPÍTULO V: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES</i>	135
5.1 Conclusiones	136
5.2 Recomendaciones	137
Referencias bibliográficas.....	138
<i>CAPÍTULO VI. ANEXOS.....</i>	146
<i>CAPÍTULO VII. APÉNDICE.....</i>	157

Lista de Figuras

<i>Figura 1. Estructura del ácido shikímico. Chem Impex (2024)</i>	37
<i>Figura 2. Anís estrella.</i>	65
<i>Figura 3. Cartucho con 30g del material seco (anís estrella)</i>	66
<i>Figura 4. Preparación del extractor Soxhlet</i>	66
<i>Figura 5. Proceso de extracción</i>	67
<i>Figura 6. Obtención del extracto líquido</i>	67
<i>Figura 7. Estructura del radical 1,1-difenil-2-picrilhidrazil. Cymitquímica.com</i>	73
<i>Figura 8. Prueba cualitativa de ácido ascórbico contra solución de trabajo DPPH.</i>	78
<i>Figura 9. Barras con grosores de 2,5mm, 2,0mm, 1,8mm.</i>	87
<i>Figura 10. Vista interna de una barra de 2,5mm.</i>	87
<i>Figura 11. Moldes con parches para contorno de ojos</i>	87
<i>Figura 12. Moldes 3D de parches para contorno de ojos.</i>	88
<i>Figura 13. Preparación del sérum.</i>	88
<i>Figura 14. Ejemplo de sérum por almacenar 8 horas</i>	91
<i>Figura 15. Anís estrella (Illicium verum)</i>	93
<i>Figura 16. Extracción con color marrón oscuro.</i>	94
<i>Figura 17. Extracción con color marrón claro</i>	94
<i>Figura 18. Resultado de extracción con color marrón oscuro</i>	95
<i>Figura 19. Resultado de extracción con color marrón claro.</i>	95
<i>Figura 20. Extracto liofilizado de anís estrella</i>	96
<i>Figura 21. Ácido Shikímico importado de China (patrón)</i>	97
<i>Figura 22. Disoluciones madre de anís estrella. (Lado izquierdo contuvo 5 gotas de HCl, lado derecho no contuvo HCl)</i>	100
<i>Figura 23. Análisis de IR de ácido shikímico (patrón)</i>	105
<i>Figura 24. Análisis de IR de extracto de anís estrella liofilizado obtenido en el laboratorio.</i>	106
<i>Figura 25. Análisis de IR de extracto de ácido shikímico del Spectral DataBase.</i>	106
<i>Figura 26. Análisis de IR de Fucus vesiculosus</i>	107

<i>Figura 27. Análisis de IR de Fucus vesiculosus. (Naggar, 2021)</i>	108
<i>Figura 28. Estructura del Fucus vesiculosus. (Barbosa, 2019)</i>	108
<i>Figura 29. Flujograma de trabajo para la preparación de la disolución de trabajo DPPH.</i>	109
<i>Figura 30. Flujograma de trabajo para la preparación de la disolución de trabajo de ácido ascórbico.</i>	110
<i>Figura 31. Flujograma de trabajo para la determinación de la longitud de onda para la determinación de la curva de calibración de ácido ascórbico.</i>	111
<i>Figura 32. Flujograma para determinar la posible capacidad antioxidante de un compuesto (prueba cualitativa inicial)</i>	115
<i>Figura 33. Prueba cualitativa inicial para determinar capacidad antioxidante del Fucus vesiculosus.</i>	116
<i>Figura 34. Flujograma de trabajo para la determinación de capacidad antimicrobiana.</i> ¡Error! Marcador no definido.	
<i>Figura 35. Preparación de las muestras de ácido shikímico en el laboratorio.</i>	122
<i>Figura 36. Preparación de las muestras de Fucus vesiculosus en el laboratorio.</i>	122
<i>Figura 37. Preparación de las placas de agar en la cámara de flujo laminar.</i>	123
<i>Figura 38. Área de trabajo dentro de la cámara de flujo laminar.</i>	124
<i>Figura 39. Tableta de Ciprofloxacino 500mg disuelta en agua.</i>	124
<i>Figura 40. Cultivo de bacterias de Staphylococcus aureus.</i>	125
<i>Figura 41. Rotulación de cada placa de agar.</i>	125
<i>Figura 42. Horno a temperatura de 35°C.</i>	126
<i>Figura 43. Placa de agar de ácido shikímico frente a Staphylococcus aureus.</i>	127
<i>Figura 44. Placa de agar de ácido shikímico y Fucus vesiculosus frente a Staphylococcus aureus.</i>	128
<i>Figura 45. Placa de agar de ácido shikímico Escherichia coli.</i>	129
<i>Figura 46. Placa de agar de ácido shikímico Escherichia coli.</i>	129
<i>Figura 47. Flujograma de trabajo para la formulación de crema humectante.</i>	130
<i>Figura 48. Formulación de crema (aceite mineral en el beaker).</i>	131
<i>Figura 49. Producto final sin envasar.</i>	131

<i>Figura 50. Flujograma de trabajo para la fabricación de parches de biopolímeros.</i>	132
<i>Figura 51. Llenado de los parches en los moldes.....</i>	133
<i>Figura 52. Producto final sin sérum.</i>	133
<i>Figura 53. Errores en el llenado de los moldes.</i>	134
<i>Figura 54. Producto final envasado.</i>	134

Lista de gráficos

<i>Gráfico 1. Curva de calibración de Ácido Shikímico (patrón).....</i>	99
<i>Gráfico 2. Curva de calibración de anís estrella obtenido en laboratorio.</i>	102
<i>Gráfico 3. Curva de calibración de ácido ascórbico contra porcentaje de inhibición del radical DPPH.....</i>	114
<i>Gráfico 4. Curva de calibración de Fucus vesiculosus contra porcentaje de inhibición del radical DPPH.....</i>	119

Lista de Tablas

<i>Tabla 1. Criterios de búsqueda de información basados en los objetivos específicos de la investigación en curso.</i>	58
<i>Tabla 2. Variables operacionales de los objetivos específicos de la investigación.</i>	61
<i>Tabla 3. Preparación de la curva de ácido ascórbico.</i>	75
<i>Tabla 4. Esquema de trabajo, preparación de muestras.</i>	76
<i>Tabla 5. Preparación de las concentraciones de ácido shikímico.</i>	80
<i>Tabla 6. Preparación de las concentraciones de Fucus vesiculosus</i>	80
<i>Tabla 7. Preparación de las concentraciones de ácido shikímico en combinación con Fucus vesiculosus</i>	81
<i>Tabla 9. Fórmula cuali cuantitativa para fabricación de parches de biopolímero.</i>	89
<i>Tabla 10. Fórmula cuali cuantitativa para el sérum de hidratación de los parches.</i>	89
<i>Tabla 11. Cuantificación de ácido shikímico en espectrofotómetro ultravioleta visible (nm 262)</i>	98
<i>Tabla 12. Cuantificación de posible ácido shikímico en espectrofotómetro ultravioleta visible (nm 242)</i>	102
<i>Tabla 13. Tabla comparativa de las concentraciones de ácido shikímico (patrón) contra extracto de anís estrellado obtenido en laboratorio.</i>	104
<i>Tabla 14. Preparación de las muestras para la curva de calibración de ácido ascórbico.</i> ..	112
<i>Tabla 15. Datos para el cálculo de la concentración de ácido ascórbico de los tubos de ensayo.</i>	113
<i>Tabla 16. Cuantificación de las absorbancias, porcentaje de inhibición y concentración de los tubos de ensayo.</i>	114
<i>Tabla 17. Datos para el cálculo de la concentración de Fucus vesiculosus de los tubos de ensayo.</i>	117
<i>Tabla 18. Preparación de las muestras para la curva de calibración de Fucus vesiculosus.</i>	117
<i>Tabla 16. Cuantificación de las absorbancias, porcentaje de inhibición y concentración de los tubos de ensayo de Fucus vesiculosus.</i>	118
<i>Tabla 18. Concentraciones y porcentajes de inhibición del ácido ascórbico contra el Fucus vesiculosus.</i>	119
<i>Tabla 18. Datos de IC50 para el ácido ascórbico y para el Fucus vesiculosus.</i>	120

Tabla 19. Distribución de muestras rotuladas en las placas de agar.....126

CAPÍTULO I: INTRODUCCIÓN

1.1 Introducción

Esta investigación se centra en explorar las cualidades antioxidantes del alga marina *Fucus vesiculosus* y la capacidad antibacteriana del ácido shikímico extraído del anís estrella con la finalidad de utilizar estos compuestos en productos cosméticos. La tendencia actual de la cosmética se enfoca en encontrar compuestos principalmente antioxidantes y antibacterianos, con tal de reducir el envejecimiento prematuro y mantener una piel saludable y libre de microorganismos patógenos.

Analizar las capacidades de estos dos compuestos juntos en una formulación cosmética cobra relevancia debido a que no es común encontrar productos cosméticos en el mercado que tengan ambos compuestos, por tanto, el desarrollo de una formulación para una forma cosmética de crema y unos parches de biopolímeros para el contorno de ojos puede despertar interés en un mercado cosmético, al apostar por las posibles características antioxidantes y antibacterianas de estos compuestos que se quieren investigar.

Se desea investigar las cualidades antimicrobianas del ácido shikímico extraído en laboratorio utilizando anís estrella, mediante un procedimiento de laboratorio, junto con análisis cualitativo para identificar el ácido, liofilizar dicha extracción para obtener el extracto en sólido y, posteriormente, cuantificar su concentración con un espectrofotómetro ultravioleta visible, para analizar las cualidades antimicrobianas en un laboratorio. Así, se identifica su capacidad de reducir el crecimiento de bacterias específicas. Todo esto mediante la comparación con un patrón de extracto de anís estrella traído desde un laboratorio fabricante de esta materia prima en China.

Con respecto al alga marina, *Fucus vesiculosus*, se desea estudiar su capacidad antioxidante en el laboratorio mediante una prueba denominada DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidracilo), para medir la capacidad de reducir la oxidación de un analito específico, al tener esto una aplicación práctica en la industria cosmética. Una vez estudiados ambos compuestos por separado, se fabricarán dos productos: una crema y unos parches para el contorno de ojos, ambos con los dos compuestos estudiados en el laboratorio.

1.2 Planteamiento del problema

En los últimos años, la preferencia por productos con compuestos naturales ha impulsado la innovación en la industria cosmética, fomentando el desarrollo de nuevas formulaciones basadas en ingredientes seguros, eficientes e innovadores. Las algas marinas, como el *Fucus vesiculosus*, han ganado popularidad por sus propiedades antioxidantes, especialmente para combatir los efectos del estrés oxidativo causado por la radiación ultravioleta.

Asimismo, el ácido shikímico extraído del anís estrella ha demostrado una capacidad antibacteriana significativa, inhibiendo microorganismos patógenos como *Staphylococcus aureus* y mejorando la salud de la piel. Frente al envejecimiento cutáneo y los daños asociados a la contaminación y la exposición a agentes externos, una formulación sinérgica que combine las propiedades de estos dos ingredientes ofrece una solución prometedora para el cuidado integral de la piel.

Según Hortas, Fernández y Torres (2021), la preferencia hacia los productos ecológicos ha aumentado en los últimos años. Esta tendencia, que también incluye a los productos cosméticos, genera la oportunidad para explorar nuevos ingredientes naturales, seguros y eficientes para el cuidado de la piel. Uno de los ingredientes con mayor auge son las algas marinas, gracias a sus abundantes beneficios y propiedades.

Un tipo de alga de interés, el *Fucus vesiculosus* fue estudiada para determinar si las propiedades de sus fucoxantinas pueden contrarrestar los efectos del estrés oxidativo causado por la radiación ultravioleta. La relevancia de estos beneficios radica en que, a nivel mundial, la tendencia en cosmética se enfoca cada vez más en la prevención del envejecimiento cutáneo, por lo que las algas marinas se presentan como una opción prometedora en cuanto al desarrollo de nuevos cosméticos.

Por otra parte, Bai, Zhong y Gao (2018), en su investigación, determinaron que el ácido shikímico inhibe la formación de especies bacterianas como el *Staphylococcus aureus*, por lo que ha mostrado ser una promesa como agente antibacteriano en aplicaciones cosméticas. También, el ácido shikímico tiene la capacidad de mejorar la textura de la piel y promover su claridad mediante la regulación del exceso de sebo y una reducción de la inflamación presente (Chen, 2016).

En este aspecto, se plantea la combinación del *Fucus vesiculosus* y el ácido shikímico para una formulación cosmética para determinar la sinergia entre las propiedades antioxidantes del alga y las propiedades antibacterianas del ácido shikímico, ofreciendo así un potencial producto con base en productos naturales mediante el abordaje de ambas necesidades de la piel en una sola formulación, para parches del contorno de ojos y una crema hidratante.

Problemática

Una problemática a nivel mundial es el impacto del envejecimiento debido al estrés oxidativo y la contaminación ambiental en la salud de la piel, causada por microorganismos patógenos como bacterias que pueden causar condiciones dérmicas. De acuerdo con Rinnerthaler, Bischof, Streubel, Trost y Richter (2015), el envejecimiento conduce a un adelgazamiento de las capas epidérmicas y dérmicas de la piel.

La piel también pierde sensibilidad debido a la disminución de la producción de hormonas sexuales y a la disminución del número de terminaciones nerviosas, y, además, la piel se vuelve más seca y pierde, poco a poco, la función de servir como primera barrera contra el medio ambiente, exponiéndola a factores. Por tanto, el envejecimiento extrínseco consiste en el impacto de la radiación ultravioleta que causa graves consecuencias en la piel expuesta, más a medida que aumenta la edad.

Además, la posibilidad de que la piel esté expuesta a la contaminación ambiental por diversos factores es existente. Los autores Bai, Wu y Liu (2015), en su estudio, revelan el uso potencial del ácido shikímico como agente antibacteriano contra *Staphylococcus aureus*. Esta bacteria es una de las causas principales de infecciones de la piel y sus tejidos, además, las infecciones cutáneas por *S. aureus* representan una gran amenaza para la salud pública debido a la enorme cantidad de infecciones, así como a la aparición generalizada de cepas resistentes a antibióticos (Krishna y Miller, 2012).

1.3 Objetivos

1.3.1 Objetivo general

Desarrollar una preformulación de parches de biopolímeros para el contorno de ojos y una crema a base de *Fucus vesiculosus* (sargazo vejigoso) y ácido shikímico, con un enfoque en la investigación de las posibles propiedades antioxidantes y antibacterianas de estos compuestos.

1.3.2 Objetivos específicos

- Extraer mediante técnicas de hidrodestilación el ácido shikímico, proveniente del *Illicium verum* (anís estrella), para evaluar su poder antimicrobiano frente a bacterias como *Staphylococcus aureus* a través de técnicas de cultivo en placa.
- Determinar la capacidad antioxidante del extracto de *Fucus vesiculosus* y del ácido shikímico extraído del anís estrella, individualmente y de manera conjunta, mediante un ensayo de captura del radical libre DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazilo), para la evaluación de la actividad antioxidante en función de la concentración de estos extractos.
- Optimizar el desarrollo de dos formas cosméticas mediante la metodología de calidad por diseño que incluyan los extractos de ácido shikímico y *Fucus vesiculosus* mediante la evaluación de la seguridad, capacidad antioxidante y capacidad antimicrobiana.

1.3 Justificación

La motivación para la investigación de estos compuestos se centra en la creciente demanda de productos cosméticos naturales con propiedades funcionales que ofrezcan soluciones a las necesidades de quienes los utilicen, en el sentido del cuidado de la piel. Bajo este contexto, el ácido shikímico presenta una amplia bibliografía por su capacidad antimicrobiana y el *Fucus vesiculosus* es valorado por sus potentes propiedades antioxidantes; por tanto, ambos presentan un potencial importante para ser utilizados en formulaciones cosméticas.

La posibilidad de combinar estos dos compuestos bajo un efecto sinérgico podría ser útil para prevenir los daños causados por el envejecimiento prematuro, el estrés oxidativo y las infecciones cutáneas. La investigación no solo busca validar científicamente sus beneficios, sino también contribuir al desarrollo de productos cosméticos eficaces, de ingredientes naturales, alineados con las tendencias actuales del mercado global.

Según Chen, Liu, Zhao y Qiu (2021), la piel es la primera interfaz con el entorno externo y está sujeta al estrés oxidativo, el cual es causado por diversos factores. El exceso de especies reactivas exacerba la pigmentación y el envejecimiento cutáneo, lo que conduce a irregularidades en el tono de la piel, mayor pigmentación y la formación de arrugas. En este sentido, existe una demanda en la población de productos con antioxidantes para la protección de la piel y la reducción de su envejecimiento.

Por otra parte, Krishna y Miller (2012) indican que un estudio epidemiológico realizado en los Estados Unidos encontró que las infecciones cutáneas por *Staphylococcus aureus* provocan 11,6 millones de visitas ambulatorias y casi 500 000 ingresos hospitalarios, generando que las infecciones bacterianas en la piel sean un motivo de preocupación a nivel de salud pública. Por tanto, el uso de productos que también contengan cualidades antimicrobianas es esencial para el cuidado óptimo de la piel. Por esta razón, se plantea analizar la capacidad antimicrobiana del ácido shikímico en conjunto con el *Fucus vesiculosus* en formulaciones cosméticas.

La investigación tiene como enfoque la viabilidad de la combinación del *Fucus vesiculosus* con el ácido shikímico en formulaciones cosméticas. Se aprovechan las cualidades antioxidantes y antibacterianas de estos elementos, abordando problemas como el envejecimiento de la piel y las infecciones bacterianas, considerados problemas de salud existentes. Además, la investigación pretende tener un enfoque innovador, ya que la sinergia entre estas dos sustancias

no ha sido ampliamente estudiada. El enfoque de utilizar productos naturales va de la mano con la creciente demanda del mercado por productos cosméticos naturales y efectivos.

Se pretende abordar problemas reales y significativos para la sociedad, tales como el envejecimiento de la piel y las infecciones bacterianas, al desarrollar productos cosméticos que puedan combatir eficazmente estos problemas, mejorando así la salud y el bienestar de los usuarios. Este estudio puede aportar conocimiento acerca de una posible sinergia entre la combinación del extracto de un alga marina como el *Fucus vesiculosus* (sargazo vejigoso) con el ácido shikímico en una formulación de biopolímeros de parches para el contorno de ojos y una crema hidratante.

Esta combinación no ha sido ampliamente estudiada según la bibliografía existente. La investigación es viable, ya que cuenta con el respaldo de la Universidad de Iberoamérica de Costa Rica, que aporta los recursos de laboratorio, incluidos reactivos y equipo especializado, para la obtención y análisis del extracto de ácido shikímico.

1.4 Antecedentes

El presente estudio contempla antecedentes internacionales únicamente. No se tomaron en cuenta antecedentes históricos ni antecedentes nacionales por motivos de falta de fuentes de interés específico del tema por investigar.

El desarrollo de productos cosméticos mediante el uso de algas marinas ha cobrado relevancia en la actualidad debido a sus múltiples beneficios para la piel, además de su capacidad de ofrecer alternativas sostenibles e innovadoras en la industria cosmética. Dentro de las cualidades de algunas algas marinas, se pueden encontrar propiedades antioxidantes, minerales, vitaminas, compuestos que ayudan a la hidratación, regeneración y cicatrización de la piel.

Por ejemplo, el alginato es un compuesto obtenido de las algas pardas, utilizado en diversas aplicaciones, entre ellas, la cosmética; además, se considera una opción de baja toxicidad, costo relativamente bajo y brinda cualidades de gelificación suave mediante la adición de cationes disolventes como el calcio y, también, propiedades espesantes.

Los hidrogeles de alginato han resultado particularmente atractivos en aplicaciones de curación de heridas, administración de fármacos e ingeniería de tejidos hasta la fecha, ya que estos geles conservan una similitud estructural con las matrices extracelulares de los tejidos y pueden manipularse para desempeñar varias funciones críticas. (Lee y Mooney, 2012)

Entonces, ¿cuál podría ser la importancia del uso de las algas marinas y su relación con los biopolímeros? Los biopolímeros son denominados los componentes básicos de la naturaleza; estos se pueden encontrar en toda la materia viva, sea animal, microbiana o vegetal. Los biopolímeros incluyen proteínas, material genético, metabolitos y otras moléculas estructurales.

De acuerdo con Kartik et al. (2021): “Las algas no producen ningún efecto nocivo antropogénico, tienen una buena tasa de crecimiento y se pueden cultivar en aguas residuales” (p. 1. Así, el uso de estos materiales puede representar una ruta para una fabricación y desarrollo sostenibles de diversas formas cosméticas con propiedades beneficiosas para sus usuarios.

Mitura, Sionkowska y Jaiswal (2020), en su revisión acerca de los biopolímeros para hidrogeles en productos cosméticos, determinaron que los hidrogeles pueden formarse a partir de polímeros sintéticos y biopolímeros, siendo útiles en aplicaciones cosméticas debido a su alta

capacidad para absorber agua, lo que les permite ser similares a los tejidos humanos. También coincidieron en que los hidrogeles tienen ventajas importantes como los tiempos de administración prolongados en el sitio de aplicación y una menor frecuencia de administrar el producto, razón por la cual es común observar estos en productos cosméticos como mascarillas y productos de higiene.

De acuerdo con varios autores, existen tres usos principales de estas algas: en primer lugar, se consideran aditivos que contribuyen a propiedades organolépticas; seguidamente, se utilizan para la estabilización anteriormente mencionada y, por tanto, para la conservación de los productos y, finalmente, son compuestos que cumplen diversas funciones que brindan beneficios en la cosmética (Bedoux, Hardouin, Burlot, 2014).

Existe una gran variedad de algas marinas con múltiples beneficios, de acuerdo con los componentes que estas posean, entre los más comunes se encuentran los carragenanos, los fucoidanos y el laminarén. Las propiedades son extensivas, tal como lo resumen los autores López, Fernández, Torres et al. (2021) en su revisión sobre las aplicaciones de los compuestos de algas marinas en cosméticos. Por ejemplo, entre las propiedades de los fucoidanos se encuentran los beneficios antienvjecimiento, antioxidantes, antiinflamatorios, la inhibición de la colagenasa y la elastasa, y el aclaramiento de la piel. Un ejemplo de alga que contiene fucoidanos es *Fucus vesiculosus*.

Las algas marinas son una fuente de múltiples compuestos activos que comúnmente se utilizan en la industria cosmética. Las algas, también conocidas como macroalgas, producen una gran variedad de metabolitos primarios y secundarios, como proteínas, carbohidratos, aminoácidos, compuestos fenólicos y pigmentos, los cuales pueden ofrecer grandes beneficios para la piel.

Los autores Kalasiriya, Kumar, Yadav et al. (2021), en su investigación acerca de moléculas a base de algas y sus potenciales actividades biológicas en un enfoque de cosmética ecosostenible, demostraron, a través de la identificación de estos componentes activos y una evaluación de sus actividades biológicas y beneficios en productos cosméticos, la relación entre el desarrollo de productos y la sostenibilidad de estos en comparación con los productos sintéticos. Concluyeron que las algas marinas representan una fuente prometedora y sostenible de ingredientes bioactivos para la industria cosmética.

En otra investigación de enfoque similar, los investigadores Pagels, Arias, Guerreiro y Moreira (2022), de la Universidad de Santiago de Compostela en España, determinaron el impacto ambiental de los extractos de algas marinas como una alternativa de materia prima con beneficio antioxidante, en comparación con el extracto de té verde y el ácido ascórbico para productos cosméticos.

Utilizaron una metodología de análisis del ciclo de vida (LCA) para evaluar el impacto ambiental asociado con la producción y el uso de estos ingredientes. Se compararon el extracto de alga *Fucus vesiculosus*, el extracto de té verde y el ácido ascórbico, analizando el consumo de materiales, agua y energía. El estudio concluyó que el extracto de alga *Fucus vesiculosus* representó el menor impacto ambiental en las categorías evaluadas.

Estos componentes activos pueden convertirse en beneficios para potenciales productos cosméticos, tales como propiedades antienvjecimiento, protección solar, blanqueamiento, antioxidantes, antimicrobianos, entre otros. En una investigación realizada por los autores Guillerme, Couteau y Coiffard (2017), de la Universidad de Nantes en Francia, se estudiaron múltiples algas marinas para identificar la diversidad de beneficios que estas ofrecen.

Por ejemplo, analizaron el efecto de los antioxidantes naturales, como los florotaninos, los polisacáridos sulfatados, el fucosterol y las fucoxantinas, encontrados en diversas algas, en términos de seguridad y eficacia en comparación con antioxidantes sintéticos como el hidroxitolueno butilado, el hidroxianisol y el galato de propilo. Concluyeron que, entre múltiples beneficios, los antioxidantes naturales provenientes de las algas marinas representan una alternativa segura para la industria cosmética.

Según la evidencia presentada en la investigación acerca de metabolitos de algas marinas, aplicaciones y desafíos, los autores Thiyagaransaiyar, Goh, Jeon y Yow (2020) realizaron una revisión de la literatura existente sobre los diferentes tipos de algas y sus beneficios.

Por ejemplo, las fucoxantinas encontradas en las algas café, rojas y verdes, de las cuales *Fucus vesiculosus* forma parte, contienen propiedades antimelanogénicas, antienvjecimiento y antioxidantes. Esto, en comparación con otros compuestos bioactivos encontrados en las algas, como los florotaninos o el fucoidano.

Los autores concluyen que las algas pardas, conocidas científicamente como *Phaeophyceae*, entre ellas *Fucus vesiculosus*, contienen fucoxantinas que pueden aportar múltiples beneficios a los productos cosméticos. De igual manera, indican que es esencial realizar más estudios para comprender las vías de señalización celular y los mecanismos exactos de acción de estos compuestos.

Los autores Goswami y Bang (2015) resumen las propiedades del *Fucus vesiculosus* en la *Revista Internacional de Investigación Avanzada en Ciencia e Ingeniería*, destacando sus efectos antienvjecimiento, antiinflamatorio, hidratante, suavizante de la piel, aportador de brillo al cabello, reafirmante de la piel, calmante y promotor de elasticidad cutánea.

Estos basados en una revisión de la literatura existente con el objetivo de brindar información suficiente a alternativas de productos cosméticos existentes, indican también que:

La alternativa son las algas verdes, que son abundantes, resistentes, económicas de cultivar y eficientes para plegar proteínas complejas. Varios productos industriales también se elaboran a partir de macroalgas. Pueden actuar como antibióticos, agentes antihipertensivos y reductores del colesterol en sangre, agentes dilatadores, anticoagulantes, insecticidas y agentes antitumorales, entre otras cualidades. (Goswami y Bang, 2015, p. 2)

Además de esto, en una investigación realizada por los autores Hortas, Fernández, Torres et al. (2021), se demostró, a través de un estudio en el Centro de Investigaciones Biomédicas de España, que parte de las propiedades encontradas en las fucoxantinas de las algas pardas pueden contrarrestar el estrés oxidativo causado por la radiación ultravioleta al suprimir la actividad de la tirosinasa. Este efecto fue probado en cobayas y ratones. Además, demostraron que la fucoxantina mejoró la tasa de quema de grasa en las células del tejido adiposo y podría ser útil para el tratamiento de la obesidad y la reducción de ciertos trastornos, incluida la diabetes mellitus tipo 2.

Los extractos de fucoidano de *Fucus vesiculosus*, cuando se purifican, proporcionan múltiples beneficios cosméticos. En otro estudio, realizado por los investigadores Kustrin y Morton (2013) de La Trobe University de Australia, se encontró que estos extractos aumentan la cantidad de fibroblastos dérmicos, la deposición de colágeno, la tensión del colágeno y la

elasticidad facial. Por tanto, se demuestran propiedades calmantes, suavizantes, emolientes y acondicionadoras de la piel.

Además, probaron un método novedoso y eficiente de extracción mediante un proceso de agua fría sin disolventes, lo que permitió producir extractos con rangos de peso molecular definidos y altos niveles de pureza.

En una revisión de la literatura acerca de ensayos clínicos sobre la seguridad y eficacia de los extractos de algas en cosméticos, los investigadores Murphy y Dow (2021) mencionan que, en un estudio realizado con 10 mujeres de entre 23 y 36 años, a quienes se les administró extracto acuoso de *Fucus vesiculosus* al 1 % durante un período de cinco semanas y dos veces al día, se obtuvo una disminución significativa del 8 % en el grosor de la piel y una mejora notable en la elasticidad en comparación con los controles. Además, no se observó irritación ni eritema. Este estudio se llevó a cabo en comparación con un total de 12 algas marinas.

En otro estudio, realizado por los autores Fitton, Gardiner, Karpiniec et al. (2015), se examinó la bioactividad específica de los extractos de fucoidano provenientes de las algas marinas *Undaria pinnatifida* y *Fucus vesiculosus*, evaluando su efecto sobre el envejecimiento y el daño de la piel por exposición a la luz ultravioleta.

Los métodos utilizados incluyeron la evaluación de la colagenasa y la elastasa *in vitro*, el análisis de la expresión de la proteína SIRT1, la capacidad antioxidante mediante el ensayo ORAC5.0, así como observaciones sobre la protección UV, la reducción de arrugas y los efectos calmantes. Se concluyó que *Fucus vesiculosus* fue eficaz en la inhibición de la tirosinasa, contribuyendo a efectos aclarantes y a una mayor protección contra el daño por luz ultravioleta en comparación con *Undaria pinnatifida*.

Se evaluó la eficacia de un sérum en spray que contenía extracto de *Fucus vesiculosus*, extracto de *Ulva lactuca* y ectoína, todos derivados del mar, en concentraciones que oscilaban entre 0.5 % y 5 %. En una investigación realizada por los autores Bocker, Wiesweg y Doberenz (2023), se incluyeron 33 sujetos con signos visibles de envejecimiento y 29 sujetos adicionales, quienes completaron el estudio. Se evaluaron diversos parámetros, como hidratación, pérdida transepidérmica de agua, cambios en la profundidad de las arrugas y aspereza de la piel. Los investigadores concluyeron que los fucooidanos son ingredientes con un gran potencial en

productos antienvjecimiento, además de su capacidad para inhibir la colagenasa y la elastasa, regular la actividad inmune y aumentar los niveles de la proteína SIRT1, implicada en el mantenimiento de la función cutánea.

En cuanto al ácido shikímico (SA), su uso ha sido principalmente en la industria farmacéutica para la fabricación de medicamentos, aunque recientemente ha surgido como un compuesto innovador en la cosmética. Dentro de sus beneficios, se considera un potente antioxidante, además de otras propiedades. De acuerdo con Batory y Rotsztein (2022):

Muestra actividad antiviral, exfoliante, desodorizante, antiacné, anticaspa, blanqueante e hidratante. También regula la cantidad de sebo secretado y posee propiedades antibacterianas, antiinflamatorias, estimulantes del crecimiento del cabello, antienvjecimiento y antifúngicas. (p. 2)

En México, Rius, Hernández, González y Mena (2010) llevaron a cabo una investigación con el objetivo de extraer ácido shikímico del árbol *Liquidambar styraciflua*. Se determinaron variables como el tiempo de extracción (48 horas), la temperatura de extracción (60 °C) y la temperatura de evaporación del agua (85 °C). Se estableció que las partes del árbol utilizadas serían las semillas no viables y las hojas secas, y se empleó carbón activado para eliminar impurezas.

Mediante el método de rotavapor y el uso de resina, se logró atrapar el ácido, y posteriormente se recuperó con ácido acético. A través del rotavapor, el ácido shikímico cristalizó en las paredes del matraz. Finalmente, se analizó su pureza mediante resonancia magnética nuclear, revelando que las semillas no viables permitieron obtener un 90 % de pureza y las hojas secas verdes un 95 %. Los autores concluyeron que el árbol *Liquidambar styraciflua* es una fuente viable de ácido shikímico.

Bai, Wu, Zhong, Xiao et al. (2018), en su investigación sobre la comparación de los efectos del ácido quínico y el ácido shikímico en las funciones celulares de *Staphylococcus aureus*, llevaron a cabo mediciones del pH intracelular, ensayos de las concentraciones de ATP celular y extracelular, así como la actividad de la succinato deshidrogenasa. A través de una curva de calibración de células bacterianas ajustada a diferentes valores de pH, evaluaron el impacto de ambos ácidos en las funciones celulares de la bacteria.

Se determinó que el ácido shikímico actuaba específicamente en la disminución de la concentración de ATP intracelular y en el aumento de la hidrólisis de este, lo que puede reducir la síntesis o unión del ADN. Esto indica que el ácido shikímico es útil como agente antimicrobiano natural en la industria alimenticia.

Kwon, Lee, Kim, et al. (2021) indican que el ácido shikímico derivado de callos vegetales regenera la piel humana mediante la conversión de fibroblastos dérmicos humanos en células precursoras multipotentes derivadas de la piel. Con la ayuda de los componentes de las células madre vegetales, los fibroblastos podrían convertirse en precursores derivados de la piel humana, lo que los convierte en una fuente potencial de células para la regeneración.

El estudio se llevó a cabo tratando fibroblastos con ácido shikímico obtenido del callo de *Sequoiadendron giganteum*. Se emplearon métodos como *Western blot*, ensayos y tinción por inmunofluorescencia con piel artificial humana, además de un análisis de tejidos mediante inmunohistoquímica.

Los resultados fueron favorables para el ácido shikímico, ya que se comprobó su eficacia como agente regenerador tisular. Las células tratadas expresaron nestina, lo que sugiere una mejora en la cicatrización de heridas inducidas por láser de CO₂ y en la reconstrucción dérmica. Cabe destacar que, en un grupo de voluntarios sanos, el tratamiento logró aumentar la expresión de marcadores de células madre y favorecer la deposición de colágeno.

Sheng, Yi, Zhong, et al. (2022) realizaron una investigación sobre la biosíntesis del ácido shikímico en microorganismos, su estado actual y sus posibles aplicaciones futuras. Se determinó que este ácido es un precursor quiral en la síntesis del oseltamivir (Tamiflu), un antiviral. En la actualidad, una de las formas más factibles de producción del ácido shikímico es la fermentación con bacterias como *Escherichia coli*.

Sin embargo, su uso industrial se ve limitado por la falta de pruebas suficientes sobre su fermentación. Para mejorar la producción a escala industrial, se han propuesto diversas estrategias, entre ellas: el desarrollo de biosensores y conmutadores moleculares, la modificación genética y el rediseño de rutas metabólicas. Algunas de las estrategias específicas incluyen:

- La optimización de la vía del shikimato presente en plantas para formar corismato.

- El bloqueo de la vía del catabolismo del ácido para equilibrar el crecimiento celular y la acumulación de productos.
- El redireccionamiento del flujo de carbono hacia la producción del ácido shikímico.
- La manipulación de la expresión de genes centrales y el aumento de cofactores.
- El suministro adecuado de precursores y sustratos.
- El monitoreo del proceso metabólico mediante biosensores.

Los investigadores concluyeron que la implementación de estas estrategias mejoraría la eficiencia de la producción de ácido shikímico a nivel industrial al optimizar las vías endógenas, reconstruir las vías heterólogas, redirigir el flujo metabólico y manipular la expresión de genes clave.

Bai, Zhong, Elena, Gao, et al. (2018) realizaron un estudio en el que se evaluó la actividad antibiofilm del ácido shikímico contra la formación de biopelículas de *Staphylococcus aureus* y se determinó su mecanismo de acción. Se emplearon métodos como la tinción con violeta de cristal, que redujo la biomasa de la biopelícula de manera dependiente de la dosis, además de observaciones e imágenes microscópicas.

Se determinó que el ácido shikímico inhibe la adhesión de la biopelícula a superficies de vidrio y provoca el colapso de la estructura bacteriana, reduciendo drásticamente su movilidad. Como conclusión, el estudio demostró que el ácido shikímico previene la formación inicial de biopelículas de *Staphylococcus aureus*; sin embargo, no es capaz de destruir biopelículas de un día de antigüedad.

Martínez, et al. (2021), en su investigación sobre la capacidad del ácido shikímico para proteger las células de la piel de la senescencia inducida por radiación UV mediante la activación de la desacetilasa SIRT1 dependiente de NAD⁺, determinaron que la radiación UV es uno de los principales factores que contribuyen al fotoenvejecimiento debido a la acumulación de células senescentes. En este contexto, las sirtuinas juegan un papel clave en la prevención de este fenómeno.

Para evaluar esta hipótesis, se llevaron a cabo cultivos celulares, ensayos de actividad SIRT1 *in vitro*, ensayos de viabilidad celular, cuantificación de expresión génica por *qPCR* y análisis de espectroscopia infrarroja.

El estudio se desarrolló en dos etapas para identificar compuestos capaces de proteger a las células expuestas a radiación UV. Se encontró que el ácido shikímico era la mejor opción para el estudio, ya que, tras la irradiación, disminuyó la expresión de *p16INK4A*, revirtió la acumulación de proteínas mal plegadas y aumentó los niveles de la chaperona BiP. No obstante, no protegió contra el daño del ADN ni contra el aumento de poliploidías.

En conclusión, el estudio determinó que el ácido shikímico mejora la función de las sirtuinas como reguladoras de la proteostasis celular. Se evidenció una relación entre este ácido y SIRT1, además de su baja toxicidad y su potencial como tratamiento contra el envejecimiento cutáneo inducido por radiación UV.

En México, Díaz, Carmona, Bolívar y Escalante (2014) desarrollaron una investigación con el objetivo de evaluar las aplicaciones del ácido shikímico en la química farmacéutica. Se determinó que la vía del ácido shikímico es clave en la síntesis del oseltamivir fosfato (Tamiflu), un inhibidor de la enzima neuraminidasa, utilizado en el tratamiento de la gripe estacional, la gripe aviar (H5N1) y la gripe humana (H1N1).

Asimismo, se identificaron diversas propiedades del ácido shikímico, como su actividad antioxidante, antiinflamatoria y analgésica. También se analizó su papel en la síntesis de fármacos, su actividad antitumoral (*zeylenone*), su capacidad para la inhibición plaquetaria y enzimática, y su potencial como compuesto antiparasitario.

En cuanto a sus fuentes de producción, se destacaron la síntesis química, la extracción de plantas como la estrella de anís china, la producción microbiana y la producción enzimática.

Como conclusión, los investigadores señalaron que uno de los usos más relevantes del ácido shikímico es su papel en la síntesis de oseltamivir fosfato, ya que la amenaza de nuevas pandemias es alta y contar con fuentes sostenibles e innovadoras para la producción de antivirales es crucial para la industria farmacéutica y el sector salud.

Mahmood (2022) investigó el efecto del ácido shikímico y del ácido acetilsalicílico sobre la formación de biopelículas en *Staphylococcus epidermidis*. Para ello, se recolectaron 231

muestras en hospitales de Irak entre diciembre de 2020 y julio de 2021. Las muestras se cultivaron en agar sangre y agar manitol salado, y se identificaron mediante el sistema *VITEK 2*, tinción con cristal violeta y ensayo MTT con diferentes concentraciones y tiempos de incubación.

Se pudo determinar que el ácido shikímico mostró mayor inhibición que el ácido acetilsalicílico. También se observó una inhibición en la formación de biopelículas en relación con el aumento de la concentración. En su estudio, se concluyó que ambos ácidos presentan una notable actividad antibiofilm, ya que previenen la adherencia de las bacterias; sin embargo, el ácido shikímico mostró una mayor inhibición en la formación de biopelículas (93 %) en comparación con el ácido acetilsalicílico (85 %). Cuando las biopelículas ya estaban formadas a las 24 horas, la inhibición fue del 94 % y 91 %, respectivamente.

En Chengdú, China, Bai, Wu, Liu et al. (2015) investigaron la actividad antibacteriana del ácido shikímico extraído de las agujas de pino de *Cedrus deodara* contra *Staphylococcus aureus*, mediante la alteración de la membrana celular. A través de observaciones con microscopía electrónica de transmisión y fluorescencia, se determinó que el ácido shikímico puede modificar la estructura de la membrana celular.

Esto sugiere que puede actuar destruyendo la permeabilidad y la fluidez de la membrana. Específicamente, puede alterar la fluorescencia de los residuos de fenilalanina de las proteínas de membrana, lo que indica una posible interacción con estas. En conclusión, se determinó que el ácido shikímico presenta actividad antibacteriana contra *Staphylococcus aureus*, posiblemente debido a su interacción con las proteínas y los lípidos de la membrana bacteriana, causando daño o muerte celular.

Rawat y Tripathi (2013) desarrollaron un estudio que amplía el conocimiento sobre la producción del ácido shikímico, sus aplicaciones y tendencias en el mercado. Actualmente, este compuesto es de gran importancia en la industria farmacéutica; sin embargo, su obtención a partir de plantas puede ser limitada, lo que podría afectar la disponibilidad de fármacos o cosméticos que lo contengan.

El estudio determinó que existen otras formas de síntesis que permitirían utilizar el ácido shikímico en la industria de manera sostenible y eficiente, reduciendo la dependencia de fuentes

vegetales. Algunas alternativas incluyen su producción mediante microorganismos, fermentación y el uso de glucosa. Se mencionó que uno de los usos más importantes del ácido shikímico es la síntesis del antiviral oseltamivir (*Tamiflu*). Por ello, se deben buscar nuevas técnicas de extracción sostenibles que minimicen su impacto ambiental.

Gopalsamy, Bruno, Poovathumkal et al. (2023) investigaron las fuentes naturales, biosíntesis, funciones biológicas y mecanismos moleculares del ácido shikímico. En estudios *in vitro* e *in vivo*, se ha demostrado su papel en diversas bioactividades, tales como actividad antiviral y antimicrobiana, protección ósea, actividad antidiabética, antioxidante, neuroprotectora y protección cutánea.

En cuanto a su actividad antioxidante, esta podría estar relacionada con la presencia del ácido hidroxil-monocarbónico fenólico y el ácido monocarboxílico beta-insaturado. Se determinó que el ácido shikímico puede contribuir al control y prevención de enfermedades crónicas, y que sus derivados bioactivos tienen importantes aplicaciones en la salud (Gopalsamy et al., 2023).

En Hong Kong, Bao, Zheng, Chang et al. (2023) determinaron que el ácido shikímico inhibe la neuroinflamación y ejerce efectos neuroprotectores en un modelo *in vitro* e *in vivo* inducido por lipopolisacáridos, los cuales se encuentran en la membrana externa de las bacterias. A través de este estudio, se buscó comprender cómo actúa el ácido shikímico en esta función.

Mediante estudios mecanísticos, que incluyeron experimentos con células, ensayo CCK-8, prueba *Western blot*, ensayo cuantitativo de PCR, experimentación animal con ratones, ELISA y tinción inmunohistoquímica, se determinó que el ácido shikímico inhibe la producción de mediadores proinflamatorios y especies reactivas de oxígeno en células BV2 inducidas por lipopolisacáridos. Esto ocurre a través de la activación de la vía AKT/Nrf2 y la inhibición de la vía NF-kB. Además, se observó una mejoría en el daño neurológico y en los déficits de comportamiento causados por la inyección de lipopolisacáridos en ratones. Estos hallazgos sugieren que el ácido shikímico podría ser un apoyo terapéutico para enfermedades como el Parkinson, asociadas con la neurodegeneración (Bao, Zheng, Chang et al., 2023).

En Brasil, Kelly, Gibara, Almeida, Gasparotto et al. (2016) investigaron cómo el ácido shikímico inhibe las citocinas proinflamatorias inducidas por lipopolisacáridos y atenúa el dolor mecánico en ratones. Se emplearon células de macrófagos RAW 264.7 tratadas con

lipopolisacáridos bacterianos, y se analizaron la modulación de la viabilidad celular, la producción de óxido nítrico, el contenido de TNF-alfa e IL-1 beta y la activación de MAPK.

En un modelo *in vivo*, se determinó que el ácido shikímico suprimió la disminución de la viabilidad celular inducida por lipopolisacáridos y la acumulación de nitritos. También inhibió la producción de TNF-alfa e IL-1 beta, lo que indica que el ácido shikímico posee propiedades antiinflamatorias con potencial para el desarrollo de fármacos antiinflamatorios.

Chen, Huang, Wen et al. (2016) investigaron la capacidad despigmentante de los componentes de la ruta del ácido shikímico para determinar la molécula más efectiva en la reducción de la concentración de melanina, el pigmento responsable del oscurecimiento de la piel.

Los compuestos analizados incluyeron ácido benzóico, ácido *p*-cumárico, ácido vanílico, ácido siríngico, ácido quínico, ácido shikímico, orcinol monohidrato y ácido fenilpirúvico. Se evaluaron mediante pruebas de inhibición de la tirosinasa en pez cebra, eliminación de radicales DPPH y ABTS+, cultivos de fibroblastos humanos, ensayo de detección de fármacos despigmentantes en pez cebra y pruebas de actividad tirosinasa en células B16.

Se determinó que el ácido shikímico fue el inhibidor de tirosinasa más potente, de manera que se evidenció su baja toxicidad celular y su capacidad para inhibir la pigmentación en pez cebra, lo que sugiere su potencial como ingrediente activo en productos despigmentantes (Cheng, Huang, Wen et al., 2016).

En Jiangsu, China, Guo, Wang, Xu, Bai, Shen et al. (2018) investigaron si el ácido shikímico previene la destrucción de la matriz del cartílago en condrocitos humanos. En la osteoartritis, se produce una reducción anormal de la matriz extracelular, incluido el colágeno tipo II, sintetizado en los condrocitos y afectado por el factor de necrosis tumoral alfa (TNF-alfa).

Para concluir, se investigó mediante el aislamiento y cultivo de condrocitos, el tratamiento de estos y la evaluación de la degradación de la matriz extracelular. En el estudio, se determinó que se logró prevenir la degradación del colágeno, se redujo la expresión inducida por TNF-alfa de metaloproteínas 1,3 y 13, así como se pudo incrementar la expresión de los inhibidores tisulares de metaloproteínas 1 y 2. De esta forma, también se previno la activación de la vía del factor nuclear NF-kB, de manera que el ácido muestra un efecto protector contra la degradación

inducida por TNF-alfa del colágeno tipo 2, reducción de MMP y ADAMTS, lo cual determina que sí podría ser un tratamiento para la enfermedad mencionada anteriormente por la inhibición de la vía NF-kB y reducción de enzimas degradadoras de la matriz (Jiangsu, et al. 2018).

CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO

El desarrollo de formulaciones cosméticas eficientes, seguras y sujetas a las tendencias actuales requiere de una comprensión profunda de los principios activos, sus propiedades y usos correctos, y de los excipientes que componen dichas formulaciones. En este capítulo, se abordan tres aspectos fundamentales para la investigación, los cuales son el ácido shikímico, el *Fucus vesiculosus* y los excipientes de carácter cosmético junto con un enfoque metodológico basado en la estrategia de calidad por diseño (*Quality by Design*).

El ácido shikímico es un compuesto natural, de origen vegetal, con propiedades que pueden utilizarse a nivel alimenticio y a nivel médico, incluyendo sus propiedades antimicrobianas que esta investigación pretende abordar. Esta propiedad antimicrobiana se presenta como atractiva para aplicaciones cosméticas enfocadas en la regulación de bacterias patógenas encontradas en la piel (Gopalsamy et al., 2023).

En este apartado, se presentan las generalidades de este compuesto, su clasificación, métodos de extracción, usos y los principales enfoques metodológicos utilizados para evaluar su capacidad antimicrobiana. Estos datos son esenciales para justificar su inclusión en formulaciones farmacológicas y cosméticas, destinadas a mejorar la salud de un paciente.

Por otra parte, las algas marinas, como el *Fucus vesiculosus*, han adquirido importancia en la industria cosmética debido a su alta concentración de compuestos antioxidantes como las fucoxantinas, que ayudan a contrarrestar el daño provocado por el estrés oxidativo. Se analizarán sus generalidades, características y métodos disponibles para evaluar su capacidad antioxidante, a fin de destacar su papel en productos destinados para prevenir el envejecimiento cutáneo (De la Torre, 2010).

Finalmente, se explora la importancia de otros excipientes cosméticos que son parte de las formulaciones. Estos actúan como vehículos esenciales para la estabilidad, textura y funcionalidad de las formulaciones. Además, se aborda la metodología de *Quality by Design*. Este enfoque sistemático, para el desarrollo de productos, permite optimizar procesos de formulación y producción mediante la identificación temprana de parámetros críticos de calidad. El enfoque busca garantizar productos seguros, estables y con un desempeño ideal, minimizando así la variabilidad en la eficacia del proceso del desarrollo del producto.

2.1 Ácido shikímico obtenido del anís estrella (*Illicium verum*)

El anís estrella es un árbol de hoja perenne perteneciente al reino plantae, de división Magnoliophyta, con clase Magnoliopsida, de orden Austrobaileyales, dentro de la familia Schisandraceae y su género se reconoce como *Illicium verum*. Según Ribó (2016), “contiene anetol el cual es culpable de su olor y sabor característico, normalmente en cantidades del 5 al 8 %” (p. 1). En la medicina tradicional china, el anís estrella ha sido ampliamente utilizado por sus propiedades estimulantes y expectorantes, además de emplearse para aliviar las flatulencias, aumentar la libido y preparar infusiones destinadas al tratamiento del reumatismo.

Según los Jardines Botánicos de la Realeza (2023):

El origen es del sudeste de Asia, Taiwán, Japón y Corea, y en el continente americano es sembrado en zonas tropicales como por ejemplo Ecuador. Es una planta que fue famosa desde tiempos antiguos, ya que data de hace 3000 años. (p. 1)

Se explica que, en estos años, se empleaba para aliviar trastornos estomacales, problemas respiratorios y como un potente estimulante del apetito. Cuando llega a Europa, llevado por comerciantes y exploradores que lo descubrieron en sus rutas comerciales a Oriente, este toma popularidad por ser una especia exótica y altamente apreciada en la cocina europea, especialmente en la repostería y en la preparación de licores y bebidas aromáticas.

Los usos principales del anís estrella son en la gastronomía, por su olor y sabor característico en la preparación de sopas y caldos, los cuales son populares en Asia; además, en repostería y en la fabricación de licores, y tés o bebidas aromáticas infusionadas. En la medicina, se reconoce por efectos digestivos y expectorantes, utilizado para la tos. En la medicina china, se le dan características estimulantes, antifúngicas y antimicrobianas (Ribó, 2016).

En los últimos años, la industria farmacéutica ha dado importancia al ácido shikímico, un metabolito utilizado en la producción del antiviral Tamiflu, fabricado por la empresa Roche y empleado en el tratamiento de la gripe. Además, se ha incorporado en enjuagues bucales, jabones y productos cosméticos debido a su propiedad antibacteriana. De acuerdo con Ribó (2016), algunos metabolitos del anís estrella incluyen el anetol, responsable de su olor y sabor; el ácido shikímico, con propiedades antimicrobianas; flavonoides y compuestos fenólicos, que

poseen propiedades antioxidantes y actúan contra el estrés oxidativo; así como taninos, terpenoides, lignanos, linalool y eugenol.

2.1.1 Generalidades

El ácido shikímico es un compuesto orgánico que se puede obtener de diversas fuentes naturales y desempeña un papel importante en la biosíntesis de aminoácidos aromáticos y otros metabolitos secundarios en plantas y microorganismos. Su nombre proviene del término japonés shikimi, en referencia a la planta *Illicium anisatum* (conocida como anís japonés, pariente del anís estrella chino), de la cual fue aislado por primera vez en el año 1885 (Jardines Botánicos de la Realeza, 2023).

De manera tradicional, el ácido shikímico se ha obtenido de plantas como *Illicium verum* (anís estrella) y *Liquidambar styraciflua* (liquidámbar), un árbol nativo de ciertas regiones de México y Centroamérica, ambas con concentraciones significativas de este compuesto. En la actualidad, debido a la creciente demanda, se han explorado otros métodos alternativos de producción, como la fermentación microbiana y la ingeniería metabólica en organismos como *E. coli* (Rius y Hernández, 2010).

En la industria farmacéutica, el ácido shikímico es reconocido por ser el precursor en la síntesis del oseltamivir, un antiviral utilizado en el tratamiento de la influenza, según mencionan Rius y Hernández (2010). Además de las cualidades antimicrobianas mencionadas anteriormente, el ácido shikímico ha sido investigado por sus propiedades anticoagulantes, analgésicas, antiinflamatorias y antioxidantes, lo que sugiere que sus aplicaciones son amplias.

2.1.2 Características y propiedades

El ácido shikímico es un ácido carboxílico con la fórmula molecular $C_7H_{10}O_5$. Presenta tres grupos hidroxilo, un grupo carboxilo y un anillo de seis átomos de carbono. Esta configuración le permite participar en diversas reacciones bioquímicas dentro de los organismos en los que está presente; es decir, su estructura está optimizada para su papel en reacciones enzimáticas, particularmente en la síntesis de metabolitos secundarios.

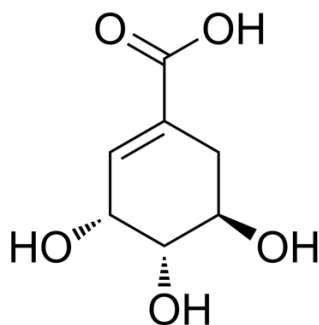


Figura 1. Estructura del ácido shikímico

Fuente: Chem Impex (2024).

2.1.3 Propiedades antimicrobianas

El ácido shikímico ha demostrado una actividad antimicrobiana importante, especialmente contra bacterias patógenas como *Staphylococcus aureus*. Según Bai, Wu y Liu (2015), este compuesto inhibe el crecimiento de cepas resistentes a antibióticos, lo que sugiere su potencial como una opción para el control de infecciones bacterianas. Su actividad se debe a su capacidad de interferir con la síntesis de la pared celular bacteriana y otros procesos relacionados.

Además, otros estudios señalan que el ácido shikímico muestra un efecto sinérgico cuando se combina con otros agentes antimicrobianos, lo que potencia su eficacia. Esto es relevante en el estudio de la resistencia bacteriana, donde el desarrollo de tratamientos eficaces es una prioridad. La acción antimicrobiana del ácido shikímico no se limita solo a bacterias, sino que también ha demostrado actividad antifúngica contra levaduras y hongos patógenos, tales como *Candida albicans* y *Aspergillus fumigatus* (Bai, Zhong, Wu, et al., 2018).

El ácido shikímico también ha sido estudiado en el tratamiento de infecciones cutáneas, un aspecto de gran interés para la industria dermatológica y cosmética. Se ha demostrado que posee la capacidad de prevenir la formación de biopelículas bacterianas, las cuales son una de las principales causas de infecciones persistentes. Las biopelículas representan un desafío clínico importante, ya que aumentan la resistencia a los tratamientos convencionales. Por tanto, este hallazgo es significativo en la aplicación de productos para el cuidado de la piel, donde podría contribuir a la prevención de afecciones como el acné (Martínez, et al., 2021).

Diversos ensayos han evaluado la capacidad del ácido shikímico para inhibir ciertas especies patógenas en condiciones de laboratorio y modelos animales. Mediante pruebas de concentración mínima inhibitoria, el compuesto ha mostrado eficacia contra bacterias grampositivas y gramnegativas, como *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Streptococcus pneumoniae* (Bai, Wu, Liu, 2015).

Otras investigaciones han explorado la posibilidad de modificar estructuralmente el ácido shikímico para mejorar su actividad antimicrobiana mediante la síntesis de derivados, lo que podría abrir las puertas al desarrollo de formulaciones de fármacos y cosméticos con propiedades antimicrobianas mejoradas.

La evaluación de la efectividad de este ácido se ha llevado a cabo mediante ensayos y pruebas como la viabilidad celular, el análisis de la liberación de enzimas líticas bacterianas y estudios de microscopía electrónica para observar cambios estructurales en células tratadas. Por tanto, todos estos enfoques confirman la capacidad del ácido shikímico para actuar como un agente antimicrobiano eficiente en aplicaciones farmacéuticas y cosméticas (Díaz, Carmona, Bolívar, et al., 2014).

2.1.4 Propiedades antioxidantes

La capacidad antioxidante de un compuesto se refiere a su habilidad para neutralizar radicales libres, moléculas altamente reactivas que pueden causar daño a las células al oxidar lípidos, proteínas y ADN. El daño oxidativo está directamente relacionado con procesos de envejecimiento, inflamación crónica y el desarrollo de diversas enfermedades, como el cáncer, enfermedades cardiovasculares y trastornos neurodegenerativos (Chen, Liu, Zhao, 2021).

Los compuestos antioxidantes logran su efecto al donar electrones o átomos de hidrógeno a los radicales libres, lo que provoca su estabilización y evita una serie de reacciones en cadena perjudiciales para la célula. Por tanto, en la industria farmacéutica y cosmética, la propiedad antioxidante es clave para la protección celular.

En el ámbito cosmético, la protección de la piel contra el estrés ambiental, la radiación ultravioleta y los factores contaminantes es fundamental, ya que estos aceleran el

envejecimiento cutáneo. Por esta razón, el uso de compuestos antioxidantes es esencial para la regeneración, protección y reducción del envejecimiento prematuro (Guo, Wang, Xu, 2018).

El ácido shikímico también posee una función antioxidante, ya que neutraliza los radicales libres y reduce el daño oxidativo en las células. De acuerdo con Chen (2016), este compuesto puede proteger la piel de los efectos de la radiación ultravioleta, una propiedad de interés para su aplicación en productos antienvjecimiento como característica mercadológica. Para evaluar su capacidad antioxidante, se han utilizado diversos métodos, entre ellos los ensayos de captura de radicales DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidracilo).

La capacidad antioxidante del ácido shikímico se debe a su estructura molecular, que le permite donar electrones a los radicales libres, estabilizándolos y previniendo daños celulares. Esta característica es particularmente importante en tejidos expuestos a estresores ambientales, como la piel (Zhang, 2019).

Otros estudios han demostrado que el ácido shikímico tiene una capacidad antioxidante similar o incluso superior a la de otros compuestos naturales, como el ácido ascórbico y los polifenoles, lo que refuerza su potencial como ingrediente activo en productos para el cuidado personal (Kumar, 2018).

Se ha observado también que este compuesto mejora la expresión de enzimas antioxidantes endógenas, como la superóxido dismutasa y la catalasa, que desempeñan un papel crucial en la defensa contra el estrés oxidativo al reducir la acumulación de especies reactivas de oxígeno responsables del envejecimiento de la piel.

Un estudio realizado por Wang et al. (2021) demostró que el ácido shikímico puede inhibir la peroxidación lipídica, protegiendo las membranas celulares de daños estructurales, lo que es relevante para mantener la integridad y función de la barrera cutánea. Asimismo, se ha comprobado que el ácido shikímico puede reducir los signos visibles del envejecimiento cutáneo, como manchas y arrugas, tras aplicaciones prolongadas del compuesto. Además, contribuye a mejorar la hidratación y elasticidad de la piel, sugiriendo que las formulaciones cosméticas pueden enfocarse en brindar un beneficio hidratante, antienvjecimiento y reparador.

Dentro de los ensayos antioxidantes se incluyen pruebas de reducción del radical ABTS, capacidad antioxidante total (TAC), métodos de inhibición de la peroxidación lipídica y ensayos

de DPPH, lo que corrobora la eficacia del ácido shikímico en la neutralización de especies reactivas de oxígeno (López y Denicola, 2013).

Adicionalmente, se ha propuesto que el ácido shikímico puede actuar como un modulador indirecto del estrés oxidativo, mejorando la capacidad regenerativa de las células epiteliales tras la exposición a radiación ultravioleta, lo que resulta especialmente relevante para el desarrollo de protectores solares y cremas de uso diario.

En el ámbito farmacológico, el uso de antioxidantes naturales como el ácido shikímico y el ácido ascórbico ha demostrado beneficios en la reducción de la inflamación crónica y el riesgo de enfermedades degenerativas relacionadas con el estrés oxidativo, como el cáncer y trastornos neurodegenerativos (González, 2018).

El ácido shikímico no solo tiene la capacidad de reducir el daño por estrés oxidativo a nivel cutáneo, sino que también puede modular los niveles de glutatión, el principal antioxidante intracelular, contribuyendo a una mayor protección contra el daño oxidativo en órganos vitales (Park et al., 2019).

En el ámbito alimenticio, Liao et al. (2020) mencionan que se ha explorado la incorporación del ácido shikímico en dietas funcionales debido a su actividad antioxidante. Estudios realizados en modelos animales sugieren que el consumo de este compuesto podría mejorar la función hepática y reducir los marcadores de inflamación asociados al estrés oxidativo.

En el ámbito cosmético, la aplicación de fórmulas enriquecidas con ácido shikímico ha demostrado una disminución en la producción de melanina, lo que sugiere que este compuesto puede utilizarse en productos despigmentantes, al mismo tiempo que protege contra la formación de manchas causadas por el sol.

Las aplicaciones del ácido shikímico, gracias a su actividad antioxidante, abarcan los ámbitos cosmético, farmacológico y alimenticio, lo que lo convierte en un compuesto de gran interés en la investigación y desarrollo de nuevos productos.

2.1.5 Propiedades analgésicas y antiinflamatorias

En estudios recientes, se ha sugerido que el ácido shikímico puede actuar como analgésico y antiinflamatorio al modular rutas de señalización inflamatoria. Su aplicación tópica ha demostrado reducir la inflamación cutánea inducida por factores irritantes, reforzando así el potencial de este compuesto para su uso en productos destinados a pieles sensibles. La acción antiinflamatoria del ácido está mediada por la inhibición de citoquinas proinflamatorias, como el factor de necrosis tumoral alfa y la interleucina-6 (Bao, Zheng, Lv, et al., 2023).

Estos mediadores son responsables de desencadenar respuestas inflamatorias agudas y crónicas; por tanto, su reducción mejora la función de la barrera cutánea y minimiza el riesgo de dermatitis (González et al., 2018). Además, el ácido shikímico disminuye la actividad de enzimas proinflamatorias, como la ciclooxigenasa (COX) y la lipooxigenasa (LOX), encargadas de la síntesis de prostaglandinas y leucotrienos. Como resultado, se reduce el dolor y la inflamación asociados con condiciones cutáneas crónicas, como el eccema.

Investigaciones clínicas han demostrado que el uso tópico de ácido shikímico en combinación con agentes calmantes puede mejorar la tolerancia de la piel en individuos con sensibilidad extrema, reduciendo la inflamación sin efectos adversos significativos (Kim et al., 2020). Además, el ácido ha mostrado efectos inhibidores sobre la activación de mastocitos, células clave en las respuestas alérgicas. Por tanto, las aplicaciones tópicas de este compuesto podrían ser útiles en la prevención de reacciones inflamatorias provocadas por diversos alérgenos, lo que sugiere su potencial en el tratamiento de afecciones alérgicas cutáneas.

2.1.6 Propiedades anticoagulantes

Otras investigaciones han demostrado que el ácido shikímico puede inhibir la agregación plaquetaria, lo que sugiere una función anticoagulante. Esta propiedad es relevante en el contexto de la prevención de la trombosis y otros trastornos cardiovasculares, aunque su aplicación médica requiere estudios más extensos. Este mecanismo se basa en la inhibición de la activación plaquetaria inducida por el colágeno y otros agonistas.

Por tanto, se evita la formación de coágulos en los vasos sanguíneos, reduciendo así el riesgo. Al inhibir las interacciones entre las plaquetas, el ácido shikímico puede prevenir

complicaciones asociadas con enfermedades cardiovasculares crónicas (Rawat, Tripathi, Saxena, 2013).

Martínez et al. (2020) mencionan que ensayos *in vitro* han demostrado que este compuesto afecta las vías de señalización que regulan la liberación de trombina y fibrinógeno, dos proteínas importantes en la formación de coágulos. Al regular estos procesos, el ácido shikímico podría tener aplicaciones en el manejo de condiciones como la trombofilia hereditaria. En estudios con modelos animales, el tratamiento con ácido shikímico resultó en una reducción del tiempo de formación de coágulos sin alterar significativamente los parámetros de coagulación, lo que sugiere un perfil de seguridad favorable.

2.1.7 Medición de la capacidad antibacteriana

Debido a que el ácido shikímico es conocido por su amplia capacidad antibacteriana, resulta relevante analizar sus posibles aplicaciones. Bai et al. (2021) realizaron un estudio en el que investigaron la actividad antibacteriana del ácido shikímico mediante diversos métodos experimentales y análisis avanzados.

En primera instancia, utilizaron una cepa de la bacteria *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, reconocida por su capacidad de causar enfermedades transmitidas a través de alimentos. Estas bacterias se cultivaron en un medio nutritivo y se ajustaron a una densidad específica.

Para el tratamiento con ácido shikímico, la suspensión bacteriana fue tratada con una concentración de 2.5 mg/mL de ácido shikímico. Además, se aplicaron condiciones de control con ácido clorhídrico para mantener el pH en niveles comparables, eliminando así el efecto del pH como posible factor de error. Después de un periodo de incubación de 30 minutos a 37 °C, las células fueron recolectadas y sometidas a extracción de ARN total utilizando un kit llamado TRIzol. La calidad del ARN fue verificada mediante análisis en gel de agarosa (Bai, Wu, Liu et al., 2015).

Este estudio demostró que el ácido shikímico afectó rutas metabólicas importantes, como la fosforilación oxidativa y el metabolismo del piruvato. También se observó una alteración en la fluidez y función de la membrana bacteriana, lo que impactó los canales de calcio y potasio. Esto afectó la capacidad de la bacteria para mantener su estructura y llevar a cabo sus procesos metabólicos normales. Los resultados transcriptómicos fueron confirmados mediante PCR

cuantitativa en tiempo real, verificando la expresión diferencial de doce genes relacionados con funciones metabólicas y estructurales de la bacteria (Bai, Wu, Liu et al., 2015).

Además, existen otros métodos para evaluar la actividad antibacteriana, como el método de difusión en disco o pozo de agar. Este consiste en colocar una cantidad conocida del compuesto sobre un disco de papel en un medio de cultivo sólido inoculado con una bacteria. La presencia de actividad antibacteriana se observa mediante la formación de un halo de inhibición alrededor del disco, donde las bacterias no han podido crecer. Este es un método cualitativo para determinar la presencia de dicha actividad.

2.1.8 Métodos de extracción del ácido shikímico

La extracción de compuestos bioactivos a partir de plantas o vegetales requiere de técnicas específicas que maximicen la recuperación de estos compuestos sin afectar sus propiedades estructurales. En este caso, el ácido shikímico es la molécula de interés, que tiene una importancia biológica y farmacéutica. Se extrae comúnmente de materiales como el anís estrellado (*Illicium verum*) utilizando métodos de extracción que incluyen equipos como el Soxhlet.

Este método ha sido ampliamente empleado debido a su eficiencia en la extracción continua. Primeramente, el material vegetal seco se tritura y se coloca en un cartucho poroso dentro del extractor, mientras un solvente caliente circula de manera repetida sobre la muestra. El ácido shikímico es soluble en solventes como el agua, el metanol o el propilenglicol, lo que asegura su disolución y recuperación gradual en el solvente, permitiendo una extracción prolongada sin necesidad de recargar el solvente (Bochkov, et al., 2011).

Un enfoque alternativo al método de extracción por Soxhlet es la extracción asistida por ultrasonido. Esta técnica utiliza ondas ultrasónicas para generar cavitación en el medio líquido, lo que rompe las estructuras celulares de la planta y facilita la liberación de los compuestos bioactivos. Estudios han demostrado que la extracción por ultrasonido puede reducir considerablemente el tiempo de procesamiento y el consumo energético, manteniendo rendimientos de extracción similares al método Soxhlet (Bochkov, et al., 2011).

No obstante, el Soxhlet sigue siendo preferido en muchas aplicaciones industriales debido a su capacidad de operar de manera continua y reproducible (Liu, et al., 2009). Estos avances en las técnicas de extracción de compuestos vegetales responden a la necesidad de maximizar la eficiencia en procesos industriales a gran escala, donde el objetivo es reducir el tiempo y maximizar los costos para ofrecer una materia prima de calidad a un costo razonable.

Desde la perspectiva química, el ácido shikímico presenta propiedades que facilitan la extracción y manipulación. Su fórmula molecular $C_7H_{10}O_5$, que cuenta con tres grupos hidroxilo y un grupo carboxilo, le confiere una alta polaridad. Esta estructura contribuye a su alta afinidad por solventes polares y su capacidad para formar enlaces de puentes de hidrógeno, lo que explica su solubilidad en agua y alcoholes (Batory y Rotsztej, 2021).

Además, la estabilidad térmica del ácido shikímico es adecuada para procesos de extracción a temperaturas moderadas, aunque temperaturas excesivamente altas (superiores a 200 °C) pueden inducir descomposición parcial (Ohira, 2009). Estas características químicas son fundamentales para seleccionar y optimizar las condiciones de extracción, donde se menciona que una temperatura ideal es cercana a los 150 °C.

Una vez extraído, el ácido shikímico debe someterse a procesos de purificación para eliminar impurezas presentes en el extracto crudo. Entre las técnicas utilizadas se encuentran la cromatografía de intercambio iónico y la precipitación química. La purificación es esencial para obtener un compuesto que cumpla con los estándares de calidad exigidos en la industria farmacéutica (Liu, et al., 2009).

Además, se ha demostrado que el ácido shikímico puede cristalizarse a partir de disoluciones metanólicas (en metanol), lo que permite una separación efectiva del resto de los componentes del extracto, como se menciona en Bochkov, et al. (2011). Esta cristalización facilita la obtención de un producto final con alta pureza y estabilidad, convirtiéndolo en un compuesto apto para aplicaciones industriales.

Los rendimientos de extracción pueden variar significativamente según la procedencia del material vegetal y las condiciones de procesamiento. En el caso del anís estrellado, el contenido de ácido shikímico puede oscilar entre un 3 % y un 7 % en peso seco. Existen varios factores,

como la edad de la planta, las condiciones de almacenamiento y el tratamiento previo, que afectan directamente la eficiencia del proceso (Ohira, Torii, Aida, et al., 2009).

Por lo tanto, es fundamental estandarizar las condiciones de extracción para minimizar la variabilidad e maximizar los rendimientos de obtención del extracto. Este detalle es fundamental en la industria farmacéutica, ya que mantener consistencia en los lotes de producción de ácido shikímico como materia prima es esencial para garantizar la eficacia y la seguridad de los productos finales, sean de uso cosmético o farmacéutico (Díaz, Carmona, Bolívar, et al., 2014).

La extracción del ácido shikímico mediante métodos estandarizados como el Soxhlet o la extracción asistida por ultrasonido es una etapa crítica en su producción industrial. La importancia radica en su aplicación en la síntesis de medicamentos antivirales como el Oseltamivir (Tamiflu – Roche), así como en su uso potencial en productos cosméticos y otros. Las innovaciones en las técnicas de extracción buscan mejorar la sostenibilidad del proceso, reducir el consumo de material y la generación de residuos (Bochkov, 2011).

2.1.9 Métodos de análisis del ácido shikímico

El análisis del ácido shikímico se realiza mediante varias técnicas, las cuales son fundamentales para garantizar su calidad, concentración y presencia, según el extracto vegetal obtenido. Entre las técnicas más utilizadas se encuentra la cromatografía líquida de alta resolución (HPLC, por sus siglas en inglés).

Este método logra separar y cuantificar compuestos en mezclas complejas gracias a una fase móvil líquida y una columna de fase estacionaria, generalmente C18. La detección se realiza a través de un espectrofotómetro ultravioleta-visible, a una longitud de onda de 210 o 220 nm, donde el ácido shikímico presenta una alta absorción. Esta técnica ofrece alta precisión y sensibilidad (Liu, Li, Zhang, et al., 2009).

Otra técnica importante es la cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (CG-MS), la cual es útil cuando el analito requiere una identificación más detallada de sus compuestos. Previo al análisis, el ácido shikímico debe ser derivatizado para hacerlo volátil, generalmente mediante la formación de éteres. La CG-MS permite una identificación precisa

basada en el tiempo de retención y el patrón de fragmentación en el espectro de masas (Bochkov, et al., 2011).

Los ensayos espectrofotométricos también se utilizan como métodos rápidos y de menor costo para la evaluación preliminar del contenido de ácido shikímico. Por ejemplo, el ensayo de colorimetría basado en la reacción con reactivos específicos permite detectar el compuesto a una longitud de onda definida. A pesar de su rapidez y bajo costo, estos métodos no son tan precisos como el uso de HPLC o CG-MS (Liu, Li, Zhang, et al., 2009).

En el caso del HPLC, se prepara una curva de calibración mediante la inyección de soluciones estándar de ácido shikímico en diferentes concentraciones. La linealidad se verifica al correlacionar el área del pico cromatográfico con la concentración del estándar. Por lo tanto, los resultados deben mostrar una correlación (r) superior a 0,99 para que el método se considere válido. Además, la repetibilidad se evalúa mediante la inyección repetida de la misma muestra para comprobar la estabilidad de todas las lecturas (Liu, Li, Zhang, et al., 2009).

Además de los métodos cromatográficos, existen otras técnicas avanzadas, como la resonancia magnética nuclear (RMN), que permite identificar los grupos funcionales presentes en la molécula, proporcionando información detallada sobre su conformación tridimensional. Este método es relevante para investigaciones que buscan explorar la interacción del ácido shikímico con otras moléculas o analizar derivados estructurales. La combinación de técnicas analíticas confiables, junto con un monitoreo constante, es importante para mantener la eficiencia y la reproducibilidad en la producción a gran escala (Liu, Li, Zhang, et al., 2009).

2.2 Sargazo vejigoso (*Fucus vesiculosus*)

Es un alga marrón del reino Plantae, del filo Ochrophyta, clase Phaeophyceae, que se relaciona con las algas pardas, del orden Fucales, familia Fucaceae, género *Fucus* y especie *Fucus vesiculosus*. Según Renobales (2001), “puede alcanzar los 30 cm de longitud, con un tallo en forma de lámina, un eje central, vesículas aeríferas y en sus extremos forma receptáculos, los cuales son donde se producen los gametos, facilitando su reproducción”. Se encuentra sobre las rocas en la orilla, específicamente en las costas de ambos lados del Atlántico Norte, desde el Ártico hasta el norte de África y Canarias, en el mar del Norte y en el mar Báltico.

Tiene una importante composición de yodo, el cual está fijado a aminoácidos y proteínas, además de cloruro de sodio, potasio, magnesio, calcio, hierro, ácido algínico y glucosanos solubles, así como vitaminas A, B1, C, E y pequeñas cantidades de B12. Según de la Torre (2001), “los usos principales del alga son efecto saciador del apetito, tonificante intestinal, ligero laxante, disminución del colesterol, acción contra la celulitis y tratamiento de la gota”, que se define como un aumento de ácido úrico. Como contraindicación, se menciona el hipertiroidismo, el acné, el embarazo, la lactancia y el uso en niños.

2.2.1 Generalidades

El *Fucus vesiculosus* es una especie de alga marina parda, ampliamente distribuida en las aguas poco profundas de las regiones costeras del Atlántico Norte, el mar del Norte y el Ártico. Esta alga pertenece al género *Fucus*, que incluye aproximadamente 66 especies reconocidas. Forma comunidades densas conocidas como cinturones de macroalgas, las cuales proporcionan refugio y protección de nutrientes a una gran variedad de organismos epibentónicos y epifíticos, es decir, organismos que viven en relación con superficies en ecosistemas acuáticos.

El *Fucus vesiculosus* es particularmente apreciado por su alto contenido de compuestos activos, lo que ha generado interés en su uso para aplicaciones alimenticias, farmacéuticas y cosméticas (Obluchinksaya et al., 2022). Históricamente, el *Fucus vesiculosus* ha sido utilizado en la medicina tradicional de países costeros de Europa y Norteamérica para tratar problemas metabólicos como el hipotiroidismo, debido a su alto contenido de yodo.

Otras investigaciones han destacado su capacidad para acumular diversos compuestos beneficiosos, incluidos los polisacáridos sulfatados como el fucoidano, los polifenoles como las florotaninas y otros minerales esenciales. Estas propiedades han sido aprovechadas en productos cosméticos, donde se utiliza el compuesto brindando beneficios antioxidantes, hidratantes y protectores frente a los daños causados por la radiación ultravioleta (Obluchinksaya et al., 2022).

El contenido de compuestos activos en el *Fucus vesiculosus* varía considerablemente según factores ambientales como la salinidad del agua, la temperatura y la fase reproductiva del alga. Por ejemplo, los niveles de florotaninas y flavonoides son más elevados en aguas con alta salinidad y durante ciertas etapas reproductivas. Estos polifenoles son responsables de muchas de las propiedades biológicas del alga, incluidas sus actividades antioxidantes y antimicrobianas,

lo que convierte a esta alga en un recurso importante en la fabricación de productos antienvjecimiento (Balina, Ramagnoli, Blumerga, 2015).

2.2.2 Composición química del *Fucus vesiculosus*

El *Fucus vesiculosus* (C₂₉H₄₈O₂) contiene componentes como polisacáridos sulfatados, alginatos, fucoidanos y laminaria. Los alginatos constituyen una parte significativa de su estructura celular, siendo polímeros de ácido glucurónico y manurónico, conocidos por sus propiedades gelificantes y espesantes. Debido a estas características, estos compuestos son ampliamente utilizados en productos cosméticos para mejorar la textura y estabilidad de las formulaciones (Balina, Ramagnoli, Blumerga, 2015).

Otro componente importante del *Fucus vesiculosus* es el fucoidano, un polisacárido sulfatado con destacadas propiedades bioactivas. El fucoidano ha demostrado tener actividad antioxidante, antiinflamatoria y antitumoral en diversos estudios. Este polisacárido actúa neutralizando los radicales libres y modulando rutas inflamatorias, lo que proporciona protección a la piel contra el envejecimiento prematuro. Además, el fucoidano favorece la regeneración celular, lo que hace que su aplicación en productos para el cuidado de la piel sea efectiva (Savitri, Rahmanwaty, Minarno, 2024).

La composición mineral del *Fucus vesiculosus* incluye minerales esenciales como yodo, potasio, calcio, magnesio y zinc. El yodo, en particular, desempeña un papel crucial en la regulación del metabolismo y la función tiroidea. Estos minerales no solo son importantes para la salud a nivel sistémico, sino que también contribuyen a mejorar la elasticidad y firmeza de la piel, además de su hidratación. La presencia de estos elementos refuerza el potencial del alga para ser utilizada en la industria cosmética (Savitri, Rahmanwaty, Minarno, 2024).

Además de los polisacáridos y minerales, el *Fucus vesiculosus* contiene una amplia variedad de compuestos fenólicos, especialmente florotaninas, que son exclusivas de las algas pardas. Las florotaninas presentan una actividad antioxidante y fotoprotectora significativa, siendo efectivas contra el daño inducido por la radiación ultravioleta. Por lo tanto, estas propiedades se han investigado para el desarrollo de productos de protección solar (Ovchinnikov, et al., 2009).

Otro componente de interés es el manitol, un alcohol de azúcar presente en cantidades considerables en el alga. El manitol tiene propiedades humectantes, lo que lo convierte en un

agente efectivo para mantener la hidratación de la piel. Además, se ha estudiado su papel en la protección de las células contra el estrés osmótico, demostrando que ayuda a mantener el equilibrio hídrico en pieles secas o deshidratadas (Balina, Ramagnoli, Blumerga, 2015).

2.2.3 Propiedades antioxidantes

El *Fucus vesiculosus* es una fuente natural rica en antioxidantes, compuestos que desempeñan un papel fundamental en la neutralización de radicales libres y la protección celular. De los componentes mencionados previamente, destacan las florotaninas, las cuales actúan como potentes antioxidantes al donar electrones a especies reactivas de oxígeno, reduciendo el daño oxidativo en estructuras biológicas. Los autores Obluchinskaya et al. (2022) mencionan que las florotaninas del alga no solo inhiben la peroxidación lipídica, sino que también previenen el daño al ADN inducido por el estrés oxidativo.

Otro antioxidante presente en *Fucus vesiculosus* es el fucoidano, un polisacárido sulfatado con múltiples beneficios. Este actúa mediante la reducción de los niveles de especies reactivas de oxígeno intracelulares y la modulación de rutas de señalización inflamatoria. La fucoxantina, un carotenoide, es un pigmento que participa en la fotosíntesis y posee una importante capacidad de captura de radicales libres. Además, se ha demostrado que regula la expresión de enzimas antioxidantes como el superóxido dismutasa y la catalasa, aumentando la capacidad de defensa del organismo contra el estrés oxidativo. Incluso, este compuesto ha sido estudiado por su potencial en la reducción de la inflamación crónica y la protección contra enfermedades degenerativas (Savitri et al., 2024).

Por último, el manitol contribuye a la capacidad antioxidante al estabilizar membranas celulares y protegerlas contra el daño osmótico. Neutraliza radicales libres y, al mismo tiempo, actúa como un agente humectante, mejorando la hidratación y elasticidad de la piel. Por tanto, el *Fucus vesiculosus* y sus componentes son un recurso valioso gracias a su capacidad antioxidante (Baliyan, Mukherjee, Privayardashini, et al., 2022).

2.2.4 Medición de la capacidad antioxidante del *Fucus vesiculosus* (Prueba DPPH)

La prueba DPPH (1,1-difenil-2-picrilhidrazilo) es un método ampliamente utilizado para cuantificar la capacidad antioxidante de un compuesto o extracto. Se basa en la capacidad de los antioxidantes para neutralizar radicales libres. El DPPH es un radical libre estable que tiene un

color púrpura, el cual disminuye al reaccionar con compuestos antioxidantes como el *Fucus vesiculosus*, que donan electrones o átomos de hidrógeno, lo que genera una decoloración amarilla proporcional a la capacidad antioxidante. Este cambio es medido mediante espectrofotometría a una longitud de onda de 517 nm (Savitri et al., 2024).

Para el ensayo DPPH, se prepara una solución estándar de DPPH en metanol o alcohol, generalmente a una concentración de 0,1 mM. Posteriormente, se disponen diferentes concentraciones del extracto o compuesto a analizar, los cuales se mezclan con la solución de DPPH. Las muestras se someten a incubación en oscuridad durante 30 minutos para permitir la interacción entre el radical y los antioxidantes presentes en el extracto. Después de este tiempo, se mide la absorbancia; la reducción en la absorbancia indica la capacidad del compuesto para neutralizar los radicales libres.

El resultado de la prueba se expresa comúnmente como el porcentaje de inhibición del radical o como el valor IC50. Este valor se define como la concentración del compuesto necesario para inhibir el 50 % de los radicales DPPH presentes. Valores de IC50 menores indican una mayor capacidad antioxidante. En un estudio reciente, se demostró que el extracto de *Fucus vesiculosus* mostró una inhibición significativa de los radicales DPPH, con valores que clasifican al alga como un antioxidante potente (Savitri et al., 2024).

Un aspecto importante para considerar en la prueba DPPH es la influencia del disolvente en los resultados. Los solventes polares, como el metanol y el etanol, mejoran la solubilidad del DPPH y facilitan la interacción con antioxidantes hidrofílicos. En el caso de compuestos lipofílicos, se recomienda utilizar mezclas de solventes para maximizar la reactividad del radical libre. El *Fucus vesiculosus* contiene componentes hidrofílicos como los alginatos y el fucoidano, así como componentes lipofílicos como las fucoxantinas, que se disuelven mejor en solventes como el etanol o el hexano (Baliyan, Mukherjee, Privayardashini, et al., 2022).

Esta prueba también permite comparar la capacidad antioxidante de diferentes compuestos frente a estándares conocidos, como el ácido ascórbico. El método DPPH es rápido y accesible, aunque sus resultados podrían verse influenciados por factores como el pH de la disolución, la temperatura y el tiempo de incubación. Por ello, es crucial estandarizar las condiciones experimentales para asegurar la reproductibilidad de los resultados.

2.2.5 Propiedades antimicrobianas

El *Fucus vesiculosus* ha demostrado tener propiedades antimicrobianas, las cuales se atribuyen a la presencia de compuestos activos como los polifenoles y los polisacáridos sulfatados. Dentro de los principales responsables de la actividad antimicrobiana se encuentran las florotaninas, que son una clase de polifenoles que actúan alterando la membrana celular de las bacterias, interfiriendo en su metabolismo y reproducción. Estudios han demostrado que los extractos del alga inhiben el crecimiento de bacterias tanto grampositivas como gramnegativas, resaltando su potencial como agente natural contra infecciones bacterianas (Sandsalen et al., 2003).

Dichas pruebas de actividad antimicrobiana realizadas con extractos del *Fucus vesiculosus* han mostrado efectos bactericidas contra cepas como *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*. En estos estudios, las bacterias fueron tratadas con extractos purificados que lograron reducir el crecimiento bacteriano entre un 85 % y un 97 % en 24 horas. El mecanismo de acción parece estar relacionado con la disrupción de la pared celular bacteriana, lo que genera un desequilibrio osmótico y conduce a la muerte de la bacteria (Sandsalen et al., 2003).

El fucoidano, un polisacárido sulfatado presente en el alga, también ha sido identificado como un componente con actividad antimicrobiana. Este no solo inhibe el crecimiento bacteriano, sino que también interfiere en la formación de biopelículas, estructuras responsables de la resistencia a antibióticos. La capacidad del fucoidano para prevenir la adhesión de bacterias a superficies convierte a *Fucus vesiculosus* en un potencial agente para aplicaciones en productos de higiene y cuidado personal (Sandsalen et al., 2003).

Existen factores ambientales como la estación del año, el hábitat y la fase reproductiva del alga que podrían estar involucrados en la capacidad antimicrobiana del extracto obtenido. Las concentraciones de compuestos activos son más altas durante el verano, cuando el alga está más expuesta a bacterias del entorno. Estos cambios estacionales reflejan la capacidad del alga para modular su defensa química en respuesta a las condiciones ambientales (Padmakumar y Ayyakkannu, 1997).

Entre los métodos utilizados para evaluar la capacidad antimicrobiana se incluyen ensayos con placas de microtitulación, donde se mide la densidad óptica de cultivos bacterianos expuestos a diferentes concentraciones del extracto. Se demostró que el alga pudo inhibir

significativamente el crecimiento de bacterias como *Proteus mirabilis* y *Pseudomonas aeruginosa* (Sandsalen et al., 2003).

Un aspecto importante en la investigación sobre las propiedades antimicrobianas del *Fucus vesiculosus* es la ausencia de toxicidad para las células humanas. En estudios de hemólisis, los extractos activos no causaron daño a los glóbulos rojos, lo que sugiere un menor riesgo en el perfil de seguridad para aplicaciones tópicas. Este hallazgo es importante para utilizar el extracto en productos cosméticos y farmacéuticos, donde se requiere una alta eficacia bactericida o bacteriostática sin efectos adversos para la piel (Haug et al., 2003).

2.2.6 Propiedades anticancerígenas

Diversos estudios han investigado el potencial anticancerígeno del *Fucus vesiculosus*, debido a su alto contenido en compuestos activos como los polifenoles, particularmente las florotaninas. Estas sustancias han demostrado tener efectos citotóxicos contra diversas líneas celulares de cáncer. En un estudio realizado en el mar Báltico, se encontró que extractos del alga redujeron significativamente la viabilidad de células de adenocarcinoma pancreático humano, tras 72 horas de tratamiento (Zenthoefler et al., 2017).

Los mecanismos por los cuales las florotaninas ejercen su efecto anticancerígeno incluyen la inducción de apoptosis y la inhibición de la proliferación celular. Las florotaninas interfieren en rutas de señalización clave, lo que disminuye la capacidad de las células cancerosas para evadir la apoptosis. Esto sugiere un potencial uso en tratamientos combinados con otros agentes quimioterapéuticos, aunque se necesitan más investigaciones en esta área para comprender mejor su eficacia y seguridad (Zenthoefler et al., 2017).

2.2.7 Métodos de análisis

La identificación del *Fucus vesiculosus* implica la evaluación de sus componentes activos, así como la concentración de estos, por ejemplo, los polifenoles, como las florotaninas. Estos compuestos constituyen una parte importante de su perfil bioactivo, alcanzando hasta un 20 % del peso seco en algunas muestras de algas pardas. Los polifenoles son heterogéneos en estructura y peso molecular, por lo que su identificación puede ser complicada.

En estudios recientes, se ha utilizado cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) combinada con espectrometría de masas para caracterizar estos compuestos (Ovchinnikov et al., 2019). Los métodos de extracción para identificar el alga se basan en procesos de eliminación de lípidos y pigmentos mediante solventes como el cloroformo. Posteriormente, se realiza una extracción acuosa a 60 °C durante una hora para obtener los compuestos hidrosolubles. Seguidamente, tras la concentración y eliminación de impurezas, el extracto se somete a una precipitación con etanol para separar los polisacáridos. Los polifenoles restantes se extraen mediante un sistema de fase orgánica compuesto por una mezcla de acetato de etilo y butanol en una proporción de 4:1 (Ovchinnikov, et al., 2019).

La separación de los extractos es otro paso fundamental para mejorar la resolución en la identificación de los componentes. En este proceso se utilizan columnas cromatográficas rellenas con un adsorbente denominado Sephadex LH-20, que retiene los compuestos polifenólicos a través de enlaces de hidrógeno. La elución se realiza con una serie de solventes de polaridad decreciente, permitiendo separar fracciones basadas en el grado de polimerización. Es decir, las fracciones más pesadas contienen florotaninas de alto peso molecular, mientras que las más ligeras están compuestas por monómeros y oligómeros (Ovchinnikov, et al., 2019).

Además de los análisis cromatográficos, el uso de espectroscopía ultravioleta ha permitido identificar los picos característicos de los polifenoles a una longitud de onda de 254 nm. Este enfoque se complementa con la espectrometría de masas en modo de ionización negativa, donde los compuestos son separados para obtener la información estructural. La ventaja de la combinación de estos métodos es la caracterización completa, lo que garantiza una identificación precisa y confiable de los compuestos bioactivos en el extracto (Ovchinnikov, et al., 2019).

Como se ha mencionado, los factores ambientales como la estación del año, el lugar de crecimiento del alga y la fase reproductiva influyen en la composición química del *Fucus vesiculosus*. Investigaciones realizadas en el mar Blanco y los mares Árticos han demostrado que las condiciones de salinidad y temperatura pueden afectar la concentración de polifenoles y otros metabolitos secundarios, lo que hace que la identificación del alga requiera un método estandarizado en cuanto a extracción y análisis para evitar la variabilidad.

Por tanto, la identificación del *Fucus vesiculosus* es un proceso que requiere la integración de múltiples técnicas analíticas y de extracción. La caracterización e identificación detallada de sus compuestos activos, como las florotaninas, es esencial para garantizar la calidad del extracto y, por ende, la eficacia en las aplicaciones industriales en las que se vaya a utilizar. El desarrollo de metodologías avanzadas en cuanto a identificación es fundamental para un control de calidad adecuado.

2.3 Metodología calidad por diseño enfocada en el desarrollo de productos cosméticos

El enfoque de calidad por diseño ha sido ampliamente utilizado en la industria farmacéutica y también es aplicable en el desarrollo de productos cosméticos, como es el caso de esta investigación para la fabricación y formulación de una crema hidratante y parches para el contorno de ojos. Este enfoque se centra en el diseño del producto con una comprensión detallada de las variables críticas que pueden afectar su calidad. Esto implica la identificación de atributos de calidad, como la estabilidad de la formulación, la absorción de los compuestos activos, la textura y la uniformidad del producto.

En el desarrollo de una crema facial, el enfoque de calidad por diseño se puede implementar desde las etapas iniciales mediante la definición de un perfil de calidad del producto. Este perfil incluye parámetros importantes como la capacidad de hidratación, la penetración cutánea de activos antioxidantes (como los polifenoles del *Fucus vesiculosus*) y la estabilidad de la formulación ante cambios de temperatura y luz. Los experimentos controlados permiten evaluar cómo las modificaciones en las materias primas o en el proceso de fabricación afectan estos parámetros, para mejorar el control y la previsibilidad del proceso.

Para los parches de contorno de ojos, los atributos importantes pueden incluir la adherencia del material al área ocular, así como la liberación de activos como el ácido shikímico y el alga marina, junto con la elasticidad del biopolímero utilizado. El enfoque de calidad por diseño requiere diseñar experimentos que determinen la concentración de los extractos y el tipo de biopolímero utilizado, así como otros excipientes de la formulación. Además, se deben identificar parámetros críticos como la temperatura, el tiempo de mezcla, entre otros.

La metodología de calidad por diseño también incorpora la evaluación de riesgos para priorizar aquellos factores que tienen un mayor impacto en la calidad del producto. Por ejemplo,

un análisis de riesgos podría demostrar que la variabilidad en la pureza de los extractos vegetales es un factor importante que requiere un control minucioso. Por lo tanto, la verificación de calidad de los proveedores de materias primas utilizadas en la formulación debe estar sujeta a controles de calidad estrictos. Una variación en una materia prima puede tener un impacto directo en el resultado de una formulación cosmética, generando variabilidad entre un lote producido y otro.

Finalmente, un monitoreo continuo durante el proceso de fabricación es fundamental en el enfoque de calidad por diseño. Existen herramientas que pueden ser recomendadas para mejorar la eficiencia de los procesos productivos, como el análisis PAT (*Process Analytical Technology*), que permite medir en tiempo real parámetros como la viscosidad de una crema o la uniformidad del espesor de los parches.

Claro está que implementar este tipo de herramientas conlleva un costo financiero y debe estar sujeto al presupuesto de cada fabricante. Sin embargo, implementar el enfoque de calidad por diseño garantiza minimizar el riesgo de variaciones de calidad entre lotes, mejorando la eficiencia del proceso y reduciendo los costos asociados con reprocesos, para finalmente aumentar la satisfacción del consumidor gracias a productos más seguros, eficaces y con calidad constante.

CAPÍTULO III: MARCO METODOLÓGICO

El presente marco metodológico comprende los puntos relacionados con los objetivos específicos para describir cómo se llevan a cabo los procedimientos para cumplir cada objetivo mencionado. Se incluye desde la descripción para la extracción del anís estrella, la identificación del ácido shikímico, el método DPPH para la determinación de la capacidad antioxidante y la prueba de capacidad antimicrobiana de los compuestos a estudiar.

3.1 Enfoque

La presente investigación adopta un enfoque de carácter mixto, combinando metodologías cualitativas y cuantitativas para analizar las propiedades del ácido shikímico y del alga *Fucus vesiculosus*, con un énfasis en el análisis de las propiedades antimicrobianas y antioxidantes de estos dos compuestos. La fase cualitativa se centra en la caracterización de los compuestos, donde se describen sus generalidades, propiedades y aplicaciones en la industria cosmética, específicamente.

Para ello, se lleva a cabo una revisión de la literatura científica, así como la caracterización química de los extractos mediante el uso de técnicas de análisis como la espectrofotometría UV-Vis y la espectrofotometría infrarroja, lo que permite identificar los principales compuestos activos presentes en cada extracto.

En la fase cuantitativa, se evaluará la capacidad antioxidante y antimicrobiana de los extractos de ácido shikímico y *Fucus vesiculosus*, de manera individual y en combinación, con el objetivo de determinar si presentan un efecto sinérgico. Para esto, se utilizarán pruebas como el ensayo DPPH para medir la actividad antioxidante y métodos de cultivo en placa para evaluar la capacidad antimicrobiana.

Se compararán los resultados obtenidos en las pruebas individuales y en la mezcla de ambos extractos, con el fin de analizar si la combinación ofrece una mayor efectividad o, por el contrario, no se observa un incremento significativo en su actividad bioactiva, sea antioxidante o antimicrobiana.

El enfoque experimental permitirá analizar si la combinación de los extractos genera un efecto sinérgico, aditivo o antagonista en términos de la capacidad antioxidante y antimicrobiana. En caso de que los resultados indiquen un aumento de la actividad conjunta, esto reforzaría la viabilidad de utilizar ambos compuestos en formulaciones cosméticas. Por el contrario, si se

observa que la mezcla no mejora significativamente la actividad en comparación con los extractos individuales, se determinará cuál de los compuestos tiene un mayor impacto en dicha cualidad.

3.2 Tipo de investigación

El presente estudio adopta un enfoque de tipo experimental, con componentes de carácter exploratorio y explicativo, ya que se busca evaluar las capacidades antioxidantes y antimicrobianas del ácido shikímico y del *Fucus vesiculosus* por separado; además, analizar su posible sinergismo y, finalmente, desarrollar dos fórmulas cosméticas utilizando estos extractos. El enfoque exploratorio se aplica en la primera etapa de este estudio, donde se busca conocer con mayor detalle las características individuales de ambos compuestos, identificando sus principales componentes activos, sus características generales y sus métodos de identificación.

3.3 Fuentes de información

Las fuentes de información consultadas para el presente estudio son de tipo primario, secundario y terciario, obtenidas de bases de datos bibliográficas como Google Scholar, National Library of Medicine, Springer Nature, ScienceDirect, entre otras. Se consultan fuentes en los idiomas español e inglés, priorizando aquellas con acceso a publicaciones en revistas científicas y literatura académica validada. Se excluyen fuentes de baja fiabilidad, como blogs, páginas web sin respaldo científico y documentos sin referencias verificables.

3.4 Criterios de búsqueda de la información

Tabla 1. *Criterios de búsqueda de información basados en los objetivos específicos de la investigación en curso.*

Objetivo específico	Descriptor	Motor de búsqueda	Resultados por descriptor	Periodo de estudio	Idioma
----------------------------	-------------------	--------------------------	----------------------------------	---------------------------	---------------

Extraer mediante técnicas de hidrodestilación el ácido shikímico proveniente del <i>Illicium verum</i> (anís estrella) para evaluar su poder antimicrobiano frente a bacterias como <i>Staphylococcus aureus</i> a través de técnicas de cultivo en placa.	Métodos de extracción de anís estrella	MDPI Google Scholar Springer Nature	13	2009	Inglés
	Métodos de identificación de ácido shikímico	MDPI Google Scholar Springer Nature	8	2011-2012	Inglés
	Fuentes de extracción de ácido shikímico	MDPI Google Scholar	12	2008-2009	Inglés
Determinar la capacidad antioxidante del extracto de <i>Fucus vesiculosus</i> y del ácido shikímico extraído del anís estrella, individualmente y de manera conjunta mediante un ensayo de captura del radical libre	Procedimiento para ensayo DPPH	Google Scholar	4	2007	Inglés
	Capacidad antioxidante del <i>Fucus vesiculosus</i>	Springer Nature	10	2018-2019	Inglés
	Cuantificación de las capacidades antioxidantes del ácido shikímico	Google Scholar MDPI	6	2015-2016	Inglés y Español

DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazilo), evaluando la actividad antioxidante en función de la concentración de estos extractos.					
Optimización del desarrollo de dos formas cosméticas mediante la metodología de calidad por diseño que incluyan los extractos de ácido shikímico y <i>Fucus vesiculosus</i> evaluando seguridad, capacidad antioxidante y capacidad antimicrobiana.	Excipientes cosméticos	Google Scholar Science Direct	5	2012	Inglés
	Formulación de parches de biopolímeros como carragenina	MDPI Google Scholar Springer Nature	14	2014-2015	Inglés y español
	Pruebas de determinación de capacidad antimicrobiana de compuestos naturales.	Google Scholar Science Direct	7	2012	Inglés

Fuente: Elaboración propia basada en datos encontrados.

3.5 Criterios de inclusión y exclusión

Se establecen criterios de inclusión y exclusión que delimitan los alcances de este estudio. Se incluyen únicamente estudios, artículos y experimentos relacionados con la extracción del ácido shikímico y su identificación, así como la identificación del *Fucus vesiculosus* y la evaluación de las propiedades antioxidantes y antimicrobianas de ambos compuestos. Además, se analizarán ambos compuestos por separado y en combinación, con el objetivo de determinar si existe sinergismo entre ellos.

Por otro lado, se excluyen del estudio las investigaciones sobre otras capacidades activas de estos compuestos, tales como los posibles efectos antiinflamatorios, anticancerígenos, entre otros. Además, no se realizarán pruebas en seres humanos ni estudios clínicos, ya que el enfoque del presente estudio se centra en la caracterización química y la evaluación experimental en laboratorio, con un enfoque principalmente cosmético. Tampoco se llevarán a cabo análisis de estabilidad a largo plazo.

3.6 Variables de la investigación

Tabla 2. Variables operacionales de los objetivos específicos de la investigación.

Objetivo específico	Variable	Indicador	Definición conceptual	Definición operacional	Definición instrumental
Extraer mediante técnicas de hidrodestilación el ácido shikímico proveniente del <i>Illicium verum</i> (anís estrella) para evaluar su	Extracción de anís estrella para la identificación del ácido shikímico	Rendimiento de extracción. Análisis de concentración	Proceso de obtención de ácido shikímico a partir de anís estrellado mediante hidrodestilación, seguido de la evaluación de	La hidrodestilación es un método tradicional para la extracción de compuestos bioactivos de las plantas. En este	Extractor Soxhlet para la hidrodestilación Espectrofotómetro UV-Vis para la identificación

<p>poder antimicrobiano frente a bacterias como <i>Staphylococcus aureus</i> a través de técnicas de cultivo en placa.</p>			<p>su capacidad antimicrobiana</p>	<p>método, los materiales vegetales se envasan en un compartimento inmóvil, luego se añade agua en cantidad suficiente y se lleva a ebullición (Yuangang, 2024).</p>	
<p>Determinar la capacidad antioxidante del extracto de <i>Fucus vesiculosus</i> y del ácido shikímico extraído del anís estrella, individualmente y de manera conjunta mediante un ensayo de</p>	<p>Determinación de capacidad antioxidante mediante el ensayo DPPH</p>	<p>% de inhibición del radical 1,1-difenil-2-picrilhidrazil</p>	<p>La prueba DPPH se utiliza para estimar la actividad antioxidante basándose en el proceso mediante el cual los antioxidantes limitan la oxidación de lípidos, lo que da como resultado la</p>	<p>La prueba DDPH se utiliza comparando el patrón de ácido ascórbico para generar una curva de calibración y así poder comparar la muestra de interés contra esta.</p>	<p>Procedimiento de laboratorio de elaboración del ensayo DPPH</p>

<p>captura del radical libre DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazilo), evaluando la actividad antioxidante en función de la concentración de estos extractos.</p>			<p>eliminación de radicales libres del DPPH y, por lo tanto, determina el potencial de eliminación de radicales libres (Baliyan et al., 2022).</p>		
<p>Optimización del desarrollo de dos formas cosméticas mediante la metodología de calidad por diseño que incluyan los extractos de ácido shikímico y <i>Fucus vesiculosus</i> evaluando seguridad,</p>	<p>Elaboración de una crema hidratante y parches de biopolímeros</p>	<p>Estabilidad y seguridad de la formulación</p>	<p>Son productos de aplicación tópica diseñados para aumentar el contenido de agua de la piel y restaurar la función de barrera protectora innata de la piel. (Harwood, 2024)</p>	<p>Fabricación de la crema y parches de biopolímero mediante la metodología de calidad por diseño</p>	<p>Procedimiento de laboratorio de fabricación de crema humectante y parches de biopolímeros</p>

capacidad antioxidante y capacidad antimicrobia na.					
---	--	--	--	--	--

Fuente: Elaboración propia.

3.7 Descripción del procedimiento de recolección y análisis de datos

La recolección y análisis de datos de esta investigación se llevará a cabo en varias etapas, cubriendo la totalidad de los objetivos propuestos. Estos incluyen la extracción del anís estrella (*Illicium verum*) para la obtención de un extracto que contenga ácido shikímico, permitiendo también su posible identificación mediante técnicas cualitativas y cuantitativas.

En una segunda etapa, se lleva a cabo el ensayo DPPH para verificar la capacidad antioxidante del ácido shikímico y del *Fucus vesiculosus*, tanto de manera individual como conjunta, con el fin de determinar su posible sinergismo. Asimismo, se realiza una prueba de capacidad antimicrobiana de estos compuestos, igualmente de forma individual y en combinación, evaluando un posible efecto sinérgico

Finalmente, en la última etapa de este estudio, se desarrolla una formulación cosmética que emplea estos compuestos, específicamente una crema y parches de biopolímeros para el contorno de ojos. La descripción detallada de estos métodos se encuentra a partir de la sección 3.8 del presente estudio.

3.8 Descripción del método de extracción de anís estrella (*Illicium verum*)

El proceso de extracción del anís estrella (*Illicium verum*) consiste, en primer lugar, en adquirir la materia prima. La estrella de anís puede obtenerse en pequeñas cantidades en diversos puntos de venta. En Costa Rica, este producto puede adquirirse en el Barrio Chino, en diferentes tiendas dedicadas a la venta de productos importados de China. Seguidamente, en el laboratorio, se tritura la materia prima (material vegetal) utilizando un mortero o una licuadora, con la finalidad de disminuir el tamaño del fruto seco y favorecer su proceso de extracción.

Seguidamente, se pesan 30 g de material vegetal seco y triturado, y se colocan en una tela. Se realiza un dobléz, y este cartucho se introduce dentro del extractor Soxhlet. Este equipo permite una extracción continua mediante la recirculación del solvente caliente, lo que favorece una mejor recuperación del compuesto sin su degradación. Mientras tanto, se prepara el resto del equipo conectando el balón correspondiente de 500 mL, las mangueras a la bomba y a la hielera.

Se comienza a calentar la plantilla hasta alcanzar una temperatura aproximada de 150 °C. En este caso, se utiliza agua destilada como solvente, ya que el ácido shikímico es altamente soluble en medios acuosos. Seguidamente, la extracción se somete a ciclos repetidos de percolación con agua caliente durante 4 a 6 horas, favoreciendo la solubilización del compuesto en la fase líquida.



Figura 2. *Anís estrella*



Figura 3. *Cartucho con 30 g del material seco (anis estrella)*



Figura 4. *Preparación del extractor Soxhlet*



Figura 5. *Proceso de extracción*

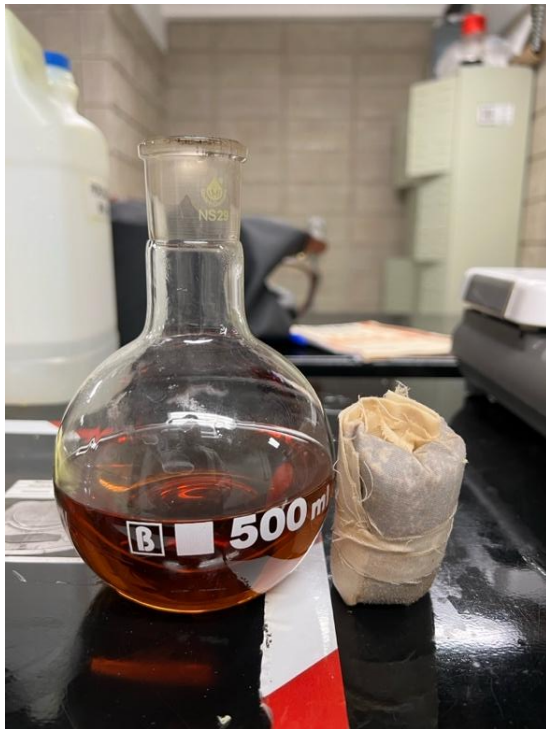


Figura 6. *Obtención del extracto líquido*

Tras completar la extracción, el extracto acuoso obtenido se somete a un proceso de liofilización, un método de secado por congelación que permite eliminar el agua sin exponer el compuesto a temperaturas elevadas que podrían degradarlo. La liofilización es un procedimiento eficiente para preservar la estabilidad y pureza del ácido shikímico, evitando la pérdida de compuestos volátiles y minimizando la oxidación. El proceso consiste en congelar el extracto a temperaturas inferiores a $-40\text{ }^{\circ}\text{C}$ y luego someterlo a una sublimación controlada en condiciones de vacío, lo que permite obtener el extracto en forma de un polvo seco, estable y fácil de manipular en experimentos posteriores, como la cuantificación o la fabricación de una fórmula de interés.

3.8.1. Materiales utilizados

Se detallan los materiales utilizados para la extracción del anís estrella a continuación:

- 30 g Anís estrella seco
- Mortero o licuadora para triturar el anís estrella
- Cápsulas de porcelana
- Balanza
- Extractor Soxhlet de 250mL
- *Beaker* de 500 mL
- Plantilla de calefacción
- Papel aluminio
- Tela
- Hielera
- Hielo
- Agua destilada

3.8.2 Reactivos

Para el procedimiento de extracción de ácido shikímico no se utilizaron reactivos específicos; no obstante, se empleó agua destilada como disolvente. La elección del disolvente para la

extracción del anís estrella es un factor importante en términos de la eficiencia del proceso, la pureza del extracto y su posterior aplicación en formulaciones. Se optó por utilizar agua destilada debido a su capacidad para extraer compuestos polares como el ácido shikímico, así como a su compatibilidad con métodos de purificación posteriores, como la liofilización.

No obstante, existen otros disolventes que podrían ser utilizados. Por ejemplo, el propilenglicol es un disolvente común en la industria cosmética y farmacéutica, y tiene la capacidad de solubilizar compuestos polares y semipolares. Al igual que el propilenglicol, el etanol se utiliza en múltiples extracciones de ácidos fenólicos y compuestos polares, permitiendo una mayor concentración de los principios activos en comparación con el agua. Sin embargo, el uso de disolventes orgánicos, como el etanol, puede comprometer la pureza de los extractos y generar dificultades al identificar los compuestos mediante análisis cualitativos, como la cromatografía.

Además, podría ser necesario eliminar el disolvente mediante el uso de un rotavapor, y el control de la temperatura debe ser meticuloso, ya que una temperatura inadecuada podría inducir la degradación térmica del proceso. Por lo tanto, la elección del agua como disolvente de extracción es ideal cuando el objetivo es la identificación y caracterización del ácido shikímico en su forma más pura. Asimismo, permite la liofilización del extracto sin necesidad de pasos adicionales para eliminar disolventes orgánicos, lo que conserva la estructura y estabilidad del analito de interés para su posterior análisis.

3.8.3 Equipos y condiciones

- Extractor Soxhlet capacidad 500 mL
- Plantilla de calefacción

Para este proceso de extracción se recomienda utilizar un extractor Soxhlet con capacidad de 500 mL, el cual debe calentarse hasta alcanzar una temperatura aproximada de 150 °C. Es importante mantener una hielera con suficiente agua y hielo, los cuales deben agregarse de manera constante. A esta temperatura, se puede lograr una extracción continua mediante evaporación y condensación en el equipo Soxhlet. Este ciclo permite que el disolvente caliente

percole de manera repetida sobre el material vegetal. No se recomienda utilizar temperaturas inferiores a 100 °C, ya que podrían reducir la eficiencia de la extracción ni temperaturas superiores a 150 °C, pues podrían generar una degradación térmica de los compuestos activos del extracto.

El uso de hielo en el condensador del extractor Soxhlet es crucial para enfriar y condensar los vapores del disolvente generados durante la extracción. Cuando el disolvente se calienta y alcanza el punto de ebullición (en este caso, 100 °C, ya que es agua), sus vapores ascienden hasta el condensador, donde el enfriamiento producido por el hielo provoca la condensación del disolvente en estado líquido. Este líquido retorna al cartucho que contiene la muestra vegetal, permitiendo que el proceso de extracción continúe de manera cíclica.

3.9 Descripción de la identificación y cuantificación de ácido shikímico

Para la identificación del ácido shikímico en el extracto obtenido, se empleó un enfoque basado en espectrofotometría ultravioleta-visible. Inicialmente, se utilizó un extracto patrón de ácido shikímico con una pureza del 98 %, con una concentración del 3.5 % en una mezcla de 66 % de agua y 33 % de butifenona, proveniente de un proveedor: Xian Xuhuang Bio-Tech Co., LTD de China. La butifenona se utiliza en la formulación del extracto debido a su capacidad estabilizadora y su función como cosolvente, similar al propilenglicol.

Este cosolvente mejora la solubilidad del ácido shikímico y minimiza su degradación en solución. Además, facilita la extracción y disolución de metabolitos en los análisis espectrofotométricos, optimizando la detección del pico característico del ácido shikímico en el espectro ultravioleta-visible.

Para comenzar, se preparó una solución madre. Se pesaron 0,12 g del extracto patrón y se disolvieron en un balón aforado de 50 mL, que luego se aforó con metanol. Esta solución madre se utilizó para la preparación de diluciones específicas, con el objetivo de obtener un rango de concentraciones y una curva de calibración que permitiera una evaluación precisa del extracto. Seguidamente, se tomaron alícuotas de 0,7 mL, 0,8 mL, 0,9 mL, 1,0 mL y 1,1 mL de la solución madre con una pipeta graduada. Estas alícuotas se transfirieron a balones aforados de 50 mL y

se aforaron con metanol, un disolvente polar adecuado para mejorar la estabilidad y la absorción del compuesto en el análisis en el espectro ultravioleta-visible.

Posteriormente, las soluciones fueron rotuladas como M1, M2, M3, M4 y M5, correspondientes a las alícuotas mencionadas anteriormente. Estas soluciones fueron sometidas a análisis en espectrofotometría UV-Visible. Se espera que el ácido shikímico presente un pico de absorción entre 210 y 220 nm, confirmando así la presencia de este analito de interés.

El procedimiento permite obtener una curva de calibración basada en la relación entre la concentración de ácido shikímico y la absorbancia registrada, proporcionando un modelo cuantitativo para futuras mediciones. La linealidad de este método se evalúa mediante el coeficiente de correlación (R^2), que garantiza que las mediciones cumplan con los criterios de precisión y exactitud requeridos para la identificación de compuestos en muestras naturales, como el anís estrella.

3.9.1 Materiales utilizados

Se detallan los materiales utilizados para la cuantificación de ácido shikímico a continuación:

- 6 balones aforados de 100 mL
- Mortero
- Pipeta graduada de 2 mL
- Pera o pipeteador
- Baño ultrasónico
- Gotero
- *Beaker* de 50 mL
- Cubeta de Cuarzo

3.9.2 Reactivos

Para el procedimiento de identificación mediante espectrofotometría ultravioleta-visible, se requiere el uso de reactivos que faciliten la disolución y preparación de las muestras. Uno de los reactivos más utilizados en este tipo de análisis es el metanol. Este disolvente es altamente polar

y permite solubilizar eficientemente el ácido shikímico. Además, tiene una baja viscosidad y alta volatilidad, y es compatible con técnicas espectroscópicas debido a que su banda de absorción en el espectro infrarrojo no interfiere de manera significativa con las señales del ácido. Este aspecto será comentado en el Capítulo IV.

En algunos casos, la disolución del extracto de anís estrella que contiene ácido shikímico puede ser difícil debido a la presencia de impurezas o compuestos secundarios que afectan su solubilidad. Para mejorar este proceso, se puede utilizar un segundo reactivo, el ácido clorhídrico (HCl) concentrado, como reactivo auxiliar. Puede utilizarse en concentraciones desde 1M.

El HCl es un ácido fuerte que ayuda a descomponer estructuras complejas, lo que favorece la liberación y disolución en el medio de análisis. Al agregar pequeñas cantidades de HCl, gota a gota, se logra una disolución más eficiente. También se puede recomendar el uso de un baño ultrasónico para mejorar la solubilidad en el medio principal, el metanol. No obstante, el uso de HCl concentrado debe controlarse cuidadosamente, ya que podría inducir la degradación química del compuesto.

3.9.3 Equipos y condiciones

- Espectrofotómetro Ultravioleta-visible
- Baño ultrasónico

3.10 Descripción del ensayo de capacidad antioxidante DPPH

El método de capacidad antioxidante utilizando el ensayo DPPH, que se detalla a continuación, es propiedad intelectual de la Universidad de Iberoamérica; por lo tanto, está prohibida su reproducción sin la autorización correspondiente. Existen diversos métodos para analizar la capacidad antioxidante de un compuesto de interés. Entre los métodos más utilizados se encuentra el ensayo DPPH, que emplea el radical 1,1-difenil-2-picrilhidrazil, un método ampliamente utilizado debido a su estabilidad y accesibilidad para evaluar la capacidad antioxidante de extractos vegetales, alimentos y otros compuestos.

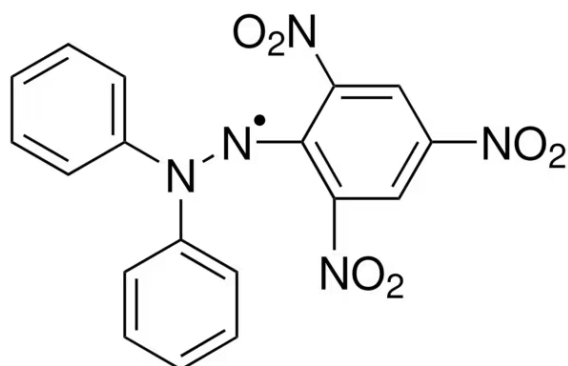


Figura 7. Estructura del radical 1,1-difenil-2-picrilhidrazil

Fuente: Cymitquímica.com

Este ensayo se basa en la resonancia de espín electrónico (EPR) o en la detección de la disminución de su absorbancia en un rango de 515-520 nm mediante espectrofotometría ultravioleta visible. El DPPH es un radical nitrogenado estable que reacciona con compuestos capaces de donar electrones o átomos de hidrógeno, resultando en su conversión a una forma diamagnética más estable. En su estado inicial, el DPPH tiene un color violeta intenso debido a su estructura resonante y es soluble en agua, etanol y metanol. Se recomienda utilizar metanol, ya que este solvente favorece la estabilidad del radical y mejora la reproducibilidad de las mediciones. También, se ha reportado que la estabilidad del DPPH se optimiza cuando se utiliza un *buffer* de ácido acético a 0,1 M y pH 5,5, minimizando variaciones en la reactividad del radical.

El mecanismo de acción se basa en la capacidad del antioxidante evaluado para transferir un electrón o un radical hidrógeno al DPPH, lo que genera una reducción y produce un cambio de color en la solución. La intensidad de la decoloración está directamente relacionada con la concentración de antioxidantes presentes en la muestra. El cambio en la absorbancia se monitorea mediante espectrofotometría UV-Vis, lo que permite cuantificar la actividad antioxidante de los compuestos a analizar, en este caso, el anís estrella y el *Fucus vesiculosus*.

En caso de que se desconozca si una sustancia posee o no cualidades antioxidantes, se recomienda aplicar el método cualitativo de este ensayo en primer lugar, con el fin de observar

un cambio cualitativo y así proceder al análisis cuantitativo. El método cualitativo sencillo se centra en agregar un poco del extracto a la disolución madre de DPPH (1 mg/mL), la cual se prepara tomando 0,100 g del reactivo en un balón de 100,0 mL, aforar con metanol. Si el extracto tiene un compuesto con un alto potencial antioxidante se observará un cambio de coloración de violeta a amarillo de manera inmediata. En caso de que el compuesto tenga un potencial antioxidante más leve se deberá esperar hasta un máximo de 30 minutos para analizar los cambios en el color. De lo contrario, el potencial antioxidante es muy leve.

Continuando con el procedimiento para el método cuantitativo, el porcentaje de inhibición de radicales DPPH se calcula de la siguiente manera:

$$\% \text{ de inhibición} = \frac{(AbsB. Control - AbsSolvente) - (AbsSTD - AbsBlanco)}{(AbsB. Control - AbsSolvente)} \times 100$$

Ecuación 1. % de Inhibición de radicales DPPH

Donde:

AbsB.Control = absorbancia del blanco de la disolución (Solvente + DPPH)

AbsSolvente = absorbancia del solvente que se usa sin el DPPH.

AbsSTD = absorbancia del estándar o la muestra con DPPH.

AbsBlanco = absorbancia del ácido ascórbico + el solvente sin el DPPH.

Para comparar la actividad antioxidante entre diferentes compuestos o un estándar de referencia, se utiliza el valor IC50, este representa la concentración del antioxidante necesaria para reducir la absorbancia del DPPH en un 50 %. Un valor de IC50 más bajo indica una mayor capacidad antioxidante del compuesto que se está estudiando.

En este tipo de ensayos, el ácido ascórbico es el estándar más común debido a su fuerte actividad antioxidante, la cual ha sido bien documentada. Es decir, si se obtiene un IC50 de 3,2 contra un IC50 de 4,9 se decide que el compuesto del IC50 3,2 tiene una mejor capacidad antioxidante por requerir una menor concentración para lograr la inhibición del 50 % del radical.

3.10.1 Procedimiento del ensayo DPPH

Método cuantitativo para la determinación del IC50:

Paso 1. Preparación de la disolución madre de DPPH (Concentración 1,0mg/mL): pesar 0,100g de reactivo de DPPH en un balón aforado de 100,0 mL, agregar 50,0 mL de metanol y disolver, seguidamente aforar con metanol.

Paso 2. Preparación de disolución de trabajo DPPH (Concentración 0,2 mg/mL): tomar una alícuota de 10,0 mL de la disolución madre, colocar en un balón de 50,0 mL, aforar con metanol.

Preparación de la curva de % de inhibición de DPPH del estándar de referencia (ácido ascórbico)

Paso 3. Preparación de la disolución madre de ácido ascórbico (concentración 1000 mg/L): pesar 0,100 g de ácido ascórbico en un balón aforado de 100,0 mL, agregar 50,0 mL de metanol y disolver, seguidamente aforar con metanol.

Paso 4: Preparación de disolución de trabajo de ácido ascórbico (concentración 25 mg/L): tomar una alícuota de 2,50 mL de la disolución madre de ácido ascórbico. Colocar en un balón de 100,0 mL, aforar con metanol.

Con la disolución de trabajo del ácido ascórbico se prepara la curva con el siguiente esquema de trabajo.

Tabla 3. Preparación de la curva de ácido ascórbico.

Tiempo (minutos)	Patrón	Volumen de trabajo de ácido ascórbico (mL)	Volumen de metanol (mL)	Volumen de DPPH (mL)	Concentración (mg/L)
0:00:00	1	0,20	4,80	1,00	0,837
2:00:00	2	0,40	4,60	1,00	1,673
4:00:00	3	0,60	4,40	1,00	2,510
6:00:00	4	0,80	4,20	1,00	3,347

8:00:00	5	1,00	4,00	1,00	4,183
10:00:00	6	1,20	3,80	1,00	5,020
12:00:00	7	1,60	3,40	1,00	6,693
14:00:00	B.Control	0,00	5,00	1,00	-
-	Blanco	3,00	3,00	0	-
-	Metanol	0	6,00	0	-

*Se da un tiempo de 2:00 minutos entre cada adición del reactivo DPPH y se esperan 30 minutos para medir desde la primera adición.

Paso 5: Preparación de la curva de % inhibición de DPPH de la muestra

En primer lugar, se realiza una prueba en un tubo de ensayo y se agrega 1,0 mL de extracto, 1,0 mL de metanol y 1,0 mL de la disolución de trabajo DPPH. Si la disolución cambia de color inmediatamente entonces se debe diluir el extracto y realizar la misma prueba. Si la disolución no cambia al pasar 10 minutos se debe utilizar una disolución más concentrada, o bien, el extracto no posee un compuesto antioxidante.

Con la disolución preparada del Paso 5 se trabajará el resto del ensayo. Se rotulan los tubos de ensayo de 1 a 7 y un blanco de muestra que representa la muestra más concentrada, además, se prepara un tubo control de reactivo. Se sigue el siguiente esquema de trabajo:

Tabla 4. Esquema de trabajo, preparación de muestras.

Tiempo (minutos)	Patrón	Volumen de trabajo de ácido ascórbico (mL)	Volumen de metanol (mL)	Volumen de DPPH (mL)	Concentración (mg/L)
0:00:00	1	0,20	1,80	1,00	0,031
0:01:00	2	0,40	1,60	1,00	0,062
0:02:00	3	0,60	1,40	1,00	0,094
0:03:00	4	0,80	1,20	1,00	0,125
0:04:00	5	1,00	1,00	1,00	0,187
0:05:00	6	1,20	0,80	1,00	0,218

0:06:00	7	1,40	0,60	1,00	6,693
0:07:00	B.Control	0,00	2,00	1,00	-
0:08:00	Blanco	2,00	1,00	0	-
-	Metanol	0	3,00	0	-

*Se da un tiempo de 1:00 minuto luego de agregar el DPPH y se esperan 10:00 minutos para leer en el UV desde la primera adición.

Paso 6: Cálculo para la determinación de IC50

Calcular el porcentaje de inhibición de DPPH para cada concentración de ácido ascórbico mediante el uso de la Ecuación 1. Seguidamente, realizar una gráfica donde el eje X es concentración y el eje Y, el porcentaje de inhibición. Se determina la ecuación de la recta utilizando el método de mínimos cuadrados, para determinar la concentración de ácido ascórbico a un 50 % de porcentaje de inhibición de DPPH.

$$X(mg/L) = \frac{50 - b}{m}$$

Ecuación 2. *Determinación de concentración de la muestra*

Donde:

b = intercepto de la recta

m = pendiente de la recta

x = concentración de la muestra (ácido ascórbico en este caso)

Paso 7: Procedimiento para la curva del extracto natural o muestra (anís estrella y/o *Fucus vesiculosus*)

En primer lugar, se calcula la concentración de los extractos a las diluciones utilizadas, asegurándose de emplear las mismas unidades que las utilizadas para el ácido ascórbico. A continuación, se calcula el % de inhibición de DPPH para cada concentración de extracto y de ácido ascórbico utilizando la ecuación 1. Finalmente, se continúan los mismos pasos de la curva de ácido ascórbico para la determinación del IC50. Este IC50 debe compararse con el IC50 del ácido ascórbico para determinar cuál es más bajo, concluyendo que el extracto con el valor más bajo es el más efectivo.

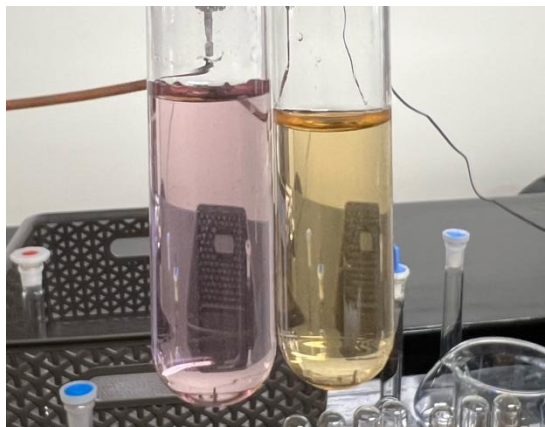


Figura 8. Prueba cualitativa de ácido ascórbico contra solución de trabajo DPPH

3.10.2 Materiales utilizados

- Balones aforados de 100,0 mL
- Pipetas graduadas
- Goteros
- Marcador para rotular los balones
- Balanza analítica
- Tubos de ensayo

3.10.3 Reactivos y extractos

- Reactivo DPPH
- Ácido ascórbico
- Metanol
- Extracto de anís estrella
- Extracto de *Fucus vesiculosus*

3.10.4 Equipos y condiciones

- Espectrofotómetro ultravioleta visible

3.11 Descripción del ensayo de capacidad antibacteriana

La capacidad de un compuesto para lograr la inhibición del crecimiento de una bacteria se refiere a la acción sobre procesos metabólicos esenciales del microorganismo, lo que logra impedir su replicación y, en algunos casos, provoca la muerte total de este, lo que se denomina un efecto bacteriostático o bactericida. Este efecto puede ser evaluado mediante ensayos microbiológicos, en los cuales se exponen diferentes concentraciones del compuesto de interés frente a cultivos bacterianos, para observar su impacto en el crecimiento celular del microorganismo.

Para este ensayo, se estudiará la actividad antimicrobiana del ácido shikímico y del *Fucus vesiculosus*, de manera individual y de manera conjunta, a diferentes concentraciones. Estos se analizarán frente a dos bacterias modelo, *Staphylococcus aureus* (grampositiva) y *Escherichia coli* (gramnegativa). Se trabajará de la mano con el laboratorio MicroLabs S.A. ubicado en Guadalupe, este laboratorio proveerá el equipo necesario para analizar las placas Petri en condiciones determinadas, además de proporcionar los cultivos de las bacterias mencionadas.

Antes de realizar el ensayo, es necesario la preparación de las bacterias para que estas se encuentren en condiciones óptimas de crecimiento. Generalmente, estos cultivos bacterianos se encuentran almacenados a -80 °C en glicerol, lo que les permite mantener su viabilidad por periodos largos. Seguidamente, para la reactivación del cultivo, las bacterias se inoculan en un medio de cultivo adecuado y se incuban en condiciones ambientales de temperatura y oxigenación específicas hasta lograr la fase logarítmica de crecimiento, que es básicamente el periodo donde las bacterias se dividen activamente y muestran mayor susceptibilidad a los agentes antimicrobianos.

La fase logarítmica es una etapa importante en la curva de crecimiento bacteriano y se caracteriza por una rápida multiplicación celular y una actividad metabólica intensa. Durante esta fase, las bacterias consumen nutrientes de una manera eficiente y aumentan su población de forma exponencial. Este es el punto óptimo para la realización de ensayos de inhibición bacteriana, debido a que las bacterias están más vulnerables a los efectos de los compuestos inhibidores, tal como se desea probar con el ácido shikímico y el *Fucus vesiculosus*.

El análisis de los halos de inhibición intentará determinar si existe sinergismo entre los extractos en combinación, más allá del análisis de manera individual, y a diferentes

concentraciones. En caso de observarse un mayor halo de inhibición que en los extractos individuales se podría indicar que existe una potenciación del efecto antimicrobiano. Por otra parte, si la combinación muestra un efecto similar o menor que los extractos individuales se podría concluir que no hay sinergismo o que los compuestos podrían estar interfiriendo entre sí.

3.11.1 Procedimiento

El procedimiento para el análisis de capacidad antimicrobiana se detalla a continuación:

Paso 1. Preparación de los extractos en concentraciones diferentes: Para la muestra 1, pesar 0,100 g de ácido shikímico en polvo, trasladarlo a un balón aforado de 100,0mL y aforar con agua

Tabla 5. Preparación de las concentraciones de ácido shikímico

Muestra de ácido shikímico	Peso del extracto (g)	Volumen de disolvente: aforar a 100,0 mL	Concentración (g/mL)
A1	3,00 g	100,0 mL	3,00g/100 mL
A2	2,00 g	100,0 mL	2,00g/100 mL
A3	1,500 g	100,0 mL	1,50g/100 mL
A4	1,00 g	100,0 mL	1,00g/100 mL
A5	0,50 g	100,0 mL	0,50g/100 mL

Tabla 6. Preparación de las concentraciones de *Fucus vesiculosus*

Muestra de <i>Fucus vesiculosus</i>	Peso del extracto (g)	Volumen de disolvente: aforar a 100,0 mL	Concentración (g/mL)
F1	3,00 g	100,0 mL	3,00g/100 mL
F2	2,00 g	100,0 mL	2,00g/100 mL
F3	1,500 g	100,0 mL	1,50g/100 mL
F4	1,00 g	100,0 mL	1,00g/100 mL

F5	0,50 g	100,0 mL	0,50g/100 mL
----	--------	----------	--------------

Tabla 7. Preparación de las concentraciones de ácido shikímico en combinación con *Fucus vesiculosus*

Muestra de <i>Fucus vesiculosus</i>	Peso del ácido shikímico (g)	Peso del <i>Fucus Vesiculosus</i> (g)	Volumen de disolvente: aforar a 100,0 mL	Concentración (g/mL)
M1	1,50 g	1,50 g	100,0 mL	3,00g/100 mL
M2	1,000 g	1,000 g	100,0 mL	2,00g/100 mL
M3	0,750 g	0,750 g	100,0 mL	1,50g/100 mL
M4	0,50 g	0,50 g	100,0 mL	1,00g/100 mL
M5	0,25 g	0,25 g	100,0 mL	0,50g/100 mL

3.11.2 Materiales

- Balones de 100,0 mL
- Pipetas graduadas o aforadas (2,0 mL, 5,0 mL)
- Tubos de tapa roja o similares de 5,0 mL o 6,0 mL (VACUETTE)
- Filtro de 0.22 micras
- Hisopos estériles
- Agua destilada (como disolvente)
- Placas Petri con agar

3.11.3 Equipos y condiciones

- Balanza analítica
- Horno de incubación para cultivos bacterianos
- Capilla de flujo laminar

3.12 Descripción de la fabricación de crema hidratante

La fabricación de una crema de uso cosmético requiere de un proceso estructurado y sencillo, en el cual se deben mezclar adecuadamente todos los componentes para lograr una emulsión estable y homogénea. En este caso, se utilizará una fórmula base probada anteriormente donde se modifican los componentes activos y se sustituyen por componentes de interés, este proceso se detallará más adelante, basado en la metodología de calidad por diseño.

Para esta formulación se utilizará aceite mineral, glicerina, extracto de *Fucus vesiculosus*, extracto de anís estrella (ácido shikímico), Tween 20 y copolímero de acrilatos; cada uno posee un papel específico para la funcionalidad de la formulación. Uno de los principios clave en la fabricación de emulsiones es que los componentes de carácter oleoso deben mezclarse primero, esto permite una mejor integración de los aceites con los emulsionantes, antes de ser incorporados en la fase acuosa.

El aceite mineral es un excipiente lipofílico ampliamente utilizado en cosmética debido a su capacidad de formar una barrera protectora sobre la piel, evitando la pérdida de agua y brindando una sensación de suavidad, y una buena hidratación. Por otra parte, la glicerina, un humectante altamente eficaz, se incorpora en la fase acuosa para atraer y retener agua en la piel, mejorando la hidratación y la elasticidad cutánea. El copolímero de acrilatos actúa como un agente estabilizante y espesante, brindando una textura más densa y estructurada, además de mejorar la sensación de la crema en la piel.

El Tween 20 (Polisorbato 20) actúa como un agente emulsionante, es decir, facilita la mezcla estable de la fase oleosa con la fase acuosa. Es un tensioactivo que ayuda a reducir la tensión superficial entre el agua y los aceites, lo que permite que la emulsión sea homogénea y estable. El fenoxietanol se añade como un agente preservante para inhibir el crecimiento microbiano y prevenir la contaminación, se agrega en concentraciones de hasta 1% para evitar el riesgo de irritaciones.

Además, en caso de utilizar una fragancia, el fenoxietanol ayuda a prolongar la duración del aroma en la formulación. Por último, se incorpora el extracto de *Fucus vesiculosus* y el ácido shikímico. Principalmente, el extracto de algas marinas aportará una capacidad antioxidante y el ácido shikímico contribuirá con su actividad antimicrobiana.

3.12.1 Procedimiento de fabricación de crema

El procedimiento para la elaboración de la crema se detalla a continuación:

Para un tamaño de granel de 0,500 kg:

Paso 1. Incorporar 377,0 mL de agua purificada en un recipiente metálico, comenzar la agitación mecánica (preferiblemente).

Paso 2. Agregar 30,0 g de glicerina al recipiente con agua purificada, continuar con la agitación mecánica.

Paso 3. Introducir lentamente 45,0 g de aceite mineral y seguidamente incorporar 2,5 g de Tween 20, como factor emulsificante para unir la fase oleosa del aceite mineral con los demás componentes. Añadir 0,5 g de fenoxietanol o preservante de elección.

Paso 4. Aumentar ligeramente la agitación mecánica y lentamente verter con un chorro fino de 15 g de copolímero de acrilatos, esto brindará un aspecto suave y le dará textura a la crema.

Paso 5. Finalmente, reducir la agitación a una agitación suave, agregar los extractos naturales de *Fucus vesiculosus* y ácido shikímico, las cantidades pueden variar de acuerdo con la concentración, se recomienda utilizar un rango de 2,0 a 5,0 %.

Paso 6. Opcional: introducir una fragancia o color deseado, preferiblemente con un gotero.

Paso 7. Envasar.

3.12.2 Fórmula cuali cuantitativa

Tabla 8. *Fórmula cuali cuantitativa para crema humectante*

Excipiente/ingrediente	Cantidad teórica en base a 0,500 kg de manufactura	Porcentaje en base a 100 %
Aceite mineral	45,0 g	9 %
Fenoxietanol	0,5 g	0,1 %
Tween 20 (Polisorbato 20)	2,5 g	0,50 %
Copolímero de acrilatos	15 g	3 %

Glicerina	30,0 g	6 %
Extracto de <i>Fucus vesiculosus</i>	15 g	3 %
Extracto de ácido shikímico	15 g	3 %
Agua purificada	377 mL	75,40 %

3.12.3 Materiales utilizados

- Recipiente metálico con capacidad igual o superior a 500mL
- *Beakers* de 50mL
- Goteros
- Aceite mineral
- Fenoxietanol
- Tween 20 (Polisorbato 20)
- Copolímero de acrilatos
- Glicerina
- Extracto de *Fucus vesiculosus*
- Extracto de ácido shikímico
- Agua purificada
- Envases de la cantidad deseada

3.12.3 Equipos y condiciones

- Agitador mecánico
- Balanza analítica

3.13 Descripción de la fabricación de parches de biopolímeros

La fabricación de los parches de biopolímeros para el contorno de ojos se basa en la formación de “films” o películas solubles en agua, los cuales actúan como vehículos para la liberación controlada de activos cosméticos. Para este caso, los parches deben ser elaborados con una matriz biopolimérica basada en pectina y otros agentes formadores de película como la carragenina. Esto permite que el parche se pueda adherir cómodamente a la piel y libere los diferentes extractos en la formulación, tales como el *Fucus vesiculosus* y de ácido shikímico.

Los “films” o películas deben cumplir con propiedades específicas como flexibilidad, resistencia mecánica y la capacidad de absorber agua para lograr asegurar su funcionalidad en aplicaciones cosméticas. El proceso de fabricación comienza con la hidratación de la carragenina en agua purificada. Esto es un paso importante para asegurar la dispersión homogénea del biopolímero.

La carragenina es un polisacárido sulfatado extraído de las algas rojas de la familia *Rhodophyceae* y es ampliamente utilizado en la industria cosmética, alimentaria y farmacéutica, debido a sus propiedades gelificantes, espesantes y estabilizantes (CP Kelco, 2022). La estructura química de la carragenina permite formar geles en presencia de agua y, por ende, puede formar texturas como geles de diferente firmeza y elasticidad, ideales para la fabricación de parches de contorno de ojos.

En caso de que se requiera un tono opaco en los geles, se recomienda el uso de dióxido de titanio en una cantidad del 1,5 % de la formulación. Este proporcionará un aspecto más uniforme y evitará que el parche sea demasiado translúcido; además, tiene propiedades reflectantes de luz, lo que podría ayudar a proteger la piel de la radiación ultravioleta.

La glicerina proporciona una cualidad humectante e hidratante evitando que los parches se resequen y se puedan romper con facilidad; además, retiene agua en la piel y contribuye a la flexibilidad del parche. También, mejora la sensación del producto en la piel, lo que genera que no se sienta pegajoso o demasiado rígido.

Se recomienda utilizar un preservante que puede variar dependiendo de la disponibilidad de conservantes en el mercado y el costo de estos. Es posible utilizar una mezcla de 0,5 % de alcohol bencílico y 0,5 % de etilhexilglicerina (Euxyl K900), que funcionan como un conservante de amplio espectro, evitando la proliferación de bacterias y hongos en la formulación. También es posible utilizar fenoxietanol, que es bien tolerado en la piel y cuenta con una alta eficacia contra bacterias grampositivas y gramnegativas.

La formación de los parches debe estar en contacto con una formulación de tipo sérum para poder mantenerse hidratada y actuar como un vehículo que transmita los beneficios de los compuestos activos de dicha formulación. Para la fórmula del sérum se recomiendan excipientes

como la niacinamida (vitamina B3), que es conocida por sus efectos despigmentantes, antiinflamatorios, que ayudan a reducir la inflamación debajo del ojo.

El pantenol (vitamina B5) es un agente hidratante y calmante, que contiene propiedades regeneradoras, también proporciona una mejora en la elasticidad de la piel y reduce la irritación. Finalmente, se utiliza un agente espesante y estabilizante como el Sepimax Zen™, el copolímero de acrilatos o la goma xantana, que mejoran la viscosidad del sérum y, por ende, aportan una textura ligera evitando que el sérum sea demasiado líquido.

3.13.1 Procedimiento de fabricación de parches de biopolímeros

Para una cantidad de 0,100 kg:

Paso 1. Agregar 92,5 g de agua destilada o purificada en un recipiente metálico o *beaker* con capacidad no inferior a 250 mL, calentar en una plantilla de calefacción hasta una temperatura de 90 °C.

Paso 2. Agregar 1,5 g de carragenina en polvo, mezclar por 5:00 minutos hasta disolver. Opcional: en caso de querer que el parche tenga una apariencia opaca, agregar 1,5 g de dióxido de titanio.

Paso 3. En un *beaker* pequeño, agregar 5,0 g de glicerina y 1,0 g de Euxyl K900 o conservante de elección.

Paso 4. Agregar la mezcla del Paso 3 a la mezcla del Paso 2, mezclar hasta obtener una mezcla homogénea.

Paso 5. Agregar color (opcional).

Paso 6. Dejar enfriar un poco la temperatura y verter en los moldes de los parches.

Nota: en caso de no tener moldes en forma de los parches, o bien, se desee optar por una forma distinta, se puede verter el líquido en una superficie plana, idealmente encima de un papel encerado. Se debe utilizar una barra con un espesor recomendado de 2,5 mm, 2,0 mm o 1,8 mm para realizar un parche delgado. Estas barras pueden ser hechas a través de impresoras 3D.



Figura 9. *Barras con grosores de 2,5 mm, 2,0 mm, 1,8 mm*



Figura 10. *Vista interna de una barra de 2,5 mm*



Figura 11. *Moldes con parches para contorno de ojos*



Figura 12. *Moldes 3D de parches para contorno de ojos*

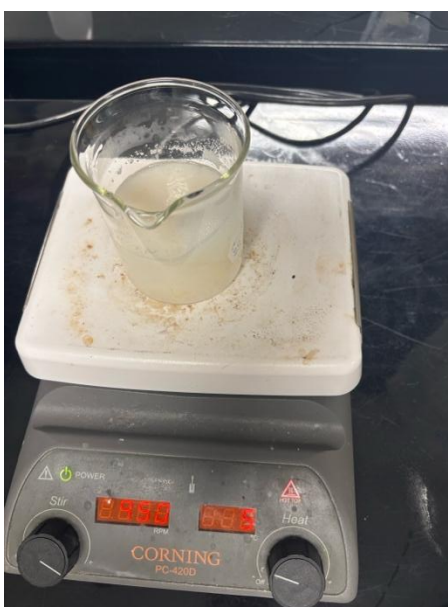


Figura 13. *Preparación del sérum*

Paso 7. Preparación del sérum (fórmula en base a 100 g): agregar en un *beaker* de 250 mL, 5,0 g de glicerina, 1,0 g de Euxyl K900 o conservante de elección, incorporar una pastilla magnética de agitación.

Paso 8. Agregar 83,5 g de agua destilada, continuar con la agitación.

Paso 9. Agregar 2,0 g de pantenol (vitamina B5), 2,0 g de niacinamida, 2,5 g de *Fucus vesiculosus* y 2,5 g de ácido shikímico.

Paso 10. Retirar la pastilla magnética, agregar 0,5 g de Sepimax Zen™ o espesante de elección, se puede utilizar copolímero de acrilato o goma xantana.

Paso 11. Cubrir el envase con plástico y dejar en reposo por un mínimo de 8 horas para lograr una máxima hidratación.

Paso 12. Opcional: luego de las 8 horas de reposo, agregar 0,5 g de vitamina C, vitamina E o ambas.

Paso 13. Hidratar los parches con el sérum en un envase de tipo pote.

3.13.2 Fórmula cualicuantitativa

Tabla 9. *Fórmula cualicuantitativa para fabricación de parches de biopolímero*

Excipiente/ingrediente	Cantidad teórica en base a 0,100 g de manufactura	Porcentaje en base a 100 %
Carragenina	1,0 g	1,0 %
Extracto de <i>Fucus vesiculosus</i>	1,0 g	1,0 %
Glicerina	5,0 g	5 %
Conservante	1,0 g	1 %
Agua destilada o purificada	92,0 mL	92 %

Tabla 10. *Fórmula cualicuantitativa para el sérum de hidratación de los parches*

Excipiente/ingrediente	Cantidad teórica en base a 0,100 g de manufactura	Porcentaje en base a 100 %
Glicerina	5,0 g	5 %
Conservante	1,0 g	1 %
Agua destilada o purificada	83,5 mL	83,5 %
Niacinamida	2,5 g	2,5 %
Pantenol	2,5 g	2,5 %
Extracto de <i>Fucus vesiculosus</i>	2,5 g	2,5 %
Extracto de ácido shikímico	2,5 g	2,5 %
0,5g de agente espesante	0,5 g	0,5 %
Vitamina C o E (opcional)	0,5 g	0,5 %

3.13.3 Materiales utilizados

- 2 *beakers* de 250,0 mL
- Pastilla de agitación
- Balanza analítica
- Carragenina en polvo
- Glicerina
- Agente conservante (Euxyl K900, fenoxietanol u otro)
- Niacinamida
- Pantenol
- Extracto de *Fucus vesiculosus*
- Extracto de ácido shikímico
- Agente espesante
- Vitamina C o E (opcional)
- Moldes
- Barras de 2,5 mm, 2,0 mm o 1,8 mm (opcional)
- Agua destilada o purificada

3.13.4 Equipos y condiciones

Se recomienda el uso de una plantilla de calefacción y un termómetro para mantener la temperatura de la fase inicial de manufactura a 90 °C. Además, se recomienda almacenar el sérum durante un mínimo de 8 horas en un lugar fresco y seco, protegido de la luz y a una temperatura inferior a 30 °C. No se recomienda almacenar los parches en un refrigerador, ya que podrían comprometerse sus características organolépticas.

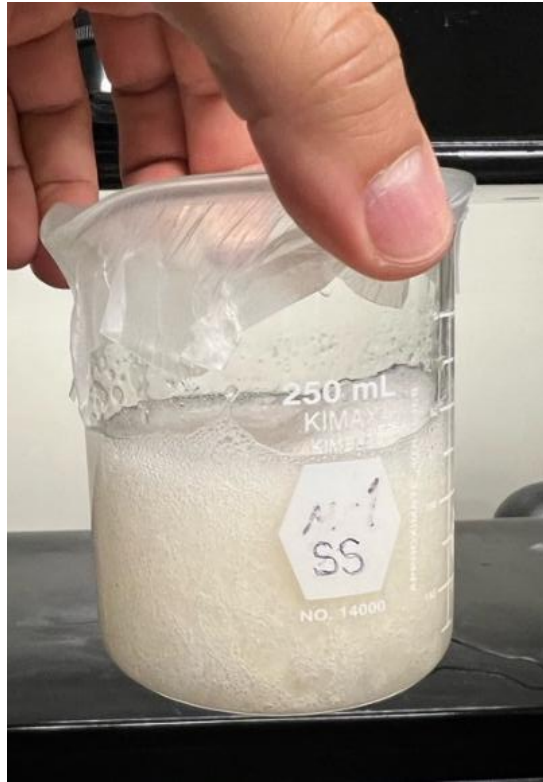


Figura 14. *Ejemplo de sérum por almacenar 8 horas*

CAPÍTULO IV: ANÁLISIS DE RESULTADOS

4.1 Extracción y cuantificación del anís estrella en laboratorio

La extracción del anís estrella se llevó a cabo en el Laboratorio 102 del edificio de la Universidad de Iberoamérica. Inicialmente, se adquirió anís estrellado de diferentes proveedores en el Barrio Chino de San José, Costa Rica. Esto fue con el fin de aumentar las probabilidades de una extracción correcta. En total, se realizaron 4 extracciones distintas en el periodo de 2 días completos de trabajo.



Figura 15. Anís estrella (*Illicium verum*)

Resumidamente, el procedimiento de extracción del anís estrellado consistió en triturar el anís estrella seco y pesar 30,0 g para su posterior preparación en el cartucho de tela. A continuación, se preparó el dispositivo Soxhlet utilizando agua como disolvente; se realizaron las extracciones durante períodos de 4 a 5 horas aproximadamente.

Se observó de manera cualitativa, mediante las diferentes extracciones con distintos anís estrellado, que las extracciones producían diferentes colores, desde un marrón oscuro hasta tonos más claros. Estos resultados pueden deberse a diversos factores, como variaciones en la madurez del fruto y condiciones ambientales como la época de recolección, temperatura, humedad, elevación, sitio, entre otros.



Figura 16. *Extracción con color marrón oscuro*

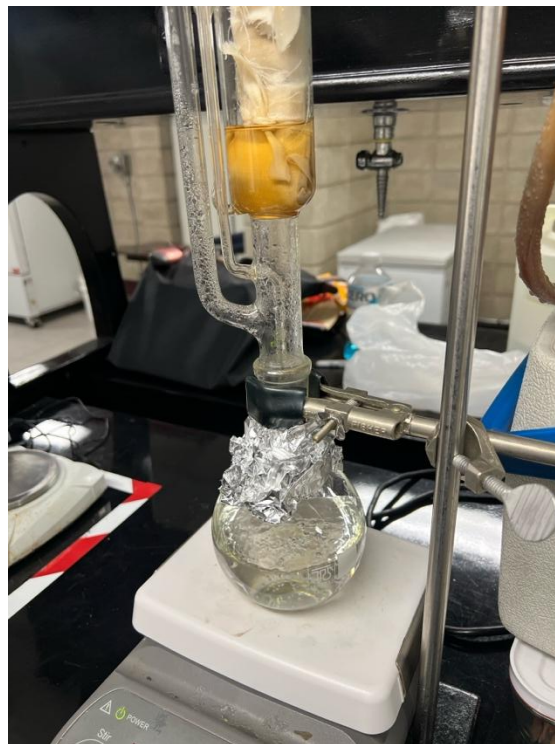


Figura 17. *Extracción con color marrón claro*

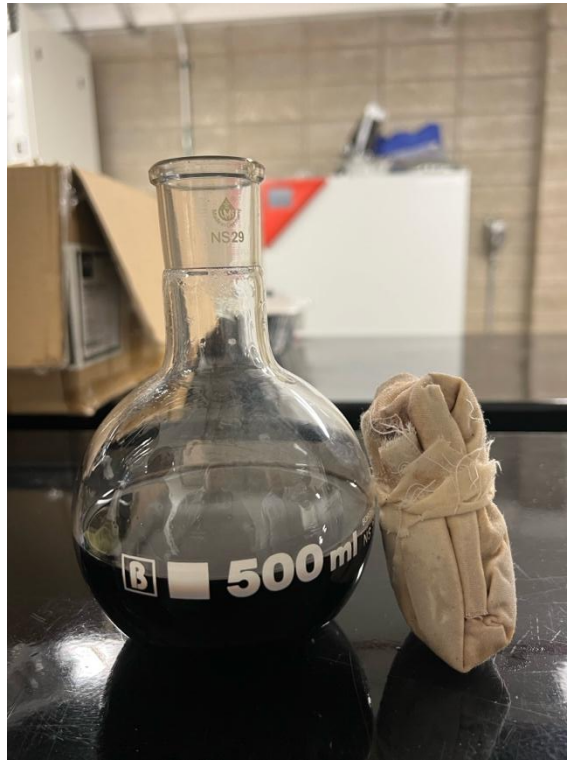


Figura 18. Resultado de extracción con color marrón oscuro

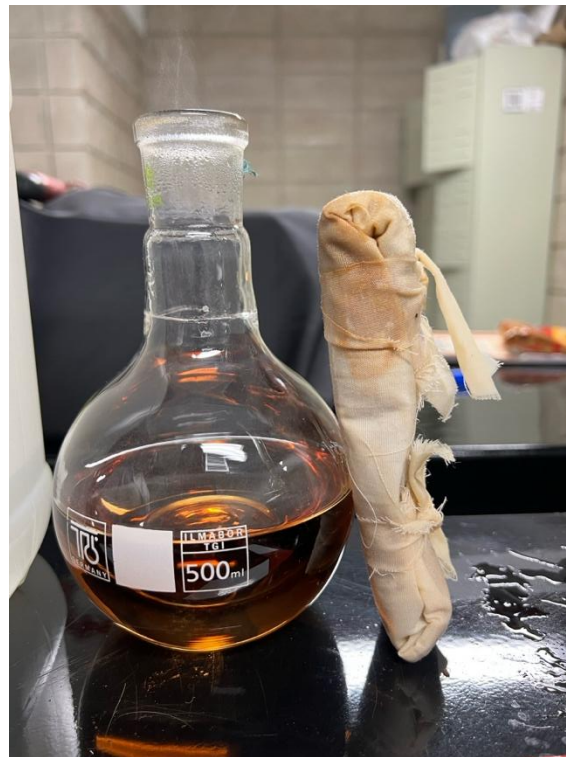


Figura 19. Resultado de extracción con color marrón claro

Seguidamente, se procedió a tomar el volumen del extracto para comenzar el proceso de liofilización en el laboratorio. Al cabo de 5 días se obtuvo el extracto liofilizado.

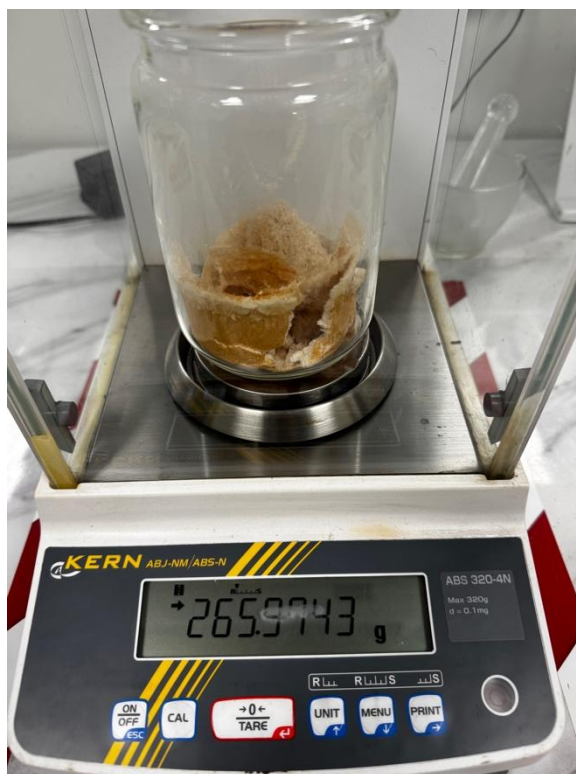


Figura 20. *Extracto liofilizado de anís estrella*

Determinación cualitativa y cuantitativa de ácido shikímico patrón:

Posteriormente, se realizaron los respectivos análisis de identificación por espectrofotometría ultravioleta-visible y espectrofotometría infrarroja. Para ello, se adquirió ácido shikímico al 98 % del proveedor Xian Xuhuang Bio-Tech Co., LTD de China, con el objetivo de realizar los mismos procedimientos de identificación y cuantificación y así hacer un comparativo con el extracto obtenido en el laboratorio, utilizándolo como patrón. Con base en esto, se determinaron las posibles diferencias en cuanto a concentración, análisis de los grupos funcionales identificados en el espectro infrarrojo y otras cualidades.



Figura 21. *Ácido shikímico importado de China (patrón)*

Para la cuantificación del ácido shikímico importado de China, se pesaron 0,12 g del patrón y se preparó una disolución madre en un balón aforado de 50,0 mL con metanol. Luego, se tomó una alícuota de 0,9 mL, la cual se trasladó a un balón aforado de 50,0 mL y se aforó con metanol.

Se realizó un "Scan" para determinar la longitud de onda y así poder trabajar con base en esta longitud de onda, obteniendo posteriormente la absorbancia de las demás muestras y generando una curva de calibración para determinar la concentración.

$$\text{Concentración disolución madre} = \frac{0,1209\text{g de ácido shikímico}}{50\text{mL metanol}} = 0,002418\text{g/mL}$$

Ecuación 2. *Fórmula para determinar la concentración de la disolución madre*

Seguidamente, se analizaron las muestras de las alícuotas que se trasladaron y aforaron con metanol en balones de 100,0 mL, utilizando la longitud de onda 262 nm. Los resultados fueron los siguientes:

Cálculo de la concentración de la muestra de ácido shikímico (patrón)

$$\text{Concentración de muestra} = \text{Concentración madre} \times \frac{\text{Alicuota (mL)}}{\text{Volumen de balón (mL)}}$$

$$\text{Concentración de muestra M1} = 0,002418\text{g/mL} \times \frac{0,7\text{mL}}{100\text{mL}}$$

$$\text{Concentración de muestra M1} = 0,0000169\text{g/mL}$$

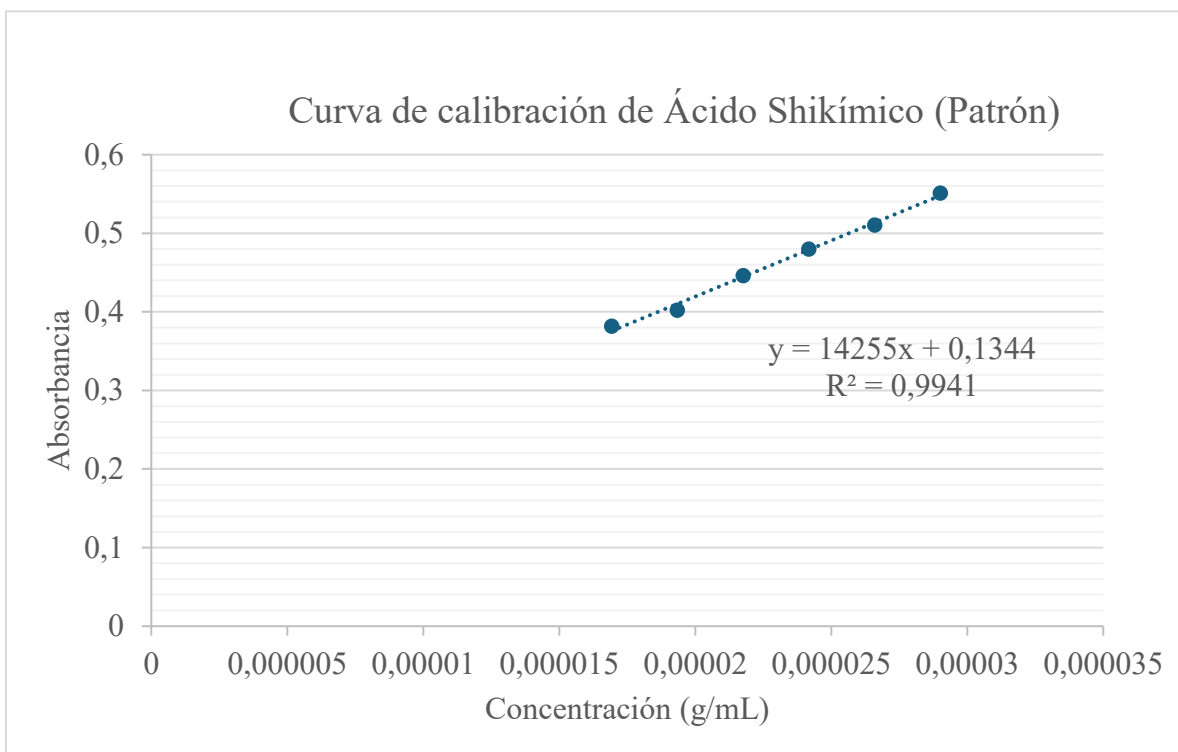
Ecuación 3. Fórmula para determinar la concentración de las muestras para medición UV-Vis

Tabla 11. Cuantificación de ácido shikímico en espectrofotómetro ultravioleta visible (nm 262)

Muestra de patrón (P)	Alicuota (mL)	Absorbancia	Concentración de la muestra (g/mL)
P1	0,7	0,381	0,000016926
P2	0,8	0,402	0,000019344
P3	0,9	0,446	0,000021762
P4	1	0,48	0,00002418
P5	1,1	0,5103	0,000026598
P6	1,2	0,5511	0,000029016

Fuente: Elaboración propia.

Gráfico 1. Curva de calibración de Ácido Shikímico (patrón)



Fuente: Elaboración propia.

Seguidamente, se realizó el análisis comparativo con el extracto de anís estrella obtenido en el laboratorio. Para este extracto, se trituró y se mantuvo en el horno a una temperatura de 40 °C para reducir por completo los niveles de agua en la muestra. Debido a que el extracto de anís estrella es altamente higroscópico, absorbe rápidamente la humedad del ambiente, por lo que se debe preparar la muestra rápidamente para evitar problemas con su disolución posterior.

Es importante comprender que el extracto de anís estrella no es precisamente ácido shikímico al 98 %, como sí lo garantiza el extracto patrón importado de China. Esto se debe a que la extracción realizada en el laboratorio de la universidad obtiene el extracto de anís estrella, que contiene ácido shikímico junto con otros metabolitos que pueden estar mezclados en este extracto. Por lo tanto, el posible aislamiento del ácido shikímico podría requerir un método más específico de extracción y separación para eliminar otros metabolitos que no son de interés.

Primeramente, para la preparación de una disolución madre equivalente se pesaron 0,030 g de extracto de anís estrella liofilizado y se trasladaron a un balón de 50,0 mL, aforados con metanol. Seguidamente, se tomó una alícuota de 0,9 mL y se trasladó dicha alícuota a un balón

de 100,0 mL y se aforó con metanol, a esta última disolución se le realiza la lectura en el espectrofotómetro UV-Vis.

De igual manera, se realizó un "Scan" para determinar la longitud de onda y así poder trabajar con base en esta longitud de onda, obteniendo posteriormente la absorbancia de las demás muestras y generando una curva de calibración para determinar la concentración. Para el análisis de la concentración de estas muestras, se siguió el mismo procedimiento que para el patrón. Este análisis se realizó para verificar si la longitud de onda era similar entre un extracto y otro.

Se observó que el extracto de anís estrella fue complicado de disolver debido a su carácter higroscópico. Por lo tanto, la disolución madre con metanol requirió el uso de un baño ultrasónico durante un tiempo prolongado, aproximadamente 1 hora y 30 minutos. A pesar de ello, el extracto no se disolvió completamente, por lo que se optó por realizar una segunda disolución madre agregando ácido clorhídrico 12 M (HCl 12 M). Esta disolución presentó un comportamiento muy similar en términos de disolución a la que no contenía HCl.



Figura 22. *Disoluciones madre de anís estrella (lado izquierdo contuvo 5 gotas de HCl, lado derecho no contuvo HCl)*

Se determinó, mediante observación, que la disolución sin HCl presentó un mejor comportamiento de disolución, ya que el balón que contenía HCl aún presentaba partículas

visibles del extracto de anís. Por lo tanto, se decidió utilizar únicamente la disolución madre que contenía metanol y extracto de anís estrella. Posterior al "Scan" para obtener la longitud de onda, se obtuvo una longitud de onda de 242 nm, diferente a la longitud de onda del extracto patrón importado. Esto podría deberse a diversas razones, como la pureza del extracto, los metabolitos presentes en la muestra, contaminación u otros factores.

Cálculo de la concentración de la muestra de la disolución madre de extracto de anís estrella en laboratorio:

Concentración disolución madre extracto de laboratorio

$$= \frac{0,0301g \text{ de anís estrella}}{50mL \text{ metanol}} = 0,000602g/mL$$

Ecuación 4. *Fórmula para determinar la concentración de la disolución madre de extracto de anís estrella en laboratorio*

Cálculo de la concentración de la muestra de extracto de anís estrella obtenido en laboratorio:

$$\text{Concentración de muestra} = \text{Concentración madre} \times \frac{\text{Alicuota (mL)}}{\text{Volumen de balón (mL)}}$$

$$\text{Concentración de muestra M1} = 0,000602g/mL \times \frac{0,7mL}{100mL}$$

$$\text{Concentración de muestra M1} = 0,000004214g/mL$$

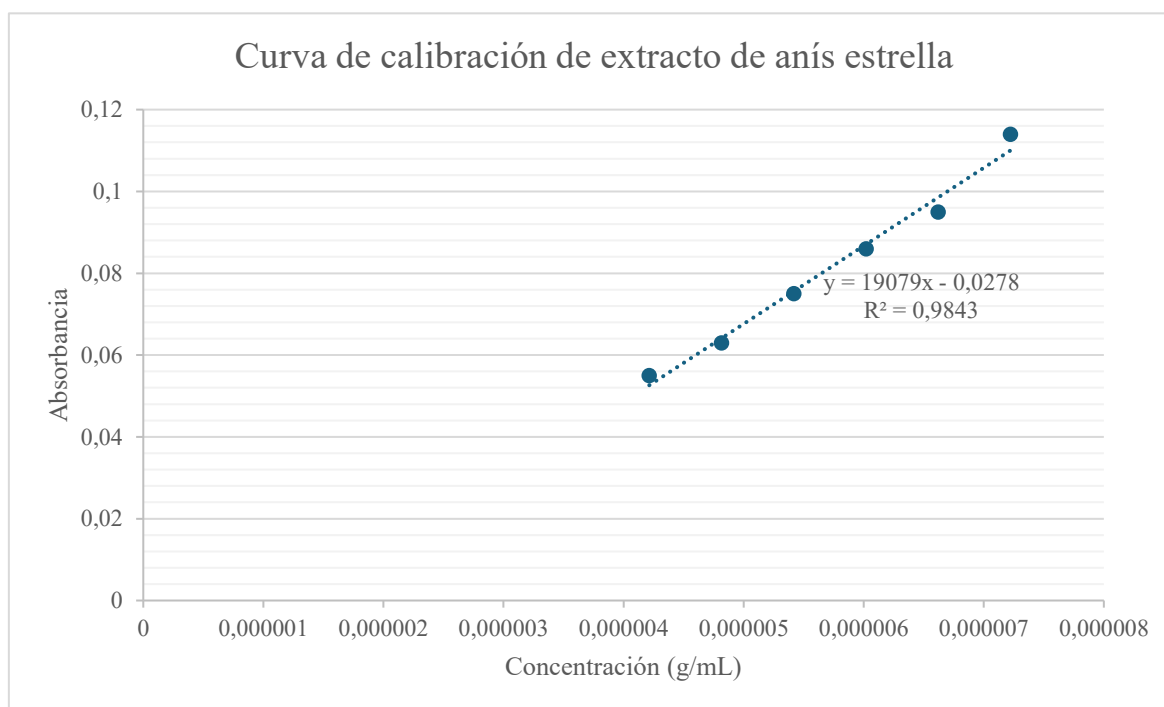
Ecuación 5. *Fórmula para determinar la concentración de las muestras para medición UV-Vis*

Tabla 12. Cuantificación de posible ácido shikímico en espectrofotómetro ultravioleta visible (nm 242)

Muestra de laboratorio (M)	Alícuota (mL)	Absorbancia	Concentración de la muestra (g/mL)
M1	0,7	0,535	0,000004214
M2	0,8	0,5649	0,000004816
M3	0,9	0,5891	0,000005418
M4	1	0,6001	0,00000602
M5	1,1	0,6503	0,000006622
M6	1,2	0,6803	0,000007224

Fuente: Elaboración propia.

Gráfico 2. Curva de calibración de anís estrella obtenido en laboratorio



Fuente: Elaboración propia.

Para comparar correctamente las concentraciones de ambos extractos, se debe tener en cuenta que las disoluciones madre fueron realizadas utilizando valores diferentes. Para la disolución madre patrón, se pesaron 0,1209 g de ácido shikímico, mientras que para la disolución madre del extracto de laboratorio se pesaron 0,0301 g de extracto de anís estrella. Por lo tanto, se pesaron exactamente 4,0166 veces más ácido shikímico en relación con el extracto de anís estrella liofilizado obtenido en el laboratorio.

Es decir, sería conveniente calcular las concentraciones obtenidas del anís estrella de acuerdo con el factor 4,0166. En consecuencia, el procedimiento para calcular la concentración de ácido shikímico y de anís estrella en cada muestra se realiza de la siguiente forma, utilizando la ecuación de la recta obtenida en la curva de calibración de cada extracto:

Cálculo de la concentración en g/mL, interpolando la absorbancia de muestra reportadas en la Tabla 11 y 12:

Ecuación de la recta de la curva de calibración del ácido shikímico (patrón):

$$y = 14255x + 0,1344$$

$$\text{Para P1} \rightarrow y = 14255x + 0,1344$$

$$\text{Para P1} \rightarrow 0,3816 = 14255x + 0,1344$$

$$\text{Para P1} \rightarrow x = \mathbf{0,0000173 \text{ g/mL}}$$

Ecuación 6. *Fórmula para determinar la concentración de ácido shikímico (patrón)*

Ecuación de la recta de la curva de calibración de extracto de anís estrella obtenido en laboratorio, interpolando la absorbancia:

$$y = 19079x - 0,0278$$

$$\text{Para M1} \rightarrow y = 19079x - 0,0278$$

$$\text{Para M1} \rightarrow 0,055 = 19079x - 0,0278$$

$$\text{Para M1} \rightarrow x = \mathbf{0,0000044 \text{ g/mL}}$$

Ecuación 7. *Fórmula para determinar la concentración de extracto de anís estrella obtenido en laboratorio*

Ecuación para ajustar el peso correspondiente del extracto de anís estrella obtenido en laboratorio en comparación con el extracto patrón:

$$\text{Para M1} \rightarrow x = 0,000044 \frac{g}{mL} \times 4,0166$$

$$\text{Para M1} \rightarrow x = 0,0000174g/mL$$

Ecuación 8. *Fórmula para determinar la concentración de extracto de anís estrella obtenido en laboratorio ajustado al factor de 4,0166 para el ajuste de peso correspondiente*

Tabla 13. *Tabla comparativa de las concentraciones de ácido shikímico (patrón) contra extracto de anís estrellado obtenido en laboratorio*

Muestra de ácido shikímico (patrón)	Concentración (g/mL)	Muestra de extracto de anís estrella (laboratorio)	Concentración (g/mL)
P1	0,0000173	M1	0,0000174
P2	0,0000188	M2	0,0000191
P3	0,0000218	M3	0,0000216
P4	0,0000242	M4	0,0000240
P5	0,0000264	M5	0,0000258
P6	0,0000292	M6	0,0000298

Por lo tanto, se podría concluir que, desde el punto de vista cuantitativo, ambos extractos presentan una concentración muy similar, basándose en las concentraciones iniciales de peso y sus diluciones correspondientes. Se debe tener en cuenta que la curva de calibración del extracto de anís estrella obtenido en el laboratorio no fue una regresión lineal perfecta, por lo que se sugiere que pueden haber existido errores durante el proceso de elaboración de las muestras y la toma de las alícuotas. A pesar de esto, se observa un comportamiento muy similar entre ambos extractos, lo que sugiere que puede existir una alta similitud cuantitativa entre ambos.

4.2 Análisis de espectrofotometría infrarroja

Mediante análisis en el espectrofotómetro infrarrojo de la Universidad de Iberoamérica se determinaron los siguientes resultados para los siguientes compuestos:

- Ácido shikímico (patrón) importado de China
- Extracto de anís estrella liofilizado obtenido en laboratorio
- Extracto de *Fucus vesiculosus* importado de China

El objetivo de analizar estos compuestos, mediante el equipo infrarrojo, consistió en determinar la similitud entre grupos funcionales en comparación con los resultados de espectrofotometría infrarroja que aparecen en el Spectral DataBase.

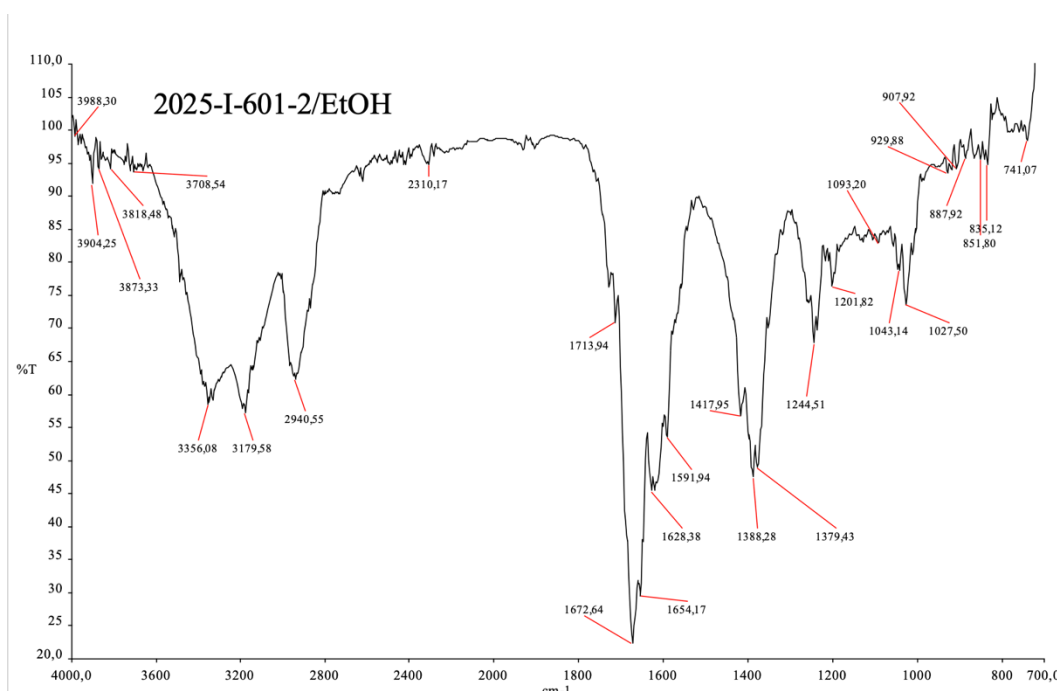


Figura 23. Análisis de IR de ácido shikímico (patrón)

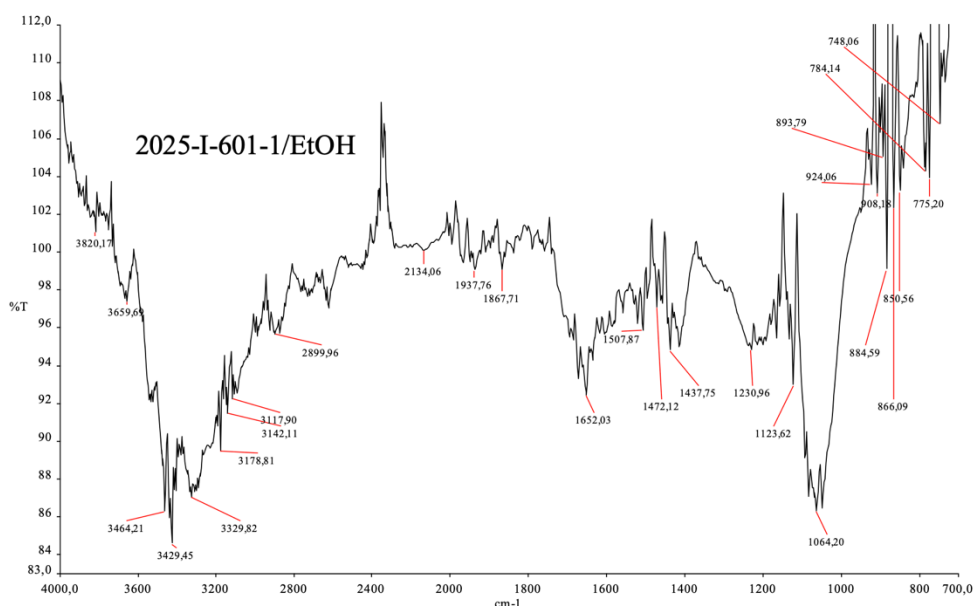


Figura 24. Análisis de IR de extracto de anís estrella liofilizado obtenido en el laboratorio

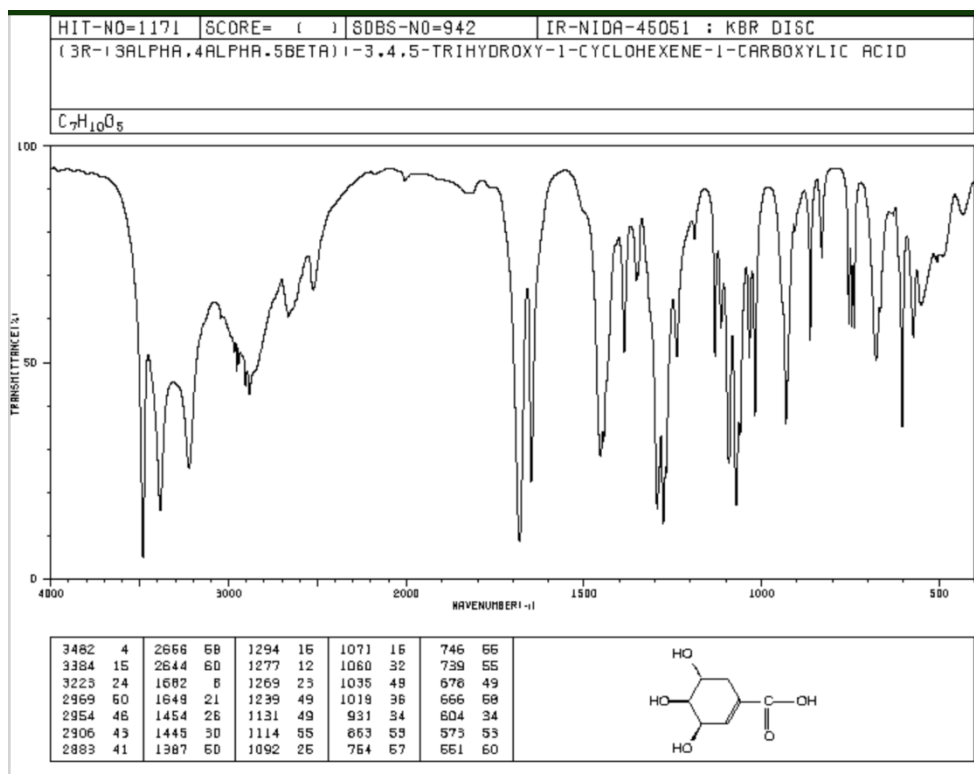


Figura 25. Análisis de IR de extracto de ácido shikimico del Spectral DataBase

Basado en la molécula del ácido shikímico, esta cuenta con varios grupos hidroxilos (-OH) que, de acuerdo con la carta de correlación (Anexo 1), presentan un pico en el rango de 3400-3300 cm^{-1} , el cual es visible en los tres espectros de las figuras 22, 23 y 24. Además, el ácido shikímico presenta un grupo carboxílico (-COOH) entre 3400 y 2400 cm^{-1} , los cuales también se observan en todos los espectros IR realizados en el laboratorio de la universidad.

Asimismo, el grupo carbonilo del ácido carboxílico es visible aproximadamente entre 1700 y 1675 cm^{-1} , específicamente en 1672 cm^{-1} para el ácido shikímico patrón, en 1652 cm^{-1} para el extracto de anís estrella extraído en el laboratorio, y en 1682 cm^{-1} para el análisis de IR del ácido shikímico obtenido del Spectral DataBase. Por lo tanto, es posible concluir que existe una alta semejanza entre los análisis realizados al patrón de ácido shikímico importado de China, el extracto obtenido en el laboratorio y su comparación con el ácido shikímico obtenido del Spectral DataBase.

Seguidamente, se realizó un análisis para el extracto de *Fucus vesiculosus*, también importado desde China, con el objetivo de verificar sus grupos funcionales y realizar la correspondiente comparación con un análisis IR del Spectral DataBase.

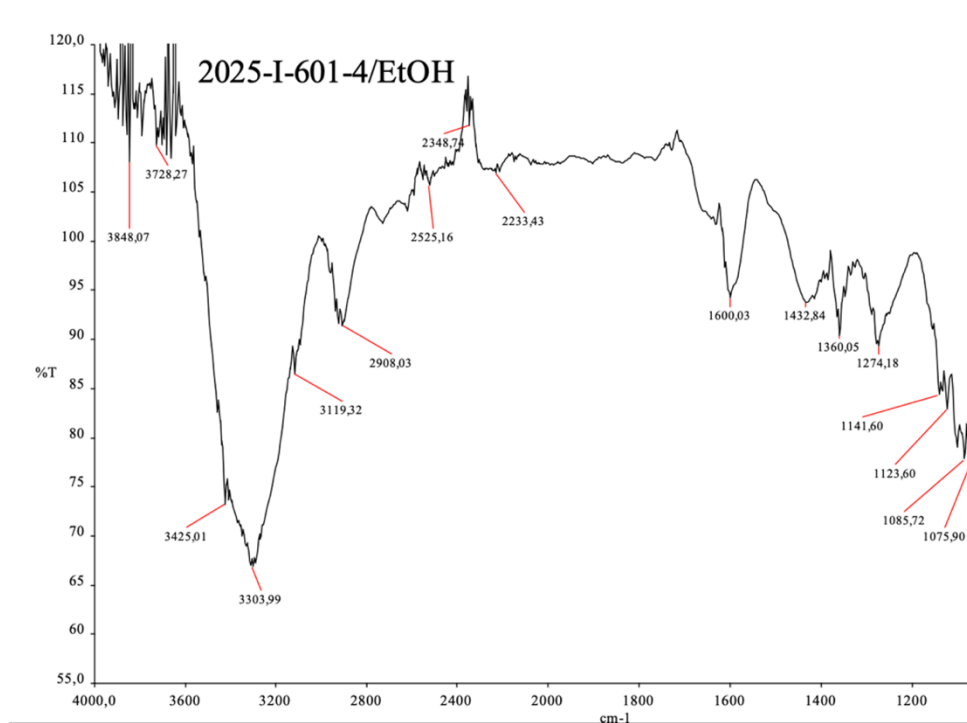


Figura 26. Análisis de IR de *Fucus vesiculosus*

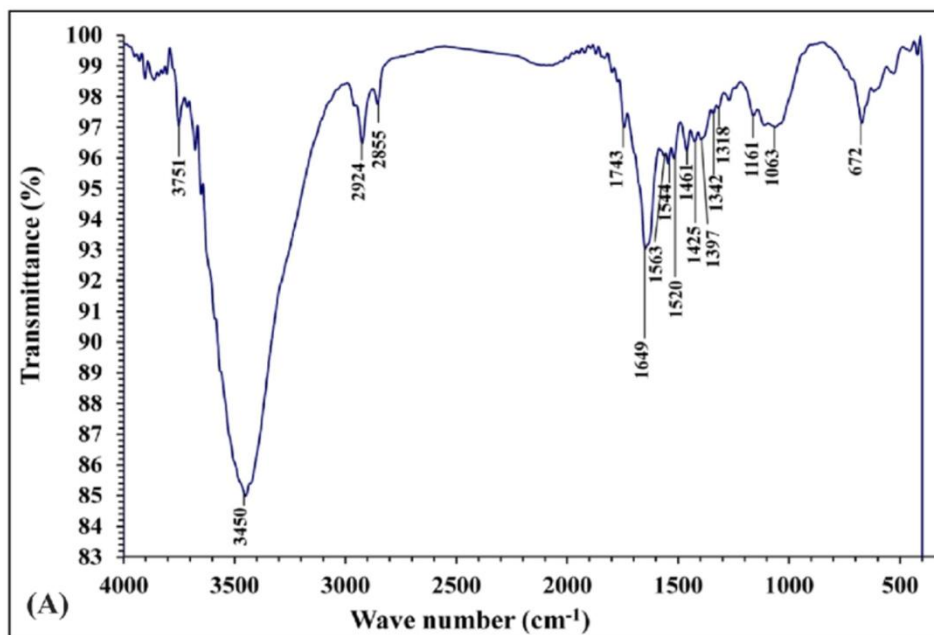


Figura 27. Análisis de IR de *Fucus vesiculosus*. **Fuente:** Naggar, 2021.

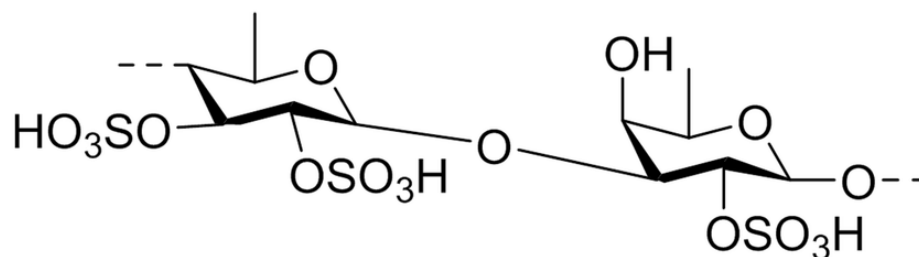


Figura 28. Estructura del *Fucus vesiculosus*. **Fuente:** Barbosa, 2019.

Es posible determinar en los análisis de IR características similares entre ambos espectros. En primer lugar, se observa un grupo hidroxilo (-OH) en el rango de 3400-3300 cm^{-1} , específicamente en 3450 cm^{-1} para el análisis del estudio publicado por Barbosa (2019) y, en el caso del análisis IR realizado en el laboratorio de Unibe, se observa este grupo hidroxilo en 3425 cm^{-1} aproximadamente.

En cuanto a los grupos sulfuros (R-S-R), tales como los grupos HO_3SO y OSO_3H , estos presentan muy poca información útil, de acuerdo con la carta de correlación presentada en el Anexo 1. Los grupos éteres presentan bandas de estiramiento prominentes en el rango de 1300-

1000 cm^{-1} , como se puede observar en ambos espectros. Por lo tanto, es posible determinar una alta similitud entre ambos espectros IR.

4.3 Análisis de capacidad antioxidante de los compuestos

Para la determinación de la capacidad antioxidante de los compuestos se llevó a cabo el ensayo de capacidad antioxidante bajo el reactivo DPPH, el cual se detalla en la sección 3.10.1 del presente estudio. En primer lugar, se presenta un flujograma de trabajo para facilitar la comprensión del ensayo elaborado:

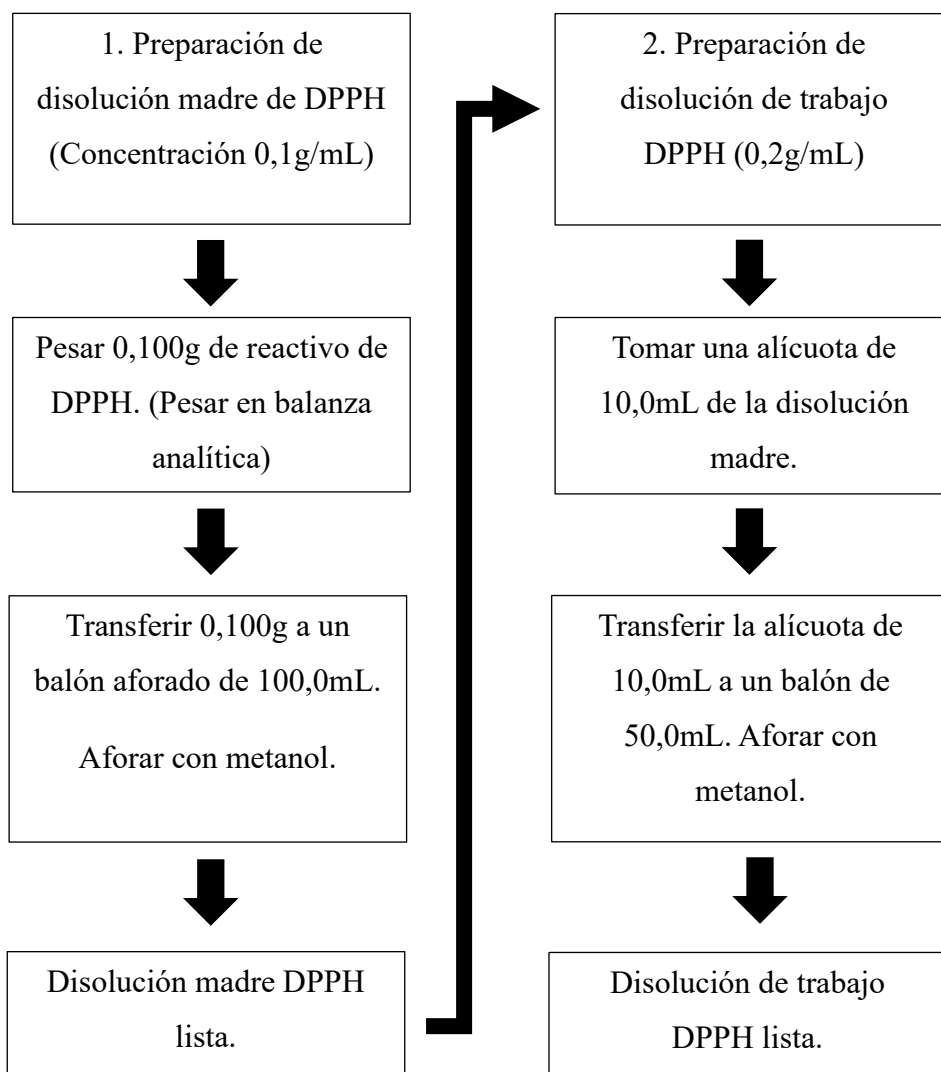


Figura 29. *Flujograma de trabajo para la preparación de la disolución de trabajo DPPH*

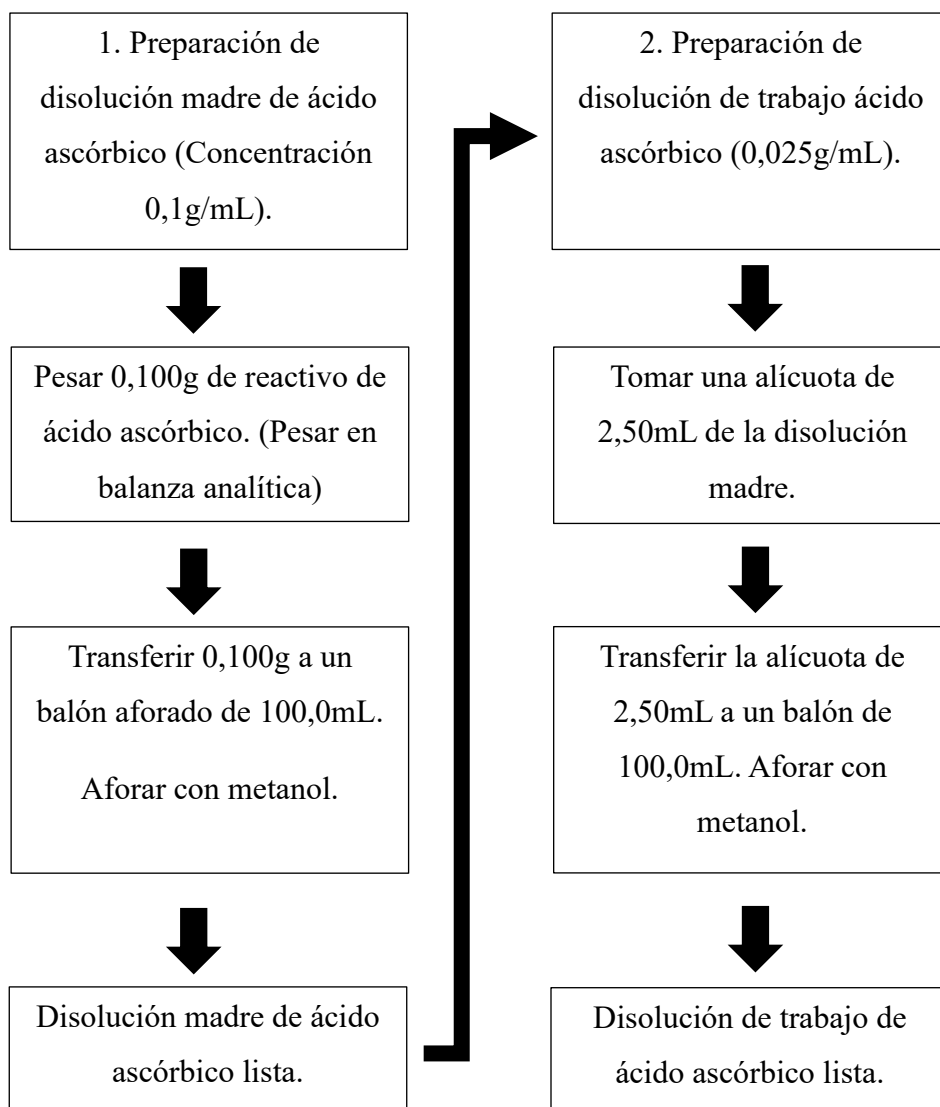


Figura 30. *Flujograma de trabajo para la preparación de la disolución de trabajo de ácido ascórbico*

Con base en las disoluciones de trabajo, se preparan los tubos de ensayo, que serán aquellos por analizar en el espectroscopio ultravioleta visible. Antes de continuar, se debe determinar la longitud de onda posible mediante un “Scan”; se prepara el tubo de ensayo correspondiente a la muestra número 4. Se prepara de la siguiente manera:

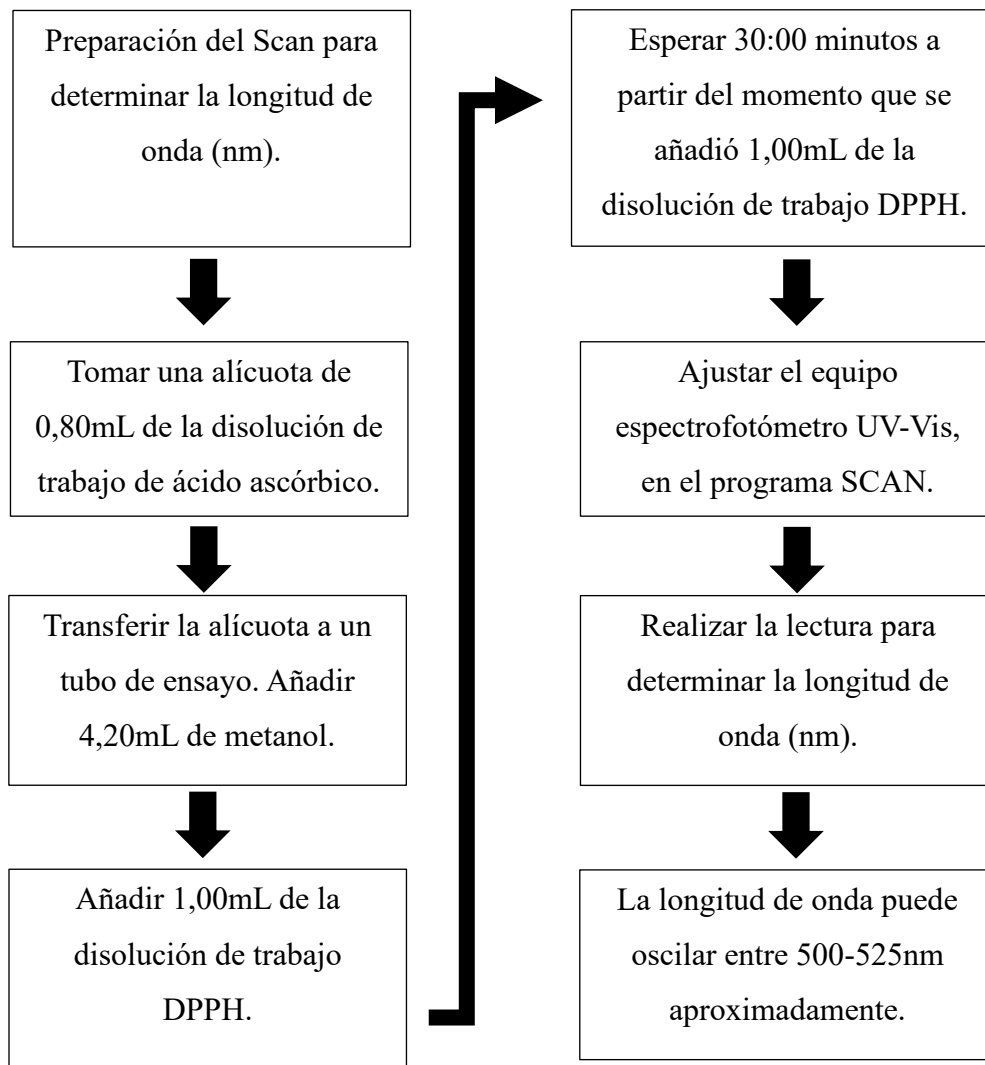


Figura 31. *Flujograma de trabajo para la determinación de la longitud de onda para la determinación de la curva de calibración de ácido ascórbico*

En este paso específico, se obtuvo una longitud de onda de 503 nm, la cual se utilizó para los análisis posteriores. Seguidamente, una vez determinada la longitud de onda a la que se someterán las muestras, estas se prepararon de la siguiente forma:

Tabla 14. Preparación de las muestras para la curva de calibración de ácido ascórbico

Patrón (STD)	Ácido ascórbico (mL)	Metanol (MeOH) (Solvente) (mL)	Disolución madre DPPH (mL)	Minuto en el cual añadir DPPH (min)	Tiempo máximo (min)
1	0,2	4,8	1	0	30
2	0,4	4,6	1	2	32
3	0,6	4,4	1	4	34
4	0,8	4,2	1	6	36
5	1	4	1	8	38
6	1,2	3,8	1	10	40
7	1,6	3,4	1	12	42
Blanco control (B.Control)	0	5	1	14	44
Blanco (B)	3	3	0	0	0
Metanol (MeOH) (Solvente)	0	6	0	0	0

Fuente: Elaboración propia.

En caso de obtener absorbancias negativas, específicamente para los valores de Blanco control, Blanco y el Solvente, es preferible considerar estos valores como 0.

Tras los primeros 30 minutos, se realiza la primera lectura del Patrón 1, se esperan 2 minutos y se continúa con la lectura del Patrón 2, y así sucesivamente. Posteriormente, se anotan las absorbancias, las cuales se utilizarán para el cálculo del porcentaje de inhibición, con el fin de graficarlo contra la concentración de ácido ascórbico en cada tubo.

Se muestra el procedimiento para el cálculo de la concentración del tubo de ensayo a continuación:

Tabla 15. Datos para el cálculo de la concentración de ácido ascórbico de los tubos de ensayo

Masa de ácido ascórbico inicial	0,106 g
Volumen del balón de la disolución madre	100 mL
Alícuota tomada de la disolución madre	2,5 mL
Volumen del balón de la disolución de trabajo.	100 mL
Concentración de la disolución madre	0,00106 g/mL
Concentración de la disolución de trabajo	0,0000265 g/mL
Volumen del tubo de ensayo	6,00mL
Concentración del Patrón 1	0,883 mg/L

Concentración del tubo de ensayo

$$= \text{Volumen de la alícuota de ácido ascórbico mL} \times \left(\frac{\text{Concentración disolución de trabajo}}{\text{Volumen total del tubo de ensayo}} \right)$$

$$\text{Para P1} \rightarrow 0,2\text{mL} \times \frac{0,0000265\text{g/ mL}}{6,00\text{mL}}$$

$$P1 = 0,000000883\text{g/mL}$$

Ecuación 9. Fórmula para determinar la concentración de ácido ascórbico de los tubos de ensayo en el método DPPH

$$\% \text{ de inhibición} = \frac{(\text{AbsB. Control} - \text{AbsSolvente}) - (\text{AbsSTD} - \text{AbsBlanco})}{(\text{AbsB. Control} - \text{AbsSolvente})} \times 100$$

$$\% \text{ de inhibición P1} = \frac{((0,3528 - 0) - (0,2115 - 0))}{(0,3528 - 0)} \times 100$$

$$\% \text{ de inhibición P1} = 40\%$$

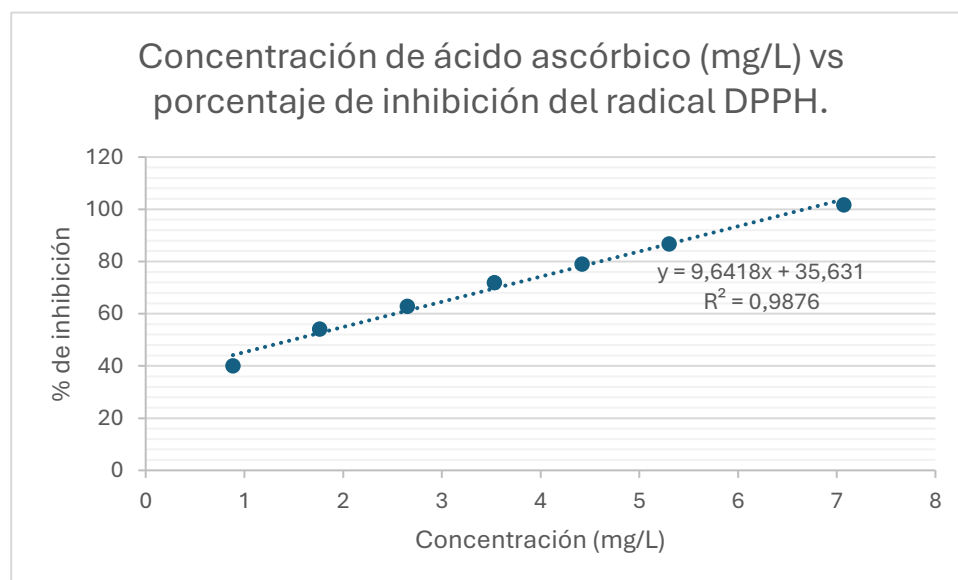
Ecuación 10. Fórmula para determinar el porcentaje de inhibición de las muestras

Tabla 16. Cuantificación de las absorbancias, porcentaje de inhibición y concentración de los tubos de ensayo

Patrón	Concentración del tubo de ensayo (g/mL)	Concentración del tubo de ensayo (mg/L)	Absorbancia	Porcentaje de inhibición
1	0,000000883	0,883	0,2115	40,05%
2	0,00000176	1,76	0,162	54,08%
3	0,00000265	2,65	0,131	62,87%
4	0,00000353	3,53	0,099	71,94%
5	0,00000442	4,42	0,074	79,02%
6	0,0000053	5,3	0,047	86,68%
7	0,00000707	7,07	-0,0061	101,73%
Blanco control (Bc)	0		0,3528	-
Blanco (B)	3mL		0	-
Metanol (MeOH)	0		0	-

Fuente: Elaboración propia.

Gráfico 3. Curva de calibración de ácido ascórbico contra porcentaje de inhibición del radical DPPH



Seguidamente, para analizar la capacidad antioxidante de los extractos de ácido shikímico y *Fucus vesiculosus*, se realiza una prueba preliminar para determinar, en primer lugar, si los extractos poseen capacidad antioxidante. Para esto, se lleva a cabo el siguiente procedimiento, ejemplificado en el flujograma:

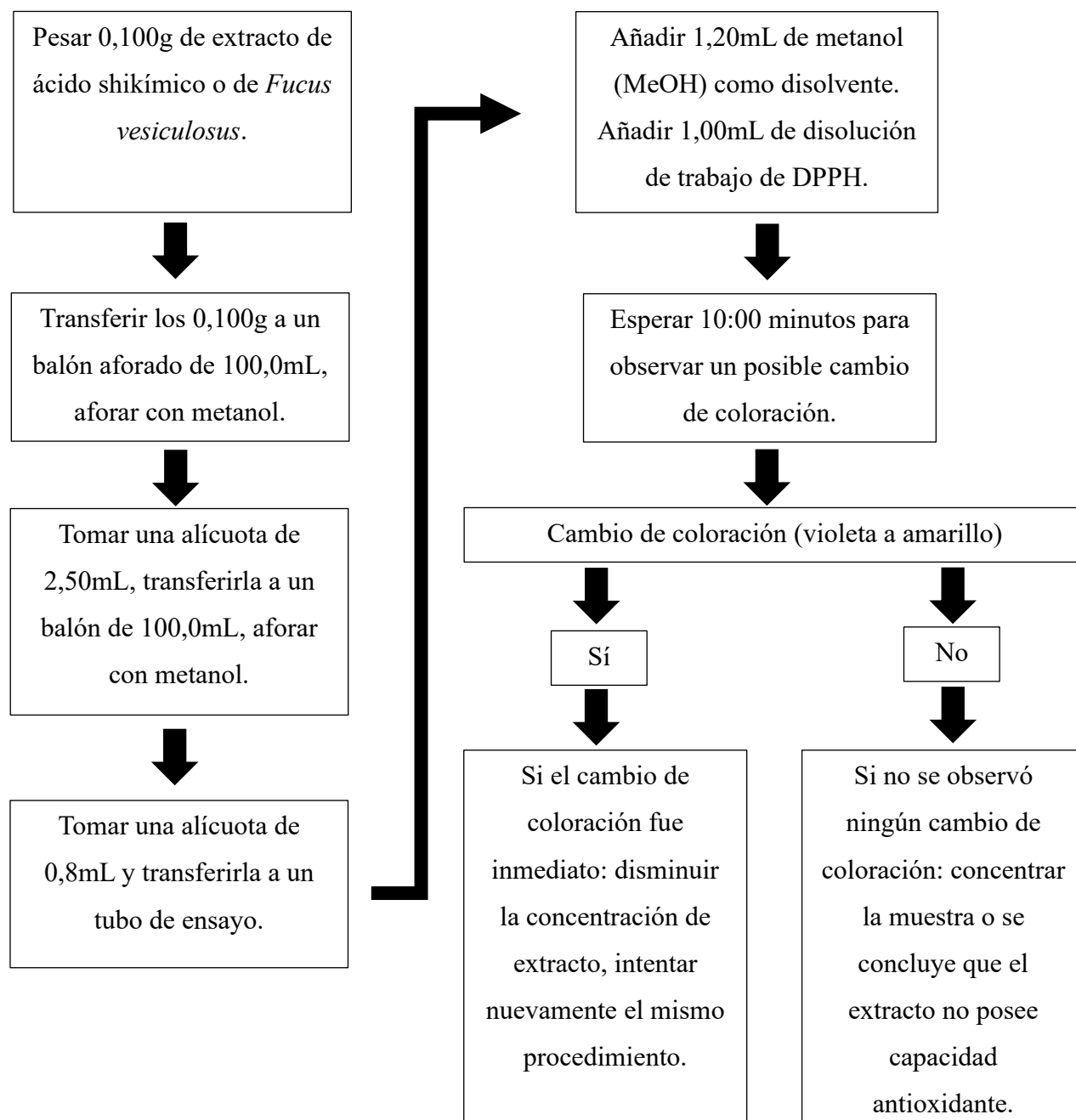


Figura 32. *Flujograma para determinar la posible capacidad antioxidante de un compuesto (prueba cualitativa inicial)*

En el caso del ácido shikímico, se realizó la prueba de la Figura 32 con concentraciones iniciales de 0,100 g, seguidas de 0,250 g, 0,500 g hasta 1,00 g. Luego de transcurridos los 10 minutos por cada concentración, no se observó ningún cambio en la coloración, por lo que se decidió no concentrar la muestra y concluir que el ácido shikímico del proveedor Xian Xuhuang Bio-Tech Co., LTD de China no posee capacidad antioxidante específicamente en el ensayo DPPH realizado en la universidad.

En el caso de *Fucus vesiculosus*, se logró observar un cambio de coloración en la prueba cualitativa utilizando una masa de 0,300 g, por lo que se decidió continuar con el ensayo DPPH basado en esa masa inicial para la elaboración de la disolución de trabajo de *Fucus vesiculosus*.



Figura 33. Prueba cualitativa inicial para determinar capacidad antioxidante del *Fucus vesiculosus*

Una vez determinada la masa inicial para realizar la disolución madre de *Fucus vesiculosus*, se continuó con el mismo procedimiento que se utilizó para el ácido ascórbico, con ligeras variaciones en cuanto a los volúmenes de disolvente (metanol), los cuales se muestran en la siguiente tabla:

Tabla 17. Datos para el cálculo de la concentración de *Fucus vesiculosus* de los tubos de ensayo

Masa de ácido ascórbico inicial	0,303 g
Volumen del balón de la disolución madre	100 mL
Alícuota tomada de la disolución madre	2,5 mL
Volumen del balón de la disolución de trabajo.	100 mL
Concentración de la disolución madre	0,00303 g/mL
Concentración de la disolución de trabajo	0,0000303 g/mL
Volumen del tubo de ensayo	3,00 mL
Concentración del Patrón 1	5,05 mg/L

Fuente: Elaboración propia.

Tabla 18. Preparación de las muestras para la curva de calibración de *Fucus vesiculosus*

Patrón (STD)	Disolución de trabajo de <i>Fucus vesiculosus</i> (mL)	Metanol (MeOH) (Solvente) (mL)	Disolución madre DPPH (mL)	Minuto en el cual añadir DPPH (min)	Tiempo máximo (min)
1	0,2	1,8	1	0	30
2	0,4	1,6	1	2	32
3	0,6	1,4	1	4	34
4	0,8	1,2	1	6	36
5	1	1	1	8	38
6	1,2	0,8	1	10	40
7	1,6	0,6	1	12	42

Blanco control (B.Control)	0	5	1	14	44
Blanco (B)	3	3	0	0	0
Metanol (MeOH) (Solvente)	0	6	0	0	0

Fuente: Elaboración propia.

Tabla 16. Cuantificación de las absorbancias, porcentaje de inhibición y concentración de los tubos de ensayo de *Fucus vesiculosus*

Patrón	Concentración del tubo de ensayo (g/mL)	Concentración del tubo de ensayo (mg/L)	Absorbancia	Porcentaje de inhibición
1	0,00000505	5,05	0,4217	-26,30 %
2	0,0000101	10,1	0,3572	-6,98 %
3	0,00001515	15,15	0,3103	7,06 %
4	0,0000202	20,2	0,22	34,11 %
5	0,00002525	25,25	0,183	45,19 %
6	0,0000303	30,3	0,061	81,73 %
7	0,0000404	40,4	-0,0053	101,58 %
Blanco control (Bc)	0		0,3339	-
Blanco (B)	3mL		0	-
Metanol (MeOH)	0		0	-

Fuente: Elaboración propia.

Gráfico 4. Curva de calibración de *Fucus vesiculosus* contra porcentaje de inhibición del radical DPPH

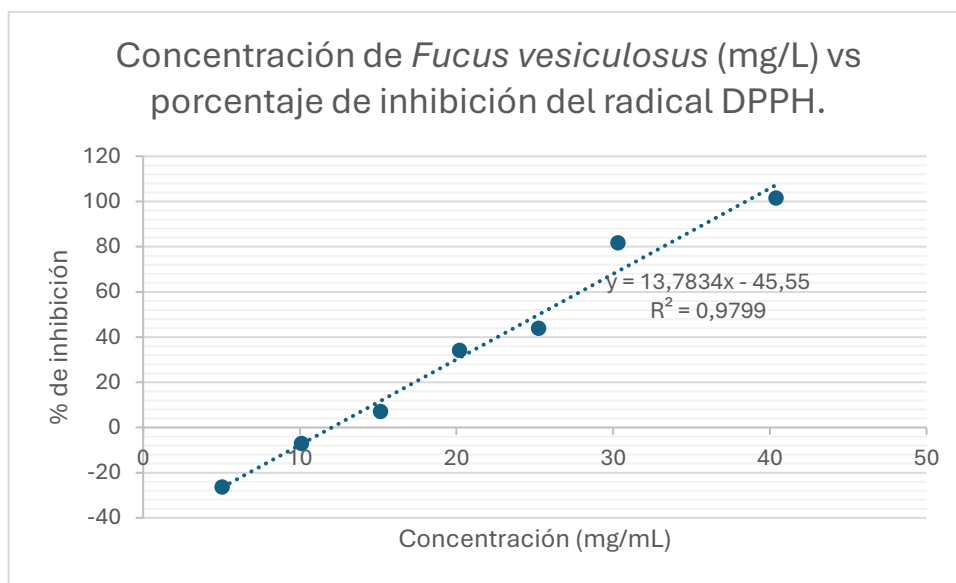


Tabla 18. Concentraciones y porcentajes de inhibición del ácido ascórbico contra el *Fucus vesiculosus*

Patrón / Muestra	Concentración de ácido ascórbico (mg/L)	Porcentaje de inhibición	Concentración de <i>Fucus vesiculosus</i> (mg/L)	Porcentaje de inhibición
1	0,883	40,05 %	5,05	-26,30 %
2	1,76	54,08 %	10,1	-6,98 %
3	2,65	62,87 %	15,15	7,06 %
4	3,53	71,94 %	20,2	34,11 %
5	4,42	79,02 %	25,25	45,19 %
6	5,3	86,68 %	30,3	81,73 %
7	7,07	101,73 %	40,4	101,58 %

Por último, de manera comparativa, se debe determinar el IC50 de cada sustancia. El IC50 se define como la concentración de antioxidante que causa una disminución del 50 % en la absorbancia de DPPH. En este caso, se comparan las sustancias de ácido ascórbico con el extracto de interés, *Fucus vesiculosus*. El cálculo para la determinación del IC50 (ecuación 2 del presente estudio) de los compuestos se realiza de la siguiente manera:

$$X(\text{mg/mL}) = \frac{50 - b}{m}$$

Donde:

b es el intercepto de la recta

m es la pendiente de la recta

x (mg/L) es la concentración de la muestra.

Tabla 18. Datos de IC50 para el ácido ascórbico y para el *Fucus vesiculosus*

Dato	Ácido ascórbico	<i>Fucus vesiculosus</i>
Ecuación de la recta	$y = 9,6418x + 35,631$	$y = 13,7834x - 45,550$
Intercepto (b)	35,631	-45,550
Pendiente (m)	9,641	13,783
Muestra de cálculo de determinación de IC50	$\frac{50 - 35,631}{9,641} = x$	$\frac{50 - -45,550}{13,783} = x$
IC50	1,49	6,93

Como conclusión, se puede determinar que el ácido ascórbico es un compuesto más efectivo que *Fucus vesiculosus* en términos de capacidad antioxidante, al tener un IC50 menor. Se debe tener en cuenta que la linealidad de los resultados presenta oportunidades de mejora.

4.4 Determinación de la capacidad antimicrobiana de los compuestos

Para la determinación de la capacidad antimicrobiana del ácido shikímico y de *Fucus vesiculosus*, se realizó un trabajo en el laboratorio MicroLabs, ubicado en Guadalupe. MicroLabs proporcionó los insumos necesarios para los cultivos bacterianos, así como las placas de agar y el equipo requerido para llevar a cabo el análisis. Las bacterias utilizadas fueron *Escherichia coli*, como bacteria gramnegativa, y *Staphylococcus aureus*, como bacteria grampositiva. Estas dos bacterias fueron seleccionadas debido a su prevalencia en superficies como la piel humana.

Las bacterias fueron cultivadas durante un periodo de 72 horas antes de realizar el ensayo. Esto permitió que las bacterias alcanzaran una fase logarítmica en su reproducción, lo que facilitó un crecimiento bacteriano más eficiente y, por ende, un análisis más preciso de la capacidad antimicrobiana de ambos extractos, tanto de manera individual como combinada. A continuación, se presenta un flujograma de trabajo para facilitar la comprensión del ensayo realizado:

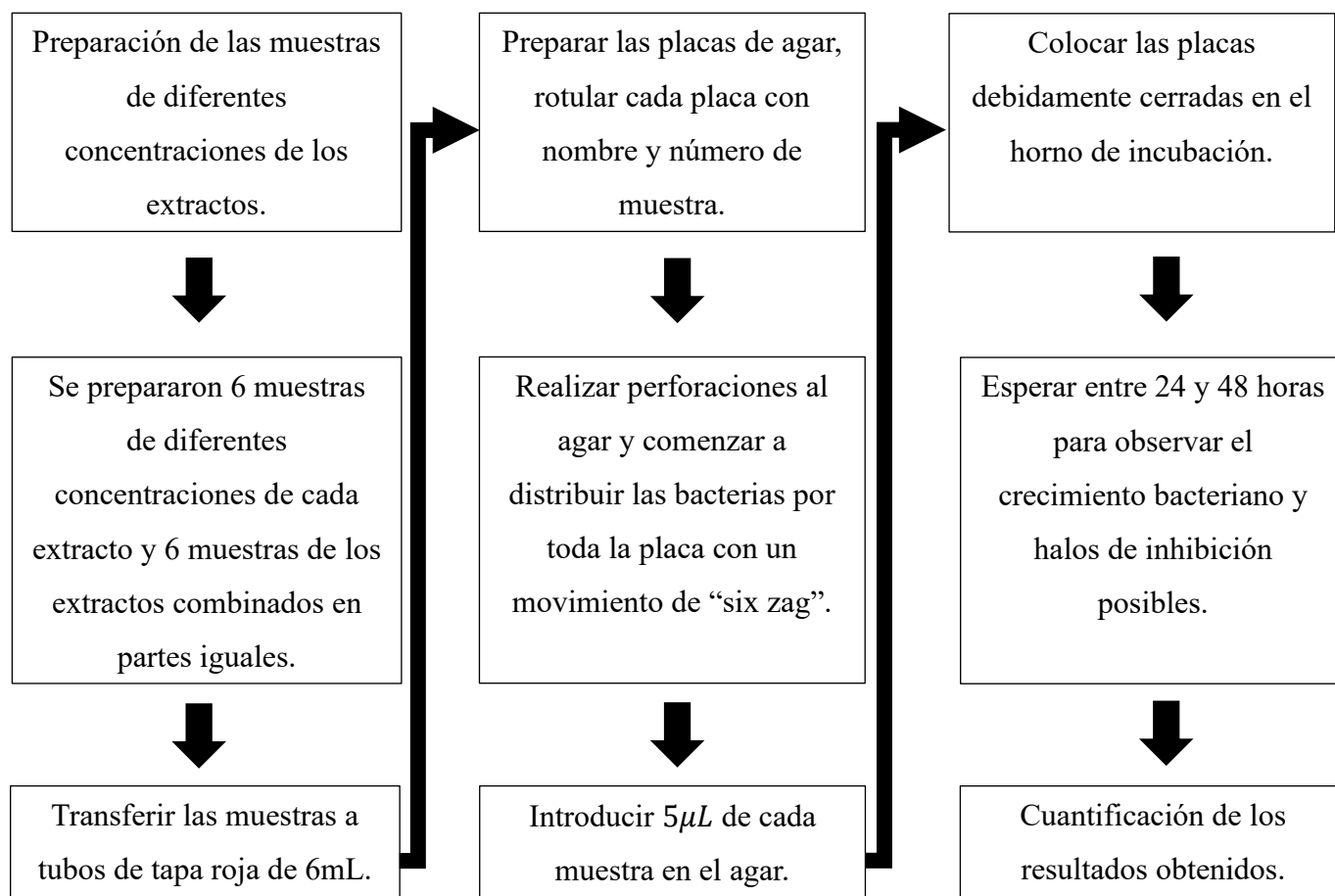


Figura 34. Flujograma de trabajo para la determinación de capacidad antimicrobiana



Figura 35. *Preparación de las muestras de ácido shikímico en el laboratorio*



Figura 36. *Preparación de las muestras de Fucus vesiculosus en el laboratorio*

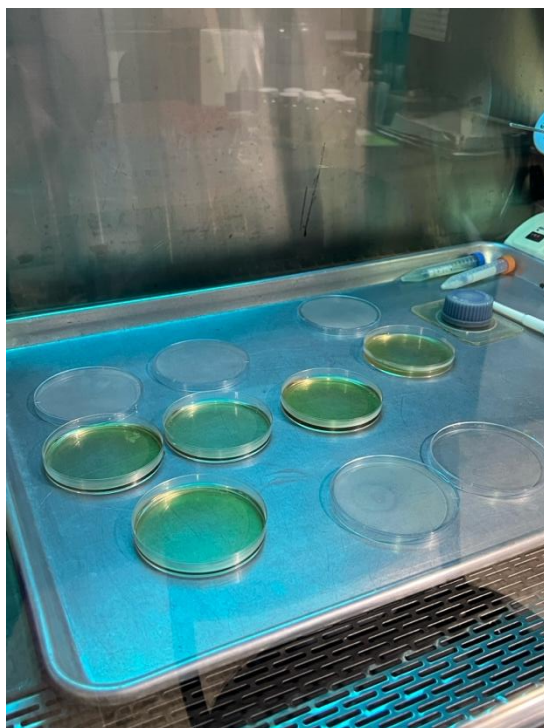


Figura 37. Preparación de las placas de agar en la cámara de flujo laminar

Las placas de agar se manipulan dentro de una cámara de flujo laminar, con el objetivo de proteger tanto el producto que se manipula, como al operador y al medio ambiente. La cámara de flujo laminar es un área accesible en términos de limpieza y desinfección, equipada con un sistema de filtrado de aire que pasa a través de prefiltros que retienen las partículas más grandes presentes en el aire, así como filtros de alta eficacia que capturan partículas mucho más pequeñas, con una eficiencia mínima del 99,9 % (Labomersa, 2020).

Como parte de los insumos proporcionados por MicroLabs, se incluye una sustancia control, que sirve como referencia dentro de las placas de agar. Esta sustancia se coloca en el centro de la placa, mientras que las perforaciones con las concentraciones de extracto se ubican alrededor de la misma. En este caso, se optó por utilizar una tableta de Ciprofloxacino de 500 mg como control.

El ciprofloxacino es un antibiótico de amplio espectro perteneciente a la familia de las fluoroquinolonas. Actúa inhibiendo las topoisomerasas bacterianas (ADN girasa y topoisomerasa IV), enzimas clave para la replicación y transcripción del ADN bacteriano. El ciprofloxacino es eficaz contra bacterias gramnegativas como *Escherichia coli* y grampositivas

como *Staphylococcus aureus* (Vademecum, 2019). Por lo tanto, este control proporcionará un parámetro de comparación para determinar si los extractos tienen capacidad antibacteriana.

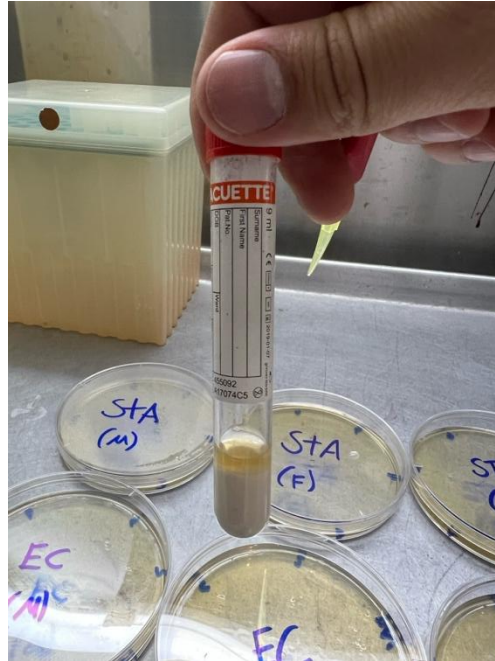


Figura 38. Área de trabajo dentro de la cámara de flujo laminar

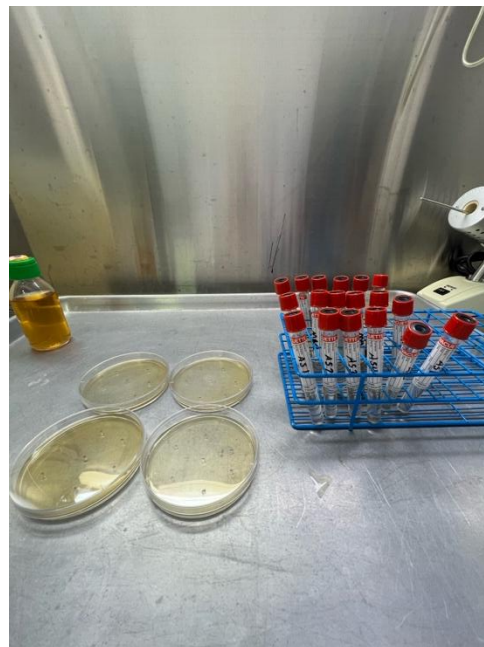


Figura 39. Tableta de ciprofloxacino 500 mg disuelta en agua

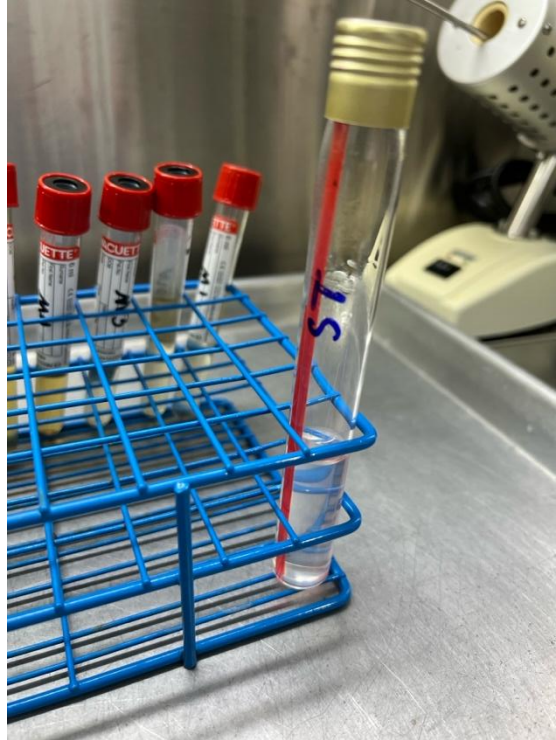


Figura 40. *Cultivo de bacterias de Staphylococcus aureus*

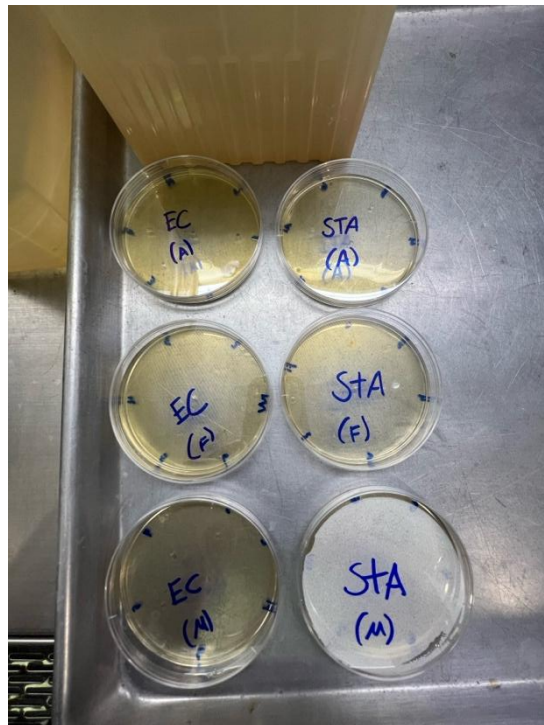


Figura 41. *Rotulación de cada placa de agar*

Las placas de agar se rotularon de la siguiente manera:

Tabla 19. *Distribución de muestras rotuladas en las placas de agar.*

Placa de <i>E.coli</i> (EC) con ácido shikímico (A)	Placa de <i>E.coli</i> (EC) con <i>Fucus vesiculosus</i> (F)	Placa de <i>E.coli</i> (EC) con ácido shikímico y <i>Fucus vesiculosus</i> (M)	Placa de <i>S.aureus</i> (STA) con ácido shikímico (A)	Placa de <i>S.aureus</i> (STA) con <i>Fucus vesiculosus</i> (F)	Placa de <i>S.aureus</i> (STA) con ácido shikímico y <i>Fucus vesiculosus</i> (M)	Concentración de las muestras (g/mL)
AE1	FE1	ME1	AS1	FS1	MS1	3,00g/100 mL
AE2	FE2	ME2	AS2	FS2	MS2	2,00g/100 mL
AE3	FE3	ME3	AS3	FS3	MS3	1,50g/100 mL
AE4	FE4	ME4	AS4	FS4	MS4	1,00g/100 mL
AE5	FE5	ME5	AS5	FS5	MS5	0,50g/100 mL

Fuente: Elaboración propia.

Seguidamente, las placas se colocaron en un horno para el cultivo de las bacterias a una temperatura de 35 °C, por un periodo de 48 horas.



Figura 42. *Horno a temperatura de 35 °C*

Se observó principalmente un cambio notable en el caso del ácido shikímico frente al microorganismo *Staphylococcus aureus*, donde se lograron halos de inhibición, principalmente para las concentraciones de 3,00 g/100mL, 2,00 g/100mL y 1,50 g/100mL. Se observaron halos de inhibición para las muestras AE 1, AE 2 y AE 3, y en menor medida para AE 4. No se observaron halos de inhibición para *Escherichia coli*, lo que sugiere que el ácido shikímico es más eficaz contra bacterias grampositivas.



Figura 43. Placa de agar de ácido shikímico frente a *Staphylococcus aureus*

También se observaron halos de inhibición para la muestra en combinación de ácido shikímico junto con *Fucus vesiculosus*, sugiriendo que el ácido shikímico logra mantener sus cualidades antibacterianas aún en presencia del alga marina.

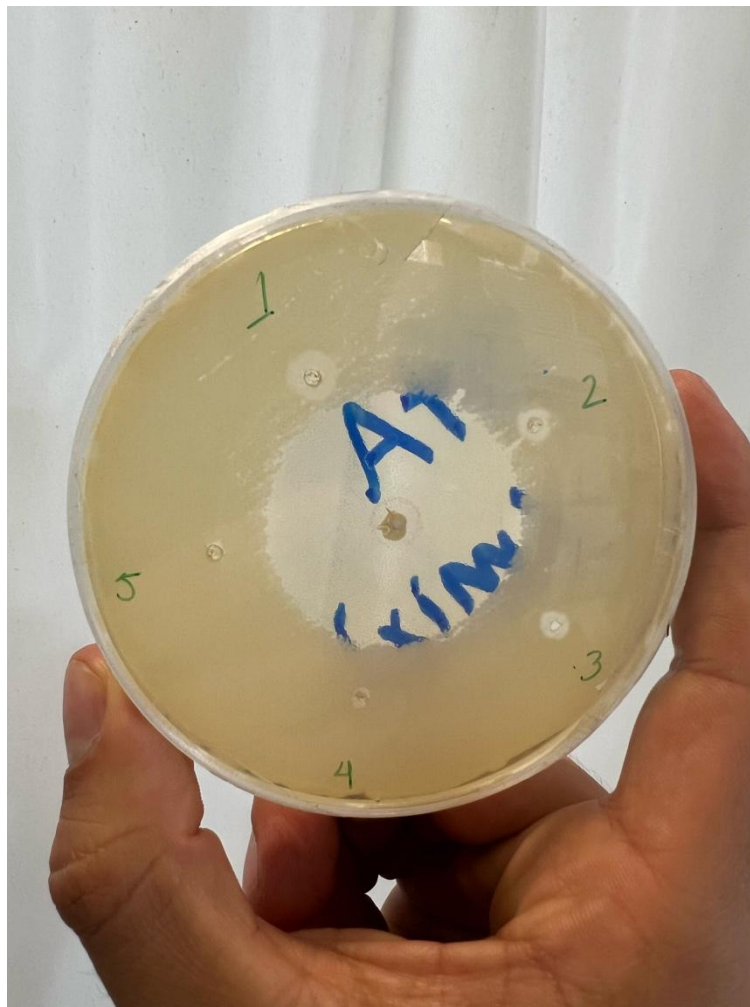


Figura 44. Placa de agar de ácido shikímico y *Fucus vesiculosus* frente a *Staphylococcus aureus*



Figura 45. Placa de agar de ácido shikímico *Escherichia coli*

Para el *Fucus vesiculosus*, no se observaron halos de inhibición para ambas bacterias, por lo que se concluye que el alga marina no posee capacidades antibacterianas contra estos microorganismos utilizando las concentraciones establecidas en el procedimiento.



Figura 46. Placa de agar de ácido shikímico *Escherichia coli*

4.5 Formulación de crema humectante y parches de biopolímeros con los extractos de ácido shikímico y *Fucus vesiculosus*

El procedimiento utilizado para la formulación de la crema humectante se detalla en el siguiente flujograma, basado en el punto 3.12.1 del presente estudio.

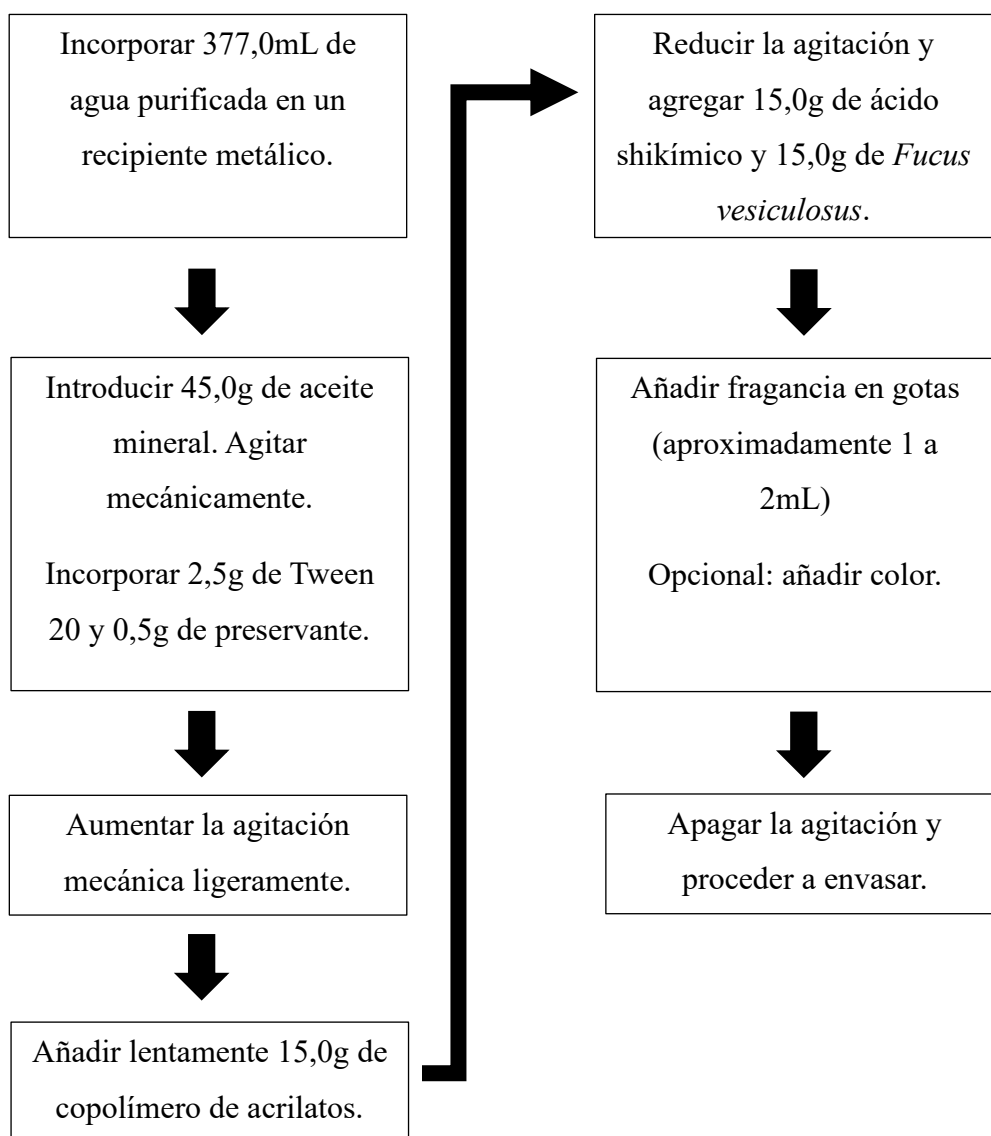


Figura 47. Flujograma de trabajo para la formulación de crema humectante



Figura 48. *Formulación de crema (aceite mineral en el beaker)*



Figura 49. *Producto final sin envasar*

El procedimiento utilizado para la formulación de los parches de biopolímeros se detalla en el siguiente flujograma, basado en el punto 3.13.1 del presente estudio.

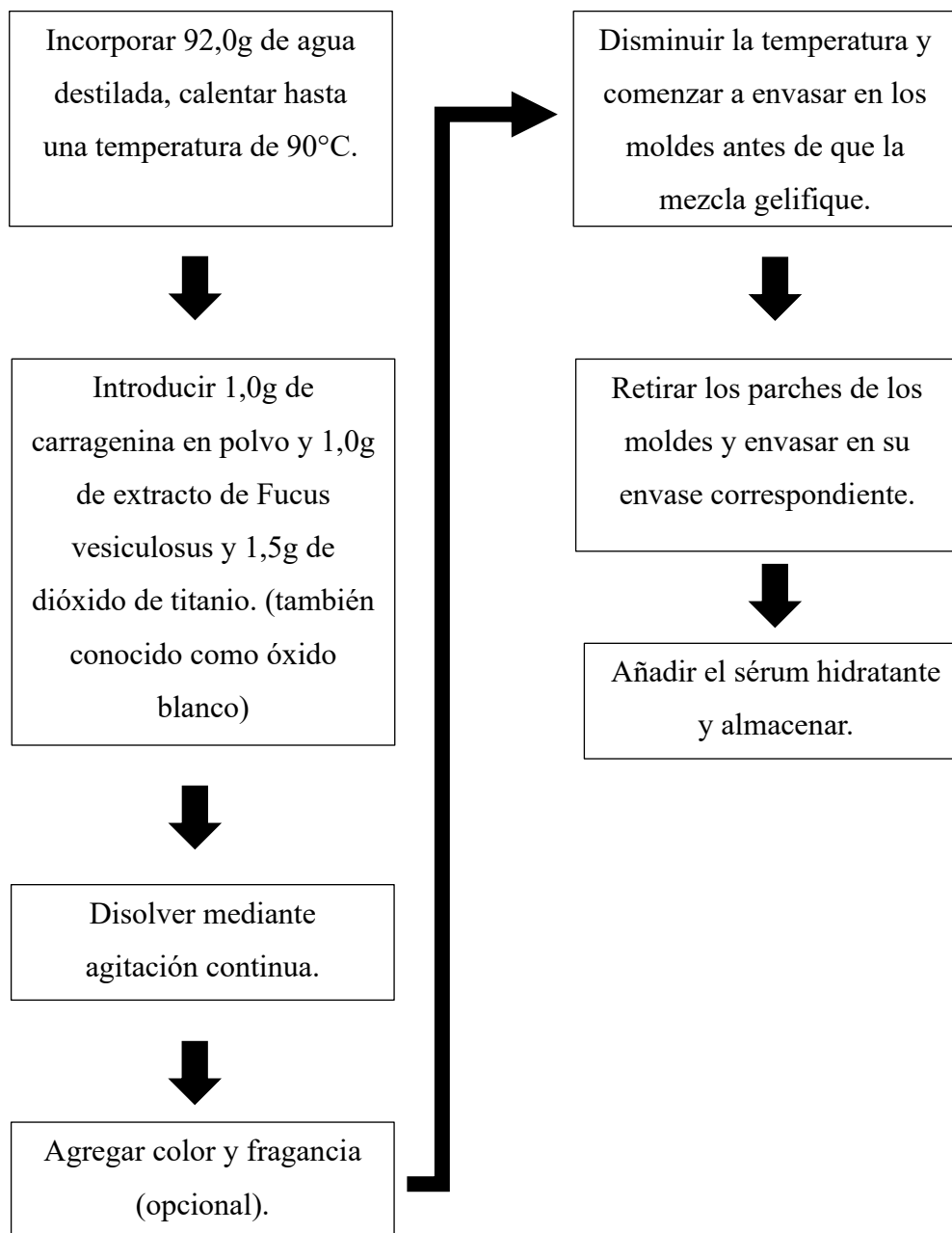


Figura 50. *Flujograma de trabajo para la fabricación de parches de biopolímeros*



Figura 51. *Llenado de los parches en los moldes*



Figura 52. *Producto final sin sérum*

Como parte de los resultados, mediante observación, se determinó que el método de llenado es fundamental para la calidad del producto final. A nivel industrial, el llenado debe realizarse con maquinaria que mantenga, en primer lugar, la temperatura del sérum e idealmente permita una agitación continua. En cuanto al llenado manual, lo ideal es verter la mezcla directamente desde el *beaker* y no de otra manera, lo que reduce el potencial error en el llenado.



Figura 53. Errores en el llenado de los moldes



Figura 54. Producto final envasado

CAPÍTULO V: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1 Conclusiones

Se concluye que el método Soxhlet fue eficiente para la extracción del anís estrella, lo que permitió su posterior identificación mediante espectrofotometría infrarroja. Se logró determinar grupos funcionales como el ácido carboxílico, el carbonilo y los grupos hidroxilo presentes en la estructura del ácido shikímico. Esta información fue corroborada al comparar el espectro obtenido en el laboratorio con el espectro del patrón, importado desde China. Por lo tanto, se concluye que el ácido shikímico sí puede ser identificado a través de la extracción por Soxhlet utilizando anís estrella como materia vegetal.

La capacidad antioxidante puede ser medida mediante pruebas como el ensayo DPPH. En esta ocasión, se concluye que el ácido shikímico proveniente del proveedor Xian Xuhuang Bio-Tech Co., LTD de China no posee capacidad antioxidante frente al radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo, esto después de realizar pruebas con diferentes concentraciones del extracto. Por otro lado, el extracto de *Fucus vesiculosus* presentó una capacidad antioxidante considerable frente al estándar de ácido ascórbico, por lo que se concluye que el alga marina posee capacidades antioxidantes importantes, justificando así su aplicación en formulaciones cosméticas.

En cuanto a la capacidad antimicrobiana de los compuestos, se concluye que, tras la medición mediante la técnica de cultivo en placas de agar, el extracto de ácido shikímico es eficaz para inhibir principalmente *Staphylococcus aureus*, siendo más eficiente contra esta bacteria grampositiva que frente a *Escherichia coli*, ya que no se observó un halo de inhibición para esta última. En el caso del alga marina, no se observaron cambios en la placa de agar en cuanto a inhibición bacteriana.

Finalmente, la optimización del desarrollo de dos formas cosméticas, basadas en la metodología de calidad por diseño, permitió formular de manera eficiente y con una menor cantidad de errores las formas cosméticas de interés en este estudio, como lo son la crema humectante y los parches de biopolímeros, que incluyeron los extractos de *Fucus vesiculosus* y ácido shikímico en concentraciones suficientes para tener acción antimicrobiana y antioxidante.

5.2 Recomendaciones

Se recomienda explorar otros métodos de extracción además del Soxhlet, tales como la extracción asistida por ultrasonido, con el objetivo de evaluar la eficiencia en la recuperación del ácido shikímico. Además, se sugiere utilizar otros métodos de análisis como la cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) o la cromatografía de gases, complementados con la medición por espectroscopía ultravioleta visible.

Se sugiere realizar pruebas adicionales de capacidad antioxidante utilizando otros ensayos, como el ensayo ABTS o FRAP, para confirmar los resultados obtenidos con el DPPH. Esto permitiría obtener una visión más completa del potencial antioxidante del alga marina y explorar la posible capacidad antioxidante del ácido shikímico, que no se logró observar en este estudio. También se recomienda adquirir ambos extractos de diferentes proveedores, además del proveedor mencionado en este estudio.

Para una evaluación más detallada de la actividad antimicrobiana, se recomienda realizar otras pruebas, como la prueba de concentración mínima inhibitoria y concentración mínima bactericida, entre otras. Esto permitiría cuantificar con mayor precisión la potencia de los extractos estudiados. Además, sería útil probar la eficacia de estos extractos contra otros microorganismos diferentes a *E. coli* y *S. aureus*. Se recomienda también realizar la prueba de cultivo nuevamente utilizando disoluciones de los extractos en concentraciones mayores y contra otras bacterias.

Por último, se recomienda realizar estudios de estabilidad de los extractos en las formulaciones cosméticas para asegurar que su actividad antioxidante y antimicrobiana se mantenga con el tiempo. Sería beneficioso evaluar diferentes concentraciones de los extractos para optimizar su eficacia sin comprometer sus propiedades organolépticas y otras cualidades. Además, se recomienda probar diferentes formas cosméticas, además de las mencionadas en este estudio.

Referencias bibliográficas

- Bai, J., Wu, Y., Liu, Y, et al. (2015) Antibacterial Activity of Shikimic Acid from Pine Needles of *Cedrus deodara* against *Staphylococcus aureus* through Damage to Cell Membrane. Sichuan University. Obtenido de: <https://www.mdpi.com/1422-0067/16/11/26015>
- Bai, Wu, Zhong, et al. (2018). A Comparative Study on the Effects of Quinic Acid and Shikimic Acid on Cellular Functions of *Staphylococcus aureus*. Chengdu China. Recuperado de: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0362028X22086501>
- Bai, Zhong, Wu, Elena, et al. (2018). Antibiofilm activity of shikimic acid against *Staphylococcus aureus*. Universidad de Sichuan, China. Recuperado de: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0956713518304274>
- Bai,Wu,Lui, et al. (2015). Antibacterial Activity of Shikimic Acid from Pine Needles of *Cedrus deodara* against *Staphylococcus aureus* through Damage to Cell Membrane. Chengdu,China. Recuperado de: <https://www.mdpi.com/1422-0067/16/11/26015>
- Balina, K., Romagnoli, F., Blumberga, D. (2016) Chemical composition and potential use of *Fucus vesiculosus* from Gulf of Riga. Riga Technical University. Energy Procedia 95 (2016) 43-49.
- Baliyan, S., Mukherjee, R., Privayardashini, A., et al. (2022) Determination of Antioxidants by DPPH Radical Scavenging Activity and Quantitative Phytochemical Analysis of *Ficus religiosa*. National Library of Medicine. <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC8878429/>
- Bao,Zheng,Lv, et al. (2023). Shikimic acid (SA) inhibits neuro-inflammation and exerts neuroprotective effects in an LPS-induced in vitro and in vivo model. Recuperado de: <https://www.frontiersin.org/journals/pharmacology/articles/10.3389/fphar.2023.1265571/full>
- Barbosa, A. (2019) Marine Polysaccharides in Pharmaceutical Applications: Fucoidan and Chitosan as Key Players in the Drug Delivery Match Field. Research Gate. https://www.researchgate.net/figure/Chemical-structure-of-fucoidan-unit-from-Fucus-vesiculosus_fig3_337459250

Batory, M., & Rotsztejn, H. (2021). Shikimic acid in the light of current knowledge. *J Cosmet Dermatol.* National Library of Medicine. Recuperado de: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33825313/>.

Batory, M., & Rotsztejn, H. (2022). Shikimic acid in the light of current knowledge. *J Cosmet Dermatol.* National Library of Medicine. Obtenido de: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33825313/>.

Bedoux, G., Hardouin, K., Burlot, A., & Bourgougnon, N. (2014). Chapter Twelve - Bioactive Components from Seaweeds: Cosmetic Applications and Future Development. *Advances in Botanical Research.* Science Direct Journal. Obtenido de: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/B9780124080621000123>.

Bedoux, G., Hardouin, K., Burlot, A., & Bourgougnon, N. (2014). Chapter Twelve - Bioactive Components from Seaweeds: Cosmetic Applications and Future Development. *Advances in Botanical Research.* Volume 71. Recuperado de: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/B9780124080621000123>.

Bochkov, D., Sysolyatin, S., Kalashnikov, A., et al. (2011) Shikimic acid: review of its analytical, isolation, and purification techniques from plant and microbial sources. Springer-Verlag. DOI 10.1007/s12154-011-0064-8.

Bocker, C., Wiesweg, K., y Doberenz, C. (2023). The Tolerability and Effectiveness of Marine-Based Ingredients in Cosmetics: A Split-Face Clinical Study of a Serum Spray Containing *Fucus vesiculosus* Extract, *Ulva lactuca* Extract, and Ectoin. *Feature Papers in Cosmetics in 2023.* Recuperado de: <https://www.mdpi.com/2079-9284/10/3/93>.

Bocker, C., Wiesweg, K., y Doberenz, C. (2023). The Tolerability and Effectiveness of Marine-Based Ingredients in Cosmetics: A Split-Face Clinical Study of a Serum Spray Containing *Fucus vesiculosus* Extract, *Ulva lactuca* Extract, and Ectoin. *Feature Papers in Cosmetics in 2023.* Recuperado de: <https://www.mdpi.com/2079-9284/10/3/93>.

Chem Impex. (S.f) Ácido Shikímico. <https://www.chemimpex.com/es/products/39515?srsId=AfmBOornYvIajpInrilHIe6PQdfp6SPt5ONYnKz4nv7LbL8UJsFLQt2Z>

- Chen, Huang, Zhang, et al. (2016). Skin whitening capability of shikimic acid pathway compounds. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*. Recuperado de: <https://www.europeanreview.org/wp/wp-content/uploads/1214-1220.pdf>
- Chen, J., Liu, Y., Zhao, J. (2021). Oxidative stress in the skin: Impact and related protection. *International Journey of Cosmetic Science*. Obtenido de: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/ics.12728>
- Chen, Y., Wen, L., Zhang, C., et al. (2016) Skin whitening capability of shikimic acid pathway compound. *National Library of Medicine*. Obtenido de: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27049279/>
- De la Torre, L. (2010) FUCUS. *Homeovita*. <https://www.homeovita.com.uy/fichas/fucus.pdf>
- Díaz, Carmona, Bolívar, et al. (2014). Current perspectives on applications of shikimic and aminoshikimic acids in pharmaceutical chemistry. *Universidad Autónoma de México*. Recuperado de: <https://www.dovepress.com/getfile.php?fileID=20938>
- Fitton, H., Acqua, G., Gardiner, V., Karpiniec, S., Stringer, D., y Davis, E. (2015). Topical Benefits of Two Fucoïdan-Rich Extracts from Marine Macroalgae. *MDPI Journals*. Recuperado de: <https://www.mdpi.com/2079-9284/2/2/66>.
- Gopalsamy, Bruno, Poovathumkal, et al. (2023) Natural sources, biosynthesis, biological functions, and molecular mechanisms of shikimic acid and its derivatives. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*. Recuperado de: https://journals.lww.com/aptb/fulltext/2023/13040/natural_sources,_biosynthesis,_biological.1.aspx
- Goswami, G., y Bang, V. (2015). DIVERSE APPLICATIONS OF ALGAE. *International Journal of Advance Research In Science And Engineering*. IJARSE, Vol. No.4, Special Issue. Recuperado de: https://www.researchgate.net/profile/Vinal-Bang/publication/274639748_DIVERSE_APPLICATIONS_OF_ALGAE/links/571a39a408aee3ddc568f127/DIVER.
- Goswami, G., y Bang, V. (2015). DIVERSE APPLICATIONS OF ALGAE. *International Journal of Advance Research In Science And Engineering*. IJARSE, Vol. No.4, Special

- Issue. Recuperado de: https://www.researchgate.net/profile/Vinal-Bang/publication/274639748_DIVERSE_APPLICATIONS_OF_ALGAE/links/571a39a408aee3ddc568f127/DIVER.
- Guillerme, J., Couteau, C., y Coiffard, L. (2017). Applications for Marine Resources in Cosmetics. *Cosmetics from Marine Sources*. Obtenido de: <https://www.mdpi.com/2079-9284/4/3/35>.
- Guillerme, J., Couteau, C., y Coiffard, L. (2017). Applications for Marine Resources in Cosmetics. *Cosmetics from Marine Sources*. Recuperado de: <https://www.mdpi.com/2079-9284/4/3/35>.
- Guo, Wang, Xu, et al. (2018). Shikimic acid prevents cartilage matrix destruction in human chondrocytes. *Medical University Suzhou, China*. Recuperado de: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1567576918303485?via%3Dihub>
- Hortas, L., Fernandez, N., Torres, M., Anta, T., Casas, M., Balboa, E., . . . Dominguez, H. (2021). Applying Seaweed Compounds in Cosmetics, Cosmeceuticals and Nutricosmetics. *National Library of Medicine*. Recuperado de: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8539943/>.
- Hortas, L., Fernandez, N., Torres, M., Anta, T., Casas, M., Balboa, E., . . . Dominguez, H. (2021). Applying Seaweed Compounds in Cosmetics, Cosmeceuticals and Nutricosmetics. *National Library of Medicine*. Recuperado de: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8539943/>.
- Hortas, L., Fernandez, N., Torres, M., Anta, T., Casas, M., Balboa, E., . . . Dominguez, H. (2021). Applying Seaweed Compounds in Cosmetics, Cosmeceuticals and Nutricosmetics. *Nutra-Cosmeceuticals from Algae for Health and Wellness*. Recuperado de: <https://www.mdpi.com/1660-3397/19/10/552>.
- <https://link.springer.com/article/10.1007/s00253-013-4840-y>
- Kalasariya, H., Yavad, V., Yadav, K., Tirth, V., Algahtani, A., Islam, S., . . . Jeon, B. (2021). Seaweed-Based Molecules and Their Potential Biological Activities: An Eco-Sustainable

Cosmetics. Plant Secondary Metabolites Isolation, Interaction and Biological Activities. Recuperado de: <https://www.mdpi.com/1420-3049/26/17/5313>.

Kalasariya, H., Yavad, V., Yadav, K., Tirth, V., Algahtani, A., Islam, S., . . . Jeon, B. (2021). Seaweed-Based Molecules and Their Potential Biological Activities: An Eco-Sustainable Cosmetics. Plant Secondary Metabolites Isolation, Interaction and Biological Activities. Recuperado de: <https://www.mdpi.com/1420-3049/26/17/5313>.

Kartik, A., Akhil, D., Lakshmi, D., Gopinath, K., Arun, J., Sivaramakrishnan, R., y Pugazhendhi, A. (2021). A critical review on production of biopolymers from algae biomass and their applications. Bioresource Technology. Science Direct Journal. Obtenido de: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0960852421002078>.

Kartik, A., Akhil, D., Lakshmi, D., Panchamoorthy, K., Arun, J., Sivaramakrishnan, R., y Pugazhendhi, A. (2021). A critical review on production of biopolymers from algae biomass and their applications. Bioresource Technology, Volumen 329. Recuperado de: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0960852421002078>.

Kelly, Gibara, Almeida , et al. (2016). Shikimic acid inhibits LPS-induced cellular pro-inflammatory cytokines and attenuates mechanical hyperalgesia in mice. Recuperado de: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1567576916302867?ref=pdf_download&fr=RR-2yrr=8958884aefe792fc

Krishna, S., y Miller, L. (2012). Host–pathogen interactions between the skin and Staphylococcus aureus. Current Opinion in Microbiology. Obtenido de: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S136952741100186X>.

Kustrin, S., y Morton, D. (2013). Cosmeceuticals Derived from Bioactive Substances Found in Marine Algae. School of Pharmacy and Applied Science, La Trobe University, Australia. Recuperado de: <https://pdfs.semanticscholar.org/b4ec/80de6fc1da2b8fb8315d3e8466cd075aa80e.pdf>.

Lee, K., y Mooney, D. (2012). Alginate: Properties and biomedical applications. Progress in Polymer Science. Science Direct Journal. Obtenido de: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0079670011000918>.

- Lee, K., y Mooney, D. (2012). Alginate: Properties and biomedical applications. *Progress in Polymer Science*. Volume 37, Issue 1. Recuperado de: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0079670011000918>.
- Liu, H., Li, Q., Zhang., et al. (2009) Analysis of (2)-Shikimic Acid in Chinese Star Anise by GC–MS with Selected Ion Monitoring. *Chromatographia*, 2009, 69, 339-344.
- Mahmood, O. (2022). Effect Of Shikimic Acid And Acetylsalicylic Acid On Biofilm Formation In *Staphylococcus Epidermidis*. Recuperado de: <https://pnrjournal.com/index.php/home/article/view/2781/2421>
- Martínez, Fernández, Marazuela, et al. (2021). Shikimic acid protects skin cells from UV-induced senescence through activation of the NAD⁺-dependent deacetylase SIRT1. Recuperado de: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8148468/>
- Mitura, S., Sionkowska, A., y Jaiswal, A. (2020). Biopolymers for hydrogels in cosmetics: review. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*. Recuperado de: <https://link.springer.com/article/10.1007/s10856-020-06390-w>.
- Mitura, S., Sionkowska, A., y Jaiswal, A. (2020). Biopolymers for hydrogels in cosmetics: review. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*. Recuperado de: <https://link.springer.com/article/10.1007/s10856-020-06390-w>.
- Murphy, M., y Dow, A. (2021). Clinical Studies of the Safety and Efficacy of Macroalgae Extracts in Cosmeceuticals. *National Library of Medicine*. Recuperado de: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8711622/>.
- Naggar, N. (2021) FTIR of *F. vesiculosus* (A) and (B) MO and copper ions biosorption from aqueous solution. *Research Gate*. https://www.researchgate.net/figure/FTIR-of-F-vesiculosus-before-A-and-after-B-MO-and-copper-ions-biosorption-from_fig2_349215241
- Obluchinskaya, E., Pozharistkaya, O., Zakharov, D., et al. (2022) The Biochemical Composition and Antioxidant Properties of *Fucus vesiculosus* from the Arctic Region. *Marine Drugs*. MDPI.

- Ohira, H., Torii, N., Aida, T., et al. (2009) Rapid separation of shikimic acid from Chinese star anis (*Illicium verum* Hook. f.) with hot water extraction. *Separation and Purification Technology*. Obtenido de: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1383586609002809>
- Ovchinnikov, D., Bogolitsyn, K., Druzhinina, A., et al (2019) Study of Polyphenol Components in Extracts of Arctic Brown Algae of *Fucus vesiculosus* Type by Liquid Chromatography and Mass-Spectrometry. *Journal of Analytical Chemistry*. ISSN 1061-9348.
- Pagels, F., Arias, A., Guerreiro, A., y Guedes, C. (2022). Seaweed Cosmetics under the Spotlight of Sustainability. Economically and Environmentally Sustainable Algal Production, Harvesting and CO₂ Sequestration. Recuperado de: <https://www.mdpi.com/2673-9410/2/4/21>.
- Pagels, F., Arias, A., Guerreiro, A., y Guedes, C. (2022). Seaweed Cosmetics under the Spotlight of Sustainability. Economically and Environmentally Sustainable Algal Production, Harvesting and CO₂ Sequestration. Recuperado de: <https://www.mdpi.com/2673-9410/2/4/21>.
- Rawat, Tripathi y Saxena. (2013). Expanding horizons of shikimic acid. Recuperado de:
- Renobales, J. (2001) *Fucus vesiculosus* L. <https://www.ehu.eus/documents/1686888/3913390/3.+Fucus+vesiculosus.pdf>
- Ribó, M. (2016)9 El anís estrellado. Ficha Técnica El Botiquín Natural. <https://revista-ae.es/wp-content/uploads/2017/03/Anís-estrellado.pdf>
- Rius, Hernández. (2010) Obtención de ácido shikímico a partir de liquidámbar styraciflua. Universidad Nacional Autónoma de México. https://www.researchgate.net/publication/259177317_OBTENCION_DE_ACIDO_SHIKIMICO_A_PARTIR_DE_LIQUIDAMBAR_STYRACIFLUA
- Rius,Hernández, et al.(2010). Obtención del Ácido Shikímico a partir de Liquidámbar Styraciflua. Congreso Internacional de docencia e investigación química México. Recuperado de:

https://www.researchgate.net/publication/259177317_OBTENCION_DE_ACIDO_SHIKIMICO_A_PARTIR_DE_LIQUIDAMBAR_STYRACIFLUA

Royal Botanic Gardens (2023) *Illicium verum*. Plants of the World Online. <https://powo.science.kew.org/taxon/urn:lsid:ipni.org:names:554553-1/general-information>

Sandsdalen, E., Haug, T., Stensvag, K., et al. (2003) The antibacterial effect of a polyhydroxylated fucophlorethol from the marine brown alga, *Fucus vesiculosus*. *World Journal of Microbiology y Biotechnology*. 19: 777-782.

Savitri, E., Rahmawaty, A., Minarno, E. (2024) Antioxidant, anti-collagenase, and antibacterial activities of *Fucus vesiculosus* silver nanoparticles. Department of Biology, Faculty of Science, Islam Negeri Universitas.

Sheng, Yi, Zhong, et al. (2022). Shikimic acid biosynthesis in microorganisms: Current status and future direction. Universidad de Jiangnan, China. Recuperado de: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0734975022001690>

Thiyagarasaiyar, K., Goh, B., Jeon, Y., y Yow, Y. (2020). Algae Metabolites in Cosmeceutical: An Overview of Current Applications and Challenges. *Marine-Derived Ingredients for Cosmeceuticals*. Obtenido de: <https://www.mdpi.com/1660-3397/18/6/323>.

Thiyagarasaiyar, K., Goh, B., Jeon, Y., y Yow, Y. (2020). Algae Metabolites in Cosmeceutical: An Overview of Current Applications and Challenges. *Marine-Derived Ingredients for Cosmeceuticals*. Recuperado de: <https://www.mdpi.com/1660-3397/18/6/323>.

Wook, Hyaee, Kim, Park, et al. (2021). Plant callus-derived shikimic acid regenerates human skin through converting human dermal fibroblasts into multipotent skin-derived precursor cells. Recuperado de: <https://link.springer.com/article/10.1186/s13287-021-02409-3>

Zenthofer, M., Geisen., Hoffmann, K. et al. (2017) Isolation of polyphenols with anticancer activity from the Baltic Sea brown seaweed *Fucus vesiculosus* using bioassay-guided fractionation. *Springer Science Buisness Media*. 29:2021-2037.

CAPÍTULO VI. ANEXOS

Anexo 1. Carta de Correlación de grupos funcionales en el IR – Tensiones y Flexiones

Modos de vibraciones fundamentales

(Tensiones y Flexiones)

En el IR (40)

ALKANES

The spectrum is usually simple, with few peaks.

- C–H Stretch occurs around 3000 cm^{-1} .
In alkanes (except strained ring compounds), sp^3 C–H absorption always occurs at frequencies less than 3000 cm^{-1} ($3000\text{--}2840\text{ cm}^{-1}$).
If a compound has vinylic, aromatic, acetylenic, or cyclopropyl hydrogens, the C–H absorption is greater than 3000 cm^{-1} . These compounds have sp^2 and sp hybridizations (see Sections 2.10B and 2.10C).
- CH₂ Methylene groups have a characteristic bending absorption of approximately 1465 cm^{-1} .
- CH₃ Methyl groups have a characteristic bending absorption of approximately 1375 cm^{-1} .
- CH₂ The bending (rocking) motion associated with four or more CH₂ groups in an open chain occurs at about 720 cm^{-1} (called a long-chain band).
- C–C Stretch not interpretatively useful; many weak peaks.

ALKENES

- =C–H Stretch for sp^2 C–H occurs at values greater than 3000 cm^{-1} .
($3095\text{--}3010\text{ cm}^{-1}$)
- =C–H Out-of-plane (oop) bending occurs in the range $1000\text{--}650\text{ cm}^{-1}$.

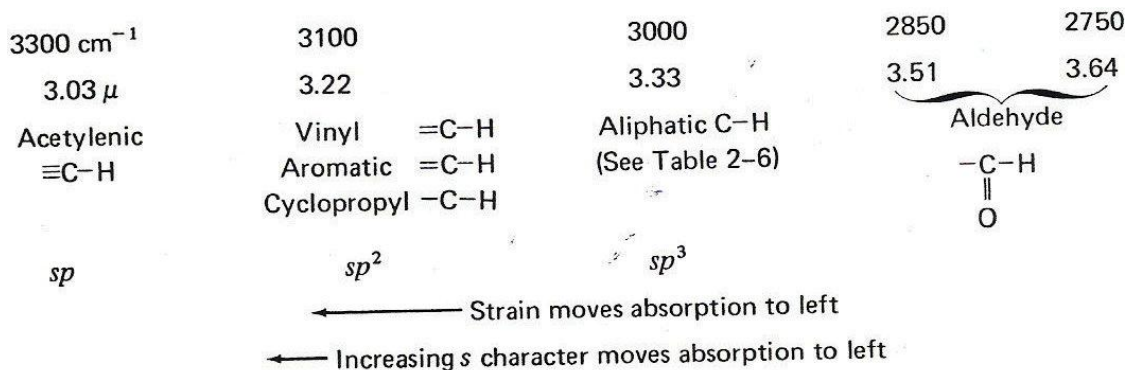
These bands can be used to determine the degree of substitution on the double bond (see discussion).

- C=C Stretch occurs at $1660\text{--}1600\text{ cm}^{-1}$; often conjugation moves C=C stretch to lower frequencies and increases the intensity.
Symmetrically substituted bonds (e.g., 2,3-dimethyl-2-butene) do not absorb in the infrared (no dipole change).
Symmetrically disubstituted (*trans*) double bonds are often vanishingly weak in absorption; *cis* are stronger.

ALKYNES

- $\equiv\text{C}-\text{H}$ Stretch for sp C-H usually occurs near 3300 cm^{-1} .
- $\text{C}\equiv\text{C}$ Stretch occurs near 2150 cm^{-1} ; conjugation moves stretch to lower frequency. Disubstituted or symmetrically substituted triple bonds give either no absorption or weak absorption.

Región de las tensiones C-H



AROMATIC RINGS

- $=\text{C}-\text{H}$ Stretch for sp^2 C-H occurs at values greater than 3000 cm^{-1} ($3050\text{--}3010\text{ cm}^{-1}$).
- $=\text{C}-\text{H}$ Out-of-plane (oop) bending occurs at $900\text{--}690\text{ cm}^{-1}$. These bands can be used with great utility to assign the ring substitution pattern (see discussion).
- $\text{C}=\text{C}$ Ring stretch absorptions often occur in pairs at 1600 cm^{-1} and 1475 cm^{-1} .

Overtone/combination bands appear between 2000 and 1667 cm^{-1} . These *weak* absorptions can be used to assign the ring substitution pattern (see discussion).

ALCOHOLS AND PHENOLS

- $\text{O}-\text{H}$ The free O-H stretch is a *sharp* peak at $3650\text{--}3600\text{ cm}^{-1}$. This band appears in combination with the hydrogen-bonded O-H peak when the alcohol is dissolved in a solvent (see discussion).
The hydrogen-bonded O-H band is a *broad* peak at $3400\text{--}3300\text{ cm}^{-1}$. This band is usually the only one present in an alcohol that has not been dissolved in a solvent (neat liquid). When the alcohol is dissolved in a solvent, the free O-H and hydrogen-bonded O-H bands are present together, with the relatively weak free O-H on the left (see discussion).
- $\text{C}-\text{O}-\text{H}$ Bending appears as a broad and weak peak at $1440\text{--}1220\text{ cm}^{-1}$ often obscured by the CH_3 bendings.
- $\text{C}-\text{O}$ Stretching vibration usually occurs in the range $1260\text{--}1000\text{ cm}^{-1}$. This band can be used to assign a primary, secondary, or tertiary structure to an alcohol (see discussion).

ETHERS

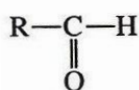
C—O The most prominent band is that due to C—O stretch, 1300–1000 cm^{-1} . Absence of C=O and O—H is required to ensure that C—O stretch is not due to an ester or an alcohol. Phenyl alkyl ethers give two strong bands at about 1250 and 1040 cm^{-1} , while aliphatic ethers give one strong band at about 1120 cm^{-1} .

Tensiones del carbonilo en diferentes grupos funcionales

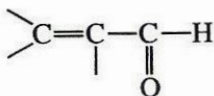
← cm^{-1} →							
1810	1800	1760	1735	1725	1715	1710	1690
Anhydride (band 1)	Acid chloride	Anhydride (band 2)	Ester	Aldehyde	Ketone	Carboxylic acid	Amide

ALDEHYDES

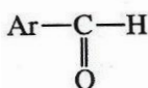
C=O



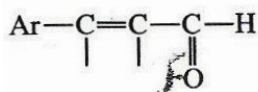
C=O stretch appears in range 1740–1725 cm^{-1} for normal aliphatic aldehydes.



Conjugation of C=O with α, β C=C; 1700–1680 cm^{-1} for C=O and 1640 cm^{-1} for C=C.



Conjugation of C=O with phenyl; 1700–1660 cm^{-1} for C=O and 1600–1450 cm^{-1} for ring.



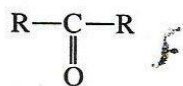
Longer conjugated system; 1680 cm^{-1} for C=O.

C—H

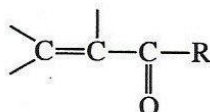
Stretch, aldehyde hydrogen (—CHO), consists of a pair of weak bands, one at 2860–2800 cm^{-1} and the other at 2760–2700 cm^{-1} . It is easier to see the band at the lower frequency because it is not obscured by the usual C—H bands from the alkyl chain. The higher-frequency aldehyde C—H stretch is often buried in the aliphatic C—H bands.

KETONES

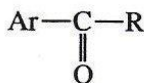
C=O



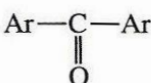
C=O stretch appears in range $1720\text{--}1708\text{ cm}^{-1}$ for normal aliphatic ketones.



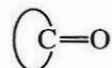
Conjugation of C=O with α,β C=C; $1700\text{--}1675\text{ cm}^{-1}$ for C=O and $1644\text{--}1617\text{ cm}^{-1}$ for C=C.



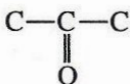
Conjugation of C=O with phenyl; $1700\text{--}1680\text{ cm}^{-1}$ for C=O and $1600\text{--}1450\text{ cm}^{-1}$ for ring.



Conjugation with two aromatic rings; $1670\text{--}1600\text{ cm}^{-1}$ for C=O.



Cyclic ketones; C=O frequency increases with decreasing ring size.



Bending appears as a medium-intensity peak in the range $1300\text{--}1100\text{ cm}^{-1}$.

CARBOXYLIC ACIDS

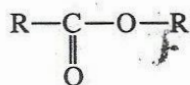
O-H Stretch, usually *very broad* (strongly H-bonded), occurs at $3400\text{--}2400\text{ cm}^{-1}$ and often overlaps the C-H absorptions.

C=O Stretch, broad, occurs at $1730\text{--}1700\text{ cm}^{-1}$. Conjugation moves the absorption to a lower frequency.

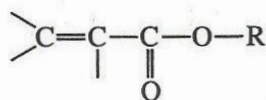
C-O Stretch occurs in the range $1320\text{--}1210\text{ cm}^{-1}$, medium intensity.

ESTERS

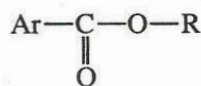
C=O



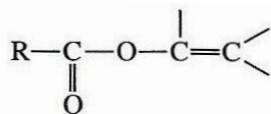
C=O stretch appears in range $1750\text{--}1735\text{ cm}^{-1}$ for normal aliphatic esters.



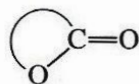
Conjugation of C=O with α,β C=C; $1740\text{--}1715\text{ cm}^{-1}$ for C=O and $1640\text{--}1625\text{ cm}^{-1}$ for C=C (two bands for some C=C, *cis* and *trans*, p. 52.)



Conjugation of C=O with phenyl; $1740\text{--}1715\text{ cm}^{-1}$ for C=O and $1600\text{--}1450\text{ cm}^{-1}$ for ring.



Conjugation of a single-bonded oxygen atom with C=C or phenyl; 1765–1762 cm^{-1} for C=O.



Cyclic esters (lactones); C=O frequency increases with decreasing ring size.



Stretch in two or more bands, one stronger and broader than the other, occurs in the range 1300–1000 cm^{-1} .

AMIDES

C=O Stretch occurs at approximately 1680–1630 cm^{-1} .

N–H Stretch in primary amides ($-\text{NH}_2$) gives two bands near 3350 and 3180 cm^{-1} . Secondary amides have one band ($-\text{NH}$) at about 3300 cm^{-1} .

N–H Bending occurs around 1640–1550 cm^{-1} for primary and secondary amides.

ACID CHLORIDES

C=O Stretch occurs in the range 1810–1775 cm^{-1} in unconjugated chlorides. Conjugation lowers the frequency to 1780–1760 cm^{-1} .

C–Cl Stretch occurs in the range 730–550 cm^{-1} .

ANHYDRIDES

C=O Stretch always has two bands, 1830–1800 cm^{-1} and 1775–1740 cm^{-1} , with variable relative intensity. Conjugation moves the absorption to a lower frequency. Ring strain (cyclic anhydrides) moves the absorptions to a higher frequency.

C–O Stretch (multiple bands) occurs in the range 1300–900 cm^{-1} .

AMINES

N–H Stretch occurs in the range 3500–3300 cm^{-1} . Primary amines have two bands. Secondary amines have one band: a vanishingly weak one for aliphatic compounds and a stronger one for aromatic secondary amines. Tertiary amines have no N–H stretch.

N–H Bend in primary amines results in a broad band in the range 1640–1560 cm^{-1} . Secondary amines absorb near 1500 cm^{-1} .

N–H Out-of-plane bending absorption can sometimes be observed near 800 cm^{-1} .

C–N Stretch occurs in the range 1350–1000 cm^{-1} .

NITRILES $R-C\equiv N$

$-C\equiv N$ Stretch is a medium-intensity, sharp absorption near 2250 cm^{-1} . Conjugation with double bonds or aromatic rings moves the absorption to a lower frequency.

Examples: butyronitrile (Fig. 2.62) and benzonitrile (Fig. 2.63).

ISOCYANATES $R-N=C=O$

$-N=C=O$ Stretch in an isocyanate gives a broad, intense absorption near 2270 cm^{-1} .

Example: benzyl isocyanate (Fig. 2.64).

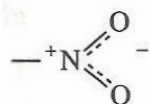
ISOTHIOCYANATES $R-N=C=S$

$-N=C=S$ Stretch in an isothiocyanate gives one or two broad, intense absorptions centering near 2125 cm^{-1} .

IMINES $R_2C=N-R$

$-C=N-$
|
Stretch in an imine, oxime, and so on gives a variable-intensity absorption in the range $1690-1640\text{ cm}^{-1}$.

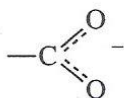
NITRO COMPOUNDS



Aliphatic nitro compounds: asymmetric stretch (strong), $1600-1530\text{ cm}^{-1}$; symmetric stretch (medium), $1390-1300\text{ cm}^{-1}$.

Aromatic nitro compounds (conjugated): asymmetric stretch (strong), $1550-1490\text{ cm}^{-1}$; symmetric stretch (strong), $1355-1315\text{ cm}^{-1}$.

CARBOXYLATE SALTS $\text{R}-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}-\text{O}^- \text{Na}^+$



Asymmetric stretch (strong) occurs near 1600 cm^{-1} ; symmetric stretch (strong) occurs near 1400 cm^{-1} .

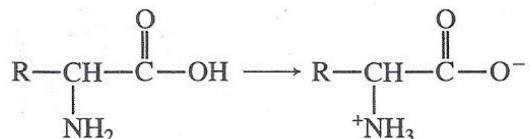
Frequency of $\text{C}=\text{O}$ absorption is lowered from the value found for the parent carboxylic acid because of resonance (more single-bond character).

AMINE SALTS NH_4^+ RNH_3^+ R_2NH_2^+ R_3NH^+

N-H Stretch (broad) occurs at $3300\text{--}2600 \text{ cm}^{-1}$. The ammonium ion absorbs to the left in this range, while the tertiary amine salt absorbs to the right. Primary and secondary amine salts absorb in the middle of the range, $3100\text{--}2700 \text{ cm}^{-1}$. A broad band often appears near 2100 cm^{-1} .

N-H Bend (strong) occurs at $1610\text{--}1500 \text{ cm}^{-1}$. Primary (two bands) is asymmetric at 1610 cm^{-1} , symmetric at 1500 cm^{-1} . Secondary absorbs in the range $1610\text{--}1550 \text{ cm}^{-1}$. Tertiary absorbs only weakly.

AMINO ACIDS



These compounds exist as zwitterions (internal salts) and exhibit spectra that are combinations of carboxylate and primary amine salts. Amino acids show NH_3^+ stretch (very broad), N-H bend (asymmetric/symmetric), and COO^- stretch (asymmetric/symmetric).

MERCAPTANS $\text{R}-\text{S}-\text{H}$

S-H Stretch, one weak band, occurs near 2550 cm^{-1} and virtually confirms the presence of this group, since few other absorptions appear here.

Example: benzenethiol (Fig. 2.68).

SULFIDES $\text{R}-\text{S}-\text{R}$

Little useful information is obtained from the infrared spectrum.

SULFOXIDES $\text{R}-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{S}}-\text{R}$

S=O Stretch, one strong band, occurs near 1050 cm^{-1} .

PHOSPHINES RPH_2 R_2PH

P-H	Stretch, one strong, sharp band, at 2320–2270 cm^{-1} .
PH_2	Bend, medium bands, at 1090–1075 cm^{-1} and 840–810 cm^{-1} .
P-H	Bend, medium band, at 990–885 cm^{-1} .
P- CH_3	Bend, medium bands, at 1450–1395 cm^{-1} and 1346–1255 cm^{-1} .
P- CH_2 -	Bend, medium band, at 1440–1400 cm^{-1} .

PHOSPHINE OXIDES $R_3P=O$ $Ar_3P=O$

P=O	Stretch, one very strong band, at 1210–1140 cm^{-1} .
-----	---

PHOSPHATE ESTERS $(RO)_3P=O$

P=O	Stretch, one very strong band, at 1300–1240 cm^{-1} .
R-O	Stretch, one or two strong bands, at 1088–920 cm^{-1} .
P-O	Stretch, medium band, at 845–725 cm^{-1} .

FLUORIDES R-F

C-F	Stretch (strong) at 1400–1000 cm^{-1} . Monofluoroalkanes absorb at the lower-frequency end of this range, while polyfluoroalkanes give multiple strong bands in the range 1350–1100 cm^{-1} . Aryl fluorides absorb between 1250 and 1100 cm^{-1} .
-----	--

CHLORIDES R-Cl

C-Cl	Stretch (strong) in aliphatic chlorides occurs in the range 785–540 cm^{-1} . Primary chlorides absorb at the upper end of this range, while tertiary chlorides absorb near the lower end. Two or more bands may be observed, due to the different conformations which are possible. Multiple substitution on a single-carbon atom results in an intense absorption at the upper-frequency end of this range: CH_2Cl_2 (739 cm^{-1}), $HCCl_3$ (759 cm^{-1}), and CCl_4 (785 cm^{-1}). Aryl chlorides absorb between 1100 and 1035 cm^{-1} .
CH_2 -Cl	Bend (wagging) at 1300–1230 cm^{-1} .

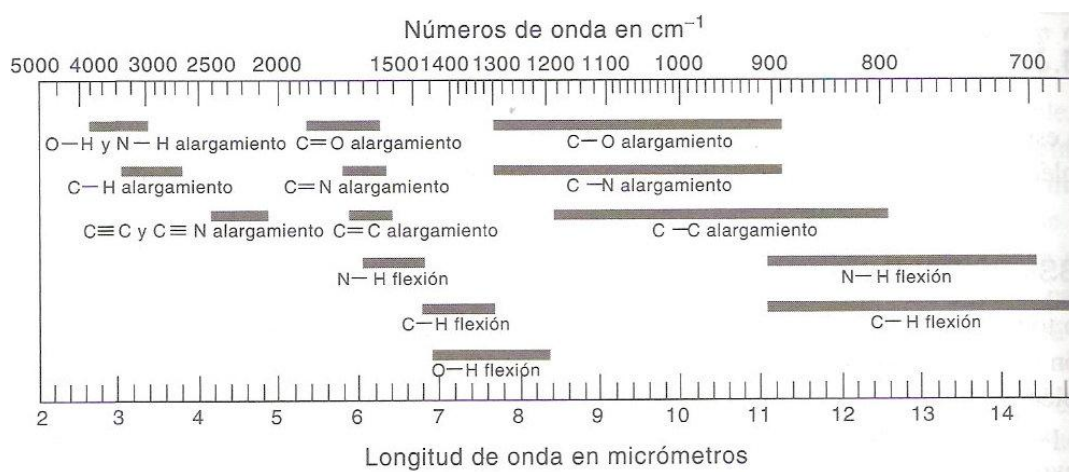
BROMIDES R-Br

C-Br	Stretch (strong) in aliphatic bromides occurs at 650–510 cm^{-1} , out of the range of routine spectroscopy using NaCl plates or cells. The trends indicated for aliphatic chlorides hold for bromides. Aryl bromides absorb between 1075 and 1030 cm^{-1} .
CH_2 -Br	Bend (wagging) at 1250–1190 cm^{-1} .

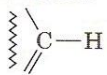
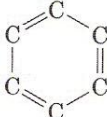
IODIDES R-I

C-I	Stretch (strong) in aliphatic iodides occurs at 600–485 cm^{-1} , out of the range of routine spectroscopy using NaCl plates or cells. The trends indicated for aliphatic chlorides hold for iodides.
CH_2 -I	Bend (wagging) at 1200–1150 cm^{-1} .

Principales correlaciones entre vibraciones de grupos y regiones de absorción infrarroja



Valores de frecuencias de absorción en el IR medio de algunos grupos funcionales

Tipo de grupo funcional	Posición de la banda (cm ⁻¹)	Intensidad de absorción
Alcanos, grupos alquilo C—H	2850–2960	Media a fuerte
Alquenos =C—H	3020–3100	Media
C=C	1640–1680	Media
Alquinos ≡C—H	3300	Fuerte
—C≡C—	2100–2260	Media
Halogenuros de alquilo C—Cl	600–800	Fuerte
C—Br	500–600	Fuerte
C—I	500	Fuerte
Alcoholes O—H	3400–3650	Fuerte, ancha
C—O	1050–1150	Fuerte
Aromáticos 	3030	Débil
	1660–2000	Débil
	1450–1600	Media
Aminas N—H	3300–3500	Media
C—N	1030–1230	Media
Compuestos de carbonilo ^a C=O	1670–1780	Fuerte
Ácidos carboxílicos O—H	2500–3100	Fuerte, muy ancha
Nitrilos C≡N	2210–2260	Media
Compuestos nitro NO ₂	1540	Fuerte

^aÁcidos carboxílicos, ésteres, aldehídos y cetonas.

CAPÍTULO VII. APÉNDICE

Carta para la solicitud de defensa de Trabajos Finales de Graduación Farmacia

San José, 7 de abril del 2025

Entrega del documento: 7 de abril 2025

Señores:

Comité de Investigación de la Facultad de Farmacia

Universidad de Iberoamérica.

Estimados:

La presente carta es para solicitar ante la facultad la fecha para la defensa del proyecto final de graduación titulado como **"EVALUACIÓN DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DEL FUCUS VESICULOSUS (SARGAZO VEJIGOSO) Y CAPACIDAD ANTIBACTERIANA DEL ÁCIDO SHIKÍMICO CON EL OBJETIVO DE DESARROLLAR UNA PREFORMULACIÓN DE PARCHES DE BIOPOLÍMEROS PARA EL CONTORNO DE OJOS Y UNA CREMA HIDRATANTE DIRIGIDA A LA INDUSTRIA COSMÉTICA EN COSTA RICA"**.

La defensa de este es para optar por el grado de Licenciatura en Farmacia en el periodo I cuatrimestre del 2025.

Lo anterior debido a que se considera que el documento se encuentra listo y ha sido revisado por el tutor para su defensa.

Sin otro particular se despide:

Julissa

Julissa Solano Alvarado

3-0533-0064



Sergio Esteban Rodríguez Rodríguez

1-1610-0757

Elaborado por Douglas Oviedo	Cargo: Coordinador de Investigación	Fecha: 09/05/2024	Aprobado por: Ms.c. Melissa Martinez	Cargo: Decana Facultad Farmacia	Página 1 de 1
---------------------------------	---	----------------------	--	---------------------------------------	---------------

**Carta de aprobación por parte del tutor para la defensa de Trabajos Finales de
Graduación Farmacia**

San José, 7 de abril del 2025

Señores:

Comité de Investigación de la Facultad de Farmacia

Universidad de Iberoamérica.

Estimados:

La presente carta es para notificar formalmente que el trabajo final de graduación titulado como "EVALUACIÓN DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DEL FUCUS VESICULOSUS (SARGAZO VEJIGOSO) Y CAPACIDAD ANTIBACTERIANA DEL ÁCIDO SHIKÍMICO CON EL OBJETIVO DE DESARROLLAR UNA PREFORMULACIÓN DE PARCHES DE BIOPOLÍMEROS PARA EL CONTORNO DE OJOS Y UNA CREMA HIDRATANTE DIRIGIDA A LA INDUSTRIA COSMÉTICA EN COSTA RICA" y realizado por los estudiantes Julissa Solano Alvarado, cédula 3-0533-0064 y Sergio Esteban Rodríguez Rodríguez, cedula 1-1610-0757; el trabajo cumple con los requisitos para la defensa de dicha investigación, se califica dicha aprobación con los siguientes criterios:

	Criterio	Calificación asignada (%)	Calificación obtenida (%)
1	Cumple con las entregas de los avances	20	20
2	Documento presenta coherencia entre los objetivos, justificación, metodología y presentación de los resultados	30	30
3	Documento presente relevancia en las conclusiones de la investigación	25	25
4	Documento presenta alta calidad de detalle del marco teórico	25	25
	Total	100	100

Hago constar que he revisado, calificado y aprobado la investigación en base a las políticas de investigación de la Facultad de Farmacia de la Universidad.

Sin más por añadir, se despide,

Karolina González Villalobos
Tutor de la investigación

KAROLINA GONZALEZ VILLALOBO S (FIRMA)
Firmado digitalmente por KAROLINA GONZALEZ VILLALOBO S (FIRMA)
 Fecha: 2025.04.07 13:00:50 -06'00'
 Firma

Elaborado por Douglas Oviedo	Cargo: Coordinador de Investigación	Fecha: 23/05/2024	Aprobado por: M.sc. Melissa Martínez	Cargo: Decana Facultad Farmacia	Página 1 de 1
---------------------------------	--	----------------------	---	------------------------------------	---------------

Carta de declaración jurada en Proyectos Finales de Graduación Farmacia

Los estudiantes Julissa Solano Alvarado, mayor de edad, con número de cédula 305330064 y Sergio Esteban Rodríguez Rodríguez, mayor de edad, con número de cédula 116100757 se hace constar por medio de este acto que debidamente apercibo y doy por entendido las penas y consecuencias con las que se castiga en el Código Penal el delito de Perjurio, ante quienes se constituyen en el Tribunal Calificador del presente Trabajo Final de Investigación para optar por el grado de Licenciatura en Farmacia, en San José, Tibás, juro solemnemente que el trabajo de investigación titulado "COLOCAR EL TITULO COMPLETO DE LA INVESTIGACIÓN", es una obra original e inédita cuya elaboración ha respetado todo lo preceptuado por las leyes penales, así como la Ley de Derecho de Autor y Derecho Conexos número 6683 del 14 de octubre de 1982 y sus reformas, publicada en la Gaceta número 226 del 25 de noviembre de 1982; incluyendo el numeral 70 de dicha ley que advierte; Artículo 70. Es permitido citar a un autor, transcribiendo los pasajes pertinentes siempre que estos no sean tantos y seguidos, que pueda considerarse como una producción simulada y sustancial que redunde en perjurio del autor de la obra original. Asimismo, quedo advertido que la universidad se reserva el derecho de protocolizar este documento ante Notario Público.

En fe de lo anterior, se firma en la ciudad de San José, a los 7 días del mes de abril del 2025.

Julissa

Julissa Solano Alvarado

305330064

Cédula



Sergio Esteban Rodríguez Rodríguez

116100757

Cédula

Elaborado por Douglas Oviedo	Cargo: Coordinador de Investigación	Fecha: 09/05/2024	Aprobado por: M.sc. Melissa Martínez	Cargo: Decana Facultad Farmacia	Página 1 de 1
---------------------------------	---	----------------------	--	---------------------------------------	---------------

CONSTANCIA DE REVISIÓN FILOLÓGICA

3 de abril, 2025

Registro

Universidad de Iberoamérica Unibe

A quien corresponda:

El suscrito da fe de que el trabajo final de graduación (modalidad tesis) para optar por el grado de Licenciatura en Farmacia titulado **Evaluación de la capacidad antioxidante del *Fucus vesiculosus* (sargazo vejigoso) y capacidad antibacteriana del ácido shikímico con el objetivo de desarrollar una preformulación de parches de biopolímeros para el contorno de ojos y una crema hidratante dirigida a la industria cosmética en Costa Rica**, de los sustentantes Sergio Esteban Rodríguez Rodríguez, cédula 116100757, y Julissa Solano Alvarado, cédula 305330064, fue sometido a revisión filológica.

Se han realizado las modificaciones pertinentes en los distintos niveles textuales, a saber, macro y microestructura, intención comunicativa, coherencia y cohesión, puntuación y ortografía. Todas han sido incorporadas en el texto.

Atentamente,

ROBERTO ANDRE 
ACUÑA VARGAS

ML. Roberto André Acuña

Filólogo

Número: 12007-274

Universidad de Iberoamérica UNIBE
Centro de Información y Documentación, Biblioteca

Autorización para la digitalización, inclusión y publicación de Trabajos Finales de Graduación (TFG) en el acervo digital del Centro de Información y Documentación "Fernando Flores Banuet" UNIBE.

Yo Julissa Solano Alvarado con cédula de identidad 305330064
y domicilio en Cartago, el Carmen, 500m norte del skate
Park, Carrez.

en condición del persona autora del TFG para por el grado de Lic en Farmacia
titulado "Evaluación de la capacidad antioxidante del
Fucus Vesiculosus y capacidad antibacteriana del ácido
Shikímico con el objetivo de desarrollar una preformulación
de parches de biopolímeros para el contorno de ojos y una
crema hidratante dirigida a la industria cosmética en CR"
autoriza de forma gratuita a la biblioteca de UNIBE, a digitalizar e incluir dicho TFG en el acervo digital de la biblioteca de UNIBE y a publicarlo a través de la página web u otro medio electrónico, para ser accedido según lo que UNIBE defina para su consulta o divulgación. Dicho texto se publicará en formato PDF, o en el formato que en su momento se establezca, de tal forma que el acceso al mismo sea libre y gratuito, permitiendo su consulta e impresión, pero no su modificación. La persona autora del TFG, garantiza a UNIBE que la tesis es el trabajo original que sirvió para la obtención de su título, que no infringe ni violenta ningún derecho de terceros.

Fecha: 21/5/25 Firma de la persona autora: Julissa

*Uso interno. Clasificación del TFG: _____

Universidad de Iberoamérica UNIBE

Centro de Información y Documentación, Biblioteca

Autorización para la digitalización, inclusión y publicación de Trabajos Finales de Graduación (TFG) en el acervo digital del Centro de Información y Documentación "Fernando Flores Banuet" UNIBE.

Yo Sergio Rodríguez Rodríguez con cédula de identidad 1-1610-0757
y domicilio en Cartago, Tres Ríos, a Umós. Residencia el
Omega.

en condición del persona autora del TFG para por el grado de Licenciatura en Farmacia
titulado Evaluación de la capacidad antioxidante del Ficus vesiculosa
y capacidad antibacteriana del dardo shibúnico con el objetivo
de desarrollar una preformulación de parches de biopolímeros para
el cuidado de piel y una crema hidratante dirigida a la industria
cosmética en Costa Rica.

autoriza de forma gratuita a la biblioteca de UNIBE, a digitalizar e incluir dicho TFG en el acervo digital de la biblioteca de UNIBE y a publicarlo a través de la página web u otro medio electrónico, para ser accedido según lo que UNIBE defina para su consulta o divulgación. Dicho texto se publicará en formato PDF, o en el formato que en su momento se establezca, de tal forma que el acceso al mismo sea libre y gratuito, permitiendo su consulta e impresión, pero no su modificación. La persona autora del TFG, garantiza a UNIBE que la tesis es el trabajo original que sirvió para la obtención de su título, que no infringe ni violenta ningún derecho de terceros.

Fecha: 21/5/25' Firma de la persona autora



*Uso interno. Clasificación del TFG: _____