



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE QUÍMICA

**POSIBILIDADES DE APLICACIÓN DE LA ESPECTROFOTOMETRIA
UV AL ANÁLISIS CUANTITATIVO DE LOS FILTROS SOLARES:
AVOBENZONA, OCTILMETOXCINAMATO Y OXIBENZONA EN
CREMAS FACIALES.**

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

**QUÍMICA FARMACÉUTICA BIÓLOGA
PRESENTA**

ISABEL GONZÁLEZ GALÁN



MÉXICO, D.F.

AÑO 2010



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

JURADO ASIGNADO:

PRESIDENTE: Profesora: ERNESTINA CERVERA FLORES

VOCAL: Profesor: ADOLFO GARCIA OSUNA

SECRETARIO: Profesora: CAROLINA MUÑOZ PADILLA

1er. SUPLENTE: Profesora: MARIA DEL SOCORRO ALPIZAR RAMOS

2° SUPLENTE: Profesora: GEORGINA ARTEMISA DUARTE LISCI

SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA:

DEPARTAMENTO DE QUÍMICA ANALÍTICA

EDIFICIO A, LABORATORIO 3A Y 3B

FACULTAD DE QUÍMICA, CIUDAD UNIVERSITARIA

ASESOR DEL TEMA:

ERNESTINA CERVERA FLORES

SUPERVISOR TÉCNICO:

SILVIA MENDOZA ARELLANO

SUSTENTANTE:

ISABEL GONZÁLEZ GALÁN

AGRADECIMIENTOS

A ti, que siempre que he pedido tu ayuda, me la has dado; que siempre proteges a mi familia. Del que muchas veces he dudado por sentir miedo que no existas. Pero de alguna manera me has ayudado en este largo camino, has puesto en mi vida a excelentes personas en el tiempo justo al igual que has quitado a las que me han hecho daño, has guiado mi camino. No sé cómo te llames, pero sé que debes existir.

A Ernestina Cervera y Silvia Mendoza que aparecieron en mi camino cuando estaba a punto de desertar y me hicieron sentir como en familia estos últimos años. Gracias maestra Tina, usted me dio la oportunidad de hacer mi primera crema, y después de varios intentos lo logré, y supe que no me había equivocado de profesión. Maestra Silvia gracias por su paciencia y cariño, me encantaba platicar con usted y reírnos a carcajadas de cualquier cosa. ¡Las quiero!

A todos los que trabajan o trabajaron en el laboratorio 3B durante estos dos años y medio donde tuve la fortuna de estar y trabajar. Sobre todo a ti Lili, muchas gracias por enseñarme tantas cosas. Y a mi buen amigo Alejandro, que fuiste mi maestro, confidente y amigo al mismo tiempo.

A todas las personas que conocí durante estos 5 años en la facultad, pues de cada una aprendí algo. Sería demasiado largo mencionarlos a todos pero gracias por todos los momentos que viví con cada uno de ustedes.

A Luisa, Olga, Adrian y Pablo por su gran amistad en estos cinco años. ¡Los quiero!

A Cristina y Rocío, mis grandes amigas, por siempre estar conmigo en las buenas y las malas durante todos estos años.

A todos mis tíos y tías por su apoyo incondicional y fe en mí. A todos mis primos. Montse y Danny que siempre estuvieron muy pendientes de mi carrera y apoyando. Miri, mi prima, mi amiga, mi confidente, mi apoyo, GRACIAS.

¡¡Pero sobretodo a mi familia!! Gracias por quererme con todos mis defectos, aceptarme y respetarme como soy, los amo.

A mi Polito, por tenerme toda la paciencia del mundo, por apoyarme todo este tiempo, me encanta poder compartir este logro contigo. Te amo.

A mi abue por tus consejos, “regaños” y anécdotas eres la abuela más hermosa que existe, gracias por siempre estar preocupada por todos nosotros, te amo.

A mi papá, porque siempre confiaste en que iba a acabar esta carrera, por siempre decir que era muy inteligente y que lograría lo que me propusiera. Por tus llamadas claves, siempre le atinabas a mis momentos de angustia y estrés y me calmabas. Por enseñarme que cuando de verdad quieres algo lo puedes lograr.

A Paco, que aunque lejos, vaya que opinaste en mi carrera, dando tus ideas millonarias (siento no haberlas llevado a cabo jaja). Eres y serás el mejor hermano mayor que alguien pueda tener.

A Carlis, por llevarme con sus amigos cuando estaba sola y aburrida, no sabes cómo me ayudaste en esos tiempos de estrés looooooooooser, gracias por siempre lograr sacarle una sonrisa a tu hermana la amargada jaja.

A mi gordis bonita, eres mi inspiración todo lo hago en especial por ti para que tengas todo lo que no tuvimos y seas muy feliz. Te amo.

Mi Ches querida, mi socia, mi mejor amiga, de estos cinco años estuvimos separadas cuatro, y no sabes cómo te extrañe, gracias por todo lo que me has dado. Viajar contigo y Eli fue lo mejor que me pudiste dar. De aquí para adelante, eh, tendremos por fin nuestro negocio. Gracias por existir hermanita.

Y a mi mamá, la más importante, porque sin ti esto hubiera sido mucho más difícil y tardado, gracias por estar conmigo, soportar mis llantos y mis gritos. Por todos los días que estuve de malas en el coche y los otros en los que íbamos riendo y platicando. Porque nunca me presionaste, siempre me diste la opción de buscar algo más, siempre y cuando estuviera feliz. Este logro es para ti mamá, te amo.

ÍNDICE

I.	INTRODUCCIÓN	7
II.	OBJETIVOS.....	10
III.	ANTECEDENTES TEÓRICOS.....	11
	III.1 LA PIEL.....	12
	III.2 RADIACIÓN SOLAR Y SUS EFECTOS EN LA PIEL.....	14
	III.3 FACTOR DE PROTECCIÓN SOLAR.....	18
	III.4 FILTROS SOLARES.....	19
	III.5 ESPECTROFOTOMETRÍA UV/VIS.....	25
	III.6 ESPECTROFOTOMETRÍA UV/VIS CON SEGUNDA DERIVADA...34	
IV.	PARTE EXPERIMENTAL.....	37
	A. MATERIAL.....	37
	B. REACTIVOS.....	37
	C. INSTRUMENTO Y CONDICIONES DE TRABAJO.....	38
	IV.1 ESTUDIO ESPECTROFOTOMÉTRICO DE LA AVOBENZONA (AB), DEL OCTIL METOXICINAMATO (OMC) Y DE LA OXIBENZONA (OB).....	38
	IV.2 ESTUDIO ESPECTROFOTOMÉTRICO AL UV DE LOS PARABENOS..	45
	IV.3 PREPARACIÓN DE MUESTRAS.....	47
	IV.4 DETERMINACIÓN CUANTITATIVA DE OMC, AB Y OB EN CREMAS FORMULADAS.....	51
	IV.5 DETERMINACIÓN CUANTITATIVA DE MEZCLAS DE FILTROS SOLARES UTILIZANDO LA LEY DE ADITIVIDADES.....	53
	IV.6 ESTUDIO ESPECTROFOTOMÉTRICO DE LA AB, OMC Y OB ESPECTROFOTOMETRÍA UV CON SEGUNDA DERIVADA.....	54

IV.7 DETERMINACIÓN DE CADA COMPUESTO EN LAS CREMAS FACIALES CON MEZCLAS DE FILTROS SOLARES UTILIZANDO LA ESPECTROFOTOMETRÍA UV CON SEGUNDA DERIVADA.....	59
V. RESULTADOS Y ANÁLISIS DE RESULTADOS.....	60
VI. CONCLUSIONES.....	62
VII. BIBLIOGRAFÍA.....	72

I. INTRODUCCIÓN

Un color bronceado en la piel, a lo largo del tiempo, ha sido un signo de buena salud, sin embargo, la excesiva exposición a la radiación solar causa daños que pueden ir desde quemaduras solares hasta cáncer de piel.

La radiación solar que recibimos está compuesta entre otras por las radiaciones infrarroja, visible y ultravioleta en mayor porcentaje. Los daños producidos en la piel se deben a la radiación ultravioleta (UV), ésta se divide en rayos UV tipo A (UVA), tipo B (UVB) y de tipo C (UVC). La radiación UVC es la de mayor energía pero es bloqueada por la atmósfera terrestre, por lo que llega muy poca a la superficie terrestre. Las otras dos radiaciones cada vez llegan con mayor intensidad debido a que la capa de ozono, responsable de su bloqueo parcial, ha sufrido un continuo adelgazamiento, lo que hace que la piel esté constantemente expuesta a estos rayos.^{1, 3, 4}

Una medida de protección y prevención para evitar que la radiación UV llegue a producir daños, es la aplicación tópica de productos que contengan en su formulación compuestos que de algún modo eviten el contacto de la radiación con la piel, a estos compuestos se les llama filtros solares.

Existen dos tipos de filtros solares, los filtros solares físicos que reflejan y dispersan los rayos UV y los filtros solares químicos que los absorben. Además de clasificarse por su función, los filtros también se clasifican de acuerdo a los tipos de rayos UV de los cuales protegen a la piel, ya que pueden resguardar de los UVA, otros de los UVB e incluso existen filtros que actúan protegiendo de ambas radiaciones.^{1, 2, 3, 4}

Los filtros solares se empezaron a utilizar desde los años 30s.² En la actualidad, un gran número de productos cosméticos como cremas corporales y faciales, máscara de pestañas, champúes, lápiz de labios, etc., han integrado en sus formulaciones estos compuestos. En las etiquetas de algunos productos cosméticos se mencionan el o los ingredientes activos (filtros solares) que

contienen y su dosificación, así como el llamado factor de protección solar (FPS) que proporcionan.

No existe en México una norma oficial que reglamente el tipo de filtro solar que se debe utilizar en cada producto y mucho menos lleve a conocer si el contenido de éstos corresponde a lo reportado, sólo existe la NOM 141 SSA1⁶ para productos de perfumería y belleza que regula y reglamenta la leyenda de etiqueta.

El llamado ácido para-amino benzoico (PABA) es el primer filtro solar que se utilizó en la industria cosmética, su uso ha decaído enormemente debido a que puede causar alergias. Los filtros solares más empleados en la industria mexicana son: la Oxibenzona (OB), el Octil metoxicinamato (OMC) y la Avobenzona (AB).

La Oxibenzona pertenece a la familia de las benzofenonas, la cual se emplea por su alta capacidad de absorber rayos tanto UVA como UVB, además que no mancha la piel. El Octil metoxicinamato forma parte de la mayoría de las formulaciones de protectores solares, esto se debe a su alta insolubilidad en agua por lo que se utiliza como resistente al agua y sudor, tiene una excelente absorción de UVB. La Avobenzona es famosa por ser el único filtro químico aprobado por la Administración de Alimentos y Fármacos de Estados Unidos (Food and Drug Administration, FDA, por su nombre y siglas en inglés) que absorbe eficazmente los rayos UVA.

En la formulación de una crema protectora solar no se utiliza un sólo filtro solar, sino una mezcla de filtros que absorban diferentes tipos de rayos, cubriendo un amplio espectro de protección. Estos filtros a diferentes concentraciones en la mezcla, deben lograr el factor de protección solar (FPS) que cumpla con los requisitos del producto. Así, la mezcla de Oxibenzona, Octil metoxicinamato y Avobenzona en concentraciones adecuadas pueden formular un protector solar de amplio espectro.

En este trabajo se inicia el estudio analítico espectrofotométrico de estos tres filtros solares, considerando los siguientes aspectos:

1.- Estudio espectrofotométrico al UV de Oxibenzona, Octil metoxicinamato y Avobenzona:

- a.- Búsqueda de las lambdas máximas de absorción.
- b.- Cálculo de los coeficientes de absorción.

2.- Formulación de una crema facial básica:

- a.- Con conservadores.
- b.- Sin conservadores.
- c.- Con conservadores y cada uno de los filtros solares.
- d.- Con conservadores y mezclas de filtros solares.

3.-Determinación cuantitativa de cada filtro solar en las cremas formuladas.

4.- Determinación cuantitativa de mezclas de filtros solares utilizando la ley de aditividad en las cremas base formuladas.

5.- Determinación de cada compuesto en las cremas faciales preparadas utilizando espectrofotometría UV con segunda derivada.

6.-Determinación de cada compuesto en las cremas faciales con mezclas de filtros solares utilizando la espectrofotometría UV con segunda derivada.

Este trabajo, sólo pretende ser la introducción para nuevas investigaciones que permitan realizar metodologías específicas para cada tipo de producto. Pero para esto es necesario conocer la formulación de cada producto para establecer una metodología analítica adecuada.

II. OBJETIVOS

Realizar el estudio espectrofotométrico al UV y UV con segunda derivada de los filtros solares: Avobenzona, Oxibenzona y Octilmetoxicinamato.

Establecer las posibilidades de cuantificación de cada uno de ellos en una crema facial de formulación conocida por UV y UV con segunda derivada.

III. ANTECEDENTES TEÓRICOS

III.1 LA PIEL

III.2 RADIACIÓN SOLAR Y SUS EFECTOS EN LA PIEL

III.3 FACTOR DE PROTECCIÓN SOLAR

III.4 FILTROS SOLARES

III.5 ESPECTROFOTOMETRÍA UV-VISIBLE

III.6 ESPECTROFOTOMETRÍA UV-VISIBLE CON SEGUNDA DERIVADA

III.1 LA PIEL^{1,2}

La piel es el órgano más extenso del cuerpo. Actúa como escudo protector contra el calor, la luz, lesiones e infecciones. Su pH oscila entre 4 a 5.5.

La piel desempeña diferentes funciones:

- Protección: proporciona una protección mecánica (a golpes), química (a quemaduras solares), térmica (para la regulación interna del cuerpo).
- Barrera: evita la penetración y salida de agua, la entrada de agentes infecciosos y microorganismos. Permite el intercambio gaseoso. Su pH evita la proliferación de bacterias nocivas.
- Sensorial: permite el sentido del tacto, el percibir calor, dolor y frío.
- Termorregulación: mantiene la temperatura corporal (36-37°C), en la que intervienen las glándulas sudoríparas para eliminar el calor a través del sudor.
- Sostén: la piel debe ser compresible, elástica y extensible.
- Mantenimiento metabólico: en ella se llevan a cabo la síntesis de vitamina D, lípidos y proteínas.

Estructura de la piel

La piel está formada por tres capas:

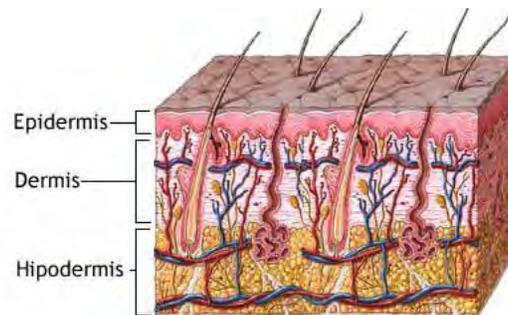


Figura 1. Capas de la piel.

Epidermis

La epidermis es la capa exterior de la piel y está formada por:

- Queratinocitos: células epiteliales que sintetizan queratina, que al ir madurando y llegar a la capa cornea se convierten en corneocitos. Los queratinocitos son de forma cilíndrica, cambian a lo largo del proceso de maduración, y llegan a tener una forma aplastada.
- Células de Langerhans: células dendríticas del sistema inmunitario, encargadas de detectar los cuerpos extraños que han penetrado en la epidermis.
- Células de Merkel: tienen una función mecanoreceptora, están involucradas en la función del sentido del tacto, siempre están en contacto con las terminaciones nerviosas.
- Melanocitos: células cuya función es la síntesis y transferencia de melanina.
- Corneocitos: células sin núcleo, son aplastadas y están formadas por queratina y lípidos.

Dermis

La dermis es el sostén de la piel, y juega un papel muy importante en la termorregulación. Está compuesta por fibroblastos que sintetizan diferentes sustancias: colágeno, elastina y gliccoaminoglicanos. En esta capa se encuentran los capilares sanguíneos que aportan nutrientes a la epidermis e intervienen en la termorregulación cutánea.

Hipodermis

Es la capa más profunda de la piel. Está compuesta principalmente por adipocitos, que son células encargadas de acumular y almacenar grasa. Estos adipocitos se agrupan en lóbulos separados por tejido conjuntivo, por esto es la responsable de la silueta corporal. Su función es la reserva energética además de participar pasivamente en la termorregulación ya que la grasa es un aislante térmico.

III.2 RADIACIÓN SOLAR Y SUS EFECTOS EN LA PIEL ^{1, 4}

La radiación solar se divide en luz visible e invisible. La radiación visible comprende radiaciones de longitud de onda (λ) de los 400 nm a los 700 nm. La luz invisible corresponde al infrarrojo con longitudes de onda de 700 a 3200 nm y la ultravioleta con radiaciones de 50 a 400 nm, a su vez la radiación UV se divide en radiación A, B y C.

Radiación	Intervalo (nm)	% de la radiación solar que llega a la Tierra	Energía (J)
UVC	50-280	0	$>993 \times 10^{-21}$
UVB	280-320	10	$>523 \times 10^{-21}$
UVA	320-400		$>439 \times 10^{-21}$
Visible	400-700	40	$>255 \times 10^{-21}$
Infrarrojo	700-3200	50	$>79 \times 10^{-21}$

Cuadro 1. Radiación solar.^{3, 4}

Los UVB y UVA representan el 10% de los rayos solares que llegan a la tierra. Estas radiaciones no son constantes, ya que varían dependiendo de la estación, el clima y sobretodo de la localización geográfica. Por ejemplo los lugares donde la capa de ozono es más delgada los rayos llegan con mayor intensidad. También la hora en la que los rayos son más potentes son entre las 10 de la mañana y 3 de la tarde, esto debido a la inclinación en la que los rayos atraviesan la capa de ozono.

Los daños ocasionados por la radiación solar en la piel son provocados por los rayos UVB y UVA. A continuación se muestra un cuadro comparativo de estas radiaciones:

Luz ultravioleta B	Luz ultravioleta A
Comprende de los 280-320nm.	Comprende de los 320-400 nm.
Son bloqueados parcialmente por la atmósfera terrestre (principalmente por la capa de ozono).	No son bloqueados, atraviesan la atmósfera terrestre.
El 70% son reflejados por la capa córnea. El 30% atraviesan la epidermis o son absorbidos por la melanina. El 10% de este 30% llegan a la dermis superficial.	El 80% de ellos pueden penetrar hasta la dermis. El 20% penetra a las capas internas de la piel (dermis).
Causa eritema y quemaduras.	No causa eritema, ni quemaduras.
Interviene en la síntesis de vitamina D ₃ .	No interviene en síntesis de vitamina D ₃ .
No traspasa vidrios.	Traspasa vidrios.
Responsable del foto-envejecimiento.	No produce foto-envejecimiento.
Produce carcinogénesis en alto grado.	Produce carcinogénesis en bajo grado.
No causa bronceado.	Responsable del bronceado.
Son muy energéticos y biológicamente muy activos.	Menos energéticos pero más abundantes.

Cuadro 2. Comparación de las radiaciones UVA y UVB.

Como se observa en el cuadro 2 la radiación UVB se considera la radiación más peligrosa en cuanto a lo energético y biológicamente activo para el ser humano. Los rayos UVA llegan en mayor abundancia a la tierra, además atraviesan el vidrio, no hay un filtro atmosférico que los detenga y tienen la capacidad de penetrar en el agua, y por si esto fuera poco los daños causados por este tipo de radiación no son visibles aumentando así los daños que ocasionan por lo que los hace también peligrosos. Esto queda ilustrado en la figura 2.

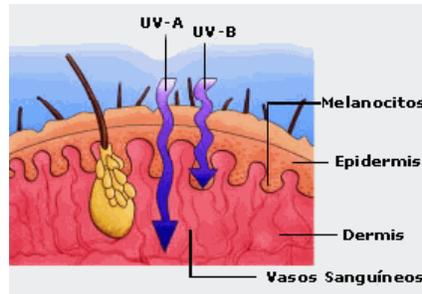


Figura 2. Los rayos UVA y UVB penetrando a las capas de la piel.

La radiación visible llega a la superficie terrestre, atravesando la atmósfera, es parcialmente filtrada por el polvo y el humo. Representa el 40% de la radiación solar a nivel del suelo.

La radiación infrarroja representa el 50% de la radiación solar que llega a la tierra. Es parcialmente absorbida por la nubosidad atmosférica. Esta radiación atraviesa profundamente la piel, tanto que un 15% de ésta llega a la hipodermis (capa más profunda de la piel). Toda esta radiación es transformada en calor por lo que la radiación infrarroja es la causante de la sensación de calor al tomar el sol.

Exposición de la piel a la radiación UV ¹

El llamado bronceado de la piel aparece normalmente 48 horas después de la exposición y es el resultado de la síntesis de melanina, que es un proceso de defensa de la piel contra la radiación solar.

Después de algunos minutos de la exposición al sol aparece una coloración inmediata que pasando el tiempo desaparece. Pasando algunas horas, la piel se pone roja, inflamada y en algunos casos hasta hay dolor. En casos extremos pueden aparecer verdaderas quemaduras ocasionadas por los rayos UVB. Las células liberan moléculas que dilatan a los vasos sanguíneos y comienza el proceso de inflamación, provocando el enrojecimiento y el dolor, 24 horas después de la exposición aparecen lesiones a nivel tisular en epidermis y se forman células conocidas como “células de quemadura solar”, éstas ya no tienen núcleo y se depositan en el estrato córneo, estas células entran a un proceso de apoptosis y

se eliminan más rápido que la descamación que sufre la piel cada 28 días. A esto lo conocemos como que la piel se “pela” o “despelleja”.

Tras muchos años de exposición continua sin protección al sol la piel comienza a perder elasticidad y textura, se seca, además de ser más vulnerable a presentar manchas, pecas y formación de arrugas. Estas arrugas se producen por el daño ocasionado en las capas más profundas de la piel. A esto se le conoce como foto envejecimiento de la piel.

Daños a la piel expuesta a radiación solar ^{4, 5, 7, 8}

Las radiaciones UVB y UVA son las causantes de la disminución tanto en cantidad como en el cambio de morfología de las células de Langerhans. Estas células se encuentran en la epidermis y son las encargadas de distinguir agentes extraños iniciando el proceso inmunológico. Al ir disminuyendo este número llegará un momento en que afectará la eliminación de agentes extraños y células cancerosas.

Además las radiaciones UVB y UVA puede provocar la formación de radicales libres. Estos radicales afectan la conformación de las membranas internas y externas de las células oxidándolas por lo que pierden su capacidad de flexibilidad y de adaptación a su entorno.

Cuando los rayos UVB y UVA llegan hasta el ADN de las células, éste sufre mutaciones que conllevan a problemas de transcripción de genes y perturbaciones irreversibles en su funcionamiento. Estas lesiones normalmente son eliminadas por los sistemas de reparación de la célula, pero cuando las exposiciones al sol son muy repetitivas estos sistemas son insuficientes para eliminar todas estas lesiones. Cuando el ADN de una célula tiene mutaciones pueden ocasionar que la célula se multiplique sin control incluso hasta llegar a ser cancerosa, por lo tanto los rayos UV son causantes de cáncer en piel.

Los melanocitos son células que se encuentran también en esta capa de piel, pero éstas se encargan de sintetizar melanina, al ser afectadas por la radiación solar

estas células provocan melanomas. El melanoma puede comenzar a verse como una formación cutánea nueva, pequeña y pigmentada que aparece sobre la piel normal, muy a menudo en las zonas expuestas al sol, pero también puede desarrollarse a partir de lunares ya existentes, como sucede en la mitad de los casos. A diferencia de otras formas de cáncer cutáneo, el melanoma se extiende rápidamente (metástasis) hacia partes alejadas del cuerpo, donde continúa creciendo y destruyendo tejido. El curso de la enfermedad varía en gran medida y parece que depende de las defensas del sistema inmunológico.

III.3 FACTOR DE PROTECCIÓN SOLAR (FPS) ^{1, 5}

Para medir la eficacia de un protector solar se utiliza una medida llamada factor de protección solar. Esta prueba consiste en la exposición a la radiación UV artificial (94% de la emisión se encuentra entre 290 – 400 nm), que provoca una respuesta en la piel llamada eritema. El FPS es el cociente del tiempo que tarda en producir la radiación UV artificial un eritema casi perceptible en un área de 50 cm² de piel protegida con un grosor de 2 mg/cm² de filtro solar y en piel no protegida con la misma área de 50 cm², de 16-24 horas después de la exposición. La prueba se aplica a 20-25 personas. El FPS se calcula como la dosis mínima eritematogena (DEM) con protección/ Dosis mínima eritematogena (DEM) sin protección.

Por ejemplo, si a una persona a los 10 segundos después de exponerse al sol presenta eritema, y después de aplicarse 2 mg/cm² del protector solar tarda 100 segundos en producir el eritema, el FPS de este protector es $100/10 = 10$.

Otro ejemplo, si una persona sufre una quemadura solar después de 20 minutos de exposición solar (tiempo normal), y se aplica una sustancia FPS de 15, esta persona podría estar protegida por 300 minutos. $DEM \text{ c/protección} / 20 \text{ min} = 15$ por lo tanto $20 \text{ min} \times 15 = 300 \text{ min}$. (15 veces más que su tiempo "normal").

Con lo anterior, se debe entender que es importante conocer las características individuales de cada persona, ya que existen diferentes fototipos de piel.

Existe una clasificación de los fototipos que se presenta en el cuadro 3.

Fototipos	Acción del sol en la piel	Pigmentación
I	Se queman fácilmente, no broncean nunca, enrojecen.	Pecosos, Pelirrojos, Celtas
II	Se queman fácilmente, broncean un poco.	Rubios
III	Se queman moderadamente, broncean progresivamente.	Morenos
IV	Se queman poco, siempre broncean bien.	Latinos
V	Se queman raramente, siempre están bronceados.	Árabes, Asiáticos
VI	Se queman muy raramente, muy pigmentados.	Negros

Cuadro 3. Clasificación de fototipos de piel.

Hay que tener en cuenta que el FPS que aparece en un cosmético no corresponde a un determinado fototipo, sino que es el promedio de los coeficientes de protección individuales obtenidos por el grupo de individuos estudiados.

Para tener una orientación, podemos situar la media en un fototipo III aproximadamente así, por ejemplo, si en un cosmético aparece FPS 15 y nosotros presentamos fototipo I debemos pensar que realmente para nosotros sería FPS 8-10, y si por el contrario tenemos fototipo IV, el cosmético FPS 15 lo podríamos interpretar como FPS 18-20.

III.4 FILTROS SOLARES ^{1, 2, 3, 4}

Los filtros solares son sustancias que absorben, dispersan o reflejan la radiación ultravioleta. Por su mecanismo de acción se clasifican en dos tipos: físicos y químicos.

Los filtros solares físicos son sustancias opacas que forman una especie de barrera física evitando la penetración de la radiación a la piel. Esto quiere decir, que bloquean, reflejan o dispersan los rayos.

Actúan tanto contra rayos UVA como UVB y por si fuera poco también contra la luz visible. Son moléculas como el óxido de hierro, talco, óxido de zinc, cinamato de bencilo, carbonatos y óxidos magnésicos, mica y bentonita. Se utilizan para zonas muy sensibles como nariz, labios, orejas y dedos de los pies.

Se pueden obtener FPS altos (mayores a 18) con estos ingredientes, pues reflejan gran cantidad de rayos. Otras de sus ventajas son que no sufren alteraciones químicas al recibir la radiación y no causan sensibilización en la piel, además que actúan inmediatamente, presentando la desventaja es que la mayoría de ellos dejan de color blanco la piel. Actualmente se utiliza el dióxido de titanio y el óxido de zinc micronizado, que al tener un tamaño de partícula pequeño, no deja rastro de color en la piel, ambos necesitan un soporte untuoso.

Últimamente, estos filtros se utilizan mucho ya que no afectan al medio ambiente, por lo que se encuentran en formulaciones de cremas bloqueadoras ecológicas.

Los filtros solares químicos son sustancias transparentes que absorben la radiación solar. Son moléculas orgánicas aromáticas que absorben rayos de alta energía, es decir de longitud de onda corta. Sus enlaces facilitan la excitación de sus electrones por la radiación UV, convirtiéndola a energía no dañina a la piel como la calorífica o lumínica.

Son cosméticamente aceptables, se deben aplicar 15-30 min antes de la exposición al sol y aplicar cada tres horas.

Filtros solares más comunes

La monografía más reciente de la FDA^{5, 9} incluye 14 filtros solares químicos, que son considerados seguros y eficaces para su utilización como productos de adquisición sin receta. En la siguiente tabla se presentan los filtros solares aprobados por la Comunidad Económica Europea (CEE), FDA, y el acuerdo de COFEPRIS por el que se determinan las sustancias prohibidas y restringidas en la elaboración de productos de perfumería y belleza¹⁰ y sus concentraciones máximas permitidas para uso en cosméticos.

Ingrediente activo	[máxima] (%) FDA	[máxima] (%) CEE	[máxima] (%) en México	Comentarios
Ácido aminobenzoico (PABA)	15	5	5	Causa alergias, ya casi no se utiliza.
Ácido fenilbencimidazol sulfónico	4	8	8 expresado como ácido	Soluble en agua
Avobenzona	3	5	5	Es el único filtro UVA aprobado.
Cinoxato	3	-	3	Derivado del cinamato
Padimato O	8	8	8	Se utiliza como derivado de PABA
Homosalato	15	10	10	Estos 3 salicilatos son absorbedores débiles fotoestables
Trolamina salicilato	12	-	12	
Octil salicilato	5	5	5	
Octil metoxicinamato	7.5	10	10	Filtro UVB fotolábil
Octocrileno	10	10	10	Fotoestable
Oxibenzona	6	5	10	Son derivados de Benzofenona que tienen picos en UVB y UVA Fotoestables
Dioxibenzona	3	-	3	
Sulisobenzona	10	5	5 expresada en ácido	
Mentol antranilato	5		5	Filtro UVA

Cuadro 4. Filtros solares aprobados por la FDA, por la CEE y las concentraciones permitidas en México.

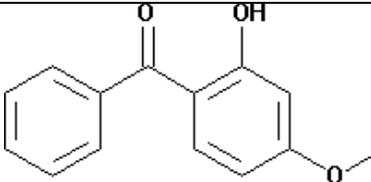
Las fórmulas de protectores solares comerciales están conformadas por más de un filtro solar, se trata de una mezcla de filtros solares tanto químicos como físicos con el fin de obtener un producto de mayor espectro protector y químicamente

más estable. Para formular un buen protector solar se debe asociar filtros químicos para absorber UVA y UVB, filtros físicos o pantallas como el dióxido de titanio y óxido de zinc, y otros aditivos que mejoren la acción de los primeros.

Los filtros solares que se analizarán en este trabajo son tres: Oxibenzona (OB), Avobenzona (AB) y Octil metoxicinamato (OMC) por ser ampliamente utilizados en México en cosméticos.

Oxibenzona o benzofenona-3 (2-hidroxi-4-metoxibenzofenona)^{2, 4, 5, 9, 11}

Este filtro solar pertenece a las benzofenonas, una familia de filtros solares muy utilizada por las ventajas que ofrecen sobre el PABA. Se le conoce comúnmente como oxibenzona presenta buena absorción de radiación UVA y UVB. La longitud de onda a la que se produce la absorción máxima es a 286 nm (UVB de onda corta) y a 325 nm (UVA). Según los estudios la oxibenzona no es tóxica, se metaboliza rápido por lo que presenta buena biodisponibilidad comparada con otros filtros solares, pero ha presentando algunos problemas de irritación en la piel como dermatitis.

Peso molecular	228,25 g/mol
Color	Débilmente amarillo
Olor	Casi inodoro
Aspecto	Polvo fino cristalino
λ max. de absorción	288 nm y 630-670 nm
% máximo autorizado	10%
Estructura	
Solubilidad	Insoluble en agua, soluble en etanol, metanol

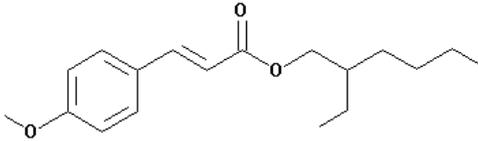
Cuadro 5. Características de la oxibenzona.

Suele usarse como coabsorbente en combinación con un filtro específico de UVB, como, etilhexil metoxicinamato, etilhexil salicilato, isoamil p-metoxicinamato, octocrileno o ácido sulfónico fenilbenzimidazol.

En la práctica, se usa en concentraciones que van del 2 al 10%, dependiendo de la aplicación y del factor de protección solar deseado. En Estados Unidos es el filtro más utilizado a una concentración máxima del 5%, en Japón es también uno de los filtros más utilizados a una concentración máxima del 5%. En Europa es el filtro que ocupa un 5º lugar aproximadamente en su uso y si se emplea a un porcentaje superior al 0,5% hay que declararlo en el etiquetado, debiendo poner "contiene oxibenzona".

Octil metoxicinamato (p-metoxicinamato de 2-etilhexilo)^{2, 4, 5, 9}

Se le conoce también como etilhexil metoxicinamato, es una sustancia soluble en aceite, sin olor propio, resistente a la luz y dermatológicamente probada. Es un buen filtro de radiaciones UVB, usado para varias aplicaciones. Ofrece una absorción adicional en el espectro UVA de onda corta. La absorción máxima tiene lugar a 308 nm.

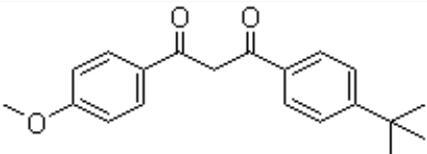
Peso molecular	290,4 g/mol
Color	Incoloro, débilmente amarillo
Olor	Prácticamente inodoro
Aspecto	Líquido claro
λ max. de absorción	>830nm a 310nm al 1%
%autorizado	10%
Estructura	
Solubilidad	Insoluble en agua, soluble en EtOH

Cuadro 6. Características del OMC.

A pesar de que en algunas publicaciones se dice que el OMC es fotolábil. La FDA dice que el OMC es toxicológicamente hablando seguro. Y no es muy frecuente que este filtro solar produzca irritaciones y dermatitis.

Como es insoluble en agua se utiliza en bronceadores o bloqueadores resistentes al agua.

Avobenzona (1-(4-ter-butil-fenil)-3-(4-metoxifenil)propano-1,3-diona) ^{2, 4, 5, 9}

Peso molecular	310,4 g/mol
Color	Blanco, hasta blanco amarillo
Olor	Débil
Aspecto	Polvo cristalino
λ max. de absorción	358 nm
%autorizado	5%
Estructura	
Solubilidad	Insoluble en agua, soluble en etanol

Cuadro 7. Características de la avobenzona.

La avobenzona es un filtro químico, soluble en aceite capaz de absorber la radiación a lo largo de todo el espectro de UVA. Esta absorción se debe a su grupo fenil cetónico. No es tóxica y rara vez causa irritación en la piel.

La avobenzona junto el dióxido de titanio y óxido de zinc son los únicos tres filtros aprobados por la FDA para proteger contra UVA. Por lo que se considera un filtro solar muy efectivo.

Al cubrir todo el espectro de UVA la avobenzona se utiliza en muchos productos comerciales en todo el mundo y se ha convertido en el filtro solar número uno en Canadá, Australia y Europa. Es el primer filtro UVA aprobado en Estados Unidos desde 1978, regulando su uso al 3% si se utiliza sólo y al 2-3% si se combina con cinamatos, benzofenonas, salicilatos y octocrileno.

Este filtro presenta incompatibilidad con estearatos o sales de aluminio, zinc y magnesio y algunos conservadores. Si se combina con PABA el producto se volverá amarillento. La mezcla de la avobenzona con la benzofenona-3 se hace casi imprescindible para cubrir eficazmente el espectro UVA.

La avobenzona tiene nombres comerciales como Parsol 1789, Eusolex 9020, Escalol 517.

III.5 ESPECTROFOTOMETRÍA UV-Visible ^{12, 13}

La espectrofotometría se refiere a los métodos analíticos cualitativos y cuantitativos que se basan en la interacción de las radiaciones electromagnéticas con la materia midiendo así la absorción o la emisión de la radiación por las sustancias. Dentro de estos métodos tenemos la espectrofotometría de absorción visible (colorimetría) y ultravioleta.

La región de ultravioleta – visible dentro del espectro electromagnético comprende de los 10 a los 800 nanómetros (nm) de longitud de onda. Este a su vez se divide en:

- Ultravioleta cercano 180-380 nm
- Ultravioleta lejano 10-180 nm
- Visible 380-780 nm

Los electrones de un átomo ocupan un nivel de energía de acuerdo al orbital en que se encuentran. El orbital atómico es la densidad electrónica en el espacio que rodea al núcleo atómico. Cuando dos orbitales atómicos se unen forman un orbital molecular. Este orbital molecular conduce a un orbital molecular de enlace, de menor energía y uno de antienlace, de mayor energía.

Si se logra hacer incidir sobre esa molécula un fotón de radiación electromagnética con la energía apropiada, la molécula incrementa su contenido energético absorbiendo ese fotón. Se dice entonces que la molécula pasó a un estado excitado. Esta molécula ahora energizada se encuentra en un nuevo

nivel que no es estable, por lo que regresa a su nivel original. Para esto, emite un fotón con la energía que la excitó anteriormente. Así, la energía absorbida por el orbital molecular o la emitida para recuperar su estado basal sucede sólo en las longitudes de onda correspondientes a la energía suministrada. Por lo tanto estas longitudes de onda caracterizan a la molécula.

El tipo de unión química indicará la longitud de onda en la que absorbe el compuesto. Entre más fuerte sea la unión se requiere fotones más energéticos. Los compuestos con dobles enlaces facilita la excitación de sus electrones por la deslocalización que éstos presentan.

La radiación UV y visible promueve la transferencia de un electrón que se halla en un nivel bajo de energía molecular, u orbital atómico, a un orbital de mayor energía. Este cambio de nivel de energía se le conoce como transición. La transición de un electrón entre los diferentes niveles de energía se le conoce como transición electrónica y a la absorción involucrada se le llama absorción electrónica.

Los tipos de transiciones que sufren estos últimos enlaces son:

a) Transiciones $\sigma \rightarrow \sigma^*$: Al absorber la energía radiante un electrón de un orbital σ enlazante se excita, pasando al orbital molecular antienlazante correspondiente. La molécula se encuentra en un estado excitado $\sigma \rightarrow \sigma^*$. La energía asociada a la transición es elevada. Para que este tipo de transición se lleve a cabo, se requiere energía del ultravioleta lejano.

b) Transiciones $n \rightarrow \sigma^*$: cuando compuestos saturados que contienen pares de electrones no compartidos (con heteroátomos O, N, S, Hal) absorben la energía radiante pasan a un nivel σ^* , este tipo de transiciones ocurren con un requerimiento energético menor con respecto a las transiciones $\sigma \rightarrow \sigma^*$. Los máximos de absorción tienden a presentar desplazamientos hacia longitudes de onda más cortas en presencia de disolventes polares, estas transiciones se observan en el ultravioleta medio.

c) Transiciones $n \rightarrow \pi^*$: Presentes en compuestos insaturados con heteroátomos (grupos carbonilo, nitro, azo, tiocarbonilo). Absorben la energía radiante pasan a un nivel π^* , este tipo de transiciones ocurren con un requerimiento energético menor con respecto a las transiciones $n \rightarrow \sigma^*$: La intensidad es variable. Dan lugar a bandas débiles usualmente en la región UV-cercana (baja energía de transición).

d) Transiciones $\pi \rightarrow \pi^*$: Presentes sólo en compuestos insaturados. En ausencia de conjugación estas transiciones se presentan algunas veces en el UV lejano. Dan lugar a bandas intensas que pueden aparecer en UV cercano si está presente insaturación conjugada.

Ley de Lambert y Beer ^{12, 13}

Esta ley es también conocida como la ley de la absorción, indica cómo es que la atenuación de la radiación depende de la concentración de las moléculas que la absorben y de la distancia que recorre el haz de luz en el medio absorbente.

Debido a las interacciones que ocurren entre fotones y las partículas absorbentes en solución la energía radiante del rayo disminuye de la potencia incidente (P_0) hasta la potencia transmitida (P). La relación P / P_0 se conoce como transmitancia (T), es la medida primaria que se realiza en los instrumentos para medir la absorción de luz por parte de una muestra.

La cantidad de luz absorbida por la muestra se le conoce también como absorbancia y esta unidad de medición se representa con la relación: $A = \log P_0/P$
 $= -\log T$

La radiación monocromática comienza su camino a través de la solución de moléculas absorbentes con cierta potencia incidente (P_0) al atravesar la solución absorbente con cierto espesor (l) y concentración (c), sale con una potencia menor (P) debido a las interacciones entre los fotones y las moléculas absorbentes.

La ecuación que relaciona todas esas propiedades con la unidad de absorbancia es conocida como la Ley de Lambert y Beer:

$$A = \epsilon lc$$

La constante conocida como coeficiente de absortividad molar “ ϵ ” está en función de la longitud de onda aplicada, del índice de refracción de la solución y es característico de cada sistema soluto-solvente. Es una propiedad intensiva, que no depende de la concentración de la sustancia y representa la absorción de luz por parte de un mol de soluto para una longitud de onda dada.

Esta ecuación representa un fenómeno lineal, es decir al desarrollar un gráfico de absorbancia en función de la concentración se espera obtener una línea recta. La pendiente de esta línea corresponde al coeficiente de absortividad molar y la longitud de paso óptico. Obteniendo así una curva de calibración o patrón. Siendo ésta la base de la aplicación de esta ley en el análisis cuantitativo de muestras y de mezclas.

Limitaciones de la ley de Lambert y Beer

- Limitaciones Reales.

A concentraciones mayores a 0.01 M las interacciones entre las moléculas pueden afectar el ambiente del analito y su capacidad de absorción.

Cuando los cambios de concentración causan alteraciones en el índice de refracción, la absortividad también se ve alterada, ya que ésta depende del índice de refracción.

- Desviaciones Químicas.

Éstas se presentan cuando alguna de las especies absorbentes experimentan asociación, disociación o reaccionan con el disolvente formando un nuevo compuesto que absorbe a diferente longitud de onda que el analito en estudio. Se pueden prevenir conociendo las absortividades molares de las especies

absorbentes y las constantes de equilibrio. Es muy difícil percibir que estos procesos están afectando al analito.

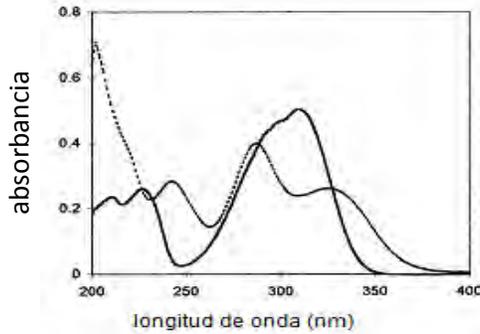
- Desviaciones Instrumentales.

En ocasiones la radiación que emerge del monocromador está contaminada con cantidades pequeñas de radiación dispersa o parásita llamada luz parásita. Esta radiación es resultado de la dispersión y reflexión desde superficies de redes, lentes, espejos, filtros y ventanas provenientes de un instrumento que está fuera de la longitud de onda seleccionada para la determinación. Esta radiación causa desviaciones ya que su longitud de onda difiere sustancialmente de la radiación principal, dando como resultado disminuciones en absorbancia.

Las celdas desajustadas también causan desviaciones en la ley de Lambert y Beer, ya que la longitud de la trayectoria de las celdas del analito y del blanco no son iguales ni tienen características ópticas iguales, provocando una ordenada al origen en la curva de calibración y la ecuación real será: $A = \epsilon lc + k$. Para evitar esta desviación se utilizan celdas ajustadas o se aplica la regresión lineal para obtener tanto la pendiente como la ordenada al origen. En el caso de un instrumento de haz sencillo se utiliza la misma celda tanto para el analito como para el blanco.

ANÁLISIS DE MEZCLAS POR ULTRAVIOLETA. ¹⁴

Una de las aplicaciones de la espectrofotometría UV es el análisis de mezclas de dos o más componentes. El fundamento de este análisis es que la energía absorbida por esta mezcla es la suma de las absorbancias de los componentes que forman a ésta a determinada longitud de onda. A esto se le conoce como Ley de Aditividades.



Gráfica 1. Espectro de UV de soluciones etanólicas de 6 mg/ml OMC y 6 mg/ml de OB.¹⁵

Esta cuantificación se realiza mediante un sistema de ecuaciones con dos incógnitas.

$$A_1 = \varepsilon_{X1} l C_X + \varepsilon_{Y1} l C_Y$$

$$A_2 = \varepsilon_{X2} l C_X + \varepsilon_{Y2} l C_Y$$

Las incógnitas son C_X y C_Y . Los valores de ε se pueden determinar a partir de disoluciones patrón de X y Y en los que se determine las absorbancias a las longitudes de ondas determinadas. Las absorbancias 1 y 2 son obtenidas directamente del espectro de la mezcla.

INSTRUMENTACIÓN ^{12, 13}

El instrumento que se utiliza es el espectrofotómetro UV-VIS. Todo espectrofotómetro UV-Vis debe contar con los siguientes componentes:

- a) Fuente de radiación
- b) Sistema dispersivo o monocromático
- c) Receptor para la muestra
- d) Detector
- e) Procesadores de señal y dispositivos de lectura

FUENTE DE RADIACIÓN

La fuente de radiación en un espectrofotómetro debe ser continua, y su potencia radiante no debe cambiar en forma brusca en cierto intervalo de longitud de onda.

La lámpara de filamento de tungsteno es la más utilizada en la radiación visible e infrarrojo cercano pues es útil para longitudes de onda entre 350 y 2500 nm.

La lámpara de deuterio produce en la zona de UV (190-400 nm) un espectro continuo, pero a longitudes mayores a 400 nm el espectro deja de ser continuo y se forman líneas de emisión.

SISTEMA DISPERSIVO O MONOCROMÁTICO

Los selectores de longitudes de onda son los llamados monocromadores. Un monocromador es un dispositivo que se utiliza para seleccionar la longitud de onda en forma continua. Están compuestos por:

- a) Rendijas o ranura por donde entra y sale la radiación.
- b) Lentes.
- c) Espejo colimador que producen un haz de radiación paralelo.
- d) Red o prisma que dispersa la radiación en las longitudes de onda que la componen.

RECEPTOR DE LA MUESTRA

Cada instrumento contiene un receptor donde se coloca el recipiente de la muestra. Éste tiene la forma del recipiente, es decir las celdas.

El recipiente de la muestra es de sumo interés pues éste debe estar hecho de materiales que permitan el paso del haz de luz y no interfiera con la absorción de la muestra. Las celdas de cuarzo y sílice se utilizan para la región de UV-Visible y las celdas de vidrio o plástico son utilizadas sólo para la región visible.

El tamaño de la celda es de suma importancia ya que representa el paso del haz de la radiación. Normalmente se utilizan celdas de 1 cm para estudios de UV y visible. La celda es un prisma rectangular, dos de sus paredes (paralelas) son esmeriladas para tomar la celda. La celda debe ser colocada en el instrumento de tal manera que a través de las paredes libres pase el haz de luz. Las muestras deben ser líquidas o sólidas en disolución.



Figura 3. Celda de cuarzo utilizada en espectrofotometría UV-Visible.

DETECTORES DE LA RADIACIÓN

Los instrumentos UV-Visible utilizan detectores fotoeléctricos, que al absorber energía provocan emisiones de electrones que producen una corriente eléctrica.

El tubo fotomultiplicador es un detector muy sensible. Este tubo contiene una serie de electrodos, cuando la radiación se encuentra con el cátodo emite un electrón que es acelerado hacia el primer electrodo, al chocar contra éste provoca la emisión de más electrones que seguirán su curso chocando contra el resto de los electrodos. Así cada vez que un electrón choque contra la superficie de alguno de los electrodos se emiten varios electrones. Por último la cascada de electrones se reúnen en el ánodo y la energía resultante se transforma en un voltaje y se mide.

PROCESADORES DE SEÑAL Y DISPOSITIVOS DE LECTURA

El procesador de señal es un dispositivo electrónico que amplifica la corriente eléctrica proveniente del detector. El procesador de señal, además, ejecuta operaciones matemáticas con la señal como integraciones, derivadas, y logaritmos.

El conteo de fotones es el medidor de señal que sale de un tubo fotomultiplicador. Cada fotón que choca en el cátodo del fotomultiplicador produce una cascada aproximadamente de 10^6 a 10^7 electrones, éstos producen un pulso de carga que es susceptible a ser amplificado o contado. Este dispositivo cuenta con un comparador que rechaza pulsos que no exceden de un voltaje mínimo predeterminado, ocasionando que la corriente residual y el ruido instrumental no se cuenten, por ser generalmente menores al pulso de la señal.

ESPECTROFOTÓMETROS DE HAZ SENCILLO

En este instrumento el haz de radiación en este instrumento sólo atraviesa una celda. Por lo que se lee primero la potencia de la referencia, conocida como blanco (P_0) y después se introduce la muestra para leer la potencia (P) que deja pasar.

ESPECTROFOTÓMETROS DE DOBLE HAZ

Este instrumento consta de los mismos componentes, el haz de radiación en éste atraviesa las celdas tanto del blanco como de la muestra, uniéndose por medio de espejos para llegar al mismo detector donde se hace el cálculo de la absorbancia o transmitancia y amplifica la señal.

APLICACIONES^{12, 13}

I. Aplicaciones analíticas cuantitativas.

Es un método de aplicación en la determinación cuantitativa de sustancias. Por su sensibilidad, bajo costo de los espectrofotómetros, la selectividad, rapidez y precisión, los métodos analíticos basados en la utilización de la ley de Lambert y Beer tienen una gran difusión en los laboratorios de control de procesos industriales, de análisis clínico, etc.

La determinación de la concentración de numerosos productos en solución mediante la espectroscopia UV sólo está limitada por la necesaria absorción en esta región de la especie a determinar.

La técnica puede utilizarse en el análisis de mezclas siempre y cuando las sustancias poseen espectros apreciablemente diferentes. Si una mezcla contiene dos sustancias que absorben ambas en la región UV-Vis y no es posible seleccionar longitudes de onda para las absorbancias independientes de cada una de ellas, pueden determinarse las concentraciones de ambas sustancias, partiendo de la aditividad de las absorbancias.

II. Cinética de reacciones químicas y enzimáticas.

La Espectroscopia Ultravioleta-Visible se utiliza extensamente para determinar parámetros cinéticos de reacciones químicas mediante el registro en el tiempo de la variación de la absorbancia del sistema. Requisito indispensable para aplicar esta técnica es la diferencia significativa en la absorción de reactivos y productos.

III. Titulaciones por absorción UV y visible.

Las mediciones espectrofotométricas son de utilidad para determinar los puntos finales de las titulaciones. Para esto es necesario que uno de los reactivos o de los productos absorban radiación UV.

IV. Otras.

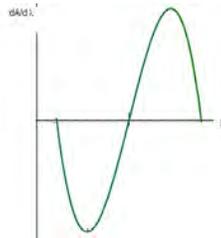
También sirve para checar ligantes pegados a metales, etc.

ESPECTROFOTOMETRÍA UV/VIS CON SEGUNDA DERIVADA ^{16, 17}

La espectrofotometría derivada es una técnica analítica de gran utilidad para obtener información cuantitativa de una muestra. Es de gran ayuda cuando el estudio de una muestra por espectrofotometría normal se complica. La segunda derivada resalta características que en el espectro normal, no se alcanzan a observar.

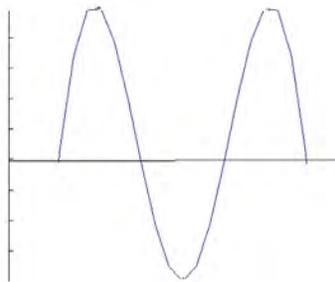
Es de mucha utilidad en el análisis cuantitativo cuando se desea conocer la concentración de un analito cuya banda de absorción se oculta por la presencia de una banda mayor que le corresponde a otro componente de la mezcla.

En los espectros trabajados por primera derivada, se aplica la derivada de la absorbancia, contra la longitud de onda ($dA/d\lambda$ vs λ) en el espectro original UV-Vis. Al aplicar esto se obtienen máximos y mínimos como gráfico nuevo en la zona donde había una banda.



Gráfica 2. Espectro UV por primera derivada.

En los espectros trabajados por segunda derivada se aplica la segunda derivada al espectro original de absorbancia contra la longitud de onda ($d^2A/d\lambda^2$ vs λ), que tiene dos máximos y un mínimo entre ellos en la zona donde había una banda. La altura de los dos picos corresponde a la concentración del analito.



Gráfica 3. Espectro UV por segunda derivada.

En cuanto al análisis cuantitativo, se aplica la ley de Lambert y Beer, si esta ley se aplica también en la técnica de la segunda derivada se tiene la siguiente ecuación:

$$d^n A/d\lambda^n = (d^n \epsilon/d\lambda^n) l c$$

La ecuación al igual que con el espectro normal se espera presente un sistema lineal. Los datos que se obtienen se trabajan con su valor absoluto para realizar los cálculos.

Las técnicas de derivadas se empiezan a utilizar ampliamente tanto en la industria farmacéutica en el análisis de medicamentos, en la química clínica, en análisis del medio ambiente, etc.

IV. PARTE EXPERIMENTAL

A. MATERIAL

- Vasos de precipitados de 50 y 100 ml
- Pipetas graduadas de 0.5, 1, 2, 3, 4, 5 ml
- Matraces aforados de 10, 50 y 100 ml
- Micropipeta 1000 μ l
- Espátula de acero inoxidable
- Nave
- Pipetas volumétricas 10 ml
- Celdas de cuarzo (1 cm de espesor)

B. REACTIVOS

- Avobenzona USP, ISP, 99%
- Octil metoxicinamato USP, ISP, 99%
- Benzofenona-3 USP, ISP, 99%
- Etanol (EtOH) absoluto, J.T. Baker, 9014-03, pureza 99.9%. Se utilizó EtOH como disolvente, ya que los tres filtros solares en estudio son solubles en él, además de ser menos tóxico.
- Agua destilada
- Propilenglicol, Baker
- Trietanolamina, Baker Analyzed
- Glicerina, Delta, 99.04%
- Aceite mineral, Droguería Úrsula
- Ácido esteárico, Farmacias París
- Alcohol cetílico, Farmacias París

- Metil parabeno, Farmacias París
- Propil parabeno, Farmacias París

C. INSTRUMENTO Y CONDICIONES DE TRABAJO

Se utilizó el espectrofotómetro UNICAM UV 500, Thermo Spectronic. Durante la parte experimental se trabajó bajo las siguientes condiciones:

rango λ : 200-400 nm

A de 2.00 – 0.00

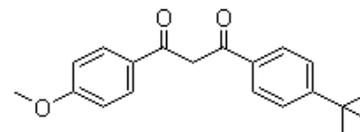
Velocidad automática

Smooth: bajo y medio (derivadas)

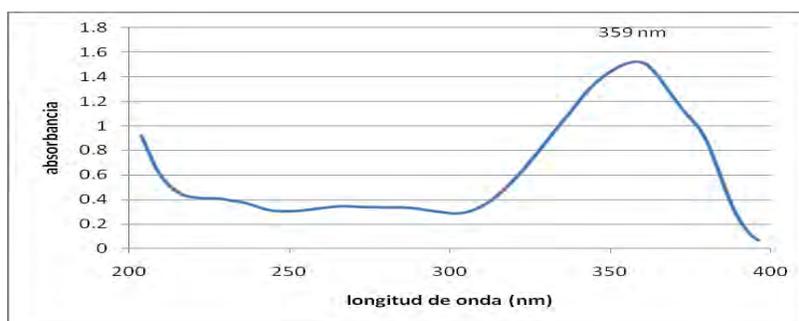
IV.1 ESTUDIO ESPECTROFOTOMÉTRICO DE LA AVOBENZONA, DEL OCTIL METOXICINAMATO Y DE LA OXIBENZONA

IV.1.1 LAMBDA MÁXIMAS DE ABSORCIÓN

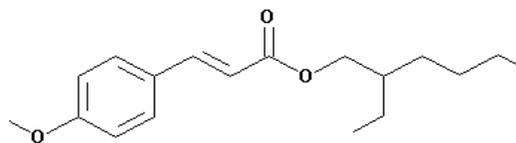
a) AVOBENZONA (AB)



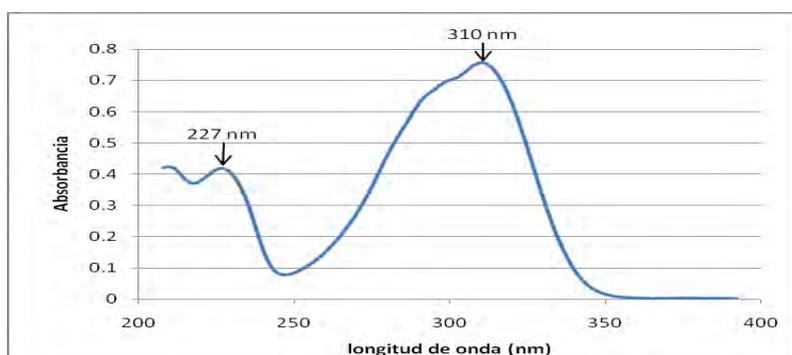
Se determinó el espectro de absorción de la avobenzona, partiendo de una disolución de 0.4 mg/ml en etanol. Se realizaron varias diluciones, tomando 1 ml con pipeta de volumétrica y agregando 10 ml hasta conseguir que la solución (aproximada de 0.4×10^{-3} mg/ml) entre en el intervalo aceptable de absorbancia en que se cumpla linealidad. En él se observa una banda con una λ_{\max} a 359 nm. Se utilizó como blanco etanol.



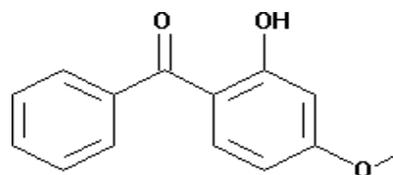
Gráfica 4. Espectro al UV de AB con EtOH como disolvente. λ_{\max} de absorción a 359 nm.

b) OCTIL METOXICINAMATO (OMC)

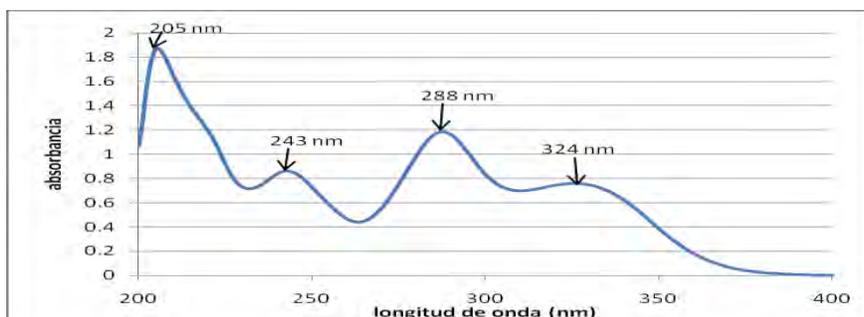
Se determinó el espectro de absorción del OMC, partiendo de una disolución de 0.8 mg/ml en etanol. Se realizaron diluciones como en caso de la AB, teniendo una disolución aproximada de 8×10^{-3} mg/ml. En él se observa dos bandas con sus respectivas $\lambda_{\text{máx.}}$ a 227 y a 310 nm.



Gráfica 5. Espectro al UV del OMC con EtOH como disolvente. λ_{max} de absorción a 227nm y a 310nm.

c) OXIBENZONA (OB)

Se determinó el espectro de absorción de la oxibenzona, partiendo de una disolución de 0.4 mg/ml en etanol. Se realizaron diluciones como en el caso de AB, hasta una disolución aproximada de 0.01 mg/ml. En él se observa cuatro λ_{max} de absorción a: 205, 243, 288 y 324nm.



Gráfica 6. Espectro de la oxibenzona en EtOH. $\lambda_{\text{máx.}}$ de absorción a 205, 243, 288 y 324 nm.

IV.1.2 COEFICIENTE DE ABSORTIVIDAD

a) COEFICIENTE DE ABSORTIVIDAD DE LA AB A $\lambda_{\text{máx.}}=359$ nm

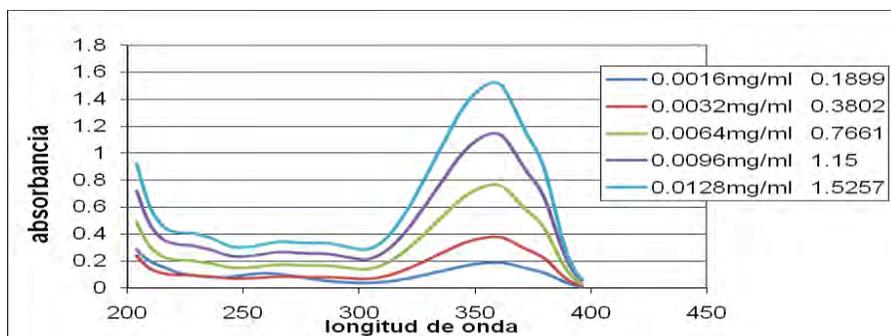
Se pesaron 3.2 mg de AB y se aforó a 100 ml con etanol (0.032 mg/ml). Se tomaron las alícuotas correspondientes en un matraz aforado de 10 ml obteniendo las concentraciones indicadas en el cuadro 8.

Alícuota ml	Concentración (mg/ml)
4	12.8×10^{-3}
3	9.6×10^{-3}
2	6.4×10^{-3}
1	3.2×10^{-3}
0.5	1.6×10^{-3}

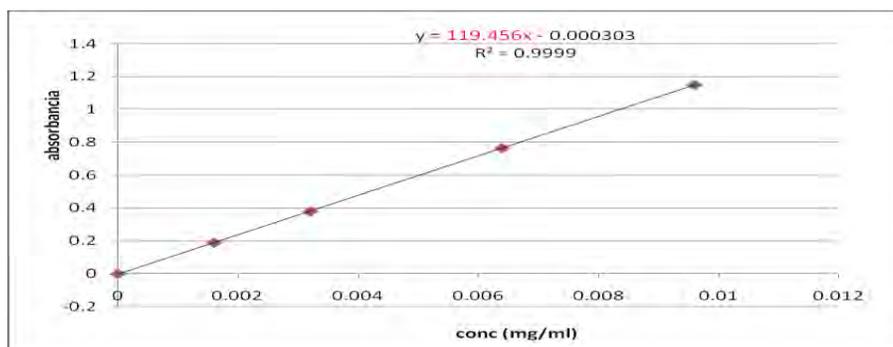
Cuadro 8. Alícuotas y concentraciones de las disoluciones etanólicas de AB.

Para calcular el coeficiente de absorptividad (κ) de la AB a $\lambda_{\text{máx.}}=359$ nm, se corrieron los espectros de las 5 disoluciones estándar. Se registraron las absorbancias y se realizó la curva patrón. El κ obtenido de la AB a 359 nm en EtOH es de 119.456 ml/mg cm.

Se obtuvieron los siguientes espectros de las disoluciones estándar.



Gráfica 7. Espectro al UV de AB a cinco diferentes concentraciones utilizando EtOH como disolvente.



Gráfica 8. Curva patrón de AB a 359nm en EtOH.

b) COEFICIENTE DE ABSORTIVIDAD DEL OMC A λ_{\max} =310 nm

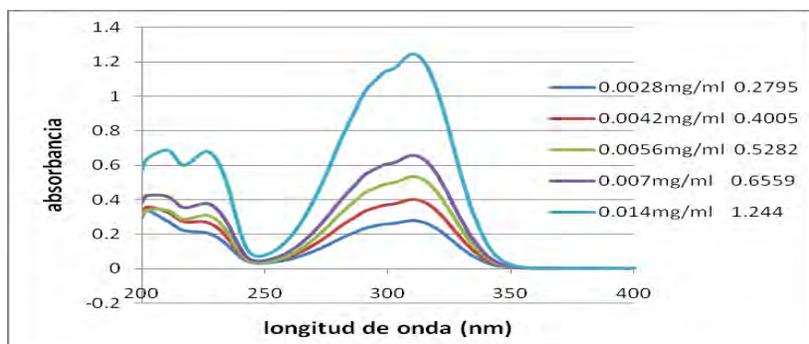
Se pesaron 3.5 mg de OMC y se aforaron a 25 ml con etanol (0.14 mg/ml). Se tomaron las alícuotas correspondientes en un matraz aforado de 10 ml obteniendo las concentraciones indicadas en el cuadro 9.

Alícuota ml	Concentración (mg/ml)
1	14×10^{-3}
0.5	7×10^{-3}
0.4	5.6×10^{-3}
0.3	4.2×10^{-3}
0.2	2.8×10^{-3}

Cuadro 9. Alícuotas y concentraciones de disoluciones etanólicas de OMC.

Para calcular el coeficiente de absorptividad (κ) del OMC a $\lambda_{\max}=310$ nm, se corrieron los espectros UV de las 5 disoluciones estándar. Se registraron sus absorbancias y se realizó la curva patrón. El κ obtenido del OMC a 310 nm en EtOH es de 88.182 ml/mg cm.

Se obtuvieron los siguientes espectros de las disoluciones estándar.



Gráfica 9. Espectro UV del OMC a 5 diferentes concentraciones utilizando EtOH como disolvente.

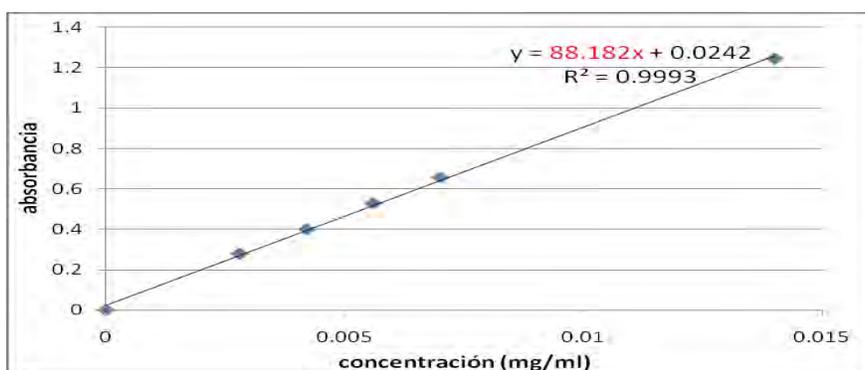


Gráfico 10. Curva patrón del OMC a 310 nm en EtOH.

c) COEFICIENTE DE ABSORTIVIDAD DE LA OB A $\lambda_{\max}= 288$ y 243 nm

Sólo se calculan los coeficientes en estas dos λ máximas de absorción ya que la banda de 205 nm se ve modificada por la presencia del etanol que absorbe a 190-210 nm, y la banda de 324 nm puede verse alterada por la presencia del octil metoxi cinamato que absorbe a 310 nm y de la avobenzona que absorbe a 359 nm como se observó anteriormente.

COEFICIENTE DE ABSORTIVIDAD DE LA OB A $\lambda_{\max}= 288 \text{ nm}$

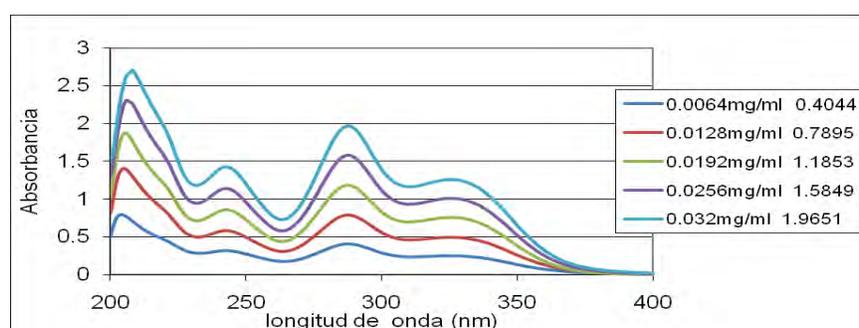
Se pesaron 3.2 mg de OB y se aforaron a 50 ml con etanol (0.064mg/ml). Se tomaron las alícuotas correspondientes en un matraz aforado de 10 ml obteniendo las concentraciones indicadas en el cuadro 10.

Alícuota ml	Concentración (mg/ml)
1	6.4×10^{-3}
2	12.8×10^{-3}
3	19.2×10^{-3}
4	25.6×10^{-3}
5	32×10^{-3}

Cuadro 10. Alícuotas y concentraciones de disoluciones etanólicas de OB.

Para calcular el coeficiente de absortividad (κ) de la oxibenzona a $\lambda_{\max}=288 \text{ nm}$, se corrieron los espectros UV de las 5 disoluciones estándar. Se registraron sus absorbancias y se realizó la curva patrón. El κ obtenido de la oxibenzona a 288 nm en EtOH es de 61.17 ml/mg cm.

Se obtuvieron los siguientes espectros de las disoluciones estándar.



Gráfica 11. Espectro de OB a 5 diferentes concentraciones utilizando EtOH como disolvente.

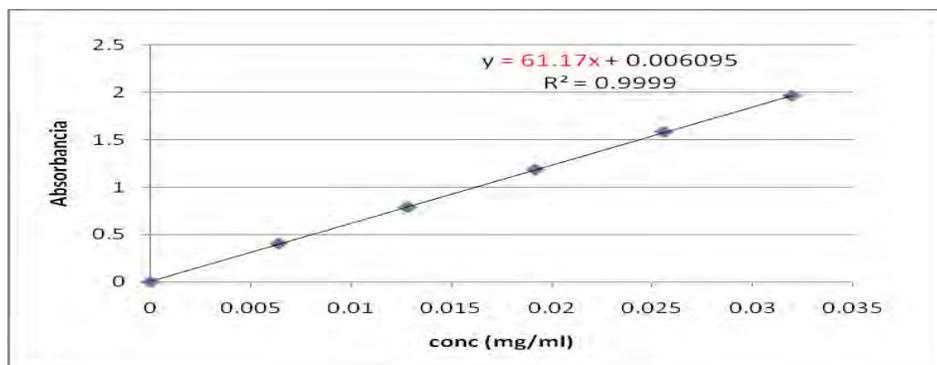


Gráfico 12. Curva patrón de OB a 288nm en EtOH.

COEFICIENTE DE ABSORTIVIDAD DE LA OB A λ_{\max} = 243 nm

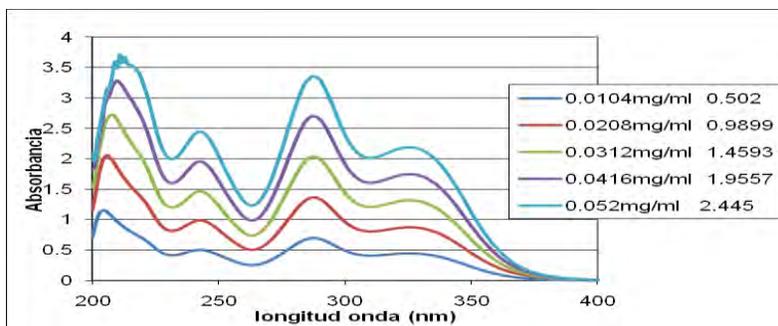
Se pesaron 2.6 mg de OB y aforó a 25 ml con etanol (0.104 mg/ml). Se tomaron las alícuotas correspondientes en un matraz aforado de 10 ml obteniendo las concentraciones indicadas en el cuadro 11.

Alícuota ml	Concentración (mg/ml)
1	1.04×10^{-2}
2	2.08×10^{-2}
3	3.12×10^{-2}
4	4.16×10^{-2}
5	5.2×10^{-2}

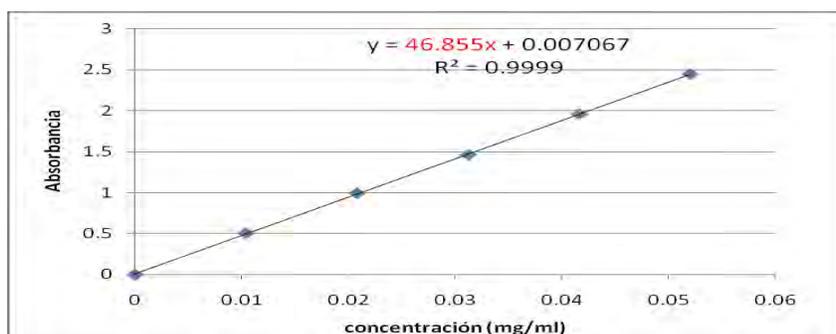
Cuadro 11. Alícuotas y concentraciones de disoluciones etanólicas de OB.

Para calcular el coeficiente de absortividad (κ) de la oxibenzona a λ_{\max} = 243 nm, se corrieron los espectros UV de las 5 disoluciones estándar. Se registraron sus absorbancias y se realizó la curva patrón. El κ obtenido de la oxibenzona a 243 nm en EtOH es de 46.855 ml/mg cm.

Se obtuvieron los siguientes espectros de las disoluciones estándar.



Gráfica 13. Espectro de OB a 5 concentraciones diferentes utilizando EtOH como disolvente.



Gráfica 14. Curva patrón de OB a 243nm en EtOH.

IV.2 ESTUDIO ESPECTROFOTOMÉTRICO AL UV DE LOS PARABENOS

Los conservadores más utilizados en cosméticos son el metil y propil parabeno. Se consideró importante estudiar estos compuestos para descartar cualquier posibilidad de que éstos pudieran causar alguna interferencia en el estudio de los filtros solares.

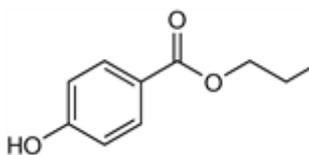


Figura 4. Estructura química de Propil parabeno.

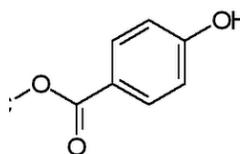
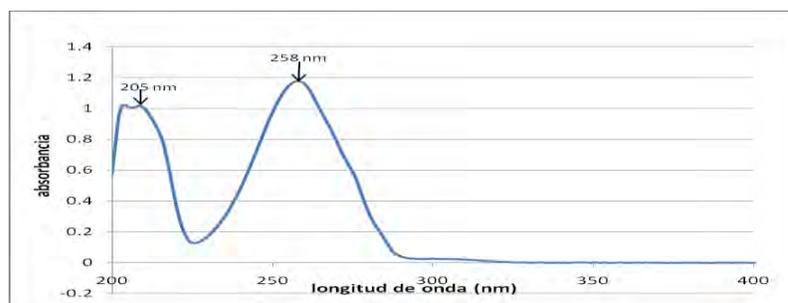


Figura 5. Estructura química de metil parabeno.

IV.2.1 LAMBDA MÁXIMAS DE ABSORCIÓN DE LA MEZCLA DE METIL Y PROPIL PARABENO

Ambos presentan la misma absorción al UV, en el espectro de una mezcla de ellos partiendo de una disolución etanólica de 0.2 mg/ml, se realizan diluciones como en el caso de la AB, hasta tener una disolución aproximada de 0.01 mg/ml. Se observan dos $\lambda_{\text{máx}}$ de absorción a 205 y 258 nm.



Gráfica 15. Espectro al UV de la mezcla de metil y propil parabeno con EtOH como disolvente. $\lambda_{\text{máx}}$ a 205 y 258 nm.

IV.2.2 COEFICIENTE DE ABSORTIVIDAD DE LA MEZCLA DE PARABENOS A $\lambda_{\text{máx}}= 258 \text{ nm}$

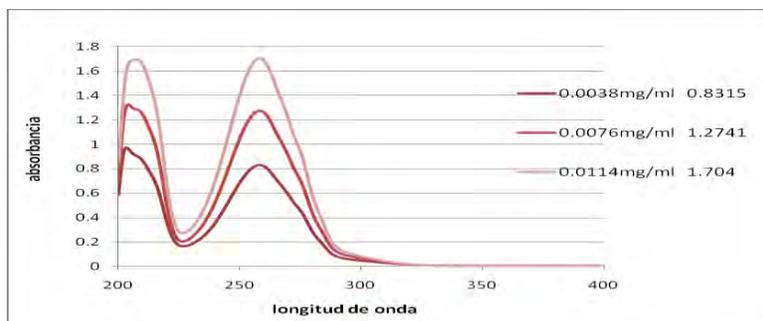
Se pesaron 1.9 mg de parabenos y se aforó a 50 ml con etanol (0.038 mg/ml). Se tomaron las alícuotas correspondientes en un matraz aforado de 10 ml obteniendo las concentraciones indicadas en el cuadro 12.

Alícuota ml	Concentración (mg/ml)
3	11.4×10^{-3}
2	7.6×10^{-3}
1	3.8×10^{-3}

Cuadro 12. Alícuotas y concentraciones de disoluciones etanólicas de mezcla de parabenos.

Para calcular el coeficiente de absorptividad (κ) de los parabenos a $\lambda_{\text{máx}}= 258 \text{ nm}$, se corrieron los espectros al UV de las tres disoluciones estándar. Se registraron

sus absorbancias y se realizó la curva patrón. El κ obtenido de la mezcla de los parabenos a 258 nm en EtOH es de 114.8 ml/mg cm.



Gráfica 16. Espectro al UV de parabenos a tres diferentes concentraciones utilizando EtOH como disolvente.

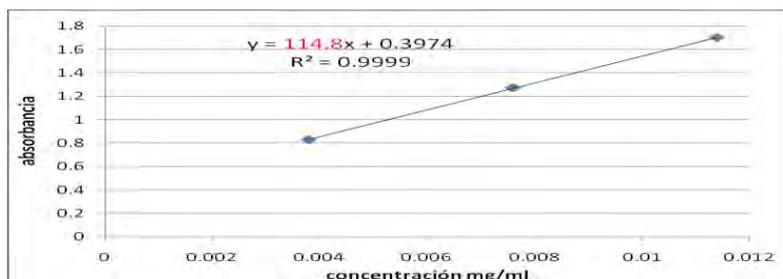


Gráfico 17. Curva de calibración de los parabenos a 258 nm en EtOH.

IV.3 PREPARACIÓN DE MUESTRAS

IV.3.1 PREPARACIÓN DE LA CREMA FACIAL BÁSICA SIN CONSERVADORES

Las cremas que se utilizarán a lo largo del trabajo son de una formulación básica. Ya que en realidad las cremas faciales contienen, además de conservadores, antioxidantes, aminoácidos, vitaminas, colágeno, etc.

Ésta es una crema aceite en agua, que se prepara pesando, mezclando y calentando por separado cada fase. Cuando las dos fases alcanzan aproximadamente a 72°C, se agrega la fase oleosa a la fase acuosa con agitación constante hasta obtener una emulsión blanca y homogénea.

Se siguió la formulación indicada en el cuadro 13 pues estos ingredientes son utilizados en la mayoría de estos productos.

	Componente	%
Fase acuosa	Agua destilada	79.6
	Propilenglicol	2.5
	Glicerina	2.5
	Trietanolamina	1.0
Fase oleosa	Ácido esteárico	4.0
	Alcohol cetílico	3.0
	Aceite mineral	6.0

Cuadro 13. Formulación de una crema facial tipo sin conservadores.

IV.3.2 PREPARACIÓN DE LA CREMA FACIAL BÁSICA CON CONSERVADORES

Ésta crema es similar a la preparada en el punto IV.3.1, sin embargo la formulación del cuadro 14 contiene a los conservadores metil y propil parabeno. Ésta es una crema aceite en agua, que se prepara pesando, mezclando y calentando por separado cada fase menos los parabenos. Una vez que las dos fases alcanzan una temperatura de 70°C se agregan los parabenos a su respectiva fase, ya que se disuelven mejor a altas temperaturas. Cuando las dos fases alcanzan aproximadamente a 72°C, se agrega la fase oleosa a la fase acuosa con agitación constante hasta obtener una emulsión blanca, homogénea.

	Componente	%
Fase acuosa	Agua destilada	79.6
	Propilenglicol	2.5
	Glicerina	2.5
	Trietanolamina	1.0
	Metilparabeno	0.15
	Propilparabeno	0.15
Fase oleosa	Ácido esteárico	4.0
	Alcohol cetílico	3.0
	Propilparabeno	0.15
	Aceite mineral	6.0

Cuadro 14. Formulación de una crema facial tipo con conservadores.

IV.3.3 PREPARACIÓN DE LA CREMA FACIAL BÁSICA SIN CONSERVADORES Y CADA UNO DE LOS FILTROS SOLARES

Se preparó un lote de crema de acuerdo a la formulación ya mencionada en el punto IV.3.1 sin incluir los conservadores por considerar que éstos tienen cromóforos que pueden causar interferencias.

Las concentraciones de los absorbedores estudiados, de acuerdo a publicaciones pueden ser:

Octil metoxicinamato: hasta 10%

Avobenzona: 1 – 3%

Oxibenzona: 2- 5%

Los filtros solares se agregan en la fase oleosa de la formulación cuando las fases alcanzan la temperatura indicada anteriormente para unir las fases.

FILTRO SOLAR	Muestra	Concentración de filtro solar (%)
Avobenzona	AB1	0.0324
	AB2	0.1133
Octil metoxicinamato	OMC1	0.1235
	OMC2	0.2015
Oxibenzona	OB1	0.0522
	OB2	0.3451

Cuadro 15. Concentraciones de muestras de cada filtro solar en cremas faciales básicas sin conservadores.

IV.3.4 PREPARACIÓN DE LA CREMA FACIAL BÁSICA CON CONSERVADORES Y CADA UNO DE LOS FILTROS SOLARES

Se preparó un lote de crema de acuerdo a la formulación ya mencionada en el punto IV.3.2. Siguiendo la formulación de un producto comercial se utilizaron las siguientes concentraciones de filtros solares:

Avobenzona: 1%

Octil metoxicinamato: 7%

Oxibenzona: 2%

Las muestras preparadas contienen la siguiente concentración de cada filtro solar:

Muestra	Concentración (%)
AB3	0.9943
OMC3	6.9999
OB3	1.8455

Cuadro 16. Concentraciones de muestras de cada filtro solar en cremas faciales básicas con conservadores.

IV.3.5 PREPARACIÓN DE LA CREMA FACIAL BÁSICA CON CONSERVADORES Y MEZCLA DE LOS FILTROS SOLARES

Como se ha mencionado a lo largo de este trabajo los productos solares contiene una mezcla de filtros solares.

Se preparó un lote de crema de acuerdo a la formulación ya mencionada en el punto IV.3.2. Con esta crema se preparan tres mezclas, obteniendo las siguientes concentraciones de:

#muestra	OB (mg/ml)	[OB] (%)	OMC (mg/ml)	[OMC] (%)	AB (mg/ml)	[AB] (%)
MEZ1	4.951×10^{-3}	2.08	16.012×10^{-3}	6.72	2.61×10^{-3}	1.09
MEZ2	5.338×10^{-3}	2.24	17.090×10^{-3}	7.15	2.38×10^{-3}	0.99
MEZ3	4.909×10^{-3}	2.06	17.355×10^{-3}	7.27	2.42×10^{-3}	1.01

Cuadro 17. Concentraciones teóricas expresadas en mg/ml y en porcentaje de los filtros solares.

IV.4 DETERMINACIÓN CUANTITATIVA DE OMC, AB Y OB EN CREMAS FORMULADAS

IV.4.1 DETERMINACIÓN CUANTITATIVA DE OMC, AB Y OB EN CREMAS SIN CONSERVADORES

a) AB

A las disoluciones de las muestras AB1 y AB2 se les registró el espectro UV, utilizando como blanco de referencia una crema libre de avobenzona tratada de la misma manera que la muestra, utilizando para la cuantificación la absorción a 359 nm. Se prepararon dos muestras:

- 1) Se pesaron 0.2948 g de la muestra AB1 se disolvieron en EtOH y aforaron a 50 ml obteniendo una concentración teórica de 1.907×10^{-3} mg/ml de AB.
- 2) Se pesaron 0.2913 g de la muestra AB2 se disolvieron en EtOH y aforaron a 50 ml obteniendo una concentración teórica de 6.6008×10^{-3} mg/ml de AB.

b) OMC

A las disoluciones de las muestras OMC1 y OMC2 se les registró el espectro de UV, utilizando como blanco de referencia una crema libre de OMC tratada de la misma manera que la muestra problema, utilizando para la cuantificación la absorción a 310 nm. Se prepararon dos muestras:

1) Se pesaron 0.2937g de la muestra OMC1 se disolvieron en EtOH y aforaron a 50 ml obteniendo una concentración teórica de 5.8464×10^{-3} mg/ml de OMC.

2) Se pesaron 0.2957g de la muestra OMC2 se disolvieron en EtOH y aforaron a 50 ml obteniendo una concentración teórica de 9.9017×10^{-3} mg/ml de OMC.

c) OB

A las disoluciones de las muestras OB1 y OB2 se les registró el espectro UV, utilizando como blanco de referencia una crema libre de oxibenzona tratada de la misma manera que la muestra, utilizando para la cuantificación la absorción a 288 nm. Se prepararon dos muestras:

Se pesaron 0.4993 g de la muestra OB1 se disolvieron en EtOH y aforaron a 25 ml. Obteniendo una concentración teórica de 1.0443×10^{-2} mg/ml de OB.

Se pesaron 0.4975 g de la muestra OB2 se disolvieron en EtOH y aforaron a 25 ml. Obteniendo una concentración teórica de 0.068657 mg/ml. Se realiza una dilución de 4ml en un matraz aforado de 10ml. Obteniendo una concentración teórica de 2.746×10^{-2} mg/ml de OB.

IV.4.1 DETERMINACIÓN CUANTITATIVA DE OMC, AB Y OB EN CREMAS CON CONSERVADORES Y CADA UNO DE LOS FILTROS SOLARES

a) AB

Se registró el espectro UV de la muestra AB3, utilizando como blanco de referencia una crema libre de avobenzona tratada de la misma manera que la muestra, utilizando para la cuantificación la absorción a 359 nm. Se preparó una muestra de la siguiente manera:

Se pesaron 0.21179g de la muestra AB3, se disolvieron en EtOH y aforaron a 50 ml. Se realizó una dilución de 1 ml de la disolución en 10 ml de EtOH, se obtuvo una concentración teórica de 4.2116×10^{-3} mg/ml de AB.

b) OMC

Se registró el espectro UV, utilizando como blanco de referencia una crema libre de octil metoxicinamato tratada de la misma manera que la muestra, utilizando para la cuantificación la absorción a 310 nm. Se preparó una muestra de la siguiente manera:

Se pesaron 0.2135g de la muestra OMC3 se disolvieron en EtOH y aforaron a 50 ml. Se realizó una dilución de 1 ml de la disolución en 25 ml de EtOH, se obtuvo una concentración teórica de 11.955×10^{-3} mg/ml.

c) OB

Se registró el espectro UV de la muestra OB3, utilizando como blanco de referencia una crema libre de oxibenzona tratada de la misma manera que la muestra, utilizando para la cuantificación la absorción a 288 nm. Se preparó una muestra de la siguiente manera:

Se pesaron 0.208 g de la muestra OB3 se disolvieron en EtOH y aforaron a 50 ml. Se realizó una dilución de 1 ml de la disolución en 10ml de EtOH, dando una concentración teórica de 7.6772×10^{-3} mg/ml.

IV.5 DETERMINACIÓN CUANTITATIVA DE MEZCLAS DE FILTROS SOLARES UTILIZANDO LA LEY DE ADITIVIDADES

Se registró el espectro UV de las muestras MEZ1, MEZ2 y MEZ3, utilizando como blanco de referencia una crema libre de filtros solares tratada de la misma manera que las muestras. Se prepararon tres muestras de la siguiente manera:

Se pesaron 0.3002 g de la muestra MEZ1, se disolvieron en EtOH y aforaron a 25 ml. Se realizó una dilución de 1ml de disolución en 50ml de EtOH.

Se pesaron 0.2987 g de la muestra MEZ2, se disolvieron en EtOH y aforaron a 25 ml. Se realizó una dilución de 1ml de disolución en 50ml de EtOH.

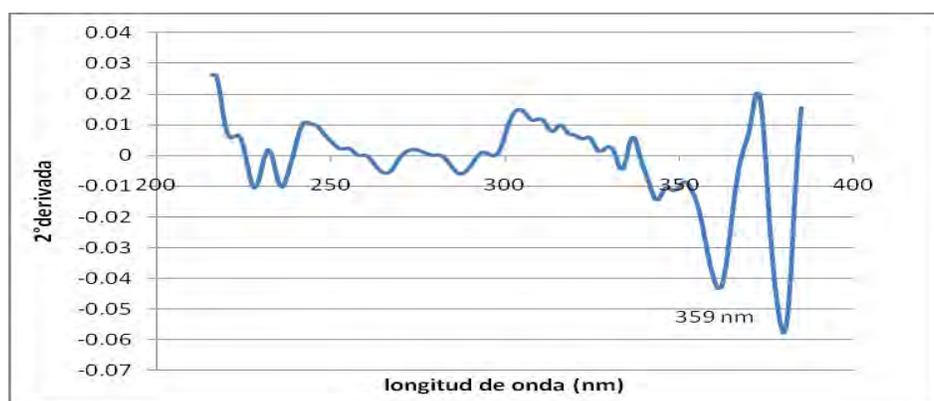
Se pesaron 0.2985 g de la muestra MEZ3, se disolvieron en EtOH y aforaron a 25 ml. Se realiza una dilución de 1ml de disolución en 50ml de EtOH.

IV.6 ESTUDIO ESPECTROFOTOMÉTRICO DE LA AB, OMC Y OB ESPECTROFOTOMETRÍA UV CON SEGUNDA DERIVADA.

IV.6.1 LAMBDA MÁXIMAS DE ABSORCIÓN

a) AB

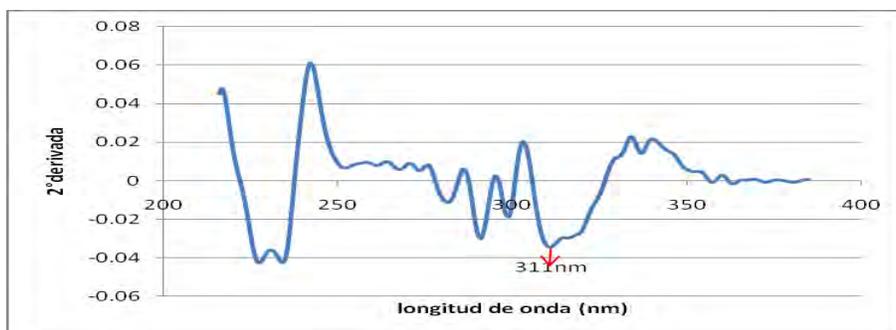
Se determinó el espectro de absorción por segunda derivada de la AB, partiendo de una disolución de 0.3 mg/ml en etanol. Se realizaron varias diluciones, tomando 1 ml con pipeta de volumétrica y agregando 10 ml de etanol hasta conseguir que la solución (aproximadamente de 0.3×10^{-3} mg/ml) entre en el intervalo aceptable de absorbancia para obtener linealidad. Se utiliza como blanco etanol.



Grafica 18. Espectro de absorción al UV de la AB por segunda derivada. λ_{\max} de absorción a 359 nm.

b) OMC

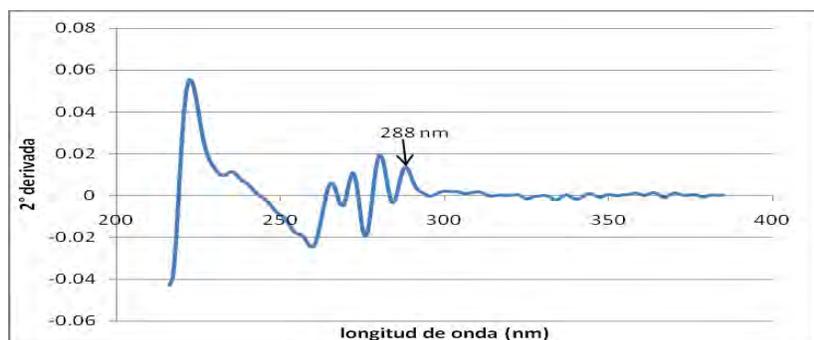
Se determinó el espectro de absorción por segunda derivada del OMC, partiendo de una disolución de 0.3 mg/ml en etanol, se realizaron diluciones como en el caso de AB hasta tener una disolución aproximada de 3×10^{-3} mg/ml.



Gráfica 19. Espectro de absorción al UV del OMC por segunda derivada. λ_{\max} de absorción a 311 nm.

c) OB

Se determinó el espectro de absorción por segunda derivada de la OB con parabenos, partiendo de una disolución de 0.4 mg/ml en etanol, se realizaron diluciones como en el caso de AB hasta tener una disolución aproximada de 4×10^{-3} mg/ml.



Gráfica 20. Espectro de absorción al UV de la OB y parabenos por segunda derivada con EtOH como disolvente. λ_{\max} de absorción a 288nm.

IV.6.2 DETERMINACIÓN DE LA PENDIENTE DE AB, OMC Y OB POR SEGUNDA DERIVADA

a) AB

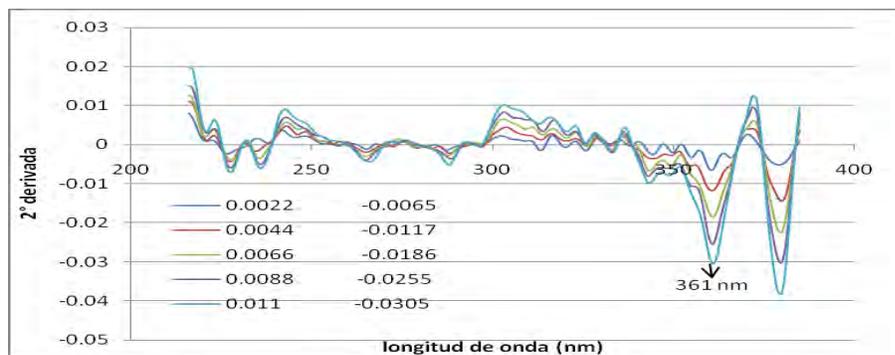
Se pesaron 2.2mg de AB, se aforó a 100ml con EtOH (0.022 mg/ml). Se tomaron las alícuotas correspondientes en un matraz aforado de 10 ml obteniendo las concentraciones indicadas en el cuadro 18.

Alícuota ml	Concentración (mg/ml)
1	2.2×10^{-3}
2	4.4×10^{-3}
3	6.6×10^{-3}
4	8.8×10^{-3}
5	11×10^{-3}

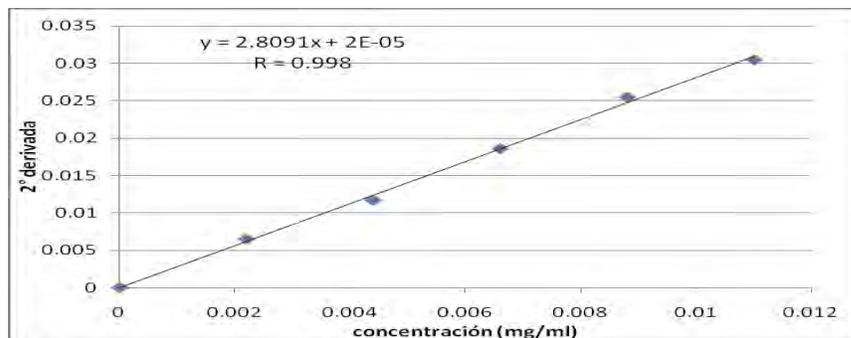
Cuadro 18. Alícuotas y concentraciones de disoluciones etánolicas de AB.

Para obtener la ecuación de la recta de la avobenzona por segunda derivada, se corrieron los espectros UV de las 5 disoluciones. Se registraron sus absorbancias y se realizó la curva patrón. Utilizando EtOH como disolvente se obtuvo la ecuación de la recta: $y = 2.8091x + 0.00005$.

Se obtuvieron los siguientes espectros de las disoluciones estándar.



Gráfica 21. Espectro al UV de AB a cinco diferentes concentraciones utilizando EtOH como disolvente por segunda derivada.



Gráfica 22. Curva de calibración de AB por segunda derivada con la ecuación de la recta.

b) OMC

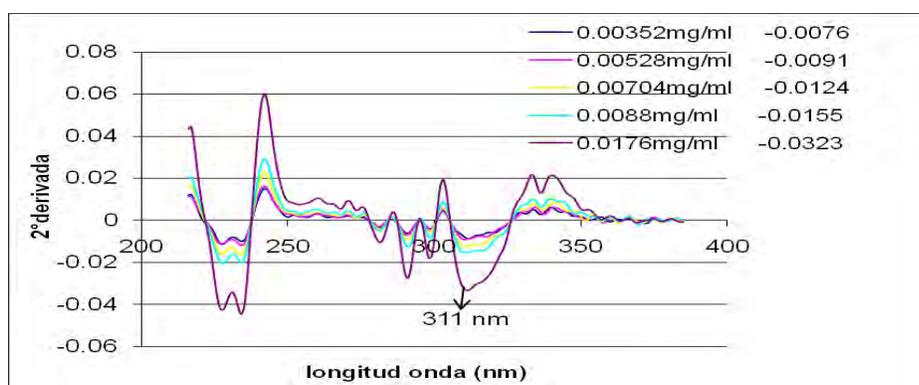
Se pesaron 4.4 mg de OMC y aforó a 25 ml con EtOH (0.176 mg/ml). Se tomaron las alícuotas correspondientes en un matraz aforado de 10 ml obteniendo las concentraciones indicadas en el cuadro 19.

Alícuota ml	Concentración (mg/ml)
0.2	3.52×10^{-3}
0.3	5.28×10^{-3}
0.4	7.04×10^{-3}
0.5	8.8×10^{-3}
1	17.6×10^{-3}

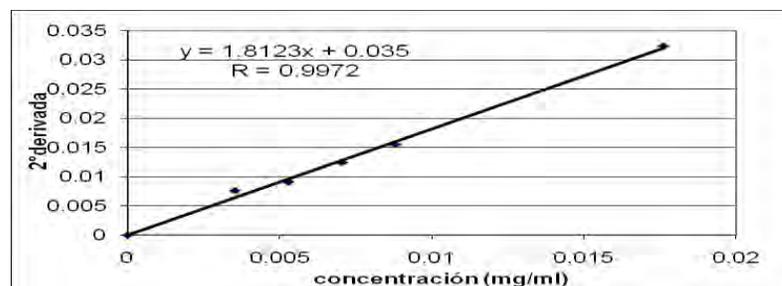
Cuadro 19. Alícuotas y concentraciones de disoluciones etanólicas de OMC.

Para obtener la ecuación de la recta de la OMC por segunda derivada, se corrieron los espectros UV de las 5 disoluciones. Se registraron sus absorbancias y se realizó la curva patrón. Utilizando EtOH como disolvente se obtiene la ecuación de la recta: $y = 1.8082x + 0.0001$.

Se obtuvieron los siguientes espectros de las disoluciones estándar.



Gráfica 23. Espectro al UV del OMC a cinco diferentes concentraciones utilizando EtOH como disolvente por segunda derivada.



Gráfica 24. Curva de calibración del OMC por segunda derivada con la ecuación de la recta.

c) OB

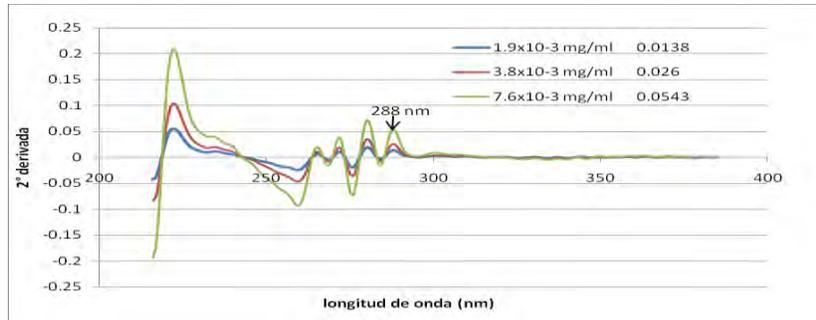
Se pesaron 1.9 mg de OB y aforó a 50 ml con EtOH (0.038 mg/ml). Se tomaron las alícuotas correspondientes en un matraz aforado de 10 ml obteniendo las concentraciones indicadas en el cuadro 20.

Alícuota ml	Concentración (mg/ml)
0.5	1.9×10^{-3}
1	3.8×10^{-3}
2	7.6×10^{-3}

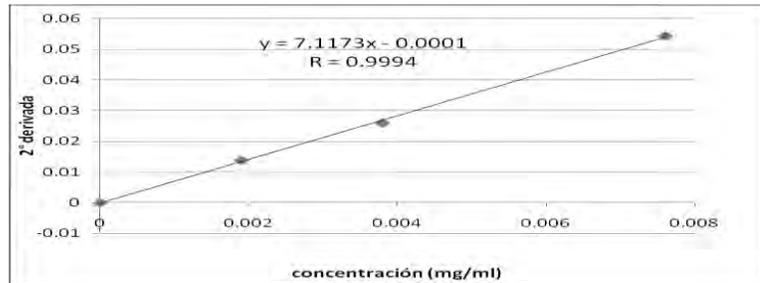
Cuadro 20. Alícuotas y concentraciones de disoluciones etanólicas de OB.

Para obtener la ecuación de la recta de la oxibenzona por segunda derivada se corrieron los espectros UV de las 3 disoluciones. Se registraron sus absorbancias y se realizó la curva patrón. Utilizando EtOH como disolvente se obtiene la ecuación de la recta: $y = 7.1541x - 0.0003$

Se obtuvieron los siguientes espectros de las disoluciones estándar.



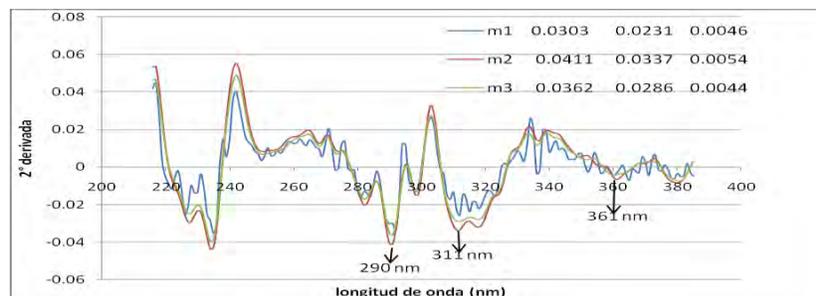
Gráfica 25. Espectro al UV de OB a tres diferentes concentraciones utilizando EtOH como disolvente por segunda derivada.



Gráfica 26. Curva de calibración de OB con parabenos por segunda derivada con la ecuación de la recta.

IV.7 DETERMINACIÓN DE CADA COMPUESTO EN LAS CREMAS FACIALES CON MEZCLAS DE FILTROS SOLARES UTILIZANDO LA ESPECTROFOTOMETRÍA UV CON SEGUNDA DERIVADA.

A las tres diluciones de las mezclas MEZ1, MEZ2 y MEZ3 utilizadas se les registró el espectro UV por segunda derivada, utilizando como blanco de referencia una crema libre de filtros solares tratada de la misma manera que la muestra.



Gráfica 27. Espectro al UV de tres cremas tipo con la mezcla de filtros solares por segunda derivada. Datos de 2ª derivada primero de OB, OMC y AB

V. RESULTADOS Y ANÁLISIS DE RESULTADOS

V.1 LAMBDA DE ABSORCIÓN Y COEFICIENTES DE ABSORTIVIDAD

FILTRO SOLAR	$\lambda_{\text{máx.}}$ de absorción (nm)	κ (ml/mg cm)
AB	359	119.456
OMC	310	88.182
OB	288	61.17

Cuadro 21. $\lambda_{\text{máx.}}$ de absorción utilizadas durante el trabajo y coeficiente de absorptividad de cada filtro solar.

Se determinaron las lambdas de absorción en las que se utilizaron en la cuantificación al igual que los coeficientes de absorptividad con los que calculamos las concentraciones de los filtros solares. En el caso de AB sólo se observó una $\lambda_{\text{máx.}}$ a 359nm, mientras que el OMC presentan dos, se elige la de 310nm porque la de 227nm podría verse afectada por la absorción del EtOH. Para la OB presentó cuatro $\lambda_{\text{máx.}}$, se eligió para la cuantificación la $\lambda_{\text{máx.}}$ de 288nm, ya que la $\lambda_{\text{máx.}}$ en 205 nm puede verse afectada por el disolvente, etanol, que se utilizó a lo largo del trabajo, la banda de 324 nm puede verse alterada por la presencia del OMC que absorbe a 310 nm. Por otro lado, después de los resultados obtenidos para las bandas en 288 y 243 nm se elige la de 288 nm por presentar una mejor linealidad ($r= 0.9999$). Su coeficiente de absorptividad es de 61.17ml/mg cm.

V.2 LAMBDA DE ABSORCIÓN DE LOS PARABENOS Y COEFICIENTE DE ABSORCIÓN.

Mezcla de metil y propilparabeno	$\lambda_{\text{máx.}}$ de absorción (nm)	κ (ml/mg cm)
	258	114.8

Cuadro 22. $\lambda_{\text{máx.}}$ de absorción y coeficiente de absorptividad de una mezcla de metil y propilparabeno.

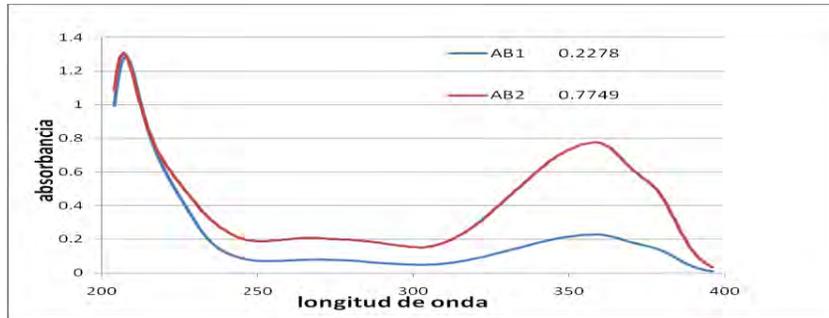
En el caso de los parabenos se observó que a pesar de presentar una $\lambda_{\text{máx.}}$ que podría interferir con la cuantificación de OB, los parabenos no afectan la

cuantificación de los filtros solares en estudio pues la concentración en la que se encuentran dentro de las formulaciones de cremas o protectores solares es muy pequeña. Como se verá más adelante.

V.3 DETERMINACIÓN CUANTITATIVA DE OMC, AB Y OB EN CREMAS FORMULADAS

V.3.1 DETERMINACIÓN CUANTITATIVA DE OMC, AB Y OB EN CREMAS SIN CONSERVADORES Y CADA UNO DE LOS FILTROS SOLARES

a) AB ($\kappa = 119.456 \text{ ml/mg cm}$)



Gráfica 28. Espectro al UV de las muestras AB1 y AB2. En la tabla se muestra las concentraciones y sus respectivas absorbancias.

Calculando la concentración de las muestras con la ecuación de Lambert y Beer, obtenemos:

$$C = A / \kappa l$$

$$C = 0.2278 / 119.456 \text{ ml/mg cm} \times 1 \text{ cm} = 0.0019069 \text{ mg/ml}$$

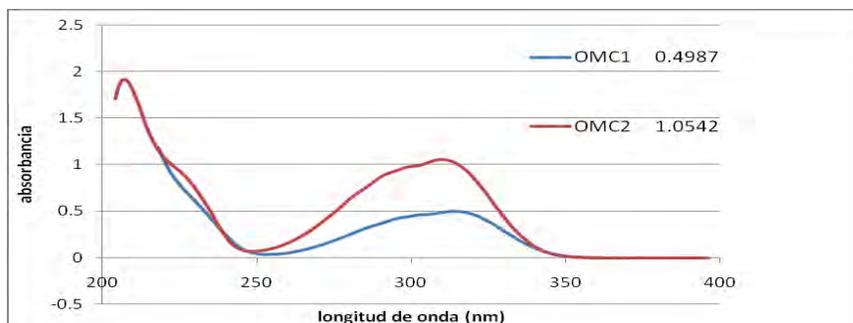
Mtra	[experimental] (mg/ml)	[experimental] (%)	[teórica] (mg/ml)	[teórica] (%)
AB1	1.9069×10^{-3}	0.03233	1.907×10^{-3}	0.0324
AB2	6.490×10^{-3}	0.11139	6.6008×10^{-3}	0.1133

Cuadro 23. Resultados Concentraciones teórica y experimental en mg/ml y en porcentaje del AB.

Los resultados de la determinación de AB a diferentes concentraciones sin conservadores muestran que es posible cuantificar este filtro solar por medio de la

Ley de Lambert y Beer, pues los resultados experimentales son muy similares a los teóricos.

b) OMC ($\kappa= 88.182 \text{ ml/mg cm}$)



Gráfica 29. Espectro al UV de las muestras OMC1 y OMC2. En la tabla se muestra las concentraciones y sus respectivas absorbancias.

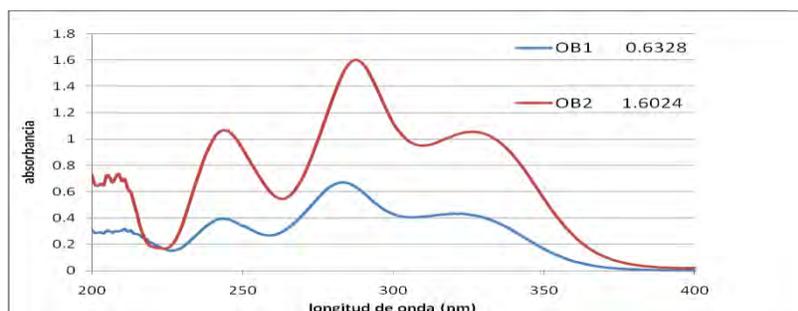
Con la ley de Lambert y Beer obtenemos las concentraciones experimentales:

Muestra	[experimental] (mg/ml)	[experimental] (%)	[teórica] (mg/ml)	[teórica] (%)
OMC1	5.66×10^{-3}	0.0962	5.84×10^{-3}	0.0995
OMC2	11.95×10^{-3}	0.2033	11.91×10^{-3}	0.2015

Cuadro 24. Resultados Concentraciones teórica y experimental en mg/ml y en porcentaje del OMC.

Los resultados de la determinación de OMC a diferentes concentraciones sin conservadores muestran que es posible cuantificar este filtro solar por medio de la Ley de Lambert y Beer, pues los resultados experimentales son muy similares a los teóricos.

c) OB ($\kappa= 61.17 \text{ ml/mg cm}$)



Gráfica 30. Espectro al UV de las muestras OB1 y OB2 a 288nm.

Calculando la concentración de las muestras con la ecuación de Lambert y Beer, obtenemos:

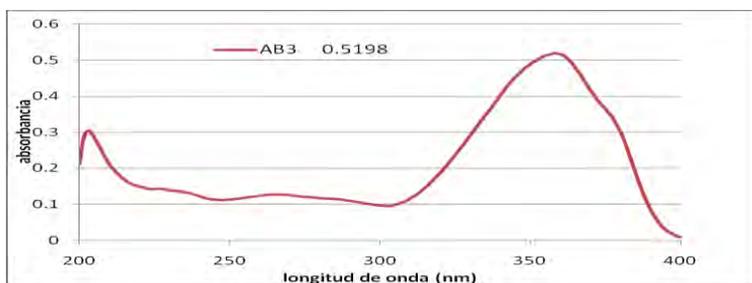
Muestra	[experimental] (mg/ml)	[experimental] (%)	[teórica] (mg/ml)	[teórica] (%)
OB1	0.010345	0.05179	0.01044	0.0522
OB2	0.02619	0.3291	0.02746	0.3451

Cuadro 25. Resultados Concentraciones teórica y experimental en mg/ml y en porcentaje de la OB.

Los resultados de la cuantificación de OB en cremas sin conservadores indican que entre estas concentraciones se puede determinar este filtro solar por medio de la ley de Lambert y Beer.

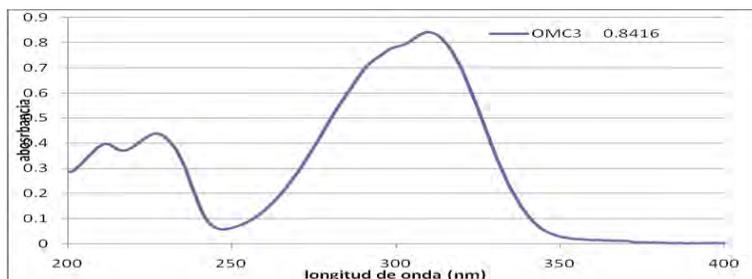
V.3.2 DETERMINACIÓN CUANTITATIVA DE OMC, AB Y OB EN CREMAS CON CONSERVADORES Y CADA UNO DE LOS FILTROS SOLARES

a) AB



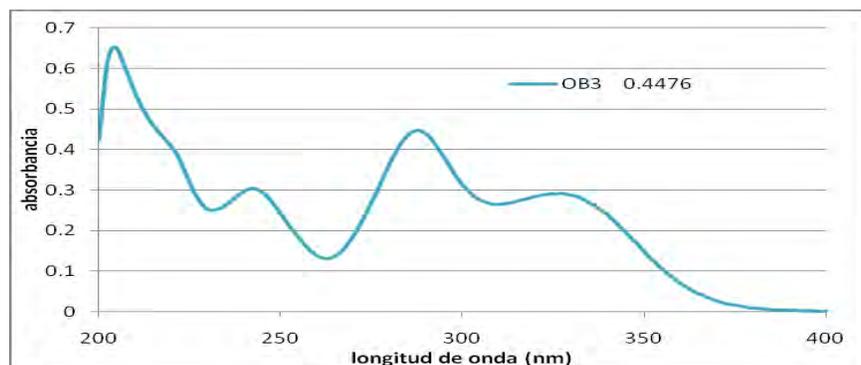
Gráfica 31. Espectro al UV de la muestra AB3. Absorbancia a 359nm a esta concentración.

b) OMC



Gráfica 32. Espectro al UV de la muestra OMC3. λ máxima de absorción 310nm.

c) OB



Gráfica 33. Espectro al UV de la muestra OB3. λ máxima de absorción a 288 nm.

Calculando la concentración de cada una de las muestras de los diferentes filtros solares con la ecuación de Lambert y Beer, obtenemos:

Filtro solar	[experimental] (mg/ml)	[experimental] (%)	[teórica] (mg/ml)	[teórica] (%)
AB	4.3513×10^{-3}	1.0272	4.2116×10^{-3}	1.0
OMC	9.54389×10^{-3}	5.5910	0.011955	7.0
OB	7.31731×10^{-3}	1.7589	7.6772×10^{-3}	2.0

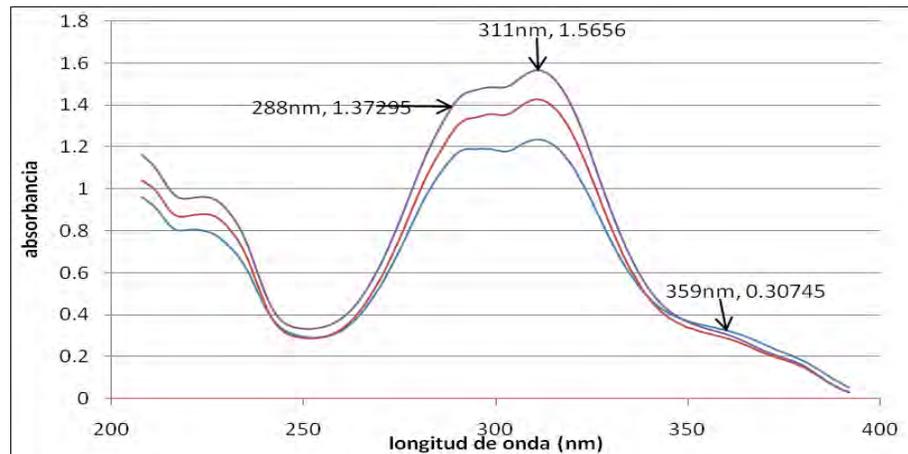
Cuadro 26. Concentraciones teórica y experimental en mg/ml y en porcentaje de los tres filtros solares.

De acuerdo a los resultados la determinación de AB, OMC y OB en cremas con parabenos es posible, demostrando que a las concentraciones utilizadas los parabenos no interfieren en la cuantificación de ninguno de los tres filtros solares.

Como se puede ver la cuantificación de los filtros solares por la ecuación de Lambert y Beer se pudo realizar sin problema alguno. Es necesario optimizar la metodología.

V.4 DETERMINACIÓN CUANTITATIVA DE MEZCLAS DE FILTROS SOLARES UTILIZANDO LA LEY DE ADITIVIDADES

Se obtuvo el siguiente espectro UV de las muestras MEZ1, MEZ 2 y MEZ3, en él se observa la $\lambda_{\text{máx}}$ a 310 nm correspondiente al OMC, se decide aplicar la ley de aditividad para la cuantificación de OB pues se cree que ésta se vio afectada por el OMC. Se descarta la AB ya que su $\lambda_{\text{máx}}$ no se alcanza a observar por interferencia del OMC.



Gráfica 34. Espectro al UV de tres cremas tipo con diferentes concentraciones de OB, OMC y AB.

Cálculos

$$\kappa_{OB\ 288nm} = 61.17$$

$$\kappa_{OMC\ 288nm} = 65.79$$

$$\kappa_{OB\ 310nm} = 36.427$$

$$\kappa_{OMC\ 310nm} = 88.182$$

$$A_{288nm} = 1.37295$$

$$A_{310nm} = 1.5656$$

A 288 nm tenemos:

$$A_{288nm} = \kappa_{OB} C_{OB} l + \kappa_{OMC} C_{OMC} l \quad \text{despejando } C_{OB} = (A_{288nm} - \kappa_{OMC} C_{OMC} l) / \kappa_{OB} l$$

A 310 nm tenemos:

$$A_{310nm} = \kappa_{OB} C_{OB} l + \kappa_{OMC} C_{OMC} l$$

Sustituyendo C_{OB} en 310 nm tenemos:

$$A_{310nm} = \kappa_{OB} [(A_{288nm} - \kappa_{OMC} C_{OMC} l) / \kappa_{OB}] + \kappa_{OMC} C_{OMC} l$$

$$1.5656 = 36.427[(1.37295 - 65.79 C_{OMC}) / 61.17] + 88.182 C_{OMC}$$

$$1.5656 = \frac{50.01245}{61.17} - \frac{2396.5323 C_{OMC}}{61.17} + 88.182 C_{OMC}$$

$$1.5656 = 0.81759 - 39.0054 C_{OMC} + 88.182 C_{OMC}$$

$$0.74801 = 49.1766 C_{OMC}$$

$$C_{OMC} = 0.01521 \text{ mg/ml}$$

Sustituyendo C_{OMC} en la ecuación:

$$C_{OB} = \frac{1.37295 - (0.01521)(65.79)}{61.17}$$

$$C_{OB} = 0.006086 \text{ mg/ml}$$

a) OB

	[experimental] mg/ml	[experimental] %	[teórico] mg/ml	[teórico] %
MEZ1	6.293×10^{-3}	2.6203	4.951×10^{-3}	2.0782
MEZ2	5.604×10^{-3}	2.3451	5.338×10^{-3}	2.2353
MEZ3	6.086×10^{-3}	2.5486	4.909×10^{-3}	2.0565

Cuadro 27. Concentraciones teórica y experimental en mg/ml y en porcentaje de OB en mezclas de filtros solares por ley de aditividad.

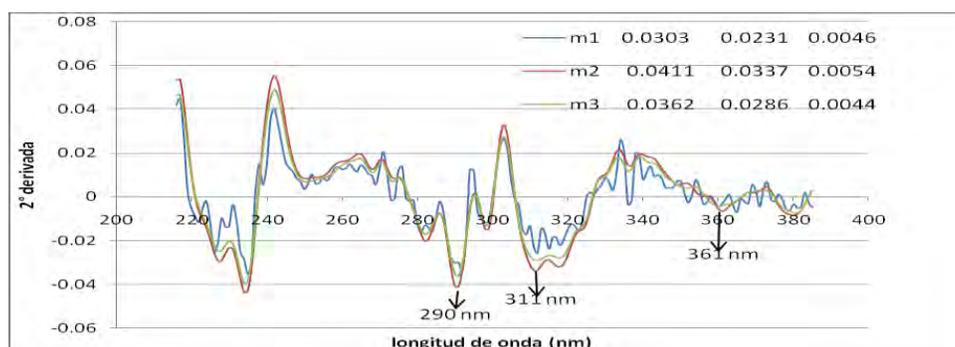
b) OMC

	[experimental]mg/ml	[experimental] %	[teórico] mg/ml	[teórico] %
MEZ1	11.40×10^{-3}	4.7468	16.012×10^{-3}	6.72
MEZ2	13.85×10^{-3}	5.7959	17.090×10^{-3}	7.152
MEZ3	15.28×10^{-3}	6.3987	17.355×10^{-3}	7.268

Cuadro 28. Concentraciones teórica y experimental en mg/ml y en porcentaje de OMC en mezclas de filtros solares por ley de aditividades.

Comparando los resultados teóricos con los experimentales para una crema con la mezcla de OB(2%), OMC(7%) y AB (1%), se observa que el caso de la OB muestra resultados positivos, es posible cuantificarla por ley de aditividades. En cambio, los resultados para determinación de OMC por esta ley no muestran resultados positivos, difieren demasiado a los obtenidos por medio de la ley de Lambert y Beer. Por lo tanto ésta no es la mejor opción para la cuantificación de OMC. La segunda derivada es la siguiente posibilidad y se incluye a AB.

V.5 DETERMINACIÓN DE CADA COMPUESTO EN LAS CREMAS FACIALES CON MEZCLAS DE FILTROS SOLARES UTILIZANDO LA ESPECTROFOTOMETRÍA UV CON SEGUNDA DERIVADA.



Gráfica 35. Espectro al UV de tres cremas tipo con la mezcla de filtros solares por segunda derivada. Datos de 2ª derivada primero de OB, OMC y AB.

En la muestra MEZ1 se presentan varias bandas que en las otras dos no, sin embargo las $\lambda_{\text{máx}}$ de absorción que buscamos se presentan en las tres muestras.

Oxibenzona

	[experimental] mg/ml	[experimental] %	[teórica] mg/ml	[teórica] %
MEZ1	4.2772×10^{-3}	2.1244	4.95110^{-3}	2.0782
MEZ2	5.7309×10^{-3}	2.3983	5.33810^{-3}	2.2353
MEZ3	4.9482×10^{-3}	2.0721	4.90910^{-3}	2.0565

Cuadro 29. Resultados obtenidos a partir de la segunda derivada de la oxibenzona. Comparación entre la concentración experimental y la teórica expresada en porcentajes.

Para la determinación de OB en una crema con una mezcla de OB (2%), OMC (7%) y AB (1%) aplicando la segunda derivada, se obtuvieron resultados positivos.

Octilmetoxicinamato

	[experimental] mg/ml	[experimental] %	[teórica] mg/ml	[teórica] %
MEZ1	12.719×10^{-3}	5.2960	16.012×10^{-3}	6.72
MEZ2	18.582×10^{-3}	7.7761	17.090×10^{-3}	7.152
MEZ3	15.982×10^{-3}	6.6929	17.355×10^{-3}	7.268

Cuadro 30. Resultados obtenidos a partir de los datos de segunda derivada del OMC. Comparación entre la concentración experimental y la teórica expresada en porcentajes.

La determinación de OMC en una crema con la mezcla de OB (2%), OMC (7%) y AB (1%) aplicando la segunda derivada es posible ya que los resultados son positivos. Comparándolos con los obtenidos por ley de aditividades la segunda derivada es mejor opción.

Avobenzona

Muestra	[experimental] mg/ml	[experimental] %	[teórica] mg/ml	[teórica] %
MEZ1	1.61974×10^{-3}	0.6744	2.606×10^{-3}	1.0854
MEZ2	1.90452×10^{-3}	0.7970	2.375×10^{-3}	0.994
MEZ3	1.54854×10^{-3}	0.4846	2.421×10^{-3}	1.014

Cuadro 31. Resultados obtenidos a partir de los datos de segunda derivada de la AB. Comparación entre la concentración experimental y la teórica expresada en porcentajes.

La determinación de AB en una crema con la mezcla de OB (2%), OMC (7%) y AB (1%) aplicando la segunda derivada no es una posibilidad, los resultados experimentales difieren mucho de los teóricos.

VI. CONCLUSIONES

Los conservadores metil y propilparabeno absorben a 258 nm y no interfieren en la determinación cuantitativa de los filtros solares.

La oxibenzona es un filtro solar químico que presentó las $\lambda_{\text{máx.}}$ de absorción a 205, 243, 288 y 324 nm. Se eligió para la cuantificación la banda de 288 nm, ya que la banda en 205 nm puede verse afectada por el disolvente, etanol, que se utilizó a lo largo del trabajo, la banda de 324 nm puede verse alterada por la presencia del OMC que absorbe a 310 nm. Por otro lado, después de los resultados obtenidos para las bandas en 288 y 243 nm se elige la de 288 nm por presentar una mejor linealidad ($r= 0.9999$). Su coeficiente de absortividad es de 61.17ml/mg cm.

El octil metoxicinamato es un filtro solar químico que presentó una $\lambda_{\text{máx.}}$ a 310 nm y un coeficiente de absortividad de 88.2 ml/mg cm.

La avobenzona es un filtro solar químico que presentó una $\lambda_{\text{máx.}}$ a 359nm y un coeficiente de absortividad es de 119.5 ml/mg cm

El estudio indica que es posible cuantificar por UV los filtros solares AB, OMC y OB en cremas, cuando se encuentra sólo uno de ellos, utilizando la ley de Lambert y Beer en intervalos de 1% para AB, 2% para OB y 7% para OMC.

Cuando se tiene una mezcla de los filtros solares en estudio, es posible aplicar la ley de aditividades, y determinar cuantitativamente al OMC y a la OB en órdenes de OMC 7% y OB 2%.

La avobenzona no se puede determinar cuando se encuentra al 1% en una mezcla con OMC al 7% y OB al 2%, ya que su $\lambda_{\text{máx.}}$ de absorción se ve afectada por la concentración de OMC en la crema.

La aplicación de segunda derivada es una técnica analítica que se puede utilizar para la determinación de la OB y del OMC en presencia de AB. Al aplicar la

segunda derivada la $\lambda_{\text{máx}}$. absorción de la OB se distingue con mayor facilidad a diferencia del espectro original, pudiendo así determinar mejor su concentración.

Para la cuantificación de tanto OB como de OMC en una mezcla con OMC (7%) y OB (2%) se recomienda la segunda derivada pues se obtienen resultados más cercanos a lo teórico con relación a la ley de aditividades.

La aplicación de la segunda derivada para determinar a AB al 1% en una mezcla de OMC (7%) y OB (2%) no es posible.

Éste es sólo un estudio preliminar que permitió establecer las posibilidades espectrofotométricas para determinar AB, OMC y OB en cremas de formulaciones conocidas. Siendo el inicio, para el desarrollo de nuevos trabajos de investigación sobre estos compuestos de gran importancia en estos tiempos, tomando en cuenta que se debe conocer la formulación de un cosmético para desarrollar el método de cuantificación.

VII. BIBLIOGRAFÍA

1. Wilkinson, JB, R.J. Moore, Marte A Rodríguez. "Cosmetología de Harry". Díaz de Santos. Cap. 1 y 15. 1995. Pp. 1-18 y 249-276.
2. Draelos, Zoe Diana. "Dermatología Estética. Cosmeceúticos". ELSEVIER Saunders. Madrid. 2006. Cap. 2 y 20. Pp. 11-16 y 139-142.
3. Giokas Dimosthenis L., Amparo Salvador, Alberto Chisvert. "UV filters: From sunscreens to human body and the environment". *TrAC Trends in Analytical Chemistry*. Vol. 26. Mayo 2007. Pp. 360-374.
4. Rigel, Darell, Robert Friedman, Leonard M. Dzubow, Douglas S. Reintgen, M.D., Jean-Claude Bystry, Robin Marks, "Cáncer de piel". Cap. 6, pp. 71-81.
5. Nash, JF. "Human Safety and Efficacy of Ultraviolet Filters and Sunscreen Products". *Dermatologic Clinics*. Vol. 2. Enero 2006. Cincinnati, USA. Pp. 35-51.
6. NOM-141-SSA1-1995, bienes y servicios. Etiquetado para productos de perfumería y belleza preenvasados.
7. Jenkins G., "Molecular mechanisms of skin ageing". *Mechanisms of Ageing and Development*. Vol. 123. Abril 2002. Pp 801-810.
8. M. Ichihashi, M. Ueda, A. Budiyanto, T. Bito, M. Oka, M. Fukunaga, K. Tsuru, T. Horikawa. "UV-induced Skin Damage". *Toxicology*. Vol 189. Julio 2003. Pp. 21-39.
9. Camile L. Hexsel, Scott D. Bangert, Adelaide A. Hebert, Henry W. Lim. "Current sunscreen issues: 2007 Food and Drug Administration sunscreen labelling recommendations and combination sunscreen/insect repellent products". Houston, Texas.
10. Acuerdo oficial de sustancias prohibidas y restringidas en la elaboración de productos de perfumería y belleza, COFEPRIS. 2007.

11. Scheman Andrew. "Adverse reactions to cosmetic ingredients". *Dermatologic Clinics*. Vol. 18. 1 octubre 2000. Pp. 685-698.
12. Skoog, Douglas A., West, Donald M., Holler, F. James. "Química Analítica". McGraw Hill. México. Séptima edición. 2000. pp. 565-630.
13. Skoog, Douglas A., James Holler, Stanely R. Crouch. "Principios de Análisis Instrumental". CENAGAGE Learning. México. Sexta edición. 2008. pp. 336-389
14. Day, R.A. "Química Analítica Cuantitativa". Pearson Educación. 1998. Quinta edición. Cap. 14. Pp. 496-498.
15. Chisvert, A. Salvador, M. C. Pascual-Martí. "Simultaneous determination of oxybenzone and 2-ethylhexyl 4-methoxycinnamate in sunscreen formulations by flow injection-isodifferential derivative ultraviolet spectrometry". *Analytica Chimica Acta*. Vol 428. Febrero 9, 2001. Pp. 183-190.
16. O'Haver, T. C. "Derivative and wavelength modulation spectrometry". *Analytical Chemistry*. Enero, 1979. Pp. 91A-99A.
17. Sanchez, F., C. Bosh Ojeda, J.M. Cano Pavon. "Derivative ultraviolet-visible absorption spectrophotometry and its analytical applications". *Talanta*. Vol. 35. Junio 14, 1988. Pp. 753-761.