



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE
MÉXICO**

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN

**“Estudio de la capacidad antioxidante de una fracción
peptídica de la semilla de la yaca presente en la formulación de
un emulgel para uso cosmético”**

T E S I S

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
LICENCIADO EN FARMACIA**

**PRESENTA:
LORETTA PEÑA DELGADILLO**

**ASESOR:
DR. DAVID QUINTANAR GUERRERO**

**COASESORES:
DR. JOSÉ ELEAZAR AGUILAR TOALÁ
DRA. MARÍA DE LA LUZ ZAMBRANO ZARAGOZA**

CUAUTITLÁN IZCALLI, ESTADO DE MÉXICO, 2023



Universidad Nacional
Autónoma de México



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.



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN
SECRETARÍA GENERAL
DEPARTAMENTO DE TITULACIÓN



UNAM
CUAUTITLÁN

DEPARTAMENTO

ASUNTO: VOTO APROBATORIO

DR. DAVID QUINTANAR GUERRERO
DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLAN
PRESENTE

ATN: DRA. MARIA DEL CARMEN VALDERAMA BRAVO
Jefa del Departamento de Titulación
de la FES Cuautitlán.

Con base en el Reglamento General de Exámenes, y la Dirección de la Facultad, nos permitimos comunicar a usted que revisamos la: **Tesis y Examen Profesional.**

Estudio de la capacidad antioxidante de una fracción peptídica de la semilla de la yaca presente en la formulación de un emulgel para uso cosmético.

Que presenta la pasante: **Loretta Peña Delgadillo**

Con número de cuenta: **418061651** para obtener el título de: **Licenciada en Farmacia**

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutido en el **EXAMEN PROFESIONAL** correspondiente, otorgamos nuestro **VOTO APROBATORIO.**

ATENTAMENTE

"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"

Cuautitlán Izcalli, Méx. a 29 de Mayo de 2023.

PROFESORES QUE INTEGRAN EL JURADO

	NOMBRE	FIRMA
PRESIDENTE	Dr. David Quintanar Guerrero	
VOCAL	Q.F.B. Brígida del Carmen Camacho Enríquez	
SECRETARIO	Dr. Julio César Botello Pozos	
1er. SUPLENTE	I.A. Miriam Alvarez Velasco	
2do. SUPLENTE	Dr. Gustavo Vidal Romero	

NOTA: los sinodales suplentes están obligados a presentarse el día y hora del Examen Profesional

Agradecimientos

A mi alma mater, la **Universidad Nacional Autónoma de México**, gracias por haberme abierto las puertas, por regalarme una de las mejores experiencias de mi vida, por darme la oportunidad de obtener una formación académica y profesional proporcionada por la Licenciatura en Farmacia de la **Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, Campo 1**.

A los proyectos: **PAPIIT IN 221823** “Extracción, caracterización y nanoencapsulación de compuestos bioactivos (péptidos y polifenoles) obtenidos de subproductos agroindustriales”, **CI2233** “Extracción, caracterización y manufactura de sistemas nanoestructurados naturales como coadyuvantes en el proceso con tecnologías emergentes para la conservación de alimentos” y **FICDTEM-2021-74** “Extracción, caracterización y nanoencapsulación de péptidos bioactivos obtenidos de subproductos agroindustriales”; gracias por el financiamiento otorgado durante la realización de este trabajo de investigación.

A mi asesor **Dr. David Quintanar**, así como a mis co-asesores **Dr. José Eleazar Aguilar Toalá** y **Dra. María de la Luz Zambrano Zaragoza**; gracias por darme la oportunidad de desarrollar este tema, por su apoyo y por compartir sus valiosos conocimientos.

A los miembros del jurado: **Q.F.B. Brígida del Carmen Camacho Enríquez**, **Dr. Julio César Botello Pozos**, **I.A. Miriam Álvarez Velasco** y al **Dr. Gustavo Vidal Romero**; gracias por sus valiosas aportaciones y observaciones que enriquecieron este trabajo.

A mis compañeros de: el **Laboratorio de Investigación y Posgrado en Tecnología Farmacéutica (L-323)** y el **Laboratorio de procesos de transformación y tecnologías emergentes en alimentos (UIM L-16)** de la FES-C; gracias por su apoyo y conocimiento brindado dentro del laboratorio.

A cada uno de los **panelistas** que participaron en las pruebas para evaluar el emulgel cosmético, gracias por su compromiso, tiempo y apoyo.

A cada uno de los antes mencionados, les agradezco infinitamente su interés y su confianza, definitivamente sin su apoyo esta investigación no podría ser concluida.

Dedicatorias

Dedico esta tesis con todo mi amor y cariño...

A mis padres, **Enrique Alberto Peña Tijerina** y **María de Lourdes Delgadillo Prado**, por amarme, aceptarme, guiarme y apoyarme incondicionalmente desde el primer momento de mi existencia, por darme la fuerza para seguir adelante y por siempre depositar su confianza en mí. Por lo que ha sido y será, hoy este logro es tan suyo como mío.

A mi hermana, **Andrea Peña Delgadillo**, por ser la mejor hermana que la vida me pudo dar, por siempre estar a mi lado apoyándome, pero sobre todo por su amor y amistad incondicional.

A **mí**, por soñar, por creer en mí misma, por ser valiente y atreverme, por comprometerme a recorrer este camino, por aferrarme a mi sueño todas esas veces que quise darme por vencida, pero, sobre todo, por seguir adelante hasta lograrlo.

A mis **amigos**, por siempre estar pendientes de mí, por apoyarme cuando lo he necesitado, por compartir y acompañarme en cada momento de diversión e incluso de nerviosismo en cada semestre. Gracias por haber hecho de mi etapa universitaria una vivencia inolvidable, me quedo con un pedacito de ustedes, les deseo lo mejor en su vida.

A cada una de las personas mencionadas, les agradezco por todos los momentos y aportaciones hacia mí persona, seguiré atesorando en mi mente y corazón cada una de las vivencias, ha sido un honor coincidir en esta vida ♥.

Índice

Resumen.....	1
Introducción.....	2
I. Marco teórico.....	4
1.1 Generalidades de la yaca.....	4
1.2 Producción de yaca en México	5
1.3 Semilla de yaca	6
1.4 Aminoácidos	10
1.5 Péptidos.....	12
1.6 Proteínas.....	12
1.7 Péptidos bioactivos	13
1.8 Método de obtención de péptidos bioactivos derivados de proteínas alimentarias.....	13
1.8.1 Adquisición de materias primas.....	14
1.8.2 Extracción de proteínas.....	14
i. Mecánico	15
ii. No mecánico	15
1.8.3 Hidrólisis de proteínas	16
i. Químico	17
ii. Biológico.....	17
1.8.4 Fraccionamiento y aislamiento de péptidos bioactivos	18
i. Separación de membrana.....	19
ii. Electroforesis	19
iii. Cromatografía	19
1.9 Evaluación de la actividad antioxidante de los péptidos	20

1.9.1	Método de evaluación de la actividad antioxidante en ensayos químicos <i>in vitro</i>	21
1.9.2	Métodos de evaluación de la actividad antioxidante en ensayos biológicos celulares <i>in vitro</i>	22
1.10	Papel de los péptidos bioactivos naturales en el desarrollo de productos cosméticos para la piel.....	23
1.10.1	Péptidos bioactivos con propiedades antienvjecimiento.....	23
1.10.2	Péptidos con actividad antimicrobiana	23
1.10.3	Péptidos con actividad antioxidante	24
1.10.4	Péptidos con actividad antiinflamatoria.....	24
1.10.5	Péptidos bioactivos multifuncionales	24
1.11	Piel	25
1.11.1	Epidermis.....	25
i.	Estrato basal o germinal	26
ii.	Estrato espinoso	26
iii.	Estrato granuloso	26
iv.	Estrato lúcido	26
v.	Estrato córneo	27
1.11.2	Dermis.....	27
i.	Región papilar	28
ii.	Región reticular.....	28
1.12	Cosméticos.....	28
1.12.1	Clasificación de productos cosméticos	29
i.	Forma cosmética líquida.....	29
ii.	Forma cosmética semisólida.....	29
iii.	Forma cosmética sólida	29

1.13	Evaluaciones de calidad para productos cosméticos	30
1.13.1	Evaluaciones Organolépticas	30
i.	Apariencia.....	30
ii.	Prueba de uso	31
1.13.2	Evaluaciones Fisicoquímicas	31
i.	Determinación de pH.....	31
ii.	Gravedad específica	32
iii.	Viscosidad.....	32
1.13.3	Evaluaciones de Estabilidad.	33
i.	Prueba centrífuga.....	33
ii.	Estabilidad acelerada.	33
iii.	Estabilidad a largo plazo.	33
1.14	Regulación nacional de cosméticos	34
1.15	Emulgel.....	38
1.15.1	Emulsión	39
1.15.2	Gel.....	40
1.16	Elementos de la formulación.	40
1.16.1	Principio activo	40
1.16.2	Vehículo	40
i.	Emulsionantes.....	41
ii.	Agente gelificante	42
iii.	Potenciador de penetración.....	42
iv.	Humectantes.....	42
v.	Emolientes	43
vi.	Espesantes	43

vii.	Agente neutralizante	43
viii.	Conservadores	43
1.17	Método de preparación	44
1.17.1	Formación del gel base.	44
1.17.2	Formación de la emulsión.....	44
1.17.3	Formación del emulgel.	45
1.18	Justificación de los emulgeles como formulación cosmética	45
II.	Objetivos.....	47
2.1	Objetivo general.....	47
2.2	Objetivos particulares	47
III.	Hipótesis	48
IV.	Metodología.....	49
4.1	Materiales.....	49
4.1.1	Material, equipo e instrumentos.....	49
i.	Material.....	49
ii.	Equipos.	49
iii.	Instrumentos.....	50
4.1.2	Reactivos, soluciones, materias primas y materiales de envase.	50
i.	Reactivos.	50
ii.	Soluciones.....	51
iii.	Materias primas.....	51
iv.	Materiales de envase.....	51
4.1.3	Preparación de soluciones no comerciales.....	52
4.2	Metodología.....	54
4.2.1	Elaboración de harina de semillas de yaca.	55

4.2.2	Preparación de hidrolizados de proteínas de semillas de yaca.	56
4.2.3	Fraccionamiento de hidrolizados de proteína de semilla de la yaca.	58
4.2.4	Determinación de proteínas de las fracciones peptídicas de las semillas de yaca por el protocolo de Lowry.	59
4.2.5	Determinación de la actividad antioxidante de las fracciones peptídicas de las semillas de yaca por el método de DPPH.	61
4.2.6	Preformulación.	64
4.2.7	Formulación.	65
4.2.8	Elaboración del emulgel cosmético base.	66
	i. Gel.	66
	ii. Emulsión.	67
	iii. Emulgel.	69
4.2.9	Elaboración del emulgel cosmético con péptidos bioactivos de semillas de yaca.	70
4.2.10	Control de calidad.	71
	i. Organolépticas.	72
	ii. Fisicoquímicas.	72
	iii. Estabilidad.	73
4.2.11	Diseño del estudio piloto para evaluar los beneficios del emulgel peptídico de semillas de yaca con capacidad antioxidante.	75
4.2.12	Análisis estadístico.	77
V.	Resultados y discusión.	78
5.1.1	Determinación de proteínas de las fracciones peptídicas de las semillas de yaca por el protocolo de Lowry.	78
5.1.2	Determinación de la actividad antioxidante de las fracciones peptídicas de las semillas de yaca por el método de DPPH.	79

5.1.3	Control de calidad.....	82
i.	Organolépticas.....	82
ii.	Fisicoquímicas.....	84
iii.	Estabilidad.....	86
5.1.4	Diseño del estudio piloto para evaluar los beneficios del emulgel peptídico de semillas de yaca con capacidad antioxidante.....	88
5.1.5	Análisis de los resultados de la evaluación de las pruebas sensoriales aplicadas a los panelistas.....	105
VI.	Conclusiones.....	108
VII.	Bibliografía.....	109
VIII.	Anexos.....	119

Índice de tablas

Tabla 1.	Composición proximal de la semilla de yaca (Ajayi, 2008).	6
Tabla 2.	Concentraciones minerales (ppm de materia seca) (Ajayi, 2008).	7
Tabla 3.	Aminoácidos esenciales presentes en la proteína total de la semilla de yaca (Wu et al., 2022).	8
Tabla 4.	Aminoácidos no esenciales presentes en la proteína total de la semilla de yaca (Wu et al., 2022).	9
Tabla 5.	Composición de la harina de semilla de yaca (Lima et al., 2014).	10
Tabla 6.	Los 20 Aminoácidos que componen las proteínas (Zorrilla y Koob, 2007).	11
Tabla 7.	Niveles de membranas de filtración (Solís et al., 2017).	20
Tabla 8.	Descripción general de las Leyes que regulan la industria cosmética en México.	35
Tabla 9.	Descripción general de las normas que regulan la industria cosmética en México.	36
Tabla 10.	Descripción general del reglamento que regulan la industria cosmética en México.	37
Tabla 11.	Descripción general del listado que regulan la industria cosmética en México.	38
Tabla 12.	Fórmula patrón de una emulsión O/W (Cumbreño-Barquero y Pérez-Higuero, 2004a).	64
Tabla 13.	Fórmula patrón de un gel (Cumbreño-Barquero & Pérez-Higuero, 2004b). ..	65
Tabla 14.	Formulación del emulgel	65
Tabla 15.	Contenido proteico de las fracciones peptídicas	78
Tabla 16.	Concentración equivalente a ac. ascórbico y a trolox de las fracciones peptídicas.	79
Tabla 17.	Actividad antioxidante de las fracciones peptídicas por g de proteína	80
Tabla 18.	Evaluaciones organolépticas, fisicoquímicas y de estabilidad.	82

Tabla 19.	Características de apariencia de los emulgeles	83
Tabla 20.	Características de prueba de uso de los emulgeles	84
Tabla 21.	pH promedio obtenido en los emulgel peptídicos y emulgel base	85
Tabla 22.	G.E. promedio de los emulgeles peptídicos y base.....	85
Tabla 23.	Viscosidad promedio de los emulgeles peptídicos y emulgeles base	86
Tabla 24.	Estabilidad centrífuga de los emulgeles peptídico y base.....	87
Tabla 25.	Estabilidad acelerada de los emulgeles peptídicos y base	87
Tabla 26.	Estabilidad a largo plazo de los emulgeles peptídicos y base.....	88
Tabla 27.	Evolución de la epidermis del panelista 1 a lo largo del estudio piloto.....	90
Tabla 28.	Evolución de la epidermis del panelista 2 a lo largo del estudio piloto.....	90
Tabla 29.	Evolución de la epidermis del panelista 3 a lo largo del estudio piloto.....	91
Tabla 30.	Evolución de la epidermis del panelista 4 a lo largo del estudio piloto.....	91
Tabla 31.	Evolución de la epidermis del panelista 5 a lo largo del estudio piloto.....	92
Tabla 32.	Evolución de la epidermis del panelista 6 a lo largo del estudio piloto.....	92
Tabla 33.	Evolución de la epidermis del panelista 7 a lo largo del estudio piloto.....	93
Tabla 34.	Evolución de la epidermis del panelista 8 a lo largo del estudio piloto.....	93
Tabla 35.	Evolución de la epidermis del panelista 9 a lo largo del estudio piloto.....	94
Tabla 36.	Evolución de la epidermis del panelista 10 a lo largo del estudio piloto.....	94
Tabla 37.	Evolución de la epidermis del panelista 11 a lo largo del estudio piloto.....	95
Tabla 38.	Evolución de la epidermis del panelista 12 a lo largo del estudio piloto.....	95
Tabla 39.	Evolución de la epidermis del panelista 13 a lo largo del estudio piloto.....	96
Tabla 40.	Evolución de la epidermis del panelista 14 a lo largo del estudio piloto.....	96
Tabla 41.	Evolución de la epidermis del panelista 15 a lo largo del estudio piloto.....	97
Tabla 42.	Evolución de la epidermis del panelista 16 a lo largo del estudio piloto.....	97
Tabla 43.	Evolución de la epidermis del panelista 17 a lo largo del estudio piloto.....	98

Tabla 44.	Evolución de la epidermis del panelista 18 a lo largo del estudio piloto.....	98
Tabla 45.	Evolución de la epidermis del panelista 19 a lo largo del estudio piloto.....	99
Tabla 46.	Evolución de la epidermis del panelista 20 a lo largo del estudio piloto.....	99
Tabla 47.	Evolución de la epidermis del panelista 21 a lo largo del estudio piloto.....	100
Tabla 48.	Evolución de la epidermis del panelista 22 a lo largo del estudio piloto.....	100
Tabla 49.	Evolución de la epidermis del panelista 23 a lo largo del estudio piloto.....	101
Tabla 50.	Evolución de la epidermis del panelista 24 a lo largo del estudio piloto.....	101
Tabla 51.	Evolución de la epidermis del panelista 25 a lo largo del estudio piloto.....	102
Tabla 52.	Evolución de la epidermis del panelista 26 a lo largo del estudio piloto.....	102
Tabla 53.	Evolución de la epidermis del panelista 27 a lo largo del estudio piloto.....	103
Tabla 54.	Evolución de la epidermis del panelista 28 a lo largo del estudio piloto.....	103
Tabla 55.	Evolución de la epidermis del panelista 29 a lo largo del estudio piloto.....	104
Tabla 56.	Evolución de la epidermis del panelista 30 a lo largo del estudio piloto.....	104
Tabla 57.	Resultados de la evaluación de apariencia de las pruebas sensoriales aplicadas a los panelistas	105
Tabla 58.	Resultados de la evaluación de uso de las pruebas sensoriales aplicadas a los panelistas.....	106

Índice de figuras

Figura 1. Diferentes partes de la yaca: a) Yaca; b) Sección de corte de yaca; c) Pulpa de yaca; d) Semilla de yaca (Swami et al., 2012).....	5
Figura 2. Estructura cristalina de la jacalina (Bourne et al., 2002).....	7
Figura 3. Método de obtención de péptidos bioactivos	13
En los siguientes párrafos se explica brevemente el proceso de obtención de péptidos bioactivos.	14
Figura 4. Mecanismo catalítico de una proteasa (Benítez et al., 2008).	18
Figura 5. Capas de la dermis (Mohamed y Hargest, 2021).....	25
Figura 6. Estructura de la epidermis (Mohamed y Hargest, 2021).	27
Figura 7. Estructura de emulgel (Charyulu et al., 2021).....	38
Figura 8. Esquema general de la metodología	54
Figura 9. Harina de semillas de yaca	55
Figura 10. Metodología para la elaboración harina de semillas de yaca.....	56
Figura 11. Preparación de hidrolizados de proteínas de semillas de yaca: a) Hidrólisis enzimática; b) separación del hidrolizado por reposo; c) separación del sobrenadante por centrifugación; d) sobrenadante recolectado.	57
Figura 12. Fraccionamiento de hidrolizados de proteína de semilla de la yaca: a) Fraccionamiento por membrana de ultrafiltración MWCO de 10, 000 Da; b) fraccionamiento por membrana de ultrafiltración MWCO de 5, 000 Da.	58
Figura 13. Tubos de ensaye con la curva de calibración patrón.....	60
Figura 14. Curva de calibración patrón de Lowry	60
Figura 15. Tubos de ensaye con curva de calibración patrón de ac. ascórbico	62
Figura 16. Capacidad de eliminación de radicales libres DPPH del ac. ascórbico	62
Figura 17. Tubos de ensaye con curva de calibración patrón de trolox	63
Figura 18. Capacidad de eliminación de radicales libres DPPH del trolox	63

Figura 19.	Gel.....	66
Figura 20.	Método para la elaboración del gel.....	67
Figura 21.	Fase oleosa.....	68
Figura 22.	Fase acuosa	68
Figura 23.	Método para la elaboración de la emulsión	69
Figura 24.	Elaboración del emulgel cosmético base: a) Adición de la fase oleosa a la fase acuosa; b) Homogeneización de las fases; c) Emulgel base.....	70
Figura 25.	Metodología para la elaboración del emulgel peptídico	71
Figura 26.	Carta de autorización de uso de imagen y consentimiento informado	75
Figura 27.	Encuesta de pruebas sensoriales	76
Figura 28.	Contenido proteico de las fracciones peptídicas.....	79
Figura 29.	Concentración equivalente a ac. ascórbico y a trolox de las fracciones peptídicas.....	80
Figura 30.	Actividad antioxidante de las fracciones peptídicas por g de proteína.....	81
Figura 31.	Comparación de la prueba de apariencia del emulgel peptídico y del emulgel base.....	106
Figura 32.	Comparación de la prueba de uso del emulgel peptídico y del emulgel base.....	107

Resumen

La yaca es una fruta que posee semillas con alto contenido proteico; las semillas son ricas en péptidos bioactivos, sin embargo, es limitada la información sobre dichos péptidos y el amplio espectro de bioactividades que poseen; el objetivo del trabajo fue obtener péptidos bioactivos contenidos en las semillas de yaca e investigar su capacidad antioxidante para posteriormente utilizar una fracción peptídica como ingrediente funcional en la formulación de un emulgel, evaluando su bioactividad en la epidermis; la metodología consistió en: 1) elaborar harina de semillas de yaca, 2) preparar hidrolizados de proteínas, 3) fraccionar los hidrolizados de proteína usando filtración centrífuga, 4) determinar concentración de proteínas por método de Lowry, 5) determinar la actividad antioxidante de DPPH, 6) pre-formular, 7) formular, 8) preparar un emulgel empleando el extracto peptídico, 9) caracterizar mediante pruebas de control de calidad y 10) evaluar mediante un estudio de panel los efectos del emulgel peptídico en la epidermis; los resultados obtenidos fueron tres fracciones peptídicas, >5 kDa, <10 kDa >5 kDa y >10 kDa, de estas fracciones peptídicas, la fracción con mayor capacidad antioxidante fue la fracción <10 kDa >5 kDa, esta fracción se utilizó como principio activo del emulgel, después de 28 días del ensayo *in vivo*, se encontró que el emulgel es un buen sistema tópico de administración para el principio activo ya que se percibió una mejoría en la piel de los panelistas, adicionalmente se observó una bioactividad anti-manchas de los péptidos. En conclusión, los resultados del estudio de investigación muestran que los péptidos $<10>5$ kDa de harina de semilla de yaca tienen potencial como principio activo y podrían ser empleados en el área cosmética y farmaceutica ya que demuestran una clara actividad antioxidante y anti-manchas.

Introducción

La Yaca (*Artocarpus heterophyllus* Lam.) es una fruta tropical muy apreciada por su pulpa y semillas, estas últimas han sido investigadas como una fuente nutricional por diferentes autores, sin embargo, no se tiene mucha información sobre los péptidos antioxidantes derivados de las semillas (Ajayi, 2011; Ranasinghe et al., 2019). Las semillas en cualquier fruto son más ricas en proteína que otros componentes, esto es porque deben de dar origen a una nueva planta (Miah et al., 2017).

Los hidrolizados de proteínas se producen al exponer proteínas a tratamientos hidrolíticos utilizando enfoques ácidos, alcalinos o enzimáticos. Durante el proceso hidrolítico, los enlaces peptídicos en las proteínas se rompen, lo que lleva a la liberación de péptidos y aminoácidos (Agyei y Danquah, 2011; Clemente y Pedroche, 2001; Guadix et al., 2000; Wen et al., 2020). Empleando enzimas específicas los fragmentos de péptidos y aminoácidos únicos son liberados de las proteínas parentales, acompañados por el despliegue de cadenas proteicas, descomponiéndose en componentes de menor peso molecular (Benítez et al., 2008; Guadix et al., 2000; Piovesana et al., 2018).

Los péptidos bioactivos tienen un amplio espectro de bioactividades por lo que se ha propuesto utilizarlos como ingredientes funcionales para el desarrollo de productos ya que además de sus bioactividades, los péptidos poseen perfiles de seguridad altos (Berenice et al., 2015; Mora et al., 2018; Mulero Cánovas et al., 2011). Según la FDA, los hidrolizados de proteínas que contienen péptidos bioactivos, poseen el estado de sustancia alimentaria generalmente reconocida como segura (GRAS) (FDA, 2015).

En los últimos años, la demanda de los consumidores de productos cosméticos con acción bioactiva derivada de fuentes naturales ha provocado que la industria cosmética opte por principios activos alternativos para el desarrollo de nuevas formulaciones (Aguilar-Toalá et al., 2019; Husein el Hadmed y Castillo, 2016; Pai et al., 2017).

Los péptidos bioactivos derivados de hidrolizados de proteínas de subproductos agroindustriales, se considera pueden ser utilizados en el desarrollo de cosméticos debido a que estos podrían ejercer su función biológica proporcionando acciones antimicrobianas,

antioxidantes, antiinflamatorias, protectoras y la capacidad de inhibir las enzimas relacionadas con el envejecimiento como la elastasa, colagenasa, tirosinasa e hialuronidasa en la piel; estas actividades presentan potencial aplicación en la cosmética, ya que estas propiedades pueden contribuir a la mejora de la salud de la piel al proporcionar funciones fisiológicas específicas (Aguilar-Toalá et al., 2019; Husein el Hadmed y Castillo, 2016; B. N. B. Lima et al., 2014; Pai et al., 2017).

Recientemente han surgido nuevas formulaciones cosméticas que aportan moléculas con efectos beneficiosos sobre la piel humana que influyen en la función biológica de la piel. En las pruebas *in vivo*, las formulaciones han revelado que la aplicación tópica de péptidos bioactivos posee una protección notable de la piel (Aguilar-Toalá et al., 2019; Pai et al., 2017).

Se necesita un vehículo adecuado para depositar, distribuir uniformemente y liberar un principio activo en su sitio de acción de manera efectiva. Los emulgeles son una forma cosmética óptima que superan distintas limitaciones con respecto a otras preparaciones tópicas y además proporciona beneficios tanto de emulsión como de gel (Ashara et al., 2016; Benitez y Povedano, 2020; Charyulu et al., 2021; Phad et al., 2018).

Por un lado, las emulsiones, aunque suelen tener más biodisponibilidad que un emulgel, poseen la limitación de tener un menor coeficiente de difusión, menor penetración a través del estrato córneo y menor cumplimiento del paciente, además de un problema de estabilidad; por otro lado, los geles que suelen tener en mayor proporción un componente acuoso en su formulación, permiten una mayor disolución de fármacos y una fácil migración del fármaco en comparación con las emulsiones, una de sus grandes desventajas es ser un vehículo deficiente para administrar fármacos hidrofóbicos (Ashara et al., 2016; Phad et al., 2018; Sah et al., 2017).

Estas limitaciones se pueden superar formulando un emulgel (Ashara et al., 2016; Charyulu et al., 2021; Phad et al., 2018; Supriya et al., 2014).

I. Marco teórico

1.1 Generalidades de la yaca

El árbol de la yaca (*Artocarpus heterophyllus* Lam.) pertenece a la familia de las *Moraceae*, del género *Artocarpus*, es un árbol de hoja perenne que vive hasta 70 años de manera productiva, generalmente alcanzan una altura de 8 - 25 m, y un diámetro de tronco de 30 - 80 cm (Ajayi, 2011; Cruz-Casillas et al., 2021; Ranasinghe et al., 2019; Swami et al., 2012; Swami y Kalse, 2019). El árbol de la yaca se cree es originario de la India, actualmente se encuentra distribuido en países tropicales y subtropicales de Asia, África y América (Ajayi, 2011; Ranasinghe et al., 2019).

La fruta nace principalmente en la parte interior de las ramas principales del árbol, esta presenta una forma cilíndrica oblonga, similar a la de un barril, la cual alcanza hasta 90 cm de largo y 50 cm de diámetro, su peso promedio es de 5 a 50 kg, este fruto tarda de 90 a 180 días para alcanzar la madurez (Ajayi, 2011; Ranasinghe et al., 2019).

La yaca es considerada la fruta comestible más grande del mundo, el exterior de la fruta es verde o amarillo (cuando está madura) y el interior consta de grandes bulbos comestibles de pulpa amarilla con un sabor particular, a menudo la llaman “La fruta de los siete sabores” debido a que al comerla recuerdan el sabor del mango, piña, plátano, naranja, melón, papaya y guanábana (Ajayi, 2011; Ranasinghe et al., 2019; Swami et al., 2012). Las yacas maduras constan de ~29 % de pulpa, ~12 % de semillas y ~54 % de cáscara (Swami y Kalse, 2019). Los subproductos principales de la yaca son la cáscara y las semillas (Cruz-Casillas et al., 2021).



Figura 1. Diferentes partes de la yaca: a) Yaca; b) Sección de corte de yaca; c) Pulpa de yaca; d) Semilla de yaca (Swami et al., 2012).

1.2 Producción de yaca en México

En México, el cultivo de la yaca se produce en Nayarit (1,555 ha), Veracruz (70 ha), Jalisco (37 ha), Colima (9.5 ha), Michoacán (7 ha) e Hidalgo (5.5 ha) (Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, 2021).

Por volumen y extensión, Nayarit es el primer productor de yaca en México, esto debido a que este estado posee las condiciones climáticas óptimas para su crecimiento, esta fruta se produce principalmente en 3 municipios de la entidad: San Blas, Santiago y Compostela; en el ciclo pasado (2021) se han obtenido 14,429 toneladas de yaca (Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, 2021; Representación de Agricultura en Nayarit, 2018, 2019).

Existen innumerables genotipos y cultivares de yaca en el mundo, en Nayarit se cultivan diferentes selecciones varietales sin registro, que se distinguen por características específicas de la planta y fruto, como: Agüitada, Buchona, Romina, Carlita, Ponciana, Clemente, Lisa, Bolonga, R-15 y Yesi. Entre las diversas variedades se observan diferencias en el fruto, como tamaño, firmeza, densidad de protuberancias, presencia de látex y calidad de la pulpa. El varietal más propagado es el cultivar “Agüitada” (Luna-Esquivel et al., 2018).

En los últimos años la yaca ha sido foco de investigación, debido a que presenta una amplia gama de aplicaciones farmacológicas, especialmente actividades antioxidantes, antiinflamatorias, antimicrobianas, anticancerígenas y antifúngicas (Swami et al., 2012; Swami y Kalse, 2019).

1.3 Semilla de yaca

Las semillas de la yaca representan alrededor del 10-15% del peso total de la fruta, cada fruta contiene alrededor de 100 a 500 semillas (Ajayi, 2011; Cruz-Casillas et al., 2021; Swami et al., 2012; Swami y Kalse, 2019).

Las semillas presentan una forma ovalada u oblonga, miden de 2 a 3 cm de largo y de 1 a 2 cm de diámetro y están encerradas en un arilo blanco que rodea un espermodermo marrón claro delgado, que cubre el cotiledón blanco carnosos (Ajayi, 2011; Ranasinghe et al., 2019; Swami y Kalse, 2019).

La composición nutrimental de la semilla de yaca es similar a la de los granos, son una rica fuente de carbohidratos y proteínas, una buena fuente de fibra y vitaminas (Miah et al., 2017). Las semillas de yaca están constituidas por ~ 50% de carbohidratos, ~ 20% de proteínas, ~ 11% de grasas y ~ 7% fibra, dentro de esta constitución general, las semillas poseen elementos minerales (Ajayi, 2011).

La composición general de la semilla de yaca se puede determinar mediante un análisis proximal y una cuantificación de minerales, en la tabla 1 se presenta la composición proximal de las semillas de yaca, mientras que las concentraciones de minerales de la semilla de yaca se presentan en la tabla 2 (Ajayi, 2008).

Tabla 1. Composición proximal de la semilla de yaca (Ajayi, 2008).

Parámetro	Concentración
Humedad (%)	2.78
Proteína (%)	20.19
Lípidos (%)	11.39
Carbohidratos (%)	51.82

Tabla 2. Concentraciones minerales (ppm de materia seca) (Ajayi, 2008).

Mineral	Concentración (ppm)
Calcio	190.00
Magnesio	240.00
Potasio	2470.00
Sodio	398.50
Hierro	148.50
Zinc	40.85
Cobre	22.00

Dentro del contenido proteico, las semillas de la yaca contienen una mezcla compleja de lecitinas. Además de la abundante lecitina jacalina, también ha sido identificada una lecitina menor llamada artocarpina (Swami et al., 2012; Swami y Kalse, 2019).

La principal lecitina es la jacalina, una proteína homotetramérica de cuatro protómeros idénticos que consta de una cadena polipeptídica ligera (β) y una pesada (α) de 20 y 133 residuos de aminoácidos respectivamente, la estructura de la jacalina se muestra en la figura 2 (Bourne et al., 2002; Swami et al., 2012; Swami & Kalse, 2019).

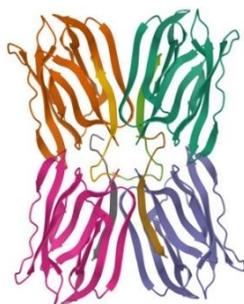


Figura 2. Estructura cristalina de la jacalina (Bourne et al., 2002).

Entre los nutrientes, las proteínas juegan un papel importante, se descomponen en aminoácidos que el cuerpo humano emplea como precursores de ácidos nucleicos, coenzimas, hormonas, respuesta inmunitaria, reparación celular y otras moléculas esenciales para la vida (Miah et al., 2017; Wu et al., 2022). La proteína es el principal componente de los tejidos corporales del cuerpo humano (Miah et al., 2017).

Tabla 3. Aminoácidos esenciales presentes en la proteína total de la semilla de yaca (Wu et al., 2022).

Aminoácidos esenciales	Cantidad (%)
Lisina	5.36
Isoleucina	4.43
Leucina	6.07
Metionina	1.04
Treonina	4.78
Valina	5.68
Fenilalanina	5.78
Histidina	1.07

Tabla 4. Aminoácidos no esenciales presentes en la proteína total de la semilla de yaca (Wu et al., 2022).

Aminoácidos no esenciales	Cantidad (%)
Alanina	1.48
Ácido aspártico	7.44
Arginina	2.40
Ácido glutámico	6.68
Serina	5.58
Glicina	5.21
Cisteína	0.74
Tirosina	6.98

Aunque las proteínas de semilla de yaca contienen aminoácidos esenciales y no esenciales, como se presentan en la tabla 3 y 4, éstas se desperdician cada año debido a que las semillas frescas de yaca no se pueden conservar durante mucho tiempo (Miah et al., 2017).

La harina de semillas de yaca puede ser un producto alternativo, ya que esta puede almacenarse durante un período prolongado y utilizarse para aprovechar el contenido proteico de las semillas, en la tabla 5 se presenta la composición de la harina de semilla de yaca (B. N. B. Lima et al., 2014; Miah et al., 2017).

Tabla 5. Composición de la harina de semilla de yaca (Lima et al., 2014).

Parámetro	Concentración
Humedad (%)	7.3 ± 1.03
Proteína (%)	20 ± 0.84
Lípidos (%)	2.5 ± 0.6
Carbohidratos (%)	67

media ± desviación estándar

1.4 Aminoácidos

Un aminoácido está conformado por un átomo de carbono central al que están unidos un grupo carboxilo (-COOH), un grupo amino (-NH₂), un átomo de hidrógeno y una cadena lateral; la cadena lateral que es distintiva para cada aminoácido (Banga, 2015; López y Mohiuddin, 2023).

Existen unos 20 aminoácidos a partir de los cuales se pueden formar las proteínas, a estos se les conoce como aminoácidos proteínogénicos, estos se dividen entre aminoácidos esenciales y no esenciales, en la tabla 6 se presentan los 20 aminoácidos que componen las proteínas (Banga, 2015).

Los aminoácidos esenciales son aquellos que el cuerpo humano no es capaz de sintetizar, se obtienen a través de la dieta, estos son: histidina, isoleucina, leucina, lisina, metionina, fenilalanina, treonina, triptófano y valina (López y Mohiuddin, 2023).

Los aminoácidos no esenciales son aquellos que el cuerpo humano es capaz de sintetizar, estos son: alanina, arginina, asparagina, aspartato, cisteína, glutamato, glutamina, glicina, prolina, serina y tirosina (López y Mohiuddin, 2023).

Tabla 6. Los 20 Aminoácidos que componen las proteínas (Zorrilla y Koob, 2007).

Aminoácido	Código (3 letras)	Codones del ADN
Alanina	Ala	GCT, GCC, GCA, GCG
Arginina	Arg	CGT, CGC, CGA, CGG, AGA, AGG
Asparagina	Asn	AAT, AAC
Aspartato	Asp	GAT, GAC
Cisteína	Cys	TGT, TGC
Fenilalanina	Phe	TTT, TTC
Glicina	Gly	GGT, GGC, GGA, GGG
Glutamato	Glu	GAA, GAG
Glutamina	Gln	CAA, CAG
Histidina	His	CAT, CAC
Isoleucina	Ile	ATT, ATC, ATA
Leucina	Leu	CTT, CTC, CTA, CTG, TTA, TTG
Lisina	Lys	AAA, AAG
Metionina	Met	ATG
Prolina	Pro	CCT, CCC, CCA, CCG
Serina	Ser	TCT, TCC, TCA, TCG, AGT, AGC
Tirosina	Tyr	TAT, TAC
Treonina	Thr	ACT, ACC, ACA, ACG
Triptófano	Trp	TGG
Valina	Val	GTT, GTC, GTA, GTG

1.5 Péptidos

Un péptido es una secuencia de 2 a 50 aminoácidos enlazados entre sí mediante uniones químicas denominadas enlaces peptídicos. Los enlaces peptídicos o amida sustituido (-C-N), son enlaces covalentes resultantes de la reacción del grupo carboxilo (-COOH) de un aminoácido con el grupo amino (-NH₂) de otro aminoácido, esta reacción de polimerización libera una molécula de agua (Banga, 2015; Forbes y Krishnamurthy, 2022; Zorrilla y Koob, 2007).

1.6 Proteínas

Una proteína es una secuencia de al menos 50 o más aminoácidos, son estructuras polipeptídicas formadas por una o varias cadenas largas de aminoácidos (Banga, 2015).

Una proteína puede identificarse en función de cada nivel de su estructura. Cada proteína contiene al menos una estructura primaria, secundaria o terciaria. Sólo algunas proteínas tienen una estructura cuaternaria (Banga, 2015; Sanvictores y Farci, 2022).

- ❖ **Estructura primaria:** La estructura primaria es una cadena polipeptídica conformada por una cadena lineal de aminoácidos unidos covalentemente.
- ❖ **Estructura secundaria:** La estructura secundaria se produce cuando la cadena polipeptídica de aminoácidos se pliega y adopta una forma tridimensional.
- ❖ **Estructura terciaria:** La estructura terciaria, se produce cuando la estructura secundaria se pliega sobre sí misma.
- ❖ **Estructura cuaternaria:** La estructura cuaternaria se produce cuando la proteína consta de más de una cadena polipeptídica.

1.7 Péptidos bioactivos

Los péptidos bioactivos son secuencias de 3 a 20 aminoácidos enlazados entre sí mediante enlaces peptídicos (Mora et al., 2018; Mulero Cánovas et al., 2011).

Los péptidos bioactivos, son péptidos que se encuentran inactivos en la secuencia de proteínas precursoras, y dependiendo de su estructura química, longitud y la composición de los aminoácidos que poseen, muestran un amplio espectro de diferentes bioactividades beneficiosas en el cuerpo humano, estos pueden inducir funcionalidades tales como efectos antioxidantes, antimicrobianos, antihipertensivos, inmunomoduladores, entre otras. Estos péptidos pueden ser liberados mediante hidrólisis de proteínas *in vivo* o *in vitro* (Berenice et al., 2015; Mora et al., 2018; Mulero Cánovas et al., 2011).

1.8 Método de obtención de péptidos bioactivos derivados de proteínas alimentarias

Los péptidos bioactivos se encuentran inactivos dentro de la secuencia de la molécula de proteína precursora, estos, se obtienen durante la hidrólisis enzimática de proteínas alimentarias al ocurrir la acción proteolítica de las enzimas (Agyei y Danquah, 2011; Görgüç et al., 2020; Piovesana et al., 2018; Wen et al., 2020).



Figura 3. Método de obtención de péptidos bioactivos

En los siguientes párrafos se explica brevemente el proceso de obtención de péptidos bioactivos.

1.8.1 Adquisición de materias primas

Los alimentos ricos en proteínas suelen utilizarse en la producción de péptidos bioactivos (Agyei y Danquah, 2011). Durante el procesamiento de algunos alimentos se generan residuos con alto contenido proteico. Estas fuentes de proteínas que suelen desecharse tienen un gran potencial para la producción de péptidos bioactivos, estos subproductos son relativamente baratos y su uso dará una eliminación eficiente de desechos y una reducción de costo de producción, además desde la perspectiva del desarrollo sustentable, se efficientizan recursos naturales (Görgüç et al., 2020; Olivares-Galván et al., 2020; Piovesana et al., 2018; Rizzello et al., 2016).

Los recursos proteicos en subproductos tienen un gran potencial para la producción de péptidos bioactivos (Görgüç et al., 2020). Las semillas frutales suelen ser consideradas como parte de los residuos de las frutas, estas contienen grandes cantidades de proteínas, lo que las vuelve ideales para la obtención de péptidos bioactivos (Görgüç et al., 2020; Olivares-Galván et al., 2020).

1.8.2 Extracción de proteínas

La extracción de proteínas requiere la ruptura de los tejidos, membranas y paredes celulares para tener acceso al material proteico. La extracción de los tejidos vegetales presenta una dificultad mayor debido a la presencia de la pared celular, las vacuolas y la rigidez, además de la presencia de lípidos, polisacáridos o compuestos fenólicos que pueden interferir con la extracción de proteínas (Olivares-Galván et al., 2020).

Los métodos de extracción pueden ser clasificados en mecánicos y no mecánicos (Islam et al., 2017):

i. Mecánico

En la extracción mecánica, la membrana celular se rompe físicamente utilizando una fuerza de cizallamiento (Islam et al., 2017).

Algunos de los métodos de extracción mecánica son:

- ❖ Homogeneizador de alta presión
- ❖ Molino de bolas

ii. No mecánico

En la extracción no mecánica, la membrana celular se rompe utilizando fuerza física, reactivos químicos o reactivos biológicos. La extracción no mecánica se clasifica en tres grupos, donde cada grupo se clasifica a su vez en función de los métodos utilizados para la extracción (Islam et al., 2017).

A continuación, se presenta una descripción detallada de cada clasificación.

a) Físico

La extracción física es un método sin contacto que utiliza una fuerza externa para romper la membrana celular. Las diferentes fuerzas incluyen el calor, la presión y la energía sonora (Islam et al., 2017; Olivares-Galván et al., 2020).

Algunos de los métodos de extracción no mecánica física son:

- ❖ Congelación-descongelación
- ❖ Ultrasonidos
- ❖ Choque osmótico

b) Químico

La extracción química es un método sin contacto que utiliza soluciones tampón, detergentes, disolventes, entre otros; para romper la membrana celular (Islam et al., 2017).

Algunos de los métodos de extracción no mecánica química son:

- ❖ Alcalino
- ❖ Detergente

c) Biológico

La extracción biológica es un método sin contacto que utiliza enzimas para romper la membrana celular (Islam et al., 2017).

El método de extracción no mecánica biológico es:

- ❖ Digestión enzimática

La extracción enzimática es un método biológico en el cual se utilizan enzimas proteolíticas.

1.8.3 Hidrólisis de proteínas

Una vez extraídas las proteínas de un alimento, éstas deben someterse a un proceso de hidrólisis para liberar los péptidos (Agyei y Danquah, 2011; Olivares-Galván et al., 2020). Al material de partida utilizado para la obtención de los hidrolizados proteicos se le llama sustrato (Benítez et al., 2008; Guadix et al., 2000).

La hidrólisis proteica es una reacción química que se produce cuando una molécula de agua rompe enlaces peptídicos de una proteína produciendo así dos o más péptidos e incluso aminoácidos libres (Clemente y Pedroche, 2001).

Los métodos de hidrólisis de proteínas pueden ser clasificados en químicos o biológicos (Clemente & Pedroche, 2001; Guadix et al., 2000):

i. Químico

La hidrólisis de proteínas química es un proceso químico mediante el empleo de catalizadores ácidos o básicos (Agyei y Danquah, 2011; Clemente y Pedroche, 2001; Wen et al., 2020).

Algunos de los métodos de hidrólisis proteica química son:

- ❖ Ácida
- ❖ Alcalina

ii. Biológico

La hidrólisis de proteínas biológica es un bioproceso químico mediante el empleo de proteasas o fermentación microbiana (Agyei y Danquah, 2011; Clemente y Pedroche, 2001; Wen et al., 2020).

Algunos de los métodos de hidrólisis proteica biológica son:

- ❖ Enzimas
 - Comerciales
 - Gastrointestinales
- ❖ Fermentación microbiana

En la industria alimenticia y farmacéutica, se prefiere el uso de hidrólisis enzimática, con enzimas de calidad alimentaria, ya que este método potencializa las propiedades funcionales de la proteína precursora sin alterar su composición nutricional (Olivares-Galván et al., 2020; Piovesana et al., 2018).

La hidrólisis enzimática no se desarrolla en una sola reacción, se trata de un conjunto de reacciones simultáneas de ruptura de enlaces, con distintas especies cargadas en equilibrio que transcurren a través de una serie de etapas, en la figura 4 se muestra el mecanismo catalítico de una proteasa (Benítez et al., 2008; Guadix et al., 2000).

El proceso de hidrólisis está constituido por tres reacciones consecutivas (Benítez et al., 2008):

1. Formación de un complejo proteasa-proteína
2. Rotura del enlace amídico dando como resultado la liberación de un péptido.
3. El péptido restante se separa de la enzima después de un ataque nucleofílico de una molécula de agua

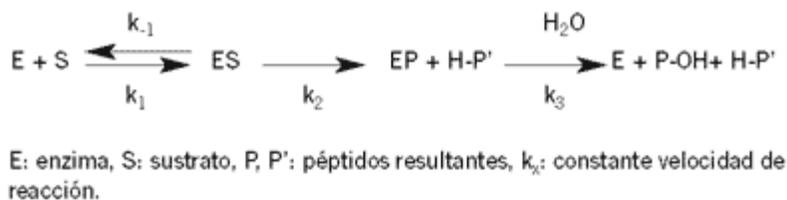


Figura 4. Mecanismo catalítico de una proteasa (Benítez et al., 2008).

El proceso puede reiniciarse sobre los dos nuevos péptidos o sobre uno solo de ellos (Guadix et al., 2000).

La hidrólisis debe realizarse en condiciones controladas de temperatura, pH, tiempo de reacción y relación enzima-sustrato para obtener un grado de hidrólisis óptimo (Agyei y Danquah, 2011; Benítez et al., 2008; Olivares-Galván et al., 2020; Piovesana et al., 2018; Rizzello et al., 2016; Wen et al., 2020).

1.8.4 Fraccionamiento y aislamiento de péptidos bioactivos

Una vez hidrolizadas las proteínas alimentarias, éstas deben someterse a un proceso de purificación para obtener las diferentes fracciones de péptidos (Agyei y Danquah, 2011; Olivares-Galván et al., 2020; Piovesana et al., 2018; Wen et al., 2020).

Los métodos de fraccionamiento de péptidos principalmente utilizados son:

i. Separación de membrana

Técnica que se basa en la separación de moléculas (solutos) disueltos en un fluido mediante el uso de membranas con diferentes tamaños de poro, el fundamento es la separación por la diferencia de los pesos moleculares y el tamaño de partícula (Olivares-Galván et al., 2020; Piovesana et al., 2018; Solís et al., 2017; Wen et al., 2020).

Algunas de las técnicas de separación de membrana son:

- ❖ Nanofiltración
- ❖ Ultrafiltración
- ❖ Microfiltración

ii. Electroforesis

Técnica que se basa en la separación de moléculas en función de su tamaño y carga eléctrica. Se usa una corriente eléctrica para mover las moléculas a través de un gel o de una matriz porosa (Ramírez-Carreto et al., 2021). Las moléculas más pequeñas se mueven más rápido que las moléculas grandes a través del gel o de la matriz (Ramírez-Carreto et al., 2021).

Algunas de las técnicas de electroforesis son:

- ❖ Electroforesis vertical
- ❖ Electroforesis horizontal

iii. Cromatografía

Técnica que se basa en la separación de moléculas a través de la distribución entre dos fases, la fase estacionaria y la fase móvil (Ramírez-Carreto et al., 2021). Las propiedades físicas y químicas de cada componente en la fase móvil determinarán su tiempo de permanencia en la fase estacionaria, obteniendo como resultando la separación de los componentes de la fase móvil a medida que se desplazan sobre la fase estacionaria (Piovesana et al., 2018; Ramírez-Carreto et al., 2021; Wen et al., 2020).

Algunas de las técnicas de cromatografía son:

- ❖ Cromatografía de permeación en gel (GPC)
- ❖ Cromatografía de intercambio iónico (IEC)
- ❖ Cromatografía líquida de alta resolución en fase reversa (RP-HPLC)

El fraccionamiento por separación de membrana es ampliamente utilizado debido a que su operación es simple y de bajo consumo de energía (Wen et al., 2020). Esta técnica de separación puede mejorar la actividad antioxidante de los péptidos, sin embargo, esta técnica difícilmente obtiene productos de alta pureza, en la tabla 7 se presentan los diferentes niveles de membranas de filtración (Agyei y Danquah, 2011; Olivares-Galván et al., 2020).

Tabla 7. Niveles de membranas de filtración (Solís et al., 2017).

Nivel de filtración	Microfiltración	Ultrafiltración	Nanofiltración
Tamaño de poro	0.05 – 1.0 μm	0.005 – 0.5 μm	0.0005 – 0.001 μm
Impurezas eliminadas	Partículas suspendidas	Moléculas grandes	Moléculas pequeñas Sales divalentes
Impurezas no eliminadas	Moléculas grandes Moléculas pequeñas Sales divalentes Sales monovalentes Agua	Moléculas pequeñas Sales divalentes Sales monovalentes Agua	Sales monovalentes Agua

La ultrafiltración concentra grandes moléculas y macromoléculas de peso molecular entre 1000 y 200,000 Da (Solís et al., 2017).

1.9 Evaluación de la actividad antioxidante de los péptidos

Una vez fraccionados y aislados los péptidos, éstos deben someterse a una evaluación en la cual se determina su capacidad antioxidante que poseen (Olivares-Galván et al., 2020; Wen et al., 2020).

La actividad antioxidante en péptidos puede ocurrir a través de diferentes mecanismos de acción, como (Olivares-Galván et al., 2020; Wen et al., 2020):

- ❖ Inhibición o eliminación de los radicales libres de oxígeno reactivo
- ❖ Quelación de iones metálicos
- ❖ Inhibición de reacciones de peroxidación de lípidos
- ❖ Activación del sistema de defensa antioxidante del cuerpo

En la actualidad, existen dos métodos principales para evaluar la capacidad antioxidante de los péptidos. Los métodos de evaluación de la actividad antioxidante de péptidos pueden ser clasificado en métodos químicos y biológicos (Alam et al., 2013; Wen et al., 2020).

1.9.1 Método de evaluación de la actividad antioxidante en ensayos químicos *in vitro*

Los métodos de evaluación químicos analizan las muestras a través del efecto depurador de radicales libres, la quelación de iones metálicos y la inhibición de la reacción de peroxidación lipídica, según el método, los métodos de evaluación químicos varían en diferentes aspectos(Alam et al., 2013; Wen et al., 2020).

Algunos de los métodos de evaluación química son (Alam et al., 2013):

- ❖ Actividad de barrido DPPH,
- ❖ Ensayo de eliminación de peróxido de hidrógeno (H₂O₂),
- ❖ Actividad de barrido del óxido nítrico,
- ❖ Actividad de eliminación de radicales peroxinitritos,
- ❖ Método de capacidad antioxidante equivalente a Trolox (TEAC)/ensayo de decoloración de cationes radicales ABTS,
- ❖ Método del parámetro antioxidante de captura total de radicales (TRAP),
- ❖ Ensayo del poder férrico reductor-antioxidante (FRAP),
- ❖ Actividad de eliminación de radicales superóxidos (SOD),
- ❖ Actividad de eliminación de radicales hidroxilos,
- ❖ Método de la capacidad de absorción de radicales hidroxilos (HORAC),
- ❖ Método de la capacidad de absorción de radicales de oxígeno (ORAC),
- ❖ Método del poder reductor (RP),
- ❖ Método del fosfomolibdeno,

- ❖ Método del tiocianato férrico (FTC),
- ❖ Método del ácido tiobarbitúrico (TBA),
- ❖ Método DMPD (N,N-dimetil-p-fenilenodiamina dihidrocloruro),
- ❖ Método del ácido b-caroteno linoleico/ensayo del dieno conjugado,
- ❖ Método de la xantina oxidasa,
- ❖ Método de la capacidad antioxidante reductora de iones cúpricos (CUPRAC),
- ❖ Actividad quelante de metales,
- ❖ Entre otros.

1.9.2 Métodos de evaluación de la actividad antioxidante en ensayos biológicos celulares *in vitro*

Los métodos de evaluación con animales analizan la muestra a través del análisis del cultivo celular ya que este método implica la captación celular, la distribución y el metabolismo de los compuestos antioxidantes. Los modelos de líneas celulares humanas y no humanas se utilizan comúnmente para evaluar la actividad y las propiedades de los péptidos antioxidantes derivados de proteínas vegetales (Wen et al., 2020).

Los ensayos basados en la captación de radicales libres u oxidantes han sido los más utilizados para evaluar la actividad antioxidante de hidrolizados (Olivares-Galván et al., 2020). El ensayo de captación de radicales más común es el método DPPH (1,1-difenil-2-picrilhidrazilo) debido a que es rápido, simple y económico (Alam et al., 2013).

El método de DPPH es propuesto por Blois en 1958, consiste en la captación de radicales libres, usado para determinar la actividad antioxidante (Ruiz-Benitez, 2020). Su fundamento se basa en la aceptación de un electrón o átomo de hidrógeno por la molécula 1,1-difenil-2-picrilhidrazina, que en solución de metanol es de color violeta intenso, la solución DPPH al reaccionar con un sustrato antioxidante que puede donar un átomo de hidrógeno, se desvanece el color violeta presente en la solución inicial pasando a un color amarillo (reducción del radical libre por antioxidantes). El amarillo un color indicador de las propiedades antioxidantes de las muestras analizadas (Alam et al., 2013; Guija-Poma et al., 2015; Ruiz-Benitez, 2020).

1.10 Papel de los péptidos bioactivos naturales en el desarrollo de productos cosméticos para la piel

La industria cosmética presenta gran interés en los péptidos bioactivos debido a que los péptidos están involucrados en muchos procesos relevantes para mejorar el cuidado de la piel y reducir el efecto nocivo de las lesiones cutáneas inducidas por factores intrínsecos y extrínsecos (Aguilar-Toalá et al., 2019; Husein el Hadmed y Castillo, 2016; T. N. Lima y Moraes, 2018; Pai et al., 2017).

Se ha reportado que los péptidos bioactivos pueden proporcionar efectos protectores que incluyen la inhibición de las enzimas cutáneas, así como otros que exhiben actividad antimicrobiana, antioxidante y antiinflamatoria, que podrían brindar protección parcial o total contra el envejecimiento cutáneo (Aguilar-Toalá et al., 2019; Husein el Hadmed y Castillo, 2016; T. N. Lima y Moraes, 2018; Pai et al., 2017).

Una de las clasificaciones de péptidos utilizada en la cosmética es por su actividad biológica, algunas de sus subclasificaciones son:

1.10.1 Péptidos bioactivos con propiedades antienvjecimiento

Las propiedades antienvjecimiento de los péptidos bioactivos en la piel, están relacionadas con la actividad inhibitoria de enzimas fisiológicas relacionadas con el envejecimiento (inhibición de la: elastasa, colagenasa, tirosinasa e hialuronidasa) (Aguilar-Toalá et al., 2019; Pai et al., 2017).

1.10.2 Péptidos con actividad antimicrobiana

Los péptidos bioactivos contra microorganismos patógenos tienen un mecanismo de acción que dependen de su capacidad para formar canales o poros dentro de las membranas microbianas reduciendo así los procesos anabólicos (Aguilar-Toalá et al., 2019; Piovesana et al., 2018).

1.10.3 Péptidos con actividad antioxidante

Los péptidos bioactivos con propiedades antioxidantes se usan para prevenir el efecto del estrés oxidativo ocasionado por la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS) en la piel, estos pueden actuar a través de la transferencia de átomos de hidrógeno, de un solo electrón y la quelación de metales prooxidantes (Aguilar-Toalá et al., 2019; Piovesana et al., 2018; Rizzello et al., 2016).

1.10.4 Péptidos con actividad antiinflamatoria

Los péptidos bioactivos con propiedades antiinflamatorias inhiben la producción de mediadores proinflamatorios en células epiteliales e inmunitarias, estos pueden actuar con su capacidad para unirse a la fracción lípido A de lipopolisacáridos (LPS) y la interferencia con las interacciones LPS-CD14 mediante competencia con el péptido de unión a LPS (Aguilar-Toalá et al., 2019).

1.10.5 Péptidos bioactivos multifuncionales

Los péptidos bioactivos con propiedades multifuncionales pueden desencadenar, modular o inhibir simultáneamente múltiples vías fisiológicas exhibiendo actividades antioxidantes, antimicrobianas, antiinflamatorias e inhibitorias (Aguilar-Toalá et al., 2019).

Como anteriormente se ha mencionado, actualmente, la industria cosmética posee interés en el desarrollo de una nueva generación de productos cosméticos empleando fuentes naturales, sin embargo, estos activos naturales presentan ciertas limitaciones (Aguilar-Toalá et al., 2019; T. N. Lima y Moraes, 2018; Pai et al., 2017).

La administración transdérmica de los péptidos bioactivos en los productos cosméticos tópicos (cremas, geles, lociones, entre otros) es un desafío importante, ya que los péptidos tienden a tener un alto peso molecular y una baja lipófila, por lo tanto, es necesario seleccionar péptidos bioactivos con bajo peso molecular, además de seleccionar vehículos químicamente adecuados que permitan la liberación del péptido a la piel (Pai et al., 2017).

Además, las formulaciones cosméticas deben mantener la estabilidad de los péptidos durante la fabricación y el almacenamiento, ya que los péptidos pueden verse afectados por diferentes

variables como interacciones con otros componentes, pH, temperatura, además del almacenamiento del producto, para asegurar una bioactividad sostenida en el producto final(Aguilar-Toalá et al., 2019; Pai et al., 2017).

1.11 Piel

La piel o barrera cutánea, es el órgano más grande del humano, el cual recubre toda la superficie del cuerpo (constituye aproximadamente el 16% del peso corporal total de un adulto) éste es un órgano que regula la temperatura corporal, almacena sangre, protege al organismo del medio externo, detecta las sensaciones cutáneas, sintetiza vitamina D y excreta y absorbe sustancias (Baroni et al., 2012; Herwadkar y Banga, 2011; Mohamed y Hargest, 2021; Tortora y Derrickson, 2006).

Estructuralmente la piel consta de dos partes principales, la epidermis y la dermis. Debajo de la dermis, pero sin formar parte de la piel, está el tejido subcutáneo, también conocido como hipodermis, esto se muestra en la figura 5 (Herwadkar y Banga, 2011; Tortora y Derrickson, 2006).

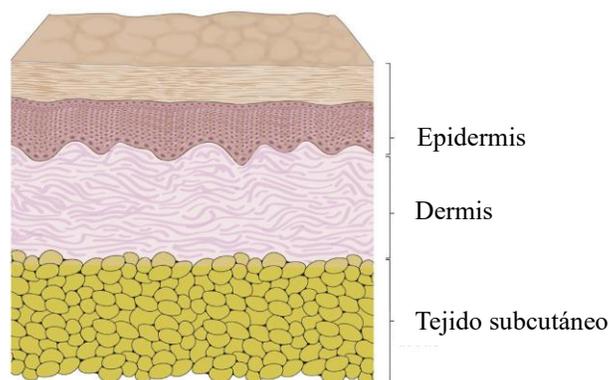


Figura 5. Capas de la dermis (Mohamed y Hargest, 2021).

1.11.1 Epidermis

La epidermis es la capa más superficial de la piel, ésta es una barrera física y biológica que protege a los tejidos más profundos de algunos agentes tal como el agua, químicos, microorganismos, traumas mecánicos y rayos UV(Mohamed y Hargest, 2021; Tortora y

Derrickson, 2006). El principal tipo de células en la epidermis son los queratinocitos, constituyen aproximadamente el 90% de las células de la epidermis (Baroni et al., 2012; Da Freitas et al., 2013; Tortora y Derrickson, 2006).

Desde la capa más profunda a la más superficial, la epidermis está formada por cinco capas de tejido, esto se muestra en la figura 6, estas capas son:

i. Estrato basal o germinal

Consta de una sola capa de queratinocitos cuboides, es la capa más profunda que descansa sobre la lámina basal (Tortora y Derrickson, 2006). En esta capa se produce la mitosis de los queratinocitos, lo que garantiza una continua recuperación de la epidermis (Da Freitas et al., 2013; Mohamed y Hargest, 2021).

ii. Estrato espinoso

Consta de ocho a diez capas de queratinocitos poliédricos (formados por los queratinocitos cuboides de la lámina basal cuando perdieron agua y asumieron una forma poliédrica al aplanarse) (Tortora y Derrickson, 2006). Los queratinocitos sintetizan queratina (Da Freitas et al., 2013; Mohamed y Hargest, 2021).

iii. Estrato granuloso

Consta de tres a cinco capas de queratinocitos romboides (el núcleo y orgánulos de estas células comienzan a degenerarse) aquí comienza la queratinización, las células producen gránulos duros y a medida que estos empujan hacia arriba, cambian a queratina y lípidos epidérmicos (Da Freitas et al., 2013; Mohamed y Hargest, 2021; Tortora y Derrickson, 2006).

iv. Estrato lúcido

Consta de tres a cinco capas de queratinocitos muertos, transparentes y aplanados que contienen grandes cantidades de queratina (Tortora y Derrickson, 2006). Esta capa sólo está

presente en la piel gruesa de la yema de los dedos, las palmas de las manos y las plantas de los pies (Da Freitas et al., 2013; Mohamed y Hargest, 2021).

v. Estrato córneo

Consta de veinticinco a treinta capas de queratinocitos anucleados y aplanados que contienen una gran cantidad de queratina (Tortora y Derrickson, 2006). Estas células se descaman continuamente y son reemplazadas por las células de los estratos más profundos. Entre las células hay lípidos provenientes de los orgánulos mismos que contribuyen a la impermeabilidad de este estrato. Sus múltiples capas ayudan a proteger las capas subyacentes de microorganismos y lesiones (Da Freitas et al., 2013; Mohamed y Hargest, 2021).

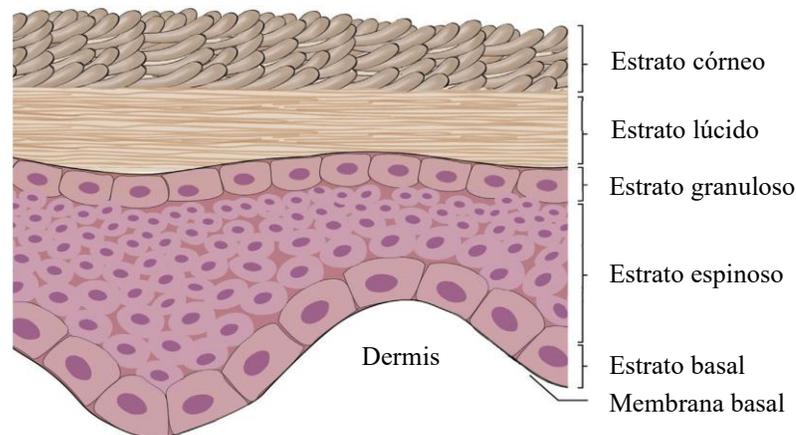


Figura 6. Estructura de la epidermis (Mohamed y Hargest, 2021).

1.11.2 Dermis

La dermis es la capa más profunda de la piel, esta capa le confiere fuerza, flexibilidad y elasticidad a la piel (Mohamed y Hargest, 2021). Se compone principalmente de tejido conectivo, el cual presenta fibras de colágeno (las cuales constituyen aproximadamente el 75%), fibras de elastina y fibras de reticulina (Baroni et al., 2012; Herwadkar y Banga, 2011). Los vasos sanguíneos, vasos linfáticos, nervios, glándulas subcutáneas y folículos pilosos se encuentran en esta capa (Baroni et al., 2012; Tortora y Derrickson, 2006).

Desde la capa más superficial a la más profunda, la dermis está formada por dos regiones de tejido, estas regiones son (Mohamed y Hargest, 2021; Tortora y Derrickson, 2006):

i. Región papilar

Zona más superficial y delgada de la dermis, la cual, aunque claramente separada se entrelaza con la epidermis. Está constituida por tejido conectivo laxo y fibras elásticas, contiene vasos sanguíneos y nervios

ii. Región reticular

Zona más profunda y áspera de la dermis, la cual, se entrelaza con el tejido subcutáneo subyacente. Está constituida por tejido conectivo irregular denso con haces de colágeno y fibras de elastina, contiene terminaciones nerviosas glándulas subcutáneas, folículos pilosos, entre otros.

1.12 Cosméticos

La Ley General de Salud Mexicana, en el artículo 269 considera a los productos cosméticos como sustancias o formulaciones destinadas a ser puestas en contacto con las partes superficiales del cuerpo humano: epidermis, sistema piloso y capilar, uñas, labios y órganos genitales externos, o con los dientes y mucosas bucales con el fin exclusivo o principal de limpiarlos, perfumarlos, ayudar a modificar su aspecto, protegerlos, mantenerlos en buen estado o corregir los olores corporales o atenuar o prevenir deficiencias o alteraciones en el funcionamiento de la piel sana (Congreso de la Unión, 2011).

1.12.1 Clasificación de productos cosméticos

Actualmente, gracias a la gran variedad de productos cosméticos, podemos clasificarlos utilizando diversos parámetros, podemos clasificar en: función del público objetivo, las formas de dosificación, el estatus legal, la zona de aplicación, la función, entre otras (Baki y Alexander, 2015; Iwata y Shimada, 2013; Saraf y Saraf, 2015). Actualmente, las clasificaciones más utilizadas son: según la zona de aplicación, según su función y según su forma cosmética (Iwata y Shimada, 2013; Saraf y Saraf, 2015).

Clasificación según la forma cosmética:

i. Forma cosmética líquida

- ❖ Soluciones
- ❖ Suspensiones
- ❖ Lociones

ii. Forma cosmética semisólida

- ❖ Cremas
- ❖ Pomadas
- ❖ Pasta
- ❖ Geles

iii. Forma cosmética sólida

- ❖ Polvos
- ❖ Emulsiones
- ❖ Barritas
- ❖ Lápices

En el presente trabajo, se categorizó el producto de acuerdo con la composición de las formas cosméticas.

1.13 Evaluaciones de calidad para productos cosméticos

Las evaluaciones a las que se someten los productos cosméticos (evaluaciones organolépticas, fisicoquímicas y de estabilidad), forman parte del control de calidad, éstas se realizan con el objetivo de verificar si el producto es adecuado y seguro (ANVISA, 2005, 2008; Programa Safe+ y Invima, 2018).

Para la realización de las evaluaciones de calidad, se debe de tomar en cuenta la forma cosmética y las características de cada producto, ya que los parámetros a evaluar no son los mismos para cada forma cosmética (Programa Safe+ y Invima, 2018).

1.13.1 Evaluaciones Organolépticas

Las evaluaciones organolépticas son utilizadas para evaluar características de aceptación detectables por los sentidos (aspecto, color, olor, sabor y tacto); estas evaluaciones nos proporcionan detalles inmediatos del estado de la muestra, esto con el fin de verificar que el producto sea del agrado del consumidor, además que este no presente alteraciones (separación de fases, precipitación, turbidez, entre otras) (ANVISA, 2005, 2008; Programa Safe+ y Invima, 2018).

i. Apariencia

Se observa visualmente si el producto de estudio posee características macroscópicas agradables para el consumidor (ANVISA, 2008; Programa Safe+ y Invima, 2018).

a) Color

Se observa visualmente si el producto de estudio posee un color agradable para el consumidor (ANVISA, 2008; Programa Safe+ y Invima, 2018).

a) Olor

Se determina olfativamente si el producto de estudio posee un olor agradable para el consumidor (ANVISA, 2008; Programa Safe+ y Invima, 2018).

ii. Prueba de uso

Táctilmente, entrando en contacto con el producto, se determina si el producto de estudio posee características (textura, consistencia, extensibilidad, evanescencia, pegajosidad, entre otras) agradables al consumidor (Programa Safe+ y Invima, 2018).

1.13.2 Evaluaciones Físicoquímicas

Las evaluaciones físicoquímicas son utilizadas para evaluar y determinar características que no son perceptibles a simple vista, estas evaluaciones requieren métodos, equipos y/o instrumentos de medición, se realizan con el objetivo de indicar problemas de estabilidad entre ingredientes o en los procesos de fabricación. Generalmente se evalúa: pH, viscosidad, gravedad específica, conductividad, entre otros.

i. Determinación de pH

Se determina el logaritmo negativo de la concentración molar de iones de hidrógeno mediante diferentes métodos, con el objetivo de representar la acidez o alcalinidad del producto y así asegurar que esté presente un pH adecuado para su uso (ANVISA, 2005, 2008).

Los métodos utilizados para la verificación del valor de pH de la muestra son:

- ❖ Determinación colorimétrica
- ❖ Determinación potenciométrica

La determinación potenciométrica es el método más utilizado para evaluar el pH, en este método se utiliza un potenciómetro que determina la diferencia de potencial entre dos electrodos inmersos en la muestra de estudio (ANVISA, 2005).

ii. Gravedad específica

Se determina la relación entre la masa y el volumen del producto mediante diferentes métodos con el objetivo de determinar la gravedad específica (densidad relativa)(ANVISA, 2005, 2008).

Los métodos utilizados para la determinación de la gravedad específica de la muestra son:

- ❖ Picnómetro de metal o vidrio
- ❖ Densímetro análogo o digital

La determinación por picnómetro metálico es el método más utilizado para productos semisólidos y viscosos, el método consiste en pesar el picnómetro: vacío, con agua destilada, y con el producto (ANVISA, 2005).

Por medio de la siguiente fórmula se calcula la gravedad específica:

$$G. E._{(T=25^{\circ}C)} = \left[\frac{\text{Masa del picnómetro con producto} - \text{Masa del picnómetro vacío}}{\text{Masa del picnómetro con agua} - \text{Masa del picnómetro vacío}} \right]$$

iii. Viscosidad

Se determina la resistencia de un producto a la deformación o al flujo mediante diferentes métodos, con el objetivo de determinar la viscosidad. La unidad fundamental de medida de la viscosidad es el poise (ANVISA, 2005, 2008).

Los métodos utilizados para la determinación de la viscosidad de la muestra son:

- ❖ Determinación por viscosímetro rotativo
- ❖ Determinación por viscosímetro de orificio
- ❖ Determinación mediante viscosímetro capilar (Ostwald)

La determinación por viscosímetro rotativo es el método más utilizado, el método consiste en medir el par necesario para hacer girar un aguja sumergido en el producto a evaluar (ANVISA, 2005).

1.13.3 Evaluaciones de Estabilidad

Las evaluaciones de estabilidad son protocolos de operaciones que determinan y evalúan las características del producto tras someterlo a condiciones que aceleran los cambios de estabilidad, permitiendo así evaluar la capacidad del producto para mantener las especificaciones de calidad organolépticas y fisicoquímicas (ANVISA, 2005; Programa Safe+ y Invima, 2018).

i. Prueba centrífuga

Se determina la estabilidad centrífuga mediante la aplicación de la fuerza de gravedad, con el uso de una centrífuga, sobre el producto, haciendo que sus partículas se muevan a su interior incrementando la movilidad y anticipando posibles inestabilidades (precipitación, separación de fases, sedimentos compactados, entre otras) (ANVISA, 2005, 2008; Programa Safe+ y Invima, 2018).

ii. Estabilidad acelerada

Se determina la estabilidad acelerada mediante la incubación del producto ya envasado, en una cámara de estabilidad ambiental, el objetivo es prever la estabilidad del producto, tiempo de vida útil y compatibilidad de la formulación con el material del envase (ANVISA, 2005; Programa Safe+ y Invima, 2018).

La prueba de estabilidad acelerada se describe a detalle en la NOM-073-SSA1-2015 “Estabilidad de fármacos y medicamentos, así como de remedios herbolarios” (Secretaría de salud, 2015a).

iii. Estabilidad a largo plazo

También conocida como prueba de anaquel, tiene como objetivo validar los límites de estabilidad del producto y comprobar el plazo de validez estimado en la prueba de estabilidad acelerada (ANVISA, 2005; Programa Safe+ y Invima, 2018).

La prueba de estabilidad a largo plazo se describe a detalle en la NOM-073-SSA1-2015 “Estabilidad de fármacos y medicamentos, así como de remedios herbolarios” (Secretaría de salud, 2015a).

1.14 Regulación nacional de cosméticos

En México, la Secretaría de Salud del Gobierno Federal, a través de la Comisión Federal para la Protección contra Riesgos Sanitarios (COFEPRIS) cuenta con un marco jurídico que de acuerdo con la Ley General de Salud tiene el propósito de regular la producción y comercialización de toda clase de productos cosméticos, así como los servicios derivados de esas actividades (Garín etiquetas, 2002; Padilla-Camberos E et al., 2015; Reyes, 2022).

La COFEPRIS trabaja en conjunto con otras entidades, tales como la Cámara Nacional de la Industria de Productos Cosméticos (CANIPEC), en favor de la regulación, control, vigilancia y fomento sanitario en productos cosméticos, medicamentos, químicos, entre otros (Garín etiquetas, 2002; Reyes, 2022).

Con respecto a leyes aplicables, es en la Ley General de Salud de donde se deriva el reglamento de control sanitario de productos y servicios, el cual se encuentra publicado en el Diario Oficial de la Federación (DOF), sin embargo, estas leyes y reglamentos son muy generales por lo que para cosméticos debemos enfocarnos más en las Normas para Productos Cosméticos (NOM) (Garín etiquetas, 2002; Padilla-Camberos E et al., 2015).

Tabla 8. Descripción general de las Leyes que regulan la industria cosmética en México

LEYES	
<p>Ley General de Salud (Congreso de la Unión, 2011)</p>	<p>En los artículos del capítulo IX (artículo 269 - 272) de la Ley General de Salud se establece que:</p> <p>Se consideran productos cosméticos las sustancias destinadas a ser puestas en partes superficiales del cuerpo con el fin de limpiar, perfumar, modificar el aspecto y mantener en buen estado la piel sana.</p> <p>No puede atribuirse a los productos cosméticos acciones de medicamentos.</p> <p>Los productos que varíen las proporciones del cuerpo, que contengan hormonas, vitaminas y sustancias con acción terapéutica, se les considerará como medicamentos.</p> <p>No podrán fabricarse, importarse, ni comercializarse productos cosméticos si fueron probados en animales.</p> <p>Los productos cosméticos contarán con un etiquetado de acuerdo con las disposiciones aplicables.</p>
<p>Ley Federal de protección al consumidor (Congreso de la Unión, 2012)</p>	<p>Esta Ley promueve y protege los derechos y cultura del consumidor y procura la equidad, certeza y seguridad jurídica en las relaciones entre proveedores y consumidores.</p>

Tabla 9. Descripción general de las normas que regulan la industria cosmética en México

NORMAS	
<p>NOM-089-SSA1-1994, Bienes y servicios. Métodos para la determinación del contenido microbiano en productos de belleza. (Secretaría de salud, 1994)</p>	<p>Esta Norma Oficial Mexicana establece los métodos de prueba para determinar el contenido microbiano en productos de belleza, con el fin de conocer la calidad sanitaria y precisar si son aptos para uso humano.</p>
<p>NOM-141-SSA1/SCFI-2012, Etiquetado para productos cosméticos preenvasados. Etiquetado sanitario y comercial. (Secretaría de salud, 2012)</p>	<p>Esta Norma establece los requisitos de información sanitaria y comercial que debe ostentar la etiqueta en productos cosméticos de cualquier capacidad preenvasados y destinados al consumidor final.</p>
<p>PROY-NOM-259-SSA1-2014, Productos y servicios. Buenas prácticas de fabricación en productos cosméticos. (Secretaría de salud, 2015b)</p>	<p>Esta Norma establece los requisitos mínimos necesarios de las buenas prácticas del proceso de fabricación de productos cosméticos.</p>

Tabla 10. Descripción general del reglamento que regulan la industria cosmética en México

REGLAMENTO	
Reglamento de control sanitario de productos y servicios (Secretaría de salud, 1999a)	<p>En los artículos del capítulo I (artículo 187 - 196) del Reglamento de control sanitario de productos y servicios se establece:</p> <p>Las categorías de los productos de perfumería y belleza de acuerdo con su función.</p> <p>Los fabricantes de productos cosméticos son responsables de la calidad sanitaria.</p> <p>No se pueden utilizar estupefacientes y psicotrópicos en productos cosméticos</p> <p>Deben realizarse pruebas de índice de irritación dérmica, sensibilización e irritación ocular a los productos cosméticos, según corresponda.</p> <p>Los productos hipoalergénicos deberán someterse a pruebas de sensibilización dérmica.</p> <p>No se podrán vender a granel productos permanentes, ni productos que contengan principios activos.</p> <p>La venta a granel debe efectuarse en envases cerrados y limpios, empleando utensilios limpios.</p> <p>Los productos de tratamiento cosmético deberán ajustarse a las disposiciones que se establecen en las NOM.</p> <p>Las listas de ingredientes podrán modificarse a petición de los interesados.</p>

Tabla 11. Descripción general del listado que regulan la industria cosmética en México

LISTADO	
<p>ACUERDO por el que se modifica el diverso por el que se determinan las sustancias prohibidas y restringidas en la elaboración de productos de perfumería y belleza. (Secretaría de salud, 1999b)</p>	<p>En este listado se determinan las sustancias prohibidas y restringidas en la elaboración de productos de perfumería y belleza.</p>

1.15 Emulgel

Un emulgel es un sistema disperso heterogéneo semisólido conformado por al menos dos fases (fase acuosa y fase oleosa), como se muestra en la figura 7, básicamente es la incorporación de un gel a la fase acuosa de una emulsión ya sea esta una emulsión aceite en agua (O/W) o agua en aceite (W/O) (Ashara et al., 2016; Sah et al., 2017; Supriya et al., 2014).

Los componentes de un emulgel son: Fase acuosa, fase oleosa, emulsificante, agente gelificante, potenciador de penetración, humectante y agente de neutralizante (Benitez y Povedano, 2020)

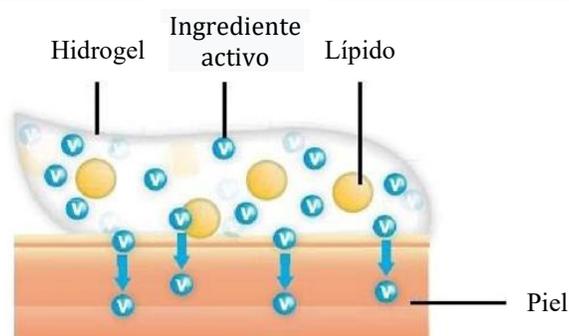


Figura 7. Estructura de emulgel (Charyulu et al., 2021).

El emulgel sirve como vehículo ideal para administrar principios activos lipófilos e hidrófilos debido a que esta formulación contienen una fase acuosa y una oleosa, además que tienen un sistema de control de liberación dual, es decir, gel y emulsión (Charyulu et al., 2021; Phad et al., 2018; Supriya et al., 2014).

Debido a que este sistema de administración utiliza tanto los beneficios de la emulsión como del gel, es necesario conocer los sistemas que conforman el emulgel por separado y de esta manera comprender las ventajas de este sistema de administración tópica novedoso y hasta ahora poco usado (Charyulu et al., 2021; Phad et al., 2018).

1.15.1 Emulsión

Una emulsión es un sistema disperso heterogéneo líquido, conformado por al menos dos fases, en las cuales un líquido se dispersa en otro en forma de glóbulos o gotitas pequeñas, las fases son estabilizadas mediante agentes emulsionantes que impiden la coalescencia, estas sustancias se acumulan en la interfase y aumentan la viscosidad de la fase acuosa por lo cual disminuyen la velocidad de la formación de agregados (Ashara et al., 2016; Benitez y Povedano, 2020; Sah et al., 2017).

El sistema se denomina emulsión aceite en agua (O/W) cuando la fase interna o discontinua es oleosa y la fase externa o continua es la acuosa, en estas emulsiones se agregan emulsionantes polímeros hidrofílicos naturales o sintéticos junto con los agentes tensioactivos; y se denomina emulsión agua en aceite (W/O) cuando la fase discontinua es la acuosa y la fase continua es oleosa, en estas emulsiones se agregan emulsionantes lipofílicos. También existen emulsiones múltiples como agua-aceite-agua (W/O/W) o aceite-agua-aceite (O/W/O) (Ashara et al., 2016; Benitez y Povedano, 2020; Supriya et al., 2014).

Los componentes de una emulsión son: emulsionantes, espesantes, humectantes, emolientes, conservantes y agua (Benitez y Povedano, 2020).

1.15.2 Gel

Un gel es un sistema disperso homogéneo semisólido, conformado por dos fases, en el cual partículas sólidas coloidales orgánicas o inorgánicas encierran e interpenetran una alta cantidad de disolvente líquido que se dispersa formando así una red tridimensional (Ashara et al., 2016; Benitez y Povedano, 2020; Sah et al., 2017).

El sistema se denomina hidrofóbico u organogel cuando la fase discontinua es orgánica y se denomina hidrofílico o hidrogel cuando la fase discontinua es agua; en ambos sistemas la fase continua es el agente gelificante (Benitez y Povedano, 2020).

Los componentes de los geles son: líquido a gelificar, agente gelificante, agente neutralizante y humectante (Benitez y Povedano, 2020).

1.16 Elementos de la formulación

Las formulaciones de los emulgeles están conformadas por uno o varios principios activos que se encuentran dispersos en un vehículo (conformado por dos o más excipientes) con diversas funciones farmacológicas (Ashara et al., 2016; Charyulu et al., 2021; Phad et al., 2018; Sah et al., 2017; Supriya et al., 2014).

1.16.1 Principio activo

Sustancia química o mezcla de sustancias relacionadas de origen natural o sintético que poseen un efecto farmacológico específico (Ashara et al., 2016; Benitez y Povedano, 2020; Charyulu et al., 2021; Phad et al., 2018).

1.16.2 Vehículo

El vehículo utilizado para la formulación de emulgeles debe poseer propiedades tales como depositar y distribuir uniformemente el principio activo, liberar el principio activo para la libre migración al sitio de acción, entregar el principio activo de manera efectiva a los sitios de destino y mantener los beneficios del principio activo en el tejido diana durante un tiempo suficiente para proporcionar un efecto farmacológico, además de ser cosméticamente

agradable para el cliente (Ashara et al., 2016; Benitez y Povedano, 2020; Charyulu et al., 2021; Phad et al., 2018).

Los componentes de un vehículo formulado para los emulgeles son: emulsionantes, agente gelificante, potenciadores de la penetración, humectantes, emolientes, espesante, agente neutralizante y conservadores (Benitez y Povedano, 2020).

i. Emulsionantes

Los agentes emulsionantes se utilizan para impulsar la emulsificación durante la fabricación, así como para mantener la estabilidad durante la vida útil, pueden ser iónicos (aniónicos o catiónicos), no iónicos y anfóteros. La porción iónica de la molécula se adsorbe en la fase oleosa dispersa y la porción hidrofílica queda en la interfase agua-aceite (Ashara et al., 2016; Charyulu et al., 2021; Phad et al., 2018; Sah et al., 2017; Supriya et al., 2014).

Algunos ejemplos son:

a) Aniónicos

Estearato de sodio, ácido esteárico, estearato de trietanolamina, lauril sulfato de sodio, entre otros.

b) Catiónicos

Cloruro de trimetil cetil amonio, cloruro de dimetil estearil amonio, cloruro de dimetil estearil amonio, cloruro de benzalconio, cloruro de estearalconio, entre otros.

c) No iónicos

Ésteres grasos de sorbitán, ésteres grasos de glicoles, alcoholes grasos oxietilenados, entre otros.

d) Anfóteros

Aminoácidos propiónicos, imidoácidos propiónicos, compuestos cauterizados, entre otros.

ii. Agente gelificante

Los agentes gelificantes son polímeros capaces de formar estructuras tridimensionales en un medio líquido. Se incorporan para que el sistema sea tixotrópico. Se puede observar una relación inversa entre la concentración del agente gelificante y la liberación del fármaco (Ashara et al., 2016; Charyulu et al., 2021; Phad et al., 2018; Sah et al., 2017; Supriya et al., 2014).

Algunos ejemplos son: carbómeros, poliacrilatos de glicerina, alquilacrilatos reticulados, poliacrilamidas, metilcelulosa, gomas, gelatina.

iii. Potenciador de penetración

Los potenciadores de la penetración aumentan la permeabilidad del fármaco a través de la piel, durante un período breve, estas sustancias perturban la estructura ordenada de los canales de lípidos fluidizados del estrato córneo que mejora la administración del fármaco en la piel y la partición del fármaco en la piel (Ashara et al., 2016; Charyulu et al., 2021; Phad et al., 2018; Sah et al., 2017; Supriya et al., 2014).

Algunos ejemplos son: ácido oleico, mentol, aceite de clavo, lecitina, miristato de isopropilo, urea, ácido linoleico, entre otros.

iv. Humectantes

Los humectantes se utilizan para retrasar la pérdida de humedad de la formulación, a su vez minimizan el secado de los emulgeles y mejoran cualidades como la facilidad de aplicación, la consistencia y la extensibilidad en la piel. Son sustancias hidrófilas con propiedades higroscópicas que fijan las moléculas de agua favoreciendo la hidratación de la piel (Ashara et al., 2016; Charyulu et al., 2021; Phad et al., 2018; Sah et al., 2017; Supriya et al., 2014).

Algunos ejemplos son: glicerina, propilenglicol, urea, lactato de sodio, sorbitol, entre otros.

v. Emolientes

Sustancias hidrófobas de aplicación externa que tienen como objetivo hidratar la piel manteniendo el agua en ella, mediante la formación de una película oclusiva (Ashara et al., 2016; Charyulu et al., 2021; Phad et al., 2018; Sah et al., 2017; Supriya et al., 2014).

Algunos ejemplos son: siliconas, aceites vegetales, lanolina, hidrocarburos, alcoholes grasos, entre otros.

vi. Espesantes

Sustancias que aumentan la viscosidad de la fase externa mejorando la textura final de la emulsión (Ashara et al., 2016; Charyulu et al., 2021; Phad et al., 2018; Sah et al., 2017; Supriya et al., 2014).

Algunos ejemplos son: monoestearato de glicerilo, alcohol cetílico, alcohol estearílico, alcohol cetoestearílico, cera de abejas, estearato de propilenglicol, ácido esteárico.

vii. Agente neutralizante

Estos agentes se utilizan para mantener el pH de la formulación (Ashara et al., 2016; Charyulu et al., 2021; Phad et al., 2018; Sah et al., 2017; Supriya et al., 2014)..

Algunos ejemplos son: hidróxido de sodio, hidróxido de potasio, trietanolamina, entre otros.

viii. Conservadores

Inhiben la proliferación de bacterias y hongos en el producto terminado antes de su uso y durante el mismo, ya que los emulgeles son un medio de cultivo fácilmente contaminable debido a los ingredientes que los componen y por la contaminación que puede ser introducida por el usuario (Ashara et al., 2016; Charyulu et al., 2021; Phad et al., 2018; Sah et al., 2017; Supriya et al., 2014).

Algunos ejemplos son: ácidos orgánicos, alcoholes y derivados, antioxidantes, entre otros.

1.17 Método de preparación

La preparación de un emulgel consiste básicamente en tres pasos (Ashara et al., 2016; Charyulu et al., 2021; Phad et al., 2018; Sah et al., 2017).

Paso 1.- Formación del gel base

Paso 2.- Formación de la emulsión

Paso 3.- Formación del emulgel

1.17.1 Formación del gel base

Para la elaboración del gel base se incorporan la fase acuosa, los activos hidrofílicos y los humectantes, sobre esa preparación se adiciona el agente gelificante y se deja reposar hasta su inhibición, posteriormente se agita suavemente y se adiciona el agente neutralizante hasta lograr un pH 7. Se deja reposar el gel por 24 horas (Benitez y Povedano, 2020; Phad et al., 2018).

1.17.2 Formación de la emulsión

Para la elaboración de la emulsión seleccionada se clasifican los componentes de la formulación en componentes para la fase oleosa o acuosa, se montan los equipos para realizar cada fase al mismo tiempo y se procede a realizar los sistemas; se mezclan los componentes de la fase oleosa calentándolos entre 5 y 10°C por encima del punto de fusión del ingrediente con más alta temperatura de fusión, mientras que en otro sistema se mezclan los componentes de la fase acuosa y se calientan a la misma temperatura que la fase oleosa, cuando ambas fases se encuentren listas se vierte la fase oleosa sobre la fase acuosa, mezclándolas de manera energética y constante hasta su completa uniformidad manteniendo la agitación por 10 minutos, transcurrido este tiempo se disminuye la agitación y se deja enfriar la emulsión, finalmente cuando la temperatura ha llegado alrededor de los 30-40°C, se adicionan las sustancias termolábiles como los conservantes y antioxidantes (Benitez y Povedano, 2020; Phad et al., 2018).

En la emulsión es donde se incorpora el principio activo para el emulgel según la naturaleza de éste, ya sea hidrofílica o hidrofóbica. Si el principio activo es oleoso se incorpora a la fase oleosa, mientras que si el principio activo es acuoso se incorpora a la fase acuosa (Charyulu et al., 2021; Sah et al., 2017).

1.17.3 Formación del emulgel

Se incorporan las formulaciones realizadas anteriormente adicionando la emulsión al gel, creando así un emulgel (Charyulu et al., 2021; Phad et al., 2018; Sah et al., 2017).

A este procedimiento general se le pueden realizar modificaciones, así como agregar el gel a la fase acuosa de la emulsión antes de incorporarle la fase oleosa (Trenado-Hernández, 2018).

1.18 Justificación de los emulgeles como formulación cosmética

El emulgel es un buen vehículo que supera distintas limitaciones que tienen otras preparaciones tópicas y proporciona beneficios tanto de emulsión como de gel (Ashara et al., 2016; Phad et al., 2018; Sah et al., 2017; Supriya et al., 2014).

En el caso de las emulsiones, estas tienen la limitación de tener un menor coeficiente de difusión, una menor penetración a través del estrato córneo y una menor conformidad del paciente debido a la pegajosidad, en el caso de los geles, estos tienen la limitación de administrar fármacos hidrofóbicos (Ashara et al., 2016; Phad et al., 2018; Sah et al., 2017).

Aunque la emulsión tiene más biodisponibilidad que el emulgel, es importante destacar que tiene un problema de estabilidad y también tiene menos cumplimiento por parte del paciente (Ashara et al., 2016).

El gel al tener un mayor componente acuoso permite una mayor disolución de los fármacos y permite una fácil migración del fármaco en comparación a la emulsión. Sin embargo, esto hace que los geles sean un vehículo deficiente para los fármacos hidrofóbicos (Ashara et al., 2016; Sah et al., 2017).

Estas limitaciones se pueden superar realizando un emulgel, además de aumentar la deposición del fármaco sobre la piel (Ashara et al., 2016; Charyulu et al., 2021; Phad et al., 2018; Supriya et al., 2014).

II. Objetivos

2.1 Objetivo general

Obtener péptidos bioactivos presentes en la harina de semillas de yaca a partir de hidrólisis enzimáticas, con el fin de desarrollar un emulgel cosmético con propiedades antioxidantes.

2.2 Objetivos particulares

- ❖ Realizar hidrólisis enzimáticas de harina de semilla de yaca mediante el uso de proteasas para obtener péptidos con actividad antioxidante.
- ❖ Determinar la capacidad antioxidante de los péptidos de harina de semilla de yaca a través de la técnica de DPPH.
- ❖ Establecer una formulación de emulgel cosmético que tenga péptidos bioactivos de harina de semilla de yaca a partir de estudios de preformulación.
- ❖ Diseñar una metodología para evaluar los beneficios del emulgel cosmético desarrollado.
- ❖ Evaluar la eficacia del producto mediante una prueba piloto y pruebas sensoriales en un grupo de panelistas hombres y mujeres.

III. Hipótesis

Al identificar péptidos bioactivos antioxidantes derivados de la harina de semilla de yaca, éstos se podrían incorporar como principio activo a una formulación de un emulgel cosmético que sea química y físicamente estable, con un efecto benéfico en las propiedades sensoriales y físicas de la epidermis tales como conferir suavidad, luminosidad, renovar y regenerar la epidermis, y aumentar la tensión de la piel al ser evaluadas por medio de una metodología estandarizada.

IV. Metodología

4.1 Materiales

4.1.1 Material, equipo e instrumentos

i. Material

- ❖ Vidrio de reloj
- ❖ Varilla de vidrio
- ❖ Barra magnética
- ❖ Termómetro de vidrio
- ❖ Auxiliar de pipeteo
- ❖ Pipetas graduadas: 1, 10 y 20 mL
- ❖ Pipetas volumétricas: 0.5, 1, 2, 5, 10, 15 y 20 mL
- ❖ Vasos de precipitados de vidrio: 25, 50, 100, 500 y 2000 mL
- ❖ Vasos de precipitados metálicos de acero inoxidable: 500 y 1000 mL
- ❖ Matraz Erlenmeyer: 250, 500 y 1000 mL
- ❖ Matraz volumétrico: 25, 50, 100 y 500 mL
- ❖ Probeta graduada: 10, 500, 1000 mL
- ❖ Tubos de ensaye
- ❖ Tubos de ensaye de plástico para centrífuga
- ❖ Membranas de ultrafiltración de 10 KDa (Amicon[®], Ultra 4 mL Centrifugal Filters)
- ❖ Membranas de ultrafiltración de 5 KDa (Corning[®], Spin-X[®] UF concentrators)
- ❖ Gradillas para tubos de ensaye
- ❖ Propela de cruz

ii. Equipos

- ❖ Pulverizador de alimentos (Nutribullet[®], Original 600W)
- ❖ Deshidratador eléctrico de alimentos (Sunix, Genérico)
- ❖ Molino de café y especias (KRUPS[®], GX410011)
- ❖ Parrilla eléctrica con agitación (Thermolyne Nuova[™]) y (Thermo Scientific[™], CIMAREC Sp131635)

- ❖ Centrífuga (SOL-BAT, S.A. de C.V, J-12) y (OHAUS[®], FRONTIER[™] 5707)
- ❖ Agitador Vortex (Grupo IBC, Vortex Mixer 2000)
- ❖ Agitador digital de cabezal elevado (Science Med, OS20-Pro)
- ❖ Cámara de estabilidad ambiental (CARON[®], 6010)
- ❖ Envasadora al vacío (Multivac, A300/16)

iii. Instrumentos

- ❖ Balanza granataria (OHAUS[®], Scout[®] Pro)
- ❖ Balanza mecánica de dos platos (OHAUS[®], 1450-SD Harvard Trip[™])
- ❖ Balanza analítica (OHAUS[®], Pioneer[™])
- ❖ Micropipeta volumen variable 100-1000 (Nichiryo, Nichipet[®] EXII)
- ❖ Termómetro (HANNA[®], Checktemp[®]1)
- ❖ Espectrofotómetro UV-Vis (Thermo Scientific, GENESYS[™] 10S)
- ❖ Potenciómetro (Oakton[®], PC 700 Benchtop pH/Conductivity Meter)
- ❖ Viscosímetro (Brookfield Rheometer, DV3T[™] Viscometer)

4.1.2 Reactivos, soluciones, materias primas y materiales de envase

i. Reactivos

- ❖ Alcalasa 4%, *Protease from bacillus licheniformis* (Sigma-Aldrich)
- ❖ Hidróxido de sodio (Química Meyer[®])
- ❖ Carbonato de sodio (Química Meyer[®])
- ❖ Sulfato de cobre pentahidratado (Química Meyer[®])
- ❖ Tartrato de sodio dihidratado (Química Meyer[®])
- ❖ Reactivo de fenoles Folin-Ciocalteu (Sigma-Aldrich)
- ❖ Seroalbúmina Bovina (Sigma-Aldrich)
- ❖ DPPH (Sigma-Aldrich)
- ❖ Etanol (Química Meyer[®])
- ❖ Ácido ascórbico (Sigma-Aldrich)
- ❖ Trolox (Sigma-Aldrich)
- ❖ Buffer de biftalato (pH 4) (J.T. Baker)

- ❖ Buffer de fosfato (pH 7) (J.T. Baker)
- ❖ Buffer de borato (pH 10) (J.T. Baker)

ii. Soluciones

- ❖ Solución de Lowry
- ❖ Solución estándar de seroalbúmina bovina
- ❖ Solución de DPPH
- ❖ Solución stock de ac. ascórbico
- ❖ Solución stock de trolox

iii. Materias primas

- ❖ Fracción peptídica <10 KDa >5 KDa de semillas de yaca
- ❖ Cera ceresina 136 (Droguería Cosmopolita)
- ❖ Alcohol cetílico 95 (Droguería Cosmopolita)
- ❖ Aceite mineral NF55 (Droguería Cosmopolita)
- ❖ Ácido esteárico USP (Droguería Cosmopolita)
- ❖ Propilparabeno (Droguería Cosmopolita)
- ❖ Glicerina USP (Química Meyer[®])
- ❖ Metilparabeno (Droguería Cosmopolita)
- ❖ Carbopol[®] Ultrez 10 (Droguería Cosmopolita)
- ❖ Trietanolamina USP (J.T. Baker)
- ❖ Dimeticona 200/350 (Droguería Cosmopolita)

iv. Materiales de envase

- ❖ Tarros de Doble Pared de polipropileno de 30 mL

4.1.3 Preparación de soluciones no comerciales

❖ Solución de Lowry

La solución de Lowry está compuesta por tres soluciones con una relación (vol:vol) de 100:1:1, las soluciones se mezclan en el momento de su utilización.

▪ Solución A (Solución alcalina)

En un matraz volumétrico de 500 mL disolver 2.8598 g de NaOH y 14.3084 g de Na_2CO_3 en una pequeña cantidad de agua y llevar al volumen de aforo con agua destilada.

▪ Solución B

En un matraz volumétrico de 100 mL disolver 1.4232 g de $\text{CuSO}_4 \cdot 5(\text{H}_2\text{O})$ en una pequeña cantidad de agua y llevar al volumen de aforo con agua destilada.

▪ Solución C

En un matraz volumétrico de 100 mL disolver 2.85299 de $\text{Na}_2\text{Tatrato} \cdot 2(\text{H}_2\text{O})$ en una pequeña cantidad de agua y llevar al volumen de aforo con agua destilada.

❖ Solución estándar de seroalbúmina bovina

En un matraz volumétrico de 50 mL disolver bien 0.05 g de seroalbúmina bovina en una pequeña cantidad de agua y llevar al volumen de aforo con etanol.

❖ Solución de DPPH (0.1 mM)

En un matraz volumétrico de 50 mL disolver bien 0.002 g de DPPH en una pequeña cantidad de etanol y llevar al volumen de aforo con etanol.

❖ **Solución stock de ac. Ascórbico**

En un matraz volumétrico de 25 mL disolver bien 0.002 g de ac. ascórbico en una pequeña cantidad de etanol y llevar al volumen de aforo con etanol.

❖ **Solución stock de trolox**

En un matraz volumétrico de 25 mL disolver bien 0.003 g de trolox en una pequeña cantidad de etanol y llevar al volumen de aforo con etanol.

4.2 Metodología

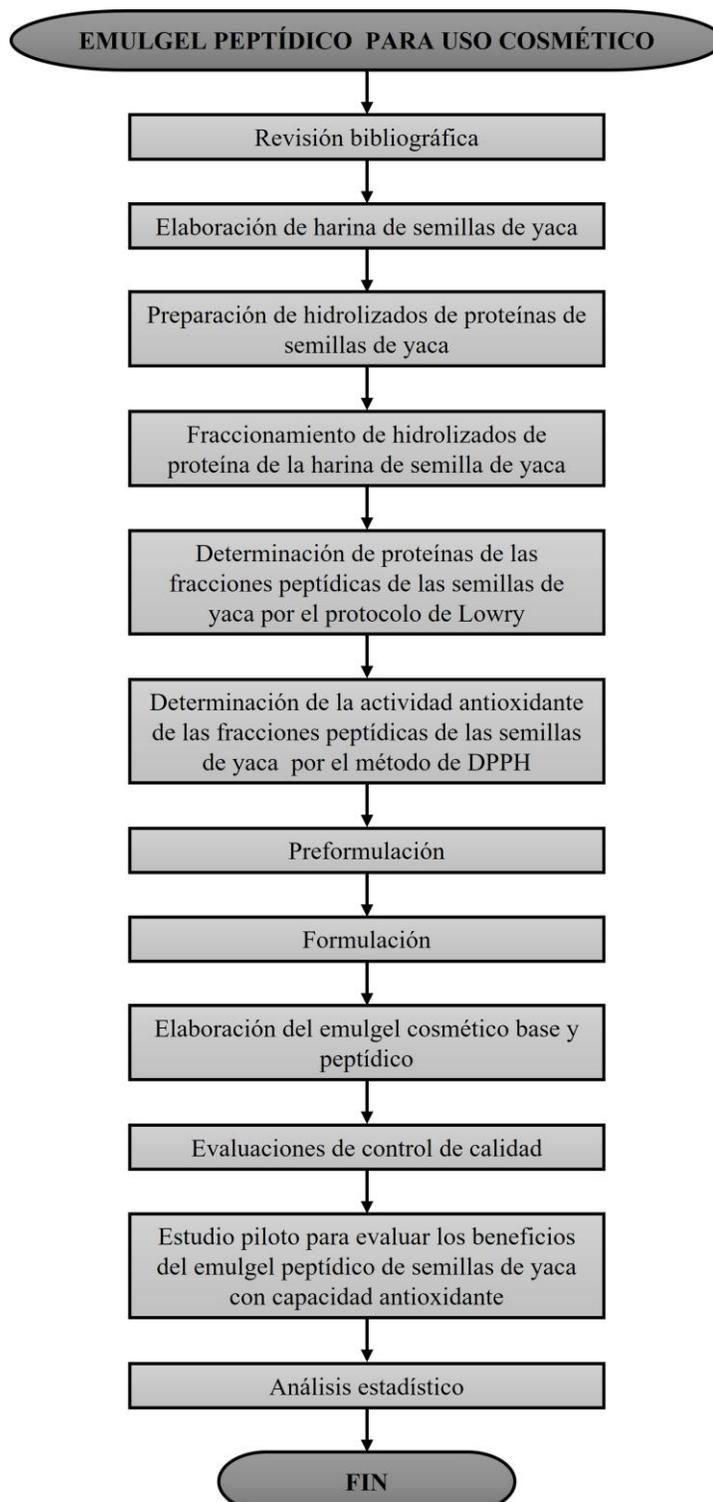


Figura 8. Esquema general de la metodología

4.2.1 Elaboración de harina de semillas de yaca

Se elaboró harina utilizando semillas de yaca como materia prima, las semillas fueron extraídas de varias yacas traídas de la localidad “El Llano” ubicada en el municipio de San Blas, Nayarit. Las yacas fueron seleccionadas con un grado de madurez comercial.

Se separó la pulpa de la cáscara de la yaca y se extrajeron las semillas de los bulbos de la pulpa de manera manual, posteriormente se seleccionaron las semillas sin defectos y se dejaron secar a temperatura ambiente durante tres días con el fin de eliminar la cáscara que recubre el endospermo; transcurrido ese tiempo los endospermos se suspendieron en una solución de metilsulfito de sodio 0.05% durante 24 horas con el fin de inhibir la polifenoloxidasas por medio del pardeamiento enzimático, transcurrido el tiempo las semillas se molieron con un pulverizador de alimentos (Nutribullet®, Original 600W) dando como resultado una masa, esta masa se introdujo a un deshidratador eléctrico de alimentos (Sunix, Genérico) a una temperatura controlada de 60°C por tres días hasta que ya no hubo eliminación de agua; por último, se pulverizó la masa deshidratada con un molino de café y especias (KRUPS®, GX410011) hasta reducirla a polvo, convirtiéndose así en harina de semilla de yaca.

Finalmente, la harina se envasó en una bolsa de plástico con una envasadora al vacío (Multivac, A300/16) y se etiquetó, esto se muestra en la figura 9.



Figura 9. Harina de semillas de yaca

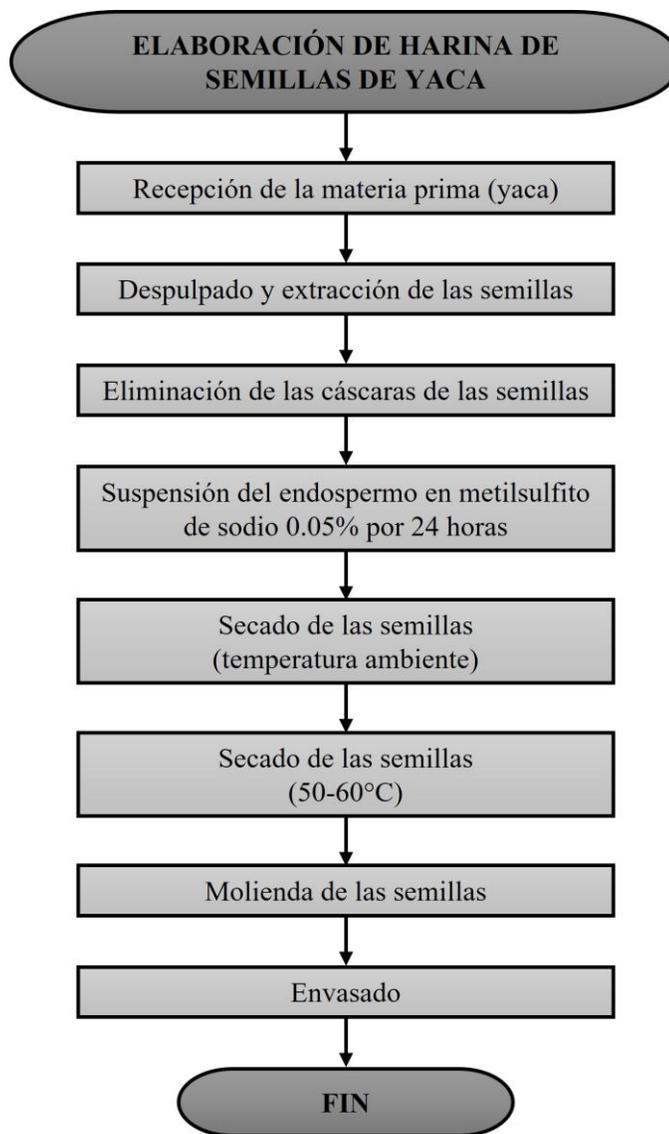


Figura 10. Metodología para la elaboración harina de semillas de yaca

4.2.2 Preparación de hidrolizados de proteínas de semillas de yaca

A partir de la harina de semillas de yaca elaborada tras la molienda y por medio de una hidrólisis enzimática, se extrajeron los péptidos bioactivos.

Se montó un equipo conformado por una parrilla eléctrica con agitación (Thermolyne, Nuova™), un baño de agua conformado por un vaso de precipitados de 2,000 mL en el cual se sumergió un matraz Erlenmeyer de 500 mL, y un termómetro de vidrio; la parrilla se encendió 15 minutos antes para precalentar el equipo.

La harina de semillas de yaca previamente pesada en una balanza analítica (OHAUS[®], Pioneer[™]) se suspendió en agua destilada con una relación masa (g): volumen (mL) de 1:20, la suspensión se sometió a agitación constante hasta que llegó a 60°C, posteriormente se adicionó la enzima Alcalasa 4% (*Protease from bacillus licheniformis*) (Sigma-Aldrich) con una micropipeta de volumen variable 10 - 100 μ L (Nichiryo, Nichipet[®] EXII) y se mantuvo en agitación durante 204 minutos, en un intervalo de temperatura entre 60 - 65°C, concluido el tiempo establecido se elevó la temperatura a 90 - 100°C por 10 minutos, esto con el fin de inactivar la enzima.

El hidrolizado se dejó enfriar a temperatura ambiente durante 30 minutos y transcurrido ese tiempo se almacenó en el refrigerador (TORREY, TVC17) durante 24 horas, transcurrido ese tiempo se decantó y almacenó el sobrenadante, el cual se sometió a una centrifugación con la centrífuga (SOL-BAT, S.A. de C.V, J-12) a 5,000 rpm durante 15 minutos, terminando este proceso se recolectó el sobrenadante en viales ámbar y se desecharon todos los sedimentos.

Este procedimiento se realizó 10 veces, estos hidrolizados se almacenaron en viales ámbar para su posterior semi-purificación, esta preparación se muestra en la figura 11.



Figura 11. Preparación de hidrolizados de proteínas de semillas de yaca: a) Hidrólisis enzimática; b) separación del hidrolizado por reposo; c) separación del sobrenadante por centrifugación; d) sobrenadante recolectado.

4.2.3 Fraccionamiento de hidrolizados de proteína de semilla de la yaca

Los hidrolizados de proteína de semilla de yaca resultantes, se sometieron a una semi-purificación mediante el fraccionamiento de los hidrolizados con base a la masa molecular utilizando dos diferentes tamaños de membrana y ultrafiltración con la centrífuga (OHAUS[®], FRONTIER[™] 5707) de 5,000 rpm durante 25 minutos.

Para fraccionar los hidrolizados se utilizó una membrana de ultrafiltración de 10 KDa acompañada de un tubo de ensaye de plástico para centrífuga (Amicon[®], Ultra 4 mL Centrifugal Filters) y así separar los fragmentos proteicos de alta masa molecular; posteriormente se recolectó el filtrado el cual se sometió nuevamente a ultrafiltración centrífuga mediante una membrana de ultrafiltración de 5 KDa acompañada de un tubo de ensaye de plástico para centrífuga (Corning[®], Spin-X[®] UF concentrators), esto se muestra en la figura 12.

Las tres diferentes fracciones peptídicas resultantes, <5 KDa (fracción que atravesó la membrana de 5 KDa), <10 KDa >5 KDa (fracción que atravesó la membrana de 10 KDa y se retuvo con la de 5 KDa) y >10 KDa (fracción que se retuvo con membrana de 10 KDa), se acumularon, almacenaron y etiquetaron en viales ámbar los cuales se almacenaron en el refrigerador, esto para su mejor conservación.



Figura 12. Fraccionamiento de hidrolizados de proteína de semilla de la yaca:

- a) Fraccionamiento por membrana de ultrafiltración MWCO de 10, 000 Da;
- b) fraccionamiento por membrana de ultrafiltración MWCO de 5, 000 Da.

4.2.4 Determinación de proteínas de las fracciones peptídicas de las semillas de yaca por el protocolo de Lowry

La cuantificación de la concentración total de proteínas en las fracciones peptídicas se determinó llevando a cabo el método de Lowry informado por Dulekgurgen (2004).

Para realizar el método de Lowry se utilizó el reactivo de Folin-Ciocalteu (Sigma-Aldrich) y se prepararon dos soluciones, una solución de Lowry y una solución stock de seroalbúmina bovina.

Con la solución stock de seroalbúmina bovina preparada se realizó una curva de calibración patrón; en la curva de calibración patrón se efectuaron seis mediciones, la medición de un blanco y cinco mediciones de las concentraciones de solución estándar de seroalbúmina bovina (20, 40, 60, 80 y 100 mg/L), preparadas a partir de la solución stock.

En cada tubo de ensaye se agregaron 0.5 mL de cada una de las concentraciones realizadas de las soluciones de seroalbúmina bovina y 0.7 mL de solución de Lowry, las mezclas se incubaron en oscuridad durante 20 minutos a temperatura ambiente (25°C); transcurrido este tiempo se les adicionó 0.1 mL de reactivo de Folin diluido (1.25:1.5) y se mezcló el contenido bajo agitación mecánica empleando un agitador Vortex (Grupo IBC, Vortex Mixer 2000), esto se muestra en la figura 13.

Posteriormente, las mezclas se incubaron en oscuridad durante 30 minutos a temperatura ambiente (25°C) y transcurrido el tiempo se trasvasaron las soluciones a unas celdas de plástico; finalmente se determinó la absorbancia de las mezclas en un espectrofotómetro UV-Vis (Thermo Scientific, GENESYS™ 10S) con una longitud de onda de 750 nm, dando como resultado una curva de calibración patrón. Esta metodología se realizó por triplicado.



Figura 13. Tubos de ensaye con la curva de calibración patrón.

Con las concentraciones obtenidas se calcularon los g de proteína y el grado de hidrólisis.

Los g de proteína se calcularon con la siguiente ecuación:

$$\text{g de proteína} = \frac{\left(\frac{\text{Conc. de proteína del hidrolizado} \left[\frac{\text{mg}}{\text{L}} \right] \times \text{mL del hidrolizado}}{1000 \text{ mL}} \right)}{1000}$$

El grado de hidrólisis se calculó con la siguiente ecuación:

$$\text{Grado de hidrólisis} = \frac{\text{Cont. de proteína del hidrolizado}}{\text{Cont. de proteína antes de hidrólisis}} \times 100$$

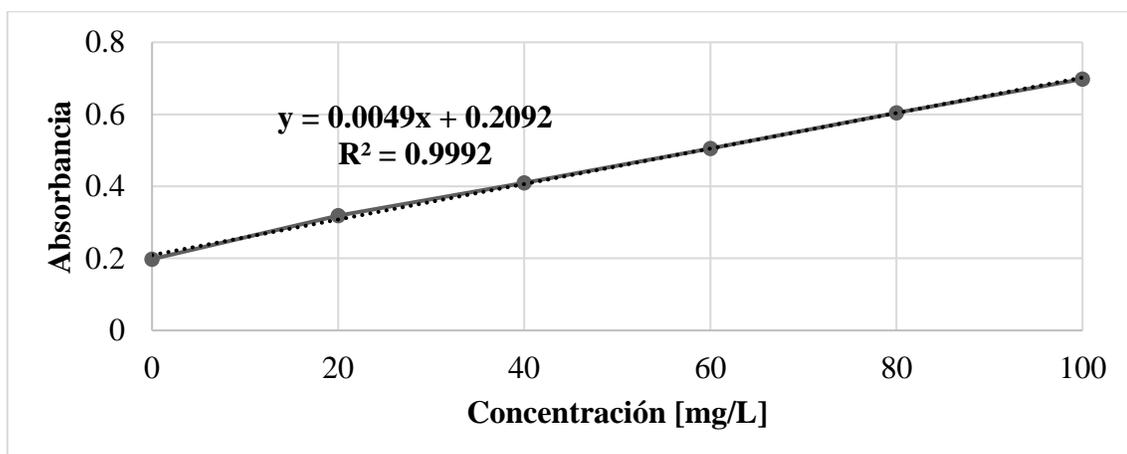


Figura 14. Curva de calibración patrón de Lowry

Cada una de las fracciones peptídicas se sometieron al protocolo de Lowry para determinar cuantitativamente la concentración de proteínas. Para determinar la concentración de proteínas se agregaron 0.5 mL de fracción peptídica de semillas de yaca y 0.7 mL de solución de Lowry en tubos de ensaye, después de mezclar el contenido de los tubos de ensaye bajo agitación mecánica empleando un agitador Vortex (Grupo IBC, Vortex Mixer 2000), las mezclas se incubaron en oscuridad durante 20 minutos a temperatura ambiente (25°C); transcurrido este tiempo se les adicionó 0.1 mL de reactivo de Folin diluido (1.25:1.5) y se mezcló el contenido bajo agitación mecánica empleando un agitador Vortex (Grupo IBC, Vortex Mixer 2000). Posteriormente, las mezclas se incubaron en oscuridad durante 30 minutos a temperatura ambiente (25°C) y transcurrido el tiempo se trasvasaron las soluciones a unas celdas de plástico; finalmente se determinó la absorbancia de las mezclas en un espectrofotómetro UV-Vis (Thermo Scientific, GENESYS™ 10S) con una longitud de onda de 750 nm, dando como resultado la concentración de las fracciones peptídicas. Esta metodología se realizó por triplicado.

4.2.5 Determinación de la actividad antioxidante de las fracciones peptídicas de las semillas de yaca por el método de DPPH

La capacidad de las fracciones peptídicas para atrapar radicales libres se determinó llevando a cabo el método de DPPH informado por Shimada et al. (1992), con algunas modificaciones.

Para realizar el método de DPPH se prepararon tres soluciones, una solución de DPPH, 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (Sigma-Aldrich) 0.1 mM y dos soluciones stock de 500 mmol/L de diferentes reactivos, una de ac. ascórbico (Sigma-Aldrich) y otra de trolox (Sigma-Aldrich). Las tres soluciones se prepararon en etanol al 99% (Química Meyer®).

Con las soluciones preparadas se realizaron dos curvas de calibración, una de la capacidad de eliminación de radicales libres DPPH por el ac. ascórbico y otra de la capacidad de eliminación de radicales libres DPPH por el trolox; para cada curva patrón se realizaron seis mediciones, incluyendo la medición de un blanco y cinco mediciones de las concentraciones

del ácido ascórbico y el trolox (100, 200, 300, 400 y 500 mmol/L) preparadas a partir de las soluciones stock.

En cada tubo de ensaye se agregaron 125 μ L de cada una de las concentraciones realizadas del ac. ascórbico y el trolox, 375 μ L de etanol y 1 mL de DPPH a 0.1 mM, posteriormente se mezcló el contenido bajo agitación mecánica empleando un agitador Vortex (Grupo IBC, Vortex Mixer 2000) y finalmente las mezclas se incubaron en oscuridad durante 30 minutos a temperatura ambiente (25°C), esto se muestra en las figura 15 y 17. Transcurrido este tiempo se trasvasaron las mezclas a unas celdas de plástico y se determinó la absorbancia de las mezclas en un espectrofotómetro UV-Vis (Thermo Scientific, GENESYS™ 10S) a una longitud de onda de 517 nm, dando como resultados dos curvas patrón.



Figura 15. Tubos de ensaye con curva de calibración patrón de ac. ascórbico

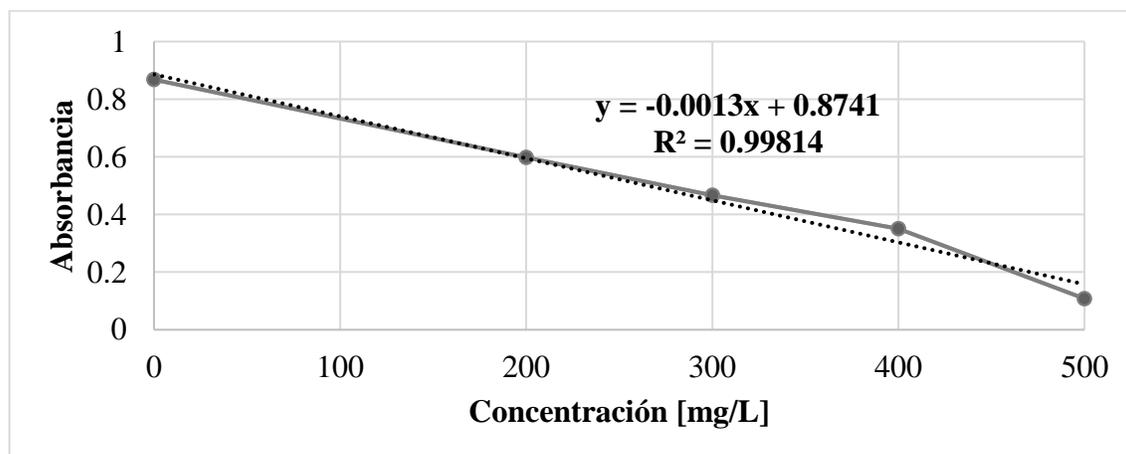


Figura 16. Capacidad de eliminación de radicales libres DPPH del ac. ascórbico

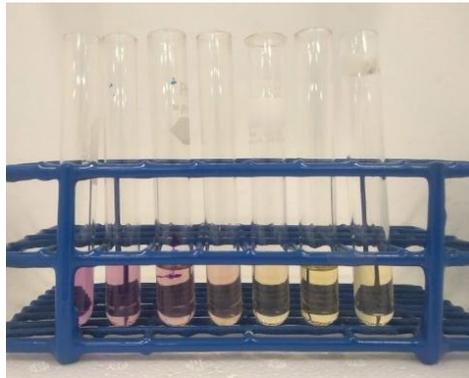


Figura 17. Tubos de ensaye con curva de calibración patrón de trolox

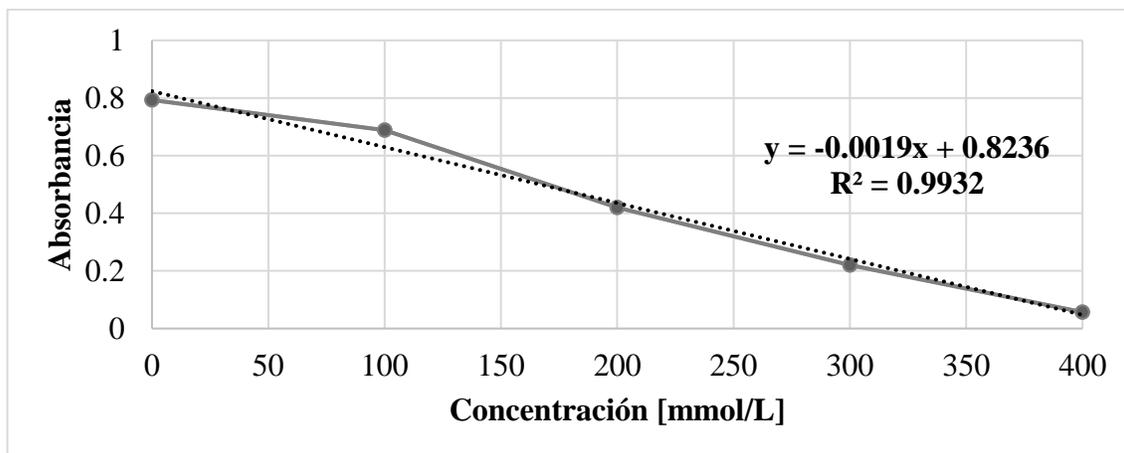


Figura 18. Capacidad de eliminación de radicales libres DPPH del trolox

Con cada una de las curvas de calibración patrón anteriormente preparadas se realizó la medición de las fracciones peptídicas, determinando así la actividad antioxidante de todas las fracciones al someterlas al método de DPPH.

En tubos de ensaye se agregaron 125 μ L de cada fracción peptídica de semillas de yaca, 375 μ L de etanol y 1mL de DPPH a 0.1 mM, posteriormente se mezcló el contenido bajo agitación mecánica empleando un agitador Vortex (Grupo IBC, Vortex Mixer 2000) y finalmente las mezclas se incubaron en oscuridad durante 30 minutos a temperatura ambiente (25°C). Transcurrido este tiempo se trasvasaron las mezclas a unas celdas de plástico y se determinó la absorbancia de las mezclas en un espectrofotómetro UV-Vis (Thermo Scientific,

GENESYS™ 10S) con una longitud de onda de 517 nm, dando como resultados la concentración de las fracciones peptídicas. Esta metodología se realizó por triplicado.

De los promedios de las actividades antioxidantes previamente calculados se determinó la fracción peptídica con mayor capacidad antioxidante; cada fracción se correlacionó con los g de proteína de la fracción respectiva determinada por el protocolo de Lowry dividida entre la concentración de la determinación de la actividad antioxidante, dando como resultado la actividad antioxidante por g de proteína de cada fracción peptídica

4.2.6 Preformulación

Para realizar la preformulación se realizó una investigación bibliográfica en donde se incluyó toda la documentación de las propiedades fisicoquímicas y biofarmacéuticas de los excipientes, además que se comprobó la compatibilidad de los principios activos con estos.

Para la preformulación del emulgel se partió de la formulación patrón de una emulsión O/W y la formulación patrón de un gel, documentada por (Cumbreño-Barquero y Pérez-Higuero, 2004a, 2004b), respectivamente.

Tabla 12. Fórmula patrón de una emulsión O/W (Cumbreño-Barquero y Pérez-Higuero, 2004a).

Componentes	Porcentaje
Principios activos	X%
Fase oleosa	10 – 30%
Fase acuosa	70 – 90%
Emulgentes	< 10%
Conservantes	X%
Antioxidantes	X%

Tabla 13. Fórmula patrón de un gel (Cumbreño-Barquero & Pérez-Higuero, 2004b).

Componentes	Porcentaje
Principio activo	X%
Gelificante	X%
Regulador de pH (si procede)	c.s.
Conservantes	c.s.
Diluyente	c.s.p.

4.2.7 Formulación

Empleando las formulaciones patrón de las tablas 12 y 13 se seleccionaron los porcentajes de los excipientes seleccionados para la formulación del emulgel; en la tabla 14 se observan los excipientes que conforman la formulación, así como sus respectivas funciones.

Tabla 14. Formulación del emulgel

EMULGEL			
INGREDIENTE	FUNCIÓN	100%	
FASE OLEOSA			
Cera ceresina	Espesante	3.3	18.2%
Alcohol cetílico	Espesante	1.1	
Aceite mineral	Emoliente	6.7	
Dimeticona	Emoliente	2.2	
Ácido esteárico	Emulsionante	4.7	
Propilparabeno	Conservador	0.2	
FASE ACUOSA			
Glicerina	Humectante	2.2	81.8%
Carbopol® Ultrez 10	Agente gelificante	0.13	
Trietanolamina	Agente neutralizante	1.0	
Metilparabeno	Conservador	0.3	
Agua	Fase acuosa	78.17	

4.2.8 Elaboración del emulgel cosmético base

El procedimiento propuesto para la formulación del emulgel se elaboró de acuerdo con la metodología planteada por Trenado-Hernández (2018), a la cual se le realizaron modificaciones, a continuación, se describe la preparación.

El emulgel, se preparó con una emulsión aceite en agua a la cual se le incorporó un gel, gel que se había preparado con un día de anterioridad.

Se prepararon tres lotes de 500 mL del emulgel base y emulgel peptídico respectivamente.

i. Gel

En un vaso de precipitado se colocaron 0.65 g de Carbopol® Ultrez 10 (Droguería Cosmopolita) y 97.72 mL de agua destilada, se sometió a agitación manual con una varilla de vidrio, al formarse el gel, el vaso de precipitados se tapó con envoltura plástica adherente y se dejó humectar durante 24 h, esto se muestra en la figura 19.

Transcurrido el tiempo se le agregaron 5 g de Trietanolamina (J.T. Baker) y se homogenizó con un agitador de propela (Science Med, OS20-Pro) a 1,000 rpm para la formación del gel.



Figura 19. Gel

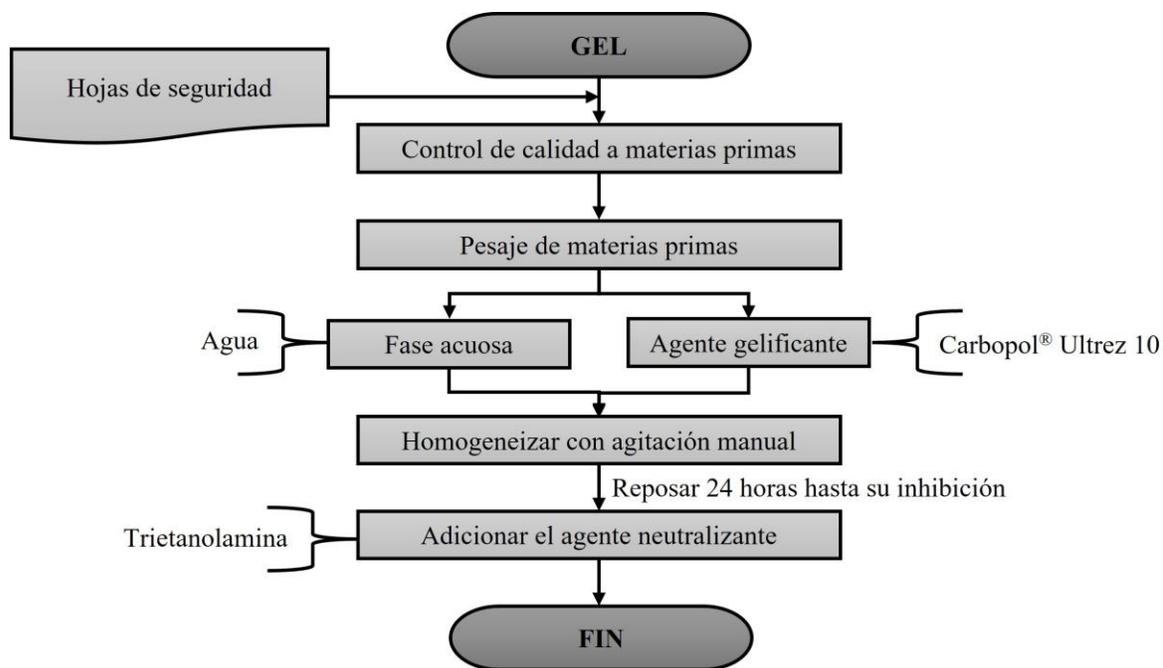


Figura 20. Método para la elaboración del gel

ii. Emulsión

Antes de comenzar a preparar la emulsión se montó una parrilla eléctrica con agitación (Thermo Scientific™, CIMAREC Sp131635); la parrilla se encendió 15 minutos antes para precalentar el equipo.

a) Fase Oleosa

En un vaso de precipitados de acero inoxidable de 500 mL se homogeneizó 16.5 g de cera ceresina 136 (Droguería Cosmopolita), 5.5 g de alcohol cetílico 95 (Droguería Cosmopolita, México), 33.5 g de aceite mineral NF55 (Droguería Cosmopolita), 11 g de dimeticona 200/350 (Droguería Cosmopolita) y 23.5 g de ácido esteárico USP (Droguería Cosmopolita) a una temperatura de entre 70-75°C acompañada de una agitación constante, proporcionada por una barra magnética hasta su uniformidad (20 - 30min aproximadamente); se desmontó el vaso de la parrilla y se dejó enfriar hasta 40°C, al llegar a esta temperatura se le adicionó 1 g de propilparabeno (Droguería Cosmopolita) y nuevamente se sometió a agitación, esta

vez de forma manual, con una varilla de vidrio hasta su completa incorporación, esto se muestra en la figura 21.



Figura 21. Fase oleosa

b) Fase acuosa

Posteriormente, en un vaso de precipitados de acero inoxidable de 1,000 mL se colocó 11 g de glicerina USP (Química Meyer[®]), 293 mL de agua destilada y el gel base que se elaboró con un día de antelación, se mezclaron bajo agitación mecánica constante empleando un agitador digital de cabezal elevado (Science Med, OS20-Pro) con una propela de 4 aspas a una velocidad constante de 3,000 rpm hasta la unificación de los componentes para obtener un gel bioadhesivo; la fase se dejó enfriar hasta 40°C y al llegar a esta temperatura se le adicionó 1.5 g de metilparabeno (Droguería Cosmopolita), posteriormente se prosiguió con la agitación hasta su completa incorporación, esto se muestra en la figura 22.



Figura 22. Fase acuosa

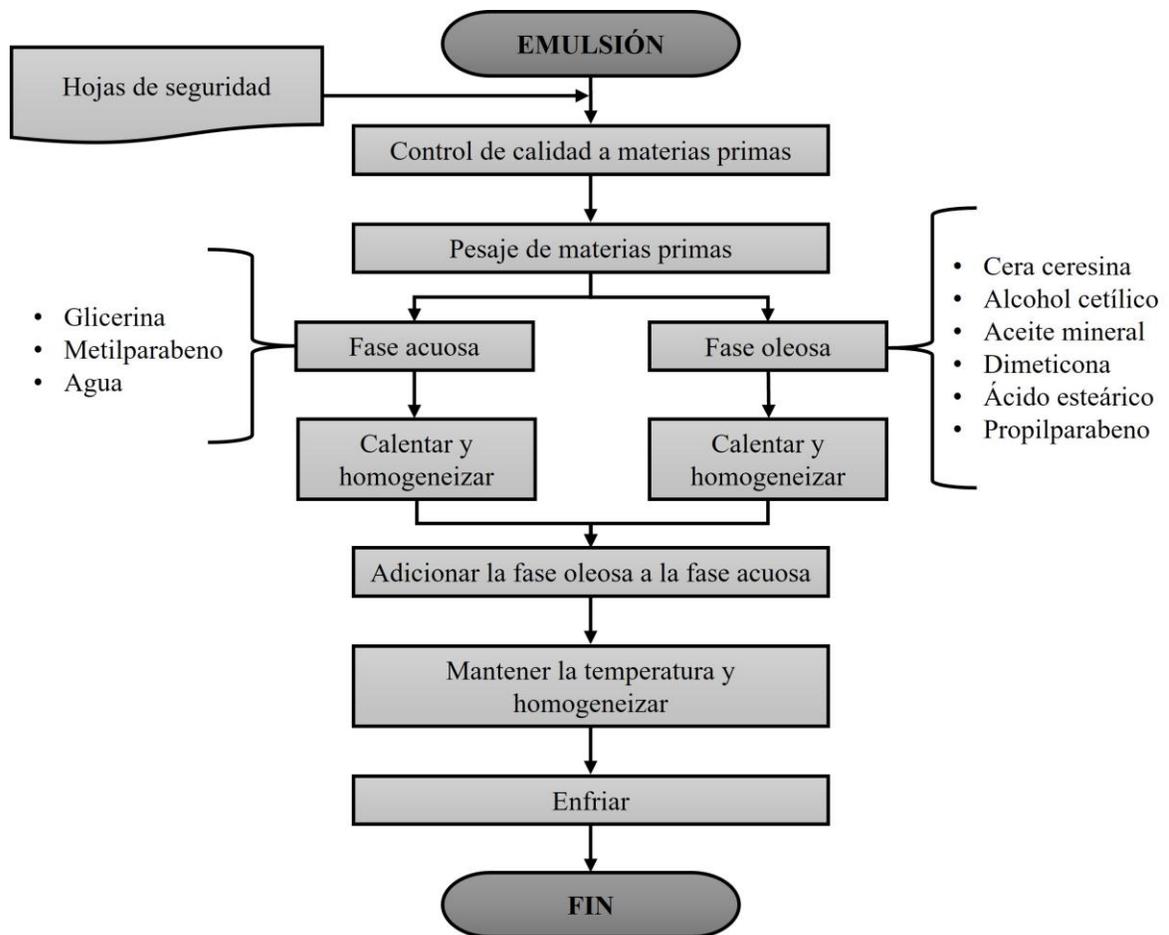


Figura 23. Método para la elaboración de la emulsión

iii. Emulgel

Finalmente, se adicionó poco a poco la fase oleosa a la fase acuosa la cual se mantuvo en agitación, las fases se mezclaron hasta su incorporación total (ambas fases se encontraban a 40°C); al terminar la homogenización se suspendió la agitación y se dejó enfriar hasta temperatura ambiente, esto me muestra en la figura 24.

Una vez a temperatura ambiente, se procedió a envasar, etiquetar y guardar en condiciones adecuadas al emulgel para su posterior utilización

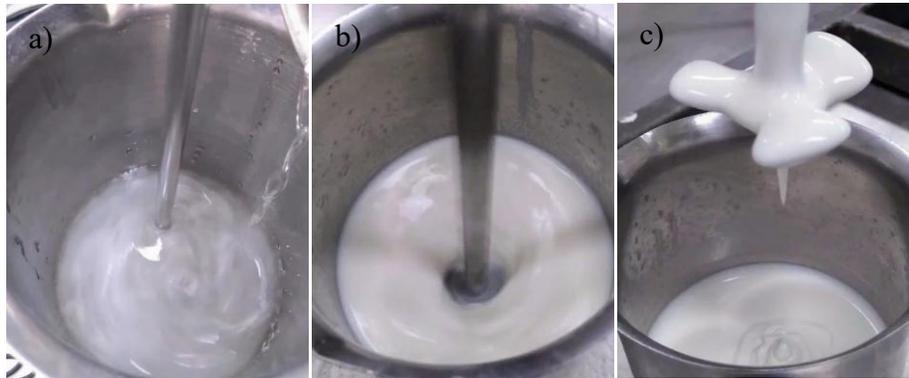


Figura 24. Elaboración del emulgel cosmético base: a) Adición de la fase oleosa a la fase acuosa; b) Homogeneización de las fases; c) Emulgel base

4.2.9 Elaboración del emulgel cosmético con péptidos bioactivos de semillas de yaca

Para elaborar el emulgel peptídico se llevó a cabo la metodología realizada en la elaboración del emulgel base, únicamente se le realizó una modificación en la preparación de la fase acuosa.

La fracción peptídica $<10 \text{ KDa} >5 \text{ KDa}$ de semillas de yaca que se recolectó, fue el equivalente al 2% del agua destilada total de la formulación, 7.8 mL, misma cantidad que se restó a los 293 mL de fracción de agua destilada correspondientes a la fase acuosa de la formulación, dando como resultado 285.32 mL de agua destilada para la fase acuosa en la formulación del emulgel peptídico.

Se unificaron todos los componentes correspondientes de la fase acuosa y después del enfriamiento a 40°C , se le adicionó la fracción peptídica equivalente al 2% del agua total y 1.5 g de metilparabeno (Droguería Cosmopolita), posteriormente se prosiguió con la agitación hasta su completa incorporación.

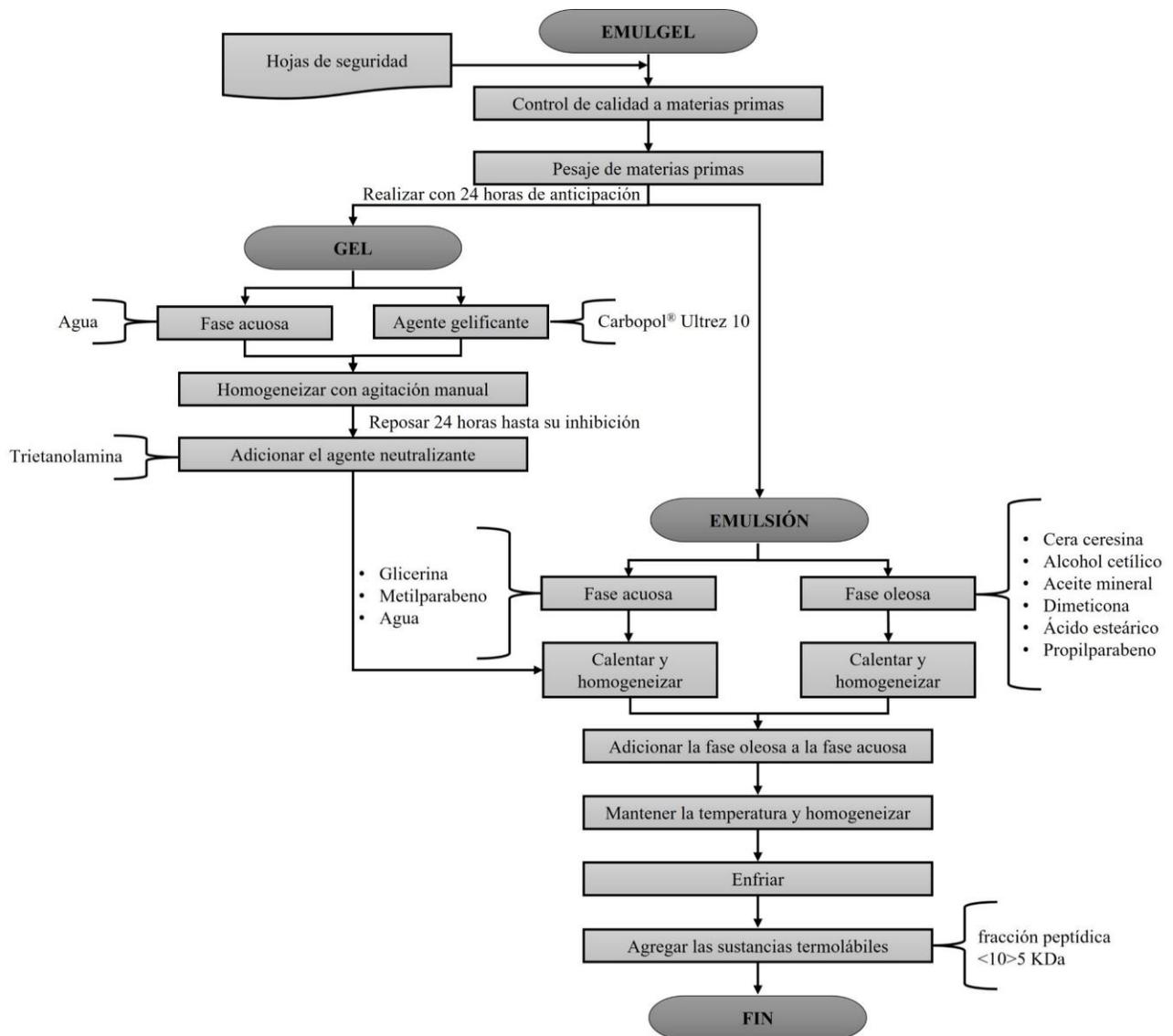


Figura 25. Metodología para la elaboración del emulgel peptídico

4.2.10 Control de calidad

Se realizaron pruebas de control de calidad al emulgel base y al emulgel peptídico, las evaluaciones se llevaron a cabo después de transcurrir 14 días de su elaboración y almacenamiento.

Se eligieron tres envases con emulgel base y tres envases con emulgel peptídico, a los cuales se les realizaron pruebas organolépticas, fisicoquímicas y de estabilidad, las pruebas se detallan a continuación:

i. Organolépticas

Las evaluaciones organolépticas realizadas fueron: una prueba de apariencia y una prueba de uso.

a) Apariencia

En la prueba de apariencia se evaluaron propiedades físicas como el color, el brillo y el olor; estas se realizaron sin entrar en contacto directo con el emulgel.

b) Prueba de uso

En la prueba de uso se evaluaron propiedades físicas como la textura, la consistencia, la extensibilidad, la evanescencia y la pegajosidad del emulgel; estas se realizaron al entrar en contacto directo con el emulgel.

ii. Fisicoquímicas

Las evaluaciones fisicoquímicas realizadas fueron: determinación de pH, gravedad específica y viscosidad.

a) Determinación de pH

El pH del producto se midió con un potenciómetro (Oakton[®], PC 700 Benchtop pH/Conductivity Meter) calibrado por medio de un buffer de fosfato (pH 7) (J.T. Baker), un buffer de biftalato (pH 4) (J.T. Baker) y un buffer de borato (pH 10) (J.T. Baker), la calibración se llevó a cabo en el orden antes mencionado.

Las mediciones se realizaron a cada una de las muestras del emulgel base y del emulgel peptídico, tomando 30 g de producto en un vaso de precipitados y leyéndolo directamente sobre la muestra que se encontraba a temperatura ambiente (25°C).

b) Gravedad específica

La gravedad específica del producto se determinó mediante el uso de una balanza analítica (OHAUS®, Pioneer™) y un picnómetro metálico.

A temperatura ambiente (25°C) se realizaron las mediciones a cada una de las muestras del emulgel base y del emulgel peptídico; se tomó la masa del picnómetro vacío, posteriormente se pesó el picnómetro con agua destilada, como valor de referencia, y finalmente se pesó el picnómetro con muestra de emulgel.

La gravedad específica se calculó mediante el uso de la siguiente fórmula:

$$G. E. (T=25^{\circ}C) = \left[\frac{\text{Masa del picnómetro con emulgel} - \text{Masa del picnómetro vacío}}{\text{Masa del picnómetro con agua} - \text{Masa del picnómetro vacío}} \right]$$

c) Viscosidad

La viscosidad del producto se determinó mediante el uso de un viscosímetro (Brookfield Rheometer, DV3T™ Viscometer) y una aguja de acero inoxidable HA05.

Las mediciones se realizaron a cada una de las muestras del emulgel base y del emulgel peptídico, tomando 30 g de emulgel en un vaso de vidrio (evitando la formación de burbujas) a una velocidad de 20 rpm y a una temperatura de 25°C.

iii. Estabilidad

Las evaluaciones de estabilidad realizadas fueron; una prueba centrífuga, una prueba de estabilidad a largo plazo y una prueba de estabilidad acelerada.

a) Prueba centrífuga

La estabilidad centrífuga se determinó mediante el uso de una centrífuga (OHAUS[®], FRONTIER[™] 5707) y dos tubos de centrífuga graduados, esto con el objetivo de medir el volumen de separación de las muestras de emulgel, en caso de que estas lo presentaran.

Las pruebas se realizaron en cada muestra del emulgel base y del emulgel peptídico; se introdujeron dos tubos de centrífuga graduados con una muestra de volumen de 4 mL y se centrifugó a una velocidad de 4500 rpm por 5 minutos, una vez transcurrido el tiempo de centrifugación, se retiraron los tubos y se observó que no ocurrió una separación de fases en ninguna de las muestras.

b) Estabilidad acelerada

La prueba de estabilidad acelerada se realizó de acuerdo con la NOM-073-SSA1-2015 “Estabilidad de fármacos y medicamentos, así como de remedios herbolarios” (Secretaría de salud, 2015a).

Por un periodo de 3 meses y mediante el uso de una cámara de estabilidad ambiental (CARON[®], 6010) calibrada a $40\text{ °C} \pm 2\text{ °C} / 75\% \pm 5\% \text{ HR}$ se realizó la prueba de estabilidad acelerada a las muestras del emulgel base y el emulgel peptídico en tarros de propileno de 30 g respectivamente.

c) Estabilidad a largo plazo

La NOM-073-SSA1-2015 “Estabilidad de fármacos y medicamentos, así como de remedios herbolarios” menciona que es decisión del fabricante llevar a cabo los estudios de estabilidad a largo plazo. La prueba de estabilidad a largo plazo consiste en someter la muestra a $25\text{ °C} \pm 2\text{ °C} / 60\% \pm 5\% \text{ HR}$ por un periodo de 12 meses.

Considerando lo anterior, y por decisión personal se ejecutó una prueba distinta de estabilidad. La metodología consistió en someter las muestras del emulgel base y el emulgel peptídico en tarros de propileno de 30 g respectivamente, por un período de 6 meses en una gaveta metálica en completa oscuridad sometiéndose a $23.5\text{ °C} \pm 2.12\text{ °C} / 59\% \pm 26.87\% \text{ HR}$ por un período de 6 meses.

4.2.11 Diseño del estudio piloto para evaluar los beneficios del emulgel peptídico de semillas de yaca con capacidad antioxidante

Se realizó un estudio piloto simple ciego, con el emulgel peptídico de semillas de yaca, y el emulgel base, utilizando este último como control. Esto con la finalidad de poder compararlos y así observar el efecto de la fracción peptídica utilizada, es decir, detectar la capacidad antioxidante que proporcionaría a la piel (luminosidad, renovación y regeneración de la epidermis, así como suavizar las líneas de expresión y aumentar la tensión de la piel).

A los panelistas se les proporcionó un formato de consentimiento informado, este formato se presenta en la figura 26 y en anexos, en el cual se explicaba el tipo de estudio en el cual participarían y la manera de como deberían aplicar los productos; a cada panelista se le entregaron dos tarros, uno con el emulgel control etiquetado con la leyenda “Izquierdo” y otro con el emulgel peptídico etiquetado con la leyenda “Derecho”, estas leyendas indicaron en qué parte del rostro se debía aplicar el emulgel. Se les indicó que después de la limpieza facial nocturna se tenían que aplicar los emulgeles en la parte del rostro correspondiente con pequeños golpecitos para favorecer la absorción de estos, esta operación la debían realizar todas las noches por 28 días (4 semanas).

CARTA DE AUTORIZACIÓN DE USO DE IMAGEN Y CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA LA APLICACIÓN DE UN EMULGEL CON PEPTIDOS CON PROPIEDAD ANTIOXIDANTE.

Yo _____, de _____ años, en pleno goce de mis capacidades, manifiesto que, se hace de mi conocimiento lo siguiente:

- Que participaré como voluntario en la experimentación de un emulgel cosmético antioxidante que se aplicará con la finalidad de evaluar el principio activo (Peptidos de harina de semilla de yaca, fracción <10 >5 KDa);
- Que los beneficios esperados son obtener más luminosidad de la piel, renovar y regenerar la epidermis, suavizar las líneas de expresión y, aumentar la tensión de la piel;
- Que la experimentación del emulgel tendrá una duración mínima de 28 días;
- Que se tomarán tres fotografías de la cara del voluntario con el fin de tener evidencia visual para la experimentación (La fotografías serán el día 0, 7, 14, 21 y 28);
- Que el emulgel se aplicará en toda la cara con movimientos circulares haciendo énfasis en líneas de expresión que el voluntario pueda presentar;
- Que se aplicará aproximadamente 1g del producto en la noche antes de dormir (si el voluntario desea podrá aplicar el producto también en la mañana, siempre y cuando le informe a Loretta Peña Delgadillo);
- Que se realizarán pruebas a lo largo de toda la investigación; y
- Que se le prohíbe usar productos dermatológicos de tratamiento en las áreas determinadas durante el periodo de evaluación.

Así mismo, expreso que se me informaron todos los ingredientes de la formulación del producto y declaro que no soy alérgico a ningún ingrediente de la formulación.

Ingredientes	Función
Aceite mineral	Emoliente y humectante, reduce la pérdida de agua en la piel.
Ácido esteárico	Emulsionante, base en preparaciones de cremas de día para la adherencia de la piel.
Cera cerasina	Espesante, esencial para la saponificación del emulgel.
Glicerina	Humectante y emoliente, presenta la capacidad de retener la humedad.

Dimeticona	Emoliente y oclusivo, presenta la capacidad de retener agua en un producto.
Alcohol cetílico	Espesante, emulsificante y absorbente de agua en las cremas.
Trietanolamina	Agente neutralizante y emulsificante.
Carbopol Ultrez 10	Agente gelificante, polímero formador de geles evanescentes.
Fracción peptídica de <10 >5 KDa de harina de semilla de yaca	Principio activo (*0.2% de la formulación)
Metilparabeno	Conservante fungicida y bactericida. (*0.1% de la formulación)
Propilparabeno	Conservante microbiológico. (*0.1% de la formulación)

Yo en el entendimiento de la información previa, me comprometo a realizar el procedimiento especificado para la investigación del proyecto y sólo podré posponer la aplicación del emulgel en caso de presentar irritación y/o inflamación.

Autorizo a Loretta Peña Delgadillo a utilizar mi nombre, edad y fotografías que se tomarán a lo largo de la experimentación como material de apoyo para evidencia visual en la experimentación. Expro que esta autorización es voluntaria y totalmente gratuita, por lo tanto, ella es libre de utilizar mi nombre y mi imagen únicamente en la tesis que se realice con esta investigación.

Lugar: _____ ; _____

Fecha de inicio del procedimiento: _____

Nombre y firma del voluntario

Nombre y firma de la persona que otorga la información

1

Figura 26. Carta de autorización de uso de imagen y consentimiento informado

El estudio se llevó a cabo en 30 panelistas, tanto hombres como mujeres, de edades entre 19-55 años, esto con el objetivo de tener diferentes tipos de piel y ver la acción del emulgel sobre las distintas epidermis, y así visualizar posibles diferencias en cada una de ellas mediante la comparación de los resultados.

Durante el tiempo que aplicaron los emulgeles, los panelistas observaron su epidermis y reportaron los cambios que lograban visualizar, además que, se les tomó una fotografía de la cara semanalmente, esto, con el fin de tener evidencia visual de los efectos de los emulgeles en el rostro y así evaluar la eficacia del producto proporcionado. Hay que mencionar que se realizó esta determinación medianamente subjetiva debido a que no se contaba con el equipo que poseen algunos laboratorios para medir la profundidad de las arrugas.

En la última semana del estudio se les entregó a los panelistas una encuesta, esta encuesta se presenta en la figura 27 y en anexos, en la cual se evaluaban las propiedades organolépticas tanto del emulgel control como del emulgel peptídico con el fin de conocer las opiniones del producto. Las respuestas se calificaron de acuerdo con las siguientes escalas hedónicas.

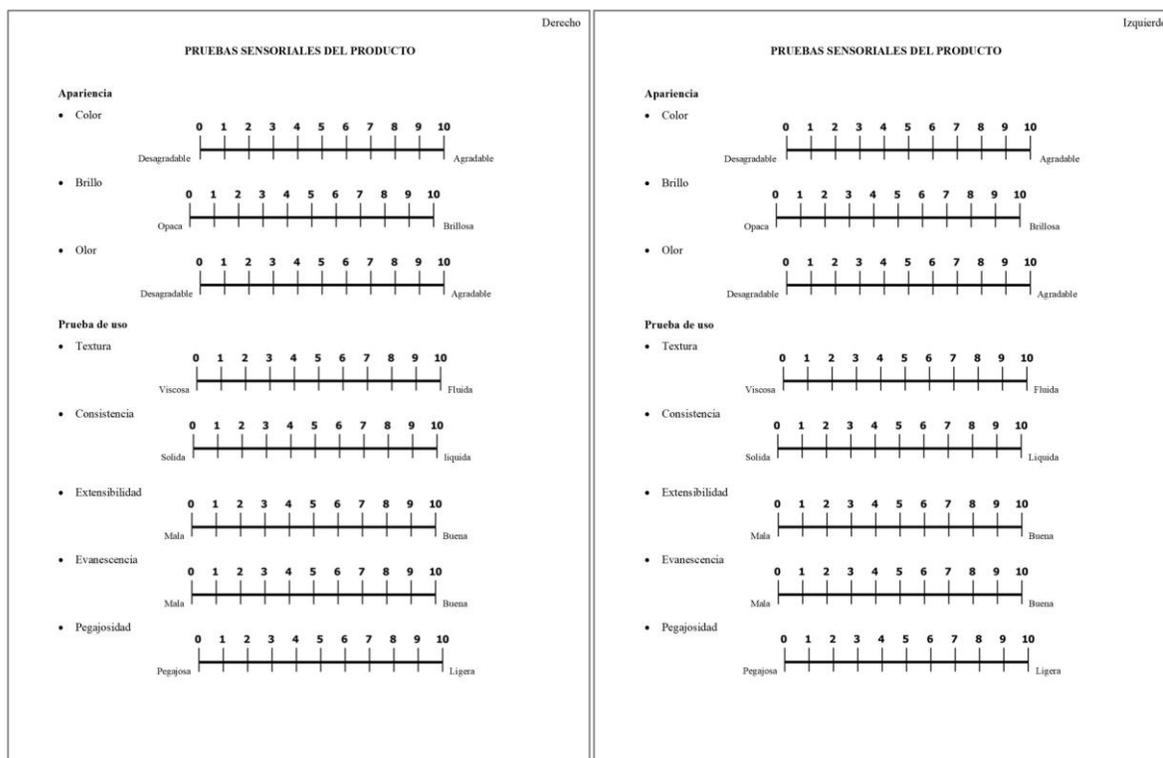


Figura 27. Encuesta de pruebas sensoriales

Una vez contestados los cuestionarios se recopilaron para hacer el tratamiento estadístico.

4.2.12 Análisis estadístico

Se realizaron cálculos estadísticos a los resultados obtenidos de las diferentes metodologías (Determinación de proteínas por el protocolo de Lowry, determinación de la actividad antioxidante por el método de DPPH, pruebas fisicoquímicas y las pruebas organolépticas evaluadas por los panelistas) se realizaron utilizando el software estadístico Microsoft Excel[®], 2016. Los cálculos estadísticos de las determinaciones y las pruebas fisicoquímicas se hicieron por triplicado y se promediaron respectivamente.

Al correlacionar los datos de ambas determinaciones se obtuvo la actividad antioxidante por g de cada fracción peptídica.

Los datos obtenidos en Excel de todas las fracciones peptídicas de las determinaciones anteriores y de las pruebas organolépticas evaluadas por los panelistas, fueron utilizados para hacer un análisis de varianza ANOVA de un solo factor, con un nivel de significancia $\alpha=0.05$ utilizando el software estadístico Minitab[®], 2019.

V. Resultados y discusión

5.1.1 Determinación de proteínas de las fracciones peptídicas de las semillas de yaca por el protocolo de Lowry

De cada uno de siete lotes se obtuvieron tres fracciones peptídicas a las cuales se les realizó el método de Lowry, posteriormente se realizaron tres lecturas espectrofotométricas, de los valores obtenidos se obtuvo un promedio resultante y de esos tres promedios se calculó un nuevo promedio resultante.

Con las concentraciones obtenidas se calcularon los g de proteína y el grado de hidrólisis con las fórmulas mencionadas anteriormente en la metodología.

Tabla 15. Contenido proteico de las fracciones peptídicas

Fracción	Concentración [mg/L]	g Proteína	G. Hidrólisis
>10 KDa	3899.72 ± 20.60	1.17 ± 0.01 ^a	39.00 ± 0.21 ^a
<10>5 KDa	2814.75 ± 2.73	0.84 ± 0.00 ^b	28.15 ± 0.03 ^b
<5 KDa	2391.62 ± 46.32	0.72 ± 0.01 ^c	23.92 ± 0.46 ^c

Los valores representan la media ± desviación estándar

Las letras diferentes indican que existe una diferencia significativa entre tratamientos a un $\alpha=0.05$, las medidas que no comparten una letra son significativamente diferentes. El factor concentración de las fracciones peptídicas es $a>b>c$.

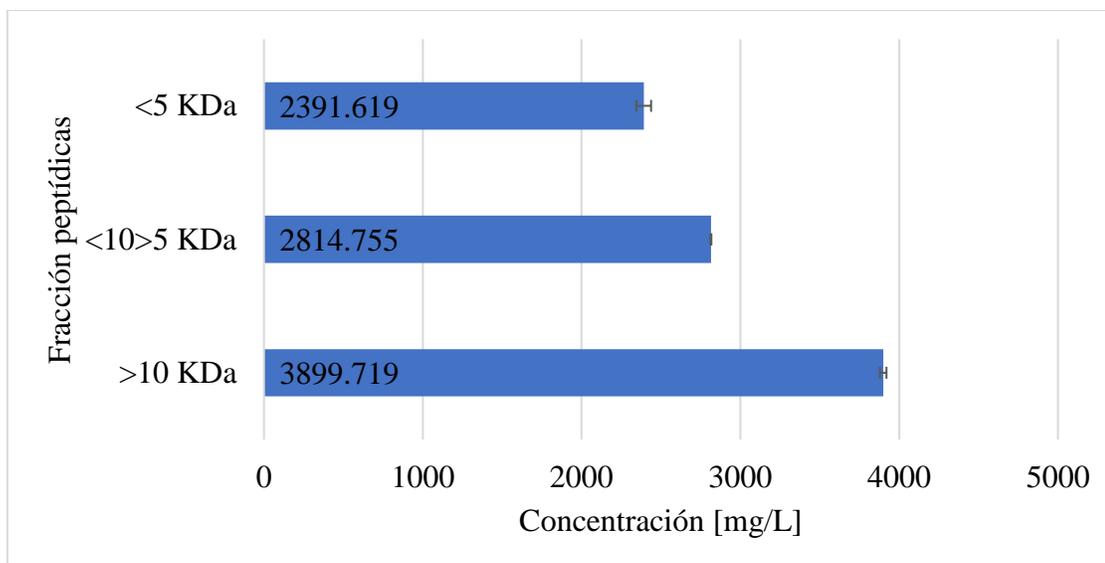


Figura 28. Contenido proteico de las fracciones peptídicas

5.1.2 Determinación de la actividad antioxidante de las fracciones peptídicas de las semillas de yaca por el método de DPPH

De cada uno de siete lotes se obtuvieron tres fracciones peptídicas a las cuales se les realizó el método de DPPH, posteriormente se realizaron tres lecturas espectrofotométricas, con los valores obtenidos se obtuvo un promedio resultante y de esos tres promedios se calculó un nuevo promedio resultante.

Tabla 16. Concentración equivalente a ac. ascórbico y a trolox de las fracciones peptídicas

Fracción	Ac. ascórbico	Trolox
	Concentración [mmol/L]	Concentración [mmol/L]
>10 KDa	355.31 ± 22.20 ^a	224.13 ± 15.84 ^a
<10>5 KDa	273.38 ± 44.90 ^{a-b}	192.02 ± 46.34 ^a
<5 KDa	242.22 ± 36.75 ^b	150.22 ± 43.67 ^a

Los valores representan la media ± desviación estándar

Las letras diferentes indican que existe una diferencia significativa entre tratamientos a un $\alpha=0.05$, las medidas que no comparten una letra son significativamente diferentes. El factor concentración equivalente a ac. ascórbico de la fracción peptídica <10>5 KDa no tiene diferencia significativa con las otras dos fracciones, sin embargo, entre las fracciones >10 KDa y <5 KDa sí presentan diferencias significativas. El factor concentración equivalente a trolox muestra que ninguna de las fracciones peptídicas no tiene diferencia entre ellas.

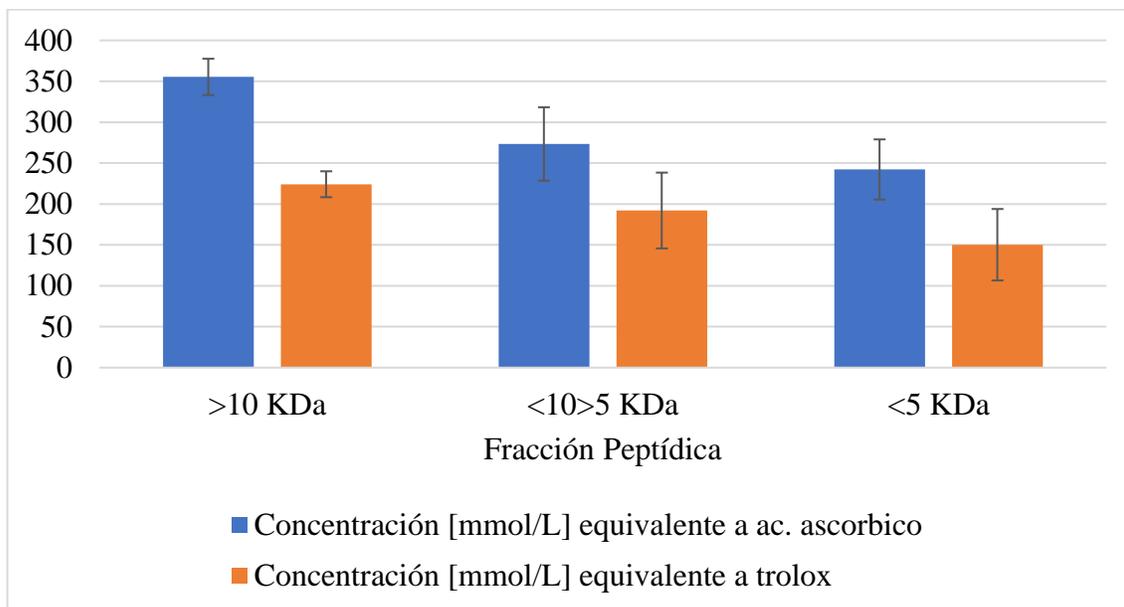


Figura 29. Concentración equivalente a ac. ascórbico y a trolox de las fracciones peptídicas

Tabla 17. Actividad antioxidante de las fracciones peptídicas por g de proteína

	Ac. ascórbico	Trolox
Fracción	Actividad antioxidante por g	Actividad antioxidante por g
>10 KDa	303.65 ± 17.48	191.54 ± 12.57
<10>5 KDa	323.75 ± 53.20	227.44 ± 55.09
<5 KDa	337.68 ± 51.30	210.03 ± 63.62

Los valores representan la media ± desviación estándar

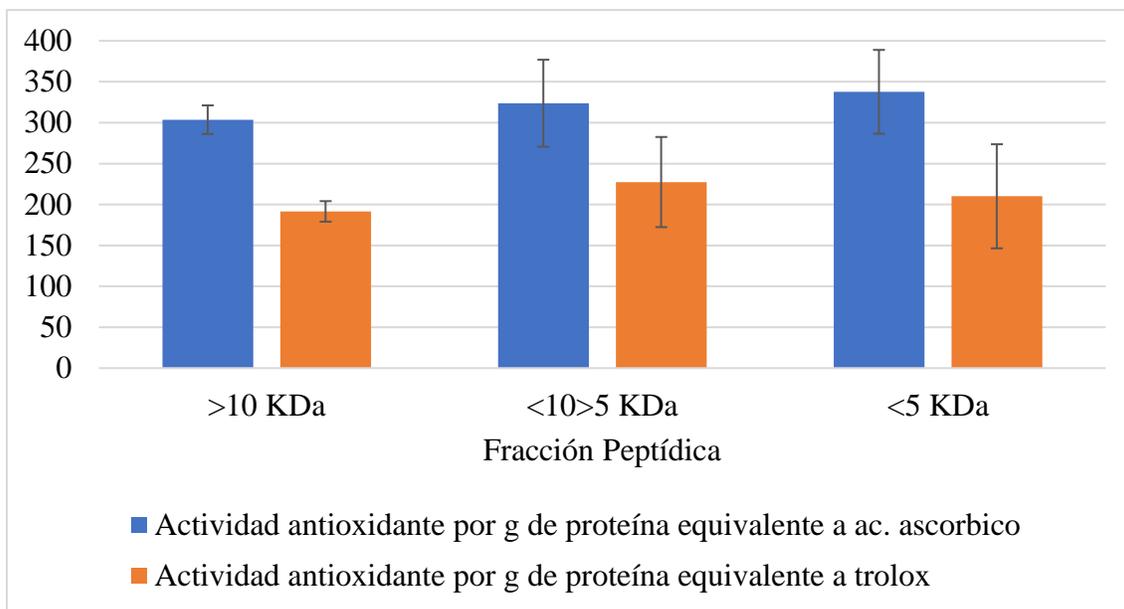


Figura 30. Actividad antioxidante de las fracciones peptídicas por g de proteína

La fracción peptídica <10>5 KDa fue la elegida como principio activo para el emulgel.

Como podemos observar en la tabla 3 la fracción >10 KDa presenta mayor concentración equivalente al ácido ascórbico y a Trolox en comparación con las otras dos, pero como también podemos observar en la tabla 4 al calcular la actividad antioxidante por gramo de proteína, la fracción >10 KDa se ve desfavorecida en comparación a las otras dos fracciones. Mientras tanto, las fracciones <10>5 KDa y <5 KDa no presentan diferencias significativas.

La fracción <5 KDa presenta más actividad antioxidante por gramo de proteína equivalente al ácido ascórbico mientras que la fracción <10>5 KDa presenta una mayor capacidad antioxidante por gramo de proteína equivalente a Trolox.

Se eligió la fracción <10>5 KDa debido a que presenta la ventaja de estar más concentrada que la fracción <5 KDa, además que ambas fracciones presentan prácticamente la misma capacidad antioxidante.

5.1.3 Control de calidad

A los emulgeles se les determinaron propiedades organolépticas, fisicoquímicas y de estabilidad, se resumen en la tabla 18

Tabla 18. Evaluaciones organolépticas, fisicoquímicas y de estabilidad.

Propiedades	Emulgel peptídico	Emulgel base
Color	Blanco	Blanco
Brillo	Nacarado	Nacarado
Olor	Característico	Neutro
Textura	Fluida	Fluida
Consistencia	Semisolida	Semisolida
Extensibilidad	Buena extensibilidad	Buena extensibilidad
Evanescencia	Buena evanescencia	Buena evanescencia
Pegajosidad	Poco pegajoso	Poco pegajoso
pH	7.23 ± 0.015	7.30 ± 0.026
Viscosidad	15,134.67 ± 22.03 cP	15,171.67 ± 55.30 cP
Gravedad específica	0.97 ± 0.001	0.99 ± 0.001
Prueba centrifuga	No presentó separación de fases 	No presentó separación de fases 
Estabilidad acelerada	No presentó separación de fases	No presentó separación de fases
Estabilidad a largo plazo	No presentó separación de fases	No presentó separación de fases

Los valores representan la media ± desviación estándar

i. Organolépticas

Las evaluaciones organolépticas realizadas permitieron evaluar de manera sensorial el estado del producto, dando como resultado una percepción del agrado del consumidor.

a) Apariencia

Visual y olfativamente, se observaron las características organolépticas de las muestras del emulgel peptídico y el emulgel base, resultando diferencias macroscópicas entre las diferentes formulaciones.

Tanto el emulgel peptídico como el emulgel base presentaron una apariencia de color blanco uniforme y nacarado, sin partículas visibles y de consistencia semisólida; sin embargo, el emulgel base presentó un aroma neutro mientras que el emulgel peptídico presentó un aroma característico no desagradable.

Tabla 19. Características de apariencia de los emulgeles

Propiedades	Emulgel peptídico	Emulgel base
Color	Blanco	Blanco
Brillo	Nacarado	Nacarado
Olor	Característico	Neutro

b) Prueba de uso

Táctilmente, entrando en contacto con el producto, se determinaron las características organolépticas de las muestras del emulgel peptídico y el emulgel base, resultando diferencias macroscópicas entre las diferentes formulaciones.

Ambos emulgeles se extendieron y evanecieron fácilmente sobre la piel sin dejar una textura arenosa, dejando una sensación refrescante y una leve percepción de una piel más suave, sin embargo, el emulgel base dejó una ligera sensación grasa en comparación al emulgel peptídico.

Tabla 20. Características de prueba de uso de los emulgeles

Propiedades	Emulgel peptídico	Emulgel base
Textura	Fluida	Fluida
Consistencia	Semisólida	Semisólida
Extensibilidad	Buena extensibilidad	Buena extensibilidad
Evanescencia	Buena evanescencia	Buena evanescencia
Pegajosidad	Poco pegajoso	Poco pegajoso

ii. Físicoquímicas

Las evaluaciones físicoquímicas son operaciones que determinan y evalúan características imperceptibles a simple vista mediante procedimientos específicos; estas evaluaciones nos permiten evaluar la calidad del producto de manera cuantitativa además de detectar futuros problemas que pueden afectar la estabilidad y la calidad de su producto.

a) pH

El pH del producto se determinó mediante un potenciómetro el cual midió la actividad de iones hidrógeno mediante la diferencia de potencial entre dos electrodos.

El emulgel peptídico obtuvo un pH promedio de 7.23 ± 0.015 , mientras que el emulgel base obtuvo un pH promedio de 7.30 ± 0.026 , ambos emulgeles tienden a la neutralidad y si bien el pH de la piel oscila entre 5.2-5.5, un pH neutro resulta adecuado ya que la piel sana tiene la capacidad de amortiguar cambios de pH conferidos por algunos productos que son puestos en contacto con la superficie de la piel (Fluhr y Darlenski, 2009).

Tabla 21. pH promedio obtenido en los emulgel peptídicos y emulgel base

No. Muestra	Emulgel peptídico	Emulgel base
pH Promedio	7.23 ± 0.015	7.30 ± 0.026

Los valores representan la media ± desviación estándar

b) Gravedad específica

La gravedad específica del producto se determinó mediante la relación entre la masa de una sustancia y el volumen que ocupa.

El emulgel peptídico obtuvo una G.E. promedio de 0.99 ± 0.001 g, mientras que el emulgel base obtuvo una G.E. promedio de 0.97 ± 0.001 g, ambas gravedades específicas están muy cercanas a 1 g, lo que nos indica que ambas formulaciones presentan un comportamiento similar a los líquidos (agua), esto debido a que es una formulación en donde la fase continua es el agua y la fase discontinua son aceites (ANVISA, 2008).

Tabla 22. G.E. promedio de los emulgeles peptídicos y base

No. Muestra	Emulgel peptídico	Emulgel base
G.E. Promedio	0.97 ± 0.001	0.99 ± 0.001

Los valores representan la media ± desviación estándar

c) Viscosidad

La viscosidad del producto se determinó mediante un viscosímetro el cual midió la resistencia a fluir.

El emulgel peptídico obtuvo una viscosidad promedio de $15,134.67 \pm 22.03$ cP mientras que el emulgel base obtuvo una viscosidad promedio de $15,171.67 \pm 55.30$ cP lo que nos indica que ambas formulaciones presentan una viscosidad alta, es decir presentan resistencia a fluir (ANVISA, 2005, 2008).

Tabla 23. Viscosidad promedio de los emulgeles peptídicos y emulgeles base

No. Muestra	Emulgel peptídico	Emulgel base
Viscosidad Promedio	15,134.67 ± 22.03 cP	15,171.67 ± 55.30 cP

Los valores representan la media ± desviación estándar

iii. Estabilidad

Las evaluaciones de estabilidad realizadas permitieron evaluar la capacidad del producto para mantener las especificaciones de calidad organolépticas y fisicoquímicas, dando como resultado un producto estable.

a) Prueba centrífuga

La prueba centrífuga se determinó mediante la producción de estrés al producto mediante una centrífuga que simuló un aumento en la fuerza de gravedad, incrementando así la movilidad de las partículas en el interior del tubo de ensaye. Terminada la centrifugación se evaluó visualmente si hubo separación de fases.

Ninguna de las muestras de los emulgeles presentó una separación de fases al someterse a la prueba de estabilidad centrífuga (se centrifugó a una velocidad de 4500 rpm por 5 minutos), esto nos permite conocer de manera presuntiva la estabilidad del emulgel, por lo que se puede decir que el emulgel obtenido posee una buena estabilidad (ANVISA, 2005; Programa Safe+ y Invima, 2018).

Tabla 24. Estabilidad centrífuga de los emulgeles peptídico y base

No. Muestra	Emulgel peptídico	Emulgel base
1	No presentó separación de fases	No presentó separación de fases
2	No presentó separación de fases	No presentó separación de fases
3	No presentó separación de fases	No presentó separación de fases

b) Estabilidad acelerada

La prueba de estabilidad acelerada se realizó de acuerdo con la NOM-073-SSA1-2015 “Estabilidad de fármacos y medicamentos, así como de remedios herbolarios”.

Ninguna de las muestras de los emulgeles presentó una separación de fases al someterse a la prueba de estabilidad acelerada (incubación de las muestras en una cámara de estabilidad ambiental calibrada a $40\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C} / 75\% \pm 5\% \text{ HR}$), la prueba tuvo una duración de 3 meses.

Tabla 25. Estabilidad acelerada de los emulgeles peptídicos y base

No. Muestra	Emulgel peptídico	Emulgel base
1	No presentó separación de fases	No presentó separación de fases
2	No presentó separación de fases	No presentó separación de fases
3	No presentó separación de fases	No presentó separación de fases

c) Estabilidad a largo plazo

Ninguna de las muestras de los emulgeles presentó una separación de fases al someterse a la prueba de estabilidad acelerada (incubación de las muestras en una cámara de estabilidad ambiental calibrada a $23.5\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2.12\text{ }^{\circ}\text{C} / 59\% \pm 26.87\% \text{ HR}$), la prueba tuvo una duración de 6 meses.

Tabla 26. Estabilidad a largo plazo de los emulgeles peptídicos y base

No. Muestra	Emulgel peptídico	Emulgel base
1	No presentó separación de fases	No presentó separación de fases
2	No presentó separación de fases	No presentó separación de fases
3	No presentó separación de fases	No presentó separación de fases

5.1.4 Diseño del estudio piloto para evaluar los beneficios del emulgel peptídico de semillas de yaca con capacidad antioxidante.

El estudio piloto evaluó el emulgel peptídico de semillas de yaca mediante un estudio simple ciego, este se llevó a cabo en 30 panelistas a los cuales se les entregaron dos tarros, un tarro con emulgel peptídico, el cual aplicaron en el lado derecho de su rostro, y otro con emulgel control el cual aplicaron en el lado izquierdo.

Los panelistas (hombres y mujeres) tenían edades entre 19 y 55 años (edad promedio de 29.33 ± 9.9), el estudio abarcó a un público adulto, de joven a maduro, con objetivo de tener diferentes tipos de piel, gracias a esto, se visualizaron diferentes acciones de la fracción peptídica utilizada sobre las distintas epidermis.

Los panelistas reportaron los cambios que lograron visualizar en su epidermis, los cuales fueron en su mayoría beneficiosos, los resultados reportados por la mayoría fueron: piel más luminosa, líneas de expresión ligeramente atenuadas, así como una disminución notable de marcas solares y marcas post acné.

Debido a la ausencia de equipo, la determinación de la bioactividad de la fracción peptídica $<10>5$ KDa se realizó mediante una comparación de 15 fotografías recopiladas por panelista, la determinación fue medianamente subjetiva, pero aun así permitió contar con evidencia visual de las bioactividades que ofrecieron los péptidos en el rostro. Los panelistas fueron enumerados de menor a mayor edad. En las tablas, de la 27 a la 56 se observa la evolución de la piel de los panelistas.

Fueron 27 panelistas los que cumplieron con el plazo estipulados para la prueba (28 días). De los cuales nueve (panelista 1, 2, 5, 6, 7, 12, 13, 14 y 18) presentaron una disminución y/o

desaparición de marcas post acné en el lado del rostro en el cual se aplicó el emulgel peptídico; tres (panelista 5, 9 y 15) presentaron una actividad antiinflamatoria evidente en el lado del rostro en el cual se aplicó el emulgel peptídico; tres (panelista 7, 9 y 21) presentaron líneas de expresión ligeramente atenuadas en el lado del rostro en el cual se aplicó el emulgel peptídico; doce (panelista 3, 4, 10, 11, 16, 17, 19, 22, 24, 25, 26, y 27) presentaron mayor luminosidad en el lado del rostro en el cual se aplicó el emulgel peptídico; tres (panelista 28, 29 y 30) presentaron una disminución de melasma en el lado del rostro en el cual se aplicó el emulgel peptídico, cabe aclarar que sólo tres de los panelistas presentaban melasma mismos tres que presentaron esta bioactividad.

Fueron 3 panelistas los que no cumplieron con el plazo estipulados para la prueba. De los cuales uno (panelista 20) presentó irritación en la piel, en el lado del rostro en el cual se aplicó el emulgel peptídico, por lo cual se le pidió que suspendiera la aplicación de inmediato; dos (panelista 8 y 23) presentaron algunos puntos blancos en la piel, en ambos lados del rostro, por lo que suspendieron el estudio piloto al día 14, esta reacción posiblemente debida a sensibilidad de la piel a los ingredientes comedogénicos presentes a la formulación, sin embargo, la panelista 8 comentó que notó una disminución de pigmento en marcas de acné.

Gracias a los resultados obtenidos, podemos decir que la fracción peptídica $<10>5$ KDa presenta péptidos bioactivos multifuncionales ya que la aplicación de estos exhibió actividades antioxidantes, antiinflamatorias, antienvjecimiento y anti-manchas.

Uno de los resultados obtenidos más sorprendentes de esta experimentación, fue la actividad anti-manchas que presentan los péptidos bioactivos de la fracción, ya que la hiperpigmentación siempre ha sido uno de los mayores obstáculos a combatir y un tema de estudio a profundizar por los interesados (Ando, 2017; Song et al., 2022).

Tabla 27. Evolución de la epidermis del panelista 1 a lo largo del estudio piloto

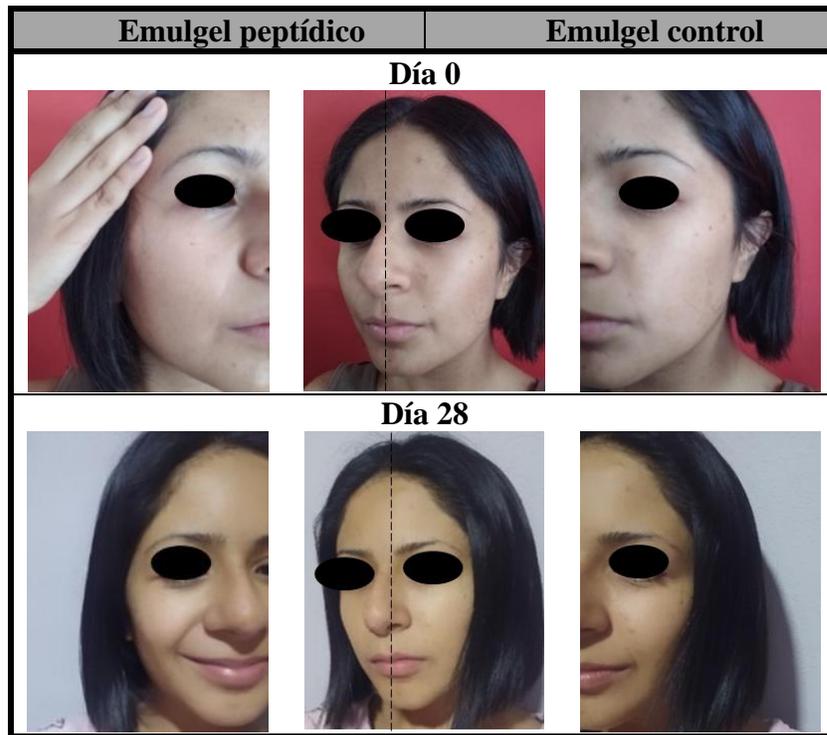


Tabla 28. Evolución de la epidermis del panelista 2 a lo largo del estudio piloto

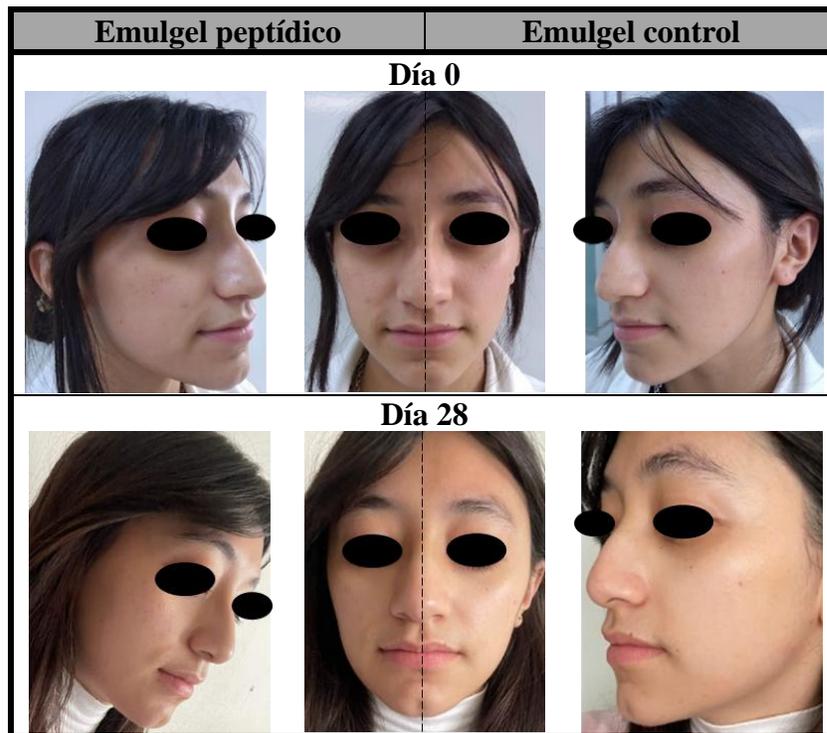


Tabla 29. Evolución de la epidermis del panelista 3 a lo largo del estudio piloto

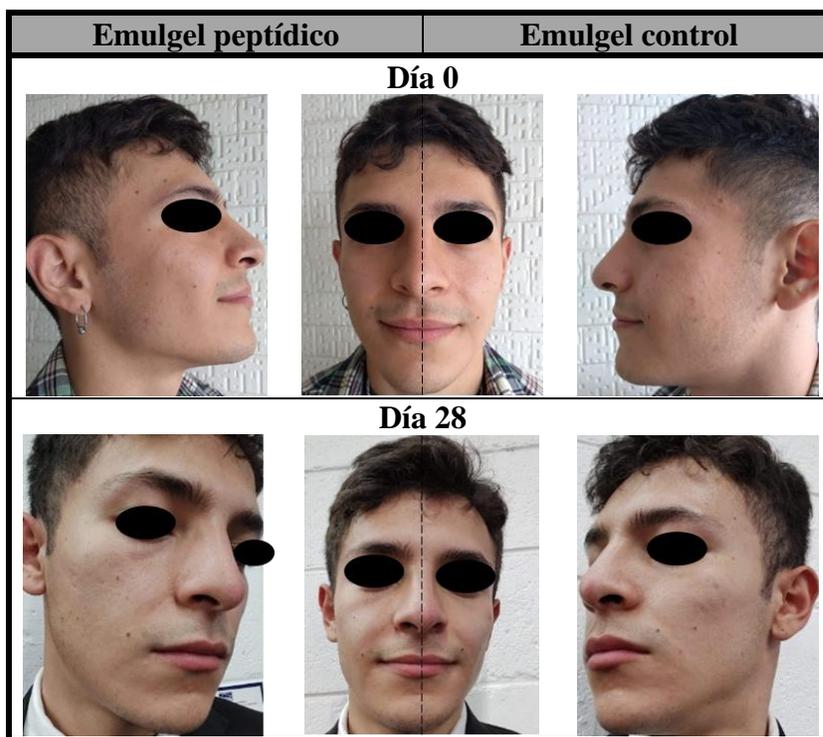


Tabla 30. Evolución de la epidermis del panelista 4 a lo largo del estudio piloto

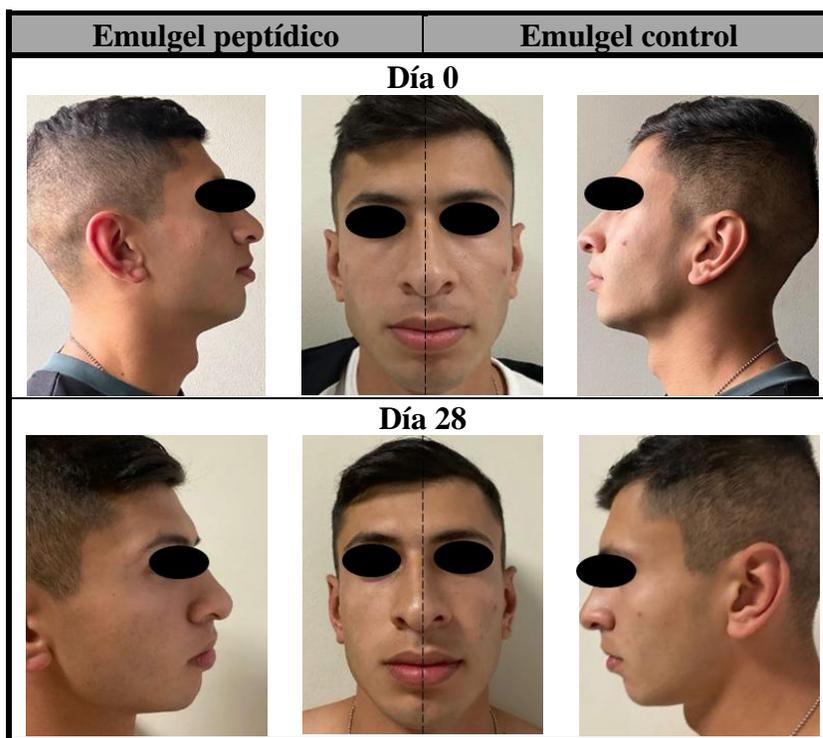


Tabla 31. Evolución de la epidermis del panelista 5 a lo largo del estudio piloto

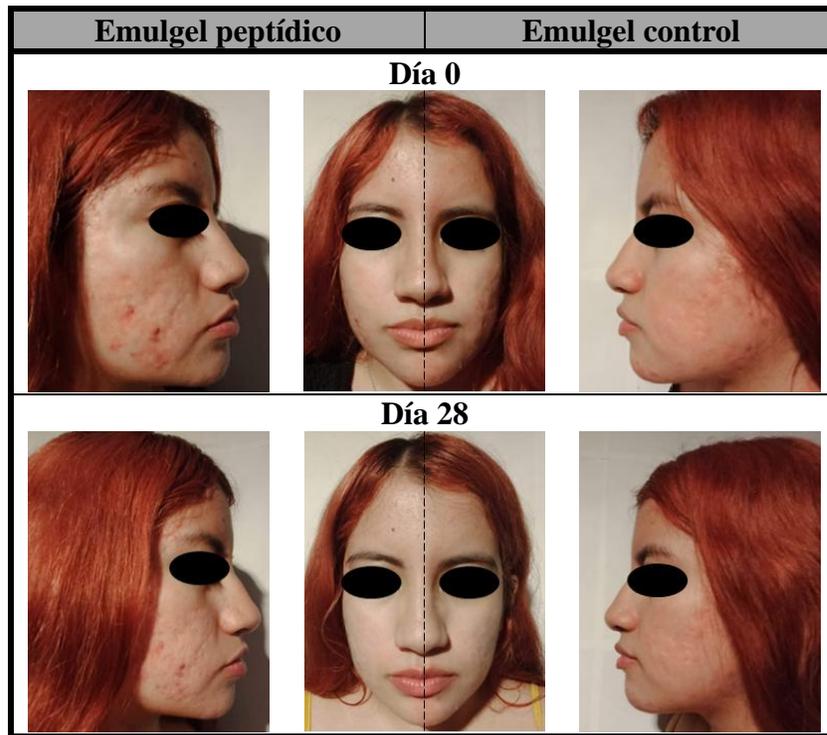


Tabla 32. Evolución de la epidermis del panelista 6 a lo largo del estudio piloto

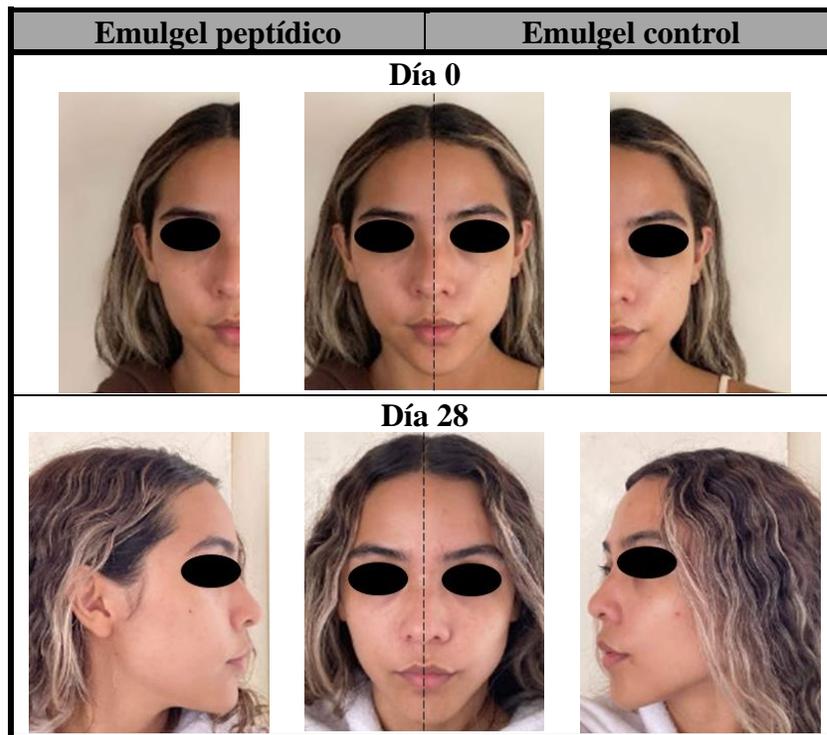


Tabla 33. Evolución de la epidermis del panelista 7 a lo largo del estudio piloto

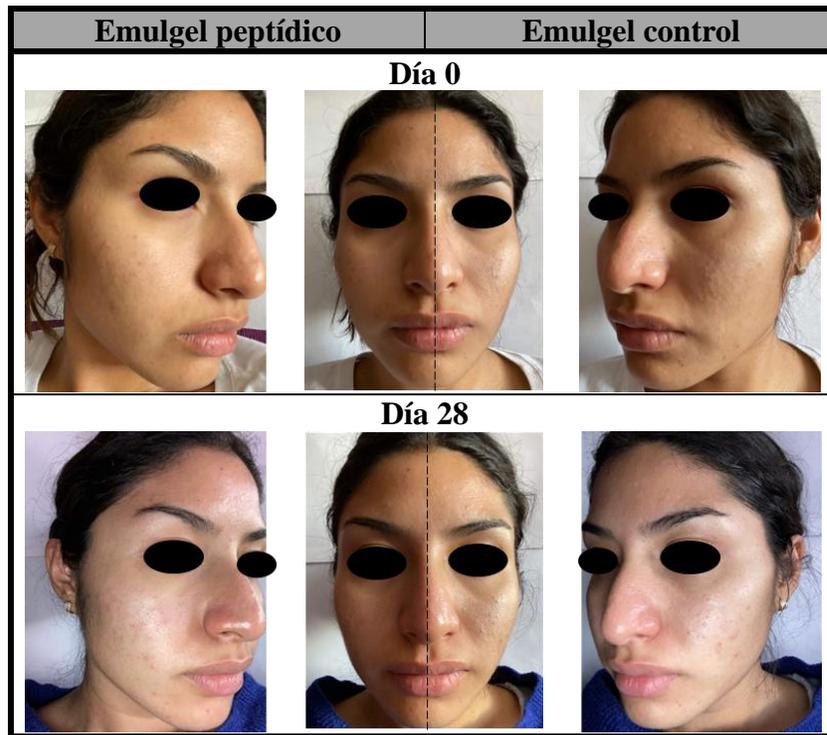


Tabla 34. Evolución de la epidermis del panelista 8 a lo largo del estudio piloto

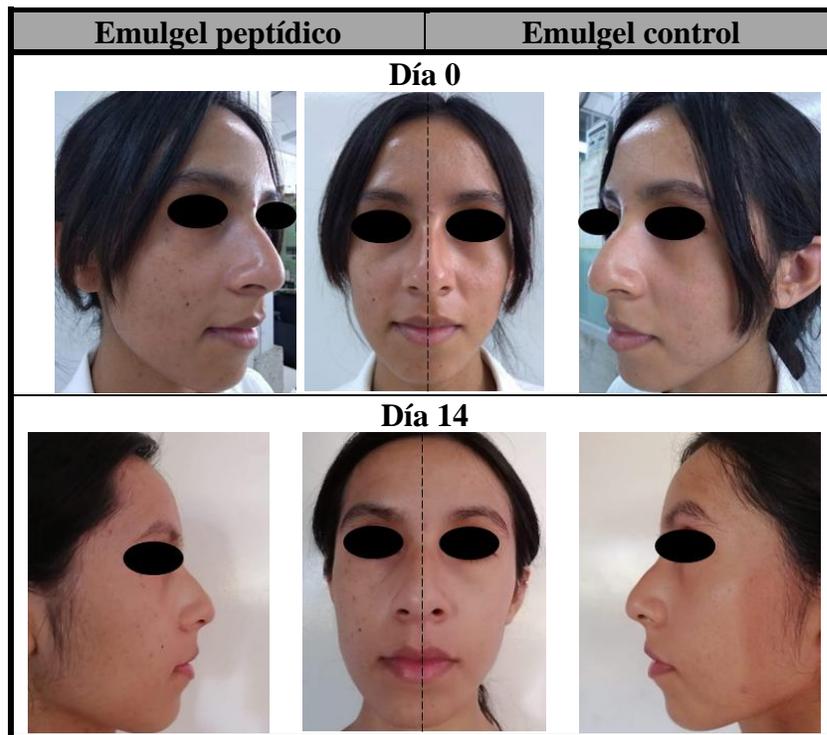


Tabla 35. Evolución de la epidermis del panelista 9 a lo largo del estudio piloto



Tabla 36. Evolución de la epidermis del panelista 10 a lo largo del estudio piloto

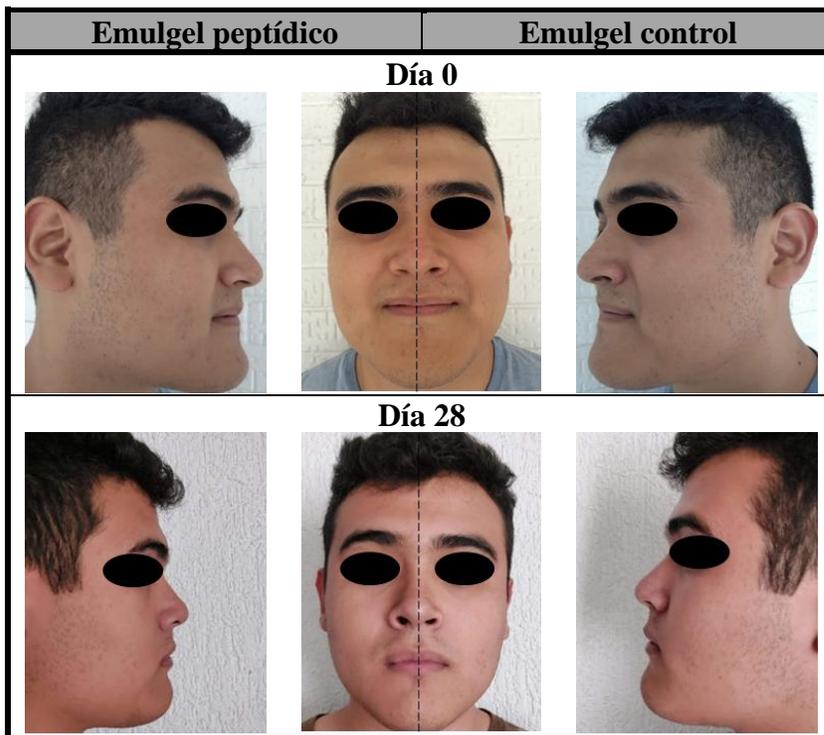


Tabla 37. Evolución de la epidermis del panelista 11 a lo largo del estudio piloto

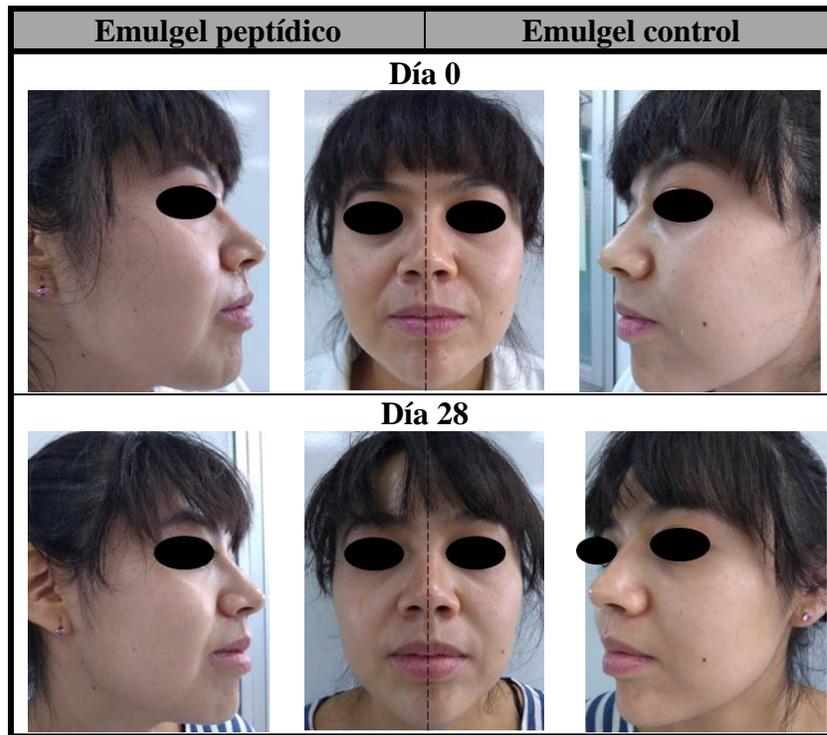


Tabla 38. Evolución de la epidermis del panelista 12 a lo largo del estudio piloto

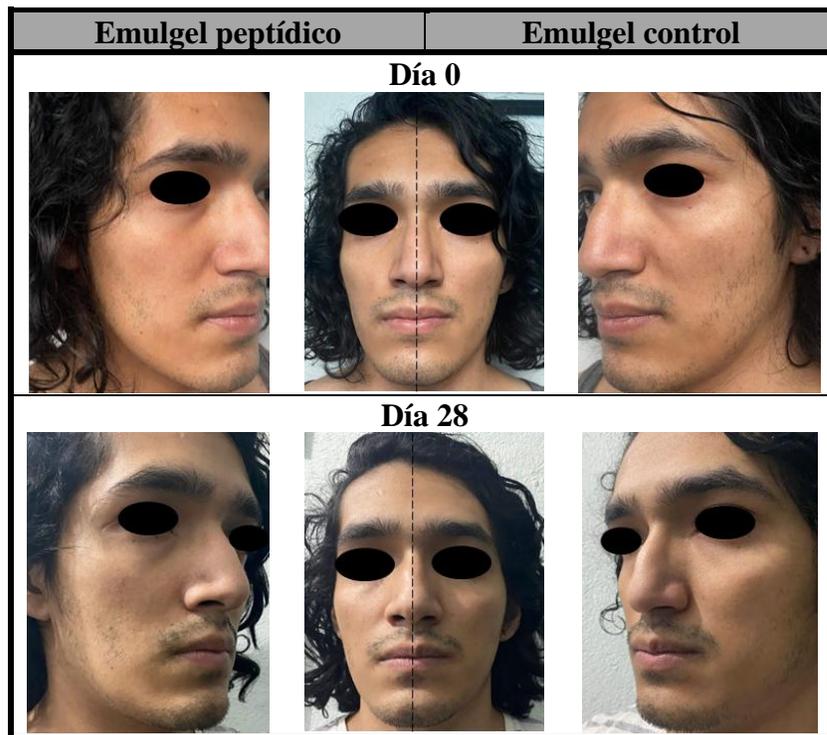


Tabla 39. Evolución de la epidermis del panelista 13 a lo largo del estudio piloto

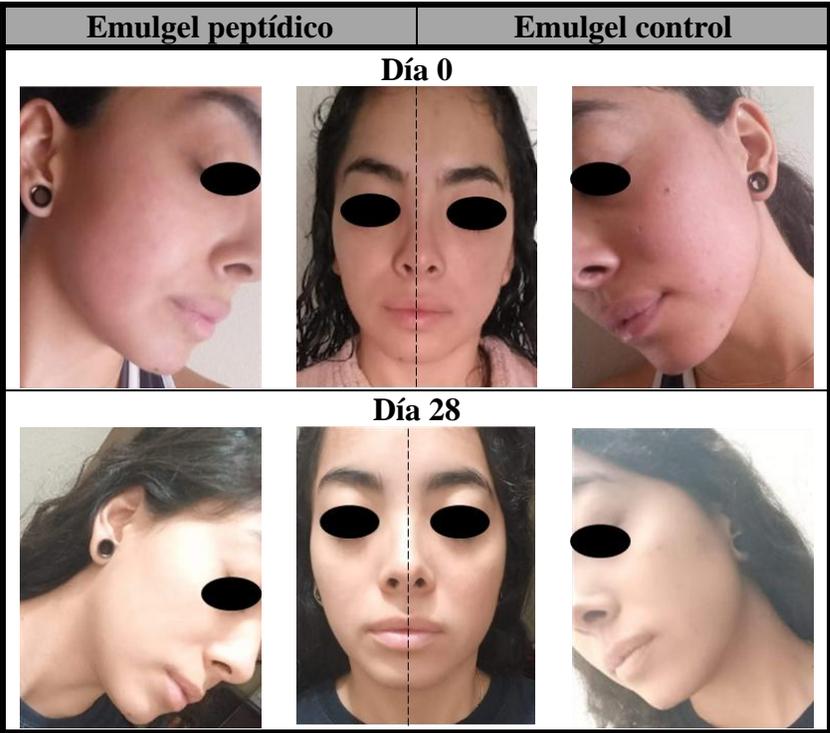


Tabla 40. Evolución de la epidermis del panelista 14 a lo largo del estudio piloto

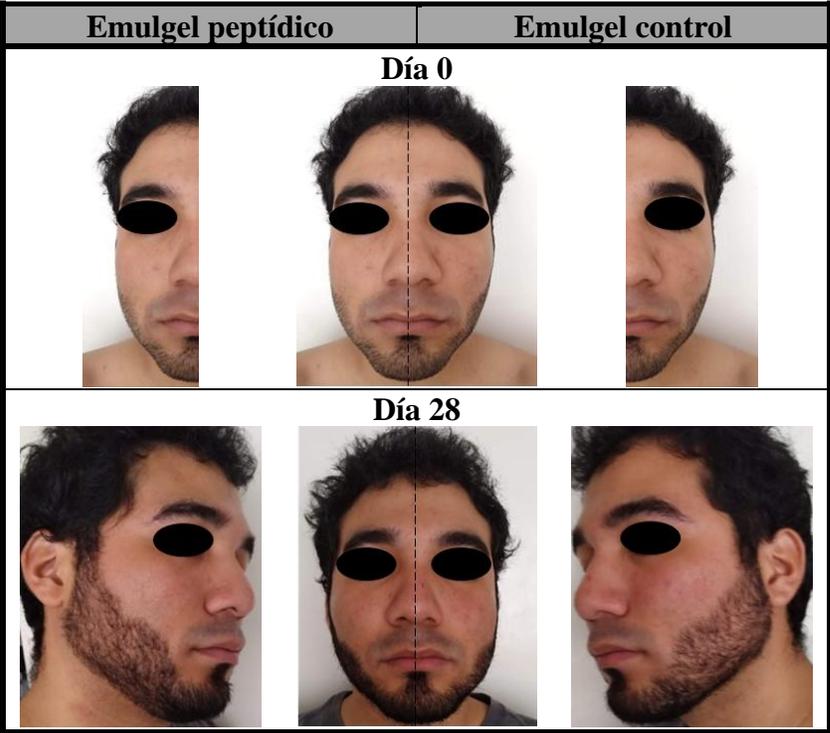


Tabla 41. Evolución de la epidermis del panelista 15 a lo largo del estudio piloto

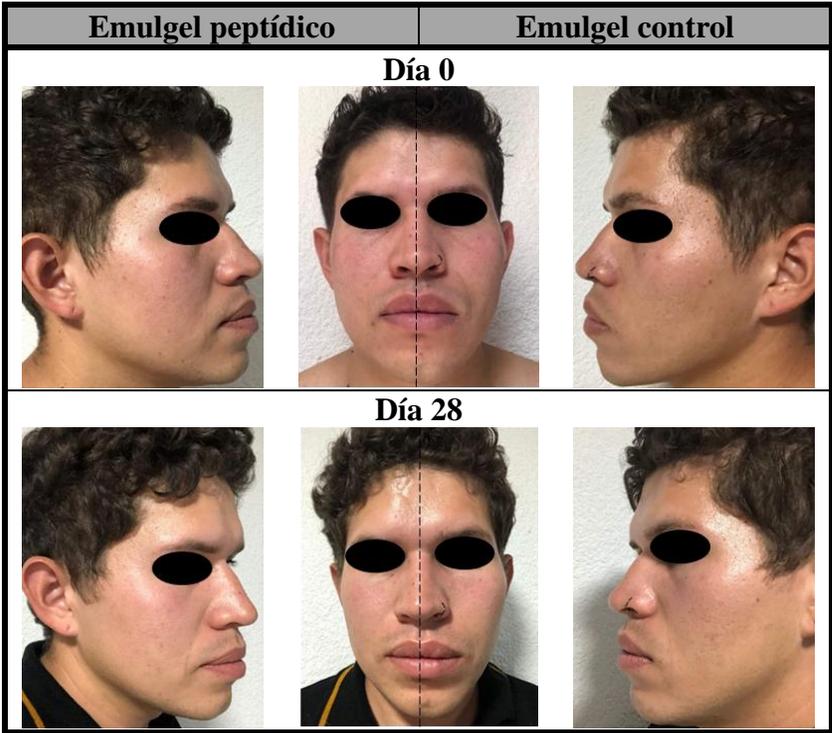


Tabla 42. Evolución de la epidermis del panelista 16 a lo largo del estudio piloto

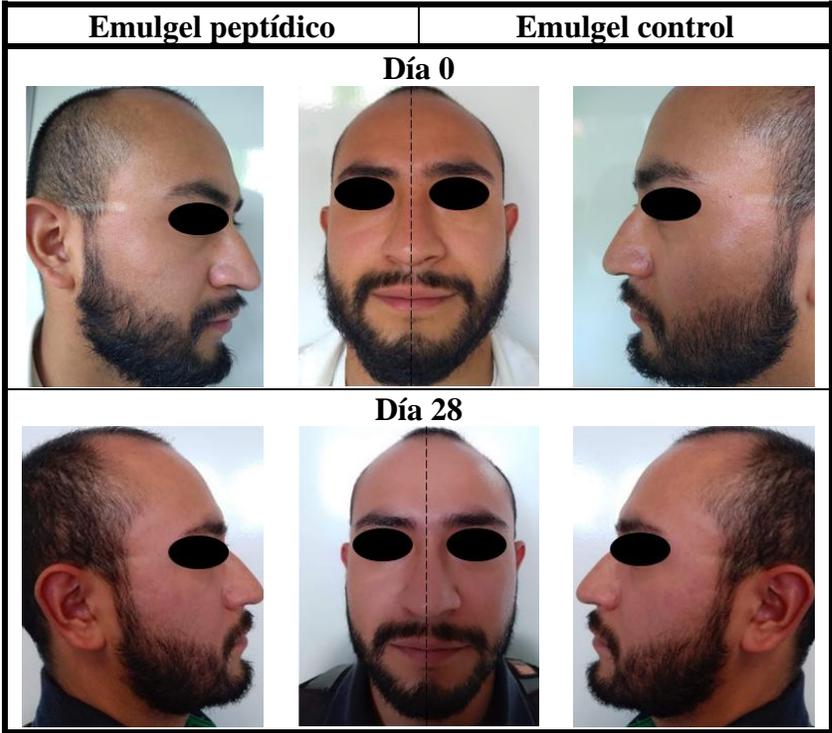


Tabla 43. Evolución de la epidermis del panelista 17 a lo largo del estudio piloto

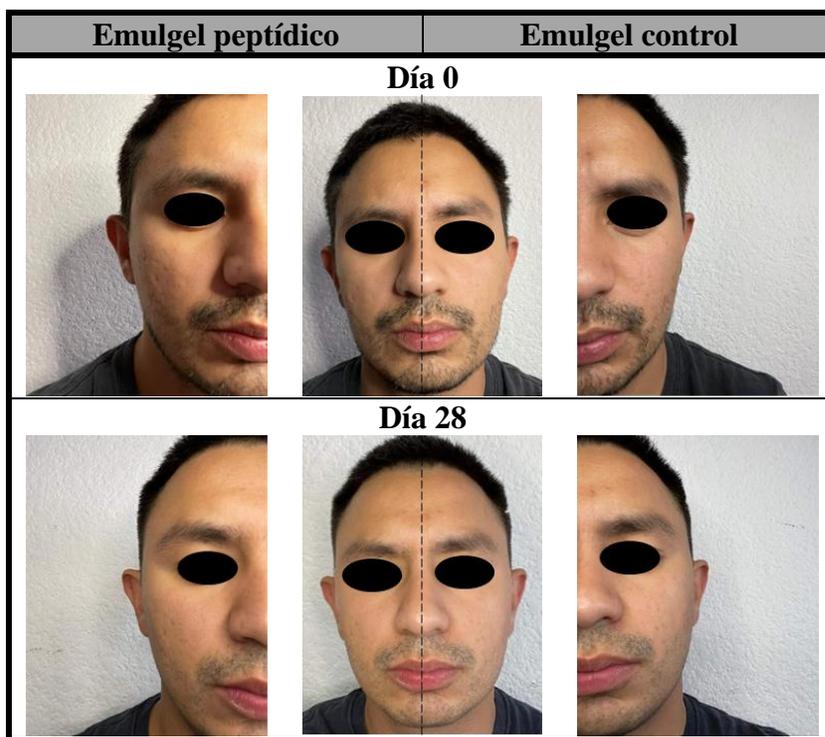


Tabla 44. Evolución de la epidermis del panelista 18 a lo largo del estudio piloto

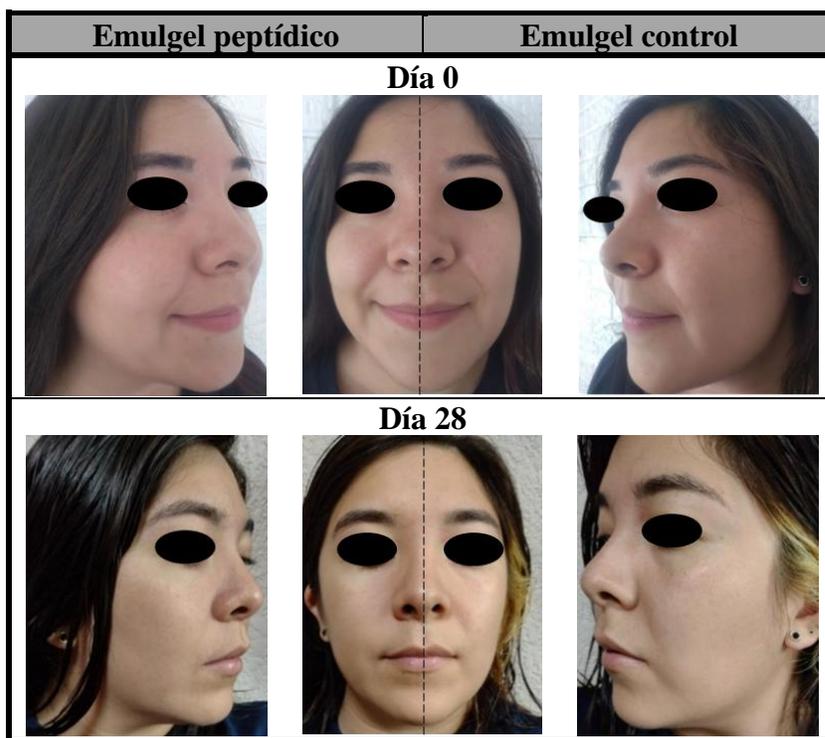


Tabla 45. Evolución de la epidermis del panelista 19 a lo largo del estudio piloto

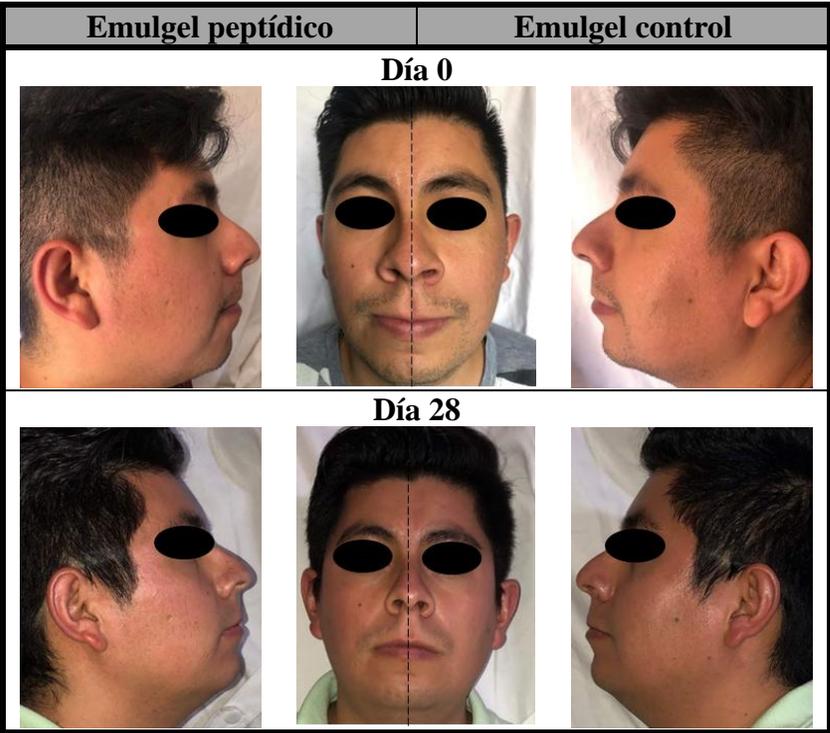


Tabla 46. Evolución de la epidermis del panelista 20 a lo largo del estudio piloto

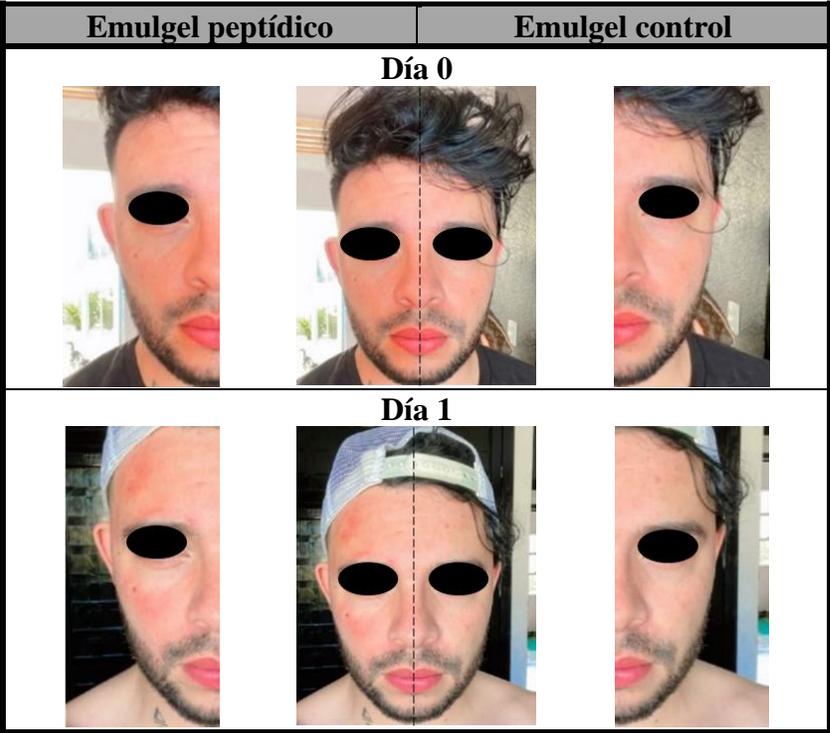


Tabla 47. Evolución de la epidermis del panelista 21 a lo largo del estudio piloto



Tabla 48. Evolución de la epidermis del panelista 22 a lo largo del estudio piloto



Tabla 49. Evolución de la epidermis del panelista 23 a lo largo del estudio piloto



Tabla 50. Evolución de la epidermis del panelista 24 a lo largo del estudio piloto

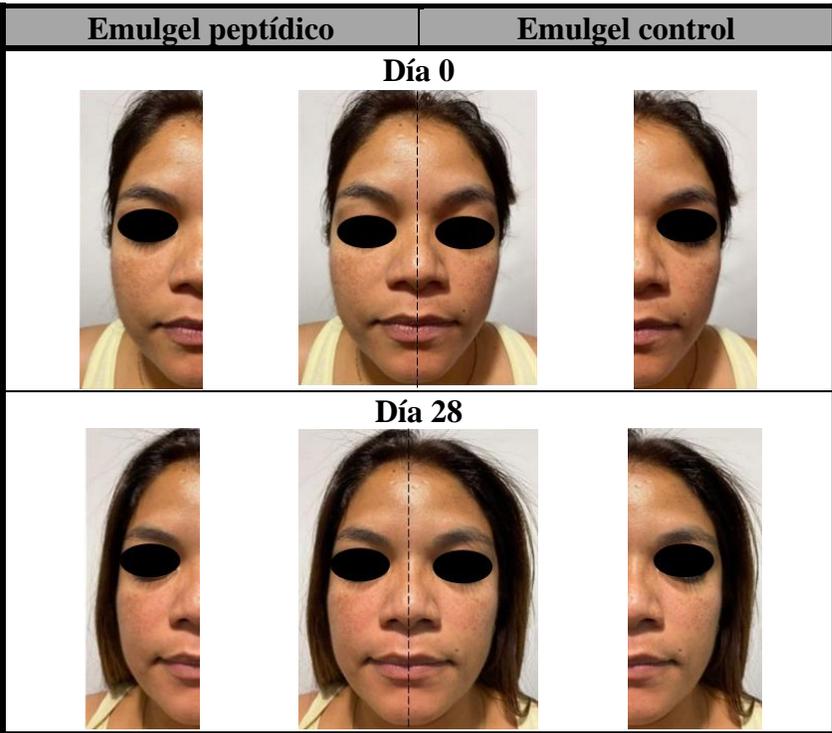


Tabla 51. Evolución de la epidermis del panelista 25 a lo largo del estudio piloto

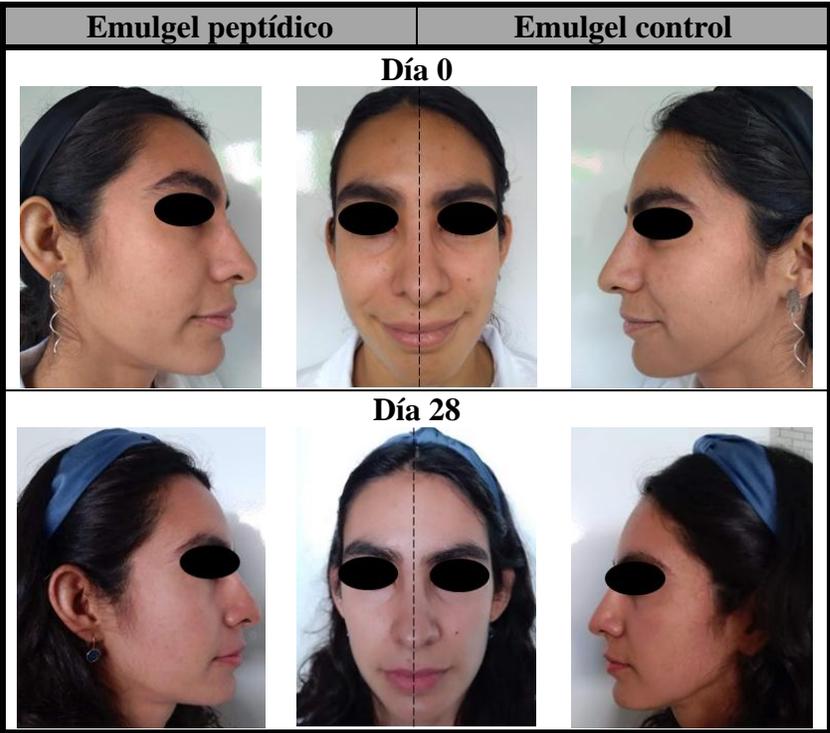


Tabla 52. Evolución de la epidermis del panelista 26 a lo largo del estudio piloto

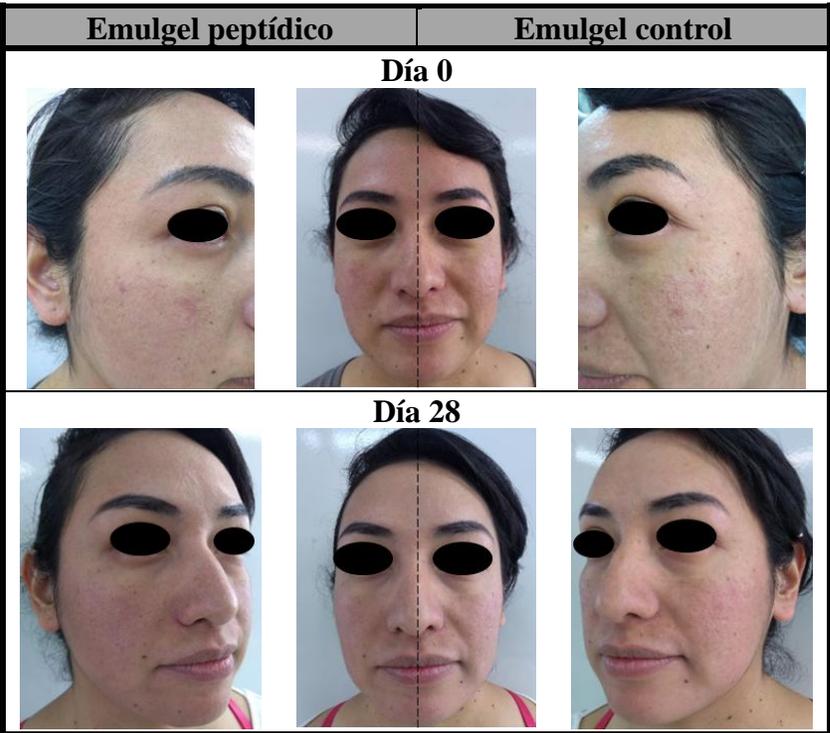


Tabla 53. Evolución de la epidermis del panelista 27 a lo largo del estudio piloto

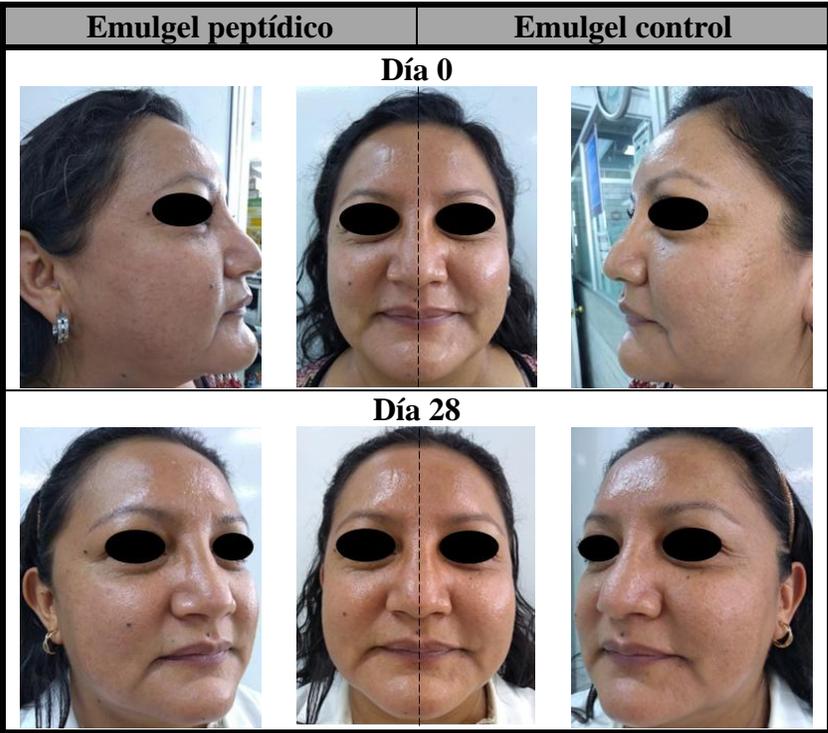


Tabla 54. Evolución de la epidermis del panelista 28 a lo largo del estudio piloto

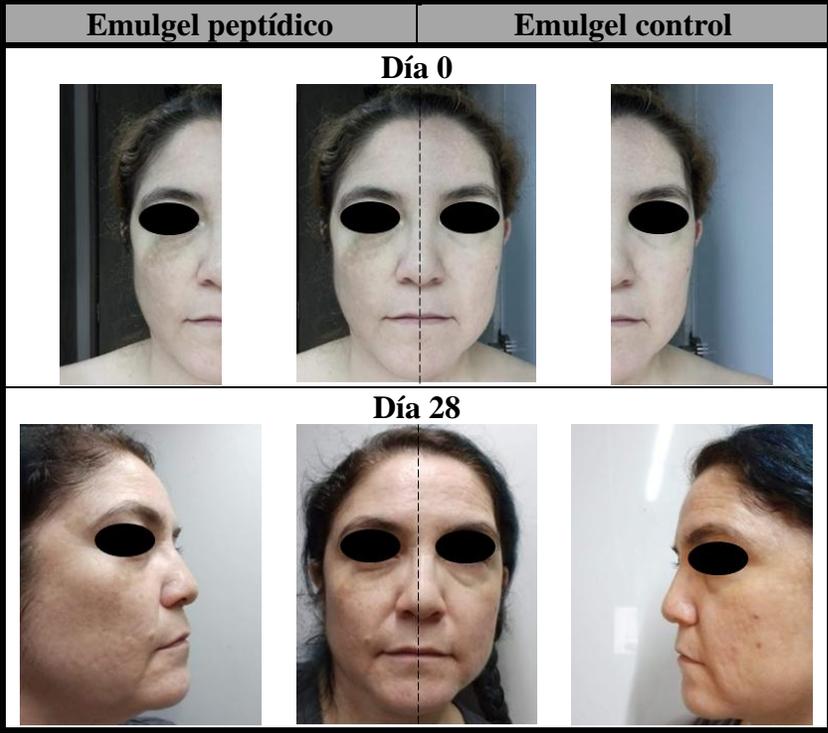


Tabla 55. Evolución de la epidermis del panelista 29 a lo largo del estudio piloto

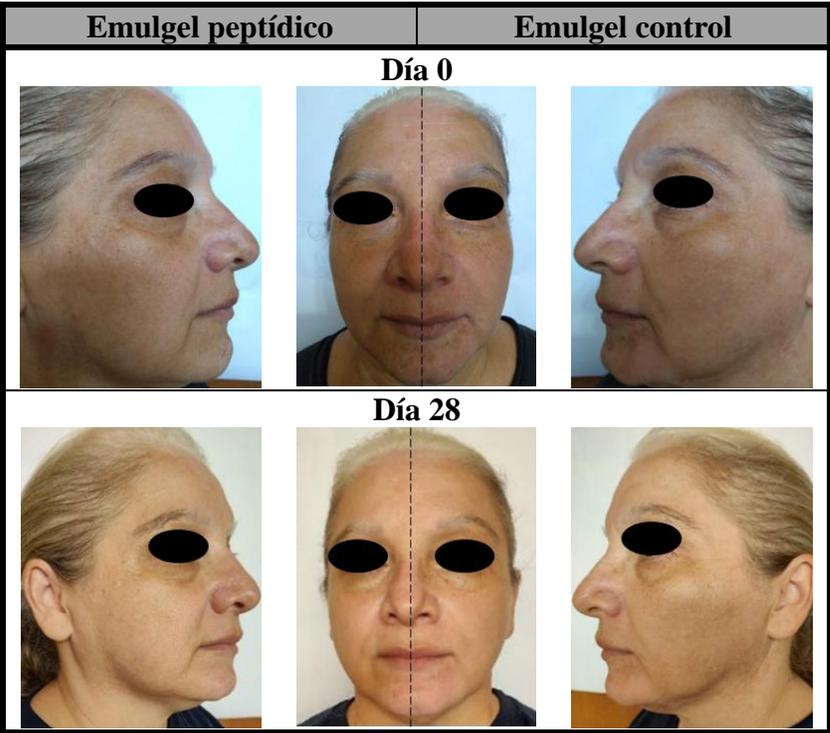
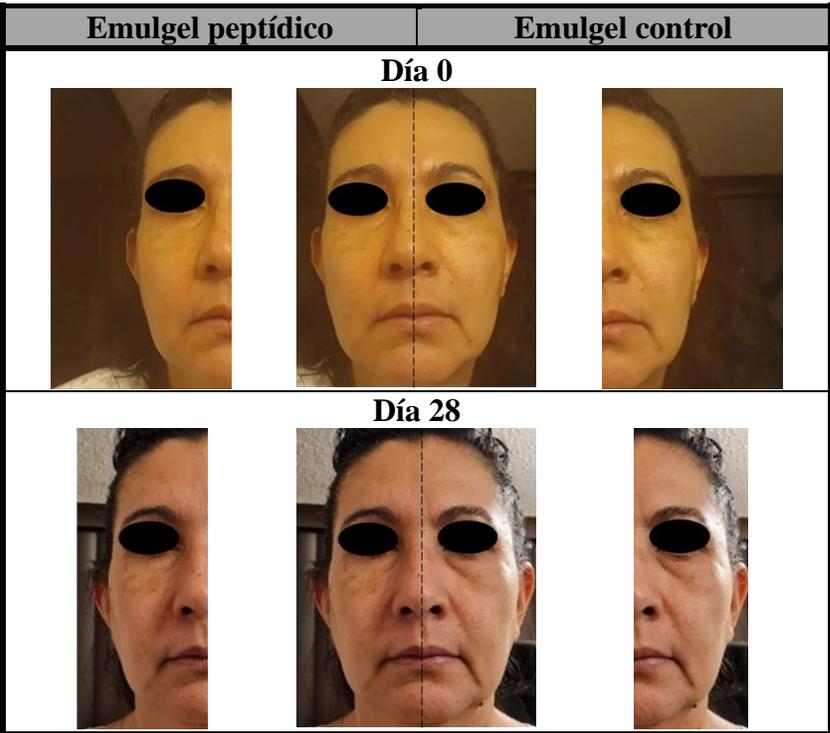


Tabla 56. Evolución de la epidermis del panelista 30 a lo largo del estudio piloto



Los resultados reportados por la mayoría de los panelistas fueron, piel más luminosa, líneas de expresión ligeramente atenuadas, así como una disminución notable de marcas solares y marcas post acné.

5.1.5 Análisis de los resultados de la evaluación de las pruebas sensoriales aplicadas a los panelistas

Se proporcionó a cada uno de los 30 panelistas un emulgel peptídico y un emulgel base, en envases iguales; los panelistas no podían distinguir que emulgel presentaba la fracción peptídica.

Los panelistas evaluaron las propiedades organolépticas de los productos y contestaron una encuesta en la cual se utilizaba una escala hedónica del 1 al 10, siendo el 10 el mejor resultado. En la tabla 57 se presentan las propiedades que se evaluaron en cuanto a apariencia, mientras que en la tabla 58 se presentan las propiedades que se evaluaron en la prueba de uso de las formulaciones del emulgel.

Tabla 57. Resultados de la evaluación de apariencia de las pruebas sensoriales aplicadas a los panelistas

Apariencia del emulgel peptídico	Puntos	Apariencia del emulgel base	Puntos
Color	9.63 ± 0.67	Color	9.67 ± 0.55
Brillo	8.63 ± 1.35	Brillo	8.74 ± 1.53
Olor	8.87 ± 1.36	Olor	8.97 ± 1.35

Los valores representan la media ± desviación estándar

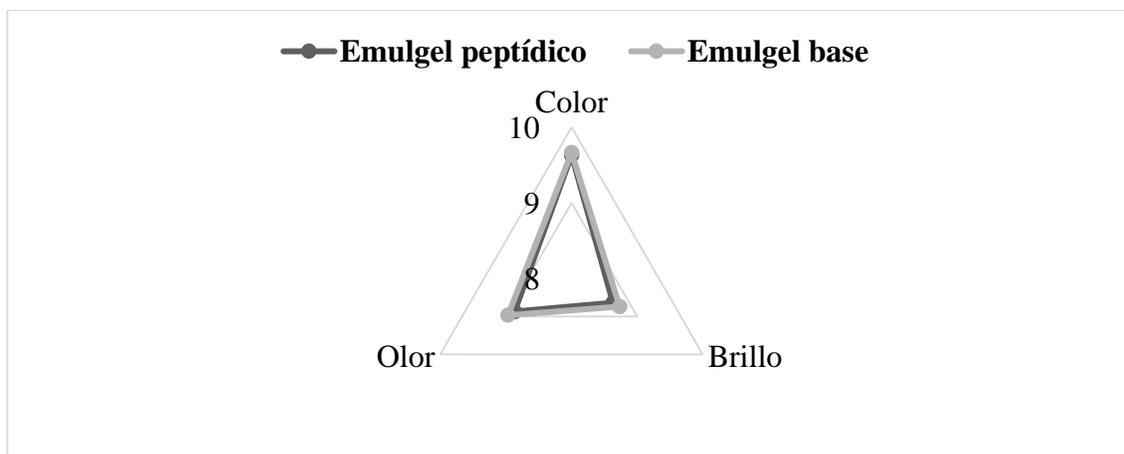


Figura 31. Comparación de la prueba de apariencia del emulgel peptídico y del emulgel base

Tanto en la tabla 57 como en la figura 31 se puede apreciar que el emulgel base obtuvo mejor puntuación por los panelistas en todas las propiedades evaluadas en comparación al emulgel peptídico, sin embargo, las diferencias no fueron significativas.

Tabla 58. Resultados de la evaluación de uso de las pruebas sensoriales aplicadas a los panelistas

Prueba de uso del emulgel peptídico	Puntos	Prueba de uso del emulgel base	Puntos
Textura	7.83 ± 1.9	Textura	7.6 ± 1.75
Consistencia	7.5 ± 2	Consistencia	7.17 ± 2.05
Extensibilidad	8.9 ± 0.76	Extensibilidad	8.8 ± 1.06
Evanescencia	8.7 ± 1.18	Evanescencia	8.74 ± 1.08
Pegajosidad	8.03 ± 2.37	Pegajosidad	7.93 ± 2.45

Los valores representan la media ± desviación estándar

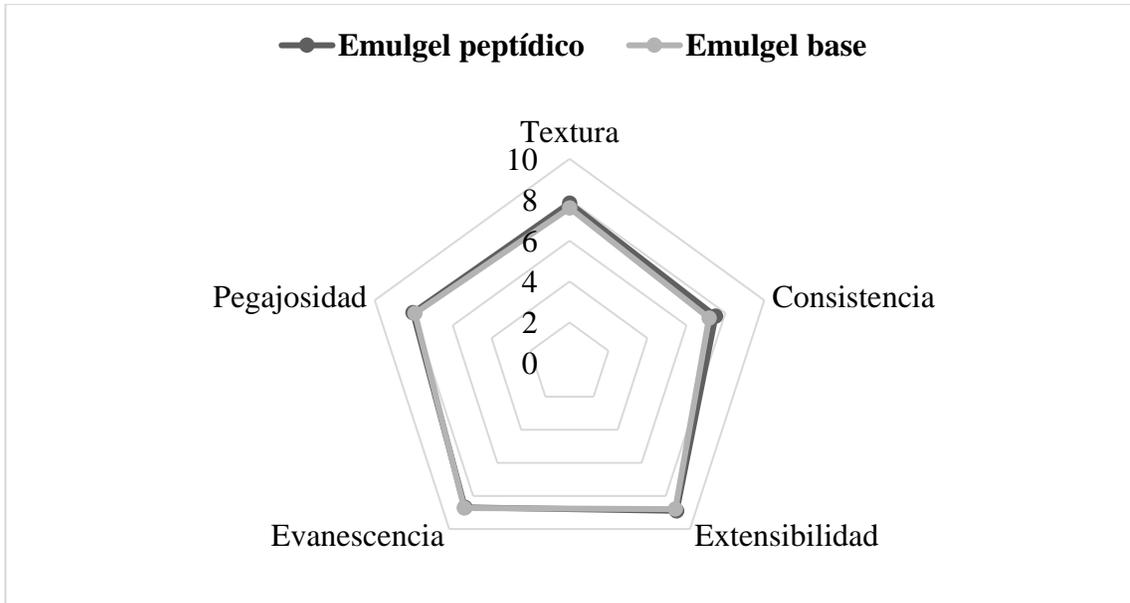


Figura 32. Comparación de la prueba de uso del emulgel peptídico y del emulgel base

Tanto en la tabla 58 como en la figura 32 se puede apreciar que el emulgel peptídico obtuvo una mejor puntuación en la textura y en la consistencia, esto debido a la formulación ligeramente más fluida y líquida debido a la acción de los péptidos bioactivos.

En el resto de las evaluaciones no se presentaron diferencias significativas entre el emulgel base y el emulgel peptídico.

Con respecto a las pruebas de uso, el emulgel peptídico fue mejor evaluado que el emulgel base, mientras que, en las pruebas de apariencia, el emulgel base obtuvo una mejor evaluación que el emulgel peptídico.

VI. Conclusiones

- ❖ Los emulgeles comprobaron ser útiles, convenientes y efectivos sistemas de administración de extractos peptídicos.
- ❖ Se comprobó que la semilla de yaca es un subproducto agroindustrial con gran potencial en la producción de cosméticos.
- ❖ Los péptidos bioactivos de la fracción <10>5 kDa presentan un gran potencial incluso como único principio activo. Esto se determinó al obtener la actividad antioxidante por g de proteína equivalente al ac. ascórbico y el trolox, de cada fracción peptídica.
- ❖ La fusión de los péptidos bioactivos en el emulgel permitió evaluar la actividad antioxidante, antiinflamatoria y anti-manchas, demostrando en la experimentación *in vivo*, que los péptidos redujeron marcas solares y marcas post acné de los panelistas.

VII. Bibliografía

- Aguilar-Toalá, J. E. y Hernández-Mendoza, A. y González-Córdova, A. F. y Vallejo-Cordoba, B. y Liceaga, A. M. (2019). Potential role of natural bioactive peptides for development of cosmeceutical skin products. *Peptides*, 122, 1–13.
<https://doi.org/10.1016/j.peptides.2019.170170>
- Agyei, D. y Danquah, M. K. (2011). Industrial-scale manufacturing of pharmaceutical-grade bioactive peptides. *Biotechnology Advances*, 29(3), 272–277.
<https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2011.01.001>
- Ajayi, I. A. (2008). Comparative study of the chemical composition and mineral element content of *Artocarpus heterophyllus* and *Treculia africana* seeds and seed oils. *Bioresource Technology*, 99(11), 5125–5129.
<https://doi.org/10.1016/j.biortech.2007.09.027>
- Ajayi, I. A. (2011). Use of Jackfruit (*Artocarpus heterophyllus*) Seeds in Health. En *Nuts and Seeds in Health and Disease Prevention* (pp. 677–683). Elsevier.
<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-375688-6.10079-9>
- Alam, M. N. y Bristi, N. J. y Rafiquzzaman, M. (2013). Review on in vivo and in vitro methods evaluation of antioxidant activity. *Saudi Pharmaceutical Journal*, 21(2), 143–152. <https://doi.org/10.1016/j.jsps.2012.05.002>
- Ando, H. (2017). Melanogenesis. En *Cosmetic Science and Technology: Theoretical Principles and Applications* (pp. 729–736). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-802005-0.00044-6>
- ANVISA. (2005). *Guía de estabilidad de productos cosméticos* (1 Edición, Vol. 1). ANVISA.
<http://antigo.anvisa.gov.br/documents/106351/107910/Gu%C3%ADa+de+Estabilidade+de+Productos+Cosm%C3%A9ticos/dd40ebf0-b9a2-4316-a6b4-818cac57f6de>
- ANVISA. (2008). *Guia de controle de qualidade de produtos cosméticos* (2 edição). ANVISA. <https://www.gov.br/anvisa/pt->

br/centraisdeconteudo/publicacoes/cosmeticos/manuais-e-guias/guia-de-controle-de-qualidade-de-produtos-cosmeticos.pdf

- Ashara, K. y Soniwala, M. y Shah, K. (2016). Emulgel: A novel drug delivery system. *Journal of Pakistan Association of Dermatologists*, 26(3), 244–249.
<https://www.jpada.com.pk/index.php/jpada/article/view/730/695>
- Baki, G. y Alexander, K. S. (2015). General concepts. En *Introduction to Cosmetic Formulation and Technology* (1 Edition, pp. 1–66). John Wiley & Sons, Inc.
- Banga, A. K. (2015). Structure and Analysis of Therapeutic Peptides and Proteins. En *Therapeutic Peptides and Proteins* (Third edition, pp. 37–70). 2015.
<https://doi.org/10.3390/ijms24032161>
- Baroni, A. y Buommino, E. y De Gregorio, V. y Ruocco, E. y Ruocco, V. y Wolf, R. (2012). Structure and function of the epidermis related to barrier properties. *Clinics in Dermatology*, 30(3), 257–262. <https://doi.org/10.1016/j.clindermatol.2011.08.007>
- Benitez, M. G. y Povedano, M. M. (2020). *Principios activos utilizados en la formulación de cosméticos antiejejecimiento para el contorno de ojos* [Universidad Católica de Córdoba]. https://pa.bibdigital.uccor.edu.ar/2814/1/TF_Benitez_Povedano.pdf
- Benítez, R. y Ibarz, A. y Pagan, J. y Bioquímica, A. y Latinoamericana, C. (2008). Hidrolizados de proteína: procesos y aplicaciones. *Acta Bioquím Clín Latinoam*, 42(2), 227–263. <http://www.scielo.org.ar/pdf/abcl/v42n2/v42n2a08.pdf>
- Berenice, E. y Espinosa, L. y Jiménez-Martínez, C. y Dávila-Ortiz, G. (2015). Péptidos Bioactivos de Fuentes Vegetales: Un Nuevo Ingrediente para Alimentos Funcionales. En *Tendencias de innovación en la ingeniería de alimentos* (OmniaScience, pp. 37–71). OmniaScience. <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.3926/oms.288>
- Bourne, Y. y Astoul, C. H. y Zamboni, V. y Peumans, W. J. y Menu-Bouaouiche, L. y Van-Damme, E. J. M. y Barre, A. y Rouge, P. (2002, junio 19). *Crystal structure of Jacalin*. RCSB Protein Data Bank (RCSB PDB).
<https://doi.org/https://doi.org/10.2210/pdb1KU8/pdb>

- Charyulu, N. R. y Joshi, P. y Dubey, A. y Shetty, A. (2021). Emulgel: A Boon for Enhanced Topical Drug Delivery. *Journal of Young Pharmacists*, 13(1), 76–79.
<https://doi.org/10.5530/jyp.2021.13.17>
- Clemente, A. y Pedroche, J. (2001). Obtención y aplicaciones de hidrolizados protéicos. *Grasas y Aceites*, 52(2), 132–136. <https://doi.org/10.3989/gya.2001.v52.i2.385>
- Congreso de la Unión. (2012). Ley federal de protección al consumidor. *Diario Oficial de la Federación*. https://www.profeco.gob.mx/juridico/pdf/1_lfpc_ultimo_camdip.pdf
- Congreso de la Unión. (2011). Ley general de salud. *Diario Oficial de la Federación*, 124–127. <https://www.diputados.gob.mx/LeyesBiblio/pdf/LGS.pdf>
- Cruz-Casillas, F. C. y García-Cayuela, T. y Rodríguez-Martínez, V. (2021). Application of conventional and non-conventional extraction methods to obtain functional ingredients from jackfruit (*Artocarpus heterophyllus* lam.) tissues and by-products. *Applied Sciences (Switzerland)*, 11(16), 1–14. <https://doi.org/10.3390/app11167303>
- Cumbreño-Barquero, S. y Pérez-Higuero, F. L. (2004a). Elaboración de emulsiones. *Farmacia práctica*, 23(4), 169–172. <https://www.elsevier.es/es-revista-offarm-4-pdf-13061223>
- Cumbreño-Barquero, S. y Pérez-Higuero, F. L. (2004b). Elaboración de emulsiones. *Farmacia práctica*, 23(5), 157–160. <https://www.elsevier.es/es-revista-offarm-4-articulo-elaboracion-emulsiones-13062391>
- Da Freitas, L. y Saenz, A. M. y Ruiz, Á. y González, F. (2013). Queratinocitos y queratinización. *Dermatología Pediátrica Latinoamericana*, 11(1), 5–11.
<https://docs.bvsalud.org/biblioref/2022/02/195494/dermatol-pediatr-latinoam-2013-v11-n1-p05-11.pdf>
- Dulekgurgen, E. (2004). *Proteins (lowry) protocol*. International Technological University.
<https://web.itu.edu.tr/~dulekgurgen/Proteins.pdf>
- FDA. (2015). Food and drug administration department of health and human services. *Code of Federal Regulations*, 21(3).
<https://www.accessdata.fda.gov/scripts/cdrh/cfdocs/cfcfr/CFRSearch.cfm?fr=184.1553>

- Fluhr, J. W. y Darlenski, R. (2009). Skin barrier. En *Life-Threatening Dermatoses and Emergencies in Dermatology* (pp. 3–18). Springer Berlin Heidelberg.
https://doi.org/10.1007/978-3-540-79339-7_1
- Forbes, J. y Krishnamurthy, K. (2022, agosto 29). *Biochemistry, Peptide*. National Institutes of Health. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK562260/>
- Garín etiquetas. (2002, julio 4). *Regulación de productos cosméticos en México*.
<https://garinetiquetas.com/blog/2022/07/04/regulacion-de-cosmeticos-en-mexico/>
- Görgüç, A. y Gençdağ, E. y Yılmaz, F. M. (2020). Bioactive peptides derived from plant origin by-products: Biological activities and techno-functional utilizations in food developments – A review. *Food Research International*, 136, 1–17.
<https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109504>
- Guadix, A. ; y Guadix, E. M. ; y Páez-Dueñas, M. P. ; y González-Tello, P. Y. y Camacho, F. (2000). Procesos tecnológicos y métodos de control en la hidrólisis de proteínas. *Ars Pharmaceutica*, 41(1), 79–89.
https://www.ugr.es/~fcamacho/Originales/Trabajos%20Publicados/ARS_2000.pdf
- Guija-Poma, E. y Inocente-Camones, M. A. y Ponce-Pardo, J. y Zarzosa-Norabuena, E. (2015). Evaluación de la técnica 2,2-Difenil-1-Picrilhidrazilo (DPPH) para determinar capacidad antioxidante. *Horizonte Médico*, 15(1), 57–60.
<http://www.scielo.org.pe/pdf/hm/v15n1/a08v15n1.pdf>
- Herwadkar, A. y Banga, A. K. (2011). Transdermal Delivery of Peptides and Proteins. En *Peptide and Protein Delivery* (pp. 69–86). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-384935-9.10004-5>
- Husein el Hadmed, H. y Castillo, R. F. (2016). Cosmeceuticals: peptides, proteins, and growth factors. *Journal of Cosmetic Dermatology*, 15(4), 514–519.
<https://doi.org/10.1111/jocd.12229>
- Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, A. y P. (2021, julio 1). *La yaca, fruto alternativo en regiones tropicales*. Gobierno de México.
<https://www.gob.mx/inifap/articulos/la-yaca-fruto-alternativo-en-regiones->

- Mora, L. y Aristoy, M. C. y Toldrá, F. (2018). Bioactive peptides. En *Encyclopedia of Food Chemistry* (pp. 381–389). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100596-5.22397-4>
- Mulero Cánovas, J. y Zafrilla Rentero, P. y Martínez-Cachá Martínez, A. y Leal Hernández, M. y Abellán Alemán, J. (2011). Péptidos bioactivos. *Clinica e Investigacion en Arteriosclerosis*, 23(5), 219–227. <https://doi.org/10.1016/j.arteri.2011.04.004>
- Olivares-Galván, S. y Marina, M. L. y García, M. C. (2020). Extraction and Characterization of Antioxidant Peptides from Fruit Residues. *Foods*, 9(8), 1–30. <https://doi.org/10.3390/foods9081018>
- Padilla-Camberos E y Flores-Valdes, M. A. y García-Fajardo J A y Urzúa-Esteva E y Lugo-Cervantes E y García-Carvajal Z Y. (2015). Cosméticos y cosmeceúticos en México. *Salud Jalisco*, 2(2), 89–95. <https://www.medigraphic.com/pdfs/saljalisco/sj-2015/sj152e.pdf>
- Pai, V. y Bhandari, P. y Shukla, P. (2017). Topical peptides as cosmeceuticals. *Indian Journal of Dermatology, Venereology and Leprology*, 83(1), 9–18. <https://doi.org/10.4103/0378-6323.186500>
- Phad, A. R. y Dilip, N. T. y Sundara Ganapathy, R. (2018). Emulgel: A Comprehensive Review for Topical Delivery of Hydrophobic Drugs. *Asian Journal of Pharmaceutics*, 12(2), 1–12. <https://doi.org/https://doi.org/10.22377/ajp.v12i02.2366>
- Piovesana, S. y Capriotti, A. L. y Cavaliere, C. y La Barbera, G. y Montone, C. M. y Zenezini Chiozzi, R. y Laganà, A. (2018). Recent trends and analytical challenges in plant bioactive peptide separation, identification and validation. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 410(15), 3425–3444. <https://doi.org/10.1007/s00216-018-0852-x>
- Programa Safe+ y Invima. (2018). *Recomendaciones para el desarrollo de estudios de estabilidad de productos cosméticos*. ONUDI. [https://www.unido.org/sites/default/files/files/2019-02/ONUDI_Gu%C3%ADa%20de%20Estabilidad_FINAL%20\(003\).pdf](https://www.unido.org/sites/default/files/files/2019-02/ONUDI_Gu%C3%ADa%20de%20Estabilidad_FINAL%20(003).pdf)

- Ramírez-Carreto, S. y Miranda-Zaragoza, B. y Rodríguez-Almazán, C. (2021). Purificación de proteínas. *Mensaje bioquímico*, 45(1), 35–47. <http://bq.facmed.unam.mx/tab/wp-content/uploads/2021/06/7-Rodriguez-Purificacion.pdf>
- Ranasinghe, R. A. S. N. y Maduwanthi, S. D. T. y Marapana, R. A. U. J. (2019). Nutritional and Health Benefits of Jackfruit (*Artocarpus heterophyllus* Lam.): A Review. *International Journal of Food Science*, 2019. <https://doi.org/10.1155/2019/4327183>
- Representación de Agricultura en Nayarit. (2018, octubre 17). *Jaca o Jackfruit, sabores deliciosos de Nayarit*. Gobierno de México. <https://www.gob.mx/agricultura/nayarit/articulos/jaca-o-jackfruit-sabores-deliciosos-de-nayarit?idiom=es>
- Representación de Agricultura en Nayarit. (2019, noviembre 13). *Conoce más sobre la Yaka*. Gobierno de México. <https://www.gob.mx/agricultura/nayarit/articulos/conoce-mas-sobre-la-yaka?idiom=es#:~:text=La%20yaka%20o%20tambi%C3%A9n%20llamado,clim%C3%A1ticas%20%C3%B3ptimas%20para%20su%20crecimiento.>
- Reyes, A. (2022, junio 29). *Hablemos de la COFEPRIS y de la CANIPEC*. Te protejo. <https://ongteprotejo.org/mx/articulos/hablemos-de-la-cofepris-y-de-la-canipec/>
- Rizzello, C. G. y Tagliazucchi, D. y Babini, E. y Sefora Rutella, G. y Taneyo Saa, D. L. y Gianotti, A. (2016). Bioactive peptides from vegetable food matrices: Research trends and novel biotechnologies for synthesis and recovery. *Journal of Functional Foods*, 27, 549–569. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2016.09.023>
- Ruiz-Benitez, M. L. (2020, agosto 3). *Determinación de la actividad antioxidante*. Universidad Simón Bolívar. <file:///C:/Users/MI%20PC/Documents/T%20E%20S%20I%20S/1.%20Marco%20Teorico/1.8%20Evaluaci%C3%B3n%20de%20la%20actividad%20antioxidante%20de%20los%20p%C3%A9ptidos/Gu%C3%ADa%20de%20Determinaci%C3%B3n%20de%20la%20actividad%20antioxidante.pdf>

- Sah, S. K. y Badola, A. y Nayak, B. K. (2017). Emulgel: Magnifying the application of topical drug delivery. *Indian Journal of Pharmaceutical and Biological Research*, 5(1), 25–33. <https://doi.org/10.30750/ijpbr.5.1.4>
- Sanvictores, T. y Farci, F. (2022, octubre 31). *Biochemistry, Primary Protein Structure*. National Institutes of Health. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK564343/>
- Saraf, S. y Saraf, S. (2015). Introduction to Cosmetics. En *Cosmetics : A practical manual* (3rd edition, pp. 1–12).
- Secretaría de salud. (2012). NOM-141-SSA1/SCFI-2012, Etiquetado para productos cosméticos preenvasados. Etiquetado sanitario y comercial. *Diario Oficial de la Federación*.
https://www.dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5269348&fecha=19/09/2012#gsc.tab=0
- Secretaría de salud. (1994). NOM-089-SSA1-1994, Bienes y servicios. Métodos para la determinación del contenido microbiano en productos de belleza. *Diario Oficial de la Federación*.
https://dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=4724717&fecha=04/08/1994#gsc.tab=0
- Secretaría de salud. (1999a). Reglamento de Control Sanitario de Productos y Servicios. *Diario Oficial de la Federación*.
https://www.dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=4952317&fecha=09/08/1999#gsc.tab=0
- Secretaría de salud. (1999b). Acuerdo por el que se determinan las sustancias prohibidas y restringidas en la elaboración de productos de perfumería y belleza. *Diario Oficial de la Federación*.
https://www.dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=4958060&fecha=15/12/1999#gsc.tab=0
- Secretaría de salud. (2015a). *NOM-073-SSA1-2015, Estabilidad de fármacos y medicamentos, así como de remedios herbolarios*. Diario Oficial de la Federación.
https://dof.gob.mx/nota_detalle_popup.php?codigo=5440183

- Secretaría de salud. (2015b). PROY-NOM-259-SSA1-2014, Productos y servicios. Buenas prácticas de fabricación en productos cosméticos. *Diario Oficial de la Federación*. https://www.dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5378954&fecha=20/01/2015&print=true
- Shimada, K. y Kuniko Fujikawa, It y Yahara, K. y Nakamurat, T. (1992). Antioxidative properties of xanthan on the autoxidation of soybean Oil in cyclodextrin Emulsion. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 40(1), 945–948. <https://doi.org/10.1021/jf00018a005>
- Solís, C. A. y Vélez, C. A. y Ramírez-Navas, J. S. (2017). Tecnología de membranas: Ultrafiltración. *Entre Ciencia e Ingeniería*, 26–36. <http://www.scielo.org.co/pdf/ecei/v11n22/1909-8367-ecei-11-22-00026.pdf>
- Song, Y. y Chen, S. y Li, L. y Zeng, Y. y Hu, X. (2022). The Hypopigmentation Mechanism of Tyrosinase Inhibitory Peptides Derived from Food Proteins: An Overview. *Molecules*, 27(9). <https://doi.org/10.3390/molecules27092710>
- Supriya, U. y Seema, C. y Preeti, K. (2014). Emulgel: A Boon for Dermatological Diseases. *International Journal of Pharmaceutical Research & Allied Sciences*, 3(4), 1–9. <https://ijpras.com/storage/models/article/M84tHyACX0gt2QJil3a0EiUuBSKmrAZ8eq7GMy0SBlhaJsE1B9JU4CNEobfx/emulgel-a-boon-for-dermatological-diseases.pdf>
- Swami, S. B. y Kalse, S. B. (2019). Jackfruit (*Artocarpus heterophyllus*): Biodiversity, Nutritional Contents, and Health. En *Reference Series in Phytochemistry* (pp. 2237–2259). Springer Science and Business Media B.V. https://doi.org/10.1007/978-3-319-78030-6_87
- Swami, S. B. y Thakor, N. J. y Haldankar, P. M. y Kalse, S. B. (2012). Jackfruit and Its Many Functional Components as Related to Human Health: A Review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 11(6), 565–576. <https://doi.org/10.1111/j.1541-4337.2012.00210.x>
- Tortora, G. J. y Derrickson, B. (2006). El sistema tegumentario. En *Principios de anatomía y fisiología* (11 Edición, Número 9451, pp. 146–153). Panamericana.

- Trenado-Hernández, V. A. (2018). *Estudio de biodisponibilidad transdérmica de Ivermectina formulada en un emulgel, como una nueva alternativa para el tratamiento antiparasitario* [Universidad Nacional Autónoma de México].
<http://132.248.9.195/ptd2018/abril/0773377/Index.html>
- Wen, C. y Zhang, J. y Zhang, H. y Duan, Y. y Ma, H. (2020). Plant protein-derived antioxidant peptides: Isolation, identification, mechanism of action and application in food systems: A review. *Trends in Food Science and Technology*, 105, 308–322.
<https://doi.org/10.1016/j.tifs.2020.09.019>
- Wu, J. y Zhou, X. y Zhou, L. y Liu, W. y Zhong, J. y Zhang, Y. y Liu, C. (2022). Physicochemical, structural, and functional properties of protein fractions and protein isolate from jackfruit seeds. *Journal of Food Science*, 87(4), 1540–1551.
<https://doi.org/10.1111/1750-3841.16104>
- Zorrilla, E. P. y Koob, G. F. (2007). Peptides. En *Encyclopedia of Stress* (pp. 91–96).
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/B978-012373947-6.00293-2>

VIII. Anexos

CARTA DE AUTORIZACIÓN DE USO DE IMAGEN Y CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA LA APLICACIÓN DE UN EMULGEL CON PÉPTIDOS CON PROPIEDAD ANTIOXIDANTE.

Yo _____, de _____ años, en pleno goce de mis capacidades, manifiesto que, se hace de mi conocimiento lo siguiente:

- Que participaré como voluntario en la experimentación de un emulgel cosmético antioxidante que se aplicará con la finalidad de evaluar el principio activo (Péptidos de harina de semilla de yaca, fracción <10 >5 KDa);
- Que los beneficios esperados son obtener más luminosidad de la piel, renovar y regenerar la epidermis, suavizar las líneas de expresión y, aumentar la tensión de la piel;
- Que la experimentación del emulgel tendrá una duración mínima de 28 días;
- Que se tomarán tres fotografías de la cara del voluntario con el fin de tener evidencia visual para la experimentación (La fotografías serán el día 0, 7, 14, 21 y 28);
- Que el emulgel se aplicará en toda la cara con movimientos circulares haciendo énfasis en líneas de expresión que el voluntario pueda presentar;
- Que se aplicará aproximadamente 1g del producto en la noche antes de dormir (si el voluntario desea podrá aplicar el producto también en la mañana, siempre y cuando le informe a Loretta Peña Delgadillo);
- Que se realizarán pruebas a lo largo de toda la investigación; y
- Que se le prohíbe usar productos dermatológicos de tratamiento en las áreas determinadas durante el período de evaluación.

Así mismo, expreso que se me informaron todos los ingredientes de la formulación del producto y declaro que no soy alérgico a ningún ingrediente de la formulación.

Tabla 1. Formulación y función de cada ingrediente	
Ingredientes	Función
Aceite mineral	Emoliente y humectante, reduce la pérdida de agua en la piel.
Ácido esteárico	Emulsionante, base en preparaciones de cremas de día para la adherencia de la piel.
Cera ceresina	Espesante, esencial para la saponificación del emulgel.
Glicerina	Humectante y emoliente, presenta la capacidad de retener la humedad.

Dimeticona	Emoliente y oclusivo, presenta la capacidad de retener agua en un producto.
Alcohol cetílico	Espesante, emulsificante y absorbente de agua en las cremas.
Trietanolamina	Agente neutralizante y emulsificante.
Carbopol Ultrez 10	Agente gelificante, polímero formador de geles evanescentes.
Fracción peptídica de <10 >5 KDa de harina de semilla de yaca	Principio activo (*0.2% de la formulación)
Metilparabeno	Conservante fungicida y bactericida. (*0.1% de la formulación)
Propilparabeno	Conservante microbiológico. (*0.1% de la formulación)

Yo en el entendimiento de la información previa, me comprometo a realizar el procedimiento especificado para la investigación del proyecto y sólo podré posponer la aplicación del emulgel en caso de presentar irritación y/o inflamación.

Autorizo a Loretta Peña Delgadillo a utilizar mi nombre, edad y fotografías que se tomarán a lo largo de la experimentación como material de apoyo para evidencia visual en la experimentación. Expreso que esta autorización es voluntaria y totalmente gratuita, por lo tanto, ella es libre de utilizar mi nombre y mi imagen únicamente en la tesis que se realice con esta investigación.

Lugar: _____; _____

Fecha de inicio del procedimiento: _____

Nombre y firma del voluntario

Nombre y firma de la persona que otorga la información

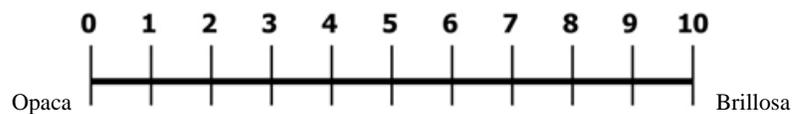
PRUEBAS SENSORIALES DEL PRODUCTO

Apariencia

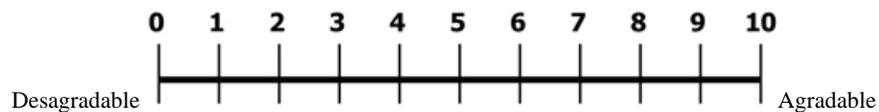
- Color



- Brillo

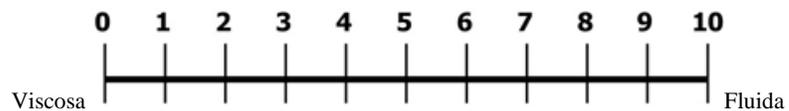


- Olor



Prueba de uso

- Textura



- Consistencia



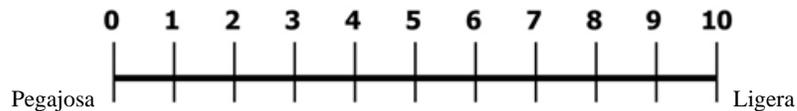
- Extensibilidad



- Evanescencia



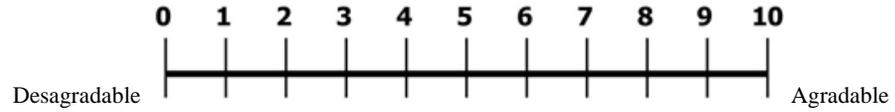
- Pegajosidad



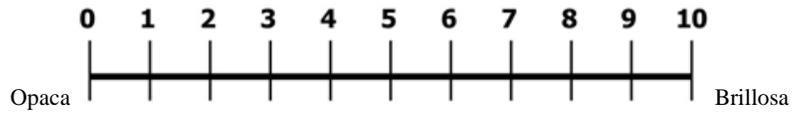
PRUEBAS SENSORIALES DEL PRODUCTO

Apariencia

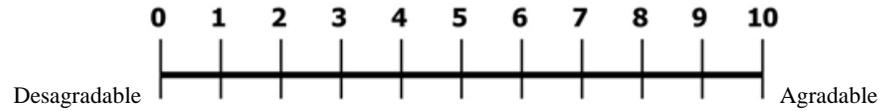
- Color



- Brillo

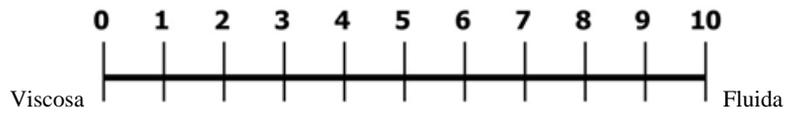


- Olor



Prueba de uso

- Textura



- Consistencia



- Extensibilidad



- Evanescencia



- Pegajosidad

