

Desarrollo y caracterización de un gel fitocosmético antioxidante a base de *Thalassia Testudinum* y La Tintura de Propolina: evaluación fitoquímica, tecnológica y microbiológica.

Development and Characterization of an Antioxidant Phytocosmetic Gel Based on *Thalassia testudinum* and Propoline Tincture: Phytochemical, Technological, and Microbiological Evaluation

Liz Barbara Pereira Cuni ^{1*}, Lorena Safonts Grenier ², Yamilet I. Gutiérrez Gaitén ²,

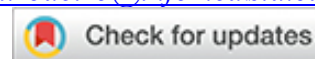
Kethia Lina González Gomez ¹, Ramón Scull Lizama ², Idania Rodeiro Guerra ^{1*},

¹Instituto de Ciencias del Mar (ICIMAR), La Habana, Cuba.

²Universidad de la Habana, Facultad Instituto de Farmacia y Alimento.

³Entidad cubana dedicada al desarrollo y producción de medicamentos
LABIOFAM.

* Correspondencia: lizbarbara1991@gmail.com
idania.rodeiro@infomed.sld.cu



RESUMEN

La angiosperma marina *Thalassia testudinum*, comúnmente conocida como hierba de tortugas, es fuente para la obtención de un extracto a partir de las hojas de la especie. El extracto es rico en compuestos fenólicos y dentro de estos, el metabolito más abundante es la thalassiolina B, una flavona glicosilada con propiedades bioactivas. El presente trabajo propone el desarrollo de un gel combinando el extracto de *T. testudinum* y la tintura de propolina. Para ello, se determinaron los principales parámetros de control de la calidad del extracto de *T. testudinum*, y la tintura de propolina. En el estudio, se determinaron las concentraciones de polifenoles, flavonoides, así como la actividad antioxidante mediante el método del DPPH. También, a la formulación diseñada se le evaluaron parámetros físico-químicos y tecnológicos, y se le realizó control microbiológico. En general, los parámetros analizados estuvieron en correspondencia con las especificaciones de calidad previamente establecidas para el extracto, la tintura y la formulación. Los resultados justifican la factibilidad de empleo de la mezcla del extracto de *T. testudinum* y la tintura de propolina, como una alternativa para su uso en la fitocosmética.

Palabras claves: *Thalassia testudinum*, tintura de propolina, compuestos fenólicos, antioxidante fitocosmética

ABSTRACT

The marine angiosperm *Thalassia testudinum*, commonly known as turtle grass, is a source for obtaining an extract from the leaves of the species. The extract is rich in phenolic compounds, and within these, the most abundant metabolite is thalassiolin B, a glycosylated flavone with bioactive properties. The present work proposes the development of a gel combining *T. testudinum* extract and propoline tincture. For this purpose, the main quality control parameters of *T. testudinum* extract and propoline tincture were determined. In the study, the concentrations of polyphenols, flavonoids, and the antioxidant activity were determined by the

DPPH method. Also, the designed formulation was evaluated for physicochemical and technological parameters, and microbiological control was performed. In general, the parameters analyzed were in correspondence with the quality specifications previously established for the extract, the tincture, and the formulation. The results justify the feasibility of using the mixture of *T. testudinum* extract and propoline tincture as an alternative for use in phytocosmetics.

Keywords: *Thalassia testudinum*, propoline tincture, phenolic compounds, phytocosmetic antioxidant

INTRODUCCIÓN

Los metabolitos secundarios de las plantas son compuestos químicos que no participan directamente en el crecimiento, desarrollo o reproducción de la planta, pero cumplen funciones esenciales para su supervivencia. Son responsables de la defensa contra herbívoros, patógenos y condiciones ambientales adversas, además de servir en la comunicación entre plantas y en interacciones con otros organismos. Estos varían en su concentración y presencia en las distintas partes de la planta y según la etapa de desarrollo. Algunos de ellos, ya presentes en la especie vegetal de origen, suelen activarse como compuestos de defensa o aumentan su concentración ante estímulos externos¹.

En el Instituto de Ciencias del Mar (ICIMAR), La Habana, Cuba se obtuvo un extracto a partir de las hojas de la angiosperma marina *Thalassia testudinum* que habita en las costas del país. El extracto de *T. testudinum* posee varias propiedades biológicas, entre las cuales se destacan su capacidad fotoprotectora, citoprotectora, dermorregeneradora y una promisorio actividad antioxidante⁽²⁻⁴⁾. Propiedades que le confieren potencialidades para que sea utilizado como principio activo en formulaciones con fines cosmeceúticos.

Por otro lado, al propóleo se le atribuyen disímiles propiedades farmacológicas, tal es el caso de sus propiedades antibacterianas, antivirales, antiinflamatorias, fungicidas, antioxidantes y antiparasitarias^{5,6}.

Por lo anteriormente expuesto, resulta de interés, el estudio de las potencialidades que presenta la combinación del extracto de *T. testudinum* y la tintura de propolina en una formulación para uso cosmeceútico.

MATERIALES Y METODOS

Recolección y procesamiento del material vegetal: la colecta de las hojas de la angiosperma marina *T. testudinum* se realizó mediante buceo en apnea en el mes de abril de 2022 en la zona del Rincón de Guanabo, Habana del Este, La Habana (23°10'44"N - 82°07'01" W).

Los ejemplares muestreados se colocaron en sacos de malla para su traslado al laboratorio, se lavaron con agua potable. Después fue secado a 50 °C en estufa con recirculación de aire (Electric Drying Onem Model 101-2, China) hasta peso constante. Posteriormente, las hojas secas se molieron en un molino de martillo (Retsch SM400, Alemán) hasta obtener un tamaño de partícula de entre 5 y 10 mm, para su análisis posterior. El material vegetal fue lavado con agua potable. Después, fue secado a 50 °C en estufa con recirculación de aire (Electric Drying Onem Model 101-2, China) hasta peso constante. Posteriormente, las hojas secas se molieron en un molino de martillo (Retsch SM400, Alemán) hasta obtener un tamaño de partícula de entre 5 y 10 mm, para su análisis posterior.

Obtención del extracto y la tintura de propolisa. Parámetros fisicoquímicos de calidad

Extracto de *T. testudinum*: Se pesaron 800 g del material vegetal seco y molido utilizando una báscula (Denver Instruments) y se mezclaron con 9,6 L de etanol al 50 % en proporción MV/disolvente de (1/12). La mezcla se agitó en reactor (modelo LSL Biolafitt S.A, Francia) durante 72 horas de maceración, en régimen de 30 minutos agitando y 30 minutos descansando, solo en horario laborable. Posteriormente, la mezcla se filtró bajo presión reducida.

Tintura de Propolisa: El lote 2209018 del producto fue proporcionado por la empresa LABIOFAM, La Habana, Cuba.

Parámetros fisicoquímicos de calidad

Al extracto y a la tintura se le evaluaron sus propiedades organolépticas (olor, color y apariencia), pH (pH metro digital, modelo HANNA HI 2221, Italia), índice de refracción (refractómetro digital ABBE, China), densidad relativa (con picnómetro capacidad 10 mL), sólidos totales (a partir de 5 mL de extracto)⁷.

Análisis fitoquímico

Determinación del contenido de polifenoles totales: La cuantificación de fenoles totales se realizó por el método de Folin-Ciocalteu⁸. Para el ensayo se preparó una disolución de 200 µL del extracto o la sustancia de referencia, se le añadió 10 mL de una disolución de Folin-Ciocalteu (se tomaron 10 mL del reactivo Folin-Ciocalteu y se diluyeron a 100 mL con agua destilada), 1,8 mL de agua destilada, se agitó y esperó cinco minutos. Se adicionaron 8 mL de solución 7,5 % de Na₂CO₃ (se pesaron 75 g de Na₂CO₃ anhidro y se disolvieron en un litro de agua destilada) y se agitó nuevamente. Se dejó en reposo durante dos horas y se realizaron las mediciones de la absorbancia a 765 nm con la ayuda de un Espectrofotómetro (Rayleigh UV-1601, China).

La determinación de la concentración se efectuó por el método de curva patrón usando ácido gálico como sustancia de referencia. Se pesaron 50 mg de ácido gálico (Merck) y se disolvieron en 10 mL de agua destilada. A partir de esta disolución madre se prepararon concentraciones de 0,1, 0,2, 0,4, 0,6 y 0,8 y 1,0 mg/mL de ácido gálico. El contenido de fenoles totales se expresó en miligramos equivalentes de ácido gálico por gramo de extracto seco (mg EqAG/g de extracto).

Determinación del contenido de flavonoides totales: Se llevó a cabo por el método colorimétrico del tricloruro de aluminio, según lo referido por Rashid⁸. Para el ensayo se preparó una disolución de 0,5 mL del extracto y la sustancia de referencia, se le añadió 1,5 mL de etanol al 96 %, 0,1 mL de tricloruro de aluminio al 10 %, 0,1 mL de acetato de potasio 1 M y 2,8 mL de agua destilada. Se esperó 30 minutos y se leyó la absorbancia a 415 nm en un espectrofotómetro (Rayleigh UV-1601, China). La determinación de la concentración se realizó por el método de curva patrón, usando quercetina como patrón de referencia, de esta se pesaron 10 mg y se disolvieron en etanol al 80 % para preparar concentraciones de 0,025, 0,050 y 0,100 mg.mL⁻¹. 0,5 mL de la solución estándar. Como blanco se utilizó 0,5 mL de agua destilada más el resto de los reactivos utilizados en la técnica. El contenido de flavonoides totales se expresó como equivalentes de quercetina dados en mg por g de extracto seco (mg Eg Q/g de extracto).

Determinación de la actividad antioxidante mediante 1,1-difenilpicrilhidracina (DPPH): Este ensayo se realizó mediante el método descrito por Tabart⁹. Se prepararon cinco concentraciones del extracto y la tintura, de éstas se tomó 750 µL y se mezclaron con 1500 µL del reactivo DPPH (0.075 mg/mL). Como blanco se

utilizó etanol 95% y como referencia 750 µL de etanol 95% más 1500 µL del reactivo DPPH. La reacción se dejó en la oscuridad durante 30 min y posteriormente se leyó la absorbancia de las muestras a 517 nm en espectrofotómetro Shimadzu UV 1201. El porcentaje de inhibición se calculó mediante la fórmula siguiente:

$$\%Inhibicion\ DPPH = \frac{Abs\ Control - Abs\ Muestra}{Abs\ Control} * 100 \quad (1)$$

Donde:

Abs Control: Absorbancia de EtOH + DPPH

Abs Muestra: Absorbancia de extracto + DPPH

Diseño de la formulación semisólida a partir del extracto y la tintura: Se prepararon tres lotes de las formulaciones en el Grupo empresarial LABIOFAM, por el método de fusión en una Batidora Mezcladora (Sammic Planetaria BE Pie, España)¹⁰. Se empleó un extracto hidroalcohólico a partir de las hojas de *T. testudinum* y la tintura de propolina como componentes activos y el resto de los componentes fueron de calidad farmacéutica. La formulación fue la siguiente:

- Extracto de las hojas de *T. testudinum* al 50 % (ICIMAR, Cuba. Lote: abril 2022)
- Tintura de Propolina (Empresa Genix – Labiofam, Cuba. No de lote: 2209018)
- Carboximetilcelulosa (Pochteca, Chile. No de lote: P2710220)
- Glicerina (Casablanca, India. No de lote: P61710550)
- Metabisulfito de Sodio (Casablanca, India. No de lote: P2190430)
- Benzoato de Sodio (Casablanca, India. No de lote: 20150306)
- Fragancia (Roberter, Francia. No de lote: 2674993)
- H₂O destilada

Las formulaciones se envasaron en tubo colapsible Ø 40 x 120 x 3 mm, en 10 %, facilitador de sellado 90 % PEBD, de 75 g de capacidad, con tapa cóncava y con orificio dosificador, aptas para contener productos de uso humano. Posteriormente fueron evaluados los parámetros físicos-químicos y tecnológicos, que permiten establecer la calidad de la formulación.

Parámetros de calidad y estabilidad del Gel: En el estudio se realizaron mediciones de los parámetros por triplicado a cada lote, a los 0, 15, 30 y 45 días después de elaborada la formulación¹¹. El análisis se llevó a cabo en condiciones de estante (temperatura de 30 °C ± 2 °C, humedad relativa de 70 % ± 5 %). Se calcularon sus valores promedios y sus respectivas desviaciones estándar (n=3, $\bar{x}$ /s). Dentro de los parámetros evaluados se encuentran: las propiedades organolépticas, pH, extensibilidad, fenoles totales, flavonoides totales y se realizó además el control microbiológico.

Para este análisis de las propiedades organolépticas se tomó en cuenta el olor, color, brillo, apariencia y extensibilidad sobre la piel con respecto a los geles convencionales.

El pH se midió en un pH-metro (modelo HANNA HI 2221, Italia). En la determinación del área de extensibilidad se tomaron dos láminas de vidrio de 12 x 15 cm, colocando una de ellas sobre papel milimetrado. Se añadieron 2 g del gel pesado en balanza técnica digital Sartorius (modelo Sartorius MC 1, Alemania), en el centro de la placa antes señalada y se colocó cuidadosamente la otra lámina de vidrio; esta última con un peso de 250 g. Transcurridos 5 minutos, se determinó la distancia desde el punto de aplicación hasta donde se

extendió el semisólido. Se midió la extensibilidad en cuatro direcciones perpendiculares entre sí¹². Se calculó el área de la circunferencia formada aplicando la fórmula siguiente:

$$E = A = \frac{\pi (d1 \times d2)}{4} \quad (2)$$

Donde

A: área de la circunferencia formada (cm²)

d1 y d2: diámetros perpendiculares a la circunferencia formada (cm)

E: extensibilidad del producto (cm²).

El control microbiológico se llevó a cabo en los Laboratorios LABIOFAM, a los tres lotes de gel a (Tiempo cero). Se realizó un conteo total de aerobios mesófilos, hongos y levaduras, enterobacterias, patógenos (*Staphylococcus aureus*) y *Pseudomonas aeruginosa*, considerando las normativas descritas¹³, entre los que se incluye el producto en investigación.

Análisis estadístico: Los resultados correspondientes al control de la calidad del material vegetal de *T. testudinum* y los correspondientes al estudio de estabilidad de la formulación fueron procesados para calcular los valores medios. Se llevó a cabo un análisis de varianza de clasificación simple a través de ANOVA-1, para un nivel de significación del 95 % y para la comparación de las medias se utilizó el test de Rangos Múltiples de Duncan y la prueba de t de student de muestras no pareadas para comparación del extracto y la tintura, la significación estadística se consideró para p<0,05.

RESULTADOS

Con el propósito de comprobar la calidad del extracto de *T. testudinum* y la tintura de propolina, se procedió al análisis de los parámetros físico-químicos. Para ellos fueron considerados los aspectos siguientes: propiedades organolépticas (olor, color y apariencia), análisis del pH, densidad relativa, sólidos totales y índice de refracción. En la Tabla 1 se presentan los resultados del estudio.

Parámetros	Resultados $\bar{x}/DE$	
	Muestras	
	Extracto <i>T. testudinum</i>	Tintura de Propolina
pH	6,78/0,0 ^a	5,95/0,0 ^b
Sólidos totales (%)	1,5/0,1 ^c	3,5/0,00 ^d
Índice de Refracción	1,3532/0,00 ^e	1,3587/0,00 ^e
Densidad relativa	0,9359/0,000 ^f	0,9085/0,00 ^g

Leyenda: $\bar{x}/DE$: valor medio de las determinaciones/desviación estándar (n=3). Letras diferentes en una fila indican diferencias significativas para un 95 % de confianza según t- student

Tabla 1. Parámetros físico-químicos del extracto de *T. testudinum* y la Tintura de Propolina

Desde el punto de vista organoléptico el extracto de *T. testudinum* se presentó como un líquido traslúcido de color pardo- rojizo y olor característico. La tintura de propolina se presentó como líquido ligeramente viscoso, untoso al tacto, de color pardo oscuro, sabor amargo, color característico y olor característico propio del propóleos.

Análisis fitoquímico

Determinación del contenido de polifenoles totales y flavonoides totales

Los resultados correspondientes a las concentraciones de fenoles y flavonoides en el extracto de *T. testudinum* y la tintura de propolina se presentan en la tabla 2.

Muestras	Resultados	
	$\bar{X}/DE$	
	Polifenoles totales (mg/g)	Flavonoides totales (mg/g)
Extracto <i>T. testudinum</i>	256,13/0,06 ^a	43,80/0,44 ^a
Tintura de Propolina	258,03/0,30 ^a	78,32/0,98 ^b

Leyenda: $\bar{X}/DE$: valor medio de las determinaciones/desviación estándar (n=3). Letras diferentes en una columna indican diferencias significativas para un 95 % de confianza según t-student

Tabla 2. Contenido de polifenoles y flavonoides totales en el extracto de *T. testudinum* y la Tintura de Propolina

La concentración de fenoles se determinó a partir de la curva de calibración obtenida por regresión lineal del ácido gálico con su ecuación correspondiente: $Y = 1,432X - 0,088$, con un coeficiente de determinación (R^2) de 0,9997 ($\geq 0,99$).

El contenido de flavonoides de ambas muestras, se calculó a partir de la curva de calibración obtenida por regresión lineal de la quercetina con su ecuación correspondiente: $Y = 2,7061X + 0,0228$, con un coeficiente de determinación de 0,9926 ($\geq 0,99$)

Actividad antioxidante

Determinación de la actividad antioxidante mediante 1,1-difenilpicrilhidracina (DPPH)

Desde el punto de vista cualitativo se pudo apreciar cambio de coloración de púrpura a amarillo en el extracto, la tintura y la combinación de ambas muestras a medida que aumentaba la concentración figura 1. Esto es causado por la presencia de sustancias antirradicales que redujeron el radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH) en conjunto con la pérdida de absorbancia en la disolución.

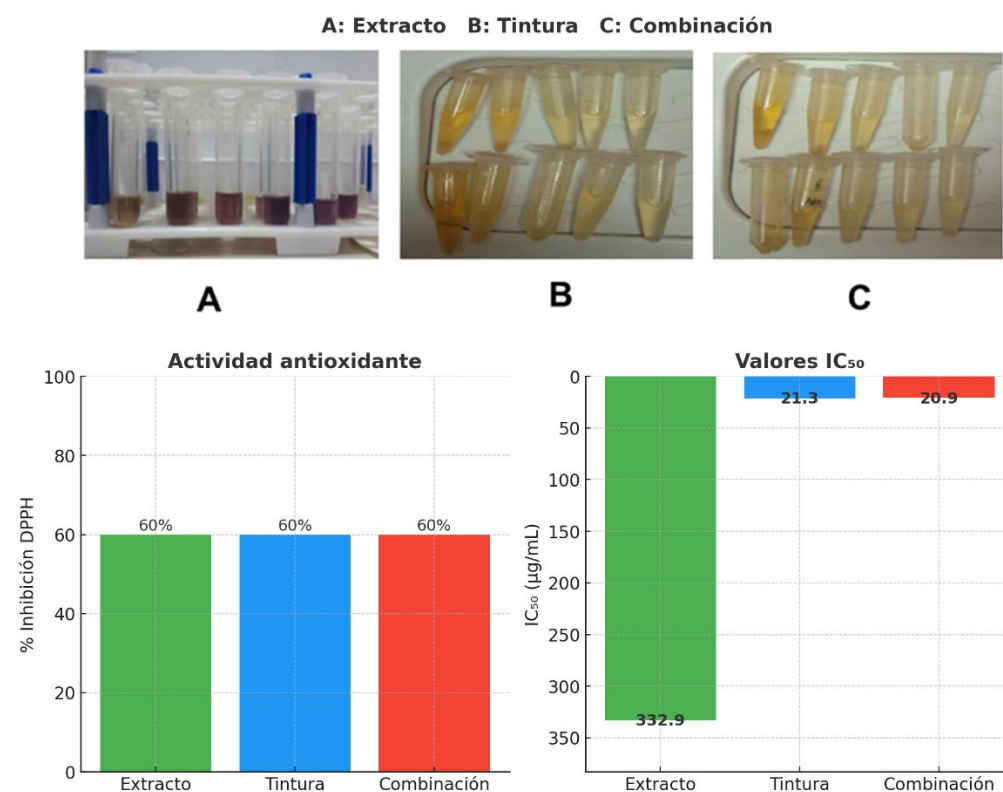


Figura 1. Evaluación visual y cuantitativa de la actividad antioxidante del extracto de *Thalassia testudinum* (A), la tintura de propóleos (B) y su combinación (C) mediante el ensayo de captura del radical DPPH. El panel superior muestra el cambio cualitativo de color púrpura a amarillo, indicando la reducción del 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo por compuestos antioxidantes. El panel inferior presenta el porcentaje de inhibición de DPPH a la concentración evaluada (~60% para todas las muestras) y los valores de IC₅₀, donde la tintura ($20,9 \pm 4,4$ µg/mL) y la combinación ($21,3 \pm 3,3$ µg/mL) exhibieron una mayor capacidad de captura de radicales que el extracto.

En la figura 2 se muestran las curvas de dosis - respuesta de la actividad secuestradora del DPPH donde se experimenta un valor de aproximadamente 60 % de inhibición para las muestras y la combinación de estas. Como se puede apreciar, la tintura de propolina y la combinación de ambas muestras mostraron el mayor efecto, pues a una concentración más baja ($20,9/4,4$ µg/mL y $21,3/3,3$ µg/mL, respectivamente) lograron reducir el contenido del radical DPPH a la mitad de su valor inicial.

El análisis estadístico de los resultados evidenció diferencias significativas entre las muestras analizadas ($p < 0,05$). La combinación del extracto de *T. testudinum* y la tintura de propolina resulta beneficiosa para elaborar una formulación cosmética.

Curvas dosis–respuesta de la actividad antioxidante (DPPH)

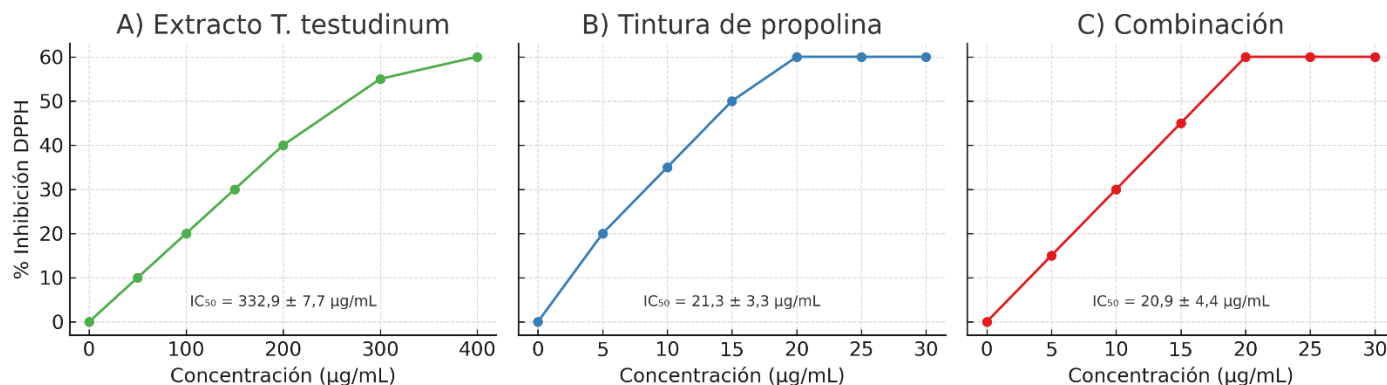


Figura 2. Curvas dosis–respuesta de la actividad de captura del radical DPPH para el extracto de *Thalassia testudinum* (A), la tintura de propóleos (B) y su combinación (C). Los puntos representan el porcentaje medio de inhibición (%) ± DE (n=3). La línea discontinua indica el 50% de inhibición, mostrando los valores de IC₅₀ calculados para cada tratamiento.

Parámetros de calidad y estabilidad del Gel

Los tres lotes de geles elaborados fueron sometidos a una serie de evaluaciones de calidad, que según su forma farmacéutica, se encuentran preestablecidas.

Desde el punto de vista organoléptico, se percibió un olor característico a la fragancia que se utilizó, color crema - carmelita, manteniendo un aspecto homogéneo y agradable, con brillo, sin grumos ni arenosidad. Dichas características permanecieron invariables durante el tiempo de estudio. El resto de los parámetros físico-químicos y tecnológicos se mantuvieron invariables durante los 45 días de estudio y se presentan en la tabla 3.

Parámetros	Tiempo (días)				
	0		15	30	45
X/DE					
pH	1	6,33/0,01 ^a	6,32/0,01 ^a	6,33/0,01 ^a	6,31/0,01^a
	2	6,33/0,005 ^a	6,33/0,01 ^a	6,32/0,01 ^a	6,33/0,02^a
	3	6,32/0,01 ^a	6,30/0,01 ^a	6,32/0,01 ^a	6,33/0,01^a
Extensibilidad (cm²)	1	72,59/1,36 ^b	72,86/0,99 ^b	71,22/0,81 ^b	72,19/0,01^b
	2	70,10/0,66 ^b	71,16/0,96 ^b	72,80/0,88 ^b	72,50/0,02^b
	3	72,33/1,05^b	72,90/0,59^b	71,69/0,07^b	72,00/0,05^b

Leyenda: X/DE valor medio de las determinaciones/desviación estándar (n=3). Letras iguales en una misma fila muestran que no existen diferencias significativas y letras diferentes que si existen diferencias significativas para un 95 % de confianza.

Tabla 3. Parámetros físico-químicos y tecnológicos determinados a los lotes de gel.

Control microbiológico del Gel

Los límites establecidos para la contaminación microbiana están definidos de acuerdo al uso para el que serán destinadas las preparaciones. La tabla 4 muestra los resultados obtenidos para la formulación elaborada y los límites máximos admisibles establecidos por la literatura. Como se puede observar los lotes evaluados no mostraron proliferación microbiológica.

Análisis	Límites Microbiológicos Permisibles (UFC/g)	Resultados (UFC/g)		
		Lotes del gel		
		1	2	3
Conteo total de bacterias	≤ 100	Ausencia		
Conteo total enterobacterias	≤ 10	Ausencia		
Conteo total de hongos	≤ 10	Ausencia		
<i>Staphylococcus aureus</i>	Ausencia	Ausencia		
<i>Pseudomona aeruginosa</i>	Ausencia	Ausencia		

Tabla 4. Resultados del análisis microbiológico de los tres lotes del gel *T. testudinum* y Propolina.

DISCUSIÓN

La determinación del pH tanto del extracto de *T. testudinum* como de la tintura de propolina mostraron valores débilmente ácidos, en correspondencia con lo referido por Hernández² para el extracto de *T. testudinum* y lo planteado por Cedeño¹⁴ para la tintura de propolina. El carácter ácido pudo estar dado por la presencia de diferentes metabolitos secundarios tales como: ácidos fenólicos, flavonoides, taninos, triterpenoides y esteroides, cuyas estructuras presentan grupos funcionales como los hidroxilos fenólicos que aportan esta característica al medio.

La tintura de propolina mostró el mayor contenido de sólidos totales, lo podría servir de base para el ajuste de dosis en estudios farmacológicos y toxicológicos, cuando no se conoce la concentración del principio activo que ejerce la acción.

El índice de refracción y la densidad constituyen pruebas rápidas y simples para verificar el grado de pureza y el porcentaje de soluto disuelto en una determinada solución, como punto crítico de control¹⁵. Los resultados obtenidos para el extracto de *T. testudinum* y la tintura de propolina en cuanto al índice de refracción (1,3532 y 1,3587) y densidad relativa (0,9359 y 0,9085) respectivamente, se encuentran entre los límites establecidos correspondiendo con lo descrito por Alba¹⁶.

Los fenoles o compuestos fenólicos son sustancias orgánicas cuyas estructuras moleculares contienen al menos un grupo fenol. Algunos son solubles en disolventes orgánicos, otros son glucósidos o ácidos carboxílicos y por lo tanto solubles en agua y en forma de polímeros muy grandes e insolubles¹⁷.

El contenido de fenoles totales en el extracto fue determinado por el método de Folin-Ciocalteu. Es el método más utilizado, sencillo, económico y conveniente en el análisis cuantitativo de extractos de plantas. El reactivo de Folin al reaccionar con los compuestos fenólicos presentes en una preparación, da lugar a óxidos de color azul (óxidos de wolframio y molibdeno) que exhiben un máximo de absorción a 765 nm, lo cual permite su cuantificación por espectroscopia UV/visible. Diferentes estándares fenólicos como ácido gálico, ácido ferúlico, ácido clorogénico, se han utilizado para las curvas de calibración en este ensayo¹⁸.

Como se observa en la Tabla 2. el extracto de *T. testudinum* y la tintura de propolina mostraron un valor de compuestos fenólicos similar, estadísticamente no se evidenciaron diferencias significativas ($p < 0,05$). Este resultado está en correspondencia con lo encontrado en los tamizajes fitoquímicos previamente realizados que muestran una elevada presencia de polifenoles en ambos productos^{2,14}.

Para la estimación de flavonoides totales se utilizó el método colorimétrico del tricloruro de aluminio, el cual se basa en la formación de quelatos de aluminio-flavonoides. Debido a sus grupos oxo e hidroxilos, los flavonoides tienen la afinidad de unirse a metales como el aluminio. Como resultado se produce un complejo de color amarillo que posee un máximo de absorción en el rango de 410-440 nm^{19,20}.

El contenido de flavonoides (Tabla 2) difiere significativamente ($p < 0,05$) para ambas muestras en estudio, siendo la tintura de propolina la de mayor contenido. Es importante destacar, que aunque la producción de compuestos activos en plantas medicinales está guiada por procesos genéticos, también está fuertemente influenciada por factores ambientales, los cuales causan cambios en el crecimiento de las plantas, así como la cantidad y calidad de sus metabolitos. Factores como la temperatura, régimen de precipitaciones, el aire, la disponibilidad de nutrientes en el suelo en el momento de la colecta, la iluminación, pueden tener un impacto importante sobre la concentración de metabolitos secundarios^{21,22}.

La actividad antioxidante se determinó por el método del DPPH. En su forma de radical libre, el DPPH[•] absorbe a 517 nm y cuando sufre reducción ante la acción de un antioxidante esta absorción desaparece. En consecuencia, la reducción del DPPH[•] proporciona un índice para estimar la capacidad del compuesto de prueba para atrapar radicales²³. Los resultados corroboran la actividad antioxidante atribuida a estos productos, asociado a la presencia de compuestos fenólicos y flavonoides. Varias investigaciones han demostrado que los compuestos fenólicos obtenidos de plantas tienen la capacidad de donar electrones, acción en la que sus grupos hidroxilos pueden contribuir directamente a la acción antioxidante. Algunos de ellos estimulan la síntesis de moléculas antioxidantes endógenas en la célula, inhiben la formación de radicales libres, promueven la descomposición del peróxido, la inactivación de metales, la eliminación de oxígeno en sistemas biológicos^{23,24}.

Al analizar los parámetros de calidad evaluados a los tres lotes de geles se pudo constatar que el pH obtenido en cada formulación, se encontró en el rango entre 6,31 y 6,33, valores cercanos a la acidez característica de la piel. Según la literatura consultada, el valor del pH de la piel es variable, según la zona del cuerpo, la edad, e incluso algunos autores incluyen la raza. La superficie tiene un pH ácido y oscila entre 4 y 6²⁵⁻²⁷. No se apreciaron diferencias estadísticamente significativas entre las muestras ($p > 0,05$).

Es importante destacar que la prueba de extensibilidad proporciona una medida del umbral de deformación del sistema, y es inversamente proporcional a la consistencia de las muestras²⁸⁻³⁰. En la experiencia realizada no se observaron diferencias significativas entre lotes.

Los conservantes antimicrobianos son sustancias agregadas a las formas farmacéuticas no estériles, para protegerlas del desarrollo microbiano o de microorganismos que se introducen sin ser advertidos durante el proceso de fabricación o después de éste. La eficacia antimicrobiana, ya sea inherente al producto o producida por la adición de un preservante, debe ser demostrada, principalmente cuando las formas farmacéuticas son multidosas orales y tópicas¹³.

En el caso particular del trabajo se realizó la evaluación antimicrobiana al gel de *T. testudinum* y de la propolina, donde los conservantes o preservantes utilizados fueron benzoato de sodio y bisulfito de sodio que son de probada eficacia en la industria cosmética.

CONCLUSIONES

Se propone una formulación (gel) utilizando por primera vez la combinación del extracto obtenido de la planta marina *T. testudinum* y la tintura de propolisa, aprovechando sus potencialidades activas ya que elaboro una innovación en cosmética natural. En el estudio se establecieron los parámetros de calidad y se demuestra el efecto antioxidante de ambos principios activos y su combinación. Asimismo, se realizan los análisis físico-químicos del gel y el estudio fitoquímico del mismo, demostrando su estabilidad durante 45 días. Los resultados avalan la factibilidad del uso de la combinación del extracto de *T. testudinum* y la tintura de propolisa para la elaboración de formulaciones con fines cosméticos. Futuras investigaciones deben enfocarse en escalabilidad y validación clínica para posicionarla en el mercado global.

Conflicto de intereses:

El manuscrito fue preparado y revisado con la participación de todos los autores, quienes declararon que no existe conflicto de intereses que ponga en riesgo la validez de los resultados presentados.

Liz Barbara Pereira Cuni

Yamilet I. Gutiérrez Gaitén

Kethia Lina González Gomez

Lorena Safonts Grenier

Ramón Scull Lizama

Idania Rodeiro Guerra

Contribución de los autores:

Conceptualización: Liz Barbara Pereira Cuni, Idania Rodeiro Guerra

Metodología: : Liz Barbara Pereira Cuni, Yamilet I. Gutiérrez Gaitén, Ramón Scull Lizama

Software: Kethia Lina González Gómez, Idania Rodeiro Guerra

Validación: Lorena Safonts Grenier, Kethia Lina González Gomez

Análisis formal: Lorena Safonts Grenier, Idania Rodeiro Guerra

Conservación de datos: Liz Barbara Pereira Cuni, Kethia Lina González Gomez

Redacción-redacción del borrador original: Liz Barbara Pereira Cuni, Yamilet I. Gutiérrez Gaitén, Ramón Scull Lizama

Redacción-revisión y edición: Liz Barbara Pereira Cuni, Yamilet I. Gutiérrez Gaitén, Idania Rodeiro Guerra

Obtención de financiación: La investigación fue financiada por los proyectos: Desarrollando el potencial de la *Thalassia testudinum* en el sector de salud en Cuba de acuerdo con el Protocolo de Nagoya y la conservación de la biodiversidad (GEF, 11037, PNUD), Desarrollo de instrumentación y capacidades en biotecnología de plantas para la producción sostenible *in vitro* de (nano)formulaciones contra el cáncer de piel (CU2022TEA501A102, VLIR, Bélgica) y el proyecto Desarrollo de capacidades para la obtención de un bioproducto a partir de *Thalassia testudinum* en bienestar de la salud humana bajo criterios de conservación de la biodiversidad y el Protocolo de Nagoya (PS211LH003-03, CITMA, Cuba).

REFERENCIAS

1. Roy A, Khan A, Ahmad I, Alghamdi S, Rajab BS, Babalghith AO, Mohammad Y, Alshahrani, Saiful I and Islam M. Flavonoids a bioactive compound from medicinal plants and its therapeutic applications. *BioMed Research International*, 2022; 2022. <https://doi.org/10.1155/2022/5445291>.
2. Hernandez BI, Guerra IR, Declerck K, Herrera IJA, Perez NC, Van CG y Vanden BW. Marine seagrass extract of *Thalassia testudinum* suppresses colorectal tumor growth, motility and angiogenesis by autophagic stress and immunogenic cell death pathways. *Marine Drugs*, 2021, 19(2), 52.
3. Delgado RL, Gonzalez K, Mesta F, Couder B, Tavarez Z, Zavala R & Vanden BW. Polyphenolic fraction obtained from *Thalassia testudinum* marine plant and thalassiolin B exert cytotoxic effects in colorectal cancer cells and arrest tumor progression in a xenograft mouse model. *Frontiers in Pharmacology*, 2020, 11, 592985.
4. García GRU, Cruz SF, Alarcón AFJ, Nieto TA & Gallegos MME. Análisis fitoquímico cualitativo de los extractos acuosos de *Thalassia testudinum* banks ex köning et sims de la localidad de Champotón, Campeche, México, durante el ciclo anual 2016-2017. *Polibotánica*, 2019:(48), 151-168.
5. Goodier CS, Barragán NDG, Moscoso FJT, Fernández AJR. Eficacia del propóleo como agente inhibidor de caries. *Rev Cubana Investig Bioméd*. 2023;42(2).
6. Castañedo HZA, Meneses MAI, Águila JE, Marrero CO y Seijo WM. Estudios de seguridad toxicológica de la Tintura Hidroalcohólica de Propóleos producida en el Centro de Bioactivos Químicos 2022.
7. Miranda MM, Cuéllar AC. Manual de prácticas de laboratorio. Farmacognosia y productos naturales. La Habana 2000; 25-49,74-79.
8. Rashid MO, Akter M, Uddin J, Islam S, Rahman M, Jahan K, Rahman M, Sadik G. Antioxidant, cytotoxic, antibacterial and thrombolytic activities of *Centella asiatica* L.: possible role of phenolics and flavonoids. *Clinical Phytoscience* 2023; 9: 1-9. DOI: 10.1186/s40816-023-00353-8
9. Tabart J, Kevers C, Pincemail J, Defraigne JO and Dommes J. Comparative antioxidant capacities of phenolic compounds measured by various tests. *Food chemistry* 2009; 113(4), 1226-1233.
10. Iraizoz A, Bilbao O y Barrios MA. Conferencias de tecnología farmacéutica II. La Habana: Enpes 1990; 124.
11. Regulación No. 28. Requerimientos de los estudios de estabilidad para el registro de productos farmacéuticos nuevos y conocidos. República de Cuba. Ministerio de Salud Pública. Centro para el Control Estatal de la Calidad de los Medicamentos (CECMED) 2000; 4-5.
12. PNO-LAB 12-002. Edición 02-02. Determinación de caracteres organolépticos, pH y extensibilidad de geles, cremas y ungüentos. La Habana: Empresa Laboratorio Roberto Escudero Díaz 2002.
13. NC 68:2015 Cosméticos- Límites microbianos- Determinaciones.
14. Cedeño FA, Garofalo CB & García MS. Caracterización del propóleo del cantón Rocafuerte y su aplicación en la elaboración de un producto cosmético. *MQRInvestigar*, 2022: 6(4), 438-454.

15. Shin HJ, Choi SW & Ok G. Qualitative identification of food materials by complex refractive index mapping in the terahertz range. *Food Chemistry* 2018; 245:282-288.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.10.056>
16. Alba de Armas, M. Á., Saucedo Hernández, Y., Sotolongo Moya, L., Norman Montenegro, O., Gómez Saucedo, M. L., & Jorge Rodríguez, M. E. (2022). Optimización de la tecnología de la elaboración de la tintura de propolisa. *Centro Azúcar*, 49(3), 69-77.
17. Vasquez FCX e Isuiza Tamayo ARD. Técnicas de remoción de fenoles en aguas residuales industriales 2022
18. Echegaray N, Pateiro M, Munekata PES, Lorenzo JM, Chabani Z, Farag MA and Domínguez, R. Measurement of antioxidant capacity of meat and meat products: Methods and applications. *Molecules* 2021; 26, 3880.
19. Shraim AM, Ahmed TA, Rahman M, Hijji YM. Determination of total flavonoid content by aluminum chloride assay: A critical evaluation. *LWT - Food Science and Technology* 2023; 150. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.111932>
20. Febrika ZN, Fujiko M, Dachi K, Nerdy N, Wira SA. Analysis of flavonoid content and antioxidant activity of *Solanum ertianthum* Extract. *IOP Conf. Series: Earth and Environmental Science* 2024; 1356. DOI: 10.1088/1755-1315/1356/1/012103
21. Mousavi SS, Karami A, Haghighi TM, Alizadeh S & Maggi F. Phytotoxic potential and phenolic profile of extracts from *Scrophularia striata*. *Plants*, 2021; 10(1), 135.
22. Yuan Y, Tang X, Jia Z, Li C, Ma J, Zhang J. The effects of ecological factors on the main medicinal components of *Dendrobium officinale* under different cultivation modes. *Forests* 2020; 11(94). <https://doi.org/10.3390/f11010094>.
23. Ochoa NA, Rangel R, Ynalvez MA & Ynalvez RA. Antioxidant activity and phytochemical screening in *Acacia rigidula* Benth. leaves. *Advances in Bioscience and Biotechnology*, 2024;15(1), 15-38.
24. Sharma R, & Kaul V. Estimation of antioxidant activity and quantification of specific phenols and flavonoids in *Asphodelus tenuifolius* Cavan.(Onion weed) using HPLC. *Vegetos*, 2025;38(2), 632-641.
25. Kumar P, Das A. Acid mantle: What we need to know. *Indian J. Dermatol. Venereol. Leprol.* 2023; 89:729-732.
26. Choi EH, Kang H. Importance of stratum corneum acidification to restore skin barrier function in eczematous diseases. *Ann. Dermatol.* 2024; 36:1-8.
27. Mijaljica D, Townley J.P, Klionsky D.J, Spada F, Lai M. The Origin, Intricate Nature, and Role of the Skin Surface pH (pHSS) in Barrier Integrity, Eczema, and Psoriasis. *Cosmetics* 2025; 12, 24. Disponible en: <https://doi.org/10.3390/cosmetics12010024>
28. Sharma U, Arjariya S, Chouksey R, Sharma N. A Review: Formulation and Evaluation of Pharmaceutical Gel. *Journal of Pharmaceutical Negative Results* 2022; 13(1):1344-1362. Disponible en: <https://doi.org/10.47750/pnr.2022.13.S01.160>

29. Metta S, Mohammed AK, Sai LM, Devi P, Shruthi K. A Review: Pharmaceutical Gels and Its Types with Prominence Role of Its Drug Delivery Systems. International Journal of Research and Analytical Reviews 2023; 10(2):686-701. Disponible en: <https://www.researchgate.net/publication/372195691>
30. Bandyopadhyay R, Selvakumar K, Mohamed JMM, Ebrahim D. A Review of Process Validation of Hydrogel Formulation. Int J Pharm Phytopharmacol Res. 2024; 14(1):36-42. Disponible en: <https://doi.org/10.51847/fXduKIeSez>

Recibido: 28 de Marzo de 2025 / **Aceptado:** 8 de agosto de 2025 / **Publicado:** 15 de septiembre de 2025

Citación: Pereira Cuni LB, Safonts Grenier L, Gutiérrez Gaitén YI, González Gomez KL, Scull Lizama R, Rodeiro Guerra I. Desarrollo y caracterización de un gel fitocosmético antioxidante a base de *Thalassia testudinum* y la tintura de propolisa: evaluación fitoquímica, tecnológica y microbiológica. *Bionatura Journal* 2025;2(3):4. doi: 10.70099/BJ/2025.02.03.4

Información adicional

La correspondencia debe dirigirse a: lizbarbara1991@gmail.com; idania.rodeiro@infomed.sld.cu

Información sobre la revisión por pares. *Bionatura Journal* agradece a los revisores anónimos su contribución a la revisión por pares de este trabajo utilizando <https://reviewerlocator.webofscience.com/>.

ISSN: 3020-7886

Todos los artículos publicados por *Bionatura Journal* son de acceso libre y permanente en línea inmediatamente después de su publicación, sin gastos de suscripción ni barreras de registro.

Nota del editor: *Bionatura Journal* se mantiene neutral en cuanto a las reclamaciones jurisdiccionales en los mapas publicados y las afiliaciones institucionales.

Copyright: © 2025 por los autores. Se presentó para su posible publicación en acceso abierto bajo los términos y condiciones de la licencia Creative Commons Attribution (CC BY) (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).