

PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DE VALPARAÍSO  
FACULTAD DE CIENCIAS AGRONÓMICAS Y DE LOS ALIMENTOS  
ESCUELA DE AGRONOMÍA

TALLER DE TÍTULO

Taller de Título presentado como parte de los requisitos para optar al título de  
Ingeniero Agrónomo

**EVALUAR EL EFECTO DE DOS TÉCNICAS, TIEMPOS Y TEMPERATURAS  
SOBRE LA EXTRACCIÓN DE COMPUESTOS FENÓLICOS ANTIOXIDANTES  
PROVENIENTES DE VITIS VINÍFERA L. CV. PAÍS Y, EL EFECTO DE ESTOS  
COMPUESTOS SOBRE LA ESTABILIDAD DE UNA FORMULACIÓN BASE,  
PARA LA CREACIÓN DE UNA MÁSCARA FACIAL ANTIENVEJECIMIENTO.**

MARIO ANTONIO ARÉVALO PIÑEDA

APROBACIÓN

Nombre

Firma

Profesor Guía

Sr. JOSE ANTONIO OLAETA C.  
Ingeniero Agrónomo, M.Sc.

\_\_\_\_\_

Quillota, marzo 2019

**FACULTAD DE  
CIENCIAS AGRONÓMICAS  
Y DE LOS ALIMENTOS**



**PONTIFICIA  
UNIVERSIDAD  
CATÓLICA DE  
VALPARAÍSO**

**TALLER DE TÍTULO**

## **PROYECTO DE INVESTIGACIÓN**

Evaluar el efecto de dos técnicas, tiempos y temperaturas sobre la extracción de compuestos fenólicos antioxidantes provenientes de *Vitis vinífera* L. cv. País y, el efecto de estos compuestos sobre la estabilidad de una formulación base, para la creación de una máscara facial antienvjecimiento.

**MARIO ANTONIO ARÉVALO PIÑEDA**

**QUILLOTA, CHILE**

## Índice

Datos personales.....	1
Título del Proyecto.....	1
Marco Teórico .....	2
Situación actual en Chile.....	2
Actividad antioxidante, salud y cosmética .....	2
Definición del problema u oportunidad.....	3
Hipótesis .....	4
Objetivo general .....	4
Objetivos específicos.....	4
Ensayo 1 .....	4
Ensayo 2.....	4
Contenido polifenólico .....	5
Concentración de compuestos fenólicos en distintas variedades de uva .....	6
Factores que influyen en la concentración de fenoles .....	6
Métodos de extracción de compuestos fenólicos .....	7
Extracción convencional sólido-líquido .....	8
Extracción no convencional sólida-líquida asistida por ultrasonido.....	9
Mascarilla facial.....	10
Formulación para máscara facial anti envejecimiento .....	12
Estabilidad de la formulación .....	13
Metodología.....	14
Ensayo 1.....	16
Extracción de compuestos fenólicos de uva por el método sólido-líquido.....	16
Extracción de compuestos fenólicos de uva por el método de ultrasonido.....	16
Determinación de la concentración de compuestos fenólicos obtenidos.....	17
Caracterización de las propiedades químicas de los compuestos fenólicos de uva.....	18
Ensayo 2.....	19
Formulación de una base enriquecida en compuestos fenólicos antioxidantes provenientes de <i>Vitis vinífera</i> L. cv. País, para ser usada como una máscara facial anti envejecimiento. ....	19

<b>Evaluación de estabilidad en una formulación base enriquecida en compuestos fenólicos antioxidantes provenientes de Vitis vinífera L. cv. País, para ser usada como una máscara facial anti envejecimiento.....</b>	<b>20</b>
<b>Diseño experimental y análisis estadístico.....</b>	<b>21</b>
<b>Bibliografía.....</b>	<b>22</b>
<b>Anexos.....</b>	<b>26</b>
<b>Anexo 1: plan de trabajo.....</b>	<b>26</b>
<b>Anexo 2: Carta Gantt.....</b>	<b>27</b>
<b>Anexo 3: Resultado esperado:.....</b>	<b>28</b>
<b>Anexo 4: Descripción de cargos y funciones y organigrama.....</b>	<b>30</b>
<b>Anexo 5: presupuesto por año.....</b>	<b>31</b>
<b>Recursos humanos.....</b>	<b>31</b>
<b>Subcontratos.....</b>	<b>31</b>
<b>Inversión.....</b>	<b>32</b>
<b>Insumos.....</b>	<b>33</b>
<b>Materiales.....</b>	<b>34</b>
<b>Anexo 6: Costos totales.....</b>	<b>35</b>

**Datos personales.**

RUT	18.751.342-1
Apellido Paterno	Arévalo
Apellido Materno	Piñeda
Nombre(s)	Mario Antonio
Teléfono	9 54625947
Correo Electrónico	<a href="mailto:mario201994@gmail.com">mario201994@gmail.com</a>

**Título del Proyecto.**

“Evaluar el efecto de dos técnicas, tiempos y temperaturas sobre la extracción de compuestos fenólicos antioxidantes provenientes de *Vitis vinífera* L. cv. País y, el efecto de estos compuestos sobre la estabilidad de una formulación base, para la creación de una máscara facial antienvjecimiento.”

## **Marco Teórico**

### **Situación actual en Chile**

Según Lacoste (2010), esta cepa - descrita como tradicional - logró resistir en el tiempo a pesar de las tendencias hacia su declinación. En el año 1985, se cultivaban en Chile 29.400 hectáreas, mientras que, al año 2012 dicha superficie disminuye a 7.247,52 hectáreas, correspondiente al 5,63% del total nacional de vides para vinificación. (SAG, 2012)

A lo largo del país, el cultivo de esta sepa se concentra en la séptima y octava región. La séptima región posee 4.714,49 hectáreas de uva País y la Octava región presenta 2.462,52 hectáreas cultivadas, ambas en conjunto representan el 99,02% del total de hectáreas plantadas con *Vitis vinífera cv. País* en Chile. (SAG, 2012)

### **Actividad antioxidante, salud y cosmética**

Las principales actividades biológicas encontradas para los polifenoles constituyentes de las uvas son: antioxidante, anticarcinogénica, inmunomoduladora, anti diabetes, antiaterogénico, neuroprotector, anti obesidad, anti envejecimiento. (Soto, 2015)

La piel es el órgano de mayor volumen en un ser humano y, la enfermedad de malignidad cutánea es uno de los males más frecuentes en esta época. De acuerdo a los estudios existentes, entre el 40 y el 50% de la población habrá padecido al menos un tipo de cáncer cutáneo al llegar a los 65 años. La radiación ultravioleta genera un incremento en la producción de especies reactivas del oxígeno o radicales libres en la piel humana, estos son responsables del daño a las proteínas, lípidos y sobre todo al DNA celular. Si estos daños no son reparados, se genera un exceso de radicales, por una disminución de las defensas antioxidantes, lo que encamina a la carcinogénesis. (Ocampo, 2011)

En este sentido, los compuestos fenólicos presentan una amplia variedad de actividades de interés en cosmética, tales como antioxidante, anti microbiana, anti inflamatoria o anti envejecimiento. Por ello, cada vez se utilizan más formulaciones enriquecidas con antioxidantes en los cosméticos anti envejecimiento, como una estrategia de defensa en contra de las especies reactivas del oxígeno. (Soto, 2015)

### **Definición del problema u oportunidad.**

En los últimos años el cultivo de *Vitis vinífera cv. País*, ha sufrido una importante disminución como consecuencia de la baja rentabilidad de esta cepa y su competición con variedades de uvas francesas introducidas en Chile a mediados del siglo XIX.

Según Lacoste (2010), en el año 1985 se cultivaban en Chile 29.400 hectáreas de uva País, mientras que, en el año 2012, sólo dicha superficie ascendía a 7.247,52 hectáreas lo que corresponde al 5,63% del total nacional de vides para vinificación. (SAG, 2012)

No obstante, recientemente *Vitis vinífera cv. País* ha despertado un gran interés en la viticultura nacional, tanto por su valor cultural como también social, ya que en la zona de secano interior de las regiones de Maule y Biobío se presenta como la única alternativa de producción que tienen cerca de 8.000 medianos y pequeños agricultores, principalmente, por las condiciones edafoclimáticas limitantes que se presentan en la zona,

*Vitis vinífera L*, es una especie que se caracteriza por sus altos contenidos en compuestos antioxidantes (Aguilar, 2015). Por lo tanto, su aprovechamiento en distintos productos que pueden ser comercializados en la industria fármaco – cosmética, por sus propiedades beneficiosas para la salud y el cuidado de la piel, puede proveer una alternativa de comercialización para los agricultores de la zona de secano interior en las regiones de Maule y Biobío.

## Hipótesis

“El uso de ultrasonido en la extracción de compuestos fenólicos antioxidantes provenientes de *Vitis vinífera L. cv. País*, en conjunto con menores tiempos y temperaturas durante la extracción, afectará positivamente el rendimiento de compuestos fenólicos”.

“El uso de compuestos antioxidantes provenientes de *Vitis vinífera L. cv. País*, en diferentes cantidades para la formulación de una máscara facial anti envejecimiento, no afectará la estabilidad de la formulación.”

## Objetivos

### Objetivo general

- Evaluar el efecto de 2 técnicas, tiempos y temperaturas sobre la extracción y rendimiento de compuestos fenólicos antioxidantes provenientes de *Vitis vinífera L. cv. País*, y evaluar, cómo estos compuestos inciden sobre la estabilidad de una formulación para la creación de una máscara facial anti envejecimiento.

### Objetivos específicos

#### Ensayo 1

- Evaluar el efecto de 2 métodos de extracción sobre el rendimiento de compuestos fenólicos antioxidantes presentes en *Vitis vinífera L. cv. País*, como lo son: extracción sólido-líquido y extracción sólido-líquido asistida por ultrasonido.
- Evaluar el efecto de 2 temperaturas de extracción sobre el rendimiento de compuestos fenólicos antioxidantes presentes en *Vitis vinífera L. cv. País*.
- Evaluar el efecto de 2 tiempos de extracción sobre el rendimiento de compuestos fenólicos antioxidantes presentes en *Vitis vinífera L. cv. País*.

#### Ensayo 2

- Desarrollar una formulación de origen para ser usada como máscara facial anti envejecimiento en base a compuestos fenólicos antioxidantes provenientes de *Vitis vinífera L. cv. país*.

- Evaluar el efecto de 3 volúmenes de compuestos fenólicos antioxidantes provenientes de *Vitis vinífera L. cv. País*, sobre la estabilidad de una formulación base para máscara facial.
- Evaluar el efecto de 3 temperaturas diferentes sobre la estabilidad de una formulación base para máscara facial.

### **Contenido polifenólico**

Se ha comprobado que *Vitis vinífera L.* es una de las plantas que contiene altos índices de polifenoles en sus diferentes tejidos. Estos compuestos están presentes en diferentes partes de la planta y juegan un rol de protección contra enfermedades, plagas y condiciones ambientales adversas. Son generados como una respuesta al estrés, por lo que mientras más estrés se genere en la planta más polifenoles son biosintetizados. (Aguilar, 2015 y Molina, 2010)

La composición de compuestos fenólicos es altamente variable según la especie o cultivar, así como también dentro de los diferentes tejidos donde se encuentran, ya sea hojas, tallos, pulpa, semillas y hollejos. Para el presente estudio se utilizarán bayas pertenecientes a *Vitis vinífera L. cv. País*.

Mientras que, las condiciones ambientales como exposición a la luz, temperatura y tipo de suelo acompañados de prácticas agronómicas como riego, composición mineral del suelo, tiempo de cosecha, madurez durante la cosecha, rendimiento, vigor de la planta, tamaño de la baya etc. y condiciones de almacenamiento y procesamiento después de la cosecha influyen en la calidad y composición de estos compuestos. (Lutz *et al.*, 2011 y Castro, 2015)

Los compuestos fenólicos de la uva se localizan mayoritariamente en las partes sólidas, como lo son piel, semilla y tejido vascular. En cambio, en la pulpa, se destaca la presencia de ácidos fenólicos y sus derivados. Los flavonoles y antocianos se encuentran localizados en las células del hollejo de la uva mientras que los flavan-3-oles se localizan en las semillas de las uvas. (Latorre, 2016)

### Concentración de compuestos fenólicos en distintas variedades de uva

La concentración de compuestos fenólicos se encuentra influenciada por la variedad, debido a que cada una reúne una serie de condiciones que favorecen una mayor concentración de los compuestos fenólicos en las diferentes estructuras, tales como tamaño de la baya, vigor propio de la variedad, producción etc. (Castro, 2005)

Los datos establecidos en el cuadro que se presenta a continuación son provenientes de la cosecha 2013 de Sociedad Viña Zamora Ltda., ubicada en la localidad de San Nicolás, Región del Biobío de Chile.

Cuadro 1: Concentración total (mg L<sup>-1</sup>) de compuestos fenólicos presentes en diversos tejidos y en distintas variedades de uva.

	Tintorera	Cabernet sauvignon	País
<b>Hollejos</b>	3.364,10	1.237,10	242,5
<b>Hojas</b>	3.451,40	2.289,20	1.355,80
<b>Tallos</b>	986,2	70,2	43,1
<b>Jugo</b>	2.375	31	15,2
<b>Total</b>	10.176,70	3.627,50	1.656,60

Fuente: Elaboración propia a partir de datos obtenidos de Aguilar, 2015.

### Factores que influyen en la concentración de fenoles

La síntesis de compuestos fenólicos durante la etapa de maduración de las bayas depende de varios factores, los que pueden ser relativos de la variedad en cuestión, así como también aquellos relativos al manejo del viñedo y las condiciones edafoclimáticas presentes.

Dentro de estos factores encontramos los siguientes: (i) el clima, el cual es importante en la velocidad de síntesis de los distintos constituyentes del fruto (Guzmán, 2001); (ii) el suelo, que según sus características físicas y químicas influye en la concentración de fenoles totales (Castro, 2005), (iii) la disponibilidad de agua y fertilizantes (Guillou, 2012); (iv) grado de madurez, ya que a medida que avanza la etapa de maduración el contenido

total de fenoles tiende a (Romero, 2008); y (v) el sistema de conducción y raleo de racimos (Guillou, 2012).

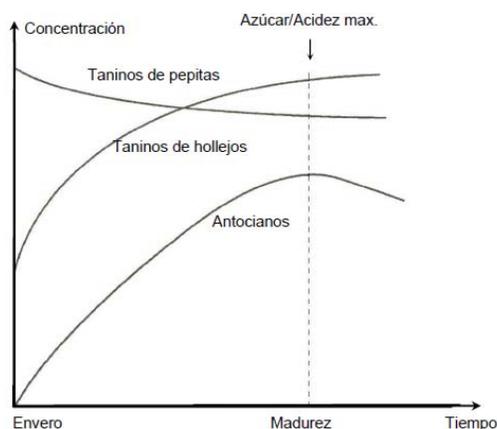


Figura 1. Evolución del contenido en antocianos y taninos durante la maduración.

Fuente: Romero (2008).

### Métodos de extracción de compuestos fenólicos

La extracción es un paso importante en la recuperación de compuestos fenólicos. Lo anterior porque, para la obtención de estos componentes naturales es preciso lograr su separación desde la matriz vegetal en la que se encuentran. Existen diferentes métodos para la extracción de bioactivos a partir de matrices vegetales, estos pueden ser convencionales y no convencionales. En este estudio nos centraremos sólo en 2 métodos, ya que presentan según otros autores las mejores extracciones.

Existen métodos convencionales como la extracción sólido - líquido y métodos no convencionales. Estos últimos, se han desarrollado recientemente y son efectivos en uva, logrando diferencias significativas en comparación al método convencional.

### **Extracción convencional sólido-líquido.**

Es un método muy utilizado en la recuperación de compuestos fenólicos a partir de uva, consiste en la extracción de muestras sólidas con solventes orgánicos los cuales son capaces de disolver la muestra. En la extracción sólido-líquido se recuperan compuestos solubles mediante la difusión desde una matriz sólida hacia una matriz líquida. (Venanzi, 2014)

Este proceso consta de tres etapas. En la primera de ellas, el material vegetal debe ser reducido de tamaño y posteriormente secado para evitar problemas de inhibición en la extracción. En una segunda etapa, se da cuenta de la extracción de compuestos antioxidantes a una determinada temperatura, que permita la mayor obtención posible, finalmente en la tercera etapa se debe hacer una concentración del extracto, donde los restos de solventes se deben eliminar para lograr una concentración lo más pura posible. (Cerón *et al.*, 2011)

Los compuestos fenólicos con capacidad antioxidante son solubles en disolventes polares, generalmente mediante el uso de agua, metanol y etanol, siendo el metanol un 20% más eficiente que el etanol y un 75% más eficiente que el agua. La acetona también es utilizada para la extracción de compuestos antioxidantes y permite una extracción más eficiente ocupando menores temperaturas, esto último evita la pérdida de compuestos. (Cerón *et al.*, 2011)

Paladino y Zuritz (2011), compararon la eficiencia de diversos solventes en la extracción de compuestos fenólicos a partir de semillas de vid, en su ensayo analizaron el poder reductor de agua destilada, alcohol metílico, alcohol etílico y acetona a diferentes temperaturas y concentraciones, obteniendo que el solvente más eficiente en la extracción de compuestos fenólicos en semillas de vid era el agua destilada a 90°C con 12,587 mg de compuestos fenólicos/g de materia seca.

La optimización en la eficiencia del transporte de masa se puede realizar mediante cambios en las partes que actúan durante este proceso de extracción, dichos cambios tienen que ver con la concentración y tipo de solvente, tamaños de la partícula, temperatura y tiempo de extracción.

Las desventajas que tiene esta técnica de extracción son los altos tiempos requeridos, utilización de grandes cantidades de solventes y el empleo de altas temperaturas, esto último genera en algunos casos, la pérdida de compuestos fenólicos durante la extracción debido principalmente a ionización, hidrólisis y oxidación.

Diversos trabajos, entre ellos los de Dueñas (2017) y Venanzi (2014), destacan que, debido a la naturaleza polar de los polifenoles, estos son fácilmente solubilizados en medios próticos polares como son las soluciones hidroalcohólicas. Asimismo, concuerdan que la mezcla etanol-agua es la más utilizada para la extracción por su ausencia de toxicidad, y que la manera más común de extraer estos compuestos, es mediante la aplicación de altas temperaturas que permiten la extracción de aquellos compuestos no extraíbles, los cuales se encuentran asociados a polisacáridos, formando complejos con proteínas o unidos entre sí, formando moléculas de alto peso molecular.

En un estudio realizado por Dueñas (2017), se determinó que a partir de cascara de uva cv. Quebranta, las mejores concentraciones de compuestos fenólicos a partir del método convencional se realizaban en un tiempo de 180 minutos, a una temperatura de 80°C utilizando etanol al 50%.

Venanzi (2014), en su estudio realizado con orujos provenientes de uva cv. Malbec, determinó que a 70°C con una mezcla etanol-agua a un pH 2 durante 30 minutos, se obtenía una mayor capacidad de extracción, a su vez, concluyó que el pH mejora la recuperación de compuestos fenólicos y que la temperatura tiene un efecto considerable, ya que ablanda los tejidos debilitando la pared celular y favoreciendo, posteriormente, la liberación de compuestos fenólicos.

### **Extracción no convencional sólida-líquida asistida por ultrasonido.**

Los ultrasonidos son ondas de muy alta frecuencia (mayor a 20 KHz) que se propagan a través de compresión y rarefacción, y que requieren un medio en el que viajar. Estas ondas de alta frecuencia generan una vibración que es propagada en el medio transportando energía mecánica en forma de rápidas variaciones de presión. (Castro *et al.*, 2016)

El medio en cuestión al trabajar con ultrasonidos se somete a sucesivas compresiones y descompresiones las que provocan una formación de burbujas, dichas burbujas al estar sometidas a cambios de temperatura y presión generados por el ultrasonido alcanzan una dimensión crítica que es seguida por la implosión de burbujas. Al proceso de compresión, rarefacción e implosión se le conoce comúnmente como cavitación. (Dueñas, 2017)

La implosión de burbujas produce daño físico, químico y mecánico, inducen una mayor penetración del solvente y mejoran la transferencia de masa. La alta presión generada rompe las partículas del material, destruye las membranas celulares, mejora la penetración del solvente y aumenta la superficie de contacto, dando como resultado la liberación de compuestos fenólicos en un tiempo relativamente corto.

En un estudio realizado por González *et al.* (2015), donde evaluó la extracción asistida por ultrasonido en orujo de uva, obtuvo extractos acuosos a temperaturas de 20, 35 y 50°C en un tiempo 3, 4 y 8 veces menor, con características fenólicas y antioxidantes similares a las obtenidas con el método convencional a temperaturas de 35 y 50°C.

Dueñas (2017), menciona la existencia de dos dispositivos para este tipo de extracciones como lo son unidades de baño y de sonda, menciona sin embargo que las sondas ultrasónicas son más eficientes. Además, describe los parámetros que afectan a este proceso, dentro de los cuales están el solvente, la temperatura y el tiempo necesario para la extracción, finalmente postula algunas ventajas de la extracción asistida por ultrasonidos en comparación con los métodos convencionales destacando su bajo costo, simplicidad, respeto con el medio, mayor eficiencia, reducción del tiempo de extracción y reducción del consumo de solventes.

### **Mascarilla facial**

Las máscaras de belleza se conocen desde la antigüedad, son preparaciones de consistencia pastosa o semi-fluida que se aplican sobre la cara en un determinado tiempo, al evaporarse sus componentes líquidos se endurece y se adhiere a la piel produciendo con su retirada una acción de limpieza y restauración de la piel. Una mascarilla está compuesta por una base y un principio activo (efecto terapéutico).

Una mascarilla facial es un tratamiento local o tópico que se aplica directamente sobre la piel, por lo cual intervienen 3 elementos: la piel, el vehículo y el principio activo. Es necesario conocer la anatomía y el estado de la piel, anatómicamente la piel está constituida por epidermis, dermis y tejido subcutáneo, en la epidermis se encuentra el estrato córneo, que es la estructura que se opone con mayor intensidad al paso de fármacos, es de grosor variable y está compuesto en un 40% por proteínas, 20% lípidos y 40% agua, por otro lado, el estado de la piel es sumamente importante ya que, al estar correctamente hidratada, facilita la penetración de muchos fármacos. (García *et al.*, 2004)

La principal vía de absorción en la piel es a través de los corneocitos de la capa córnea, y la velocidad de esta absorción depende de tres factores, tales como la concentración del fármaco, el coeficiente de partición entre el vehículo y el estrato córneo y el coeficiente de difusión del fármaco, este último a su vez depende del tamaño molecular y de la capacidad de difusión de la capa de la piel siendo el 99% del volumen de difusión total el estrato córneo. (García *et al.*, 2004)

Existen 3 tipos de absorción, cuando la molécula activa se adhiere a la superficie de la piel se designa como adsorción, por otro lado, si la molécula llega a las capas internas de la piel, pero no llega a los capilares se denomina penetración y, finalmente si la molécula atraviesa los capilares y llega a la circulación sistémica se produce la absorción, teniendo este último como prerrequisito que el principio activo se encuentre en una solución acuosa. (Pareja, 1998)

Los preparados tópicos pueden estar formados por uno o más principios activos y un vehículo al que se incorporan para su aplicación en la piel, estas soluciones tienen tres objetivos fundamentales, primero el tratamiento local de alteraciones de la piel, seguido por el mantenimiento de las condiciones fisiológicas o estéticas y finalmente la protección de agentes externos principalmente radiación solar. (García *et al.*, 2004)

## Formulación para máscara facial anti envejecimiento

Según Poupin, (2018) los componentes necesarios para la elaboración de una formulación para máscara facial anti envejecimiento son los siguientes:

Tabla 2: componentes para la formulación de una máscara facial

Componente	Cantidad (%)	Función
<b>Agua destilada</b>	43,5	Vehículo de entrada para compuesto activo.
<b>Hidrolato azahar</b>	23	Astringente suave, regula la secreción sebácea equilibrando la piel, disminuye sensibilidad en pieles irritadas
<b>Glicerina</b>	12	Ayuda en la regulación del equilibrio hídrico
<b>Gel de aleo vera</b>	10	Favorece la hidratación, aporta suavidad
<b>Alginato de sodio</b>	2	Forma geles elásticos de alta viscosidad
<b>Aceite de Jojoba</b>	3	Favorece la hidratación de pieles secas, similar al cebo de la piel
<b>Conservante leucidal</b>	1,5	Conservante de amplio espectro con actividad anti bacteriana
<b>Procide pf130</b>	0,6	Potenciador de la acción del conservante, evita fluctuaciones de Ph
<b>Extracto de uva</b>	< = > 5	Antioxidante natural, efecto terapéutico
<b>Total</b>	100	

Fuente: elaboración propia con datos de Poupin, 2018.

La formulación base descrita, corresponde a las cantidades empleadas para un contenido total de 250 ml, privilegiando una característica natural debido a la naturaleza de sus

componentes, su calidad y riqueza, además de ser una forma de cuidar la piel respetuosa con el medio ambiente.

Aplicación: aplicar en la cara y dejar reposando por 20 minutos. Retirar tirando por una de las extremidades.

### **Estabilidad de la formulación**

Un producto cosmético sufre alteraciones durante el desarrollo del producto, estas alteraciones son clasificadas según la naturaleza del factor, ya sea de manera extrínseca, determinado por factores externos como temperatura y luz, o de manera intrínseca, determinado por factores internos de la formulación, sobre todo la interacción de sus componentes. (ANVISA, 2005)

Para la caracterización de un producto cosmético se valoran algunas propiedades organolépticas como color, olor, apariencia y brillo. Las propiedades fisicoquímicas consideradas son: densidad, pH, viscosidad e índice de acidez. Las pruebas microbiológicas que se deben realizar son colonias bacterianas y conteo total de hongos y levaduras. (Mujica *et al.*, 2010)

Las pruebas de estabilidad indican la preservación de las propiedades físicas y químicas a través del tiempo, cada componente, activo o no, puede afectar la estabilidad de un producto cosmético. El estudio de la estabilidad contribuye a orientar el desarrollo de una formulación, proporcionar ayuda para el perfeccionamiento de formulaciones, estimar el plazo de validez y auxiliar en el monitoreo de la estabilidad organoléptica, físico química y microbiológica.

## Metodología

La investigación se realizará mediante el uso de uva *Vitis vinífera L. cv. País*, provenientes de un huerto comercial, representativo para la agroindustria, ubicado en la región del Maule, localidad de Remolino, comuna de Hualañé, perteneciente a la empresa “Agrícola Los Montecillos”.

La cosecha de materia prima se realizará posterior al muestreo, a partir de pinta (20 de febrero aproximadamente). Se realizarán muestreos sucesivos cada 15 días, de manera de realizar un seguimiento de la madurez fenólica mediante la medición de compuestos fenólicos totales (IPT), utilizando el método de Glories (Fragoso, 2011). La síntesis de compuestos fenólicos depende de diversos factores por lo que es necesario realizar un seguimiento para cosechar en una época correcta y lograr la mayor cantidad de compuestos fenólicos. Ya determinado el momento de cosecha según muestreo, se procederá a cosechar en el huerto descrito anteriormente 350 kg de uva fresca, seleccionando aquellos racimos que presenten mayor calidad.

Posteriormente, ya determinado el momento de cosecha y cosechada la fruta esta es llevada al laboratorio de Postcosecha e Industrialización de la Facultad de Ciencias Agronómicas y de los Alimentos de la Pontificia Universidad Católica de Valparaíso. Ubicado en la Comuna de Quillota, calle San Francisco s/n, localidad de La Palma.

Las bayas son desprovistas de hollejos y pepitas manualmente, una vez separados se realiza un proceso de lavado mediante el uso de agua en una relación sólido-líquido 1:1,5, luego, hollejos y pepitas se secan en una estufa con aire forzado (Auxilab®, serie 632 Plus, 125 L) a 45 °C hasta peso constante. Hollejos secos, deben ser sometidos a un proceso de desazucarado, eliminando azúcares con agua fría (3 - 8 °C) en una proporción de 10 ml de agua por cada gramo de hollejo mediante una extracción estática, realizando 4 ciclos de extracción de 30 minutos cada uno. (Nieto, 2013)

Hollejos desazucarados y pepitas secos se deben congelar bajo N<sub>2</sub> líquido para luego proceder a la trituración en un Molino de análisis (IKA®, modelo A11 de 80 ml) a través de presión y fricción durante 3 minutos, siendo seleccionado un tamaño de partícula inferior a 1mm a través de un tamiz.

Este trabajo consta de dos ensayos, el primero de ellos, consistirá en la evaluación de dos técnicas de extracción de compuestos fenólicos de uva bajo diferentes factores, realizando posteriormente, una medición de fenoles totales (mg/LGAE) y una caracterización de estos compuestos mediante cromatografía líquida (nm).

- Ensayo 1: Se realizarán extracciones de compuestos fenólicos a partir de hollejos y pepita de *Vitis vinífera cv. País*. Los factores presentes en este tratamiento son el tipo de extracción (sólido-líquido y sólido-líquido asistida por ultrasonido), temperatura de extracción en niveles de (60 y 90°C), tiempos de extracción en niveles (80 y 120 min) y solvente utilizado, en este caso etanol un disolvente polar, no tóxico que mezclado con agua a una concentración 50/50 (v/v), permiten la extracción de aquellos compuestos no extraíbles, los cuales se encuentran asociados a polisacáridos, formando complejos con proteínas o unidos entre sí formando moléculas de alto peso molecular. (Venantzi, 2014)

Cada extracción se repetirá en 3 ocasiones para que los datos obtenidos sean concluyentes.

Las muestras obtenidas a partir de este ensayo, serán sometidas a medición de compuestos fenólicos totales, mediante espectrofotometría y caracterización de estos mismos compuestos fenólicos provenientes de *Vitis vinífera cv. País*, mediante cromatografía líquida de alta eficacia.

Una vez obtenido el extracto con mayor contenido de polifenoles totales se procederá al segundo ensayo que consistirá en la evaluación de diferentes volúmenes del extracto con mayor concentración de polifenoles de *Vitis vinífera cv. País*, sobre la estabilidad de una formulación base que será usada como máscara facial anti envejecimiento.

- Ensayo 2: se evaluarán diferentes volúmenes de extracto de *Vitis vinífera cv. País*, obtenidos a partir del Ensayo 1 sobre la estabilidad de una formulación base para máscara facial anti envejecimiento, los factores presentes en este tratamiento son la cantidad de extracto de uva en volúmenes de (5, 10 y 15%) y la temperatura para medir la estabilidad en niveles de (40,45 y 50°C). (ANVISA, 2005)

Cada evaluación se repetirá en 3 ocasiones para que los datos obtenidos sean concluyentes.

## **Ensayo 1**

### **Extracción de compuestos fenólicos de uva por el método sólido-líquido.**

El proceso de extracción se lleva a cabo a dos temperaturas (60 y 90 °C), concentración de los solventes (50% v/v) y tiempos de extracción (80 y 120 minutos).

La muestra N° 1 es llevada a extracción. La técnica de extracción sólido-líquido se realizará en un equipo Soxhlet empleando como solvente una mezcla etanol-agua. Terminada la extracción, se destilará a una temperatura de 38 °C, en un evaporador rotatorio para eliminar el exceso de solvente.

Extractos obtenidos se rotularán y serán almacenados en frascos de vidrio color ámbar en atmosfera de N2 inerte a temperatura ambiente 25 °C hasta su posterior análisis. (Berradre *et al.*, 2013)

### **Extracción de compuestos fenólicos de uva por el método de ultrasonido.**

La extracción de compuestos fenólicos de la uva por el método de ultrasonido se llevará a cabo bajo diferentes temperaturas (60 y 90 °C), concentración de los solventes (50% v/v) y tiempos de extracción (80 y 120 minutos).

La muestra N° 1 es llevada a extracción. La técnica de extracción por Ultrasonido se realizará en un equipo de 70 W de potencia y 40 KHZ de frecuencia. Terminada la extracción, las muestras se filtrarán utilizando papel filtro (banda negra, 125 mm, Munktell) y se evaporarán en una estufa a 50 °C. (Guntero *et al.*, 2015)

Los extractos obtenidos una vez evaporado el solvente, se rotularán y cerrarán hasta su posterior análisis.

### **Determinación de la concentración de compuestos fenólicos obtenidos.**

- Se utilizará el método colorimétrico de Folin-Ciocalteu utilizado por García *et al.* (2015), para determinar la concentración de Polifenoles totales en términos de rendimiento. El procedimiento se basa en que los compuestos fenólicos reaccionan con el reactivo de Folin-Ciocalteu, a pH básico, dando lugar a una coloración azul susceptible de ser determinada espectrofotométricamente a 765 nm.
- Según Venanzi (2014), se deben tomar 250  $\mu$ L del sobrenadante procedente de la extracción de los compuestos fenólicos en la muestra y colocarlos en matraces aforados de 25 mL, posteriormente añadir 15 mL de agua destilada y 1,25 mL de reactivo de Folin-Ciocalteu, homogeneizar el contenido de los matraces y dejar reposar 8 minutos en oscuridad. Finalmente, transcurrido este tiempo, adicionar a cada matraz 3,75 mL de la disolución de carbonato sódico al 7,5 % y llevar a un volumen de 25 mL con agua destilada, homogeneizar los matraces y mantener en oscuridad a temperatura ambiente durante 2 horas.
- Medir la absorbancia a 765 nm. Según la ley de Lambert-Beer (Díaz *et al.* 2008), la absorbancia está relacionada linealmente con la concentración de la especie absorbente.
- A partir de los valores de absorbancia obtenidos en una muestra patrón de ácido gálico se debe construir una curva de calibración.

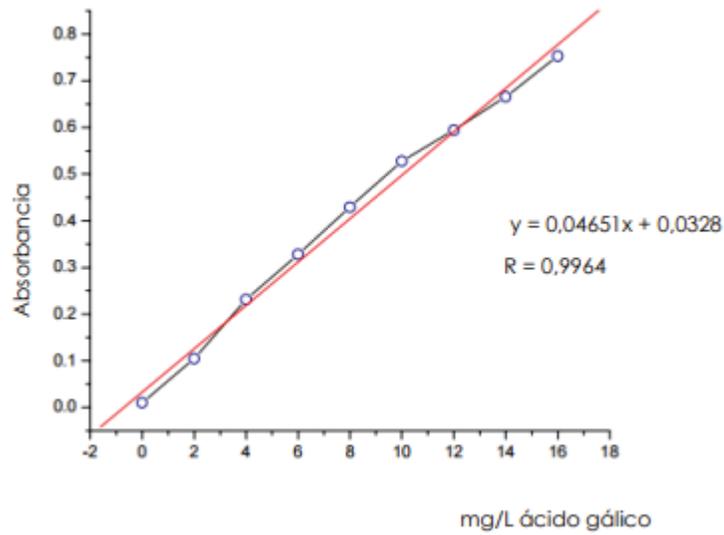


Imagen 1: ejemplo de la recta de calibrado de ácido gálico. García *et al.* (2015)

- Para cuantificar los fenoles en la muestra extraída con los datos de la recta, se deberá cambiar el valor de absorbancia en la recta de calibrado (eje “y”), despejando x correspondiente a la concentración de ácido gálico en la muestra.
- Para expresar los resultados en mg de ácido gálico por 100 ml de muestra según García *et al.* (2015), se deberá tener en cuenta la cantidad de disolvente empleado y la cantidad de muestra que se ha tomado para análisis.

Los resultados obtenidos serán registrados y tabulados para el posterior análisis estadístico.

### **Caracterización de las propiedades químicas de los compuestos fenólicos de uva.**

Para la caracterización de los compuestos fenólicos presentes en *Vitis vinífera cv País*, se utilizará el método de cromatografía líquida de alta eficacia, acoplada a un detector de fotodiodos alineados (HPLC-DAD), técnica utilizada para separar los componentes de una mezcla.

Los compuestos fenólicos son identificados mediante la comparación del espectro de absorción y tiempo de retención en minutos con su respectivo estándar.

Se utilizará un equipo de cromatografía líquida de alta resolución modelo HPLC500, Angstrom Advanced®, el cual consta de una bomba modelo P500, Inyección 7725i Rheodyne® con válvula de inyección manual, Software HPLC CXTH3000, detector UV modelo UV500 donde la medición cromatográfica puede realizarse a longitud de onda seleccionada entre 190 y 700 nm, Columna analítica HPLC modelo C18 250\*4.6mm diámetro interior, con longitud entre 150-300 mm, filtro solvente y Limpiador ultrasónico. (Nieto, 2013)

## **Ensayo 2**

### **Formulación de una base enriquecida en compuestos fenólicos antioxidantes provenientes de *Vitis vinífera* L. cv. País, para ser usada como una máscara facial anti envejecimiento.**

Se elaborará una formulación base para ser usada como una máscara facial en un volumen de 250 ml y se utilizarán los componentes descritos en la tabla 2 con su respectiva función, se ha privilegiado el uso de componentes naturales para la formulación debido a la atracción que produce en los consumidores la calidad y riqueza en activos de las formulaciones, además de ser una opción de cuidado personal de manera respetuosa con el medio ambiente (Alcalde, 2008).

Utilizando el extracto con mayor contenido de polifenoles totales (IPT) obtenido en el ensayo anterior, se elaborarán 3 tipos de formulación, teniendo como distintivo el volumen (5, 10 o 15%/250 ml) de extracto de polifenoles provenientes de *Vitis vinífera* cv. País, de tal manera, se evaluará el efecto de distintas cantidades de compuesto activo sobre la estabilidad de una formulación base que será usada como máscara facial anti envejecimiento.

La elaboración de la formulación base para máscara facial debe llevar el siguiente procedimiento durante su preparación:

1. Mezclar agua destilada e Hidrolato de azahar
2. A la mezcla anterior agregar gel de aloe vera

3. Remover la mezcla
4. Dejar reposar la mezcla mientras se prepara el gelificante
5. Pesar Alginato de sodio y agregar sobre este la glicerina, remover hasta que la mezcla se encuentre bien hidratada
6. Someter la mezcla de agua destilada, Hidrolato de azahar y aloe vera a una batidora e ir agregando el gelificante
7. Agregar el extracto de uva y aceite de jojoba, seguir batiendo
8. Agregar conservante leucidal y Procide pf130
9. Batir para homogenizar
10. Medir pH y ajustar a 5,5 con ácido láctico si fuese necesario
11. Dejar reposar, pasadas 24 horas la máscara ganará consistencia. (Poupin, 2018)

**Evaluación de estabilidad en una formulación base enriquecida en compuestos fenólicos antioxidantes provenientes de *Vitis vinífera* L. cv. País, para ser usada como una máscara facial anti envejecimiento.**

Para evaluar la estabilidad de una formulación base para máscara facial, en primera instancia se someterá la formulación a una prueba de centrifugación a 3.000 rpm durante treinta minutos, de esta manera se observa si se produce la separación de fases y/o algún cambio desfavorable en cuanto a olor, color y pH. Si la formulación es aprobada en esta prueba, se procede con la prueba de estabilidad.

Según ANVISA (2005), la estabilidad preliminar tiene como objetivo orientar en la elección de las formulaciones, durante este proceso se someterá la formulación a condiciones extremas de temperatura para acelerar las reacciones de sus componentes, de esta manera, se someterán las muestras a un calentamiento en estufas con ciclos de 24 horas, a temperaturas de 40, 45 y 50°C durante quince días. Las muestras serán evaluadas inicialmente en tiempo 0 y durante todos los días en que estén sometidas a las condiciones de estudio, evaluando las características organolépticas y físico-químicas de la formulación.

### **Diseño experimental y análisis estadístico.**

Este proyecto posee dos ensayos, cada uno con su propio diseño. El primer ensayo, corresponde a un experimento con diseño completamente al azar, que consta de un arreglo factorial de 2x2x2 con un total de 8 tratamientos, el primer factor hace referencia a las metodologías de extracción, posee 2 niveles que corresponden a extracción Sólido-líquido y extracción Sólido-líquido asistida por ultrasonido. El segundo factor, corresponde a las condiciones de extracción en lo que respecta a temperatura, con dos niveles diferentes y el tercer factor corresponde al tiempo de extracción al que será sometida la muestra, con dos niveles diferentes.

El segundo ensayo corresponde a un arreglo factorial de 3x3 con un total de 9 tratamientos, donde se hace referencia a dos factores, la temperatura a la que serán sometidas las muestras y la cantidad de extracto empleado para la formulación sobre la estabilidad de una formulación base para máscara facial antienvjecimiento, cada factor posee 3 niveles diferentes.

La unidad experimental en este ensayo corresponde a 50g de polvo de semilla y hollejo de *Vitis vinífera* cv. País, contenidos en frascos resistentes, al cual se le aplicarán los dos ensayos descritos anteriormente. Para otorgar validez estadística, se realizarán 3 repeticiones a cada tratamiento estableciendo un número de 51 unidades experimentales totales, distribuidas de forma espacial en atmosfera de N<sub>2</sub> inerte a temperatura ambiente 25 °C hasta su posterior análisis, contando con un rótulo que permita su identificación. (Berradre et al. 2013)

Los datos obtenidos de los diferentes tratamientos realizados para la extracción de compuestos fenólicos, serán tabulados para realizar un análisis de varianza (ANOVA) evaluando la importancia de cada factor al comparar las medias de la variable de respuesta en estudio, según los diferentes niveles establecidos para los factores. La probabilidad de cometer un error para una serie de comparaciones es mayor que la tasa de error para cualquier comparación individual, por ello, que se realizará un test de comparaciones múltiples de tukey con un nivel de significancia de 5% ( $\alpha=0,05$ ).

## Bibliografía

- Aguilar, T. 2015. Uso integral de la vid en la elaboración de jugo de uva enriquecido con antioxidantes. 39 p. Magister en Ingeniería Agrícola con mención en Agroindustrias. Universidad de Concepción. Facultad de ingeniería agrícola. Chillan. Chile.
- Alcalde, M. 2008. Cosmética natural y ecológica regulación y clasificación. OFFARM 27(9): 96-104.
- Alves, R., E. Castro, y M. Trelles. 2013. Factores intrínsecos y extrínsecos implicados en el envejecimiento cutáneo. Cir.plást. Iberolatinoam 39: 89-102.
- ANVISA. 2015. Guía de estabilidad de productos cosméticos. Rev. Cosméticos. (1): 1-30. Disponible en <http://portal.anvisa.gov.br/documents/106351/107910/Gu%C3%ADa+de+Estabilidad+de+Productos+Cosm%C3%A9ticos/dd40ebf0-b9a2-4316-a6b4-818cac57f6de>
- Banfi, S. 2017. Antecedentes de los mercados del vino y de la uva vinífera. Disponible en: <http://www.odepa.gob.cl/wp-content/uploads/2017/07/mercadoVino2017.pdf>.
- Berradre, M., C. González, B. Sulbarán y V. Fernández. 2012. Contenido de polifenoles y actividad antioxidante de extractos de semilla de uva (*Vitis vinífera*) variedad Malvasia y Tempranillo. Rev. Fac. Agron. (LUZ). 2013, 30: 619-631.
- Castellanos, G and Alcalá, D. 2010. Antioxidantes en dermatología. Dermatología CMQ 8(4): 272-277.
- Catania, C. 2007. Curso de degustación de vinos. Disponible en: <https://inta.gob.ar/documentos/curso-de-degustacion-de-vinos>
- Castro, A. 2005. Efecto del momento de cosecha de uva cv. Merlot sobre la composición química y sensorial de los vinos en el valle del Maipo. 108 p. Ingeniero Agrónomo. Universidad de Chile. Facultad de Ciencias Agronómicas. Santiago. Chile.

- Cerón, I., J. Higuera y C. Cardona. 2011. Capacidad antioxidante y contenido fenólico total de tres frutas cultivadas en la región andina. *Vector* 5 (2010) 17 – 26.
- Cuevas, R. 2004. Caracterización Polifenólica de hollejos de las variedades cv. Cabernet Sauvignon, Merlot, Cabernet Franc y Carmenere durante el periodo de maduración. 78 p. Título Profesional Ingeniero Agrónomo. Universidad de Chile. Facultad de Ciencias Agronómicas. Santiago. Chile.
- Dueñas, J. 2017. Optimización de las condiciones de extracción de compuestos fenólicos a partir de cascara de uva variedad quebranta (Ica, Perú) empleando técnicas convencionales y extracción asistida por ultrasonido. 123 p. Magister en Química. Pontificia Universidad Católica del Perú. Escuela de postgrado. San Miguel. Perú.
- García, R., E. Escario, y A. Sánchez. 2004. Uso racional de la medicación tópica en dermatología. *Med Cutan Iber Lat Am (España)* 32: 39-44.
- García, E., I. Fernández y A. Fuentes. Determinación de polifenoles totales por el método de Folin-Ciocalteu. 2015. Disponible en: <https://riunet.upv.es/bitstream/handle/10251/52056/Garcia%20Mart%C3%ADnez%20et%20al.pdf?sequence=1>
- Gómez, S., N. Castillo-Muñoz, I. Hermosín, A. Inarejos y E. García. Optimización de la extracción de compuestos fenólicos naturales a partir de orujos de uva. 2015.
- Guillou, N. 2012. Mecanismos y efectos asociados a procesos de oxidación de compuestos fenólicos en vinos. 44 p. Ingeniero Agrónomo. Universidad de Chile. Facultad de Ciencias Agronómicas. Santiago. Chile.
- Guntero, V., M. Longo, S. Ciparicci, R. Martini Y A. Andreatta. 2015. Comparación de métodos de extracción de polifenoles a partir de residuos de la industria vitivinícola. 9 p. VIII Congreso Argentino de Ingeniería Química. Buenos Aires. Argentina. Agosto 2015. Asociación Argentina de Ingenieros Químicos.
- Guzmán, G. 2001. Caracterización de la Fracción Fenólica de vinos comerciales del cv. Chardonnay provenientes de cinco valles de Chile. 76 p. Ingeniero Agrónomo. Universidad de Chile. Facultad de Ciencias Agronómicas. Santiago. Chile.

- González, M., F. Comas, A. Femenia, C. Rosselló, y S. Simal. 2015. Effect of power ultrasound application on aqueous extraction of phenolic compounds and antioxidant capacity from grape pomace (*Vitis Vinífera L.*): Experimental Kinetics and modeling. *Ultrasonics Sonochemistry* 22: 506-514.
- Lacoste, P., J. Yuri, M. Aranda, A. Castro, K. Quintero, M. Solar, N. Soto, j. Gaete, y J. Rivas. 2010. Variedades de uva en Chile y Argentina (1550-1850). *Genealogía del torrontés. Mundo Agrario* (10).
- Larrea, J. 2012. Obtención de extractos polifenólicos a partir de uva para uso alimentario. 99 p. Máster de tecnología y calidad en las industrias alimentarias. Universidad pública de Navarra. Escuela técnica superior de ingenieros agrónomos. Navarra. España.
- Latorre, M. 2016. Polifenoles de la uva. 22 p. Universidad Complutense. Facultad de Farmacia. Madrid. España.
- Lutz, M *et al.*, 2011. Phenolics content and antioxidant capacity of Chilean grapes cv. País and Cabernet Sauvignon. 8 p. Universidad de Valparaíso, Valparaíso. Chile.
- Molina, D., L. Medina, G. González, R. Robles, y N. Meza. 2010. Compuestos fenólicos y actividad antioxidante de cascara de uva (*Vitis vinifera L.*) de mesa cultivada en el noreste de México. *Journal of food* (8) 57-63.
- Mujica, Viky, Delgado, Mariam, Ramírez, Maryore, Velásquez, Ingrid, Pérez, Cathy, & Rodríguez-Corella, María. (2010). Formulación de un producto cosmético con propiedades antiarrugas a partir del aceite de semilla de merey (*Anacardium Occidentale L.*). *Revista de la Facultad de Ingeniería Universidad Central de Venezuela*, 25(2), 119-131.
- Nieto, J. 2013. Estudio integral de la uva (*Vitis vinifera L.*) como fuente de compuestos fenólicos biodisponibles con acción biológica. 241 p. Doctor en Ciencia y Tecnología de los Alimentos e Ingeniería Química. Universidad Autónoma de Madrid. Facultad de ciencias. Madrid. España.

- Ocampo, D. 2011. Plan de negocios para la creación de la empresa Elixir que comercializará la crema True Beauty, a base de orujo de uva, en Bogotá. 49 p. Pontificia Universidad Javeriana. Facultad de administración. Bogotá. Colombia.
- Paladino, S., Y C. Zuritz 2011. Extracto de semillas de vid (*Vitis vinífera* L.) con actividad antioxidante: eficiencia de diferentes solventes en el proceso de extracción. Rev. FCA UNCUYO 43:187-199.
- Pareja, B. 1998. Dermofarmacia: Absorción y mecanismos de transporte. Folia. Dermatol. (Perú) 4:43-45.
- Romero, I. 2008. Extracción de compuestos fenólicos de la uva al vino. Papel de los enzimas de separación. 273 p. Doctor. Universidad de Murcia. Departamento de Tecnología de Alimentos, Nutrición y Bromatología. Murcia. España.
- SAG. 2012. Catastro vitícola nacional 2012. Disponible en: <http://www.sag.cl/sites/default/files/catastro2012-final.pdf>
- Soto, M. 2015. Extracción y purificación de compuestos fenólicos a partir de subproductos de destilería de vino. 247 p. Doctor. Universidad de Vigo. Facultad de ciencias. Ourense. España.
- Szot, J. 2009. Mortalidad por cáncer a la piel en Chile. Rev. Chilena Dermatol. (2012) 28(4): 411-417.
- Venanzi, L. 2014. Estudio de métodos de extracción de compuestos fenólicos de orujos provenientes de vinificación de uvas cv Malbec. 55 p. Licenciatura en Bromatología. Universidad Nacional de Cuyo. Facultad de ciencias Agrarias. Cuyo. Argentina.

## **Anexos**

### **Anexo 1: plan de trabajo**

El proyecto dará inicio la primera semana de noviembre de 2017, alcanzando un periodo de duración de veinticuatro meses, teniendo como fecha de término la última semana de noviembre del año 2019. Constará de dos partes, la primera abarca tres fases consecutivas que se realizarán el año 2018 y la segunda, la repetición de las fases que se llevará a cabo el año 2019.

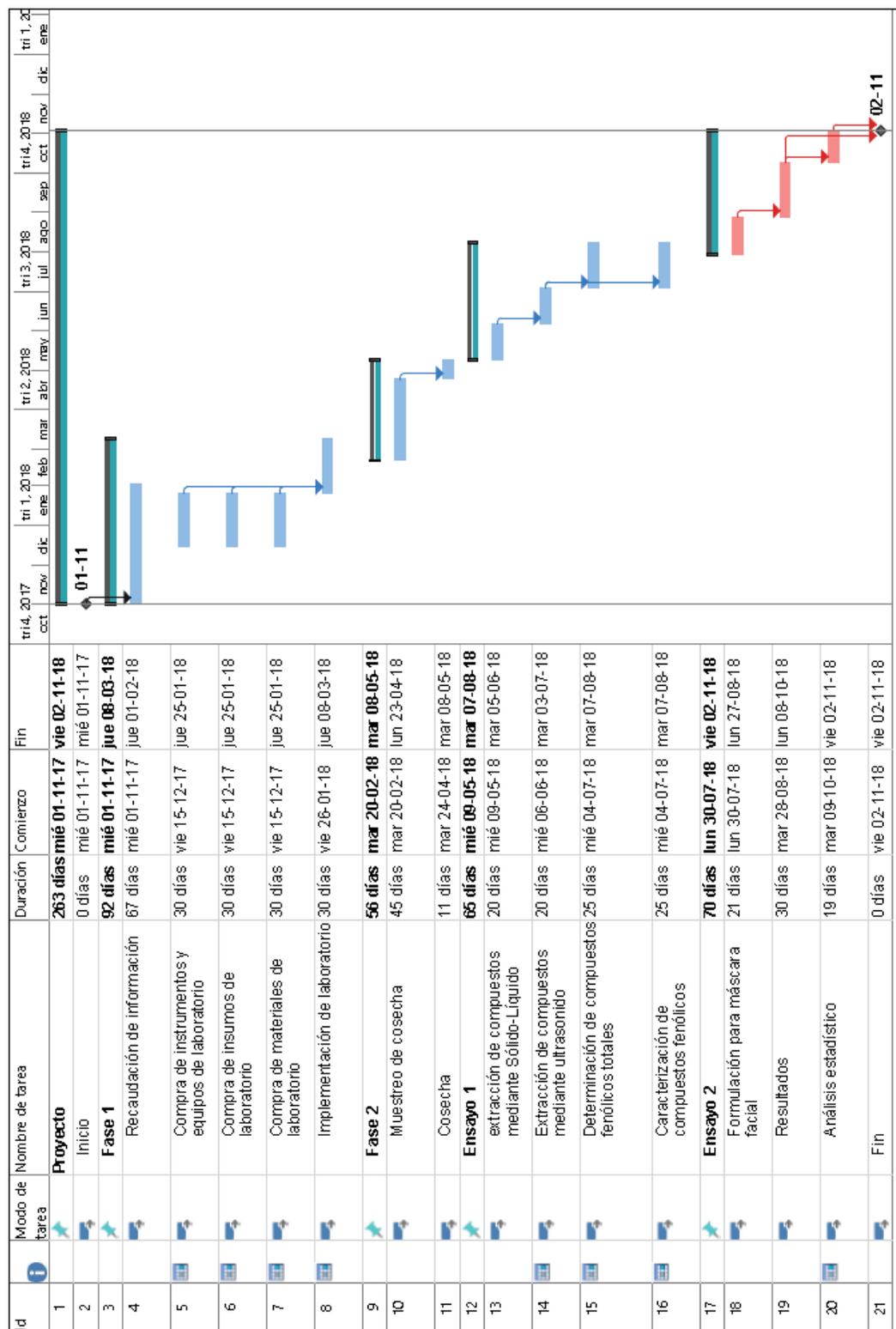
La primera fase del proyecto hace referencia a tareas anteriores a la obtención de materia prima, abarca toda la construcción de éste y obtención de información cuidadosamente seleccionada y requerida para una completa implementación de laboratorios, compra de materiales e insumos y puesta en marcha del proyecto.

La segunda fase comienza con la obtención de la materia prima, correspondiente a uva fresca la que se debe adquirir según resultado del muestreo previo a cosecha. Posterior a ello, prosigue el proceso de extracción de compuestos fenólicos en base a dos técnicas de extracción, acompañados por una medición de contenido fenólico total y caracterización de estos compuestos en la uva.

La tercera fase es la elaboración de una formulación para máscara facial antienvjecimiento, seguido de una evaluación del efecto de distintas cantidades de compuesto activo sobre la estabilidad de la formulación, finalizando, con los resultados obtenidos los cuales serán sometidos a un análisis para revisar que concuerden con los objetivos generales y específicos del proyecto.

El periodo de extracción se dará inicio a finales de abril, mediante la extracción sólido-líquido correspondiente al periodo de 30 días, seguido de la extracción asistida por ultrasonido, durante 30 días, a finales de junio se realiza la determinación de fenoles totales y caracterización de estos compuestos. A partir del 27 de julio, se procederá a la elaboración de la formulación y su posterior evaluación. Finalmente, se concluirá el proyecto con la obtención de resultados y análisis estadístico, para dar paso a una replicación del proceso durante parte del año 2018 y 2019, para realizar la publicación del informe revisado con los resultados del proyecto establecido en septiembre de 2019.

## Anexo 2: Carta Gantt



**Anexo 3: Resultado esperado:**

<b>Objetivo específico</b>	<b>Resultado esperado</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>- Evaluar el efecto de 2 métodos de extracción sobre el rendimiento de compuestos fenólicos antioxidantes presentes en <i>Vitis vinífera L. cv. País</i>.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- El método de extracción sólido líquido asistido por ultrasonido entregue una mayor extracción de compuestos fenólicos.</li> </ul>
<ul style="list-style-type: none"> <li>- Evaluar el efecto de 2 temperaturas de extracción sobre el rendimiento de compuestos fenólicos antioxidantes.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- A mayor temperatura de extracción, mayor concentración de compuestos fenólicos antioxidantes.</li> </ul>
<ul style="list-style-type: none"> <li>- Evaluar el efecto de 2 tiempos de extracción sobre el rendimiento de compuestos fenólicos antioxidantes.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- A menor tiempo de extracción, mayor concentración de compuestos fenólicos antioxidantes.</li> </ul>
<ul style="list-style-type: none"> <li>- Desarrollar una formulación base para ser usada como máscara facial antienvjecimiento en base a compuestos fenólicos antioxidantes provenientes de <i>Vitis vinífera L. cv. país</i>.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Obtener una formulación base que será ocupada como máscara facial antienvjecimiento.</li> </ul>
<ul style="list-style-type: none"> <li>- Evaluar el efecto de 3 volúmenes de compuestos fenólicos antioxidantes provenientes de <i>Vitis vinífera L. cv. País</i>, sobre la estabilidad de una formulación base para máscara facial.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- El volumen de compuestos fenólicos no afecte la estabilidad de la formulación</li> </ul>
<ul style="list-style-type: none"> <li>- Evaluar el efecto de 3 temperaturas diferentes sobre la estabilidad de una formulación base para máscara facial.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Se espera que las temperaturas utilizadas no afecten la estabilidad de la formulación.</li> </ul>

Se ha reportado que la vitamina C mejora la apariencia clínica de la piel foto dañada y aumenta la síntesis de fibras de elastina y colágeno, los polifenoles han mostrado disminuir el daño inducido por radiación sobre plásmidos o DNA celular, a través de la neutralización de radicales de oxígeno, por lo tanto, los antioxidantes tópicos pueden ser coadyuvantes de la fotoprotección y el tratamiento del envejecimiento cutáneo. (Castellanos y Alcalá, 2010)

#### Anexo 4: Descripción de cargos y funciones y organigrama

Nombre del profesional	Formación, grado académico	Cargo en el proyecto	Función
<b>Mario Arévalo</b>	Ing. Agrónomo	Jefe de proyecto y laboratorio	Administrar, planificar y verificar que todas las actividades realizadas sean de acorde a lo establecido, está a cargo de la contratos y compras de materiales e insumos necesarios y requeridos. Responsable del proyecto.
<b>Técnico 1</b>	Químico Farmacéutico	Jefe de producción cosmética	Encargado de formular, crear y analizar el producto cosmético.
<b>Técnico 2</b>	Auxiliar técnico de Laboratorio	Ayudante de laboratorio.	Brindar ayuda al jefe de laboratorio para realizar los análisis químicos y físicos establecidos.
<b>Técnico 3</b>	Auxiliar técnico de laboratorio	Ayudante de laboratorio	Brindar ayuda al jefe de laboratorio para realizar los análisis químicos y físicos establecidos.
<b>Obrero 1</b>	Enseñanza media completa	Obrero	Encargado de cosechar y lavar la uva una vez llegue al laboratorio de post cosecha, y de brindar ayuda en actividades de laboratorio.
<b>Obrero 2</b>	Enseñanza media completa	Obrero	Encargado de cosechar y lavar la uva una vez llegue al laboratorio de post cosecha, y de brindar ayuda en actividades de laboratorio

## Anexo 5: presupuesto por año

### Recursos humanos

Cargo en el Proyecto	Cantidad	Jornada hombre/mes	Precio jornada hombre	Cantidad de meses	Costo total
Encargado y jefe proyecto	1	22	\$ 68.181	22	\$ 32.999.604
Ayudante de laboratorio	1	22	\$ 34.091	12	\$ 9.000.024
Ayudante de laboratorio	1	22	\$ 34.091	12	\$ 9.000.024
Químico-farmacéutico	1	22	\$ 45.450	6	\$ 6.000.720
Obrero	1	22	\$ 12.136	10	\$ 2.669.920
Obrero	1	22	\$ 12.136	10	\$ 2.669.920
<b>Total</b>					<b>\$ 65.010.132</b>

### Subcontratos

Contrato	Precio	Unidad	Cantidad	Total
Servicio de transporte	\$ 54.900	Servicio	60	\$ 3.294.000
Servicio de laboratorio	\$ 24.000	Servicio	24	\$ 576.000
Arriendo Laboratorio	\$ 100.000	Día	264	\$ 26.400.000
<b>Total</b>				<b>\$ 30.846.000</b>

## Inversión

Ítem	Cantidad	Costo por Unidad	Costo total
<b>Refractómetro</b>	1	\$ 49.190	\$ 49.190
<b>Despalilladora</b>	1	\$ 553.000	\$ 553.000
<b>Estufa</b>	1	\$ 1.675.000	\$ 1.675.000
<b>Molino</b>	1	\$ 1.176.215	\$ 1.176.215
<b>Equipo Soxhlet</b>	3	\$ 113.700	\$ 341.100
<b>Ultrasonido</b>	1	\$ 4.632.500	\$ 4.632.500
<b>Espectrofotómetro</b>	1	\$ 4.755.000	\$ 4.755.000
<b>Balanza analítica</b>	1	\$ 36.236	\$ 36.236
<b>Tamiz</b>	1	\$ 44.549	\$ 44.549
<b>Total</b>			\$ 13.262.790

## Insumos

Ítem	Unidades	Costo por Unidad	Cantidad	Total
<b>Materia Prima (Uva)</b>	Contenedor de 350 kg	\$ 50	1	\$ 17.500
<b>Ácido gálico</b>	Frasco plástico 250 gr	\$ 45.765	3	\$ 137.025
<b>Etanol</b>	Frasco 1 L	\$ 4.760	3	\$ 14.280
<b>Reactivo Folin-ciocalteu</b>	Frasco de vidrio 500 ml	\$ 25.700	2	\$ 51.400
<b>Agua destilada</b>	Bidón de 5 L	\$ 5.000	4	\$ 20.000
<b>Carbonato sódico 7,5%</b>	Envase 1 kg	\$ 21.000	1	\$ 21.000
<b>Total</b>				\$ 261.205

## Materiales

Ítem	Cantidad	Costo por unidad	Total
Balón de destilación 250 ml	6	\$ 9.600	\$ 57.600
Vasos precipitados 250 ml	6	\$ 1.999	\$ 11.994
Tubos de ensayo 16x160 mm	84	\$ 149	\$ 12.516
Espátula mango de Madera	2	\$ 5.236	\$ 10.472
Gradilla plástica	1	\$ 7.302	\$ 7.302
Guantes de látex sin polvo	1	\$ 8.693	\$ 8.693
Bisturí caja 100 unidades	1	\$ 9.917	\$ 9.917
Mango Bisturí	1	\$ 2.291	\$ 2.291
Papel Ph	1	\$ 8.553	\$ 8.553
Papel filtro 125 mm	1	\$ 10.158	\$ 10.158
Piseta 250 ml	2	\$ 2.034	\$ 4.068
Soporte Universal 60 cm	6	\$ 15.345	\$ 92.070
Doble nuez	12	\$ 5.879	\$ 70.548
Probeta graduada 250 ml	6	\$ 3.000	\$ 18.000
<b>Total</b>			<b>\$ 324.182</b>

## Anexo 6: Costos totales

### FONDEF: Concurso IDEA I+D

Este concurso busca apoyar financieramente la ejecución de proyectos de investigación científica y tecnológica, tiene una duración máxima de veinticuatro meses y financia un monto máximo de 200.000 millones de pesos, donde las instituciones beneficiadas deben aportar al menos un 30% del costo total del proyecto.

	Cuenta	Fondo Concursable	APORTE EMPRESA				Total
			PRIVADO		PUCV		
			Pecuniario	No Pecuniario	Pecuniario	No pecuniario	
A.	Total Recursos Humanos	65.010.132					65.010.132
B.	Total Subcontratos		4.446.000			26.400.000	30.846.000
C.	Total Gastos de Inversión	13.262.790					13.262.790
D.	Total Gastos de insumos	400.000	122.410				522.410
E.	Total compra de materiales	151.731	172.451				324.182
F.	Total Imprevistos	2.000.000	3.498.276				5.498.276
	Porcentaje de Aporte (%)	70%	7%			23%	100%
TOTAL (CLP)							115.463.790