

Evaluación de fotoprotectores mediante un método espectrométrico alternativo

Evaluation of sunscreens using an alternative spectrometric method

Juan Carlos Ramírez Granados¹, Jorge Daniel Zepeda Quintana, César Díaz Pérez

Departamento de Ingeniería Agroindustrial, División de Ciencias de la Salud e Ingenierías, Universidad de Guanajuato.
Mutualismo s/n, Celaya, Guanajuato, México. C.P. 38060.
jcramirez@ugto.mx¹

Resumen

La radiación ultravioleta *B* es una fracción de la radiación solar que es capaz de penetrar en la epidermis, la capa más superficial de la piel. Estos rayos tienen mayor energía que los ultravioleta *A* y causan varios efectos nocivos, especialmente durante exposiciones prolongadas o sin protección. Los efectos más preocupantes son los daños al *ADN*, envejecimiento cutáneo prematuro e hiperpigmentación. Este trabajo tiene como objetivo desarrollar un método alternativo para estimar el factor de protección solar de formulaciones fotoprotectoras *in vitro* mediante espectrometría ultravioleta. Para lo anterior, se prepararon disoluciones de protectores solares comerciales con factor de protección solar conocido y se midió su absorbancia de 290 a 320 nm. Los datos de absorbancia fueron normalizados con el efecto eritemogénico y la intensidad espectral solar. Posteriormente se calculó el área bajo la curva de absorbancia normalizada de cada muestra para luego relacionarla con el factor de protección solar de cada formulación, y así obtener una curva de calibración. Los resultados evidenciaron una estrecha relación entre el factor de protección solar y el área bajo la curva de absorbancia normalizada. La curva de calibración y el modelo matemático obtenido fueron empleados para determinar el factor de protección solar de otras formulaciones. Este método podría utilizarse para estimar o verificar el factor de protección solar de formulaciones fotoprotectoras existentes o de nueva creación de manera confiable, reproducible, sencilla y sin la necesidad de realizar pruebas en humanos o animales.

Palabras clave: fotoprotección; fotoprotector; factor de protección solar; radiación ultravioleta.

Introducción

Los organismos vivos en la tierra dependen estrechamente de la energía solar, la cual interviene en numerosos procesos biológicos. En los seres humanos, una exposición moderada a este tipo de energía tiene efectos benéficos, como la estimulación de la síntesis de vitamina D y el fortalecimiento del sistema inmunológico. Sin embargo, una exposición excesiva a la radiación ultravioleta (*UV*) del sol puede ocasionar daños en la piel, acelerar el envejecimiento prematuro, inducir la generación de especies reactivas de oxígeno, favorecer el desarrollo de cáncer cutáneo y provocar la degradación de componentes clave de la matriz extracelular, como el colágeno, la fibronectina, la elastina y los proteoglicanos¹. Estos efectos están mediados, en parte, por la activación de la vía de las cinasas de proteínas activadas por mitógenos, una ruta de señalización intracelular que se activa en respuesta al estrés oxidativo y a la radiación *UV*, y que desencadena la expresión de enzimas degradativas como las metaloproteinasas de matriz. Dichas enzimas alteran la arquitectura dérmica, favoreciendo la aparición de arrugas, flacidez y otros signos visibles de fotoenvejecimiento.

La radiación ultravioleta (*UV*) emitida por el sol forma parte del espectro electromagnético y se sitúa fuera del rango de la luz visible, entre longitudes de onda de 200 a 400 nanómetros; siendo más cortas que las longitudes de onda visibles, pero más largas que las de los rayos X. La radiación *UV* se clasifica como radiación no ionizante, ya que no posee suficiente energía para ionizar átomos o moléculas; sin embargo, puede provocar daños relevantes en los tejidos biológicos por su potencial mutagénico².

La radiación *UV* se divide en tres bandas según su longitud de onda y su interacción con los materiales biológicos: *UVA* (400–320nm), *UVB* (320–290nm) y *UVC* (290–200 nm). Gran parte de la radiación *UV* emitida por el sol es filtrada por la capa de ozono, el vapor de agua, el oxígeno y el dióxido de carbono presentes en la atmósfera. Aproximadamente el 95% de la radiación *UV* que llega a la superficie terrestre corresponde a radiación *UVA*. Por su parte, la radiación *UVB* es la principal responsable de efectos dañinos sobre los organismos, como el daño al *ADN* y alteraciones celulares. Por último, la radiación *UVC* es casi completamente absorbida por la atmósfera terrestre, por lo que no representa un factor de riesgo para los organismos vivos³.

Por lo anterior, es fundamental el uso de fotoprotectores solares que actúen como barrera frente a la radiación ultravioleta, ayudando a prevenir daños cutáneos. Los fotoprotectores tópicos están formulados con compuestos capaces de absorber, reflejar o dispersar la radiación *UV*, reduciendo así el riesgo de quemaduras solares, fotoenvejecimiento y enfermedades dermatológicas como el cáncer de piel⁴.

Existen tres tipos de agentes fotoprotectores: los filtros físicos que reflejan o dispersan la radiación *UV* e impiden su penetración en la piel, los filtros químicos que absorben selectivamente la radiación en ciertas longitudes de onda, y los fotoprotectores biológicos que contienen ingredientes activos derivados de plantas u otros organismos. Estos últimos actúan reforzando las defensas celulares frente al daño inducido por la radiación ultravioleta, lo cual contribuye a la prevención del fotoenvejecimiento y otras alteraciones cutáneas. Los agentes fotoprotectores pueden utilizarse de forma individual o combinada.

En la actualidad, la evaluación de la eficacia de los protectores solares se basa predominantemente en el factor de protección solar (*FPS*). Este parámetro permite determinar la capacidad de una formulación fotoprotectora para retrasar el enrojecimiento cutáneo (eritema) inducido por la radiación ultravioleta. La determinación tradicional del *FPS* se realizan *in vivo* calculando la razón ente la dosis eritematosa mínima en piel protegida y en piel desprotegida; sin embargo, diversos factores pueden influir en su determinación, lo que puede afectar a su exactitud y reproducibilidad. Entre estos factores están las características individuales de las personas como el fototipo, la edad y la dosis eritematosa mínima; así como variables externas tales como la estación del año, la latitud geográfica, la hora del día y las condiciones atmosféricas incluyendo la presencia de nubes, ozono, humedad, entre otros⁵.

El presente estudio tiene como objetivo desarrollar un método espectrométrico *in vitro* confiable y reproducible para estimar el factor de protección solar de formulaciones fotoprotectoras comerciales o de nueva creación. El método propuesto se basada en una modificación del método de Mansur *et al.*⁶, pero estima el *FPS* de una formulación a través de una curva de calibración y no a través de un modelo empírico. Por su naturaleza *in vitro*, este método es una alternativa segura, reproducible, económica y libre de pruebas en humanos, facilitando la evaluación de productos fotoprotectores.

Métodos y Materiales

Formulaciones fotoprotectoras

En este estudio se utilizaron fotoprotectores tópicos en crema que pertenecen a línea de productos de la marca Hawaiian Tropic® con diferentes factores de protección solar. En la Tabla 1 se enlistan los nombres comerciales de los productos empleados junto con el *FPS* declarado en sus etiquetas.

Tabla 1. Fotoprotectores tópicos comerciales seleccionados y su *FPS*.

Nombre comercial del protector solar	FPS
Hawaiian Tropic Carrot	10
Hawaiian Tropic Touch	30
Hawaiian Tropic Silk Hidration	50

Fuente: Elaboración propia.

Preparación de las muestras

Una vez obtenidos los productos, se agitaron manualmente durante aproximadamente cinco minutos para asegurar la homogeneización de su contenido. Posteriormente, se utilizó una jeringa para extraer 1 gramo de cada protector solar. Dado que las jeringas no están diseñadas para medir pesos con precisión, se pesaron antes y después de incorporar la muestra para determinar el peso de la muestra por diferencia de mediciones. En la Fig.1 muestra el procedimiento de pesaje.

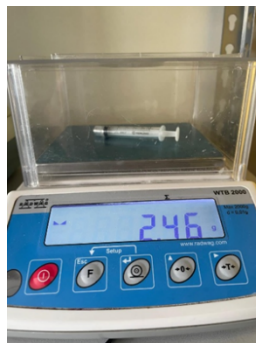


Figura 1. Medición del peso de la jeringa antes y después de contener la muestra.
Fuente: Elaboración propia.

Una vez que se obtuvo 1 g de formulación, se transfirió a un vaso de precipitados con 40 ml de agua destilada. La jeringa se enjuagó con agua del mismo vaso y se devolvió el contenido al vaso de precipitados, asegurando así la recuperación completa de la muestra. Luego, el vaso con la muestra fue colocado sobre una plancha con agitación magnética y se agitó a 400 rpm durante 5 minutos. Transcurrido ese tiempo, la solución fue transferida a un matraz aforado de 500 ml. El vaso de precipitados se enjuagó con 20 ml adicionales de agua destilada y este volumen también se transfirió al matraz aforado. Finalmente, se aforó con agua destilada hasta completar el volumen, Fig. 2.

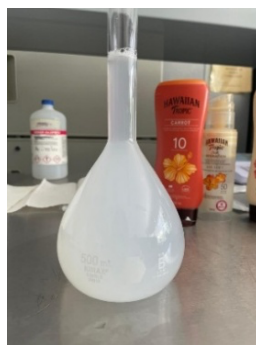


Figura 2. Solución madre del protector solar en un matraz aforado de 500 ml para su posterior análisis espectrométrico.
Fuente: Elaboración propia.

La solución obtenida se transfirió a tubos de ensayo rotulados con el nombre comercial del fotoprotector, su FPS y la leyenda "Solución madre". Este procedimiento se repitió para cada formulación fotoprotectora. Dado que la concentración de la solución madre fue de 2.0 mg/ml, se realizó una dilución para obtener la concentración requerida en el método propuesto por Mansur *et al.* Para ello, se tomaron 5 ml de la solución madre con una micropipeta de 1000 μ L realizando 5 pipeteos consecutivos que se transfirieron a un matraz aforado de 50 ml. Posteriormente, se aforó con agua destilada para obtener una disolución con concentración final de 0.2 mg/mL.

Mediciones espectrométricas

Las mediciones se realizaron con un espectrofotómetro UV-Visible marca Velab, modelo VE-5100UV. Se utilizó una celda de cuarzo de 10 mm de trayectoria óptica con agua destilada como blanco y otra celda idéntica para la muestra a analizar.

Las mediciones de absorbancia se realizaron en el rango de 290 a 320 nm, con incrementos de 5 nm. En cada longitud de onda primeramente se ajustó la absorbancia a cero con el blanco y luego se midió la absorbancia de la muestra de protector solar. Se realizaron tres repeticiones utilizando la misma metodología.

Los valores de absorbancia se multiplican por el efecto eritemogénico (EE) y la intensidad solar (I) que resultan ser constantes determinadas previamente por Sayre *et al.*⁷ con el fin de generar una curva de absorbancia normalizada. Luego se calcula el área (A_n) bajo la curva de absorbancia normalizada por integración numérica mediante el método del trapecio compuesto. Posteriormente, se construye una curva de calibración que relaciona el área bajo la curva de absorbancia normalizada con el FPS declarado en el etiquetado de cada muestra. Con base en la tendencia de la curva de calibración se obtiene un modelo matemático que describe la relación entre absorbancia normalizada y FPS .

Resultados

Se midió la absorbancia espectral de los protectores solares con FPS 10, 30 y 50. Luego se generó una gráfica promediando las mediciones de absorbancia obtenidas en las tres repeticiones correspondientes a cada formulación. En la Fig. 3 se presenta el gráfico con la absorbancia espectral promedio de cada formulación en el rango de 290 a 320 nm.

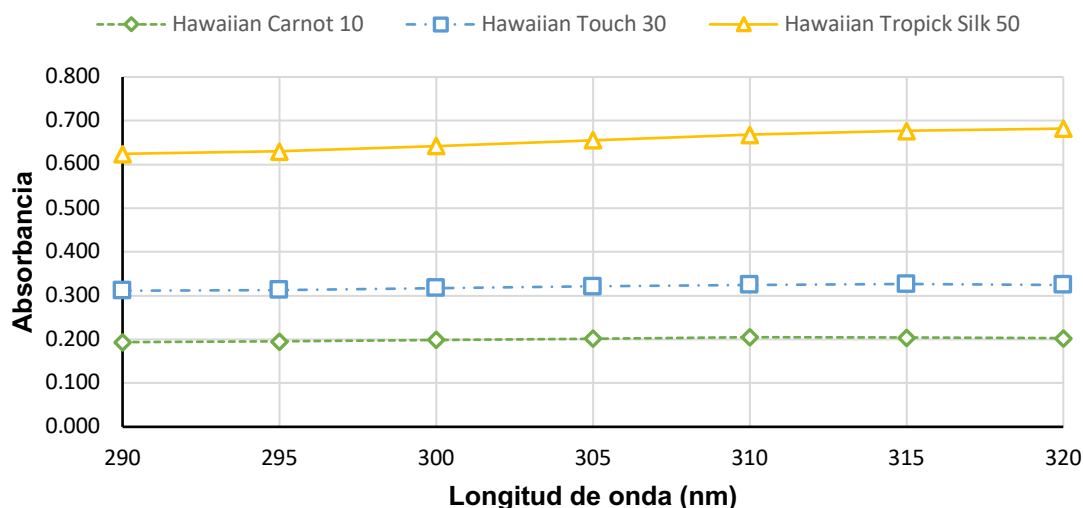


Figura 3. Absorbancia espectral promedio de tres protectores solares comerciales con FPS 10, 15 y 30.
Fuente: Elaboración propia.

Se observa en la Figura 3 que el fotoprotector con FPS 50 presenta la mayor absorbancia, seguido por el FPS 30 y finalmente el FPS 10. Todas las formulaciones presentaron una absorbancia promedio casi constante en la región UVB del espectro.

La absorbancia espectral promedio de cada fotoprotector fue normalizada mediante su multiplicación por el factor ($EE \times I$), determinado previamente por Sayre y colaboradores. Las curvas de absorbancia normalizada se muestran en la Fig. 4.

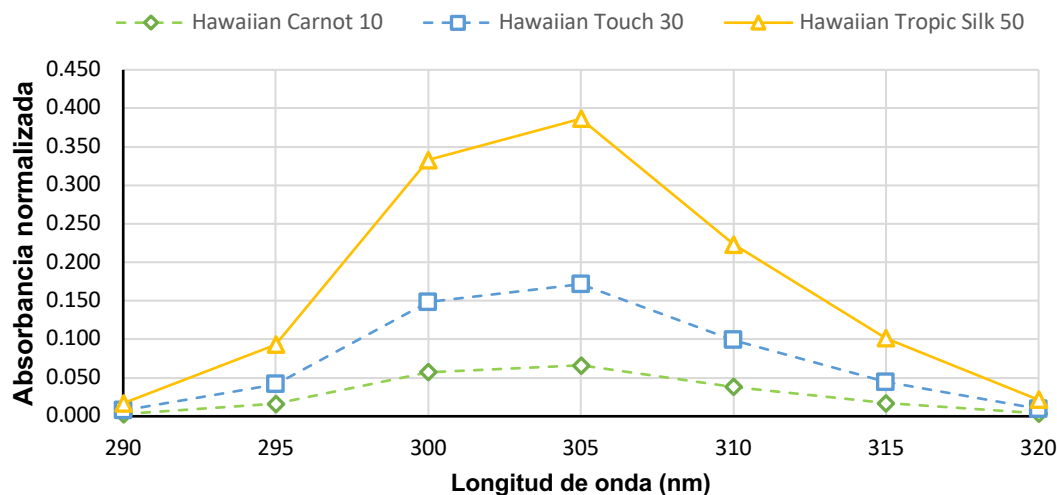


Figura 4. Absorbancia espectral normalizada de tres fotoprotectores (FPS 10, 30 y 50) en el rango de 290 a 320 nm.
Fuente: Elaboración propia.

Después se calculó el área bajo las curvas de absorbancia normalizada de cada fotoprotector mediante integración numérica. Además de las áreas de las curvas de absorbancias normalizada promedio, también se calculó la desviación estándar en cada formulación. Este análisis permitió evaluar la consistencia y reproducibilidad de las mediciones espectrofotométricas. Los promedios y desviaciones estándar de las áreas de las curvas de absorbancia normalizada se presentan en la Tabla 2.

Tabla 2. Promedio y desviación estándar del área de las curvas de absorbancia normalizada.

Nombre comercial del protector solar	Área promedio de la curva de absorbancia normalizada	Desviación estándar
Hawaiian Tropic Carrot 10	0.990	0.020
Hawaiian Tropic Touch 30	1.577	0.072
Hawaiian Tropic Silk Hidration 50	3.214	0.059

Fuente: Elaboración propia.

Con estos datos se generó una curva de calibración que relaciona al área de la curva de absorbancia normalizada con los valores del FPS de las formulaciones, cuyos valores se conocen de antemano, Fig. 5.

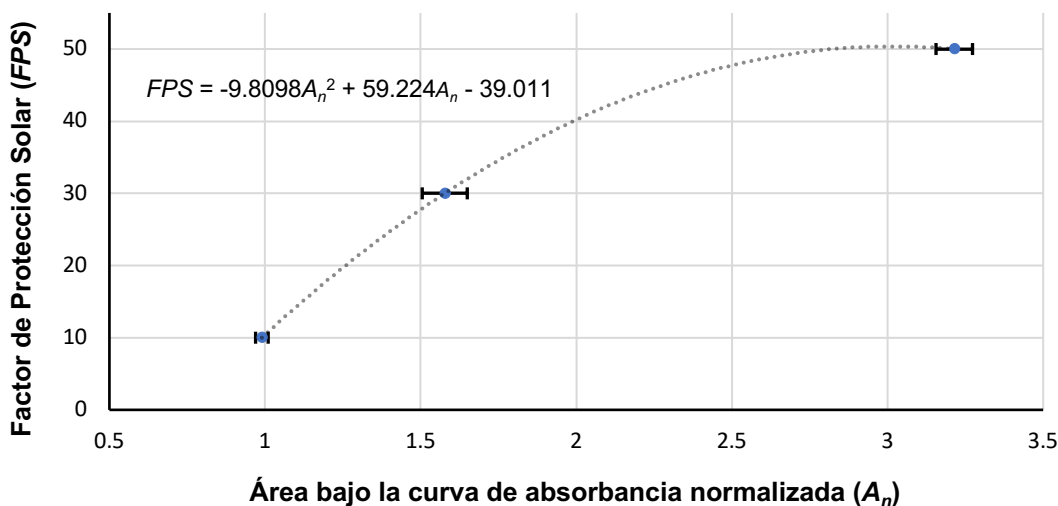


Figura 5. Curva de calibración que relaciona al factor de protección solar con el área bajo la curva de absorbancia normalizada. Las barras de error indican la magnitud de la desviación estándar de los datos con respecto al valor promedio.
Fuente: Elaboración propia.

Cada punto en esta gráfica corresponde al promedio de los valores obtenidos en las tres repeticiones para el área de las curvas de absorbancia normalizada; mientras que las magnitudes de las barras de error corresponden a la desviación estándar de los valores. Las desviaciones estándar para el área de las curvas de absorbancia normalizada fueron iguales o menores que el 4.5% con respecto al valor promedio, lo cual es una muestra de la precisión y repetibilidad en las mediciones espectrométricas. Este gráfico permite evaluar la relación entre el FPS y el área bajo la curva de absorbancia normalizada; así como a la variación de las mediciones experimentales.

El modelo matemático que describe la tendencia de la curva de calibración presentada en la Fig. 5 se muestra en la Ecuación 1.

$$FPS = -9.8098A_n^2 + 59.224A_n - 39.011 \quad (1)$$

Este modelo matemático permite estimar el FPS de las formulaciones fotoprotectoras a través de mediciones de su absorbancia en la región UVB.

Validación del modelo para estimar el FPS de formulaciones fotoprotectoras

Con el propósito de validar el modelo y la curva de calibración obtenida para la estimación del factor de protección solar se analizaron dos formulaciones: una crema fotoprotectora artesanal orgánica y un fotoprotector comercial. La Tabla 3 muestra la descripción de estos productos.

Tabla 3. Otras formulaciones fotoprotectoras analizadas.

Nombre del protector solar	FPS
Crema artesanal orgánica con extracto de árnica	No determinado
Lubriderm 15	15

Fuente: Elaboración propia.

Estos fotoprotectores fueron analizados siguiendo los pasos descritos en la sección de Métodos y Materiales. El fotoprotector Lubriderm 15 tiene un *FPS* determinado por el fabricante; mientras que la crema fotoprotectora artesanal con árnica no ha sido analizada previamente por ser una formulación de nueva creación. En la Fig. 6 se muestran las mediciones de absorbancia que se obtuvieron para estas formulaciones fotoprotectoras.

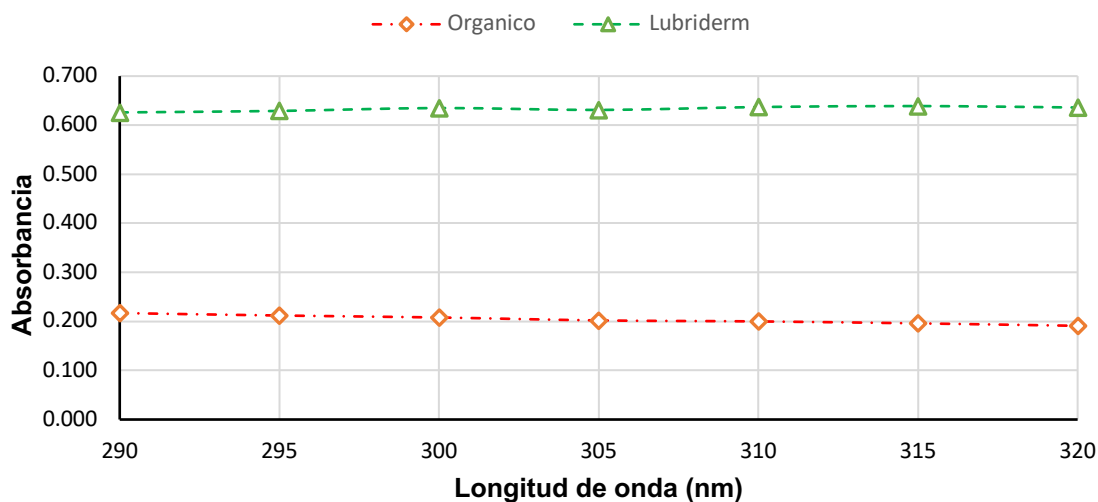


Figura 6. Absorbancia espectral de los protectores solares artesanal y Lubriderm.
Fuente: Elaboración propia.

Posteriormente, se procedió a normalizar las curvas de absorbancia utilizando el producto del efecto eritemogénico y la intensidad espectral solar, el resultado se muestra en la Fig. 7.

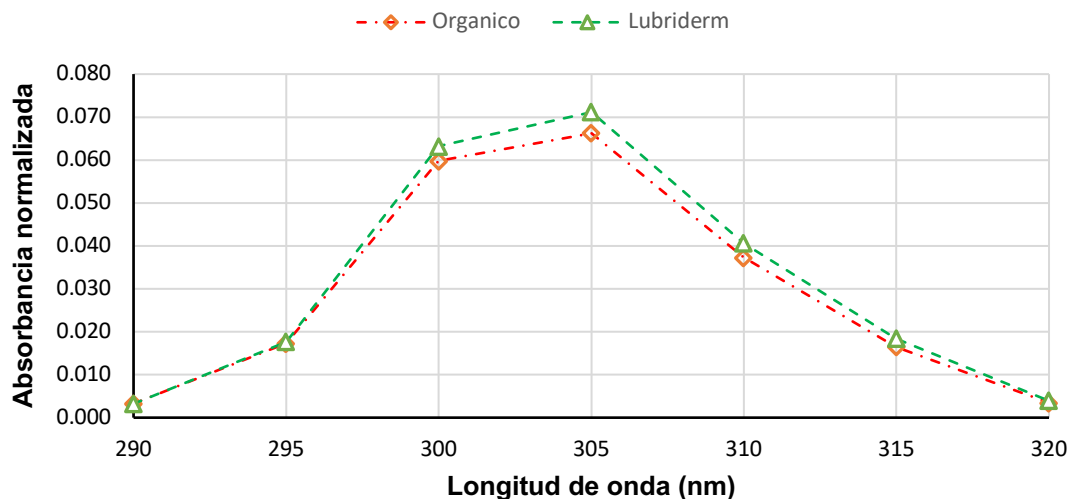


Figura 7. Curvas de absorbancia normalizadas con respecto al efecto eritemogénico y la intensidad solar.
Fuente: Elaboración propia.

Se calculó el área bajo la curva de absorbancia normalizada para cada formulación mediante integración numérica. Con estas áreas y la Ecuación 1 se estimó el *FPS* correspondiente a la crema artesanal orgánica y al fotoprotector Lubriderm 15. Los resultados de la estimación del *FPS* de estas formulaciones fotoprotectores se muestran en la Tabla 4.

Tabla 4. Área de la curva de absorbancia normalizada y determinación del FPS para una crema fotoprotectora artesanal y un fotoprotector Lubriderm 15.

Nombre del protector solar	Área de la curva de absorbancia normalizada	FPS estimado	FPS declarado	Porcentaje de error
Crema artesanal orgánica con extracto de árnica	1.002	10.5	No determinado	No aplica
Lubriderm 15	1.073	13.2	15	12%

Fuente: Elaboración propia.

De acuerdo con la Tabla 4, la crema fotoprotectora artesanal con extracto de árnica tiene un FPS de 10.5 y el fotoprotector Lubriderm un FPS de 13.2. El fotoprotector Lubriderm tiene un factor de protección solar estimado ligeramente menor que el FPS 15 declarado en el etiquetado del producto, generando un error porcentual del 12%.

Conclusiones

En este trabajo se desarrolló un método espectrométrico alternativo *in vitro* para estimar el factor de protección solar de formulaciones fotoprotectoras mediante espectrometría ultravioleta. El método propuesto emplea una serie de mediciones de absorbancia para generar una curva de absorbancia normalizada cuya área se relaciona con el factor de protección solar de los fotoprotectores mediante una curva de calibración. La curva de calibración fue obtenida a través del análisis de tres fotoprotectores comerciales con factores de protección solar conocidos. El modelo matemático que representa a la curva de calibración fue validado con dos formulaciones fotoprotectoras adicionales: una crema orgánica artesanal con extracto de árnica y un fotoprotector Lubriderm 15. Después de medir la absorbancia de estas formulaciones y usando el método aquí descrito, se determinó que la crema fotoprotectora artesanal tiene un FPS de 10.5; mientras que el del fotoprotector Lubriderm es de 13.2. En este último caso, el error entre el valor estimado y el declarado en la etiqueta del producto es del 12%, lo cual pone en evidencia la precisión del método. Los resultados muestran que este método es una alternativa espectrométrica viable y reproducible para estimar el FPS, ya que al ser un método *in vitro* permite el control de las condiciones de medición. Con este método es posible verificar o estimar de manera confiable el factor de protección solar de las formulaciones fotoprotectoras, incluso si el producto no cuenta con una etiqueta que indique dicha información o en el caso de formulaciones de nueva creación.

Agradecimientos

Los autores agradecen a la Universidad de Guanajuato, al Campus Celaya-Salvatierra y a la División de Ciencias de la Salud e Ingenierías por su apoyo para la realización de este proyecto; así como a Scarlet Sofia Vega López por su invaluable colaboración.

Referencias

1. Canchis Caballero, R., Rodríguez Dextre, R., & Aranda Rodríguez, R. (2024). Evaluación *in vitro* de bloqueadores solares en el contexto de índices UV extremos en Lima-Perú. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. https://www.researchgate.net/publication/382796489_Evaluacion_in_vitro_de_bloqueadores_solares_en_el_contexto_de_indices_UV_extremos_en_Lima-Peru
2. Sánchez Arévalo, F. Á. (2022). Análisis del índice UV para radiación UVB desde 2000 hasta 2022 en la Ciudad de México [Tesis de licenciatura, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla]. Facultad de Ciencias Físico Matemáticas, Colegio de Física.
3. World Health Organization. (2024). Radiation: Ultraviolet (UV) Radiation. [https://www.who.int/news-room/questions-and-answers/item/radiation-ultraviolet-\(uv\)](https://www.who.int/news-room/questions-and-answers/item/radiation-ultraviolet-(uv)).
4. Shanbhag, S., Nayak, A., Narayan, R., & Nayak, U. Y. (2019). Anti-aging and sunscreens: Paradigm shift in cosmetics. *Advanced Pharmaceutical Bulletin*, 9(3), 348-359. <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC6773941/pdf/apb-9-348.pdf>.
5. Granger, C., Moyal, D., & Sayre, R. (2020). A sunscreen's labeled sun protection factor may overestimate protection at temperate latitudes: A human in vivo study. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 62(5), 876-882. <https://doi.org/10.1038/jid.2010.144>
6. Mansur, J. S., Breder, M. N. R., Mansur, M. C. A., & Azulay, R. D. (1986). Determinação do fator de proteção solar por espectrofotometria. *Anais Brasileiros de Dermatologia*, 61, 121-124.
7. Sayre, R., Desrochers, D., & Marlow, E. (1980). Sunscreen testing methods: *in vitro* predictions of effectiveness. *J. Soc. Cosmet. Chem*, 31(1), 133-143.