

**UNIVERSIDAD DE CONCEPCIÓN
FACULTAD DE AGRONOMÍA**



**EXTRACCIÓN DE CAROTENOIDES Y POLIFENOLES TOTALES DE PÉTALOS
DE *CALENDULA OFFICINALIS* L. (CALÉNDULA) MEDIANTE OLEO
MACERACIÓN**

POR

FRANCISCO JAVIER MOLINA GARCÍA

**MEMORIA PRESENTADA A LA
FACULTAD DE AGRONOMÍA DE LA
UNIVERSIDAD DE CONCEPCIÓN
PARA OPTAR AL TÍTULO DE
INGENIERO AGRÓNOMO.**

**CHILLÁN – CHILE
2024**

UNIVERSIDAD DE CONCEPCIÓN
FACULTAD DE AGRONOMÍA

EXTRACCIÓN DE CAROTENOIDES Y POLIFENOLES TOTALES DE PÉTALOS
DE *CALENDULA OFFICINALIS* L. (CALÉNDULA) MEDIANTE OLEO

MACERACIÓN

POR

FRANCISCO JAVIER MOLINA GARCÍA

MEMORIA PRESENTADA A LA
FACULTAD DE AGRONOMÍA DE LA
UNIVERSIDAD DE CONCEPCIÓN
PARA OPTAR AL TÍTULO DE
INGENIERO AGRÓNOMO.

CHILLÁN – CHILE
2024

Aprobada por:

Profesor Asociado, María Dolores López B.

Lic. Química, Dr.

Guía

Profesor Asociado, Rosemarie Wilckens E.

Lic. Biología, Dr. rer. nat.

Asesor

Profesor Asociado, Susana Fischer G.

Ing. Agrónomo, Mg. Cs., Dr. Cs.

Asesor

Profesor Asociado, Guillermo Wells M.

Ing. Agrónomo, Mg. Cs.

Decano

RECONOCIMIENTOS

Esta tesis fue financiada por el proyecto InnovaChile CORFO – Voucher de Innovación para Empresas de Mujeres, código 18VIPM-92300, de nombre: “Mejora del proceso de elaboración de aceite de pétalos de caléndula de cultivo con buenas prácticas agrícolas, para optimizar la concentración de principios activos de aplicación cosmética para la piel”.

TABLA DE CONTENIDOS

	Página
Resumen.....	1
Summary.....	1
Introducción.....	2
Materiales y Métodos.....	5
Resultados y Discusión.....	9
Conclusiones.....	14
Referencias.....	15

ÍNDICE DE FIGURAS Y TABLAS

	Página
Figura 1 Diagrama del proceso de maceración.....	6
Tabla 1 Concentración de carotenoides (mg g^{-1}) en aceite virgen (AV), extracto-oleoso (EO) y pétalos de caléndula (EPC).....	9
Tabla 2 Concentración de polifenoles (mg g^{-1}) en aceite virgen (AV), extracto-oleoso (EO) y pétalos de caléndula (EPC).....	11
Tabla 3 Eficiencia de extracción de polifenoles más carotenoides desde pétalos caléndulas (EPC), de los cuatro aceites de uso cosmético.....	13
Tabla 3 Cantidad de extracto-oleoso recuperado (aceite) y pérdida de aceite (%) en la oleo maceración de pétalos de caléndula en cuatro aceites de uso cosmético, según un promedio de tres repeticiones.....	14

EXTRACCIÓN DE CAROTENOIDES Y POLIFENOLES TOTALES DE PÉTALOS DE *CALENDULA OFFICINALIS* L. (CALÉNDULA) MEDIANTE OLEO MACERACIÓN

EXTRACTION OF TOTAL CAROTENOIDS AND POLYPHENOLS FROM *CALENDULA OFFICINALIS* L. (MARIGOLD) PETALS THROUGH OIL MACERATION

Palabras claves adicionales: metabolitos secundarios, aceite de palta, aceite de rosa mosqueta, aceite de almendra, aceite de avellana chilena.

RESUMEN

La caléndula (*Calendula officinalis* L.) es una planta ornamental que presenta numerosas propiedades benéficas para la salud. Sus flores liguladas, amarillas o anaranjadas, contienen moléculas antioxidantes y tienen actividad reepitelizante, cicatrizante y antiinflamatoria. Por eso se usan para tratar úlceras y quemaduras superficiales, entre otras dolencias que afectan a la piel. El objetivo fue evaluar la concentración de carotenoides y polifenoles totales extraídos por oleo maceración desde pétalos secos de caléndula con cuatro aceites de uso cosmético (rosa mosqueta, palta, almendra y avellana chilena) en condiciones controladas de laboratorio por 30 días. La mayor concentración de carotenoides se determinó en los extractos oleosos con aceite de rosa mosqueta ($0,061 \text{ mg g}^{-1}$) y palta ($0,057 \text{ mg g}^{-1}$), mientras que la mayor extracción desde pétalos (diferencia entre concentración en extracto oleoso y en aceite virgen) fue en aceites de rosa mosqueta ($0,060 \text{ mg g}^{-1}$), palta ($0,055 \text{ mg g}^{-1}$) y almendra ($0,054 \text{ mg g}^{-1}$). La mayor concentración de polifenoles se registró en el extracto oleoso de avellana chilena ($1,43 \text{ mg g}^{-1}$) y palta ($0,92 \text{ mg g}^{-1}$), mientras que la mayor extracción desde pétalos se logró con aceite de palta ($0,92 \text{ mg g}^{-1}$) y aceite de avellana chilena ($0,60 \text{ mg g}^{-1}$). El aceite más adecuado para la mayor extracción de carotenoides y polifenoles desde pétalos de caléndula es el de palta.

SUMMARY

Marigold (*Calendula officinalis* L.) is an ornamental plant which has numerous beneficial health properties. Their yellow or orange ray flowers contain antioxidant

molecules, and have re-epithelializing, healing, and anti-inflammatory activity. That is why they are used to treat ulcers and superficial burns, among other ailments that affect the skin. The objective was to evaluate the concentration of carotenoids and total polyphenols extracted by oleo maceration from dry calendula petals in four oils for cosmetic use (rosehip, avocado, almond and Chilean hazelnut) under controlled laboratory conditions for 30 days. The highest concentration of carotenoids was determined in the rosehip oily extract (0.061 mg g^{-1}) and avocado oily extract (0.057 mg g^{-1}), while the highest extraction from petals (difference between concentration in oil extract and in virgin oil) was in rosehip oil (0.060 mg g^{-1}), avocado oil (0.055 mg g^{-1}) and almond oil (0.054 mg g^{-1}). The highest concentration of polyphenols was registered in Chilean hazelnut (1.43 mg g^{-1}) and avocado oil extract (0.92 mg g^{-1}), while the highest extraction from petals was achieved with avocado oil (0.92 mg g^{-1}) and Chilean hazelnut oil (0.6 mg g^{-1}). The most suitable oil for the highest extraction of carotenoids and polyphenols from calendula petals is avocado oil.

INTRODUCCIÓN

El uso de plantas, y sus diferentes órganos, con fines medicinales ha sido practicado desde tiempos inmemorables. En la actualidad, se ha ampliado su uso en la industria química, farmacéutica y cosmética (Awuchi, 2019; Rehman *et al.*, 2021). El uso de productos naturales en medicina y cosmética se ha visto favorecido por el aumento del conocimiento de los compuestos químicos presentes en las plantas, el desarrollo de nuevas formas de preparación, administración, y métodos analíticos que garantizan un mejor control de calidad de dichos compuestos extraídos (Furlan, 1998; Sharapin, 2000).

Aunque en la literatura se mencionan diversas plantas y sus diferentes órganos para la obtención de compuestos activos cosméticos y farmacéuticos, solo en 27 de ellas se ha realizado estudios para uso cosmético. Entre las mencionadas se encuentran la manzanilla, el *Aloe vera*, el abedul, el romero, el tomillo y la caléndula (Jadoon *et al.*, 2015).

Calendula officinalis L., de la familia Asteraceae, es una planta anual o bianual que se cultiva en climas templados de todo el mundo. Su tallo puede alcanzar hasta

60 cm de altura y termina en inflorescencias dispuestas en capítulos donde se ubican las flores liguladas (Russo *et al.*, 2015). Tanto la inflorescencia como el follaje de la caléndula contienen numerosos fitoquímicos beneficiosos para la salud y el cuidado cosmético de la piel, entre los que se encuentran antioxidantes como los carotenoides (0,027 – 1,320 mg g⁻¹; Toiu *et al.*, 2016; Balázs *et al.*, 2023; Filipović *et al.*, 2023) y polifenoles (30,8 – 40,9 mg g⁻¹; Filipović *et al.*, 2023) que han sido objeto de numerosas investigaciones.

El uso de estos antioxidantes exógenos, es decir, que no son sintetizados por el cuerpo humano, representan una estrategia fundamental para prevenir el estrés oxidativo que afecta a la piel, proceso que se ve incrementado con la edad (Jadoon *et al.*, 2015).

Los carotenoides son pigmentos liposolubles sintetizados por las plantas (como en las inflorescencias de la caléndula), algas y bacterias fotosintéticas. Desde el punto de vista químico son tetraterpenos, conformados por dos principales clases: compuestos hidrocarbonados y derivados oxigenados de los carotenos, como las xantofilas (Meléndez-Martínez *et al.*, 2004). Los carotenoides tienen la capacidad de actuar como agentes fotoprotectores frente a los efectos perjudiciales de la luz (Gajardo *et al.*, 2011).

Por otra parte, los polifenoles o compuestos fenólicos derivan de las vías del ácido shikímico y de los fenilpropanoides, y se encuentran abundantemente en las plantas, tanto en frutos, semillas, órganos vegetativos (García, 2022) y flores o inflorescencias, como es el caso de la caléndula. Son objeto frecuente de investigación debido a sus diversas funciones, entre la que destaca su capacidad antioxidante (Castaño y Hernández, 2018), teniendo un efecto fotoprotector y de epitelización de heridas quirúrgicas (López, 2023).

Para utilizar los compuestos activos presentes en las plantas y sus órganos, es necesario extraerlos mediante diferentes métodos, que han sido estudiados y analizados a lo largo de los años. Por ejemplo, Jiménez-Medina *et al.* (2006) publicaron el método LACE (Laser Activated Calendula Extract) para obtener un extracto acuoso de *Calendula officinalis* L. Otro método común es la maceración de los pétalos triturados de caléndula en solventes orgánicos como etanol, isopropanol

o metanol en recipientes herméticos durante un tiempo determinado (Butnariu y Coradini, 2012).

Además de estos métodos, existe la extracción lipofílica u óleo maceración, donde los compuestos activos se concentran en la fase móvil, principalmente un aceite vegetal o mineral. Los aceites más utilizados tradicionalmente para la obtención de este extracto oleoso son los de almendra (*Prunus dulcis* Mill.) o girasol (*Helianthus annuus* L.), pero también se pueden considerar otros aceites beneficiosos para la piel, como los de maní (*Arachis hypogaea* L.), germen de maíz (*Zea mays* L.), macadamia (*Macadamia integrifolia* Maiden & Betche), sésamo (*Sesamum indicum* L.), entre otros (Dreher y Davenport, 2013; Flórez, 2017; Sarkar *et al.*, 2017). Este proceso de extracción puede ser beneficiado con la aplicación de calor, en comparación con la extracción a temperatura ambiente (Heldmaier *et al.*, 2009).

Además, existen otros aceites con potencial para ser utilizados en óleo maceración, tales como el aceite de palta (*Persea americana* Mill.), rosa mosqueta (*Rosa rubiginosa* L.) y avellana chilena (*Gevuina avellana* Mol.) (Bertoli *et al.*, 1998; Kiralan y Yildirim, 2019; Cervantes-Paz y Yahia, 2021). Un criterio esencial para escoger un aceite para extracción es un alto contenido de antioxidante, como la vitamina E, para contribuir a la estabilización del producto en el tiempo (Flórez, 2017).

El aceite de palta tiene alto contenido de ácidos oleico, linoleico y palmítico, con capacidad de hidratar y mejorar la permeabilidad de la piel, además de vitamina E, lecitina, fitoesteroles, entre otros (Naeimifar *et al.*, 2020). El aceite de almendra contiene ácidos grasos insaturados, oleico, linoleico y palmítico, y se ha demostrado su capacidad de suavizar piel agrietada y su efecto calmante sobre las membranas mucosas (Sarkar *et al.*, 2017). En cuanto al aceite de avellana chilena se destaca su capacidad de absorber radiaciones de longitudes de onda más cortas del espectro ultravioleta, gracias a la presencia del ácido palmitoleico, algo muy poco común en otros aceites vegetales (Medel *et al.*, 2009).

El aceite de rosa mosqueta contiene un 41,93 % de ácido linoleico, 35,73 % de ácido linolénico y 15,45 % de ácido oleico (Ramburrun, 2022), que actúan como

emolientes y antiinflamatorios, además de tocoferol, fitoesteroles, ácido transretinoico, carotenoides y ácidos fenólicos, que pueden contribuir también a la actividad cicatrizante del aceite (Botta y Casanovas, 2017).

De acuerdo a estos antecedentes, el objetivo de esta investigación fue comparar la eficiencia de la maceración de pétalos de caléndula en diferentes aceites base no tradicionales para extraer antioxidantes beneficiosos para el cuidado cosmético de la piel.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material utilizado

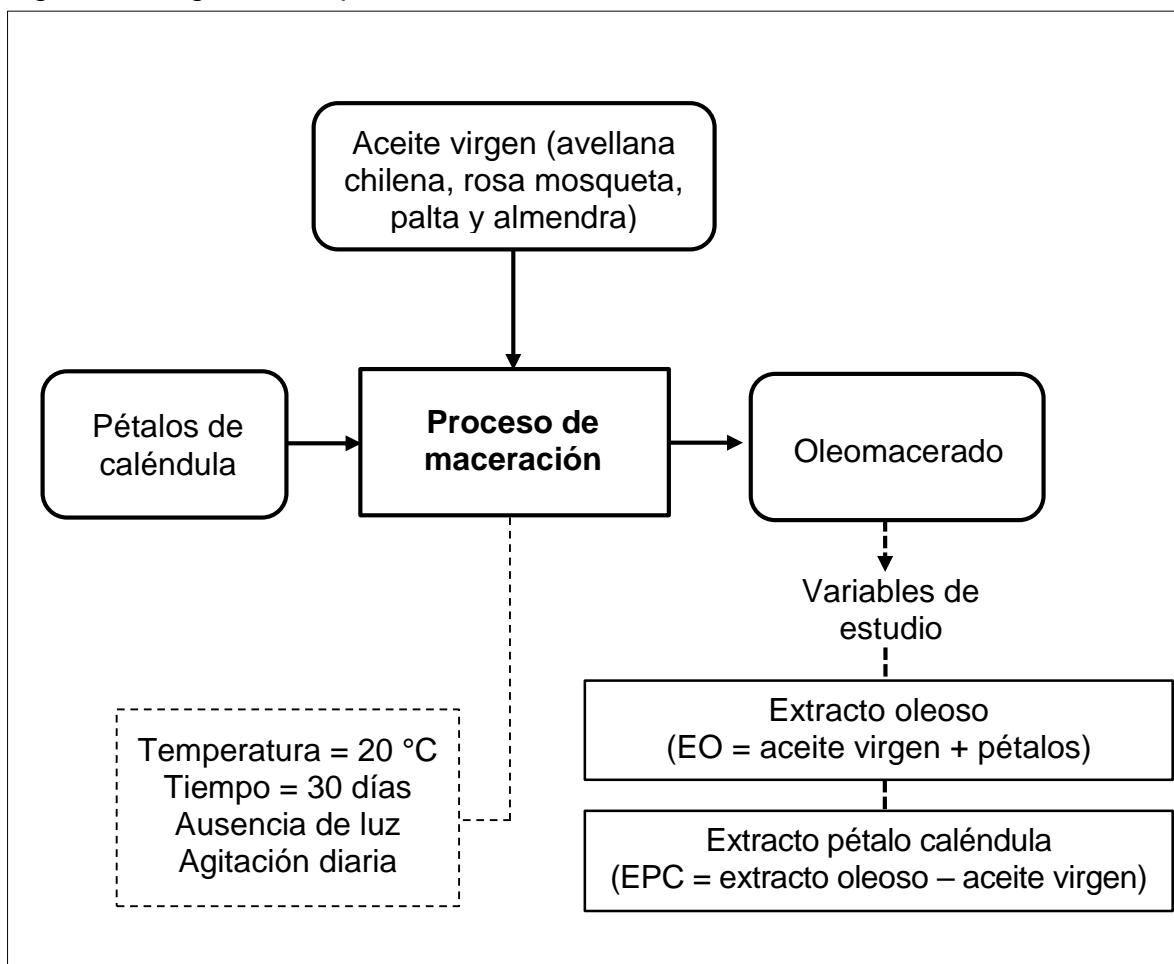
El ensayo se realizó en los laboratorios del Departamento de Producción Vegetal de la Universidad de Concepción. Como material para la maceración se utilizaron pétalos de caléndula deshidratados, cosechados en la ciudad de Parral, provincia de Linares, Chile, los cuales fueron conservados en frascos herméticos en ausencia de luz y a una temperatura de 6 °C hasta ser utilizados para la maceración en aceite.

Los aceites base (aceite virgen, AV) de uso cosmético empleados (palta, rosa mosqueta, almendra y avellana chilena) se adquirieron en la empresa Bazar Natural de la ciudad de Santiago de Chile. La maceración se realizó en frascos de vidrio transparente de 50 mL, con tapa rosca, en oscuridad durante 30 días, entre el día 1 hasta el día 30 de noviembre de 2018. Para controlar la temperatura de maceración se utilizó una cámara de temperatura controlada del laboratorio de Horticultura, a 20 °C.

Maceración

La maceración es el proceso en la cual se extrae los principios activos de la planta mediante los aceites (almendra, palta, rosa mosqueta y avellana chilena) con el fin de obtener un oleomacerado (Arévalo y Monroy, 2017). Las variables que influenciaron el proceso de maceración fueron temperatura, el tiempo de maceración, la ausencia de luz y la proporción entre caléndula-aceites. En Figura 1 se ilustra el proceso de maceración en el cual se obtiene el oleomacerado y las variables de estudio.

Figura 1. Diagrama del proceso de maceración.



Fuente: Elaboración propia.

Procedimiento para la obtención del extracto-oleoso

Los tratamientos consistieron en el tipo de aceite de maceración empleado, siendo T1 aceite de avellana chilena, T2 aceite de almendra, T3 aceite de palta y T4 aceite de rosa mosqueta. Para la obtención del extracto oleoso (EO) se procedió a colocar 2 gramos de pétalos, previamente triturados y 20 mL de aceite por frasco de vidrio, de 50 mL. Los frascos con aceite y pétalos fueron almacenados en el laboratorio de Horticultura (Figura 1) en ausencia de luz por 30 días en una cámara de temperatura controlada a 20 °C, siendo agitados una vez diariamente, mientras duró el ensayo (Heldmaier *et al.*, 2009; Heinrich *et al.*, 2017).

Una vez terminada la maceración, para recuperar el extracto oleoso se vertió los pétalos triturados en aceite en un embudo cónico de vástago largo, recubierto

de tela de nylon PA-66 con apertura de malla 210 μm (Breinbauer Ltda., Chile), e instalado sobre un matraz Kitasato conectado a una bomba de vacío. Se midió el volumen de aceite recuperado en una probeta de vidrio de 5 mL, se añadió tocoferol en una proporción final al 0,2 % (p:v) para su preservación y se almacenó en frascos color ámbar, a temperatura de 4 – 6 °C en un refrigerador con el fin de reducir la degradación de los metabolitos secundarios (Heinrich *et al.*, 2017).

Una vez obtenido el extracto-oleoso se realizaron las evaluaciones correspondientes.

Determinación de carotenoides del extracto-oleoso

Para la determinación de la concentración de carotenoides totales se utilizó el método descrito por los autores Yang *et al.* (1998) y Tanaka *et al.* (2012), realizándose preliminarmente una extracción lipofílica y luego la determinación del contenido de carotenoides.

Para la extracción lipofílica se procedió a pesar 0,5 g de extracto oleoso (extracto-oleoso) (EO) o de aceite virgen (AV) y se extrajo con 2,5 mL de una solución de hexano:acetona (1:1, v:v). Se centrifugó a 3500 rpm (Centrífuga termorregulable FASCIO, Italia) durante 15 minutos y se recogió el sobrenadante. A este se agregó 2,5 mL de éter de petróleo, se mantuvo por una hora en un baño de ultrasonido (Brasonic® 5800 Branson, Emerson, USA) y se añadió 10 mL de agua destilada. Para determinar el contenido total de carotenoides en el extracto éter de petróleo, se tomó una muestra de 2,5 mL y se midió la absorbancia a 470 nm en un espectrofotómetro (espectrofotómetro de UV Vis Orion™ Aquamate 8000, Thermo Scientific™, USA). Como blanco fue usado éter de petróleo. Para determinar la concentración en la muestra, los resultados fueron interpolados en una curva de calibración confeccionada con el estándar β -caroteno (> 97 %, Sigma-Aldrich). Y posteriormente se restó a la concentración de carotenos en el EO la cantidad registrada en el AV para valorar la concentración de carotenoides extraídos de los pétalos de caléndula (EPC).

Determinación de polifenoles del extracto-oleoso

Para la determinación de polifenoles totales la extracción lipofílica se realizó pesando 0,5 g del extracto oleoso (EO) o de aceite virgen (AV) al que se agregó 4

mL de una solución de hexano:acetona:etanol (2:1:1, v:v:v) y se agitó vigorosamente con un vortex (Heidolph, Heidolph Instruments GmbH & Co. KG, Alemania). Posteriormente se agregó 1 mL de agua destilada, colocando la solución en un baño de ultrasonido durante una hora para luego dejar reposar durante 24 horas en un tubo tapado herméticamente. Al cabo de 24 horas se volvió a colocar la muestra en un baño de ultrasonido por una hora y se centrifugó (Centrífuga termostable, Fascio, Italia) durante 10 minutos a 3500 rpm.

Para la cuantificación de polifenoles totales se utilizó el método de Folin Ciocalteu (Singleton y Rossi, 1965). En cada tubo se agregó 120 μ L de reactivo de Folin Ciocalteu 1 N, 25 μ L de EO, 1,62 mL de agua destilada y finalmente 340 μ L de la disolución de carbonato de sodio al 20 % (p:v). Se almacenó por 2 h en oscuridad.

Para determinar la concentración en la muestra (EO y AV) se realizó una curva de calibración con ácido gálico como estándar (rango de concentraciones de 0 a 10 mM) y medición de la absorbancia de las muestras a una longitud de onda de 760 nm (espectrofotómetro de UV Vis Orion™ Aquamate 8000, Thermo Scientific™, USA). La absorbancia obtenida por espectrofotometría fue interpolada en la curva de calibración. El contenido de polifenoles se expresó en mg de equivalente ácido gálico 100 g⁻¹ peso fresco de muestra. Posteriormente se restó a la concentración de polifenoles en el EO la cantidad registrada en el AV para valorar la concentración en pétalos de caléndula (EPC).

Extracto-oleoso recuperado y porcentaje de pérdida de aceite

Como la cantidad de aceite inicialmente utilizado en cada tratamiento era conocido (20 mL), se le restó la cantidad de aceite recuperado (EO) luego de finalizado el ensayo, obteniendo así la cantidad de extracto oleoso recuperado (rendimiento del aceite, RA) y el porcentaje de pérdida de aceite (PP) en cada tratamiento.

Diseño experimental y análisis estadístico

El diseño experimental corresponde a un diseño completamente al azar, con cuatro tratamientos (tipo de aceite de uso cosmético) y cuatro repeticiones. Además, se usó aceite virgen, sin macerar, como testigo.

Se efectuó el respectivo análisis de ANOVA y la prueba de diferencias mínimas significativas (DMS) de Fisher con un nivel de confianza de 95 % tanto para el

análisis de polifenoles como para la comparación de la eficiencia de extracción (EPC) entre los cuatro aceites; cumpliéndose los supuestos de normalidad y homogeneidad de las varianzas.

Para el caso de carotenoides no se cumplieron los supuestos de normalidad, siendo analizados los datos mediante la prueba de Kruskal Wallis, igualmente con un nivel de confianza del 95 %.

Todos los análisis se realizaron mediante el software INFOSTAT (Balzarini *et al.*, 2008).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Contenido de carotenoides

Los resultados del contenido de carotenoides (mg g^{-1}) en el aceite virgen (AV), en el extracto-oleoso (EO), y el contenido real extraído de los pétalos de caléndula (EPC), se muestran en la Tabla 1.

Tabla 1. Concentración de carotenoides (mg g^{-1}) en aceite virgen (AV), extracto-oleoso (EO) y pétalos de caléndula (EPC).

Tratamiento (Aceite)	Carotenoides AV (mg g^{-1})	Carotenoides EO (mg g^{-1})	Carotenoides extraídos en pétalos EPC (mg g^{-1})
T1 (Avellana chilena)	0,00283	0,047 a	0,044 a
T2 (Almendra)	0,00051	0,055 ab	0,054 ab
T3 (Palta)	0,00157	0,057 bc	0,055 ab
T4 (R. mosqueta)	0,00130	0,061 c	0,060 b

Letras distintas en la columna indican diferencias significativas entre los tratamientos según test Kruskal Wallis ($P \leq 0,05$) para carotenoides en extracto oleoso (EO) y carotenoides extraídos de pétalos (EPC).

Se puede apreciar (Tabla 1), que el contenido inicial de carotenoides entre los

aceites usados varió, determinándose en el aceite virgen de avellana chilena la mayor cantidad de carotenoides.

Medel (2011) reportó un contenido de carotenoides (alfa y betacaroteno) en el aceite de avellana chilena de $0,000022 - 0,000032 \text{ mg g}^{-1}$ de β -caroteno y menos de $0,00001 \text{ mg g}^{-1}$ de α -carotenos, contrastando con los $0,00283 \text{ mg g}^{-1}$ en este estudio. En el caso de aceite de almendras se reportó $0,00049 \text{ mg g}^{-1}$ (Górnaš *et al.*, 2014). Wong *et al.* (2008) determinaron una concentración de carotenoides total en aceite de palta (obtenido a partir de mesocarpio verde oscuro, verde claro y amarillo) entre $0,052$ y $0,519 \text{ mg g}^{-1}$. Mencionan que la concentración de pigmentos en el aceite depende del cultivo, la madurez y el almacenamiento del fruto antes de la extracción, el tipo de tejido extraído y las condiciones de procesamiento utilizadas. Sin embargo, también se menciona entre $0,00063 \text{ mg}$ de β -caroteno y $0,00024 \text{ mg}$ α -caroteno en 1 g de aceite de palta o entre $0,09$ y $0,035 \text{ mg g}^{-1}$ (Woolf *et al.*, 2009; Dreher y Davenport, 2013).

Existen escasos reportes acerca del contenido de carotenoides en aceite de *R. rubiginosa*. No obstante, se ha documentado que su fruto presenta un contenido total de carotenoides de $2,4 \text{ mg g}^{-1}$ (Hornero-Méndez y Mínguez-Mosquera, 2000). Adicionalmente, en *Rosa canina*, que es una especie de rosa mosqueta perteneciente al mismo género, se ha determinado que el aceite contiene $0,39 \text{ mg g}^{-1}$ de carotenoides (Kiralán y Yildirim, 2019).

Se observaron diferencias significativas en el contenido de carotenoides entre los tratamientos ($P \leq 0,05$) tanto en el EO como en EPC (Tabla 1).

Respecto a los carotenoides en EO, la mayor concentración de carotenoides se registró en el realizado con aceite de rosa mosqueta, con $0,061 \text{ mg g}^{-1}$ (Tabla 1). Sin embargo, no fue diferente al resultado en aceite de palta ($0,057 \text{ mg g}^{-1}$). Mientras que la menor extracción de carotenoides en el EO se constató en aceite de avellana chilena, con $0,047 \text{ mg g}^{-1}$.

Por otro lado, respecto a los carotenoides en EPC (Tabla 1) solo se encontró diferencias significativas ($P \leq 0,05$) entre el aceite de rosa mosqueta, en el cual se extrajo la mayor concentración de carotenoides ($0,060 \text{ mg g}^{-1}$), y el aceite de avellana chilena, en el cual se extrajo la menor concentración ($0,044 \text{ mg g}^{-1}$). De

acuerdo con los resultados obtenidos (Tabla 1), para una mayor concentración de carotenoides extraídos en el EO sería recomendable utilizar aceite de rosa mosqueta y palta, indistintamente. En la literatura se menciona que la extracción óptima de carotenoides de *Capsicum annuum* L. se logró con una proporción de 1:3 (p:v) con aceite de palta, por 48 h en oscuridad y temperatura ambiental (Flores *et al.*, 2019), indicando que es un buen aceite para extraer carotenoides de especies vegetales de interés.

Además, se debe recalcar que una mayor concentración natural de carotenoides en un aceite, como el de avellana chilena (Tabla1), puede contribuir a una menor desestabilización y, por lo tanto, un almacenaje más prolongado del macerado, al evitar que este se oxide (Meléndez-Martínez *et al.*, 2004). Adicionalmente, según Isaac (1992), mientras más estable es el aceite virgen, menor es la degradación de carotenoides extraídos de los pétalos anaranjados de caléndula en el extracto oleoso durante el almacenaje.

Concentración de polifenoles

Los resultados de la concentración de polifenoles (mg g^{-1}) en el aceite virgen (AV), el extracto-oleoso (EO) y los pétalos de caléndula (EPC), se muestran en la Tabla 2.

Tabla 2. Concentración de polifenoles (mg g^{-1}) en aceite virgen (AV), extracto-oleoso (EO) y pétalos de caléndula (EPC).

Tratamiento (Aceite)	Polifenoles AV (mg g^{-1})	Polifenoles EO (mg g^{-1})	Polifenoles extraídos de pétalos EPC (mg g^{-1})
T1 (Avellana chilena)	0,76	1,43 c	0,60 b
T2 (Almendra)	0,00	0,30 a	0,30 a
T3 (Palta)	0,00	0,92 b	0,92 b
T4 (R. mosqueta)	0,00	0,09 a	0,09 a

Letras distintas en la columna indican diferencias significativas entre los tratamientos según test DMS de Fisher ($P \leq 0,05$) para polifenoles en extracto oleoso (EO) y polifenoles extraídos de pétalos (EPC).

Respecto a la concentración de polifenoles en AV, se pudo determinar que solo el aceite de avellana chilena contenía estas moléculas, y en una concentración de $0,76 \text{ mg g}^{-1}$ (Tabla 2). La ausencia de estos compuestos en los otros aceites empleados se podría atribuir a diversas causas. Dado que fueron adquiridos desde y no producidos en la presente investigación, no se dispone de la trazabilidad de cada uno de los productos y se desconoce el proceso de extracción, el tiempo transcurrido desde la obtención del aceite hasta el momento del uso y las condiciones de almacenamiento. Así como también los compuestos mencionados podrían estar en contenidos más bajos que el límite de detección del equipo empleado para la medición.

De acuerdo con la literatura revisada sobre los distintos aceites utilizados, el aceite de almendra contiene entre $0,124 - 0,168 \text{ mg g}^{-1}$ de polifenoles (Bolling, 2017). Mientras que en aceite de palta su contenido depende del fruto y las condiciones de extracción, ya que fácilmente se oxidan y cambian de estructura (Woolf *et al.*, 2009). Por su parte, se ha reportado que las semillas de rosa mosqueta contienen tocoferoles (polifenol) en cantidades totales de aproximadamente $0,156 \text{ mg g}^{-1}$ de masa seca (Van der Walt, 2016).

Se observaron diferencias significativas entre los tratamientos ($P \leq 0,05$) (Tabla 2), tanto en el EO como en EPC. En cuanto a la concentración de polifenoles en el EO, entre los cuatro aceites se determinó que el aceite de avellana chilena ($1,43 \text{ mg g}^{-1}$) y el aceite de palta ($0,92 \text{ mg g}^{-1}$) presentaron las mayores concentraciones, siendo estadísticamente diferentes entre sí. En cuanto al aceite de almendra y de rosa mosqueta fueron significativamente menores e iguales entre sí estadísticamente.

Respecto al EPC, se determinó que tanto con el aceite de palta ($0,92 \text{ mg g}^{-1}$) como de avellana chilena ($0,60 \text{ mg g}^{-1}$) se obtuvo la mayor concentración de polifenoles, y no presentaron diferencias estadísticas significativas entre ambos.

Comparación de la eficiencia de extracción (EPC)

Se comparó la eficiencia de extracción a partir de la sumatoria de las concentraciones de polifenoles y carotenoides obtenidos de EPC, en los cuatro aceites de uso cosmético estudiados (Tabla 3).

Tabla 3. Eficiencia de extracción de polifenoles más carotenoides desde pétalos caléndulas (EPC), de los cuatro aceites de uso cosmético.

Tratamiento (Aceite)	Polifenoles + carotenoides extraídos de pétalos (EPC) (mg g ⁻¹)
T1 (Avellana chilena)	0,7 b
T2 (Almendra)	0,4 c
T3 (Palta)	1,0 a
T4 (R. mosqueta)	0,2 c

Letras distintas en la columna indican diferencias significativas entre los tratamientos según test DMS de Fisher ($P \leq 0,05$) para polifenoles más carotenoides extraídos de pétalos (EPC).

Se hallaron diferencias significativas ($P < 0,05$) en la eficiencia de extracción de polifenoles más carotenoides en el EPC de los cuatro tratamientos (Tabla 3). Se observó que el aceite de palta fue el más eficiente al sumar las concentraciones de polifenoles y carotenoides en EPC, siendo estadísticamente diferente a los demás tratamientos, seguido del aceite de avellana chilena. Mientras que los aceites de almendra y rosa mosqueta fueron estadísticamente los menos eficientes.

Esto podría deberse a la capacidad de penetración del aceite de palta en el tejido de las flores liguladas atribuida, posiblemente, a la fluidez del aceite causada por su composición química, que corresponde a alrededor de un 70 % de ácidos grasos monoinsaturados (Wang *et al.*, 2018). Por lo tanto, considerando que el aceite de palta contiene estos compuestos en mayor proporción que los otros aceites estudiados, donde rosa mosqueta posee alrededor de un 15 % (Concha *et al.*, 2006, González-Mañán *et al.*, 2017), avellana chilena un 80 % (Masson y Mella, 1985) y almendra un 65 % (Kara *et al.*, 2022), sumado a sus propiedades beneficiosas para la salud cosmética de la piel, el aceite de palta representa una potencial alternativa para la formulación de un producto cosmético.

Extracto oleoso recuperado y porcentaje de pérdida de aceite

Una vez realizada la maceración de los pétalos de caléndula en cuatro diferentes aceites de uso cosmético fue posible determinar la cantidad de extracto-oleoso

recuperado (mL) y el porcentaje de pérdida de aceite durante la maceración, cuyos valores se detallan en la Tabla 4.

Tabla 4. Cantidad de extracto-oleoso recuperado (aceite) y pérdida de aceite (%) en la oleo maceración de pétalos de caléndula en cuatro aceites de uso cosmético, según un promedio de tres repeticiones.

Tratamiento (Aceite)	Extracto-oleoso recuperado (mL)	Pérdida de aceite (%)
T1 (Avellana chilena)	14,90	25,50 a
T2 (Almendra)	15,63	21,85 a
T3 (Palta)	14,88	25,60 a
T4 (R. mosqueta)	15,75	21,25 a

Letras iguales indican que no existen diferencias significativas ($P > 0,05$ según test de Tukey para el porcentaje de pérdida de aceite).

En la Tabla 4 se aprecia que no hubo diferencias significativas ($P > 0,05$) en la cantidad de extracto oleoso recuperado, indistintamente del aceite usado en la oleomaceración, ya que el rango varió entre 14,88 y 15,73 mL respecto al volumen inicial de 20 mL, lo cual equivale a aproximadamente un 75 % del volumen inicial de aceite usado.

Es importante conocer el porcentaje de pérdida del aceite usado en la oleo maceración, con el fin de poder planificar, especialmente en un proceso semiindustrial o industrial, la cantidad inicial de aceite virgen requerida y la disponible una vez recuperado al final del proceso.

CONCLUSIONES

Sobre la base de los objetivos planteados y los resultados obtenidos en la investigación desarrollada se puede concluir que:

1. La mayor concentración de carotenoides extraídos desde pétalos de *Calendula officinalis* (EPC) a través de la técnica de oleo maceración se obtuvo con el aceite de rosa mosqueta, palta y almendra, mientras que para el extracto oleoso (EO) se obtuvo utilizando aceite de rosa mosqueta y palta.

2. La mayor concentración de polifenoles extraídos desde pétalos de *Calendula officinalis* (EPC) se obtuvo con aceite de palta y avellana chilena. Mientras que la mayor concentración de polifenoles en el extracto oleoso (EO) se obtuvo utilizando aceite de avellana chilena.
3. El aceite más adecuado para la mayor extracción de carotenoides y polifenoles desde pétalos de caléndula es el de palta.

REFERENCIAS

1. Arévalo, M.D. y A.A. Monroy. 2017. Desarrollo de la ingeniería conceptual para la producción de la pomada calendae a base de extracto natural de caléndula. Proyecto Integral de Grado, Ingeniero Químico. Fundación Universidad de América, Facultad de Ingeniería. Bogotá, Colombia.
2. Awuchi, C.G. 2019. Medicinal plants: the medical, food, and nutritional biochemistry and uses. IJAAR 5(11): 220-241.
3. Balázs, V.L., G. Gulyás-Fekete, V. Nagy, P. Zubay, K. Szabó, V. Sándor, A. Agócs and J. Deli. 2023. Carotenoid composition of *Calendula officinalis* flowers with identification of the configuration of 5,8-epoxy-carotenoids. ACS Agric. Sci. Technol. 3(11): 1092-1102.
4. Balzarini, M.G., L. González, E.M. Tablada, F. Casanoves, J.A. Di Rienzo y C.W. Robledo. 2008. InfoStat software estadístico: manual del usuario. Ver. 2008. Editorial Brujas. Córdoba, Argentina.
5. Bertoli, C., L.B. Fay, M. Stancanelli, D. Gumy and P. Lambelet. 1998. Characterization of chilean hazelnut (*Gevuina avellana* Mol.) seed oil. J. Am. Oil Chem. Soc. 75(8): 1037-1040.
6. Bolling, B.W. 2017. Almond polyphenols: methods of analysis, contribution to food quality, and health promotion. Compr. Rev. Food Sci. Food Saf. 16: 346-368.
7. Botta, A. y R. Casanovas. 2017. Evidencias para el empleo del aceite de rosa mosqueta en heridas y cicatrices cutáneas. Revista de Fitoterapia 17(2): 133-143.
8. Butnariu, M. and C.Z. Coradini. 2012. Evaluation of biologically active compounds from *Calendula officinalis* flowers using spectrophotometry.

Chemistry Cent. J. 6(35): 1-7.

9. Castaño, C. y P.J. Hernández. 2018. Activos antioxidantes en la formulación de productos cosméticos antienvjecimiento. *Ars Pharm.* 59(2): 77-84.
10. Cervantes-Paz, B. and E.M. Yahia. 2021. Avocado oil: production and market demand, bioactive components, implications in health, and tendencies and potential uses. *Compr. Rev. Food Sci. Food Saf.* 20(4): 4120-4158.
11. Concha, J., C. Soto, R. Chamy, R.E. Zúñiga. 2006. Effect of rosehip extraction process on oil and defatted meal physicochemical properties. *JAOCS.* 83(9): 771-775.
12. Dreher, M.L. and A.J. Davenport. 2013. Hass avocado composition and potential health effects. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 53(7): 738-750.
13. Filipović, V., V. Ugrenović, V. Popović, S. Dimitrijević, S. Popović, M. Aćimović, A. Dragumilo and L. Pezo. 2023. Productivity and flower quality of different pot marigold (*Calendula officinalis* L.) varieties on the compost produced from medicinal plant waste. *Ind. Crop. Prod.* 192: 116093(Art. No.) doi: 10.1016/j.indcrop.2022.116093 [en línea].
14. Flores, M., C. Saravia, C.E. Vergara, F. Avila, H. Valdés and J. Ortiz-Viedma. 2019. Avocado oil: characteristics, properties, and applications. *Molecules* 24(11): 2172(Art. No.) doi: 10.3390/molecules24112172 [en línea].
15. Flórez, J. 2017. Obtención de aceite de alto valor agregado para la industria de alimentos usando fluidos supercríticos. Disertación, Corporación Universitaria Lasallista. Medellín, Colombia.
16. Furlan, M.R. 1998. Cultivo de plantas medicinais. SEBRAE/MT. Cuiabá, Brasil.
17. García, R. C. 2022. Aplicación de polifenoles bioactivos de origen natural en cosmética. Trabajo Fin de Grado, Farmacéutico. Universidad de Sevilla, Departamento de Farmacología. Sevilla, España.
18. Gajardo, S., J. Benites, J. López, N. Burgos, C. Caro y M. Rojas. 2011. Astaxantina: antioxidante de origen natural con variadas aplicaciones en cosmética. *BIOFARBO* 19(2): 6-12.

19. González-Mañán, D., A. D'Espessailles, C.G. Dossi, M. San Martín, R.A. Mancilla y G.S. Tapia. 2017. Rosa mosqueta oil prevents oxidative stress and inflammation through the upregulation of PPAR- α and NRF2 in C57BL/6J mice fed a high-fat diet. *The Journal of Nutrition*. 147(4): 579-588.
20. Górnas, P., A. Siger, K. Juhņeviča, G. Lācis, E. Šnē and D. Segliņa. 2014. Cold-pressed japanese quince (*Chaenomeles japonica* (Thunb.) Lindl. ex Spach) seed oil as a rich source of α -tocopherol, carotenoids and phenolics: a comparison of the composition and antioxidant activity with nine other plant oils. *Eur. J. Lipid Sci. Tech.* 116(5): 563-570.
21. Heinrich, M., V. Vikuk, R. Daniels, F.C. Stintzing and D.R. Kammerer. 2017. Characterization of *Hypericum perforatum* L. (St. John's wort) macerates prepared with different fatty oils upon processing and storage. *Phytochem. Lett.* 20: 470-480.
22. Heldmaier, M., J. Beyer-Koschitzke and E. Stahl-Biskup. 2009. Oil extracts of herbal drugs – optimization of the extraction parameters. *Pharmazie* 64(6): 403-406.
23. Hornero-Méndez, D. and M.I. Mínguez-Mosquera. 2000. Carotenoid pigments in rosa mosqueta hips, an alternative carotenoid source for foods. *J. Agr. Food Chem.* 48(3): 825-828.
24. Isaac, O. 1992. Die Ringelblume – Handbuch für Ärzte, Apotheker und andere Naturwissenschaftler. Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft GmbH. Stuttgart, Alemania.
25. Jadoon, S., S. Karim, M. H. H. B. Asad, M. R. Akram, A. Kalsoom, A. Malik, C. Chen and G. Murtaza. 2015. Anti-aging potential of phytoextract loaded-pharmaceutical creams for human skin cell longevity. *Oxid. Med. Cell. Longev.* 2015(1): 709628(Art. No.) doi: 10.1155/2015/709628 [en línea].
26. Jiménez-Medina, E., A. García-Lora, L. Paco, I. Algarra, A. Collado, and F. Garrido. 2006. A new extract of the plant *Calendula officinalis* produces a dual *in vitro* effect: cytotoxic anti-tumor activity and lymphocyte activation. *BMC Canc.* 6(119): 1-14.
27. Kara, H., H.F., Ayyıldız, İ. Tarhan, F. Erci and M.R. Bakır. 2022. Bioactive Phytochemicals from almond (*Prunus dulcis*) oil processing by-products. In: M.F. Ramadan (Ed.). *Bioactive phytochemicals from vegetable oil and*

oilseed processing by-products. Springer International Publishing. Cham, Switzerland.

28. Kiralan, M. and G. Yildirim. 2019. Rosehip (*Rosa canina* L.) oil. pp: 803-814. In: M.F. Ramadan (Ed.). Fruit oils: chemistry and functionality. Springer Nature. Cham, Switzerland.
29. López, K.S. 2023. Nanotransportadores de polifenoles: Aplicación en la industria cosmética. Trabajo de Grado, Químico Farmacéutico. Universidad de Cartagena, Facultad De Ciencias Farmacéuticas. Cartagena de Indias, Colombia.
30. Masson, L. y M.A. Mella. 1985. Materias grasas de uso habitual y potencial en Chile: composición en ácidos grasos. Editorial Universitaria. Santiago, Chile.
31. Medel., F. 2011. Potencial productivo y comercial del avellano chileno (*Gevuina*). Seminario Internacional 3° Versión EXPONUT. 3 y 4 de mayo, 2011. Comité de Nueces (Chilenut). Santiago, Chile.
32. Medel, F., G. Medel, P. Jil, H. Palma and R. Mansilla. 2009. Monounsaturated fatty acid isomers of *Gevuina avellana* Mol. nut oil and its UV radiation filter behaviour. Acta Hort. 845(97): 619-626.
33. Meléndez-Martínez, A.J., I.M. Vicario y F.J. Heredia. 2004. Estabilidad de los pigmentos carotenoides en los alimentos. ALAM 54(2): 209-215.
34. Naeimifar, A., S. Ahmad, A. Samadi, R. Talari, S. Sajad Ale-nabi, A. Massoud and A. Firooz. 2020. Preparation and evaluation of anti-wrinkle cream containing saffron extract and avocado oil. J. Cosmet. Dermatol. 19(9): 2366-2373.
35. Ramburrun, S. 2022. *In vitro* investigation of *Rosa rubiginosa* (rosehip) oil and essential oil combinations for the topical treatment of acne. Dissertation, Master of Pharmacy. University of the Witwatersrand, Faculty of Health Sciences. Johannesburg, South África.
36. Rehman, F., M. Kalsoom, M. Adnan, B. Fazeli-Nasab, N. Naz, H. Ilahi, M.F. Ali, M.A. Ilyas, G. Yousaf, M.D. Toor and Z. Ali. 2021. Importance of medicinal plants in human and plant pathology: a review. Int. J. Pharm. Biomed. Res. 8(2): 1-11.

37. Russo, F., M.I. Rodríguez y N.M. Apóstolo. 2015. Flavonoides de *Calendula officinalis* L. bajo cultivo. Efecto de diferentes fechas de siembra y fertilización. *Dominguezia* 31(1): 23-29.
38. Sarkar, R., I. Podder, N. Gokhale, S. Jagadeesan and V. K. Garg. 2017. Use of vegetable oils in dermatology: an overview. *Int. J. Dermatol.* 56(11): 1080-1086.
39. Singleton, V.L. and J.A. Rossi. 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdc-phosphotungstic acid reagents. *Am. J. Enol. Vitic.* 16(3): 144-158.
40. Sharapin, N. 2000. Materias primas vegetales para la industria de productos fitoterápicos. pp: 67-76. En: J.S. Martínez, H.Y. Bernal y A. Cáceres (Eds.). *Fundamentos de agrotecnología de cultivo plantas medicinales iberoamericanas.* Colegio de Estudios Científicos y Tecnológicos del Estado de Durango (CYTED). Bogotá, Colombia.
41. Tanaka, T., M. Shnimizu and H. Moriwaki. 2012. Cancer chemoprevention by carotenoids. *Molecules* 17(3): 3202-3242.
42. Toiu, A., D. Benedec, M. Duda, D. Hanganu and I. Oniga. 2016. Determination of total carotenoid content in some *Calendula officinalis* and *Tagetes patula* varieties. *Hop Med. Plants* 24(1-2): 57-62.
43. Van der Walt, A.C. 2016. Transdermal diffusion stability and clinical efficacy of cosmetic formulations containing *Rosa rubiginosa* rosehip seed oil. Dissertation, Master of Science of Pharmaceutics. North-West University, Faculty of Health Sciences. Potchefstroom, South Africa.
44. Wang, J.S., A.B. Wang, X.P. Zang, L. Tan, Y. Ge, X.E. Lin, B.Y. Xu, Z.Q. Ji and W.H. Ma. 2018. Physical and oxidative stability of functional avocado oil high internal phase emulsions collaborative formulated using Citrus nanofibers and tannic acid. *Food Hydrocoll.* 82: 248-257.
45. Woolf, A., M. Wong, L. Eyres, T. McGhie, C. Lund, S. Olsson, Y. Wang, C. Bulley, M. Wang, E. Friel and C. Requejo-Jackman. 2009. Avocado Oil. pp: 74-125. In: R.A. Moreau and A. Kamal-Eldin (Eds.). *Gourmet and health-promoting specialty oils.* Academic Press/AOCS Press. Illinois, USA.
46. Wong, M., O. Ashton, C. Requejo-Jackman, T.K. McGhie, A.G. White, L. Eyres,

N. Sherpa and A.B. Woolf. 2008. Avocado oil: the color of quality. pp: 328-349. In: C.A. Culver and R.E. Wrolstad (Eds.). Color quality of fresh and processed foods. ACS Symposium Series/American Chemical Society. Washington, DC, USA.

47. Yang, C.M., K.W. Chang, M.H. Yin and H.M. Huang. 1998. Methods for the determination of the chlorophylls and their derivatives. *Taiwania* 43(2): 116-122.