

ARTÍCULO ORIGINAL

Astaxantina: antioxidante de origen natural con variadas aplicaciones en cosmética**Astaxanthin: natural antioxidants with various applications in cosmetics**

Sandra Gajardo Solari ^{1,2}, Julio Benites Vélchez ^{1,2}, José López Vivar ^{1,2}, Natalia Burgos Hermosilla ¹, Constanza Caro Galán ¹, Mauricio Rojas Arredondo ¹.

¹Departamento de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad Arturo Prat. Iquique-Chile

²Instituto de Etnofarmacología, Universidad Arturo Prat. Iquique-Chile.

Dirección para correspondencia: Sandra Gajardo Solari. Departamento de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Instituto de Etnofarmacología. Universidad Arturo Prat. Av. Arturo Prat N° 2120, Iquique, Chile.

Tel: 56-57-394635

Email: sandra.gajardo@unap.cl

Recibido para publicación en: 21/06/11

Aceptado en: 15/12/11

RESUMEN

La astaxantina, es uno de los pigmentos carotenoides que tiene importantes aplicaciones en la industria nutracéutica, cosmética y alimenticia; la que es extraída de la microalga *Haematococcus pluvialis*, fuente natural de astaxantina. Dentro de las propiedades destacables que presenta es su gran poder antioxidante, siendo 550 veces más potente que la vitamina E y 11 veces más que el β -caroteno. Además, protege la piel contra los efectos de los rayos UV; retardando y previniendo el eritema e inflamación. El objetivo del presente trabajo fue elaborar una línea cosmética antioxidante a base de astaxantina en la que se incluye: una emulsión facial, una emulsión corporal y un bálsamo labial, a los que se les realizaron los estudios de estabilidad: estrés térmico, pH, viscosidad, centrifugación, signo de emulsión. Para complementar estos estudios se aplicó un test de parche, para evaluar la posible irritación en contacto con la piel; la medición de aceptabilidad de estos mediante encuestas y un control microbiológico. Además, se evaluó la capacidad antioxidante por el método DPPH y se midió el factor de protección solar por espectrofotometría. El resultado de la capacidad antioxidante para ambas emulsiones al 0,01% de astaxantina fue un 60% de capacidad atrapadora de radicales libres. Respecto al factor de protección solar, se obtuvo un FPS de 6 para la emulsión facial y 4 para la emulsión corporal, mientras que para el bálsamo labial fue de 10.

Palabras Clave: Astaxantina, antioxidante, FPS, cosméticos.

ABSTRACT

Astaxanthin is one of the carotenoid pigments, that has important applications in the nutraceutical, cosmetics and food industry, it is extracted from the microalgae *Haematococcus pluvialis*, the natural source of astaxanthin. Among the notable properties of astaxanthin, it is a great antioxidant, being 550 times more powerful than vitamin E and 11 times than β -carotene. Among others activities it can protect the skin against the effects of UV rays, delaying and preventing the erythema and inflammation. The objective of this work was develop a cosmetic antioxidant line based on astaxanthin. This line included: a facial emulsion, a body emulsion and a lip balm that were evaluated on its stability: heat stress, pH, viscosity, centrifugation, the sign of emulsion. To complement these studies a patch test was performed to evaluate the potential irritation because of skin contact, and also the measurement of acceptability of these products through surveys and microbiological control. Furthermore, the antioxidant capacity was evaluated by the DPPH method and also the sun protection factor by spectrophotometry. The result of the antioxidant capacity for both emulsions 0.01% of astaxanthin was 60% of free radical catching ability. With regard to sun protection factor, SPF was 6 for face emulsion and 4 for body emulsion, while for the lip balm was 10.

Key Words: Astaxanthin, antioxidant, SPF, cosmetic.

INTRODUCCIÓN

La piel es una estructura más de nuestro cuerpo y como todas las demás que lo integran, tiene una serie de requerimientos para su mantenimiento. Si estas necesidades son cubiertas satisfactoriamente, la piel mostrará un aspecto sano y saludable, mientras que si esto no ocurre puede verse comprometida tanto su estructura como su actividad metabólica, provocando como resultado una piel áspera, prematuramente envejecida y sin brillo.¹ Los antioxidantes naturales, como la astaxantina, están siendo ampliamente empleadas en formulaciones cosméticas, por su capacidad de anular o reducir los procesos oxidativos que se desarrollan de forma incontrolada dentro del tejido cutáneo. Uno de estos procesos es el estrés oxidativo o el bien conocido proceso de fotoenvejecimiento.

El fotoenvejecimiento, es un proceso multifactorial, sin embargo la fotoexposición es el factor más importante. El consumo de tabaco también es de consideración por sí mismo, pero potencia el fotoenvejecimiento cuando se asocia con la exposición solar. Tanto la radiación UVA como la UVB contribuyen al fenómeno del fotoenvejecimiento pero de diferentes maneras: Mientras los rayos UVB alteran los componentes celulares y extracelulares directamente, los UVA provocan los daños vía formación de radicales libres, que destruyen lípidos y proteínas de las células de la piel así como la matriz extracelular, desencadenando además procesos inflamatorios en “cascada” hasta la formación de

enzimas que degradan la matriz celular llamadas metaloproteínas.²

Un antioxidante es una molécula capaz de retardar o prevenir la oxidación de otras moléculas. La oxidación es una reacción química de transferencia de electrones de una sustancia a un agente oxidante. Las reacciones de oxidación pueden producir radicales libres, estos producen reacciones en cadena que dañan las células. Los antioxidantes terminan estas reacciones quitando intermedios del radical libre e inhiben otras reacciones de oxidación oxidándose ellos mismos.³

Las especies de oxígeno reactivo (ROS) son bien conocidas como participantes en el cáncer de piel, enfermedades inflamatorias y envejecimiento cutáneo ya que influyen negativamente en los tejidos circundantes. La piel se expone directa y frecuentemente ante la luz ultravioleta, el ozono y otros contaminantes ambientales que generan o contienen radicales libres. Una defensa antioxidante integrada es crucial para proteger a la piel de los ROS.⁴

Dentro de los agentes antioxidantes se encuentran los carotenoides. Los mecanismos protectores de éstos se basan en su capacidad para actuar como agentes fotoprotectores frente a los efectos perjudiciales de la luz, el oxígeno y pigmentos fotosensibles; o bien, pueden actuar como compuestos reactivos frente a los radicales libres (de oxígeno o peróxido).

La astaxantina es una xantofila roja de tipo carotenoide, su nombre deriva del género del cangrejo *Astacus astacus*, químicamente se le conoce como 3,3'-dihidroxicaroteno-4,4'-diona (Figura 1).⁵

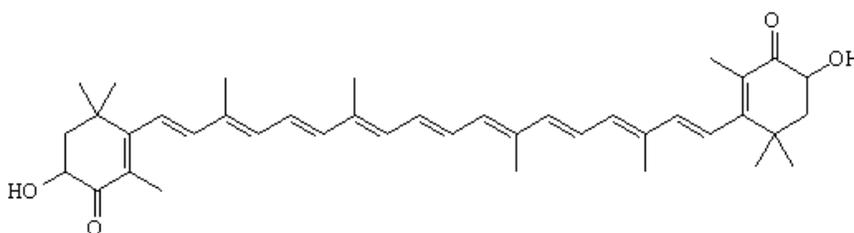


Figura 1. Estructura del carotenoide astaxantina.

La microalga *Haematococcus pluvialis* es la fuente más rica de astaxantina.⁶ Dentro de las propiedades más destacables que presenta es su gran poder antioxidante, siendo 550 veces más potente que la vitamina E, 11 veces más que el β -caroteno, su capacidad para proteger contra los efectos de los rayos UV.⁷⁻¹⁰ El carotenoide astaxantina presenta un gran interés científico y comercial, ya que es una molécula activa de origen natural de alto valor agregado, que tiene grandes perspectivas de aplicación, en la industria farmacéutica: como marcador en el seguimiento de células, como agente antioxidante y antitumoral; en la industria de cosméticos como colorante y antioxidante; en la industria alimenticia como suplemento y complemento

en la coloración directa e indirecta de diversos productos.

El objetivo del presente trabajo es elaborar una línea de productos cosméticos a los cuales se incorpore astaxantina obtenida de una fuente natural, y evaluar sus propiedades antioxidantes y el factor de protección solar.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se utilizó una solución de astaxantina 1% en aceite vegetal (extraída de la microalga *Haematococcus pluvialis*) proveniente de la empresa Pigmentos Naturales S.A.

Preparación de las formulaciones¹¹. Las emulsiones facial y corporal se elaboraron mediante el método de inversión de fases.^{12,13} Utilizando como materias primas: ácido esteárico, alcohol cetílico, vaselina líquida, dimeticona, cera de abeja, sorbitol, metilparabeno, benzoato de sodio, polisorbato 20, monolaureato de sorbitan, aceite de avellanas, aceite esencial de naranja y agua destilada. La solución de astaxantina se incorporó en la fase oleosa.

Para la formulación del bálsamo labial, se pesaron las materias grasas: aceite de almendras, aceite de avellana, cera de abejas, y luego se llevó en un vaso precipitado a baño termostático (Julabo SW22) a una temperatura de 70 °C, una vez disueltas, se agregó la astaxantina. Nuevamente se llevó la mezcla a baño maría por un minuto.

Control de Calidad

Centrifugación. Se realizó 24 horas después de haber elaborado los productos y después de ser sometidos a estrés térmico, en una centrifuga EBA-20 Hettich a 3000 rpm y 25° C, durante 30 minutos.

Viscosidad. Se midió utilizando un viscosímetro Brookfield a 25 °C, utilizando un spindle 06 a una velocidad de 100 rpm. La viscosidad se determinó 24 horas después de elaborar los cosméticos y posteriormente, durante el tiempo que duró el estudio de estabilidad.

Medición de pH. Para la determinación del pH, se utilizó un pH-metro WTN pH 3301/set. Se realizó a 25 °C, introduciendo directamente el electrodo en las formulaciones obtenidas, una vez por semana, durante 6 meses; además se midió el pH antes y después del estrés térmico.

Observación en microscopio. Se tomaron 40 µg de las emulsiones y se colocaron en un porta objeto. Se observaron las emulsiones en un microscopio Kyoto Optical, modelo BL-1100, con un aumento de 4/0.1, 10/0.25, 40/0.65, 100/1.65 oil.

Análisis microbiológico. Se sembraron las muestras en agar Müeller – Hinton y se llevaron a estufa de cultivo a 37°C, evaluando el crecimiento bacteriano y fúngico a las 24, 48 y 72 horas.¹⁴

Test de parche. Se aplicaron las sustancias en estudio a 30 voluntarios, previa firma del consentimiento informado, en parches de 1 cm² y fueron ubicados en la cara interna del brazo, en donde permanecieron durante 48 horas, luego de las cuales, éstos se retiraron y se realizó la primera medición. Se observó la reacción producida en la piel. A las 96 horas de haber puesto los parches se controló nuevamente a los pacientes para realizar una segunda medición, clasificándolas de acuerdo a normas estandarizadas por el Grupo Internacional de Dermatitis de Contacto.^{15,16}

Ensayos de estabilidad¹⁷

Estrés térmico: las muestras se sometieron a temperaturas de 40°C y 4°C, alternado cada 24 horas, por un período de 12 días.

Estabilidad acelerada: las muestras se mantuvieron almacenadas a 40°C y 75% de humedad relativa durante 6 meses.

Control de estantería: las muestras se mantuvieron a temperatura ambiente (25° C), durante 6 meses.

Características organolépticas. Se evaluó el color, aroma, textura y aspecto de cada uno de los cosméticos formulados.

Determinación de la actividad antioxidante¹⁸

Se realizó la medición de la capacidad captadora de radicales libres mediante el ensayo del DPPH* (2,2-difenil-1-picrilhidracilo). Como patrón se utilizó una crema antioxidante en base a vitamina E. Para determinar la capacidad antioxidante se utilizó la siguiente fórmula:

$$\% \text{ Atrapador de radicales} = 100 \times \left[1 - \frac{\text{Absorbancia muestra}}{\text{Absorbancia control}} \right]$$

Determinación del factor de protección solar¹⁹

Se pesaron 50 µg de cada producto en tubos de ensayo, realizando las mediciones por triplicado. A cada tubo se agregó 2 mL de etanol, posterior a esto se llevó a un agitador mecánico (Daihan Scientific EZ Stir HS50A) y

después a ultrasonido (Coler- Parmer 8852) hasta que se disolvió la muestra. Se midió la absorbancia en un espectrofotómetro (Genesis 2, Thermo Spectronic) a una longitud de onda (λ) entre 290-320 nm. Después se calculó el FPS por la siguiente fórmula:

$$\text{FPS espectrofotométrico} = \text{FC} \times \sum_{290}^{320} \text{EE}(\lambda) \times \text{I}(\lambda) \times \text{abs}(\lambda)$$

Donde:

FC = factor de corrección (=10), determinado de acuerdo al FPS de dos filtros solares de una crema conocida que contiene 8% de homosalato con FPS 4.

EE (λ) = efecto eritemogénico de radiación de longitud de onda (λ).

I (λ) = intensidad del sol a una longitud de onda (λ).

abs (λ) = lectura espectrofotométrica de absorbancia de una solución de filtro solar a una longitud de onda (λ).

Análisis estadísticos. Los datos obtenidos por el método del DPPH fueron analizados usando el software estadístico GraphPad versión 4.0 y presentando como media \pm desviación estándar. Se realizó análisis de test “two way” (ANOVA), en el cual $p < 0.05$ fueron considerados como estadísticamente significativo. (*) = $p < 0.05$; (**) = $p < 0.01$; (***) = $p < 0.001$.

RESULTADOS

Se formuló una línea de productos cosméticos consistente en emulsión facial, emulsión corporal y bálsamo labial, a los cuales fue posible incorporar como activo cosmético astaxantina de origen natural, obtenida de la microalga *Haematococcus pluvialis*, la cual aportó a cada uno de los productos sus propiedades pigmentante, antioxidante y protector solar.

Control de calidad

Centrifugación. Este ensayo es el primero que se realiza después de elaborado un cosmético, ya que, si existe alguna inestabilidad del producto, éste debe ser reformulado. En ningún producto elaborado se observó separación de fases, ni otro signo de estabilidad, transcurridas 24 horas de preparación y después de realizado el estrés térmico.

Viscosidad. La viscosidad se evaluó en el caso de las emulsiones, obteniendo como promedio un valor de 4855 cP. Además se determinó que las formulaciones corresponden a un fluido no newtoniano con tixotropía positiva.

Control de pH. Durante los 6 meses que duró el control, los valores se mantuvieron dentro del rango del pH cutáneo, lo que nos indicó una buena estabilidad de todos los productos. El valor promedio del pH fue 5,5. La medición de pH antes y después del estrés térmico indica una leve variación del orden de un 0,02 %.

Observación microscópica. Este control se realizó en la emulsión facial y corporal, en donde ambas corresponden a emulsiones de tipo o/w. Se observó que éstas presentaron un tamaño de glóbulo pequeño, lo cual evita los procesos de coalescencia, el crecimiento de glóbulos, y por tanto la inestabilidad de la emulsión en el tiempo.

Análisis Microbiológico. Se evaluó el crecimiento fúngico y bacteriano a las 24, 48, y 72 horas, no evidenciando crecimiento microbiano en todos los productos elaborados.

Test de Parche: Se realizó a 30 voluntarios, conformados por 17 mujeres y 13 hombres, con edades entre 16 y 79 años. La finalidad del test fue evaluar la compatibilidad de las materias primas de la formulación con la piel. Después de 48 y 72 horas no hubo presencia de irritación con los 3 productos evaluados. Debido a que la erupción clásica de dermatitis de contacto alérgica suele aparecer a los 2 a 3 días de contacto suficiente con el alérgeno, la prueba del parche se realizó por 2 días.

Ensayos de estabilidad. Los 3 productos sometidos a estrés térmico y los que se mantuvieron en condiciones de estabilidad acelerada y a temperatura ambiente durante 6 meses, resultaron ser estables. Estos procedimientos de ensayos deben considerarse únicamente como una evaluación de la resistencia a los cambios de temperatura, y como una indicación de la estabilidad ambiental normal.

Características organolépticas.

Emulsión facial: textura suave, color naranja y olor a naranja.

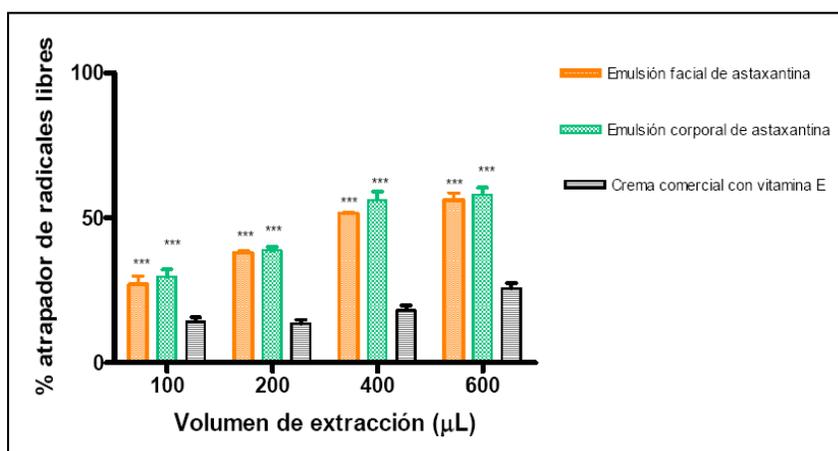
Emulsión corporal: textura suave, color naranja y olor a mango-mandarina.

Bálsamo labial: textura suave, levemente aceitosa, color naranja, olor a caramelo y sabor dulce.

Determinación capacidad antioxidante

Esta prueba se realizó a las emulsiones facial y corporal. En el caso del bálsamo labial, no se pudo medir, debido a que se produjo una interferencia por la mayor concentración de astaxantina, originando una superposición en el espectro de absorción entre DPPH y el carotenoide.

Las emulsiones formuladas presentaron una capacidad atrapadora de radicales libres significativamente ($p < 0,001$) mayor respecto a la crema con vitamina E, estos valores se obtuvieron en un rango de 100 a 600 μ L de muestra.



Gráfica 1. Capacidad atrapadora de radicales libres mediante el ensayo del DPPH de las emulsiones de astaxantina en comparación con una crema que contiene vitamina E.

Determinación del factor de protección solar (FPS).

Los valores de FPS obtenidos para la emulsión facial, emulsión corporal y bálsamo labial fueron de 6, 4 y 10 respectivamente.

DISCUSIÓN

Las emulsiones se elaboraron mediante el método de inversión de fases, en el que se agrega la fase externa sobre la interna, este procedimiento permite obtener gotas más pequeñas y uniformes que las de la emulsión de origen, aumentando la estabilidad de éstas. Una de las ventajas de esta técnica es que requiere muy poco aporte de energía mecánica y calor.¹³ Las emulsiones elaboradas fueron de tipo o/w (aceite en agua), esta formulación se prefiere porque provoca una sensación menos grasa, generalmente mejor aceptada por el consumidor, aplicándose y retirándose mejor. Los agentes emulsificantes escogidos son de tipo no iónico debido a que presentan baja toxicidad lo que permite su utilización por vía tópica. Además, presentan menores problemas de compatibilidad con otros materiales y son menos sensibles a cambios en el pH en comparación a los iónicos.

En el bálsamo labial los componentes de la formulación se escogieron por las siguientes propiedades: la cera de abeja aporta dureza a la formulación, cede agua a la piel;²⁰ el aceite de almendras es emoliente, suavizante, humectante y, además antioxidante; el aceite de avellana es antioxidante, hidratante y atenuador de cicatrices, por lo que es especialmente adecuado para el cuidado de la piel. A su vez, contiene gran cantidad de ácido palmitoléico lo que le da la capacidad de absorber las radiaciones bajas del espectro ultravioleta, actuando como filtro solar con una buena penetración en la piel.²¹

Se elaboraron formulaciones a concentraciones de 0,01; 0,03; 0,06 y 0,1 % de astaxantina. Se descartó la formulación al 0,1% debido a que la emulsión presentó separación de fases después de estar un mes en control de estantería. La emulsión al 0,01% presentaba buena estabilidad y características organolépticas, a pesar de esto se descartó por su baja concentración de astaxantina, ya que, se quería resaltar sus propiedades. Respecto a las otras dos formulaciones se rechazó la de 0,06% de astaxantina por su fuerte color, el que podría no ser de agrado por parte del usuario. Finalmente, se escogió la formulación a una concentración de 0,03 %.

En todos los cosméticos elaborados, se utilizó una solución de astaxantina por sus diversas propiedades, destacando su gran poder antioxidante. Se observó que a 600 µL se obtuvo una capacidad atrapadora de radicales libres de un 60% para ambas emulsiones y un 30 % para la crema con vitamina E, lo que indica la buena capacidad antioxidante proporcionada por la astaxantina que se encuentra a bajas concentraciones (0,01%). La mayor capacidad antioxidante de la astaxantina se debe a su estructura, la que permite situarse en la interfaz lipófila-hidrófila de la membrana lipídica en donde los radicales libres atacan por primera vez, en cambio la vitamina E se sitúa en la parte lipofílica de la membrana. (Figura 2)^{22,23}

Sería conveniente en un futuro poder desarrollar algún método distinto para evaluar la capacidad atrapadora de radicales libres, en el cual el reactivo no interaccione con la astaxantina para obtener valores precisos, como sucedió con el bálsamo labial.

En cuanto a la protección solar, la ventaja de estas formulaciones es que no contienen filtros solares de orígenes sintéticos, pero sí un filtro de origen natural, el que actúa absorbiendo o neutralizando los efectos negativos de las radiaciones solares (efecto antioxidante

y secuestradores de radicales libres). Además, siendo seguro, eficaz, inocuo, posee buena tolerancia cutánea, buen poder de penetración y es compatible con los excipientes cosméticos más frecuentes.²⁴ A pesar que la astaxantina no es un absorbedor directo de la luz UV, sus funciones parecen ir encaminadas como potente antioxidante contra los radicales de oxígeno procedentes

de la fotooxidación, protegiendo así contra los efectos de los rayos UV.²⁵

Este trabajo permitió formular productos a base de astaxantina natural, extraída en el norte de Chile, demostrando que puede ser utilizada de manera segura en productos cosméticos y aportar sus beneficios a la piel.

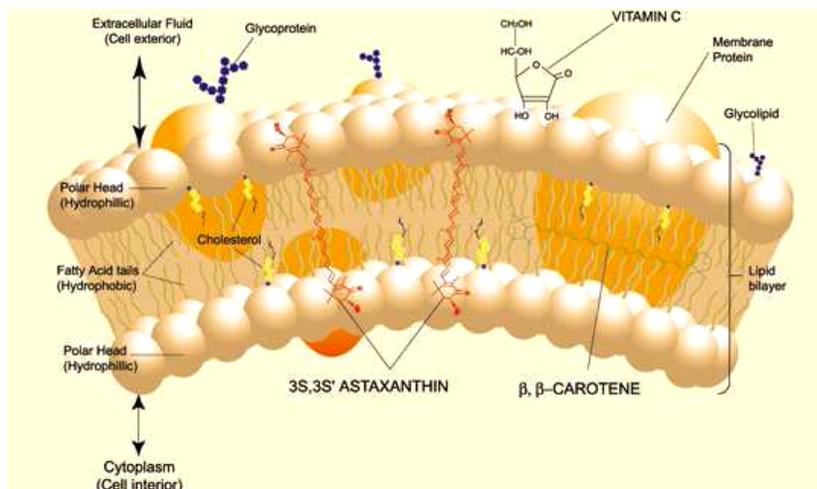


Figura 2. Sitio de interacción de la astaxantina con la membrana celular.

AGRADECIMIENTOS

Se agradece a la Universidad Arturo Prat y a la empresa Pigmentos Naturales S.A.

REFERENCIAS

- Garrote A, Bonet R. *Cosméticos Nutritivos*. Offarm. 2001; 20 (9): 82.
- Rampoldi R, Solano G. Nuevos recursos para la prevención y el tratamiento del fotoenvejecimiento. *Tendencias en Medicina*. 2006; 29: 109.
- Zamora J. Antioxidantes: micronutrientes en lucha por la salud. *Rev Chil Nutr*. 2007; 34 (1): 17-26.
- Shindo Y, Witt E, Han D, Epstein W, Parker L. Enzymic and non-enzymic antioxidants in epidermis and dermis of human skin. *J Invest Dermatol*. 1994; 102 (1): 122-124.
- Salazar M. La Astaxantina y su biosíntesis. *Rev Contactos*. 2000; (36): 61-64.
- Ghazi H, Ushio S, Hirozo G, Kinzo M, Hiroshi W. Astaxanthin, a Carotenoid with Potential in Human Health and Nutrition. *J Nat Prod*. 2006; 69 (3): 443-449.
- Di Mascio P, Devasagayam T, Kaiser S, Sies H. Carotenoids, toco-pherols and thiols as biological singlet molecular oxygen quenchers. *Biochem Soc Trans*. 1990; 18 (6): 1054-1056.
- Kurashige M, Okimasu E, Inoue E, Utsumi K. Inhibition of oxidative injury of biological membranes by astaxanthin. *Physiol Chem Phys Med NMR*. 1990; 22 (1): 27-38.
- Miki W. Biological functions and activities of animal carotenoids. *Pure Appl Chem*. 1991; 63 (1): 141-146.
- Shimidzu N, Goto M, Miki W. Carotenoids as singlet oxygen quenchers in marine organisms. *Fish Sci*. 1996; 62 (1): 134-137.
- Rowe R, Sheskey P, Owen S. *Handbook of Pharmaceutical Excipients*. 5ª ed. Reino Unido: Pharmaceutical Press; 2005.
- Muñoz J, Alfaro M, Zapata I. Avances en la formulación de emulsiones. *Grasas Aceites*. 2007; 58 (1): 64-73.
- Vila J. *Tecnología Farmacéutica Vol. I: Aspectos Fundamentales de los Sistemas Farmacéuticos y Operaciones Básicas*. 1ª ed. Madrid: Síntesis; 2001.
- Merck. *Microbiology Manual 2000*. Berlín, 1994.
- Sandoval C. *Tópicos Sobre Cosmética*. 1ª ed. Concepción: Universidad de Concepción; 1994.
- Secretaría de Salud. Norma Oficial Mexicana NOM-039-SSA1-1993, bienes y servicios. Productos de perfumería y belleza. Determinación de los índices de irritación ocular, primaria dérmica y sensibilización. México, D.F.; 1994.
- Agencia Nacional de Vigilancia Sanitaria. *Guía de estabilidad de productos cosméticos*. 1ª ed. Brasilia: Anvisa; 2004.
- Szabo M, Iditciu C, Chambre D, Lupea A. Improved DPPH Determination for Antioxidant Activity

- Spectrophotometric Assay. Chem Pap. 2007; 61 (3): 214-216.
19. De Souza J, Rodrigues M, D' Ascenção M, Azulay R. Determinação do fator de proteção solar por espectrofotometria. An Bras Dermatol. 1986; 61 (3): 121-124.
 20. Rabaco A, Gonzalez M. Lipidis in Pharmaceutical and Cosmetics preparations. Grasas Aceites. 2000; 51 (1): 74-96.
 21. Franco D, Moure A, Sineiro J, Domínguez H, Nuñez M. Extracto de cáscara de *Gevuina avellana* como antioxidante/filtro UV para uso alimentario y cosmético. Solicitud de patente Universidad Santiago de Compostela. España; 2001.
 22. Palozza P, Krinsky N. Astaxanthin and canthaxanthin are potent antioxidants in a membrane model. Arch Biochem Biophys. 1992; 297 (2): 291-295.
 23. Shibata A, Kiba Y, Akati N, Fukuzawa K, Terada H. Molecular characteristics of astaxanthin and beta-carotene in the phospholipid monolayer and their distributions in the phospholipid bilayer. Chem Phys Lipids. 2001; 113 (1): 11-22.
 24. Bernabéu A. La necesaria fotoprotección. Offarm. 2007; 5 (26): 51-56.
 25. O'Connor I, O'Briend N. Modulation of UVA light-induced oxidative stress by beta-carotene, lutein and astaxanthin in cultured fibroblasts. J Dermatol Sci. 1998; 16 (3): 226-230.