

UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS

FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA

UNIDAD DE POSGRADO

**Capacidad antioxidante in vitro y actividad
regeneradora in vivo de una crema cosmética con
extracto hidroalcohólico de *Myrciaria dubia* (kunth)**

MC Vaugh Camu Camu

TESIS

Para optar el Grado Académico de Magíster en Ciencias
Farmacéuticas con mención en Ciencia y Tecnología Cosmética

AUTOR

Irene Milagros RAMOS GUANILO

ASESOR

Pablo BONILLA RIVERA

Lima – Perú

2017



**ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS PARA OPTAR
AL GRADO ACADÉMICO DE MAGÍSTER EN CIENCIAS FARMACÉUTICAS CON MENCIÓN EN CIENCIA Y
TECNOLOGÍA COSMÉTICA**

Siendo las 10:00 hrs. del 28 de junio de 2017 se reunieron en el auditorio de la Unidad de Posgrado de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, el Jurado Examinador y Calificador de tesis, presidido por la Dra. Norma Julia Ramos Cevallos e integrado por los siguientes miembros: Dr. Pablo Enrique Bonilla Rivera (Asesor), Mg. César Máximo Fuertes Ruitón, Mg. Bertran Santiago Trujillo y la Mg. Carmen Gladys Peña Suasnabar, para la sustentación oral y pública de la tesis intitulada: "**CAPACIDAD ANTIOXIDANTE *in vitro* y ACTIVIDAD REGENERADORA *in vivo* DE UNA CREMA COSMÉTICA CON EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DE *Myrciaria dubia* (Kunth) Mc. Vaugh Camu Camu**", presentado por la Bachiller en Ciencias Farmacéuticas y Bioquímica **IRENE MILAGROS RAMOS GUANILO**.

Acto seguido se procedió a la exposición de la tesis, con el fin de optar al Grado Académico de **Magister en Ciencias Farmacéuticas con Mención en Ciencia y Tecnología Cosmética**. Formuladas las preguntas, estas fueron absueltas por la graduando.

A continuación el Jurado Examinador y Calificador de tesis procedió a la calificación, la que dio como resultado el siguiente calificativo:

Muy bueno (18)

Luego, la Presidenta del Jurado recomienda que la Facultad proponga que se le otorgue a la Bachiller en Ciencias Farmacéuticas y Bioquímica **IRENE MILAGROS RAMOS GUANILO**, el Grado Académico de Magister en **Ciencias Farmacéuticas con Mención en Ciencia y Tecnología Cosmética**.

Siendo las 11:25 hrs. se levanta la sesión.

Se extiende el acta en Lima, a las 11:26 hrs. del 28 de junio de 2017.

Dra. Norma Julia Ramos Cevallos (P. Aux., T.C.)
Presidenta

Dr. Pablo Enrique Bonilla Rivera (P.P., T.C.)
Miembro - Asesor

Mg. César Máximo Fuertes Ruitón (P.P., D.E.)
Miembro

Mg. Bertran Santiago Trujillo (P. Aux., T.P.)
Miembro

Mg. Carmen Gladys Peña Suasnabar (P. Aux., T.C.)
Miembro

Observaciones:

La vida a veces no es como
quisiéramos, hay cosas que no
entendemos porque nos sucede.
Dios nunca nos da más de lo
podemos soportar, nuestra fé,
perdón y agradecimiento cambiará
lo que nosotros no podemos y nos
hará más fuertes y con mayor
aprendizaje.

DEDICATORIA

A Dios por todas las bendiciones en mi vida y su gran amor.

A mis queridos padres Víctor y Marcela, que son lo más maravillosos que Dios me regaló, por la vida, amor, apoyo, guía y confianza incondicional

A mis queridos hermanos Julio y Víctor por su amor, apoyo y comprensión para realizar mis proyectos.

A Karla, y mis princesas bellas Daniela, Vianka y Anika por dar alegría a mis días.

A Luis Ramón por su amor, apoyo y fortaleza a lo largo de mi vida.

A mis queridas amigas y colegas Rosmery Junes y Malena Castañeda por su amistad y perseverancia para terminar nuestras metas.

AGRADECIMIENTOS

A mi asesor el Dr. Pablo Bonilla Rivera, por su asesoría, orientación, tiempo y apoyo para la realización de la presente investigación.

Al Dr. José Ernesto Raéz Gonzáles por su profesionalismo y apoyo incondicional.

A mi colega Dr. Miguel Angel Inocente Camones por su amistad y apoyo profesional.

Al Dr. Armando Cuéllar Cuéllar que me brindó una valiosa y sólida información; un gran profesional.

Al Blgo. Julio Hidalgo Ascencios y Sr. Juan Cueva por su apoyo en esta investigación.

A la Presidente Dra. Norma Julia Ramos Cevallos y a los miembros del Jurado Examinador y Calificador, Dr. Pablo Enrique Bonilla Rivera, Mg. César Máximo Fuertes Ruitón, Mg. Bertran Santiago Trujillo y Mg. Carmen Glagys Peña Suasnabar nombrados por la Facultad de Farmacia y Bioquímica.

A la Dra. Cecilia Rodríguez por su valiosa colaboración.

A todas las personas que de una u otra manera me mostraron su apoyo y entusiasmo en la culminación de esta tesis.

RESUMEN

El presente trabajo de investigación tuvo como objetivo general determinar la capacidad antioxidante *in vitro* del extracto hidroalcohólico de Camu Camu y de la crema cosmética e *in vivo* la actividad regeneradora de la crema cosmética. *In vitro* mediante el método espectrofotométrico utilizando el radical 1,1-difenil-2-picrilhidrazil (DPPH), cuantificación de compuestos fenólicos y cuantificación de vitamina C e *in vivo* mediante evaluación histológica. Los resultados *in vitro* fueron de 45,248 mg ácido ascórbico/g extracto y 2,717 mg ácido ascórbico/g crema (VEAC) de capacidad antioxidante equivalente de vitamina C. La concentración inhibitoria media (IC50) fue de 75,9119 para el extracto y 1264,2603 para la crema. La cuantificación de compuestos fenólicos fue de 115,540 mg ácido gálico/g extracto y 12,639 mg ácido gálico/g crema. La cuantificación de vitamina C fue de 25,166 mg ácido ascórbico/g extracto y 4,614 mg ácido ascórbico/g crema. Lo que demostró que el extracto y la crema tienen actividad antioxidante. La actividad regeneradora de la piel fotodañada de los ratones se determinó mediante evaluación histológica, teniendo en cuenta el estado de la piel (buena, regular o dañada) y la inflamación de la piel (severa, moderada, leve y sin inflamación). En donde de los 4 grupos evaluados: Grupo I (ratones con lomo depilado- Blanco), Grupo II (ratones con lomo depilado e irradiado- Control negativo), Grupo III (ratones con lomo depilado e irradiado y con tratamiento de crema comercial de referencia con propiedades antioxidantes-Control positivo), Grupo IV (ratones con lomo depilado e irradiado y con tratamiento de crema sin extracto-Placebo) y el Grupo V (ratones con lomo depilado e irradiado y con tratamiento de crema con extracto de Camu Camu-Dosis 5,0% p/p); se evidenció que el Grupo V mantuvo en el 100 % de los casos un buen estado de la piel y un 100% de los casos una inflamación leve de la piel. Lo que nos reflejó que la crema cosmética tiene actividad regeneradora.

Palabras clave: *Myrciaria dubia* , antioxidante, regeneradora.

SUMMARY

The present research work had as general objective to determine the *in vitro* antioxidant capacity of the hydroalcoholic extract of Camu Camu and of the cosmetic cream and *in vivo* the regenerative activity of the cosmetic cream. *In vitro* by the spectrophotometric method using 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl radical (DPPH), quantification of phenolic compounds and quantification of vitamin C and *in vivo* by histological evaluation. The *in vitro* results were 45,248 mg ascorbic acid/g extract and 2.717 mg ascorbic acid/g cream (VEAC) of vitamin C equivalent antioxidant capacity. The mean inhibitory concentration (IC 50) was 75.9119 for the extract and 1264, 2603 for the cream. The quantification of phenolic compounds was 115,540 mg gallic acid/g extract and 12,639 mg gallic acid/g cream. The quantification of vitamin C was 25,166 ascorbic acid / g extract and 4,614 mg ascorbic acid/g cream. Which proved that the extract and the cream have antioxidant activity. The regenerative activity of the photodamaged skin of the mice was determined by histological evaluation, taking into account the condition of the skin (good, regular or damaged) and inflammation of the skin (severe, moderate, mild and without inflammation). In those of the 4 groups evaluated: Group I (mice with hair-back-White), Group II (mice with hair-back and irradiated-Negative control), Group III (mice with hairy and irradiated loin and with commercial reference cream treatment With antioxidant properties-Positive control), Group IV (mice with hairy spine irradiated and cream treatment without extract-Placebo) and Group V (mice with hairy spine irradiated and cream treated with extract of Camu Camu-Dose 5.0% w / w); It was evidenced that Group V maintained 100% of the cases a good condition of the skin and 100% of the cases a slight inflammation of the skin. Which reflected us that the cosmetic cream has regenerative activity.

Key words: *Myrciaria dubia*, antioxidant, regenerative.

ÍNDICE

RESUMEN

SUMMARY

CAPÍTULO I: INTRODUCCIÓN.....	1
1.1. Situación Problemática.....	1
1.2. Formulación del Problema.....	2
1.3. Justificación Teórica.....	3
1.4. Justificación Práctica.....	5
1.5. Objetivos de la Investigación	6
1.5.1. Objetivo General	6
1.5.2. Objetivos Específicos	6
CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO	7
2.2. Antecedentes de Investigación	7
2.3 Bases Teóricas	11
2.3.1. Clasificación taxonómica	11
2.3.2. Características Botánicas.....	11
2.2.3. Ubicación Geográfica	12
2.2.4. Recolección del Camu Camu	13
2.2.5. Composición Físicoquímica del Camu Camu	14
2.2.6. Usos.....	16
2.2.7. Compuestos fenólicos.....	18
2.2.7.1. Compuestos fenólicos del Camu Camu	20
2.2.8. Vitamina C	22
2.2.9. Antioxidantes	23
2.2.10. Radicales libres.....	24
2.2.11. La piel	25
2.2.12. Epidermis.....	26
2.2.13. La piel y el fotoenvejecimiento	26

2.2.14. Cremas Cosméticas	28
CAPÍTULO III: METODOLOGÍA	28
3.1. Materiales y métodos	28
3.1.1. Tipo de Investigación	28
3.1.2. Muestra vegetal.....	28
3.1.3. Animales de experimentación.....	28
3.1.4. Materiales, reactivos y equipos	29
3.2. Métodos	29
3.2.1. Recolección e identificación del material bótico:.....	29
3.2.2. Elaboración del extracto hidroalcohólico de Camu Camu	29
3.2.3. Análisis Físicoquímico del extracto hidroalcohólico de Camu Camu	31
3.2.4. Formulación de una crema cosmética con extracto de Camu-Camu	37
3.2.5. Cuantificación de los compuestos fenólicos totales en el extracto y crema cosmética	40
3.2.6. Cuantificación de la Vitamina C en el extracto y crema cosmética	42
3.2.7. Evaluación de la capacidad antioxidante del extracto y la crema.....	44
3.2.8. Evaluación de la actividad regeneradora de la crema cosmética.....	47
3.3. Análisis estadístico	53
CAPÍTULO IV: RESULTADOS Y DISCUSIÓN	54
4.1. Resultados	54
4.1.1. Resultados del análisis físicoquímico del extracto hidroalcohólico Camu Camu.....	54
4.1.2. Resultados del análisis de la crema cosmética	55
4.1.3. Resultados del estudio de estabilidad preliminar “estrés cíclico”	56
4.1.4. Resultados del Contenido de Compuestos fenólicos totales del extracto hidroalcohólico y crema de Camu camu	56
4.1.5. Resultados de Contenido de Vitamina C del extracto hidroalcohólico y de la crema de Camu Camu.....	57
4.1.6. Resultados de la capacidad antioxidante del extracto hidroalcohólico y de la crema de Camu Camu por el método espectrofotométrico de DPPH	57
4.1.7. Resultados de la actividad regeneradora de la crema con extracto hidroalcohólico de la crema de Camu Camu sobre la piel fotodañada del lomo de ratones	59

4.1.8. Resultados de la actividad regeneradora de la crema con extracto hidroalcohólico de Camu Camu sobre la inflamación de la piel fotodañada del lomo de ratones.....	61
4.2. Discusión:.....	63
CAPÍTULO V. CONCLUSIONES.....	68
CAPÍTULO VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	69
CAPÍTULO VIII. ANEXOS.....	77

Lista de cuadros

Cuadro. 1 Composición fisicoquímica de 100g de pulpa de Camu Camu	15
Cuadro. 2 Valores asignados para la evaluación del estado de la piel por cada capa.....	50
Cuadro.3 Valores asignados según el estado de la piel.....	51
Cuadro.4 Valores de los indicadores de la inflamación	51
Cuadro. 5 Nivel de Inflamación de la Piel	52
Cuadro. 6 Protocolo de análisis del extracto hidroalcohólico de Camu Camu	54
Cuadro. 7 Protocolo de análisis de la Crema Cosmética	55
Cuadro. 8 Protocolo de análisis del “estrés cíclico”	56
Cuadro. 9 Compuestos Fenólicos totales	56
Cuadro. 10 Contenido de Vitamina C	57
Cuadro. 11 Capacidad antioxidante del extracto hidroalcohólico de los frutos de Camu Camu	57
Cuadro. 12 Capacidad antioxidante de la crema elaborada con extracto hidroalcohólico de los frutos de Camu Camu	58
Cuadro. 13 Evaluación histológica del estado de la piel	59
Cuadro. 14 Actividad regeneradora de la crema cosmética, mediante evaluación histológica de la inflamación de la piel.....	61
Cuadro. 15 Plantilla de Protocolo de análisis del extracto hidroalcohólico de Camu Camu	78
Cuadro. 16 Plantilla de Protocolo de análisis de la crema cosmética	79
Cuadro. 17 Resultados obtenidos para elaborar la curva de calibración de ácido gálico.....	81
Cuadro. 18 Resultados de la cuantificación de compuestos fenólicos del extracto de Camu Camu	81
Cuadro. 19 Resultados de la cuantificación de compuestos fenólicos de la crema elaborada con extracto Camu Camu	81

Cuadro. 20 Resultados de la cuantificación de compuestos fenólicos del extracto de frutos de Camu Camu expresado en mg ácido gálico/g de extracto.....	82
Cuadro. 21 Resultados de la cuantificación de compuestos fenólicos de la crema con extracto de Camu Camu expresado en mg ácido gálico/g de crema.....	82
Cuadro. 22 Resultados obtenidos para elaborar la curva de calibración de ácido ascórbico.....	83
Cuadro. 23 Resultados de la cuantificación de vitamina C del extracto de Camu Camu.....	83
Cuadro. 24 Resultados de la cuantificación de vitamina C de la crema con extracto de Camu Camu.....	83
Cuadro. 25 Resultados de la cuantificación de vitamina C del extracto de Camu Camu expresado en mg ácido ascórbico/ g de extracto.....	84
Cuadro. 26 Resultados de la cuantificación de vitamina C de la crema con extracto de Camu Camu, expresado en mg ácido ascórbico/ g crema.....	84
Cuadro. 27 Resultados obtenidos para elaborar la curva de calibración de ácido ascórbico para evaluar capacidad antioxidante	85
Cuadro. 28 Resultados de la evaluación de la capacidad antioxidante del extracto hidroalcohólico de frutos de Camu Camu.....	85
Cuadro. 29 Resultados de la evaluación de la capacidad antioxidante de la crema con extracto hidroalcohólico de frutos de Camu Camu.....	86
Cuadro. 30 Estado de la piel por capas	93
Cuadro. 31 Indicadores de la Inflamación	94
Cuadro. 32 Cálculos de Contenido de Vitamina C.....	100
Cuadro. 33 Cálculos de Contenido de Compuestos Fenólicos... ..	101

Lista de Figuras

Figura. 1 Clasificación de los compuestos fenólicos.....	20
Figura. 2 Estructura de Vitamina C	23
Figura. 3 Capas de la piel.....	25
Figura. 4 Esquema de las capas de la epidermis	26
Figura. 5 Flujograma de la fabricación de la crema con extracto hidroalcohólico de Camu Camu.....	37
Figura. 6 Curva de calibración del ácido gálico (ppm).....	42
Figura. 7 Curva de calibración del ácido ascórbico (ppm).....	44
Figura. 8 Curva de calibración del % de inhibición del Ácido Ascórbico ($\mu\text{g}/\text{mL}$) frente al radical DPPH	46
Figura. 9 Actividad regeneradora de la crema cosmética, mediante evaluación histológica del estado de la piel	60
Figura. 10 Actividad regeneradora de la crema cosmética, mediante evaluación histológica de la inflamación de la piel.....	62
Figura. 11 Flujograma de Investigación	94
Figura. 12 Fruto del Camu Camu	96
Figura. 13 Maceración del Camu Camu.....	96
Figura. 14 Filtración del Extracto del Camu Camu	96
Figura. 15 Evaporación del Extracto	96
Figura. 16 Solubilidad del Extracto.....	97
Figura. 17 Marcha Fitoquímica	97
Figura. 18 pH del Extracto	97
Figura. 19 Determinación de la Capacidad Antioxidante, Vitamina C y Compuestos Fenólicos de extracto.....	97
Figura. 20 Preparación de la crema.....	98
Figura. 21 pH de la Crema	98
Figura. 22 Viscosidad de la Crema	98
Figura. 23 Peso específico de la crema	98
Figura. 24 Determinación de la Capacidad Antioxidante, Vitamina C y Compuestos Fenólicos de la crema.....	98

Figura. 25 Selección de los ratones	99
Figura. 26 Depilación e irradiación de ratones	99
Figura. 27 Aplicación de Tratamiento y Observación de Cortes Histológicos.....	99

CAPÍTULO I: INTRODUCCIÓN

1.1. Situación Problemática

A fines del siglo XIX los dermatólogos reconocieron con claridad las consecuencias de la exposición prolongada a la luz del sol, comparando la piel de granjeros y marineros con la de los trabajadores de interiores.

Entre los precursores, el investigador argentino Dr. Angel H. Roffo señaló en 1933 la vinculación entre las radiaciones ultravioletas y el cáncer cutáneo en el hombre y los animales de experimentación. En la actualidad no existen dudas sobre el peligro de la sobre-exposición solar. Para quienes tienen la piel sensible, las quemaduras solares son episodios frecuentes durante las temporadas primavera - verano. Paradójicamente, el bronceado forma parte del "estilo de vida" moderno y es considerado como "saludable".

Al hablar de fotoenvejecimiento nos referimos a los cambios macroscópicos, microscópicos, celulares y moleculares cutáneos que son consecuencia de la irradiación solar crónica y acumulativa. Existen evidencias convincentes que no es sólo una aceleración de las alteraciones dependientes de la edad, sino que tiene características distintivas que lo diferencian del envejecimiento cronológico. Se afirma que el tabaquismo y ciertos factores ambientales (rayos infrarrojos, viento, frío, sequedad ambiental) exacerbaban este daño. La severidad del daño varía entre individuos. Afecta principalmente, aunque no en forma exclusiva, a individuos de piel blanca (fototipo I a III) con antecedentes de exposición excesiva al sol en el pasado. Ocurre también en personas de piel morena y aún negra (fototipo IV a VI), aunque en forma mucho menos severa. Esto es debido a un mayor contenido de melanina y un patrón de dispersión de melanosomas diferente en la epidermis, que generan una barrera más

eficaz para la irradiación ultravioleta (UV) Se demostró un aumento de ácido ribonucleico mensajero (ARNm) de la metaloproteinasa-1 (MMP-1) y la formación de dímeros de timidina en personas de pieles blancas, a diferencia de las personas de piel negra que presentaban una menor inducción del ARNm de MMP-1 y daño al ácido desoxirribonucleico (ADN) luego de la exposición a rayos ultravioleta B (UVB) / rayos ultravioleta A (UVA). Se comprueba que la pigmentación propia de la piel negra atenúa la penetración de la irradiación UV dentro de la piel. (Consalvo, 2006).

Los cambios más dramáticos resultantes de los rayos UV son observados en los queratinocitos, melanocitos y fibroblastos. La afección de estas células, seguida de una reparación defectuosa, ocurre en cada nueva exposición al sol, conllevando a la acumulación de matriz alterada (cicatriz solar) y dermatoheliosis observable (arrugas). Los más afectados son los pacientes con antecedentes de exposición intensa al sol durante la juventud (antes de los 35 años). Teniendo en cuenta esto, es necesario tomar una serie de medidas para una buena protección contra el sol, que van desde evitar la exposición innecesaria al mismo, hasta la utilización de sustancias que son capaces de prevenir su efecto dañino cutáneo, además de la protección física con sombreros, gorras y sombrillas. (Romero, 2006).

1.2. Formulación del Problema

¿Cuál es la capacidad antioxidante y regeneradora de la crema cosmética con extracto hidroalcohólico de *Myrciaria dubia* (Kunth) Mc Vaugh Camu Camu?

1.3. Justificación Teórica

Los cosméticos que contienen antioxidantes son las sustancias antiage más populares. Los antioxidantes tópicos dan protección al daño que producen los radicales libres que se originan cuando la piel está expuesta a la luz ultravioleta o debido al envejecimiento natural. Ha sido incorporada en una variedad de cosméticos que protegen y rejuvenecen la piel fotodañada. Actualmente es ampliamente aceptado que los antioxidantes tópicos son efectivos para el tratamiento de la piel fotodañada. Los ingredientes más populares utilizados con éste propósito incluyen vitaminas y extractos botánicos. (Farris, 2007)

Las plantas contienen numerosos activos hidratantes, nutrientes, antioxidantes, suavizantes y estimulantes, ya sea en la corteza, en las hojas, en la raíz, en los granos o frutos. Ofrecen un activo extracto antiarrugas en todas sus partes: flor, hoja, fruto, raíz y tallo. Los avances en materia de extracción y evaluación, han sido realmente notables en la última década. Hoy en día de una sencilla rosa, se pueden extraer más de 3000 compuestos. La familia de la Fitocosmética contiene extractos, aceites, aceites esenciales y moléculas vegetales. Para obtener dichos preparados, se recurre a la maceración en alcohol o agua. Los Fitocosméticos penetran en la piel gracias a las fitoestimulinas que producen los vegetales, y así pueden ejercer todos sus beneficios. (Química Cosmetológica, 2012).

El ácido ascórbico o vitamina C desempeña un papel esencial en la síntesis de colágeno en nuestro cuerpo. Esto, aunado a sus propiedades como agente antioxidante (que previene los daños a la piel provocados por la radiación solar o por la exposición a ciertos contaminantes atmosféricos), han marcado la pauta para incluir

también a la vitamina C o sus derivados en la formulación de diversos productos cosméticos. (Riveros, 2013).

La vitamina C es un potente antioxidante hidrosoluble sintetizado por múltiples plantas y animales. Funciona como factor esencial para las dos enzimas, que se requieren en la síntesis de colágeno, la propilhidroxilasa (estabiliza la molécula) y la lisilhidroxilasa (fortalece su estructura formando enlaces cruzados). Además estimula la síntesis de procolágeno tipo I en cultivos de fibroblastos humanos. También parece influir en la síntesis de elastina, disminuyendo la fabricación de la misma por los fibroblastos. Tal efecto es beneficioso, ya que reduce la acumulación de elastina habitual en pieles fotos expuestas. Existen tres formas de vitamina C incorporadas a productos cosméticos en forma de cremas, serum y parches. La primera es el L-acido ascórbico que actúa como antioxidante, eliminando radicales libres y regenerando la vitamina E. Otros derivados más estables son el ascorbil-6-palmitato y el fosfato magnésico-ascórbico. En su aplicación tópica ha demostrado multitud de efectos antienviejimiento, siendo el fundamental la mayor formación de colágeno por parte de los fibroblastos. Tiene también acción fotoprotectora y regeneradora de la vitamina E. Persiste en la piel después de su aplicación tópica, una vez saturada, hasta cuatro días. (González, 2013).

El fruto del Camu Camu *Myrciaria dubia* (Kunth) Mc Vaugh, es una excelente fuente de vitamina C orgánica, ya que posee 2 780 mg por 100 g de producto fresco. Este valor es casi 40 veces más alto que el de la naranja (*Citrus sinensis*) que solo contiene 92,3 mg por 100 g. La vitamina C se encuentra tanto en pulpa como en la cáscara. (Calzada, 1980).

Se ha encontrado, además, que la cáscara posee hasta 5 g de vitamina C por 100 g. En un estudio realizado por Muñoz (2007), se

encontró que el Camu Camu posee una alta actividad antioxidante, siendo el de mayor contenido de compuestos fenólicos, entre otros frutos, (2 394,72 mg/100 g de fruto). Los polifenoles pueden neutralizar radicales libres, y pueden jugar un rol importante en la modulación de la detoxificación enzimática, estimulación del sistema inmune, disminución de la agregación plaquetaria y modulación del metabolismo hormonal. (Muñoz, 2007).

Además se evaluó su capacidad antioxidante por el método DPPH, obteniéndose un valor de 98.09 % a una concentración de 50 µg/mL, comparado con el ácido ascórbico, el cual presentó una actividad de 92,82 %. (Nemirovsky, 2010).

1.4. Justificación Práctica

La utilización de productos y materias primas de origen natural, cada vez es más frecuente en la industria cosmética, debido a su gran aceptación entre los consumidores, sin embargo no existen suficientes estudios científicos, sobre la aplicación de las propiedades de éstos en productos cosméticos. Unos de los productos más comunes en cosmética son las cremas. Las mismas son emulsiones, formadas por dos fases distintas y no compatibles, una acuosa y una oleosa. Para ésta última fase es necesaria la adición de antioxidantes para evitar procesos de degradación que generaría un cambio en la apariencia del producto, lo cual afectaría la calidad del mismo, además de tener propiedades anti-edad, que retardarían el envejecimiento de la piel. Se conoce que muchas frutas poseen actividad antioxidante debido a su gran contenido de polifenoles y otros compuestos que le confiere dicha propiedad. Poder aplicar la capacidad antioxidante de extractos frutales en formulaciones cosméticas tipo emulsión (cremas) sería de gran importancia para la industria cosmética peruana. De esta forma se podrían explotar los frutos disponibles en el país, de los cuales se pueden obtener materias primas

naturales, para ser utilizadas en la elaboración de cosméticos. Es por ello, que con este estudio se pretende demostrar la capacidad antioxidante *in vitro* y la actividad regeneradora *in vivo* de una crema cosmética con extracto hidroalcohólico de *Myrciaria dubia* (Kunth) Mc Vaugh Camu Camu en pieles fotoenvejecidas.

1.5. Objetivos de la Investigación

1.5.1. Objetivo General

Determinar la capacidad antioxidante *in vitro* del extracto hidroalcohólico de *Myrciaria dubia* (Kunth) Mc Vaugh Camu Camu y de la crema cosmética e *in vivo* la actividad regeneradora de la crema cosmética sobre la piel fotodañada de los ratones.

1.5.2. Objetivos Específicos

- Cuantificar el contenido de compuestos fenólicos y vitamina C en el extracto hidroalcohólico de *Myrciaria dubia* (Kunth) Mc Vaugh Camu Camu y en la crema cosmética.
- Determinar la capacidad antioxidante del extracto hidroalcohólico de *Myrciaria dubia* (Kunth) Mc Vaugh Camu Camu y de la crema cosmética, utilizando el método espectrofotométrico con el radical 1,1 difenil-2-picrilhidrazil (DPPH).
- Determinar la actividad regeneradora del tratamiento, con la crema cosmética con extracto hidroalcohólico de *Myrciaria dubia* (Kunth) Mc Vaugh Camu Camu sobre la piel fotodañada de ratones de laboratorio, mediante evaluación histológica.

CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO

2.2. Antecedentes de Investigación

Pacci-Salazar (2009), en Lima, al evaluar la eficacia tópica de *Myrciaria dubia* en la curación de quemaduras de segundo grado en ratas Holtzman, se comparó el efecto de la crema a base de *Myrciaria dubia* con el efecto antibiótico de la crema de sulfadiazina argéntica sobre quemadura de segundo grado que se realizó en la piel del dorso de las ratas evaluándose la reducción de la cicatriz, en el grupo Camu Camu fue de $69,4 \pm 52,85$, mientras que el grupo de sulfodiazina argéntica fue de $69,26 \pm 53,66$. Microscópicamente se observó similar infiltración leucocitaria en la dermis y en el estrato seroso en los grupos de Camu Camu y sulfadiazina argéntica, y ambas fueron menores al grupo control. Se observó por ANOVA que, a pesar de que la cantidad de fibroblastos en el grupo de Camu Camu era ligeramente mayor que la sulfadiazina argéntica, la diferencia no fue estadísticamente significativa. La presencia de epidermis en el grupo de Camu Camu, a diferencia de los demás grupos, se pudo deber a una mayor activación de células basales o a una detención de los procesos oxidativos debido a la propiedad antioxidante de este fruto.

Sánchez (2010), en Lima, al realizar, la evaluación de la capacidad antioxidante, compuestos fenólicos y actividad antimutagénica de los extractos de Camu Camu (*Myrciaria dubia*) y yacón (*Smollanthus sonchifolius*), por el método de Ácido 2,2'-azinobis (3 etilbenzotiazolín)-6-sulfónico (ABTS), el Camu Camu presentó valores de capacidad antioxidante de $214,1 \pm 8,99$ μmol de trolox equivalente (TE)/g de muestra fresca mayores que los encontrados para frutas como la mora, frambuesa y fresa de 52,4;

47,6 y 35,4 μmol de TE/g (b.h.); uva, guayaba, acerola, piña, mango, graviola y maracuyá de 9,2; 8,2; 67, 6; 3,4; 13,2; 4,8 y 2,7 μmol de TE/g (b.h.); respectivamente. La capacidad antioxidante por DPPH para el Camu Camu y Yacón fueron 219,7 y 1, 6 μmol de TE/g, b.h., respectivamente, Muñoz (2007), determinó la capacidad antioxidante de diversos vegetales por el método de DPPH, los resultados indicaron que el Camu Camu y el tumbo serrano fueron los que presentaron mayores capacidades antioxidantes (110,5 y 41,2 μmol de TE/g, b.h.), seguidos por la guinda, el noni y el yacón (5,18; 3,48 y 2,22 μmol de TE/g, b.h.). De acuerdo a estos resultados se tiene que el valor de capacidad antioxidante DPPH obtenido es esta investigación resulta ser mayor para el Camu Camu y menor para el yacón en comparación a los reportados por (Muñoz, 2007).

Doroteo (2012), en Lima, realizó el estudio de compuestos fenólicos, y actividades antioxidante, antielastasa, anticolagenasa y fotoprotectora *in vitro* de *Myrciaria dubia* (Camu Camu) y *Caesalpinia spinosa* (tara), para el desarrollo de bloqueadores solares naturales y productos antiedad, en el presente trabajo se evaluó sus actividades antioxidante, antielastasa, anticolagenasa y fotoprotectora *in vitro*. El extracto hidroalcohólico de tara mostró una buena actividad antioxidante en diferentes ensayos *in vitro* (DPPH, capacidad antioxidante de trolox equivalente (TEAC), radical hidroxilo, radical superóxido); asimismo, inhibe la enzima colagenasa con mayor potencia que el control positivo epigallocatequina galato (EC50 = 162,78 y 321,41 $\mu\text{g/ml}$, respectivamente). El extracto hidroalcohólico de Camu Camu, a pesar de su alto contenido de ácido ascórbico, no mostró una actividad antioxidante relevante; pero en cambio, en un cultivo de fibroblastos 3T3 se determinó que ejerce un buen efecto protector *in vitro* (43,6%) contra la radiación UV- B. Se recomienda estudiar la asociación de ambos extractos como base para el

desarrollo de un producto antiedad o de un bloqueador solar con mecanismo de acción dual.

Castro (2013), en Lima, realizó el estudio de variación del contenido de vitamina C y antocianinas en *Myrciaria dubia* "Camu Camu", *Myrciaria dubia* es un arbusto amazónico que produce varios compuestos nutritivos y bioactivos. Esta investigación se realizó para ampliar el conocimiento relacionado a la vitamina C y antocianinas. Las muestras fueron obtenidas de la Colección de Germoplasma del INIA. La vitamina C y las antocianinas se analizaron con técnicas estándares. El contenido de vitamina C mostró una amplia variación y gradientes de concentración con diferencias significativas en frutos verdes ($F = 36$, $gl = 3$, $p < 0,001$) y maduros ($F = 42$, $gl = 3$, $p < 0,001$). También, las antocianinas totales presentaron una amplia variación y gradientes de concentración muy marcadas en los frutos maduros ($F = 34$, $gl = 3$, $p < 0,001$). Estas diferencias se debieron primariamente entre el contenido de vitamina C y antocianinas de la cáscara y las demás partes del fruto ($p < 0,01$). Asimismo, se registró correlaciones positivas en el contenido de vitamina C y antocianinas. Adicionalmente, ambos compuestos se detectaron en diferentes tejidos en los procesos de germinación y crecimiento inicial. En conclusión, *M. dubia* presenta una amplia variación en el contenido de vitamina C y antocianinas en sus frutos, principalmente por la influencia de factores genéticos. También, ambos compuestos tienen gradientes de concentración desde la cáscara hasta el centro de frutos verdes (excepto las antocianinas) y maduros. Además, en los frutos maduros existe correlación positiva entre el contenido de vitamina C y antocianinas de la cáscara y la pulpa en contacto con ésta. Adicionalmente, la vitamina C y las antocianinas, particularmente la cianidina-3-glucósido, son sintetizadas en el proceso de germinación y crecimiento inicial.

Inocente (2013), en Lima, realizó un estudio del efecto irritante *in vitro* de formulaciones cosméticas con extracto de Camu Camu, mediante el método Het Cam, se evaluó el efecto irritante de formulaciones cosméticas con extractos de Camu Camu, proporcionadas por el Laboratorio de AYRU COSMETIC; utilizaron la técnica alternativa *in vitro*, en membrana corioalantoidea en huevos fértiles de gallina (HET CAM, hen's egg test chorio allantoic membrane). La implementación de la técnica se realizó en el Centro de Investigación de Medicina Tradicional y Farmacología del Instituto de Investigación de la Facultad de Medicina Humana de la USMP. Ninguno de los cosméticos con extracto de Camu Camu, produjo ruptura de la membrana corioalantoidea, evidenciado por ausencia del colorante absorbido, azul de tripán, detectable a 595 nm. Los índices de irritación (I.I) obtenidos en todas las formulaciones cosméticas permitió clasificarlas como NO IRRITANTES, y constituyó el soporte de la inocuidad, de las mismas, para continuar con pruebas de eficacia clínica.

Inocente (2014), en Lima, realizó un estudio de la actividad antioxidante y fotoprotectora *in vitro* de una loción y gel elaborados con extracto estabilizado de Camu Camu (*Myrciaria dubia*, Kunth), esta investigación tuvo como finalidad evaluar la capacidad antioxidante y fotoprotectora de una loción y un gel elaborados con extracto estabilizado de los frutos de Camu Camu (*Myrciaria dubia* Kunth). Se realizó los controles de calidad fisicoquímica, microbiológica y estabilidad a condiciones normales y aceleradas, lo cual permitió elaborar parámetros iniciales para los protectores solares con extracto de Camu Camu. Se determinó la actividad antioxidante por el método de DPPH y ABTS, valores de 876,729 $\mu\text{mol Trolox/g}$ Camu Camu para el gel y 1389,650 $\mu\text{mol Trolox/g}$ Camu Camu para la

loción (método DPPH) y valores de 15,330 mmol Trolox/g Camu Camu para el gel y 23,384 mmol Trolox/g Camu Camu para la loción (método ABTS). El FPS de las formulaciones se determinó mediante un método *in vitro* desarrollado por Mansur. Se obtuvo valores de 10,897 \pm 0,298 para el gel y 13,401 \pm 0,319 para la loción.

2.3 Bases Teóricas

2.3.1. Clasificación taxonómica

Myrciaria dubia (Kunth) Mc Vaugh fue identificada taxonómicamente en el museo de Historia Natural de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos (Anexo 1)

2.3.2. Características Botánicas

La especie de *Myrciaria dubia* (Kunth) Mc Vaugh, del Género *Myrciaria*, es un arbusto que alcanza 4 m de altura; se ramifica desde la base formando varios tallos secundarios que a su vez se ramifican en forma de vaso abierto. El tallo y las ramas son glabros, cilíndricos, lisos, de color marrón claro o rojizo y con corteza que se desprende de forma natural. (Sotomayor, 2000).

Tiene hojas ovoides o elípticas hasta lanceoladas de 4,5 a 12,0 cm de largo y 1,5 a 4,5 cm de ancho, ápice acuminado, margen entero y ligeramente ondulado. Inflorescencia axilar con cuatro flores subsésiles dispuestas en dos pares con brácteas redondeadas y ciliadas. Pétalos blancos. (Illachica, 1996).

Según Villachica (1996), el fruto es globoso de superficie lisa y brillante, de color rojo oscuro, hasta negro púrpura al madurar, puede tener de 2 a 4 cm de diámetro; con 1 a 4 semillas por fruto, siendo lo más común 2 a 3 semillas. Peso promedio alrededor de 8,4 g por fruto, las semillas son reniformes, aplanadas con 8 a 11 mm de longitud y de 5,5 a 11 mm de ancho, conspicuamente aplanadas, cubiertas por una vellosidad blanca rala de menos de 1 mm de longitud.

Según Calzada (1980), el Camu Camu al estado silvestre vegeta en orilla de los ríos, sumergido una parte de tronco en el agua, hasta una altura de 30 a 40 % de su altura total, sin embargo merece anotar que por trabajos en la Sub estación Agrícola de San Roque (Iquitos), se deduce que no es indispensable que este frutal esté en la orilla de los ríos, pues se ha experimentado que puede habitar en terrenos altos de la Amazonía. Faltaría todavía observar su desarrollo en lugares del trópicos secos como por ejemplo Tumbes y Piura, a base de riegos continuos. (Sotomayor, 2000).

2.2.3. Ubicación Geográfica

El Camu Camu crece de manera natural en la orilla de los ríos, cochas y cursos menores de las aguas en la Amazonía. Su distribución natural indica que la mayor concentración de poblaciones y diversidad se encuentra en la Amazonía peruana a lo largo de los

ríos Ucayali y Amazonas y sus afluentes, en el sector ubicado entre las localidades de Pucallpa (sobre el río Ucayali) y Pebas (sobre el río Amazonas). La recolección de germoplasma efectuada por el INIA-Perú (Mendoza, 1989), concluye que la zonas donde se observa la mayor concentración de poblaciones, son la quebrada del Supay, tributario del Bajo Ucayali, el río Nanay y tributario del Alto Amazonas (Sotomayor, 2000).

Pinedo *et al.* (2004), agrega que también se encuentra en el departamento de Loreto, a lo largo de las cuencas de los ríos Napo, Marañón, Samiria, Pacaya, Tigre, Tapiche, Yarapa, Tahuayo, Pintuyacu, Itaya, Ampiyacu, Maniti, Oroza, Putumayo, Yaravi, Curaray y Apayacu. (Luque, 2009).

2.2.4. Recolección del Camu Camu

Los frutos se recolectan cuando comienzan a madurar, se reconocen porque la piel o cáscara que es de color verde adquiere algunas pintas color granate intenso. Tres a cuatro días después de colectados, los frutos toman un color granate intenso. Si la fruta va a ser utilizada en la producción de ácido ascórbico, entonces la cosecha puede ser verde, pero con fruto que ha completado su desarrollo. El mejor estado para el aprovechamiento industrial de la fruta es el semimaduro, ya que es cuando posee mayor contenido de ácido ascórbico. En las zonas inundadas se recolectan los frutos que han

caído y se encuentran sobre la superficie del agua. La cosecha es manual y el producto recolectado debe ser colocado en empaquetamiento adecuados para transportarlo. (Illachica, 1996)

2.2.5. Composición fisicoquímica del Camu Camu

La composición fisicoquímica de la fruta en 100 g de pulpa de Camu Camu, se presenta en el Cuadro 1. Como se observa, el mayor componente es el ácido ascórbico, del cual tiene 2 994 mg por 100 g de pulpa (2 780 mg como ácido ascórbico reducido). El contenido de proteínas está en 0,5 mg/100 g, el de carbohidratos en 4,7 mg/ 100 g, mientras que los demás constituyentes se encuentran en cantidades similares a los que se observan en otras frutas tropicales. (Sotomayor, 2000).

Muñoz *et al.* (2007), encontró que el Camu Camu posee una alta actividad antioxidante, siendo el de mayor contenido de compuestos fenólicos, entre otros frutos (2 394,72 mg/100 g de fruto).

Ramos *et al.* (2008), evaluó su capacidad antioxidante por el método DPPH, obteniéndose un valor de 98,09 % a una concentración de 50 µg/mL, comparado frente al ácido ascórbico, el cual presentó una actividad de 92,82%. (Nemirovsky, 2010).

**Cuadro 1. Composición fisicoquímica por 100g de
pulpa de Camu Camu**

Componentes	Unidades	Valor 1	Valor 2
Energía	kcal	17	24
Agua	g	94,4	93,3
Proteínas	g	0,5	0,5
Grasa	g	---	0,1
Carbohidratos	g	4,7	5,9
Fibra	g	0,6	0,4
Ceniza	g	0,2	0,2
Calcio	mg	27	28
Fósforo	mg	17	15
Hierro	mg	0,5	0,5
Tiamina	mg	0,01	0,01
Riboflavina	mg	0,04	0,04
Niacina	mg	0,62	0,61
Acido ascórbico reducido	mg	2 780	2 780
Acido ascórbico total	mg	---	2 994

Fuente. 1. Roca (1965)

2. Collazos *et al.* (1996)

2.2.6. Usos

La fruta del Camu Camu puede ser empleada para la fabricación de jugos, helados, concentrados, néctares, mermeladas y para la obtención de ácido ascórbico natural. El jugo y los helados de Camu Camu, son producidos y consumidos de manera tradicional en las poblaciones donde se encuentra esta fruta. Debido a su alto contenido de ácido ascórbico, la pulpa tiene que ser diluida previamente a su consumo. Los concentrados no son preparados todavía debido a la ausencia de materia prima, que no ha permitido desarrollar extensivamente la tecnología. Sin embargo algunas empresas privadas están efectuando ensayos para producir concentrados tipo pasta diluida o “squash” diluido, en los cuales se mantiene al máximo la vitamina C natural que posee el Camu Camu. Probablemente uno de los principales usos que se le dé a la pulpa, será en la producción de refrescos, naturales o “healthy drinks” que serían distribuidas por la industria de bebidas. Normalmente la industria de bebidas absorbe el mayor porcentaje de las importaciones de las frutas tropicales. Investigaciones efectuadas en Bélgica.

Zapata (1992), indican que el Camu Camu es una excelente fuente de vitamina C natural, con mayores concentraciones que los otros frutales tradicionales proveedores del ácido cítrico. Las mermeladas son otra manera del uso de la fruta, sin embargo por las cualidades ácidas, la pulpa debe ser diluida con otras frutas.

Recientemente se ha reiniciado la producción de tabletas de ácido ascórbico natural en base a Camu Camu. Se producen tabletas de polvo deshidratado que contiene 50 % de vitamina C, a las cuales se les agrega algún otro producto naturista para hacerlo más atractivo, como por ejemplo las ceras producidas por las abejas. Las cápsulas de vitamina C, se recomiendan en este caso para situaciones de intensa actividad física y para convalecientes, entre otros. (Sotomayor, 2000).

Tanto los frutos como la corteza son usados para teñir fibras vegetales, los vapores del raspado de la corteza hervida sirven contra dolores musculares, las hojas trituradas sumergidas en agua, para remojar la cabeza o como bebida contra la fiebre, el dolor de cabeza y la calentura interna.

Otras propiedades medicinales:

- Como antigripal: frutos licuados con agua
- Como laxante: jugo de frutos mezclado con agua
- Para malestares gastro-intestinales: jugo fresco de frutos maduros
- Contra el reumatismo: el cocimiento de corteza y frutos verdes macerado en aguardiente.
- Para las heridas: Emplasto de la corteza machacada

Algunas propiedades curativas: “Su corteza y su tallo consumidos en infusión son un excelente remedio contra la diabetes; su cáscara al

estado maduro tiene buena concentración de antocianinas, ideal para la fabricación de antioxidantes” (Luque, 2009).

2.2.7. Compuestos fenólicos

De acuerdo con Lock (1988), los compuestos fenólicos son todos aquellos compuestos “que poseen en común un anillo aromático con uno o más sustituyentes hidroxilos y que suelen encontrarse frecuentemente como glicósidos combinados con unidades de azúcar”. Valencia (1995), indica además que por lo general, estos compuestos suelen alojarse en las vacuolas de las plantas. Ambos autores mencionan entre los compuestos fenólicos a los flavonoides, los taninos, las quinonas, cumarinas, entre otros (Luque, 2009).

Para Gimeno (2004), el término “compuestos fenólicos” engloba a todas aquellas sustancias que poseen varias funciones fenol (nombre popular del hidroxibenceno), unidas a estructuras aromáticas o alifáticas. Los compuestos fenólicos tienen su origen en el mundo vegetal. Son unos de los principales metabolitos secundarios de las plantas y su presencia en el reino animal se debe a la ingestión de éstas.

Paladino (2006), los compuestos fenólicos son metabolitos secundarios ampliamente distribuidos en el reino vegetal. Se localizan en todas partes de las plantas y su concentración es variable a lo largo del ciclo vegetativo. Estos compuestos participan de diversas

funciones, tales como la asimilación de nutrientes, la síntesis proteica, la actividad enzimática, la fotosíntesis, la formación de componentes estructurales, la alelopatía y la defensa ante los factores adversos del ambiente.

Según Muñoz *et al.*(2007), los compuestos fenólicos son metabolitos esenciales para el crecimiento y reproducción de las plantas y actúan como agentes protectores frente a patógenos, siendo secretados como mecanismo de defensa a condiciones de estrés, tales como infecciones, radiaciones UV, entre otros. Esta síntesis se da a partir de fenilalanina por la vía del shikimato. Juegan un rol vital en las plantas y regulan el metabolismo y síntesis de la lignina, por lo que las plantas presentan un gran número de componentes fenólicos (flavanoles, flavonoles, chalconas, flavonas, flavanomas, isoflavonas, taninos, estilbenos, curcuminoides, ácidos fenólicos, coumarinas, lignanos, etc). (Tsimidou, 1998, citado en Martínez-Valverde *et al.*, 2000), la naturaleza de los polifenoles varía desde moléculas simples como los ácidos fenólicos hasta compuestos altamente polimerizados, como los taninos. Entre los compuestos fenólicos existentes en los alimentos, se pueden distinguir dos grandes familias los: no flavonoides y flavonoides, constituidas cada una de ellas por diferentes subfamilias de compuestos. (Sánchez, 2010), (Figura. 1).

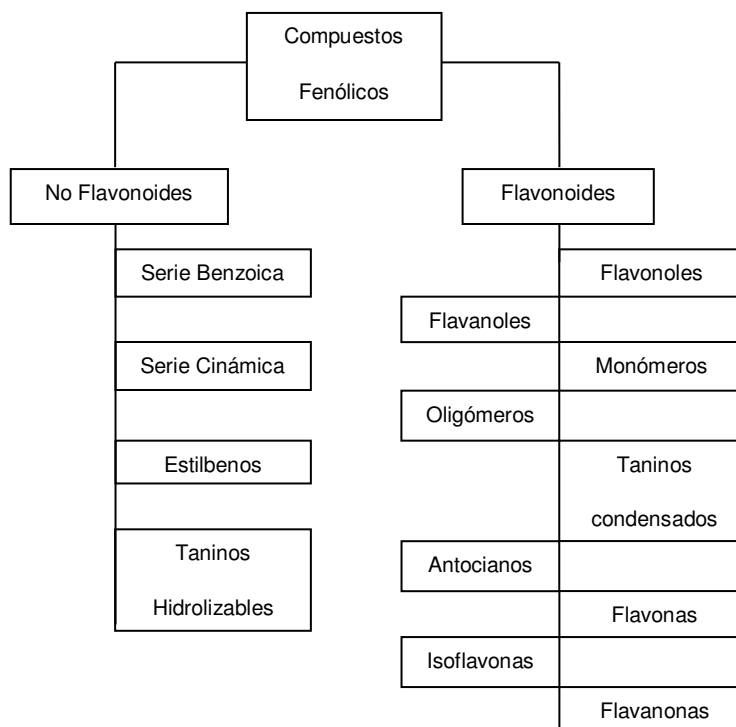


Figura 1. Clasificación de los compuestos fenólicos

Fuente: García, B. (2005)

2.2.7.1. Compuestos fenólicos del Camu Camu

La semilla y la cáscara de los residuos de jugo de Camu-Camu contienen significativamente más abundantes fenoles, que otras frutas tropicales (Myoda et al., 2010). Este fruto amazónico, presenta en su composición diversos compuestos fenólicos como flavonoides, antocianinas, proantocianinas, elagitaninos y derivados del ácido elágico y gálico, el contenido fenólico en la pulpa es 8,66 mg/100 g, en la cáscara 10,50 mg/100 g, en la Pulpa en polvo 48,5 mg/100 g, en las semillas 336,03 mg/100 g mientras que el mayor valor se presenta en

la harina de Camu Camu con 672,49 mg/100g (Fracassetti et al., 2013). (Arellano-Acuña, 2016).

Los taninos se clasifican como polifenoles ya que contienen muchos grupos hidroxilo fenólicos en sus estructuras (Kaneshima et al., 2016) y están definidos según la RAE como sustancias astringentes que se encuentran en algunos tejidos vegetales y que se emplea, entre otros usos, para curtir pieles (RAE, 2014). Los taninos, se extraen de las plantas haciendo uso de agua o con una mezcla de agua y alcohol luego se decantan y se dejan evaporar a baja temperatura hasta obtener el producto final. En el 2013, se extrajeron taninos del polvo de semilla, pulpa y piel del Camu Camu con una solución agua-metanol al 50% (Fracassetti et al., 2013). Años más tarde Kaneshima et al. (2016) realizaron la experiencia en base a un mezcla de agua cetona al 50% (V/V), extrayendo a partir de la semilla y piel de Camu-Camu los taninos como: grandinina, vescalagin, castalagina, methylvescalagin, stachyurin y casuarina, los cuales demostrando tener una potencial actividad antioxidante a través de los ensayos DPPH (1,1-difenil-2picrilhidrazil), ABTS (2,2'-azino-bis-3etilbenzotiazolina-6-sulfónico) y ORAC (capacidad de absorción de radicales de oxígeno). Actividades antioxidantes medidas por los ensayos DPPH y ABTS, revelaron que el tanino stachyurin mostró la actividad antioxidante más fuerte entre los taninos (Kaneshima et al., 2016). (Arellano-Acuña, 2016).

Estudios realizados en el 2013 muestra un bajo contenido de antocianinas en la cáscara de frutos verdes de Camu-Camu (0,85 a 2,42 mg/100g cáscara), mientras que en frutos maduros el contenido de antocianinas fue de 6 a 140 veces mayor que en frutos verdes. En promedio se registró más antocianinas en frutos maduros ($55,17 \pm 24,30$ mg/100g cáscara) que en frutos verdes ($1,64 \pm 0,44$ mg/100 g cáscara) (Castro et al., 2013). En el 2015 se evidenciaron estudios

sobre la evolución del contenido de antocianinas totales y flavonoides (flavonas y flavonoles) en la pulpa y la cáscara de Camu-Camu (*Myrciaria dubia*), durante el desarrollo 53-102 DAA (DAA = days after anthesis = días después de la anthesis), el contenido total de antocianinas en la pulpa de Camu-Camu tuvo un descenso conforme transcurre el tiempo de maduración, mientras que en la piel sucede lo contrario ya que los niveles de antocianinas se elevan. En el caso de los flavonoides contenidos en la pulpa de Camu-Camu alcanzó su mayor valor en el 81 DAA y en el caso de la piel presentó un aumento de hasta 60 mg de flavonoides/100 piel de Camu-Camu en el 102 DAA (Neves et al., 2015b). (Arellano-Acuña, 2016).

2.2.8. Vitamina C

El ácido ascórbico o vitamina C es hidrosoluble, su capacidad antioxidante se debe a su poder oxido reductor, cede electrones a los radicales libres y los estabiliza; actúa modificando las moléculas de superóxido y de otras formas reactivas de oxígeno, a los cuales cede un electrón para estabilizarlos, protegiendo de esta manera a los lípidos del daño oxidativo. (Chimenes, 2008).

Fennema (1993), reporta que la vitamina C es un compuesto muy soluble que posee a la vez propiedades ácidas y reductoras, estas características se deben a su estructura de enediol, que se halla conjugada con el grupo carbonilo en el anillo lactona.

Kuon (1956), manifiesta que hay varias sustancias químicas relacionadas que poseen la actividad de la vitamina C, por lo menos hasta cierto grado, pero la más importante de tales sustancias es el ácido L-ascórbico. Asimismo indica que el ácido D ascórbico, que es el producto de la oxidación del ácido ascórbico, se encuentra frecuentemente relacionado a éste en los productos naturales. Tanto

el ácido L ascórbico como el ácido D ascórbico poseen actividad biológica.(Figura. 2)

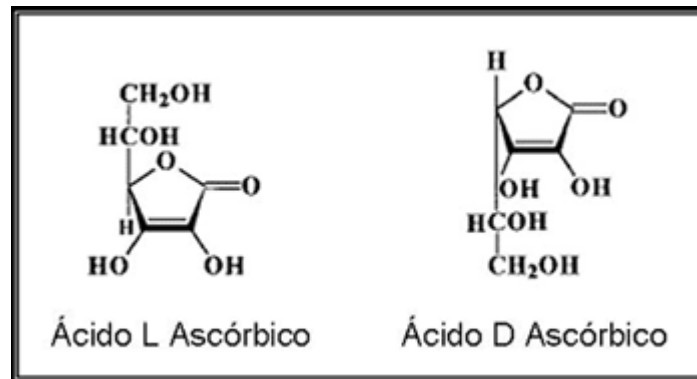


Figura 2. Estructura de Vitamina C

Fuente. Serra (2007)

Según Cheftel *et al.* (1976), el requerimiento promedio de vitamina C en un niño es de 30 a 50 mg por día y en un adulto es de 40 a 60 mg por día (Huapaya, 1995).

2.2.9. Antioxidantes

Los antioxidantes son compuestos que inhiben o retrasan la oxidación de otras moléculas mediante la inhibición de la propagación de la reacción de oxidación.

Veliogluet *al.* (1998), señala que los antioxidantes pueden clasificarse en naturales y sintéticos, estando estos últimos en desuso debido a estudios que les atribuyen efectos carcinógenos. Este hecho ha despertado un creciente interés en el estudio de los antioxidantes naturales entre los que se encuentran distintos compuestos fenólicos.

Pokorny (2001), los antioxidantes de origen natural son aquellas sustancias que se presentan o pueden ser extraídas de los tejidos de las plantas y aquellas que se forman durante el cocinado o el procesamiento de compuestos alimenticios de origen vegetal o animal.

Existen numerosos estudios sobre la capacidad antioxidante de los alimentos de consumo corriente en las diferentes culturas: las frutas, las hierbas, el té, el cacao, las verduras, los cereales, etc.

Castañeda *et al.* (2008), indica que los antioxidantes naturales se encuentran presentes en, prácticamente, todas las plantas, microorganismos, hongos e incluso en los tejidos animales. En las frutas, las legumbres y algunos vegetales se encuentran muchas sustancias capaces de atrapar radicales libres, mejorando nuestra defensa antioxidante, reportándose que son capaces de detener o prevenir el desarrollo de tumores y los efectos bioquímicos asociados con la progresión de los mismos; este potencial se atribuye, principalmente, a sus propiedades antioxidantes. (Sánchez, 2010).

2.2.10. Radicales libres

Los radicales libres son moléculas inestables porque contienen un electrón no apareado. Para poder convertirse en moléculas estables, los radicales libres buscan electrones de otras moléculas tales como el ADN, lípidos en las membranas celulares y en las proteínas de los tejidos corporales. Cuando estas moléculas son atacadas por los radicales libres, su estructura molecular se altera. Estas moléculas alteradas se convierten entonces en radicales libres que buscan, atacan y dañan moléculas aledañas, continuando así una reacción en cadena que crea radicales libres y causa daños moleculares. Los científicos creen que los radicales libres también podrían contribuir en muchas enfermedades y a la aceleración de los signos de envejecimiento.

La excesiva producción y/o exposición de un organismo a radicales libres induce en éste alteraciones biológicas potencialmente conducentes a un daño celular, denominado “estrés oxidativo”. Los radicales libres más comunes en el organismo son el radical

superóxido, el radical hidroxilo y el peróxido de hidrógeno, que aunque no cumple con el requisito de tener electrones desapareados tiene la actividad necesaria para ser considerado dentro del grupo. El anión radical superóxido, puede actuar como agente oxidante en un medio hidrofóbico, como son las membranas celulares y como agente reductor en medio acuoso. A niveles intracelulares son reducidos por dismutación, lo que puede ocurrir espontáneamente. (Inocente, 2009).

2.2.11. La piel

Órgano dinámico constantemente cambiante, se compone en tres capas principales: epidermis, dermis y tejido subcutáneo, cada una de las cuales está formada por varias subcapas. Los anexos de la piel, como folículos y glándulas sebáceas y sudoríparas, también desempeñan diversos papeles en su función global, menciona que la piel posee una gran capacidad de regeneración, es decir, es capaz de repararse a sí misma después de haber sufrido lesiones leves. (Yaringaño, 2015)(Figura. 3).

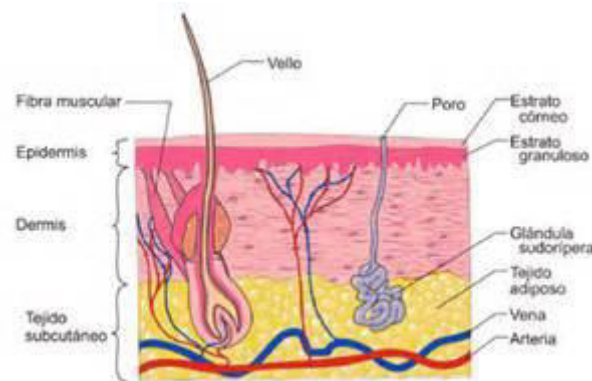


Figura 3. Capas de la piel

Fuente. Yaringaño (2015)

2.2.12. Epidermis

La epidermis se compone de 4 o 5 capas (Figura. 4), dependiendo de la región de la piel. Las dos capas principales son el estrato basal o germinativo y el estrato córneo, la capa más externa es el estrato córneo la cual tiene contacto directo con el medio ambiente, esta capa no es una simple colección de células muertas, sino un complejo organismo que es parte del sistema homeostático; todos los fenómenos ocurren en esta capa, incluyendo el uso de cosméticos. (Yaringaño, 2015)



Figura 4. Esquema de las capas de la epidermis

Fuente. Yaringaño (2015)

2.2.13. La piel y el fotoenvejecimiento

La piel es la cubierta externa del cuerpo humano y uno de los órganos más importantes del mismo tanto por tamaño como por sus funciones. La piel separa al organismo del medio ambiente externo y, al mismo tiempo, permite su comunicación con él mismo. Es una envoltura completa sin soluciones de continuidad, ya que en las

regiones donde se encuentran los orificios naturales del organismo, la piel se transforma paulatinamente en una mucosa.

La piel sana es una barrera contra agresiones mecánicas, químicas, tóxicas, calor, frío, radiaciones ultravioleta y microorganismos patógenos. Además, la piel es esencial para el mantenimiento del equilibrio de fluidos corporales actuando como barrera ante la posible pérdida de agua (pérdida transcutánea de agua), el mantenimiento del equilibrio térmico y la transmisión de una gran cantidad de información externa que accede al organismo por el tacto, la presión, temperatura y receptores del dolor. Es más, prueba de que la piel juega un papel muy importante en nuestra función de relación es que exteriorizamos nuestro estado emocional por la piel: nos sonrojamos, palidecemos, nuestro pelo se eriza y emanamos olor (feromonas). (Merino, 2011).

El fotoenvejecimiento comprende los cambios clínicos y microscópicos de la piel foto expuesta crónicamente. Tiene fenómenos propios, clínicos e histológicos que permiten diferenciarlo del envejecimiento fisiológico. Clínicamente se encuentran arrugas superficiales y profundas, surcos, piel engrosada, manchas pigmentarias, coloración amarillenta o cetrina, laxitud, telangiectasias. Histológicamente, el sello del fotoenvejecimiento está dado por la elastosis de la dermis debido a un proceso degenerativo de la fibra elástica propio del daño por luz UV. (Guevara, 2011).

2.2.14. Cremas cosméticas

Son preparados que al aplicar en la piel con fines de embellecimiento ejercen una acción determinante en cuánto a provocar un cambio en ésta, posee ingredientes que ayudan a la piel a mantenerla y protegerla. Esto hace posible incorporar en estos productos para el cuidado de la piel un número ilimitado de sustancias activas a partir de fuentes naturales (extractos de plantas o algas, aceites, oleorresinas). (Yaringaño, 2015)

CAPÍTULO III: METODOLOGÍA

3.1. Materiales y métodos

3.1.1. Tipo de Investigación

Experimental, descriptivo y transversal

3.1.2. Muestra vegetal

Frutos de *Myrciaria dubia* (Kunth) Mc Vaugh Camu Camu proveniente de la ciudad de Pucallpa, provincia Coronel Portillo, departamento de Ucayali.

3.1.3. Animales de experimentación

Ratones machos albinos (*Mus musculus*) cepa Swiss con peso promedio de 24 ± 2 g, procedentes del Instituto Nacional de Salud ubicado en el distrito de Chorrillos de la ciudad de Lima, con acondicionamiento previo a las 48 horas, con agua y

alimento Ad libitum, ciclo luz – día de 12 horas y temperatura de 22 a 26°C.

3.1.4. Materiales, reactivos y equipos

Material de laboratorio de vidrio diverso

Balanza analítica OHAUS (precisión:0.01 g)

Balanza METLER TOLEDO (precisión: 0.1 g)

Balanza analítica 0.0001 g – 100.0000 g OHAUS

Espectrofotómetro UV visible Thermo Scientific

Estufa termostática IMULSA

Agitador Hélice IKA

Refrigerador LG

Viscosímetro Brookfield modelo LVD

Potenciómetro Metler Toledo

Lámpara CAMAG (onda corta)

Microscopio Leica DM750 con cámara

Vórtex

Picnómetro de cremas

Alcohol etílico 96° Grado analítico Merck

Formol al 10%

Reactivo Folin Ciocalteu Sigma

Carbonato de sodio Merck

Reactivo radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazil Sigma

Ácido Tricloroacético Merck

Estándar ácido gálico Sigma-Aldrich

Estándar ácido ascórbico Sigma-Aldrich

Metanol grado analítico Merck

Agua destilada

Otros

Insumos para la crema cosmética con extracto de Camu Camu (Proveedores: Drocersa S.A, Química Anders S.A., Croda): Polisorbato 60, alcohol cetosteárico, monoestearato de glicerilo, cetil palmitato, miristato de isopropilo, propilenglicol, dióxido de titanio, trietanolamina, fenoxietanol y caprilil glicol y agua.

Crema cosmética antioxidante con extractos orgánicos de noni, acai y acerola. (comercial de referencia)

Potes de 100 g de PVC con tapa y contratapa

Crema depilatoria VEET

Jaulas con malla metálica

Hojas de bisturí

Jeringas de tuberculina

Pentobarbital sódico (Penta-hypnol)

3.2. Métodos

Los métodos que se describen también están graficados en un flujograma (Anexo. 12)

3.2.1. Recolección e identificación del material botánico:

El fruto de *Myrciaria dubia* (Kunth) Mc Vaugh Camu Camu fue recolectado en la ciudad de Pucallpa, provincia de Coronel Portillo, departamento de Ucayali entre los 150 y 200 msnm en el mes de abril del 2014. Identificada taxonómicamente

posteriormente en el Museo de Historia Natural de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos (Anexo.1).

3.2.2. Elaboración del extracto hidroalcohólico de Camu

Camu

Se obtuvo un extracto hidroalcohólico del fruto de *Myrciaria dubia* (Kunth) Mc Vaugh Camu Camu de la siguiente manera:

1. Selección y clasificación de los frutos: Se seleccionaron los frutos en buen estado, pintonas, sin rajaduras y sin partes blandas.
2. Lavado y desinfección: Los frutos frescos (6 kg) fueron lavados con agua potable circulante. Luego se desinfectaron colocándolos por 30 minutos en agua destilada con hipoclorito de sodio 0.5% (5 gotas de hipoclorito de sodio por cada litro de agua).
3. Pulpeado del fruto: Se cortó la fruta en dos mitades y se despepó. Luego se licuó la parte carnosa del fruto y se mezcló con las pepas.
4. Maceración del fruto: En un frasco de vidrio ámbar con boca ancha, se adicionó 6 L de alcohol etílico con el pulpeado del fruto y las pepas, en proporción 1:1 (6 kg de fruta: 6 L de alcohol etílico), y se maceró por 7 días.

5. Filtración: Se realizaron dos filtraciones. La primera filtración del macerado se realizó por doble malla organdi y la segunda filtración se realizó por papel de filtro.
6. Evaporación: El filtrado se evaporó a una temperatura de 40°C hasta evaporación del alcohol y formación de una melcocha.
7. Almacenamiento: La masa pastosa (melcocha) se almacenó en un frasco de vidrio ámbar de boca ancha a una temperatura no mayor de 30°C. (Anexo.13)

3.2.3. Análisis fisicoquímico del extracto hidroalcohólico de

Camu Camu

Se realizó el análisis fisicoquímico del extracto, estableciéndose especificaciones de calidad mediante un protocolo de análisis.

(Anexo. 2).Dentro de los ensayos realizados se encuentran:

1. Descripción: Se colocó 1 g de la muestra sobre una placa petri, se observó el aspecto sobre un fondo blanco. Por observación directa.
2. El pH: se midió utilizando el potenciómetro calibrado con las soluciones buffer correspondientes, la muestra se disolvió en agua destilada al 10 % (p/p). Luego se realizó la medición a una temperatura de 25°C, y se

sumergió el electrodo dentro de la solución preparada, hasta que se estabilizó y se registró la lectura obtenida.

3. Solubilidad: Se trabajó con 7 solventes de acuerdo a su polaridad, se disolvió 1 g de extracto en 10 mL de solvente.
4. Marcha fitoquímica: Con el extracto hidroalcohólico y reactivos se realizó la identificación de metabolitos secundarios mediante reacción de caracterización química de coloración y precipitación. (Lock de Ugaz, 1988).

Detección : Taninos

Reacción : Gelatina- sal

Se preparan tres soluciones: A una solución de 1g de gelatina en 100 ml de agua se le agrega 10g de NaCl. La precipitación con éste reactivo es indicativo de la presencia de taninos.

Detección : Flavonoides.

Reacción : Shinoda.

A una solución alcohólica del extracto se agrega limaduras de magnesio seguidas por gotas de HCl

concentrado. Las coloraciones rojas indican que es positiva.

Detección : Aminoácidos.

Reacción : Ninhidrina.

Una alícuota del extracto se mezcla con 2 ml de la solución al 0.25% de ninhidrina, se calienta por 5 a 10 minutos en baño de agua, la reacción se considera positiva cuando se desarrolla un color azul violáceo.

Detección : Quinonas.

Reacción : Borntrager.

Al extracto se le agrega gotas de bencina el cual se agita con solución acuosa de NaOH al 5%. La producción de una coloración rosada a roja en la etapa acuosa es indicativo de antraquinonas y naftoquinonas.

Detección : Alcaloides.

Reacción : Mayer, Dragendorf.

Reacción de Mayer: se prepara mezclando 1.36 g de HgCl_2 en 60 ml de agua con 5 g de KI en 10 ml de agua. Se acidifica el extracto con 1 ml de HCl al 1 %, se añade 2 o 3 gotas del reactivo, la aparición de un

precipitado blanco o crema indicará que la reacción es positiva.

Detección : Glicósidos.

Reacción : Molish

Reacción: se agrega a la muestra etanólica 3 gotas de α -naftol y 05 gotas de ácido sulfúrico.

Detección : Compuestos fenólicos.

Reacción : Cloruro férrico.

Al extracto se le agrega gotas de cloruro férrico. La producción de una coloración verdosa es indicativo de compuestos fenólicos. (Guevara, 2011) (Anexo. 14)

5. Sólidos Totales: Se coloca 5 mL en una cápsula de porcelana limpia, seca y previamente tarada, la cápsula se colocó en baño de agua (baño maria) y se evaporó hasta que el residuo estuvo aparentemente seco, posteriormente se pasó a estufa a una temperatura de $105^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ durante 3 horas. Se retiró la cápsula de la estufa, se colocó en una desecadora hasta que alcanzó la temperatura ambiente y se pesó. Se repitió el proceso anterior, pero empleando solo 60 minutos de secado, las veces necesarias, hasta obtener una

masa constante. Los sólidos totales (St)(g/100 mL) se calcularon mediante la fórmula siguiente. (Ochoa,

2013)
$$St = (Pr - P) / V \times 100$$

Donde:

Pr: masa de la cápsula más el residuo (g)

P: masa de la cápsula vacía (g)

V: volumen de la porción del ensayo (mL)

100: factor matemático.

3.2.4. Formulación de una crema cosmética con extracto de Camu-Camu

Se preparó la crema cosmética con el extracto hidroalcohólico de *Myrciaria dubia* (Kunth) Mc Vaugh Camu Camu, mediante una emulsión agua en aceite. (Figura. 5)

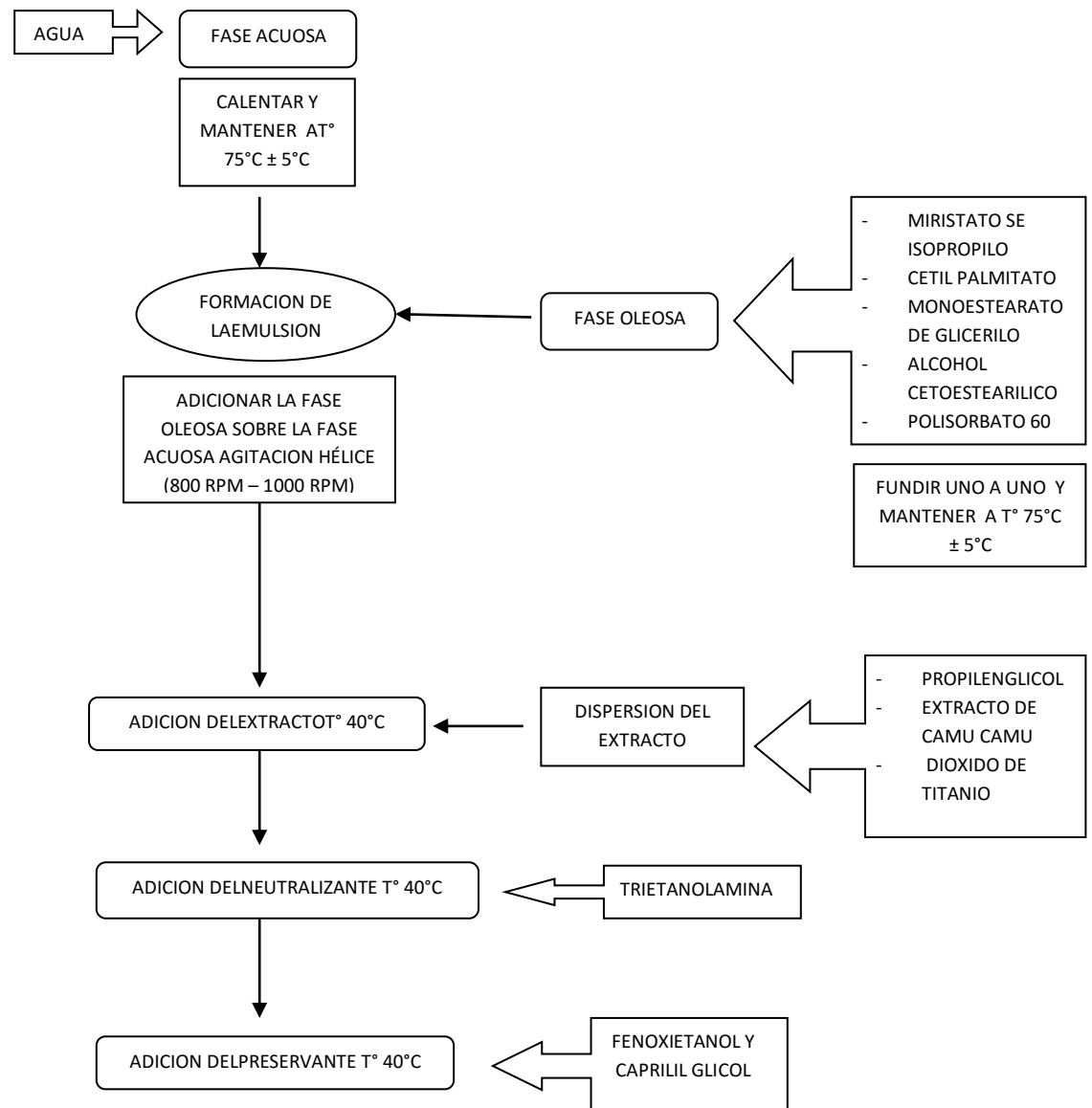


Figura 5. Flujograma de la fabricación de la crema con extracto Hidroalcohólico de Camu Camu

La formulación se envasó en potes x 100 g bien cerrados de PVC con tapa y contratapas de PVC.

Para la obtención de una fórmula robusta, se sometió la crema envasada a un estudio de estabilidad preliminar llamado estrés cíclico, donde se lleva a cambios bruscos de temperatura ($45^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ y de 2°C a 8°C) cada 3 días durante 15 días.

Al finalizar este ciclo, se analizó la crema, comparándola con una contramuestra ($25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$, $60\% \pm 5\%$ H.R.), para el análisis se consideró evaluar los cambios de la descripción, pH (10 % solución acuosa), peso específico y viscosidad de la crema.

Se evaluaron estos parámetros fisicoquímicos y también microbiológicos para determinar la calidad de la crema cosmética con extracto hidroalcohólico de *Myrciaria dubia* (Kunth) Mc Vaugh Camu Camu y se colocaron en un protocolo de calidad. (Anexo. 3)

Los análisis fisicoquímicos (Anexo. 3) realizados fueron:

- a. Descripción: Se colocó 1g de crema sobre una placa petri extendiéndola con ayuda de una espátula y se observó el aspecto, el color de la crema. Por observación directa.
- b. pH: Se midió utilizando un potenciómetro calibrado con las soluciones buffer correspondientes, la crema se dispersó en

agua destilada al 10 % (p/p). Luego se realizó la medición a una temperatura de 25°C, sumergiendo el electrodo dentro de la dispersión preparada, hasta que se estabilice y se registró la lectura obtenida.

- c. Peso específico: Se realizó a una temperatura de 25°C, colocando la crema en el picnómetro de cremas y se registró el peso. Previamente se tomó el peso del picnómetro vacío y con agua destilada. Se obtuvo el resultado, utilizando la siguiente fórmula.

$$\text{Peso específico} = \frac{W \text{ picnómetro con crema} - W \text{ picnómetro vacío}}{W \text{ picnómetro con agua} - W \text{ picnómetro vacío}}$$

- d. Viscosidad: Se realizó considerando las siguientes condiciones:

Viscosímetro: Brookfield modelo LVD

Aguja N° 64

Velocidad: 5 RPM

Temperatura: 25°C ± 1°C

Cantidad de muestra: 250 mL

Tiempo: 3 minutos

El recuento microbiano de la crema fue realizado por el Centro de Control Analítico de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de

la Universidad Nacional Mayor de San Marcos. La técnica utilizada fue según la USP 38 (Anexo. 4)

3.2.5. Cuantificación de los compuestos fenólicos totales en el extracto y crema cosmética

La determinación de polifenoles totales para el extracto y la crema, se llevó a cabo utilizando el método empleado por (Singleton, Orthofer & Lamuela-Raventos, 1999)

Fundamento del método

El reactivo está compuesto por una mezcla de ácidos fosfowolfrámico y fosfomolibdico en medio básico, los que sufren reducción al oxidar los compuestos fenólicos, originando un complejo wolframio-molibdeno de color azul cuya absorbancia es dependiente de la concentración de los polifenoles de la muestra y se midió en un espectrofotómetro a 725 nm. Los resultados se expresan como mg equivalentes de ácido gálico/100 g de muestra fresca. (Dewanto, Orthofer y Lamuela-Raventos, 1999)(Kuskoski, 2005) (Kodama, 2010).

Procedimiento

Se diluyó 10 g de extracto hidroalcohólico de Camu Camu en 100 mL de agua destilada.

La crema con extracto también se dispersó en una solución al 10 %.

En un tubo de ensayo se colocó 1,0 mL de reactivo Folin-Ciocalteu, 0,02 mL de muestra y se dejó en reposo durante 5 minutos, luego de los cuales se agregó 0,95 mL de solución de carbonato de sodio al 7,5%, se completó a 3 mL con agua destilada; luego se llevó a baño maría a 50°C durante 10 minutos. Posteriormente se leyó en el espectrofotómetro a 760nm. Se trabajó por triplicado, usando un blanco que no tenía muestra.

Para elaborar la curva de calibración se consideró como estándar el ácido gálico a concentraciones de 1,0; 2,0; 3,0; 4,0 y 5,0 ppm ($\mu\text{g/L}$) a partir de una matriz de ácido gálico 25 ppm. Se realizó el procedimiento anterior para cada concentración. (Figura. 6).

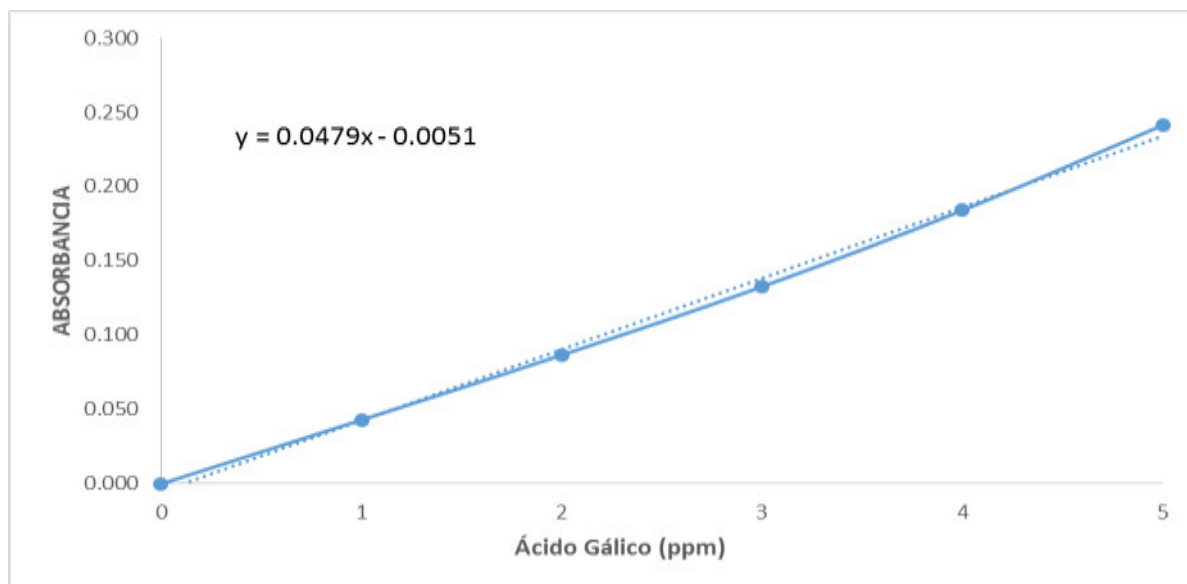


Figura. 6 Curva de calibración del ácido gálico (ppm)

Los resultados para el extracto se expresan como mg ácido gálico/ g extracto seco y para la crema como mg ácido gálico/g crema. (Anexo. 5)

3.2.6. Cuantificación de la Vitamina C en el extracto y crema Cosmética

Fundamento del método

El fundamento de la determinación de Vitamina C radica en el poder reductor que ejerce esta vitamina sobre el reactivo Folin-Ciocalteu en medio ácido, tornándolo de color azul, cuya intensidad guarda relación con la concentración de vitamina C. (Oliveira, 2014).

Procedimiento

Se diluyó 10 g de extracto hidroalcohólico de Camu Camu en 100 mL de agua destilada.

La crema con extracto también se dispersó en una solución al 10 %.

Se midió 0,2 mL de reactivo Folin-Ciocalteu al 10%, luego se añadió 0,5 mL de ácido tricloroacético (TCA) al 10% y se agitó para homogenizar. Posteriormente, se añadió 0,02 mL de muestra, se completó a 3 mL con agua destilada; se dejó en reposo a temperatura ambiente durante 10 minutos y se leyó la absorbancia en el espectrofotómetro a 760 nm. Se trabajó por triplicado, usando un blanco que no tenía muestra.

Para elaborar la curva de calibración se consideró como estándar el ácido ascórbico a concentraciones de 5,0; 10,0; 20,0; 40,0 y 50,0 ppm ($\mu\text{g/L}$) a partir de una matriz de ácido ascórbico 100 ppm. Se realizó el procedimiento anterior para cada concentración. (Figura. 7)

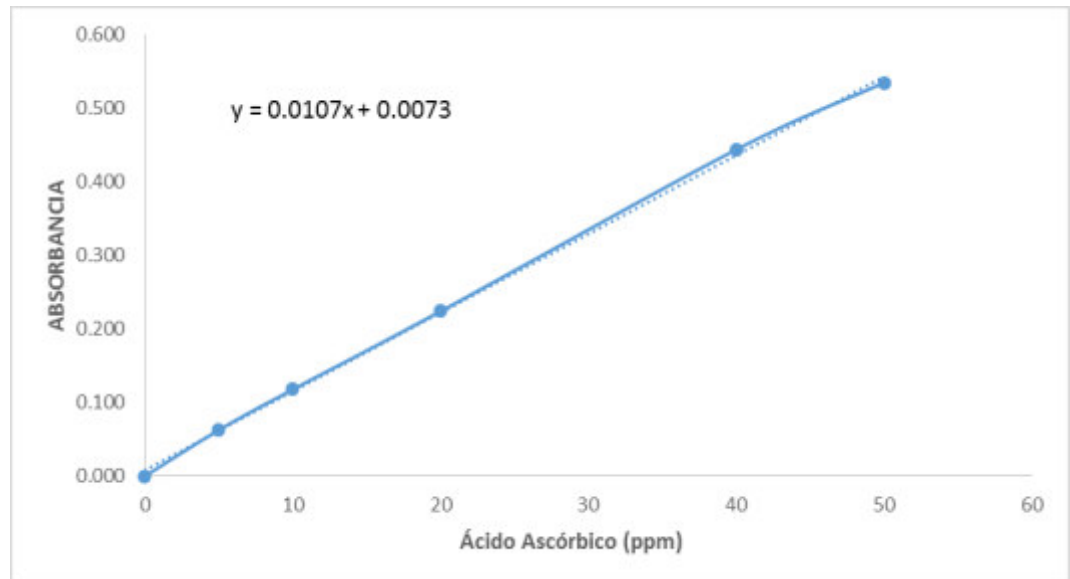


Figura. 7 Curva de calibración del ácido ascórbico (ppm)

Los resultados del extracto se expresan como mg ácido ascórbico/ g extracto seco y de la crema mg ácido ascórbico / g crema. (Anexo. 6)

3.2.7. Evaluación de la capacidad antioxidante del extracto y la crema

Se realizó la determinación de la actividad antioxidante mediante el método espectrofotométrico, utilizando el radical 1,1difenil-2-picrilhidrazil (DPPH) (Muedas, La Rosa, Robles. 2008).

Fundamento del método

La reacción de basa en que el radical libre estable DPPH* de un color azul intenso, sustrae un átomo de hidrógeno proveniente de una sustancia donadora de electrones, y como consecuencia de ello se produce una disminución del color del DPPH* hasta tornarlo pardo claro. La medición de la absorbancia se realiza a 517 nm. (Muedas, La Rosa, Robles. 2008).

Procedimiento:

Se diluye 10 gramos de extracto hidroalcohólico en 100 mL de agua destilada. Luego se toma 1 mL de la solución anterior y se diluye en 100 mL de agua destilada.

Para la determinación de la capacidad antioxidante del extracto de Camu Camu, se utilizaron volúmenes de muestra comprendidos entre 0,03 y 0,15 mL a los cuales se añadió 1,0 mL de metanol y 1,0 mL de solución del radical libre estable DPPH* 0,1 mm, completando un volumen total de 3 mL en cada tubo con metanol. Luego se dejó en reposo en la oscuridad durante 30 minutos, a cuyo término se leyó en el espectrofotómetro a 517 nm. Los resultados se expresan como IC50 (mg/mL). Paralelamente se preparó un tubo blanco para calibrar el equipo (metanol: agua 2:1), y un tubo control que no contenía muestra.

Luego se realizaron los cálculos para expresar los resultados como Capacidad Antioxidante Equivalentes mg vitamina C (VEAC)/ g extracto seco; con una curva de calibración

elaborada con estándar de ácido ascórbico a concentraciones de 1,0; 2,0; 3,0; 4,0 y 5,0 ppm ($\mu\text{g/L}$) a partir de una matriz de ácido ascórbico 20 ppm. Se realizó el procedimiento anterior para cada concentración. (Figura. 8)

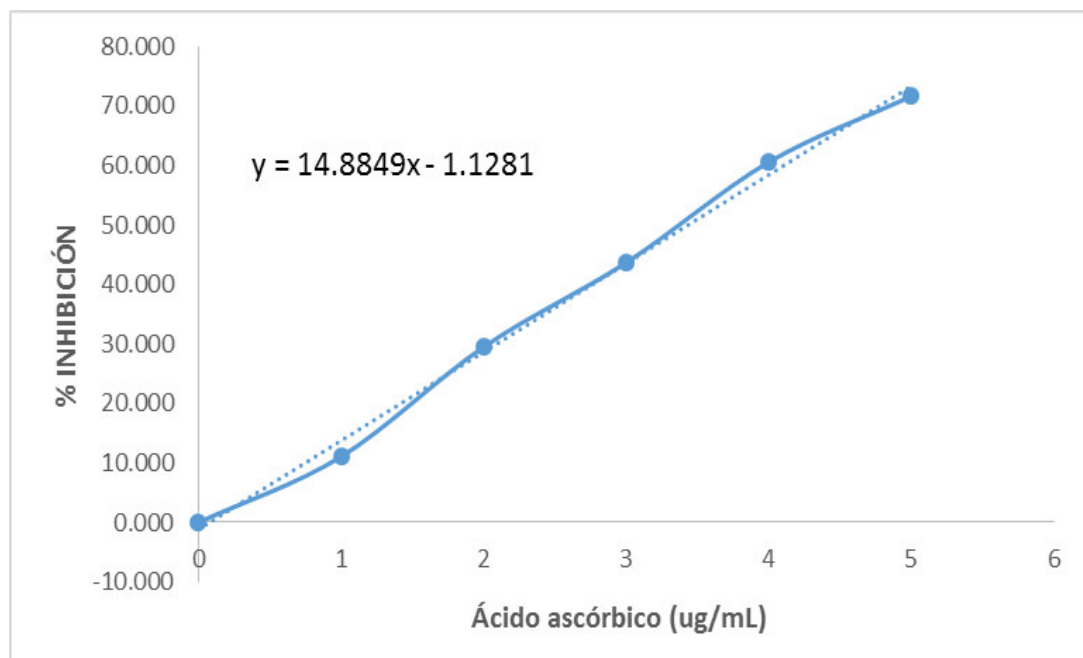


Figura. 8 Curva de calibración del % de inhibición del ácido ascórbico ($\mu\text{g/mL}$) frente al radical DPPH

En el caso de la crema elaborada con el extracto hidroalcohólico de Camu Camu, se diluyeron 10 gramos de crema en 100 mL de agua destilada. Luego se toman 2 mL de la solución anterior y se diluye en 10 mL de agua destilada.

La determinación de la capacidad antioxidante de la crema se realizó utilizando el método y la curva de calibración anteriormente descrito.

Los resultados se expresan como Capacidad Antioxidante Equivalente mg Ácido Ascórbico (VEAC)/ g extracto seco y

Capacidad Antioxidante Equivalente mg Ácido Ascórbico
(VEAC)/ g crema. (Anexo. 7)

3.2.8. Evaluación de la actividad regeneradora por la crema cosmética

Método Operatorio

El trato que se dió a los animales de experimentación estuvo basado en la Guía “Guide for care and use of laboratory animals”, en el acta de bienestar animal (AWA) y en el documento “Elementos esenciales para investigación animal, una guía para la investigación personal del centro de información del bienestar animal del departamento 63 de agricultura de Estados Unidos de América y la guía de manejo y cuidado de animales de laboratorio: ratón. (Fuentes, 2008).

De esta manera se brindaron las condiciones adecuadas para su mantenimiento y se evitó el mínimo dolor para la aplicación de los tratamientos y sustancias de experimentación; además de una muerte sin sufrimiento realizando la posterior extracción de la piel para la evaluación histopatológica (Anexo. 16)

- Se distribuyó a los animales de experimentación aleatoriamente en cinco grupos de ocho animales cada uno.

Grupo I: Ratones con lomo depilado (*Blanco*)

- Grupo II: Ratones con lomo depilado e irradiado (*Control negativo*)
- Grupo III: Ratones con lomo depilado e irradiado, y con tratamiento de crema cosmética antioxidante con extractos de noni, acai y acerola - comercial de referencia (*Control positivo*) (Zapaille, 2013).
- Grupo IV: Ratones con lomo depilado e irradiado y con tratamiento de crema sin extracto (*Placebo*)
- Grupo V: Ratones con lomo depilado e irradiado y con tratamiento de crema con extracto de Camu Camu (*5,0% p/p*)
- El lomo de los animales fue depilado con crema depilatoria marca VEET y dejado en reposo por 24 horas. Luego se les sometió a una dosis de radiación única de UVC de 1,3 mW/cm², por un intervalo de tiempo 30 minutos, a una distancia de 30 cm. (Hollands, Gómez-Berry y Miyares, 2003).
 - Los animales recibieron tratamiento, de acuerdo al grupo de animales al cual pertenecían, durante 7 días, dos veces al día, con intervalos de reposo de 12 horas.

- Se aplicaron la crema sin extracto, crema comercial y la crema con el extracto hidroalcohólico de Camu Camu sobre la región depilada e irradiada del lomo del ratón.
- Para la aplicación de la crema se delimitó un área circular de un diámetro de 2 cm, en el lomo depilado del ratón y se aplicó 0.05 mL de producto, empleando una jeringa de tuberculina para medir esta cantidad de muestra.
- Luego del tratamiento, los animales fueron sacrificados y los cortes de la piel del lomo de éstos, se conservaron en formol al 10 % y luego fueron evaluadas histológicamente, coloreándolas con H-E (Hematoxilina-Eosina) para ser observadas por microscopía óptica. (Anexo.8) (Anexo.9). La evaluación de los cortes histológicos se realizaron en base a dos dimensiones:
 - Estado de la Piel
 - Inflamación de la Piel

1. Estado de la Piel

Debido a que, los datos obtenidos para medir el estado de la piel fueron cualitativos, se consideró dar puntajes para cada una de las capas de la piel, tal como se muestra en el siguiente Cuadro. 2

Cuadro. 2 Valores asignados para la evaluación del estado de la piel por cada capa

			Valor
Estado de la piel	Capa córnea	Ausente	0
		Discreta	1
		Presente	2
		Conservada o normal	3
	Membrana basal	Ausente	0
		Presente	1
		Conservada o normal	2
	Epidermis	Ausente	0
		Discontinua o dañada	1
		Delgada	2
		Conservada o normal	3
	Dermis	Ausente	0
		Presente (dañada)	1
		Delgada	2
		Conservada o normal	3
	Tejido laxo	Ausente	0
		Presente	1
	Tejido compacto	Ausente	0
Presente		1	

Una vez obtenido los puntajes para cada capa de la piel, se procedió a realizar una sumatoria de los mismos, obteniéndose un puntaje final, el cual se evaluó considerando los rangos de valores según los estados: buena, regular y dañada, como se observa: (Cuadro. 3)

Cuadro. 3 Valores asignados según el estado de la piel

Estado	Rango de Valores
Buena	Mayor a 8
Regular	De 4 a 7
Dañada	De 0 a 3

2. Nivel de la Inflamación de la piel

Para medir el nivel de la inflamación de la piel, se consideraron dos aspectos: (Cuadro.4)

- El número de macrófagos infiltrados en el tejido
- El tamaño del edema.

Cuadro. 4 Valores de los indicadores de la inflamación

Número de Macrófagos (400x)	Menor a 20	0
	20 - 40	1
	40 - 100	2
	Mayor a 100	3
Tamaño del edema	Ausente	0
	Presente (+) pequeño	1
	Presente (++)mediano	2
	Presente (+++)grande	3

Con esta información se clasificó el nivel de inflamación (Cuadro. 5) como:

- Sin inflamación
- Inflamación leve
- Inflamación moderada
- Inflamación severa

Los datos fueron procesados de acuerdo al siguiente cuadro:

Cuadro. 5 Nivel de Inflamación de la Piel

Inflamación	Rango de Valores
Sin Inflamación	0
Inflamación leve	1 a 2
Inflamación moderada	3 a 4
Inflamación severa	5 a 6

Finalmente se determinó el grado de regeneración de la piel fotodañada por la acción de la radiación UVC, por acción del tratamiento tópico para cada uno de los grupos de animales de experimentación bajo la asesoría y supervisión de un patólogo.

3.3. Análisis estadístico

In Vitro, los datos fueron evaluados mediante estadísticas de promedio y desviación estándar

In vivo, los datos fueron evaluados mediante el programa estadístico SPSS versión 23, de forma cualitativa, usando la prueba de Chi cuadrado, considerando un nivel de significancia de $p < 0.05$.

CAPÍTULO IV: RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Resultados

4.1.1. Resultados del análisis fisicoquímico del extracto hidroalcohólico Camu Camu

Cuadro. 6 Protocolo de análisis del extracto hidroalcohólico de Camu Camu

PROTOCOLO DE ANALISIS		
Nombre: EXTRACTO HIDROALCOHOLICO DE CAMU CAMU (<i>Myrciaria dubia</i> (Kunth) Mc Vaugh)		
Norma Técnica: PROPIA		
ENSAYOS	ESPECIFICACIONES	RESULTADOS
CARACTERISTICAS FISICAS		
DESCRIPCION	Masa pastosa de color ámbar, con olor y sabor característico.	Masa pastosa de color ámbar, con olor y sabor característico.
SOLUBILIDAD		
ETER DE PETROLEO	Insoluble	Insoluble
DICLOROMETANO	Insoluble	Insoluble
ACETONA	Insoluble	Insoluble
ACETATO DE ETILO	Insoluble	Insoluble
2-BUTANOL	Insoluble	Insoluble
PROPILENGLICOL	Insoluble	Insoluble
ETANOL	Soluble	Soluble
METANOL	Soluble	Soluble
AGUA	Soluble	Soluble
PRUEBAS ESPECIFICAS		
pH (25 °C)	2,5 - 4,0	3,44
MARCHA FITOQUIMICA		
REACCIÓN DE SHINODA	Flavonoides	Positivo
REACCIÓN DE CLORURO FERRICO	Compuestos Fenólicos	Positivo
REACCIÓN DE DRAGENDORFF / MAYER	Alcaloides	Positivo
REACCION DE LIEBERMAN – BURCHARD	Esteroides y terpenoides	Negativo
CLORURO DE GELATINA	Taninos	Negativo
PRUEBA DE ESPUMA	Saponinas	Positivo
REACCIÓN DE NINHIDRINA	Aminoácidos	Negativo
REACCIÓN DE MOLISH	Glicósidos	Positivo
REACCIÓN DE BORNTRAGER	Quinonas	Positivo
SÓLIDOS TOTALES	0,30 – 0,40 g/100 mL	0,3743g/100mL
Envasado y Almacenamiento: ALMACENAR EN ENVASE HERMETICAMENTE CERRADO Y PROTEGER DE LA LUZ		

4.1.2. Resultados del análisis de la crema cosmética

Cuadro. 7 Protocolo de análisis de la Crema Cosmética

PROTOCOLO DE ANALISIS			
Nombre: CREMA CON EXTRACTO HIDROALCOHOLICO DE CAMU CAMU (<i>Myrciaria dubia</i> (Kunth) Mc Vaugh)			
Norma Técnica: (1) USP		(2) PROPIA	
ENSAYOS	NT	ESPECIFICACIONES	RESULTADOS
CARACTERISTICAS FISICAS			
DESCRIPCION	2	Crema homogénea, de color crema, con olor característico.	Crema homogénea, de color crema, con olor característico.
PRUEBAS ESPECIFICAS			
PESO	2	No menos de lo declarado 50 g/ Pote	50, 5 g/ Pote
pH (25 °C)	2	5,5 - 8,5	6,79
PESO ESPECIFICO (25 °C)	2	0,10 – 1,10	1,015
VISCOSIDAD (25 °C) AGUJA 64 RPM 250 TIEMPO 3 MINUTOS	2	1000 - 2000 cps	1329 cps
EXAMEN MICROBIOLOGICO			
Recuento Total de Microorganismos Aerobios	1	No más de 5 000 UFC/g	< 10 UFC/g
Microorganismo Específico: E. coli	1	Ausencia en 1 g	Ausencia en 1 g
Microorganismo Específico: P. aeruginosa	1	Ausencia en 1 g	Ausencia en 1 g
Microorganismo Específico: S. aureus	1	Ausencia en 1 g	Ausencia en 1 g

4.1.3. Resultados del estudio de estabilidad preliminar “estrés cíclico”

Cuadro. 8 Protocolo de análisis del “estrés cíclico”

PROTOCOLO DE ANALISIS				
Nombre: CREMA CON EXTRACTO HIDROALCOHOLICO DE CAMU CAMU (<i>Myrciaria dubia</i> (Kunth) Mc Vaugh)				
Norma Técnica:		(2) PROPIA		
ENSAYOS	NT	ESPECIFICACIONES	INICIAL	FINAL
CARACTERISTICAS FISICAS				
DESCRIPCION	2	Crema homogénea, de color crema, con olor característico	Crema homogénea, de color crema, con olor característico	Crema homogénea, de color crema, con olor característico
PRUEBAS ESPECIFICAS				
PESO	2	No menos de lo declarado 50 g/ Pote	50,5 g/ Pote	50,5 g/ Pote
pH (25 °C)	2	5,5 - 7,5	6,79	6,55
PESO ESPECIFICO (25 °C)	2	0,10 – 1,10	1,015	0,9677
VISCOSIDAD (25 °C) AGUJA 64 RPM 250 TIEMPO 3 MINUTOS	2	1000 - 2000 cps	1329cps	1552 cps

4.1.4. Resultados del Contenido de Compuestos fenólicos totales del extracto hidroalcohólico y crema de Camu Camu (Cuadro. 9)

Cuadro 9. Compuestos fenólicos totales

Compuestos fenólicos totales	mg ácido gálico/g extracto	mg ácido gálico/100 g fruta fresca (*)	mg ácido gálico/g crema
	115,540	349,169	12,639

(*) El valor de los compuestos fenólicos en la fruta fresca fueron calculados en base al rendimiento (Anexo. 17)

4.1.5. Resultados de Contenido de Vitamina C del extracto hidroalcohólico y de la crema de Camu Camu (Cuadro. 10)

Cuadro. 10 Contenido de Vitamina C

Contenido de Vitamina C	mg ácido ascórbico /g extracto seco	mg ácido ascórbico/ 100 g fruta fresca (*)	mg ácido ascórbico/g crema
	25,166	76,052	4,614

(*) El valor del contenido de Vitamina C en la fruta fresca fue calculado en base al rendimiento (Anexo. 17)

4.1.6. Resultados de la capacidad antioxidante del extracto hidroalcohólico y de la crema de Camu Camu por el método espectrofotométrico de DPPH (Cuadro. 11) (Cuadro. 12)

Cuadro. 11 Capacidad antioxidante del extracto hidroalcohólico de los frutos de Camu Camu

Concentración (µg/mL)	Absorbancia corregida promedio	% INHIBICIÓN	VEAC mg ácido ascórbico/ g extracto
10,00	0,153 ± 0,0036	10,874	45,248
20,00	0,143 ± 0,0032	16,505	
30,00	0,134 ± 0,0025	21,748	
40,00	0,123 ± 0,0038	28,155	
50,00	0,116 ± 0,0015	32,233	
Ecuación de la recta		Y = 0,6236X + 2,6630	
Coeficiente de correlación		0,9885	
Concentración inhibitoria media (IC ₅₀)		75,9119	

VEAC: Capacidad antioxidante equivalente de Vitamina C

Cuadro. 12 Capacidad antioxidante de la crema elaborada con extracto hidroalcohólico de los frutos de Camu Camu

Concentración (µg/mL)	Absorbancia corregida promedio	% INHIBICIÓN	VEAC mg ácido ascórbico/ g crema
1250,00	0,098 ± 0,0020	42,913	2,717
1500,00	0,073 ± 0,0020	57,476	
1750,00	0,039 ± 0,0035	77,476	
2250,00	0,013 ± 0,0021	92,233	
2500,00	0,004 ± 0,0031	97,864	
Ecuación de la recta		Y = 0,0408X - 1,6214	
Coefficiente de correlación		0,9911	
Concentración inhibitoria media (IC₅₀)		1264,2603	

VEAC: Capacidad antioxidante equivalente de Vitamina C

4.1.7. Resultados de la actividad regeneradora de la crema con extracto hidroalcohólico de la crema de Camu Camu sobre la piel fotodañada del lomo de ratones

Estos datos se obtuvieron de un cuadro intermedio (Anexo.10) de estado de la piel por capas según grupo de estudio que dió como resultado el Cuadro. 13 (Figura. 9)

Cuadro. 13 Evaluación histológica del estado de la piel

ESTADO DE LA PIEL	GRUPOS					Total	p
	GRUPO I	GRUPO II	GRUPO III	GRUPO IV	GRUPO V		
DAÑADA	0 0.0%	8 100.0%	0 0.0%	0 0.0%	0 0.0%	8 20.0%	0,000
REGULAR	0 0.0%	0 0.0%	6 75.0%	7 87.5%	0 0.0%	13 32.5%	
BUENA	8 100.0%	0 0.0%	2 25.0%	1 12.5%	8 100.0%	19 47.5%	
Total	8 100.0%	8 100.0%	8 100.0%	8 100.0%	8 100.0%	40 100.0%	

Prueba de Chi cuadrado= 67,692; p<0,05

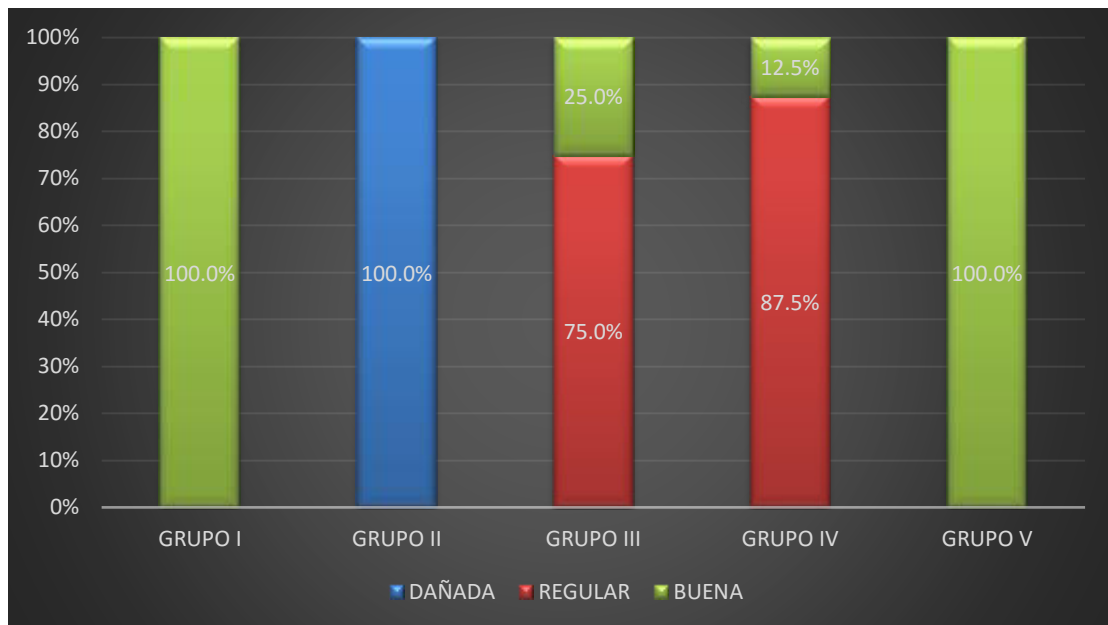


Figura. 9 Actividad regeneradora de la crema cosmética, mediante evaluación histológica del estado de la piel

4.1.8. Resultados de la actividad regeneradora de la crema con extracto hidroalcohólico de Camu Camu sobre la inflamación de la piel fotodañada del lomo de ratones

Estos datos se obtuvieron de un cuadro intermedio (Anexo.11) de indicadores de la inflamación según grupo de estudio, que dió como resultado el Cuadro. 14 (Figura. 10)

Cuadro.14 Actividad regeneradora de la crema cosmética, mediante evaluación histológica de la inflamación de la piel

INFLAMACION	GRUPOS					Total	p
	GRUPO I	GRUPO II	GRUPO III	GRUPO IV	GRUPO V		
SIN INFLAMACIÓN	3 37.5%	0 0.0%	0 0.0%	0 0.0%	0 0.0%	3 7.5%	0,000
INFLAMACION LEVE	5 62.5%	0 0.0%	3 37.5%	0 0.0%	8 100.0%	16 40.0%	
INFLAMACION MODERADA	0 0.0%	0 0.0%	2 25.0%	8 100.0%	0 0.0%	10 25.0%	
INFLAMACION SEVERA	0 0.0%	8 100.0%	3 37.5%	0 0.0%	0 0.0%	11 27.5%	
Total	8 100.0%	8 100.0%	8 100.0%	8 100.0%	8 100.0%	40 100.0%	

Prueba de Chi cuadrado=72,807; p<0,05

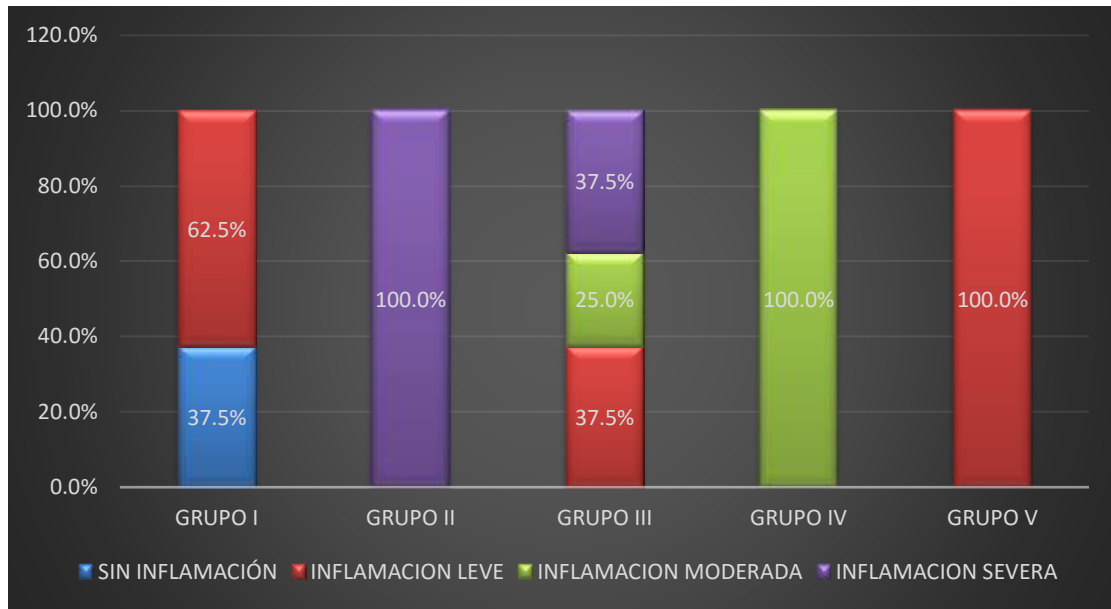


Figura. 10 Actividad regeneradora de la crema cosmética, mediante evaluación histológica de la inflamación de la piel

4.2. Discusión:

El fruto de *Myrciaria dubia* (Kunth) Mc Vaugh Camu Camu, brinda una excelente alternativa para ser utilizado en formulaciones cosméticas por poseer en su composición compuestos con actividad biológica, resaltando sustancias antioxidantes como compuestos fenólicos y vitamina C. (Inocente, 2014).

El extracto hidroalcohólico de Camu Camu fue soluble en metanol, etanol y agua.

Se extrajó los metabolitos secundarios mediante extracción por maceración, identificándose por marcha fitoquímica: flavonoides, compuestos fenólicos, alcaloides, saponinas, glicósidos y quinonas. (Cuadro. 6).

La crema cosmética con extracto hidroalcohólico de *Myrciaria dubia* (Kunth) Mc Vaugh Camu Camu cumplió con las especificaciones de calidad según el protocolo de análisis (Cuadro. 7) y ensayos microbiológicos para productos no estériles dió como resultado ausencia de microorganismos patógenos en 1g (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Staphylococcus aureus*), y los resultados de microorganismos aerobios fueron conformes para el producto terminado.

El estudio de estabilidad preliminar demostró que la crema cosmética con extracto de Camu Camu, no varió significativamente con respecto al análisis inicial, se mantuvo la descripción, peso, el pH inicial fue de 6,79 y el final fue de 6,55 dentro del rango de especificación, no hubo mucha variación. De forma similar el peso específico de 1,015 a 0,9677 dentro del rango, el resultado con respecto a la viscosidad fue de 1329 cps a 1552 cps dentro del rango, lo que determinó que la formulación tiene robustez ya que soportó el estrés cíclico con buenas características.

Con respecto a los compuestos fenólicos totales se observó que como fruto fresco fue de 3,49169 mg ácido gálico/ g fruto fresco siendo menor al del extracto de Camu Camu y la crema cosmética que fueron de 115,540 mg ácido gálico/ g extracto y 12,639 mg ácido gálico/ g crema respectivamente, de lo que podemos destacar que la extracción por maceración dió buenos resultados, al extraer los compuestos fenólicos que dieron la actividad antioxidante *in vitro*.

De un estudio, se determinó que el Camu Camu tuvo 349,169 mg ácido gálico/ 100g fruta fresca mayor que el aguaymanto 100,89 mg ácido gálico/ 100g fruta fresca, carambola 75,97 mg ácido gálico/ 100g fruta fresca, tomate árbol 62,71 mg ácido gálico/ 100g fruta fresca, yacón 67,64 mg ácido gálico/ 100g fruta fresca, tumbo costeño 2,16 mg ácido gálico/ 100g fruta fresca, noni 164,77 mg ácido gálico/ 100g fruta fresca y guinda 24,05 Eq mg ácido gálico/ 100g fruta fresca. Por lo que se determinó mayor cantidad de compuestos fenólicos en comparación a las otras frutas. (Muñoz, 2007).

Comparando el extracto del Camu Camu que tuvo 115,540 mg ácido gálico/g extracto, con otras investigaciones se determinó mayor cantidad de compuestos fenólicos que los extractos de Achiote 14,9 mg ácido gálico/g extracto y Chupasangre 15,4 mg ácido gálico/g extracto. (Rojas, 2013).

El contenido de vitamina C del fruto fue de 0,76052 mg ácido ascórbico/g fruto fresco al compararlo con el extracto este fue de 25,166 mg ácido ascórbico/g extracto seco y de la crema cosmética fue de 4,614 mg ácido ascórbico/g crema, por lo que se determinó que tanto el extracto como la crema tienen actividad antioxidante *in vitro*.

De los resultados de los estudios *in vitro*, se debe mencionar, que el extracto hidroalcohólico de Camu Camu (76,052 mg ácido ascórbico/100 g fruta fresca) tienen valores de vitamina C superiores al kiwi (60 mg/100 g), fresa (60 mg/100 g), naranja (50 mg/100 g), limón (50 mg/100 g), piña (12-25 mg/100 g), plátano (10-30 mg/100 g), mora (15 mg/100 g), manzanas (2-10

mg/100 g) y granada (6 mg/100 g), por lo que tiene mayor actividad antioxidante. (Oliveira, 2014)

Al evaluar la capacidad antioxidante de la *Myrciaria dubia* (Kunth) Mc Vaugh Camu Camu, con la técnica del DPPH* encontramos que el extracto hidroalcohólico de los frutos de Camu Camu presenta un IC50 (75,9119 µg/mL), lo que demuestra que el extracto hidroalcohólico tiene capacidad antioxidante, esto podría explicarse por la concentración de vitamina C (25,166 mg ácido ascórbico/g extracto y polifenoles 115,5401 mg ácido gálico/g extracto), como se ha observado en otros trabajos donde el efecto antioxidante es ejercido por los polifenoles y vitamina C. (Inocente, 2014).

De un estudio, se determinó que el extracto de *Corryocactus brevistylus* (Sanky) presentó actividad antioxidante expresado como IC50: 669,43 µg/mL, este resultado es inferior al compararlo con el extracto de *Myrciaria dubia* (Kunth) Mc Vaugh (Camu Camu) IC50 (75,9119 µg/mL), lo que indicó que el extracto de Camu Camu tuvo mayor capacidad antioxidante que el extracto de Sanky. (Zapaille, 2013)

Los valores de polifenoles pueden verse modificados dependiendo de los métodos utilizados para la extracción como lo señalan en algunas publicaciones (Garzón, 2009), al parecer los mejores solventes utilizados para la extracción de polifenoles son el agua y etanol, por su polaridad y su capacidad de solubilización para dichos compuestos (Sohby, 2009). Por otro lado, la concentración de polifenoles también va a ser afectada por los suelos de donde proceden y la estación del año en que se producen (Connor, 2005).

La crema cosmética con extracto hidroalcohólico de frutos de Camu Camu presenta un IC50 (1264,2603 µg/mL), lo cual demuestra que la crema con extracto hidroalcohólico tiene actividad antioxidante. Esta variación con respecto al extracto hidroalcohólico de Camu Camu podría deberse a la reacción de los excipientes incorporados en la crema, con los compuestos activos como son la vitamina C y compuestos fenólicos, el extracto

hidroalcohólico podría haber extraído compuestos medianamente polares, lo cual pueden haber reaccionado lentamente con los excipientes de la crema.

En un estudio con diferentes muestras de frutas se presentaron los siguientes valores de VEAC para: piña 0,41 mg/g, maracuyá 0,47mg/g, mora 0,83 mg/g, guayaba 1,00 mg/g, uva 1,05 mg/g, fresa 1,32 mg/g y mango 1,74 mg/g en comparación al VEAC obtenido para el extracto de Camu Camu que fue de 45 mg/g y para la crema cosmética que fue de 2,717 mg/g, se demostró que el extracto y la crema de Camu Camu tienen mayor capacidad antioxidante que las frutas mencionadas anteriormente.(Kuskoski, 2012).

En este trabajo, se presentó el efecto de la radiación UV-C sobre la piel. La radiación de tipo UV-C ha sido poco estudiada debido a que no existen problemas a nivel ambiental, ya que este tipo de longitud de onda no llega a atravesar la superficie terrestre por encontrarse bloqueada por la capa de ozono (Nole & Johnson, 2004). Sin embargo es ampliamente usado a nivel ocupacional, por sus propiedades germicidas y poco se conoce sobre el efecto que este tiene sobre la piel (Andersen, 2006). Al tener una menor longitud de onda (290 – 200 nm), la energía que irradia es mucho mayor, por lo que el daño que puede ofrecer a la piel es peligroso si no se cuenta con la debida protección (Svobodova, 2006). Se tiene así, entre los pocos estudios realizados sobre radiación UV-C, que este ocasiona una serie de daños, y que estos llegan a aparecer a las pocas horas de exposición. Se observa así que existe una inflamación tanto de la piel como de la retina (Trevisan, 2006).

La actividad regeneradora de la crema cosmética fue evaluada en la piel fotodañada de los ratones mediante cortes histológicos, de las diferentes capas de la piel (Anexo.10), los resultados fueron (Cuadro. 13), un estado de la piel buena para el 100 % de los grupos I (ratones con lomo depilado – blanco) y grupo V (ratones con lomo depilado e irradiado y con tratamiento de crema con extracto de Camu Camu- 5,0% p/p), lo que comprobó que la crema tiene actividad regeneradora.

El grupo IV (ratones con lomo depilado e irradiado y con tratamiento de crema sin extracto – placebo), dió un resultado de estado de la piel regular para el 87,5% de la población y un 12,5 % de estado de la piel buena, lo que indicó que la base de la crema cosmética tiene regular actividad regeneradora.

El grupo III (ratones con lomo depilado e irradiado y con tratamiento de crema cosmética antioxidante con extractos de noni, acai y acerola-comercial de referencia-control positivo), que dió como resultado el 75 % de la población con estado de la piel regular y un 25 % con estado de la piel buena, lo que indicó que la actividad regeneradora de la crema cosmética con extracto de Camu Camu tuvo mejores resultados que la crema comercial.

El grupo II (ratones con lomo depilado e irradiado-control negativo), dió como resultado el 100 % de la población con estado de la piel dañada, esto nos indicó que la radiación UV-C causó un daño severo en la piel de los ratones.

Para determinar la actividad regeneradora de la crema cosmética también se evaluó la piel fotodañada de los ratones mediante la inflamación de la piel por cortes histológicos, mediante la cantidad de macrófagos y la presencia de edema, los resultados fueron para el 100 % una inflamación leve para el grupo V, 100 % inflamación moderada para el grupo IV, 100 % inflamación severa para el grupo II, para el grupo I, la inflamación leve fue de 62,5 % y 37,5% no presentó inflamación; para el grupo III la inflamación leve fue de 37,5 %, inflamación severa fue de 37,5% y la inflamación moderada fue de 25,0 %, lo que demostró que la crema cosmética tiene actividad regeneradora.

CAPÍTULO V. CONCLUSIONES

- Se cuantificó el contenido de compuestos fenólicos y de vitamina C del extracto hidroalcohólico de *Myrciaria dubia* (Kunth) Mc Vaugh Camu Camu y de la crema cosmética, mediante el método de Singleton, Orthofer, & Lamuela-Raventos para compuestos fenólicos y utilizando el poder reductor que ejerce la vitamina C sobre el reactivo Folin-Ciocalteau, dando resultados favorables *in vitro* para capacidad antioxidante.
- El extracto hidroalcohólico de *Myrciaria dubia* (Kunth) Mc Vaugh Camu Camu y la crema cosmética tienen capacidad antioxidante *in vitro* mediante el método espectrofotométrico DPPH, la cantidad de compuestos fenólicos y la cantidad de vitamina C.
- La crema cosmética con extracto hidroalcohólico de *Myrciaria dubia* (Kunth) Mc Vaugh Camu Camu tiene actividad regeneradora *in vivo* sobre la piel fotodañada de los ratones de laboratorio, mediante la evaluación histológica tanto en el estado de la piel como en el grado de inflamación.

CAPÍTULO VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Andersen B., Banrud H., Boe E., Bjordal O., Drangsholt F. (2006). Comparasion of UVC light and chemicals for disinfection of surfaces in hospital isolation units. *Infect Control Hosp. Epidemiol.* 27:729 -34.
- Arellano-Acuña, E., *et al.* (2016). Camu-Camu (*Myrciaria dubia*): Fruta tropical de excelentes propiedades funcionales que ayudan a mejorar la calidad de vida. *Revista Scientia Agropecuaria.* Facultad de Ciencias Agropecuarias. Universidad Nacional de Trujillo. 7(4), p.436.
- Calzada, B. (1980). *Frutales Nativos.* Universidad Nacional Agraria La Molina. Lima – Perú, p. 366.
- Castañeda, B., Ramos E., Ibáñez, L. (2008). Evaluación de la capacidad antioxidante de siete plantas medicinales peruanas. *Revista Horizonte Médico.* 8(1), 56 -72
- Castro, J. (2013). Variación del contenido de vitamina C y antiocianinas en *Myrciaria dubia* “Camu Camu”. *Revista de la Sociedad Química del Perú.* 79(4), 319-330.
- Collazos, C. (1996). *Tablas Peruanas de Composición de alimentos* Ministerio de Salud. 7th Edición. p.86. Lima - Perú.
- Connor, A. Finn C., & Alspach P. (2005). Genotypic and Environmental Variation in Antioxidant Activity and Total Phenolic Content among Blackberry and Hybridberry Cultivars. *Journal of American Society of Horticulturae Science,* 130(4), 527- 533.

- Consalvo, L. (2006). Envejecimiento Cutáneo. Recuperado el 10 de enero de 2016, de:<http://www.archivosdermato.org.ar/Uploads/Arch%20Argent%20Dermatol%2056%201-15,%202006.pdf>
- Cheftel, J., Cheftel H., Besancon, P. (1976) Introducción a la bioquímica y tecnología de alimentos. Tomo I. Editorial Acribia, Barcelona.
- Chimenes, E. (2008). Aspectos prácticos en la prevención del cáncer oral. *Avances en Odontoestomatología*, 24(1), 61-67
- Dewanto, V., Orthofer, R., & Lamuela-Raventos, R. (1999). Analysis of total phenols and other oxidation substrates by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Methods of Enzymology*, 299(1), 152-178.
- Doroteo, V., Terry, C., Díaz C., Vaisberg A., Rojas R. (2012). Compuestos fenólicos y actividades antioxidante, antielastasa, anticlagenasa y fotoprotectora *in vitro* de *Myrciaria dubia* (Camu Camu) y *Caesalpinia spinosa* (tara). *Revista de Sociedad Química del Perú*, 78(4), 254-263.
- Farris, P. (2007), Agente útil para el tratamiento del fotoenvejecimiento y otras condiciones dermatológicas. Recuperado el 24 de Octubre de 2015, de: <http://www.intramed.net/contenido.asp?contenidoID=49612>
- Fennema, O. (1993), Introducción a la ciencia de los alimentos. Editorial Reverté S.A. Barcelona – España.
- Fuentes, F., Mendoza, R., Rosales, A., Cisneros, R. (2008) Guía de manejo y cuidado de animales de laboratorio: ratón. Centro Nacional de Productos Biológicos. Instituto Nacional de Salud. Lima- Perú.

- García, B. (2005), Absorción in vitro de oligómeros de epicatequina. Tesis (Doctor en Bioquímica). Tarragona – Italia. Universidad Rovira I Virgili. Facultad de Bioquímica y Biotecnología.
- Garzón G., Riedl K., & Schwartz S. (2009). Determinacion of Anthocyanins, Total Phenolic Content, and Antioxidant Activity in Andes Berry (*Rubusglaucus Benth*). *Journal of Food Sciencie: Food Chemistry*, 74(3), 227-232.
- Gimeno, E. (2004). Compuestos fenólicos. Un análisis de sus beneficios para la salud. *OFFARM* 23 (6), 80 – 84.
- Gonzales, C. (2006). Efecto de dos extractos acuosos de *Lepidium meyenii* Walpers “maca” como protector de piel contra la radiación ultravioleta (UV.C) en ratas. Tesis para Optar el Título de Licenciado en Biología. Universidad Peruana Cayetano Heredia. Facultad de Ciencias y Filosofía. Lima- Perú.
- Gonzales, E. (2013). Dermocosmética. Recuperado el 30 de Marzo de 2016, de:http://www.google.com.pe/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=1&ved=0ahUKEwjlu56X_93NAhWKkx4KHTNDCPMQFggaMAA&url=http%3A%2F%2Fwww.bellezamedica.es%2Fapp%2Fdownload%2F93486157%2FMonografico-BM13.pdf&usg=AFQjCNFyliyVVs9RiDxzGScvIFlgfqkJcw
- Guevara, M. (2011). Determinación de la actividad regeneradora en eritema solar de un gel cosmético a base del extracto de diclorometano de flores de *Iresine Weberbaueri* (flor blanca). Tesis para optar el Grado Académico de Magíster de Ciencias Farmacéuticas con mención en Ciencia y Tecnología Cosmética. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima-Perú.

- Hollands, I., Gómez-Berry & H., Miyares, C.M. (2003). Modelo biológico para evaluar la acción fotoprotectora de un extracto de cordón umbilical humano. *Revista Cubana de Farmacia*;37 (1), 20-26.
- Huapaya, E. (1995). Evaluación de la pérdida de Vitamina C durante el procesamiento y almacenamiento de pulpa de Camu Camu (*Myrciaria paraensis*). Tesis para optar el Título de Ingeniero en Industrias Alimentarias. Universidad Nacional de La Molina. Lima – Perú.
- Illachica, H.(1996). Frutales y Hortalizas promisorias de la Amazonía. Tratado de cooperación amazónica. Lima-Perú.
- Inocente, M. (2009). Actividad antioxidante y antimicrobiana de los compuestos fenólicos del extracto hidroalcohólico de la corteza de *Triplaris americana* L. (Tangara colorada). Tesis para optar el título profesional de Químico Farmacéutico. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima – Perú.
- Inocente, M. (2013). Efecto irritante *in vitro* de formulaciones cosméticas con extracto de Camu Camu, mediante el método Het Cam. *Revista Horizonte Médico*. 13(2), 12-18.
- Inocente, M, *et al.* (2014). Actividad antioxidante y fotoprotectora *in vitro* de una loción y gel elaborados con extracto estabilizado de Camu Camu (*Myrciaria dubia*, Kunth). *Revista de la Sociedad Química del Perú*. 80(1), 65-77.
- Kodama, D., Goncalvez, A., Lajolo, F., & Genovese, M. (2010). Flavonoids, total phenolics and antioxidant capacity: comparison between commercial Green tea preparations. *Ciencia y Tecnología de Alimentos. Brasil*, 30(4), 1077-1082.

- Kuon, C. (1956) Contenido de Vitamina C en los frutos y verduras del Cuzco. Perú.
- Luque, C. (2009), Determinación preliminar de metabolitos en hojas y corteza de Camu - Camu (*Myrciaria dubia*)(H.B.K.) Mc Vaughn en tres etapas fenológicas. Tesis para optar el título de Ingeniero forestal. Universidad Nacional La Molina. Lima-Perú.
- Lock de Ugaz, O. (1988), Investigación fitoquímica: Métodos en el estudio de productos naturales. Lima – Perú. Fondo editorial de la Pontificia Universidad Católica.p. 213.
- Martinez-Valverde, I. Periago, M., Ros, G. (2000). Significado nutricional de los compuestos fenólicos de la dieta. Archivos Latinoamericanos de nutrición. 50(1), 5-18.
- Merino, J. (2011).Fisiología General. Universidad de Cantabria. Recuperado el 17 de agosto del 2015de:<http://ocw.unican.es/ciencias-de-la-salud/fisiologia-general/materiales-de-clase-1/bloque-ii/Tema%2011-Bloque%20II-La%20Piel.%20Estructura%20y%20Funciones.pdf>
- Muedas, G., La Rosa, A., Robles, J. (2008). Evaluación electroquímica de la actividad antioxidante del extracto alcohólico de la *Bauhinia guianensis* var. *Kuntiana* Aubl. *Revista de la Sociedad Química del Perú*. 74(4), 233-246.
- Muñoz, A., Ramos–Escudero, D., Alvarado – Ortiz, C. & Castañeda, B. (2007). Evaluación de La Capacidad Antioxidante y contenido de compuestos fenólicos en recursos vegetales primarios. *Revista Sociedad Química del Perú*. 73(3), 142 – 149.

- Nemirovsky, Y. (2010). Estimación del efecto del Camu Camu (*Myrciaria dubia* H.B.K. Mc Vaugh) como fuente de vitamina C en la biodisponibilidad del Hierro. Tesis para optar El grado de Magister Scientiae. Escuela de Post grado Especialidad de Nutrición. Universidad Nacional Agraria La Molina. Lima-Perú.
- Nole, G., Johnson, A.(2004). An analysis of cumulative lifetime solar ultraviolet radiation exposure and the benefits of daily sun protection. *Dermatol Ther.* 17(1), 57 -62.
- Ochoa, A., Marin, J., Rivero, D., Aguilera E. (2013) Caracterización física, físico-química y química de extractos totales de hojas frescas de *Petiveria alliacea L.* con acción antimicrobiana. *Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas* 44(1), 52-55.
- Oliveira, G. (2014). Capacidad Antioxidante de *Averrhoa carambola L.* (carambola) frente a sistemas generadores de radicales libres. Tesis para optar El Grado Académico de Magister de Nutrición con mención en Aspectos Biológicos de la Nutrición. Facultad de Medicina Humana. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima.
- Pacci- Salazar, K. (2009). Eficacia tópica de *Myrciaria dubia* en la curación de quemaduras de segundo grado en ratas Holtzman. *Ciencia e investigación médica estudiantil latinoamericana.* 14(1), 15-20.
- Paladino, S. (2006). Actividad antioxidante de los compuestos fenólicos contenidos en las semillas de La vid (*Vitis vinifera L.*). Tesis de Maestría. Mendoza – Argentina.
- Pokorny, J. (2001). Antioxidantes de los alimentos. Editorial Acribia S.A. España.

Química Cosmetológica. (2012). Recuperado el 25 de Junio de 2014 de: <https://es.scribd.com/doc/124714501/QUIMICA-COSMETOLOGICA>

Riveros, H. (2013). Vitaminas en los cosméticos. Recuperado el 10 de Octubre de 2015 de: <https://es.scribd.com/doc/124714501/QUIMICA-COSMETOLOGICA>

Rojas, R., Doroteo V., Díaz, C., Vaisberg A., Neira, M. (2013). Actividad antioxidante, anti-elastasa, anti-colagenasa, protectora contra rayos UV-B, promotora de síntesis de colágeno *in vitro* y estudios de seguridad y eficacia de extractos de *Bixa Orellana* (achiote) y *Oenothera Rosea* (Chupasangre), FIDECOM-Innovate, Perú. Universidad Peruana Cayetano Heredia.

Romero, P. (2006). Dermatoheliosis o fotoenvejecimiento. Un trastorno inducido por la luz. Recuperado el 19 de Agosto de 2015 de: [http://bvs.sld.cu/revistas/gme/pub/vol.8.\(3\)_08/p8.html](http://bvs.sld.cu/revistas/gme/pub/vol.8.(3)_08/p8.html)

Sánchez, H. (2010). Evaluación de la capacidad antioxidante, compuestos fenólicos y actividad antimutágena de los extractos de Camu Camu (*Myrciaria dubia*) y yacón (*Smollanthus sonchifolius*). Tesis para optar El título de Ingeniera en Industrias Alimentarias. Universidad Nacional Agraria La Molina. Lima-Perú.

Serra, H., Cafaro, T. (2007) Ácido ascórbico: desde la química hasta su crucial función protectora del ojo. Acta bioquímica clínica latinoamericana. 41(4), 525-532.

- Singleton, V., Orthofer, R., & Lamuela-Raventos, R. (1999). Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Methods of enzymology*, 299 (1), 152-178.
- Sohby M., Ammar A., (2009). Total phenolic contents and antioxidant activity of corn tassel extracts. *Food Chemistry*. 112(3), 595-598.
- Sotomayor, P.(2000). Influencia de los encapsulantes y las temperaturas de secado en la calidad del Camu Camu (*Myrciaria dubia*) liofilizado. Tesis para optar el título de Ingeniero en industria Alimentaria. Universidad Nacional Agraria La Molina. Lima-Perú.
- Valencia, C. (1995). *Fundamentos de Fitoquímica*. MX. Editorial Trillas S.A., p. 235.
- Villachica, H. (1996), El cultivo del Camu Camu (*Myrciaria dubia* HBK Mc Vaugh) en la Amazonía peruana. *Tratado de Cooperación Amazónica*. Secretaría Pro Tempore. Lima – Perú.
- Yaringaño, J. (2015), Formulación de una crema dermocosmetica a base de *Mauritia flexousas L.f.* y *Copaifera reticulata var. peruviana* con efecto regenerador de la piel lesionada en ratones *Mus musculus Balb c.* Tesis para optar el Título Profesional de Químico farmacéutico. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima – Perú.
- Zapaille M. (2013) Diseño y formulación de una crema con actividad antioxidante y humectante a base del fruto del *Corryocactus brevistylus* "Sanky". Tesis para optar el título profesional de Químico Farmacéutico Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima – Perú.

CAPÍTULO VIII. ANEXOS

Anexo 1. Clasificación taxonómica de *Myrciaria dubia* (Kunth) Mc Vaugh Camu Camu



UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS
Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA



MUSEO DE HISTORIA NATURAL

"Año de la Promoción de la Industria Responsable y del Compromiso Climático"

CONSTANCIA N° 70-USM-2014

LA JEFA DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM) DEL MUSEO DE HISTORIA NATURAL DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS, DEJA CONSTANCIA QUE:

La muestra vegetal (frutos), recibida de la Srta. Q. F. Irene RAMOS GUANILO, alumna, de la Maestría de Ciencias Farmacéuticas de la **Facultad de Farmacia y Bioquímica** de la **Universidad Nacional Mayor de San Marcos**, ha sido estudiada y clasificada como: ***Myrciaria dubia*** (Kunth) McVaugh y tiene la siguiente posición taxonómica, según el Sistema de Clasificación de Cronquist (1988)

DIVISION: MAGNOLIOPHYTA

CLASE: MAGNOLIOPSIDA

SUB CLASE: ROSIDAE

ORDEN: MYRTALES

FAMILIA: MYRTACEAE

GENERO: *Myrciaria*

ESPECIE: *Myrciaria dubia* (Kunth) Mc Vaugh

Nombre vulgar: "Camu Camu"
Determinado por: **Blgo. Mario J. Benavente Palacios**
Se extiende la presente constancia a solicitud de la parte interesada, para los fines que crean conveniente.

Lima, 21 de abril del 2014



Haydee Montoya Terreros
Dra. Haydee Montoya Terreros
JEFE DEL HERBARIO SAN MARCOS

Av. Arenales 1256, Jesús María
Apdo. 14-0434, Lima 14, Perú

Telfs. (511)471-0117, 470-4471,
470-7918, 619-7000 anexo 5703

e-mail: museohn@unmsm.edu.pe
<http://museohn.unmsm.edu.pe>

Anexo 2. Protocolo de Análisis Físicoquímico del Extracto de Camu Camu

Cuadro. 15 Plantilla de Protocolo de análisis del extracto hidroalcohólico de Camu Camu


PROTOCOLO DE ANALISIS		
Nombre:	EXTRACTO HIDROALCOHOLICO DE CAMU CAMU (<i>Myrciaria dubia</i> (Kunth) Mc Vaugh)	
Norma Técnica:	PROPIA	
ENSAYOS	ESPECIFICACIONES	RESULTADOS
CARACTERISTICAS FISICAS		
DESCRIPCION	Masa pastosa de color ámbar, con olor y sabor característico.	
SOLUBILIDAD		
ETER DE PETROLEO	Insoluble	
DICLOROMETANO	Insoluble	
ACETONA	Insoluble	
ACETATO DE ETILO	Insoluble	
2-BUTANOL	Insoluble	
PROPILENGLICOL	Insoluble	
ETANOL	Soluble	
METANOL	Soluble	
AGUA	Soluble	
PRUEBAS ESPECIFICAS		
pH (25 °C)	2,5 - 4,0	
MARCHA FITOQUIMICA		
REACCIÓN DE SHINODA	Flavonoides	
REACCIÓN DE CLORURO FERRICO	Compuestos Fenólicos	
REACCIÓN DE DRAGENDORFF / MAYER	Alcaloides	
REACCION DE LIEBERMAN – BURCHARD	Esteroides y terpenoides	
COLORURO DE GELATINA	Taninos	
PRUEBA DE ESPUMA	Saponinas	
REACCIÓN DE NINHIDRINA	Aminoácidos	
REACCIÓN DE MOLISH	Glicósidos	
REACCIÓN DE BORNTTRAGER	Quinonas	
SÓLIDOS TOTALES	0,30 – 0,40 g/100 mL	
Envasado y Almacenamiento:	ALMACENAR EN ENVASE HERMETICAMENTE CERRADO Y PROTEGER DE LA LUZ	

Anexo 3. Protocolo de Análisis de la Crema Cosmética

Cuadro. 16 Plantilla de Protocolo de análisis de la crema cosmética


PROTOCOLO DE ANALISIS			
Nombre:	CREMA CON EXTRACTO HIDROALCOHOLICO DE CAMU CAMU (<i>Myrciaria dubia</i> (Kunth) Mc Vaugh)		
Norma Técnica:	(1) USP	(2) PROPIA	
ENSAYOS	NT	ESPECIFICACIONES	RESULTADOS
CARACTERISTICAS FISICAS			
DESCRIPCION	2	Crema homogénea, de color crema, con olor característico.	
PRUEBAS ESPECIFICAS			
PESO	2	No menos de lo declarado 50 g/ Pote	
pH (25 °C)	2	5,5 - 8,5	
PESO ESPECIFICO (25 °C)	2	0,10 – 1,10	
VISCOSIDAD (25 °C) AGUJA 64 RPM 250 TIEMPO 3 MINUTOS	2	1000 - 2000 cps	
EXAMEN MICROBIOLÓGICO			
Recuento Total de Microorganismos Aerobios	1	No más de 5 000 UFC/g	
Microorganismo Específico: E. coli	1	Ausencia en 1 g	
Microorganismo Específico: P. aeruginosa	1	Ausencia en 1 g	
Microorganismo Específico: S. aureus	1	Ausencia en 1 g	

Anexo 4. Protocolo de Análisis Microbiológico de la crema cosmética



UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS
(Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA)

FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA
CENPROFARMA
CENTRO DE CONTROL ANALÍTICO

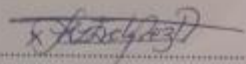


PROTOCOLO DE ANÁLISIS N.º000114-CPF-2016


ORDEN DE ANÁLISIS	: 004146/2016
SOLICITADO POR	: IRENE RAMOS GUANILO
DIRECCIÓN	: Calle Huandoy N° 456 urb. Las Leyendas – San Miguel
MUESTRA	: CREMA CON EXTRACTO HIDROALCÓLICO DE CAMU - CAMU
N° DE LOTE	: 1109995
CANTIDAD	: 03 potes x 30g
FECHA DE RECEPCIÓN	: 29 de Marzo del 2016
FECHA DE FABRICACION	: Octubre del 2015
FECHA DE VENCIMIENTO	: Octubre del 2018

ANÁLISIS MICROBIOLÓGICOS			
ENSAYO	ESPECIFICACIONES	MÉTODO	RESULTADOS
Recuento Total de Microorganismos Aerobios	<5000 UFC/g	USP 38	<10 UFC/g
----- PATÓGENOS -----			
<i>Escherichia coli</i>	Ausencia en 1g	USP 38	Ausencia en 1g
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Ausencia en 1g	USP 38	Ausencia en 1g
<i>Staphylococcus aureus</i>	Ausencia en 1g	USP 38	Ausencia en 1g

Lima, 19 de Abril del 2016



.....
Dra. Maria Elena Salazar Salvatierra
Directora del Centro de Control Analítico



FCCA-009 R 1

"FARMACIA ES LA PROFESIÓN DEL MEDICAMENTO, DEL ALIMENTO Y DEL TÓXICO"

Jr. Puno N° 1002, Jardín Botánico - Lima 1 - Perú - Telf.: (511) 6197000 anexo 4814 * 3284737 anexo 14 Fax (511) 3287396 - Ap. Postal 1760 - Lima 1
E-mail: cicontm@unmsm.edu.pe <http://www.unmsm.edu.pe/farmacia>

Anexo 5. Resultados obtenidos de la cuantificación de compuestos fenólicos

Cuadro. 17 Resultados obtenidos para elaborar la curva de calibración de ácido gálico

PPM	ABS 1	ABS 2	ABS 3	ABSORBANCIA PROMEDIO	DESVIACIÓN ESTÁNDAR
0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,0000
1	0,043	0,044	0,042	0,043	0,0010
2	0,085	0,088	0,087	0,087	0,0015
3	0,134	0,131	0,133	0,133	0,0015
4	0,184	0,183	0,185	0,184	0,0010
5	0,241	0,242	0,241	0,241	0,0006

Cuadro.18 Resultados de la cuantificación de compuestos fenólicos del extracto de Camu Camu

EXTRACTO	ABS 1	ABS 2	ABS 3	BLANCO	ABS PROMEDIO	DESVIACIÓN ESTÁNDAR	ABSORBANCIA CORREGIDA
HIDROALCOHÓLICO	3,689	3,693	3,684	0,006	3,689	0,0045	3,683

Cuadro. 19 Resultados de la cuantificación de compuestos fenólicos de la crema elaborada con extracto de Camu Camu

CREMA CON EXTRACTO	ABS 1	ABS 2	ABS 3	BLANCO	ABS PROMEDIO	DESVIACIÓN ESTÁNDAR	ABSORBANCIA CORREGIDA
HIDROALCOHÓLICO	2,789	2,796	2,788	0,779	2,791	0,0044	2,012

Cuadro. 20 Resultados de la cuantificación de compuestos fenólicos del extracto del fruto de Camu Camu, expresado en mg ácido gálico/g extracto

EXTRACTO	Cantidad ácido gálico en muestra (ppm)	El extracto seco fue diluido en 10% (g)	Luego 20 uL se disuelve en 3 mL (g extracto seco/mL)	Equivalencia ácido gálico y extracto seco (ug ácido gálico/g extracto seco)	Equivalencia ácido gálico y extracto seco (mg ácido gálico/g extracto seco)	Comparativo ácido gálico mg/g extracto
Extracto hidroalcohólico de Camu Camu	77,027	0,002	0,001	115540,084	115,540	115,5401

Cuadro. 21 Resultados de la cuantificación de compuestos fenólicos de la crema con extracto de Camu Camu, expresado en mg ácido gálico/ g crema

CREMA	Cantidad ácido gálico en crema (ppm)	El extracto seco fue diluido en 10% (g)	Luego 50 uL se disuelve en 3 mL (g crema/mL)	Equivalencia AG y extracto seco (ug AG/g crema)	Equivalencia AG y extracto seco (mg ácido gálico/g crema)
Crema con Extracto hidroalcohólico de Camu Camu	42,131	0,010	0,003	12639,348	12,639

Anexo 6. Resultados obtenidos de la Cuantificación de Vitamina C

Cuadro. 22 Resultados obtenidos para elaborar la curva de calibración de ácido ascórbico

PPM	ABS 1	ABS 2	ABS 3	ABS PROMEDIO	DS
0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
5	0,064	0,063	0,061	0,063	0,002
10	0,117	0,121	0,115	0,118	0,003
20	0,225	0,221	0,226	0,224	0,003
40	0,445	0,444	0,442	0,444	0,002
50	0,532	0,535	0,537	0,535	0,003

Cuadro. 23 Resultados de la cuantificación de vitamina C del extracto de Camu Camu

EXTRACTO	ABS 1	ABS 2	ABS 3	BLANCO	ABS PROMEDIO	DESVIACIÓN ESTÁNDAR	ABSORBANCIA CORREGIDA
HIDROALCOHÓLICO	0,202	0,203	0,210	0,018	0,205	0,0044	0,187

Cuadro. 24 Resultados de la cuantificación de vitamina C de la crema con extracto de Camu Camu

CREMA CON EXTRACTO	ABS 1	ABS 2	ABS 3	BLANCO	ABS PROMEDIO	DESVIACIÓN ESTÁNDAR	ABSORBANCIA CORREGIDA
HIDROALCOHÓLICO	0,361	0,364	0,366	0,274	0,364	0,0025	0,090

Cuadro. 25 Resultados de la cuantificación de vitamina C del extracto de Camu

Camu, expresado en mg ácido ascórbico/ g extracto

EXTRACTO	Cantidad ácido ascórbico en extracto (ppm)	El extracto seco fue diluido en 10% (g)	Luego 20 uL se disuelve en 3 mL (g extracto seco/mL)	Equivalencia AA y extracto seco (ug AA/g extracto seco)	Equivalencia AA y extracto seco (mg AA/g extracto seco)	Comparativo ácido ascórbico mg/g extracto
Extracto hidroalcohólico de Camu Camu	16,777	0,002	0,001	25165,715	25,166	25,1657

Cuadro. 26 Resultados de la cuantificación de vitamina C de la crema con

extracto de Camu Camu, expresado en mg ácido

ascórbico/ g crema

CREMA	Cantidad ácido ascórbico en crema (ppm)	El extracto seco fue diluido en 10% (g)	Luego 50 uL se disuelve en 3 mL (g crema/mL)	Equivalencia AA y extracto seco (ug AA/g crema)	Equivalencia AA y extracto seco (mg ácido ascórbico/g crema)
Crema con Extracto hidroalcohólico de Camu Camu	7,690	0,005	0,002	4613,771	4,614

Anexo 7. Resultados obtenidos de la Evaluación de la Capacidad Antioxidante

Cuadro. 27 Resultados obtenidos para elaborar la curva de calibración de ácido ascórbico para evaluar Capacidad Antioxidante

PPM	ABS 1	ABS 2	ABS 3	ABS PROMEDIO	DS	% INHIBICIÓN
0	0,171	0,172	0,172	0,172	0,001	0,000
1	0,151	0,155	0,152	0,153	0,002	11,068
2	0,122	0,124	0,117	0,121	0,004	29,515
3	0,092	0,103	0,095	0,097	0,006	43,689
4	0,069	0,066	0,068	0,068	0,002	60,583
5	0,047	0,051	0,048	0,049	0,002	71,650
DPPH	0,171	0,172	0,172	0,1717	0,001	

Cuadro. 28 Resultados de la evaluación de la capacidad antioxidante del extracto hidroalcohólico de frutos de Camu Camu

ug/ml	ABS 1	ABS 2	ABS 3	BLANCO	ABS PROMEDIO	DS	ABS CORREGIDA	% INHIBICIÓN
0	0,171	0,172	0,172	0,000	0,172	0,0006	0,172	0,000
10	0,153	0,151	0,158	0,001	0,154	0,0036	0,153	10,874
20	0,142	0,148	0,143	0,001	0,144	0,0032	0,143	16,505
30	0,136	0,139	0,134	0,002	0,136	0,0025	0,134	21,748
40	0,128	0,121	0,127	0,002	0,125	0,0038	0,123	28,155
50	0,121	0,119	0,118	0,003	0,119	0,0015	0,116	32,233

Cuadro. 29 Resultados de la evaluación de la capacidad antioxidante de la crema con extracto hidroalcohólico de frutos de Camu Camu

µg/ml	ABS 1	ABS 2	ABS 3	BLANCO	ABS PROMEDIO	DS	ABS CORREGIDA	% INHIBICIÓN
0	0,171	0,172	0,172	0,000	0,172	0,0006	0,172	0,000
1250	0,255	0,253	0,257	0,157	0,255	0,0020	0,098	42,913
1500	0,242	0,244	0,246	0,171	0,244	0,0020	0,073	57,476
1750	0,238	0,231	0,235	0,196	0,235	0,0035	0,039	77,476
2250	0,224	0,228	0,227	0,213	0,226	0,0021	0,013	92,233
2500	0,231	0,227	0,225	0,224	0,228	0,0031	0,004	97,864

Anexo 8. Diagnóstico Microscópico por Análisis Histológico de la piel de los ratones

CERTIFICADO

DIAGNÓSTICO MICROSCOPICO POR ANÁLISIS HISTOLÓGICO

Se certifica que se ha realizado el diagnóstico histológico de las muestras obtenidas a partir de la piel de ratones según los grupos de trabajo del bioensayo descrito en el modelo experimental.

GRUPO I:
Corte histológico sin alteraciones microscópicas significativas. Presencia de capa cornea, epidermis, membrana basal, dermis con tejidos laxo y compacto normal. Presencia de macrófagos (20 – 40 por campo) indicando reacción inflamatoria leve. Edema ausente

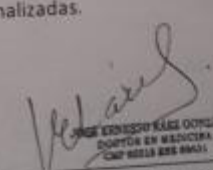
GRUPO II:
Corte histológico con ausencia de capa cornea, epidermis y membrana basal. Presencia de dermis alterada (sin tejidos laxo y compacto). Presencia de macrófagos (40 – 100 por campo) indicando reacción inflamatoria moderada. Presencia de Edema (+++)

GRUPO III:
Corte histológico con capa cornea discontinua, quemada y laminada. Presencia de epidermis, membrana basal y dermis con tejidos laxo y compacto. Presencia de macrófagos (20 – 40 por campo) indicando reacción inflamatoria leve. Presencia de Edema (++)

GRUPO IV:
Corte histológico con presencia de capa cornea discreta y discontinua, epidermis normal y conservada, membrana basal y dermis con tejidos laxo y compacto. Presencia de macrófagos (20 – 40 por campo) indicando reacción inflamatoria leve. Presencia de Edema (++)

GRUPO V:
Corte histológico con presencia de capa cornea, epidermis delgada y membrana basal normal. Dermis con presencia de tejido laxo y ausencia de tejido compacto. Presencia de macrófagos (20 – 40 por campo) indicando reacción inflamatoria leve. Presencia de Edema (+)

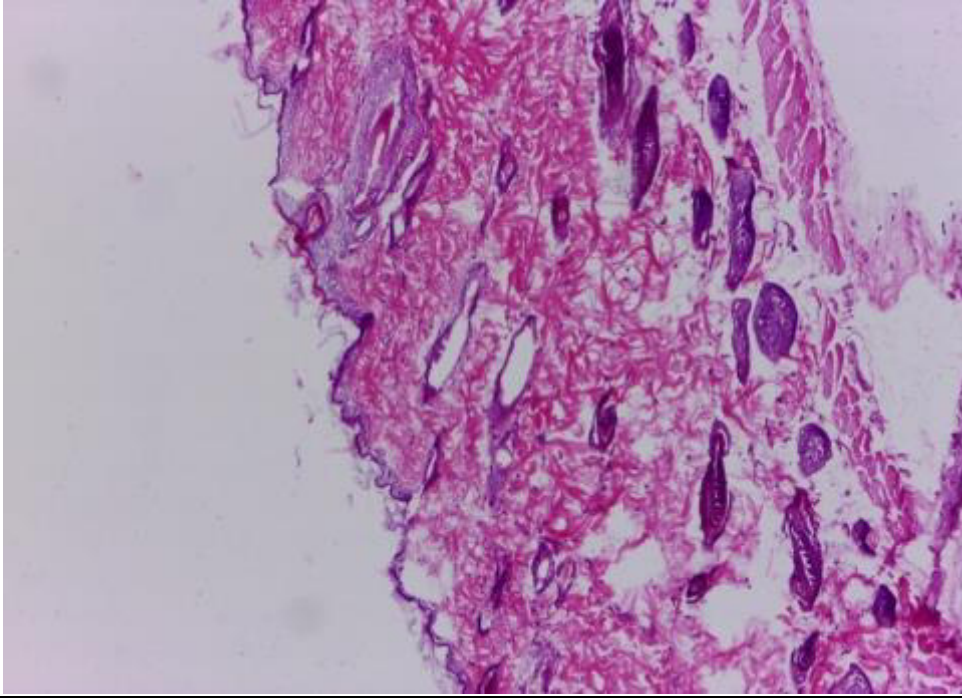
Se adjunta imágenes de los cortes histológicos de las muestras analizadas.


Nombre y Firma del Patólogo

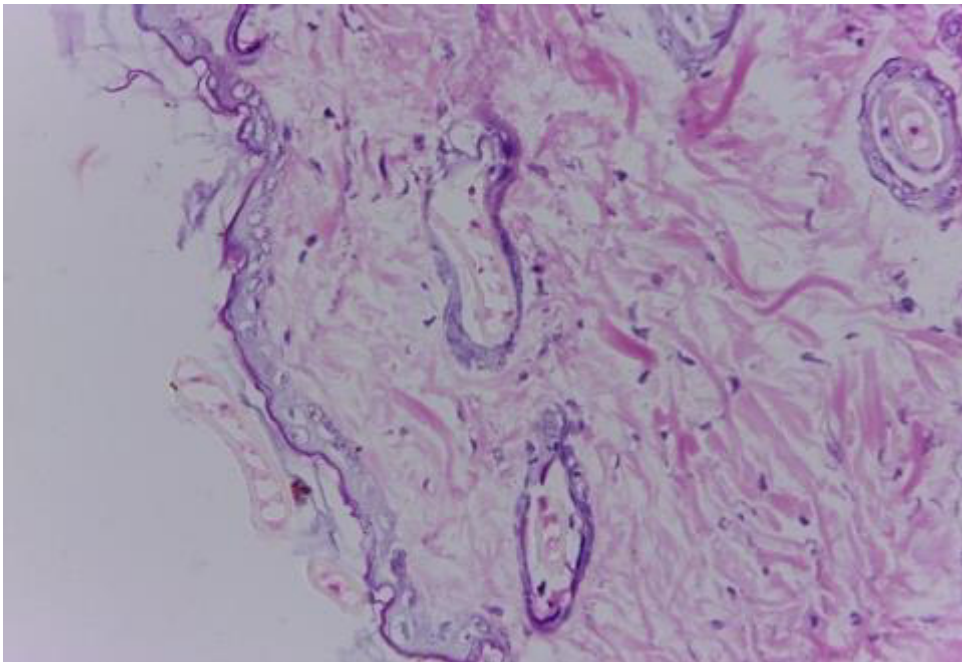
Anexo 9: Cortes histológicos de la piel de los ratones fotodañada según los grupos

GRUPO I: Ratones con lomo depilado (Blanco)

VISTA MICROSCOPICA 10 X

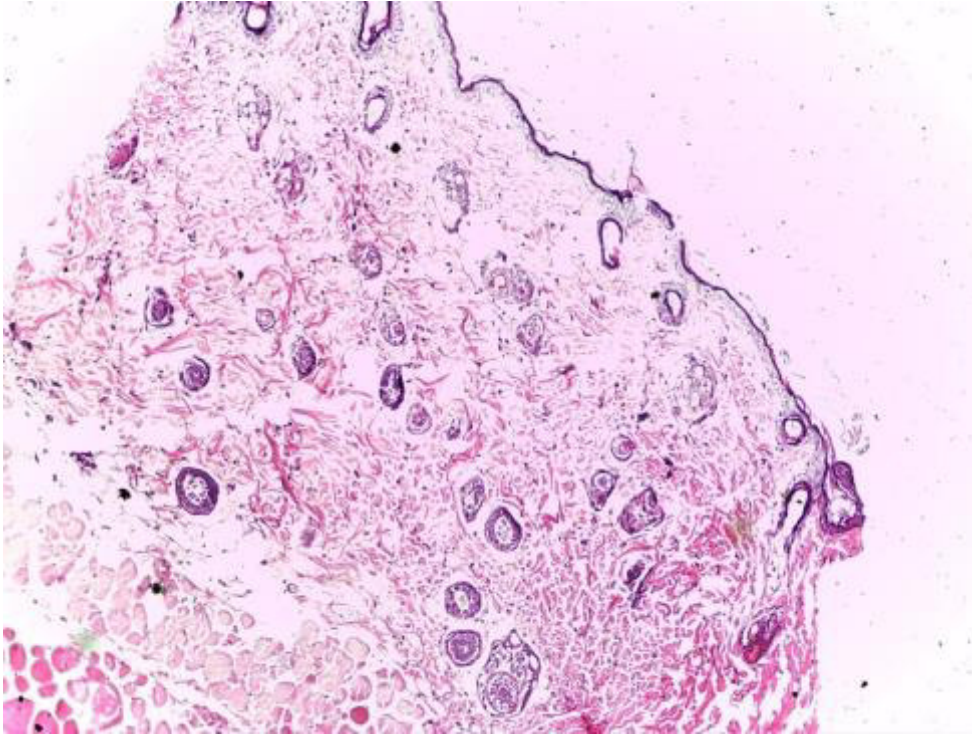


VISTA MICROSCOPICA 40 X

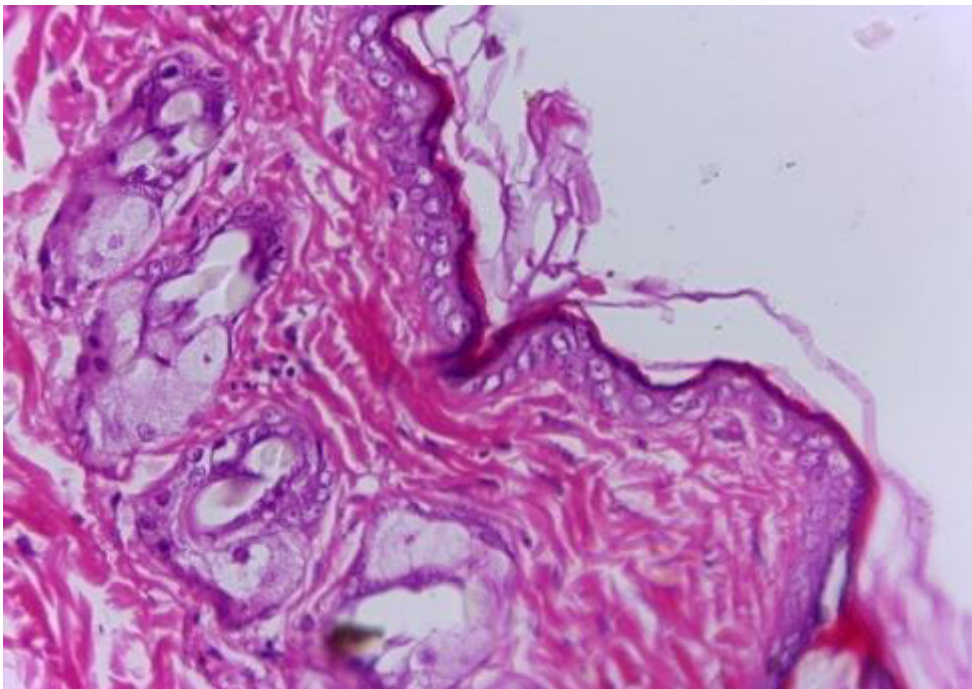


GRUPO II: Ratones con lomo depilado e irradiado (Control Negativo)

VISTA MICROSCOPICA 10 X



VISTA MICROSCOPICA 40 X

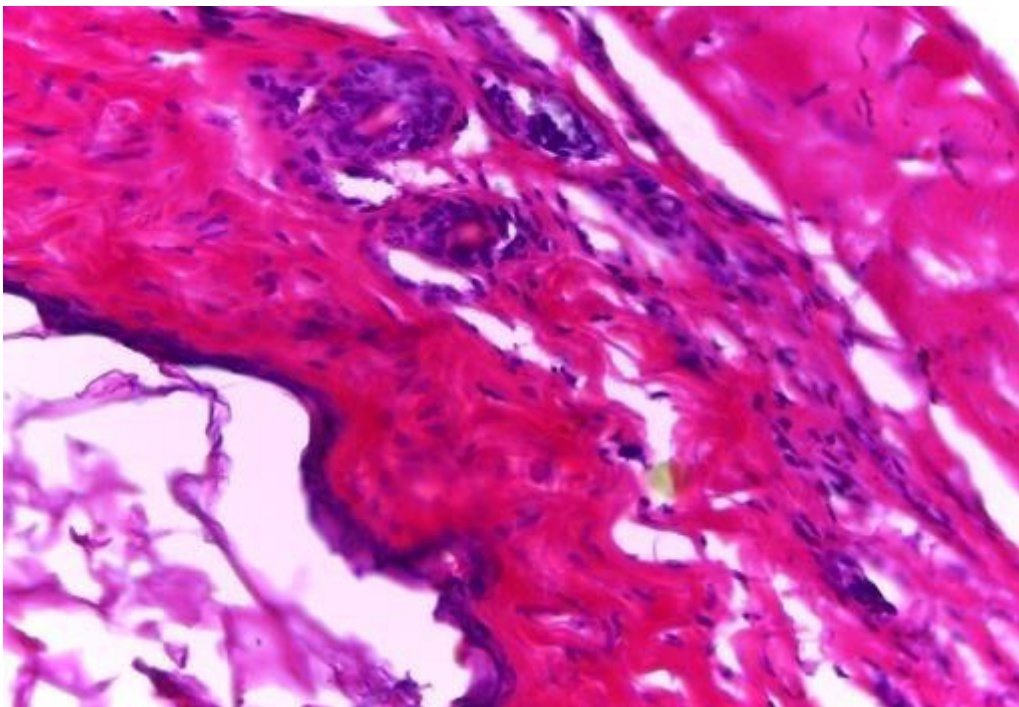


GRUPO III: Ratones con lomo depilado e irradiado y con tratamiento de crema comercial de referencia con propiedades antioxidantes (Control positivo)

VISTA MICROSCOPICA 10 X

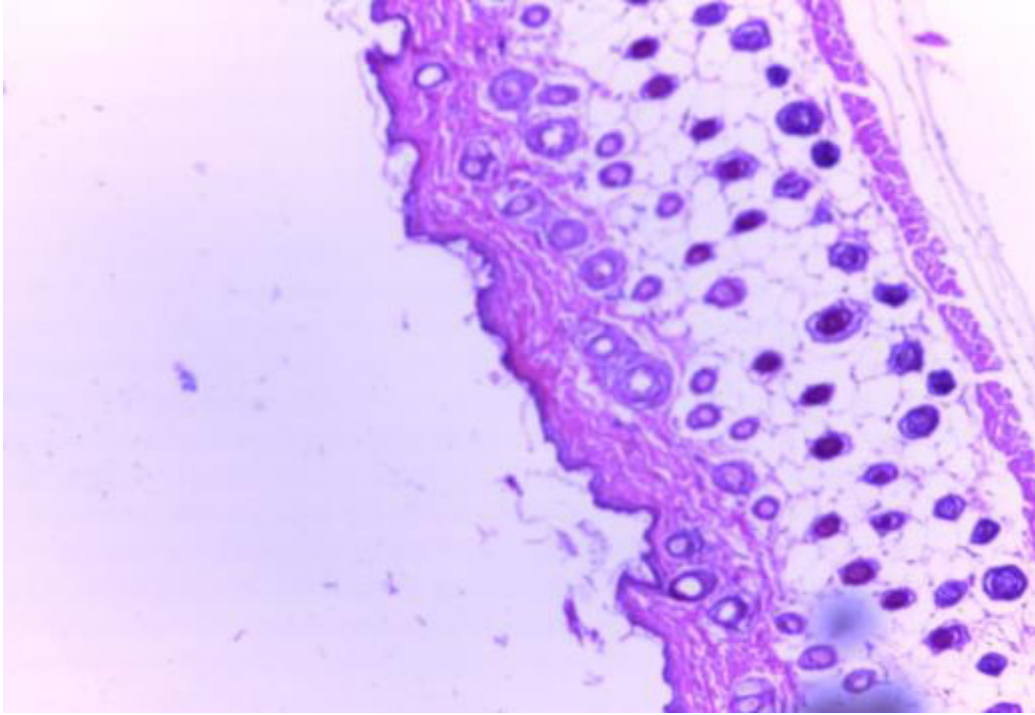


VISTA MICROSCOPICA 40 X

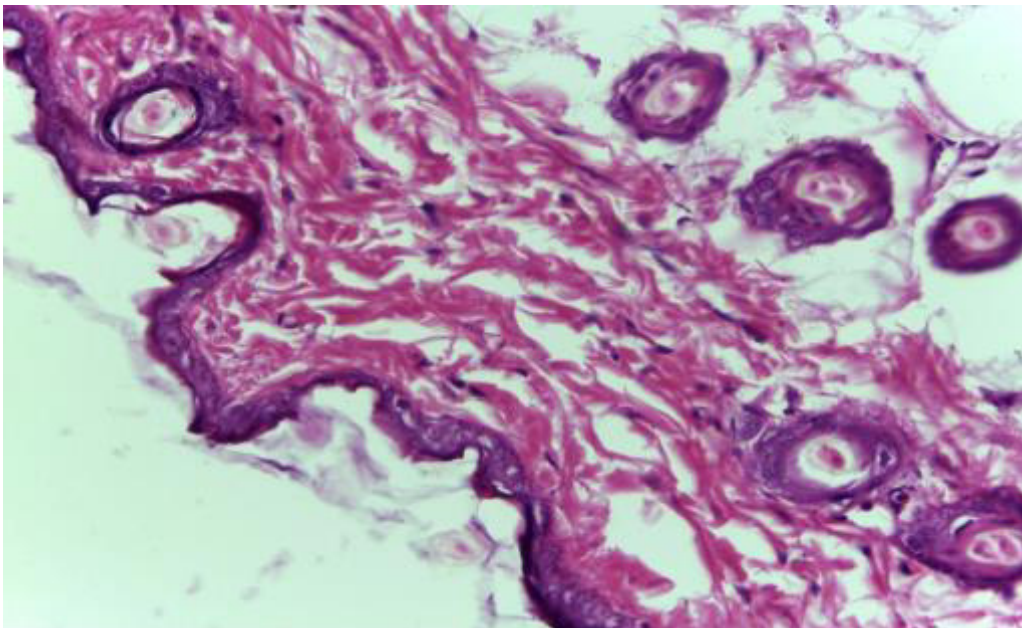


GRUPO IV: Ratones con lomo depilado e irradiado y con tratamiento de crema sin extracto (Placebo)

VISTA MICROSCOPICA 10 X

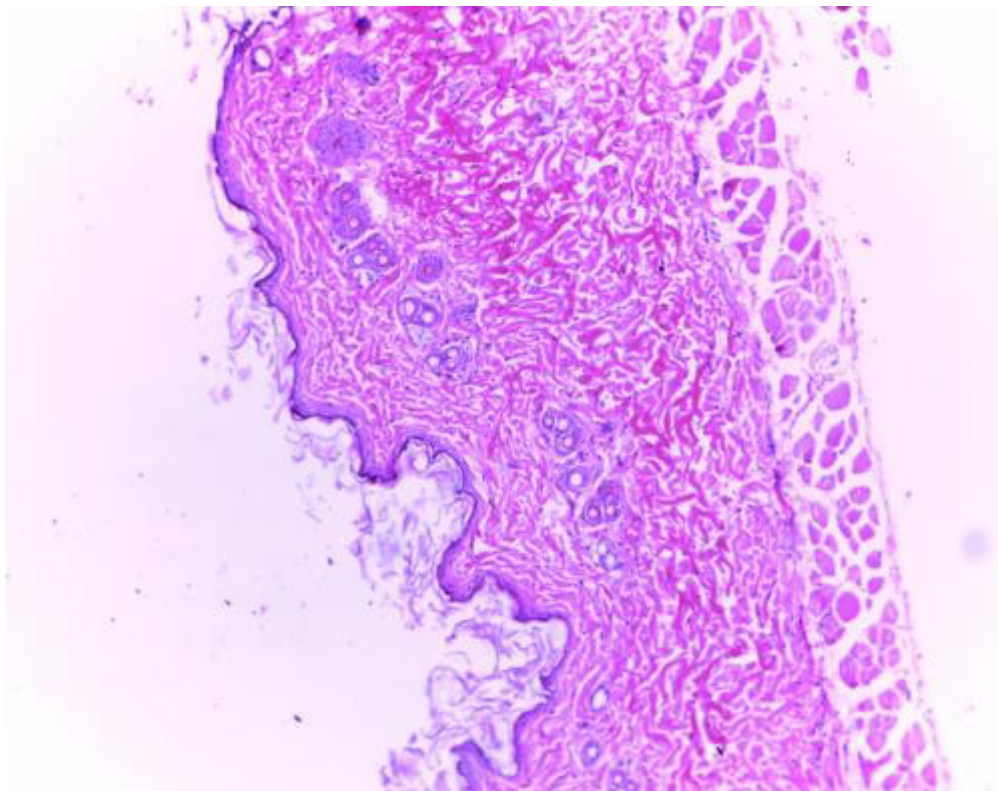


VISTA MICROSCOPICA 40 X

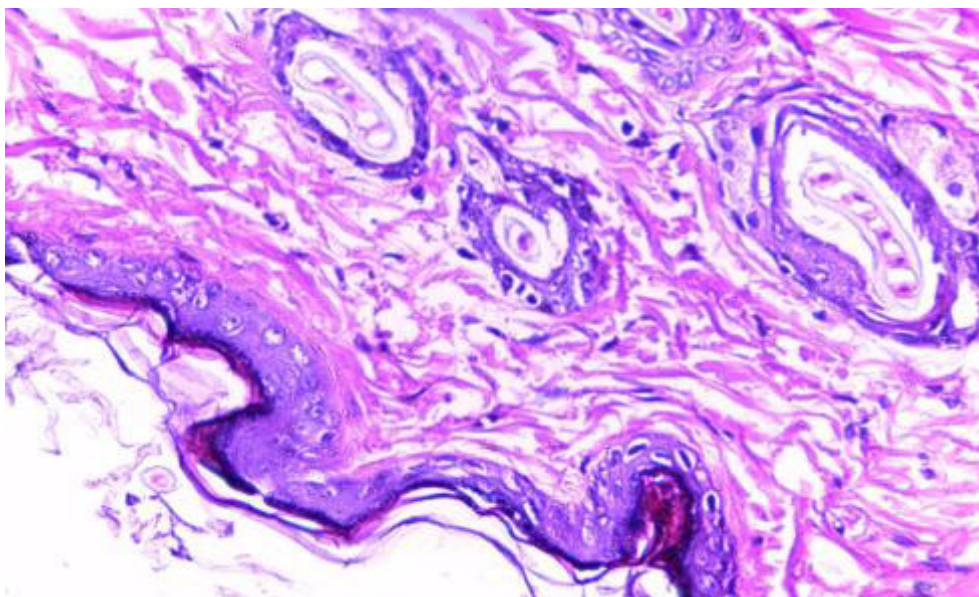


GRUPO V: Ratones con lomo depilado e irradiado y con tratamiento de crema con extracto de Camu Camu (Dosis 5.0 % p/p)

VISTA MICROSCOPICA 10 X



VISTA MICROSCOPICA 40 X



Anexo 10. Estado de la piel por capas según grupo de estudio

Cuadro. 30 Estado de la piel por capas

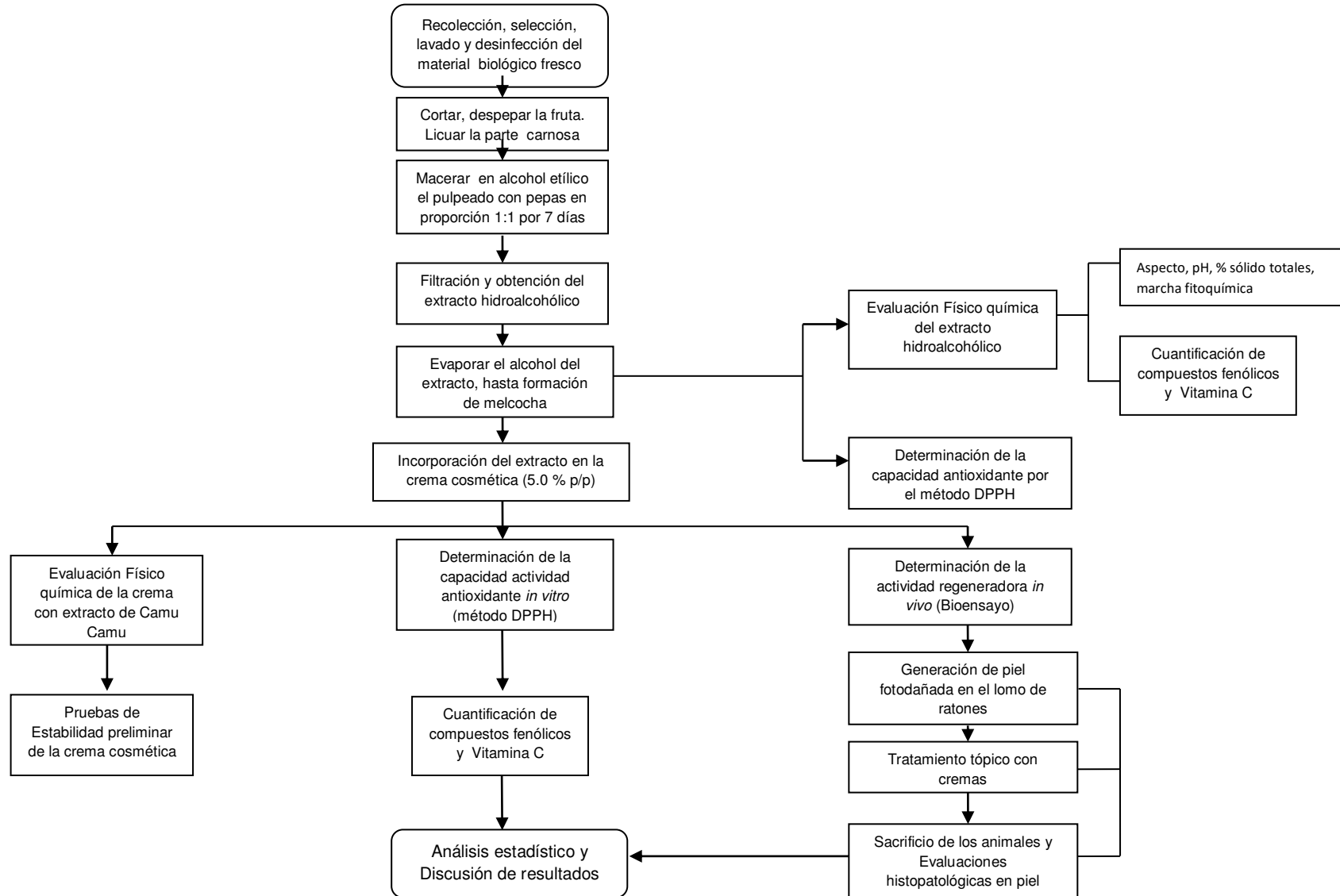
		GRUPOS				
		GRUPO I	GRUPO II	GRUPO III	GRUPO IV	GRUPO V
CAPA CORNEA	AUSENTE	3 37.5%	4 50.0%	0 0.0%	3 37.5%	0 0.0%
	DISCRETA	2 25.0%	4 50.0%	8 100.0%	5 62.5%	0 0.0%
	PRESENTE	0 0.0%	0 0.0%	0 0.0%	0 0.0%	6 75.0%
	CONSERVADA O NORMAL	3 37.5%	0 0.0%	0 0.0%	0 0.0%	2 25.0%
EPIDERMIS	AUSENTE	0 0.0%	8 100.0%	0 0.0%	0 0.0%	0 0.0%
	DISCONTINUA O DAÑADA	3 37.5%	0 0.0%	3 37.5%	0 0.0%	4 50.0%
	DELGADA	3 37.5%	0 0.0%	5 62.5%	2 25.0%	0 0.0%
	CONSERVADA O NORMAL	2 25.0%	0 0.0%	0 0.0%	6 75.0%	4 50.0%
MEMBRANA BASAL	AUSENTE	0 0.0%	8 100.0%	3 37.5%	0 0.0%	0 0.0%
	PRESENTE	3 37.5%	0 0.0%	3 37.5%	7 87.5%	4 50.0%
	CONSERVADA O NORMAL	5 62.5%	0 0.0%	2 25.0%	1 12.5%	4 50.0%
DERMIS	AUSENTE	0 0.0%	4 50.0%	0 0.0%	0 0.0%	0 0.0%
	PRESENTE (DAÑADA)	3 37.5%	4 50.0%	8 100.0%	8 100.0%	8 100.0%
	DELGADA	2 25.0%	0 0.0%	0 0.0%	0 0.0%	0 0.0%
	CONSERVADA O NORMAL	3 37.5%	0 0.0%	0 0.0%	0 0.0%	0 0.0%
TEJIDO LAXO	AUSENTE	0 0.0%	8 100.0%	3 37.5%	0 0.0%	0 0.0%
	PRESENTE	8 100.0%	0 0.0%	5 62.5%	8 100.0%	8 100.0%
TEJIDO COMPACTO	AUSENTE	0 0.0%	8 100.0%	0 0.0%	2 25.0%	0 0.0%
	PRESENTE	8 100.0%	0 0.0%	8 100.0%	6 75.0%	8 100.0%

Anexo 11. Indicadores de la Inflamación según grupo de estudio

Cuadro. 31 Indicadores de la Inflamación

INDICADORES DE LA INFLAMACIÓN	CONDICION	GRUPOS				
		GRUPO I	GRUPO II	GRUPO III	GRUPO IV	GRUPO V
MACROFAGOS	Menor a 20	3 37.5%	0 0.0%	3 37.5%	0 0.0%	4 50.0%
	20 - 40	5 62.5%	0 0.0%	2 25.0%	4 50.0%	4 50.0%
	40 - 100	0 0.0%	8 100.0%	3 37.5%	4 50.0%	0 0.0%
	Mayor a 100	0 0.0%	0 0.0%	0 0.0%	0 0.0%	0 0.0%
	Ausente	8 100.0%	0 0.0%	0 0.0%	0 0.0%	2 25.0%
EDEMA	Presente (+)	0 0.0%	0 0.0%	0 0.0%	4 50.0%	6 75.0%
	Presente (++)	0 0.0%	0 0.0%	5 62.5%	2 25.0%	0 0.0%
	Presente (+++)	0 0.0%	8 100.0%	3 37.5%	2 25.0%	0 0.0%
	Presente (+++)	0 0.0%	8 100.0%	3 37.5%	2 25.0%	0 0.0%

Anexo 12. Figura. 11 Flujograma de Investigación



Anexo 13. Extracto hidroalcohólico del Camu Camu



Figura. 12 Fruto del Camu Camu



Figura. 13 Maceración del Camu Camu



Figura. 14 Filtración del Extracto de Camu Camu



Figura. 15 Evaporación del Extracto

Anexo 14. Evaluación Fisicoquímica del Extracto de Camu Camu



Figura. 16 Solubilidad del Extracto



Figura. 17 Marcha Fitoquímica



Figura.18 pH del Extracto



Figura.19 Determinación Capacidad Antioxidante, Vitamina C y Compuestos Fenólicos

Anexo 15. Evaluación Fisicoquímica de la Crema de Camu Camu



Figura. 20 Preparación de la Crema



Figura. 21 pH de la Crema



Figura. 22 Viscosidad de la Crema



Figura. 23 Peso específico



Figura.24 Determinación Actividad Antioxidante Vitamina C y Compuestos Fenólicos.

Anexo 16. Evaluación de efecto regenerador de la Crema cosmética *in vivo*

Figura. 25 Selección de los ratones

Figura. 26 Depilación e irradiación de ratones



Figura. 27 Aplicación de Tratamiento y Observación de Cortes Histológicos

Anexo. 17 Cálculos de Rendimiento

Cuadro. 32 Cálculos de Contenido de Vitamina C**Contenido de Vitamina C**

25,1657 mg ácido ascórbico/ g extracto seco etanólico

6, 0 kg fruta fresca _____ 181, 3 g extracto seco

0,03309 kg _____ 1,0 g

33,09 g fruta fresca _____ 1,0 g extracto seco

25,1657 mg ácido ascórbico _____ 33,09 g fruta fresca

X _____ 100 g

X = 76,052 mg ácido ascórbico/ 100 g fruta fresca

Cuadro. 33 Cálculos de Contenido de Compuestos Fenólicos**Contenido de Compuestos Fenólicos**

115,540 mg ácido gálico/ g extracto

6, 0 kg fruta fresca _____ 181, 3 g extracto seco

0,03309 kg _____ 1,0 g

33,09 g fruta fresca _____ 1,0 g extracto seco

115,540 mg ácido gálico _____ 33,09 g fruta fresca

X _____ 100 g

X = 349,169 mg ácido gálico/ 100 g fruta fresca