

UNIVERSIDAD POLITÉCNICA SALESIANA
SEDE QUITO

CARRERA:

INGENIERÍA EN BIOTECNOLOGÍA DE LOS RECURSOS NATURALES

Trabajo de titulación previo a la obtención del título de:

INGENIERA EN BIOTECNOLOGÍA DE LOS RECURSOS NATURALES

TEMA:

VALORACIÓN DE LAS ESPECIES *Ilex guayusa* (GUAYUSA) y *Plukenetia volubilis* L. (SACHA INCHI), COMO UNA MATERIA PRIMA COSMÉTICA ANTIOXIDANTE.

AUTORA:

MISHELL ESTEFANÍA SILVA ESCOBAR

TUTOR:

PACO FERNANDO NORIEGA RIVERA

Quito, enero del 2018

Cesión de derechos de autor

Yo Mishell Estefanía Silva Escobar, con documento de identificación N° 1716684806, manifiesto mi voluntad y cedo a la Universidad Politécnica Salesiana la titularidad sobre los derechos patrimoniales en virtud de que soy autora del trabajo de titulación intitulado: "Valoración de las especies *Ilex guayusa* (Guayusa) y *Plukenetia volubilis* L. (Sacha inchi), como una materia prima cosmética antioxidante", mismo que ha sido desarrollado para optar por el título de: Ingeniera en Biotecnología de los Recursos Naturales, en la Universidad Politécnica Salesiana, quedando la Universidad facultada para ejercer plenamente los derechos cedidos anteriormente.

En aplicación a lo determinado en la Ley de Propiedad Intelectual, en mi condición de autora me reservo los derechos morales de la obra antes citada. En concordancia, suscribo este documento en el momento que hago entrega del trabajo final en formato impreso y digital a la Biblioteca de la Universidad Politécnica Salesiana.



.....
Nombre: Mishell Estefanía Silva Escobar

Cédula: 1716684806

Fecha: Enero, 2018

Declaratoria de coautoría del docente tutor

Yo, declaro que bajo mi dirección y asesoría fue desarrollado el trabajo de titulación "Valoración de las especies *Ilex guayusa* (Guayusa) y *Plukenetia volubilis* L. (Sacha inchi), como una materia prima cosmética antioxidante", realizado por Mishell Estefanía Silva Escobar, obteniendo un producto que cumple con todos los requisitos estipulados por la Universidad Politécnica Salesiana para ser considerados como trabajo final de titulación.

Quito, enero del 2018



Paco Fernando Noriega Rivera

C.I: 0602421323

Dedicatoria

El presente trabajo de titulación se lo dedico a mis padres quienes me dieron la vida, educación y su apoyo incondicional durante toda esta etapa de formación académica.

A mis hermanos quienes han estado junto a mí en cada paso que he dado, por ser mi apoyo y fuerza para seguir adelante.

A mi novio Andrew, por todo su amor y confianza, por estar en los momentos más difíciles alentándome para no rendirme y sobre todo por ser quien formará parte de esta nueva etapa que está por comenzar.

A mi abuelita por ser aquella persona que ha estado en todo momento sin importar el tiempo, circunstancia o motivo.

A mis amigas Isabel y Michu por su amistad verdadera e incondicional.

Y sobre todo se lo dedico a Dios quien supo guiarme, bendecirme y darme las fuerzas para seguir adelante.

Agradecimientos

Agradezco a la Universidad Politécnica Salesiana y docentes de la carrera por impartir los conocimientos y enseñanzas para mi formación profesional, al CIVABI por otorgarme todo lo necesario para la elaboración de mi proyecto investigativo, a mi tutor Paco Noriega por toda la ayuda brindada durante este proceso, Al Ing. Janss Beltrán, Ing. Laura Huachi y al Ing. Ramiro Oviedo por toda su colaboración y sobre todo quiero agradecer a Michelle Parra por haber sido parte fundamental en la culminación de esta tesis y por su ayuda incondicional.

Agradezco a toda mi familia por sus oraciones, confianza y por compartir conmigo todos los logros obtenidos. Quiero agradecer especialmente a mi madre que jamás ha permitido que me rinda y a pesar de la distancia que nos separa, sus palabras de aliento y amor incomparable fueron el pilar para terminar con éxito esta etapa de mi vida.

Índice de Contenido

Capítulo I.....	4
Marco Teórico.....	4
1.1 Característica de las especies vegetales.....	4
1.1.1 Guayusa (<i>Ilex guayusa</i> L.).....	4
1.1.2 Sacha Inchi (<i>Plukenetia volubilis</i> Linneo.).....	6
1.2 Envejecimiento Cutáneo.....	10
1.2.1 Factores Biológicos.....	10
1.2.2 Factores Ambientales.....	11
1.3 Cambios Estructurales en la Piel Envejecida	11
1.3.1 Cambios Epidérmicos de la Piel Envejecida	12
1.3.2 Cambios dérmicos de la piel envejecida.....	12
1.4 Antioxidantes Biológicos	13
1.4.1 Los antioxidantes y el envejecimiento cutáneo	13
1.5 Evaluación de la eficacia de la formulación cosmética.....	14
1.5.1 Método de Evaluación de la Actividad Antioxidante DPPH (2,2 difenil –1- picril hidrazilo).	14
1.5.2 Eficacia de los cosméticos	15
1.6 Prueba de Estabilidad Preliminar	17

Capítulo II	18
Marco Metodológico.....	18
2.1 Obtención del Material Vegetal.....	18
2.2 Obtención del Extracto Fluido de <i>Ilex guayusa</i> Loes. (Guayusa).....	18
.....	19
2.3 Variable Experimental.....	19
2.3.1 Elaboración de la Crema O/W (aceite/agua formulación acuosa).....	19
.....	21
2.3.2 Prueba de Estabilidad Premiliminar.	21
2.3.3 Prueba del DPPH radical 2.2-difenil-1-picrilhidrazilo).....	22
2.4 Control de Calidad.....	25
2.4.1 Preparación del medio de cultivo.....	26
2.4.1.1 Placa Petrifilm para Recuento de Mohos y Levaduras.	26
2.4.1.2 Placa Petrifilm para Recuento de <i>E. coli</i> y coliformes.	26
2.4.1.3 Placa petrifilm para recuento de bacterias aerobias.	27
2.5 Prueba de irritabilidad.	27
2.6 Selección del Panel <i>In Vivo</i>	28
2.7 Evaluación de la Eficacia cosmética <i>in vivo</i>	29
.....	30

Capítulo III.....	31
Resultados y Discusión	31
3.1 Prueba de Estabilidad	31
3.2 Prueba Microbiológica	31
3.3 Prueba del DPPH.....	32
3.4 Prueba de Irritabilidad.....	35
3.5 Evaluación <i>in vivo</i> CUTOMETER MPA 580	37
Conclusiones	43
Recomendaciones.....	44
Bibliografía	45
Anexos	51

Índice de Tablas

Tabla 1. Descripción taxonómica de la guayusa (<i>Ilex guayusa</i> Loes).....	5
Tabla 2. Descripción taxonómica del Sacha Inchi	7
Tabla 3. Contenido de aceites y ácidos grasos en el Sancha Inchi (<i>Plukenetia volubilis</i> Linneo)	9
Tabla 4. Formulación de las cremas con diferente porcentaje de activo.....	20
Tabla 5. Preparación de las muestras de DPPH 1:5 para las diferentes concentraciones de extracto fluido de Guayusa.....	23
Tabla 6. Preparación de las muestras de DPPH con el control positivo de ácido ascórbico	24
Tabla 7. Valoración de la actividad antioxidante mediante la prueba del DPPH en Ácido ascórbico	32
Tabla 8. Lecturas de la prueba del DPPH (formulación 1.0 % Guayusa) F1.....	33
Tabla 9. Valoración de la actividad antioxidante mediante técnica del DPPH en la formulación (2.5% Guayusa) F2.....	34
Tabla 10. Valoración de la actividad antioxidante mediante técnica del DPPH en la formulación (5% Guayusa) F3	34
Tabla 11. Resultados prueba de irritabilidad.....	36
Tabla 12. Mínima amplitud después de la relajación.....	38
Tabla 13. Viscoelasticidad	39
Tabla 14. Elasticidad Biológica	40
Tabla 15. Deformación final por succión tiempo.....	41
Tabla 16. Deformación final por tiempo de relajación	41

Índice de Figuras

Figura 1. Reacción DDPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl).....	15
Figura 2. Obtención del extracto fluido de <i>Ilex guayusa</i> Loes.	19
Figura 3. Elaboración de la formulación cosmética.....	21
Figura 4. Centrifuga Spectrafuge 24 D.	21
Figura 5. Frascos con muestra DPPH en agitación.....	24
Figura 6. CUTOMETER MPA 580 (Método de exploración No Invasivo).....	30
Figura 7. Prueba de estabilidad para la formulación con 5% de extracto fluido de <i>Ilex guayusa</i> Loes.....	31
Figura 8. Crecimiento 0% para <i>E. coli</i> y coliformes, Mohos y levaduras, y bacterias aerobias en formulación.	32

Índice de Anexos

Anexo 1. Cálculo de promedios para los diferentes tratamientos, en base a los valores obtenidos de los criterios arrojados por el CUTOMETER.	51
Anexo 2. Porcentaje de inhibición del DPPH vs concentración del extracto de <i>Ilex guayusa</i> L. en la formulación cosmética y del estándar artificial ácido ascórbico.	63
Anexo 3. Porcentaje de inhibición del DPPH vs concentración del extracto de <i>Ilex guayusa</i> L. hidroalcohólico y del estándar artificial ácido ascórbico.	65

Resumen

El presente trabajo investigativo tuvo por objetivo fue evaluar la capacidad antioxidante de dos especies de la Amazonía ecuatoriana, *Ilex guayusa* Loes. (Guayusa) y *Plukenetia volubilis* Linneo. (Sacha Inchi). Se procedió con la elaboración de tres formulaciones en las que variaron las concentraciones del extracto fluido de guayusa al 50% en 1.0 %, 2.5% y 5.0 % y una sola concentración de 4.0 % de aceite de sachá inchi, de las cuales se seleccionó la formulación con mejores propiedades para la evaluación de la eficacia cosmética, a partir de pruebas de control de calidad, estabilidad preliminar, irritación y del método de captura del radical DPPH (2,2 difenil -1- picril hidrazilo), obteniendo resultados favorables en todas las formulaciones, sin embargo la compuesta al 5.0% obtuvo mejores valores en las absorbancias, lo que señaló una buena actividad antioxidante para el extracto inmerso en la formulación cosmética. El estudio de eficacia cosmética, consistió en un panel *in vivo* de 12 mujeres de 30 a 45 años de edad, las cuales siguieron las instrucciones de aplicación de la crema en tres secciones del rostro durante las noches, en un lapso de 3 meses, tiempo en el que se realizaron mediciones mensuales con ayuda del cutometer MPA 580 para evaluar lo que respecta a firmeza y elasticidad de la piel y de esta manera se determinó estadísticamente el cambio que se experimentó durante el periodo de aplicación mismo que indicó mejoría para el criterio de viscoelasticidad y criterios relacionados con la relajación de la piel.

Palabras clave: envejecimiento cutáneo, radicales libres, actividad biológica, viscoelasticidad.

Abstract

The objective of this research work was to evaluate the antioxidant capacity of two species from the Ecuadorian Amazon, *Ilex guayusa* Loes. (Guayusa) and *Plukenetia volubilis* Linneo. (Sacha Inchi). It was proceeded with the development of three formulations in which the concentrations of the fluid extract of guayusa to 50% varied at 1.0%, 2.5% and 5.0% and a single concentration of 4.0% sachá inchi oil, of which the formulation with the best properties for the evaluation of cosmetic efficacy was selected, from quality control tests, preliminary stability, irritation and from the capture method of the DPPH radical (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl), obtaining favorable results in all the formulations, however, the composite at 5.0% obtained better absorbance values, which indicated a good antioxidant activity for the extract immersed in the cosmetic formulation. The cosmetic efficacy study consisted of an *in vivo* panel of 12 women aged 30 to 45 years, same them that followed the application instructions of the cream in three sections of the face during the nights, in a lapse of 3 months, time in which monthly measurements were made with the help of the MPA 580 cutometer to evaluate the skin's firmness and elasticity, and in this way it was determined statistically the change that was experienced during the application period, same that indicated improvement for the criterion of viscoelasticity and criteria related to the relaxation of the skin.

Keywords: cutaneous aging, free radicals, biological activity, viscoelasticity.

Introducción

El uso de plantas en la industria cosmética, ha sido objeto de una creciente investigación siendo la actividad biológica un indicador importante de la presencia de principios activos, lo que ha permitido a que se desarrolle una mayor elaboración de productos en base a sustancias naturales. Las propiedades de las plantas han sido utilizadas desde hace miles de años hasta la actualidad.

Ecuador al ser un país megadiverso, constituye un importante potencial para la investigación de especies florales que se encuentran en gran cantidad inmersas en las profundidades de la Amazonía, de las cuales es posible obtener resultados benéficos en cuanto al cuidado y salud de la piel, que conduzcan al desarrollo de productos naturales. Lamentablemente el costo de producción es más alto que el convencional, factor que influye en la baja demanda industrial (Cobos, 2015), a pesar de esto los consumidores se sienten atraídos por los productos cosméticos naturales debido a su alta calidad y principios activos de los que se encuentran compuestos, dando lugar a que continúen entrando al mercado cada vez con más fuerza.

En una sociedad cada vez más consciente del cuidado al ambiente y del desarrollo sostenible del mismo, los productos naturales son una buena alternativa de cuidado personal con procesos de elaboración alineados con el respeto al entorno (Alcalde, 2008).

La necesidad de la gente a tener nuevas alternativas de cuidado personal, ha dado lugar a la creación de cremas cosméticas formuladas a base de ingredientes naturales, que ayuden a mantener o mejorar las características de la piel. En la actualidad uno de los problemas cutáneos más relevantes, es el envejecimiento prematuro, que conduce a un deterioro en

la epidermis y dermis, debido a ciertas condiciones como la radiación UV, alimentación, estrés, viento, humedad, uso de productos químicos, entre otros, provocando que el mecanismo de defensa del organismo se vea afectado por una anormal neutralización de los radicales libres, acelerando el proceso oxidativo de las células. Hoy en día existen una gran variedad de productos cosméticos convencionales destinados a combatir el envejecimiento facial, pero dado a que, por su composición química en su mayoría, han ocasionado consecuencias adversas como alergias, irritaciones u otros tipos de problemas cutáneos, mismos que podrían constituirse en causales del cáncer de piel (Ortiz, 2015).

Las cremas cosméticas elaboradas en base a sustancias naturales representan una opción de cuidado personal, ya que poseen grandes beneficios nutritivos (Cobos, 2015), constituyendo una buena opción dentro del campo investigativo de la biotecnología, dado que permite una asociación de la actividad biológica y química de los principios activos.

Este proyecto investigativo, tiene el propósito de estandarizar una formulación cosmética en base a principios activos de las especies vegetales de la Amazonía Ecuatoriana *Ilex guayusa* L. (guayusa) y *Plukenetia volubilis* L. (Sacha inchi) al utilizarlas como materias primas cosméticas con propiedades antioxidantes o también conocidos como “antioxidantes biológicos” como una alternativa capaz de reducir o anular los procesos oxidativos que se dan de manera incontrolada en el tejido cutáneo conocido como fotoenvejecimiento (Mosquera, Noriega, & Tapia, 2012), mismos que se producen por factores internos propios del organismo y factores externos que conducen a acrecentar el efecto de los primeros.

Respecto a un estudio investigativo efectuado en el año 2012 acerca de la “Evaluación de la Eficacia Cosmética de Cremas Elaboradas con Aceites Extraídos de Especies Vegetales Amazónicas”, se realizó la evaluación clínica e instrumental de una crema compuesta de aceite de Sacha inchi, la cual presentó una mejora en el 100% de las voluntarias en cuanto a factores de luminosidad, suavidad, firmeza y elasticidad de la piel (Mosquera, Noriega, & Tapia, 2012). En la investigación realizada por (Fonseca, 2017) sobre Flavonoides y actividad antioxidantes de la especie *Ilex guayusa* (Loes.), confirma mediante la prueba del DPPH (2,2 difenil –1- picril hidrazilo), una alta capacidad antioxidante del extracto hidroalcohólico de Guayusa. En base a los estudios realizados y anteriormente mencionados, el presente proyecto de investigación tuvo por objetivo general: Determinar la capacidad antioxidante en las especies *Ilex guayusa* L. (guayusa) y *Plukenetia volubilis* L. (Sacha inchi) para considerarlas como una materia prima cosmética, con posibles características antiedad. Los objetivos específicos fueron: diseñar una formulación cosmética con características antiedad usando como activos antioxidantes el aceite de *P. volubilis* L. (sacha inchi) y diferentes concentraciones (1.0%, 2.5% y 5.0%) de extracto fluido de *Ilex guayusa* L. (guayusa); realizar el test de irritabilidad cutánea previo a la evaluación *in vivo*; prueba del antiradical DPPH y evaluar *in vivo* el efecto antiedad de la crema empleando el cutometer MPA 580.

Se plantearon las siguientes hipótesis: La hipótesis de investigación (HI), determina que el extracto fluido de Guayusa y el aceite de Sacha Inchi, funcionan como una materia prima cosmética antioxidantes, mientras que la hipótesis nula (Ho), determina que el extracto fluido de Guayusa y el aceite de Sacha Inchi, no funcionan como una materia prima cosmética antioxidante.

Capítulo I

Marco Teórico

1.1 Característica de las especies vegetales

1.1.1 Guayusa (*Ilex guayusa* L.)

1.1.1.1 Generalidades

La Guayusa es una planta nativa de la Amazonía con un crecimiento que va de 6 a 30 metros de altura, el fruto tiene forma esférica y es de color rojo, mientras que sus flores son blancas y pequeñas. Pertenece a la tradición agro-silvícola del pueblo amazónico Kichwa del Ecuador. Con el tiempo se la ha considerado como una planta silvestre, en su mayoría los cultivos de guayusa fueron plantados durante siglos por medio de las comunidades indígenas por esta razón tiene mucho significado y usos tradicionales dentro del Ecuador. Al haber sido una planta de consumo familiar, las personas a las que les correspondía hacerse cargo del manejo del cultivo era a las mujeres pasando el conocimiento ancestral a las siguientes generaciones de hijas y nueras convirtiéndose en las principales actrices de las Chakras de Guayusa y mediante el uso sostenible y comercialización justa, se convierte en el instrumento para un buen desarrollo económico de las mujeres amazónicas y sus familias (Fundación, 2015). El pueblo shuar considera a esta planta ancestral ya que se la ha venido consumiendo desde la antigüedad como una bebida estimulante al inicio de la jornada de laboral para mejorar el rendimiento de las actividades que se desarrollaran a lo largo del día.

1.1.1.2 Datos Taxonómicos

Tabla 1.

Descripción taxonómica de la guayusa (*Ilex guayusa* Loes).

TAXONOMÍA	
Clase:	Equisetopsida C. Agardh
Subclase:	<u>Magnoliidae Novák ex Takht.</u>
Superorden:	Asteranae Takht.
Orden:	Aquifoliales Senft
Familia:	Aquifoliaceae Bercht. & J. Presl
Género:	<i>Ilex</i> L.
Especie:	<i>Ilex guayusa</i> Loes.

Nota: Fuente: (Tropicos, 2017).

Elaborado por: La autora, 2016

1.1.1.3 Datos Ecológicos y Distribución Geográfica

Se calcula que el género *Ilex* posee más de 500 especies distribuidas a lo largo de las regiones tropicales y subtropicales del continente americano considerándole más extenso al subgénero *Euilex* que incluye a especies distribuidas en Colombia, Brasil, Ecuador, Uruguay, Paraguay y el norte de Argentina, sin embargo, se considera que el 95% de la producción mundial proviene de la Amazonía ecuatoriana.

En el Ecuador, la guayusa está presente en las provincias de Sucumbíos, Napo, Pastaza, Morona Santiago y Zamora Chinchipe, además de presentarse registros en las provincias de Pichincha y Tungurahua. La distribución de la especie a nivel del mar hasta los 1.500 m.s.n.m. Se da un buen desarrollo del cultivo en variedad de hábitats como: valles, laderas

de montaña, huertos, pastizales, terrenos planos. Tiene la capacidad de adaptarse a suelos húmedos y secos sobre todo en los suelos fértiles con buen drenaje. Se desarrolla en temperaturas que oscilan entre los 18 °C a 26 °C con precipitaciones anuales de 1000 a 3000 mm. Se conjetura que tolera pH ácidos entre 5 y 5.5 (Crespo, 2013).

1.1.1.4 Composición química

Las hojas contienen cafeína en cantidades variables que superan a las del café, además de contener ácido ascórbico, ácido nicotínico, ácido isobutírico, colina, saponinas, antioxidantes (flavonoides) importantes en el control del proceso oxidativo (Pacha, 2012). En el 2017 se determinó la cantidad de flavonoides totales del extracto hidroalcohólico de guayusa al 50%, investigación en la cual se obtuvo una mayor cantidad en comparación con que el té verde utilizado como referencia natural en el estudio, estableciendo de esta manera su gran potencial antioxidante (Fonseca, 2017).

1.1.2 Sacha Inchi (*Plukenetia volubilis* Linneo.)

1.1.2.1 Generalidades

Plukenetia volubilis conocido comúnmente en diferentes países como: sachá inchi, sachá inchik, amui, sachá yuchi, sachá yuchiqui, sawaa, maní del monte, sachá maní, maní del inca, maní jíbaro o inca peanuts, es una planta originaria de la Amazonía perteneciente a la familia Euphorbiaceae, que tiende a desarrollarse con gran adaptabilidad a suelos ácidos, arcillosos y en climas cálidos (Flores & Lock, 2013).

Esta leguminosa crece y se desarrolla en las zonas más bajas de los Andes de Sudamérica y fue cultivada por los aborígenes de estas zonas, actividad que la realizaron de igual manera los incas.

Después de la conquista española, se fue perdiendo el interés por este cultivo, mismo que fue redescubierto en una comunidad del Perú la cual mantenía aun este cultivo utilizándolo en las comidas debido a los beneficios que brindaba a la salud por sus propiedades alimenticias. En la actualidad existe un buen protagonismo a nivel mundial, debido a que el aceite extraído de la semilla tiene un alto valor nutricional por su alto contenido en ácidos grasos poliinsaturados considerándolo de esta manera como el mejor para el consumo humano (Peñaherrera, 2016).

1.1.2.2 Datos Taxonómicos

Tabla 2.

Descripción taxonómica del Sacha Inchi

TAXONOMÍA	
Clase:	Equisetopsida C. Agardh
Subclase:	Magnoliidae Novák ex Takht.
Superorden:	Rosanae Takht.
Orden:	Malpighiales Juss. ex Bercht. & J. Presl
Familia:	Euphorbiaceae Juss.
Género:	<i>Plukenetia</i> L.
Especie:	<i>Plukenetia volubilis</i> L.

Nota: Fuente: (Tropicos., 2017).
Elaborado por: La autora, 2017

1.1.2.3 Datos Ecológicos y Distribución Geográfica

La planta de Sacha inchi, crece y se desarrolla de manera adecuada en suelos de textura entre franco-arcillosa a franco, con un contenido significativo de materia orgánica, cuya pendiente topográfica sea menor del 35% y su pH este entre 5.5 y 7.5 (lo cual indica que tolera pH ácidos). El buen drenaje del suelo es una característica importante y necesaria para combatir de esta manera la aparición de enfermedades que puedan afectar el desarrollo y buen rendimiento del cultivo. El Sacha inchi es cultivable desde los 50 hasta los 2100 m.s.n.m, en un ambiente de climas ligeramente templados donde la temperatura oscile entre los 12 °C y 36 °C, con una precipitación entre 750 a 2800 mm anuales (Pino, Urgilés, & Villacreses, 2013).

Las plantaciones de Sacha inchi se encuentran distribuidas a lo largo de América Central y registrándose en la Amazonía del Perú, Bolivia y las Antillas. En Perú se encuentra distribuido en las zonas selváticas de los departamentos de San Martín, Ucayali y Loreto, mientras que en Colombia su distribución abarca diversos lugares de la Orino-Amazonía y en el Pacífico y como un cultivo ya establecido se lo reporta en la frontera con Ecuador en Putumayo, el Chocó, Caquetá y en el Amazonas (Manco., 2008). En Ecuador el cultivo ha sido localizado en la región costa y Amazonía ecuatoriana en áreas protegidas como: Parque Nacional Yasuní, Cordillera del Cóndor, Estación Biológica Bilsa y Jatun Sacha. Las provincias de Orellana, Napo, Pastaza, Manabí, Esmeraldas y Sto. Domingo de los Tsáchilas poseen pequeños cultivos de esta semilla, llegando aproximadamente a 500 hectáreas demostrando la gran versatilidad y capacidad de adaptación que tiene este cultivo a los distintos pisos climáticos del país (Páez, 2011).

1.1.2.4 Composición química

Se encuentra compuesto principalmente de proteínas, aminoácidos, ácidos grasos esenciales (omega 3, 6 y 9), vitamina E. Los omegas y la vitamina E tienen importancia terapéutica y nutricional ya que se les atribuye la función en el control de radicales libres (Manco, 2006). Su actividad antioxidante está asociada a los ácidos grasos, terpeno, esteroides, β caroteno y clorofila. La variabilidad de estos compuestos podrían tener un efecto protector frente a daños oxidativos que se presentan debido a varios factores (Castaño, Valencia, Murillo, & Eras, 2012).

Tabla 3.

Contenido de aceites y ácidos grasos en el Sancha Inchi (*Plukenetia volubilis* Linneo)

Aceite Total	54%
Palmítico	3.85%
Esteárico	2.54%
Oleico	8.28
Linoleico	36.8
Linolénico	46.81

Nota: Fuente: (Castaño, Valencia, Murillo, & Eras, 2012).

Elaborado por: La autora, 2016

Los ácidos grasos esenciales omega 6 linoleico, los omega 3 alfa linolénico y sus derivados EPA eicosapentaenoico, DHA docosahexaenoico, son sintetizados por el organismo y son vitales para el buen funcionamiento del mismo, además de cumplir con la función de controlar y reducir el colesterol de las grasas saturadas que se acumulan, causando mortalidad alrededor del mundo en personas que lo padecen. Son fundamentales

en la formación del tejido nervioso (mielinización) y del tejido ocular. El aceite de Sacha Inchi pertenece al grupo de los ácidos linolénicos debido a que es la fuente natural más rica en ácido graso esencial omega 3 alfa linolénico (Pariona, 2008).

1.2 Envejecimiento Cutáneo

El envejecimiento cutáneo es un proceso fisiológico, gradual y progresivo que provoca modificaciones de carácter morfológico y funcional en el tejido cutáneo a causa de factores intrínsecos y extrínsecos. El estrés metabólico al cual se exponen las células produce un declive en sus funciones biológicas, estos cambios se encuentran estrechamente relacionados con el paso de los años, sin embargo, la exposición a la radiación solar es un factor en gran parte protagonista del envejecimiento de este tejido. Cabe recalcar que la piel corresponde a la sexta parte del peso corporal total que cumple con funciones trascendentales de barrera, confiere equilibrio hidroelectrolítico, está involucrada en la regulación de la temperatura corporal, percepción sensitiva y vigilancia inmune, las cuales se ven afectadas durante el proceso de envejecimiento cutáneo, debido a la alteración estructural que sufre la piel, de esta manera es posible que considerar al envejecimiento cutáneo como un proceso posible de controlar, por lo que es indispensable entender y comprender los factores que están implícitos en esta problemática (Barco, Roé, García, Corella, & Puig, 2008).

1.2.1 Factores Biológicos

Dentro de los factores biológicos se tienen varias teorías entre las cuales se puede destacar la involucración de los genes, los cuales pueden atribuir el 25% del envejecimiento que resulta inmodificable hasta el día de hoy. La epigenética es parte de la genética la cual involucra la influencia que tienen los factores ambientales en los genes conduciendo al

desarrollo de procesos patológicos. La función de los telómeros, se los considera como el primer intento por entender el envejecimiento celular y como último factor biológico a mencionar se tiene al estrés oxidativo el cual mediante modificaciones internas provoca deterioro y muerte celular (Lozada & Rueda, 2010).

1.2.2 Factores Ambientales

Dentro de los factores ambientales se tiene el efecto de la nicotina la cual produce una disminución del flujo sanguíneo capilar que conlleva a la falta de oxígeno y nutrientes provocando el deterioro del colágeno y de la elastina. El fumar favorece el estrés oxidativo dentro del sistema y direcciona a cambios fisiológicos, lo que incrementa la tasa de envejecimiento cutáneo. El efecto de la radiación ultravioleta, conduce al llamado fotoenvejecimiento causando el 90 % del envejecimiento cutáneo. La exposición a la luz ultravioleta genera diferentes reacciones, UVB produce mutaciones del ADN induciendo a la carcinogénesis cutánea y UVA aumenta la producción de radicales libres alterando el proceso normal de replicación celular. La comparación entre el envejecimiento natural y el que se produce a causa de la luz solar, tiene una diferencia significativa debido a que este último punto genera un proceso anormal y más grave que el primero ya que conduce a una alteración morfológica en los queratinocitos, lo que no se da en un proceso normal de envejecimiento (Lozada & Rueda, 2010).

1.3 Cambios Estructurales en la Piel Envejecida

Los cambios que se dan en la piel conforme esta va envejeciendo son a nivel de la epidermis y de la dermis como se explica a continuación.

1.3.1 Cambios Epidérmicos de la Piel Envejecida

La piel experimenta cambios durante el proceso de envejecimiento, induciendo a un adelgazamiento entre 10% a 50% de la epidermis en las áreas fotoprotegidas en edades que van de los 30 a 80 años. Las alteraciones más significativas se dan a nivel de la epidermis, afectando principalmente a las células madre, recayendo sobre el estrato basal o germinativo y sobre la unión dermoepidérmica, la cual sufre aplanamiento progresivo, produciendo la formación de ampollas. Con el tiempo los queratinocitos llegan a su límite replicativo entrando en senescencia, durante este proceso a causa del estrés oxidativo, se da la acumulación de lesiones sobre las proteínas, lípidos y ADN, inestabilidad genética y generación de mutaciones, lo cual puede desencadenar una transformación neoplásica. Respecto a los melanocitos quienes son los responsables de la coloración de la piel, tienden a producir una inestabilidad funcional y morfológica a partir de los 30 años de edad con una reducción entre un 8 % a 20 % por cada década. Durante el proceso de exposición al sol se da la formación de manchas hiperpigmentadas y al mismo tiempo las células de Langerhans, consideradas como las constituyentes más importante del sistema inmunológico de la piel disminuyen perdiendo eficacia en su función (Barco, Roé, García, Corella, & Puig, 2008).

1.3.2 Cambios dérmicos de la piel envejecida

El colágeno es el componente principal de una piel joven y sana, conforme pasa el tiempo y la piel es expuesta a la luz solar, en las fibrillas normales de colágeno se produce el fenómeno llamado elastosis solar, en el que se produce la sustitución del colágeno por un material amorfo y sin función conocido como elastina que abunda en mayor cantidad en las áreas más fotoexpuestas como en el caso del rostro. Existen cambios secundarios que

se dan en la dermis como es la dilatación de los vasos, aumento en el número y actividad de los fibroplastos. La piel envejecida en gente mayor presenta arrugas más gruesas y profundas que aumentan progresivamente (Barco, Roé, García, Corella, & Puig, 2008).

1.4 Antioxidantes Biológicos

Los antioxidantes biológicos, tienen gran relevancia en la salud debido a que inhiben o retardan el estrés oxidativo neutralizando los radicales libres mediante la donación de los hidrógenos para proteger a las células, los más representativos son los taninos y flavonoides. Estos polifenoles tienen actividad antiinflamatoria, antioxidante, quimio protectora, neuroprotectora, reguladora de la glucosa, moderadora del metabolismo de lípidos. Es por esta funcionalidad que los antioxidantes naturales han sido utilizados en la industria cosmética con el fin prevenir el envejecimiento prematuro por medio de la estimulación de nuevo colágeno (Reyes, 2011).

1.4.1 Los antioxidantes y el envejecimiento cutáneo

Los antioxidantes cumplen un papel importante en la vida de los seres vivos ya que sirven de defensa para neutralizar los radicales libres que se forman a partir del consumo de oxígeno. Se los puede clasificar en endógenos y exógenos. Los endógenos son aquellos que actúan en el interior de las células entre estos se tiene a las catalasas, enzimas que destruyen el peróxido de hidrógeno y lo transforma en agua y O_2 . La SOD (Superoxido Dismutasa), se encarga de la eliminación del anión superóxido, el glutatión peroxidasa, tiene la capacidad de conjugarse con compuestos tóxicos y facilitar la excreción biliar mediante la solubilización de estos. La enzima mitocondrial citocromo-oxidasa favorece la formación de agua a partir de la reducción tetravalente del oxígeno, evitando la producción de radicales libres de oxígeno. Dentro de los antioxidantes endógenos está la

vitamina E, compuesta de α -tocoferol, representando la principal defensa contra el daño oxidativo de las células ya que este compuesto constituye la mayor actividad antioxidante. Con el envejecimiento los niveles tisulares antioxidantes se ven disminuidos a causa de la acumulación de radicales libres que provocan daños durante el transcurso del tiempo, por lo que es recomendable el consumo de compuestos antioxidantes durante toda la etapa de la vida (Zorrilla, 2017).

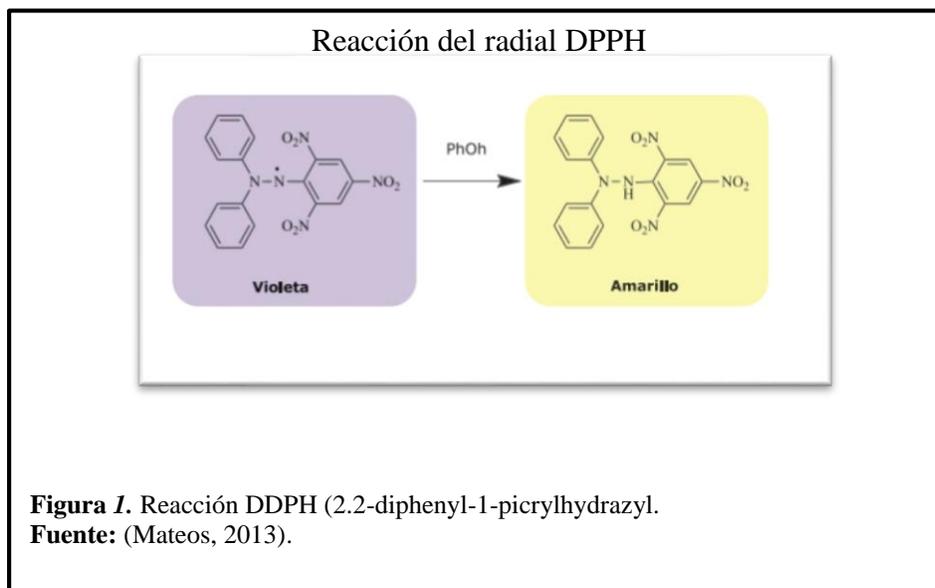
1.5 Evaluación de la eficacia de la formulación cosmética

En la actualidad los estudios de eficacia cosmética tienen gran relevancia en el instante en que se evalúa la acción de un principio activo inmerso en la composición de un cosmético que va a ser aplicado en la piel. Con el tiempo se han incrementado los test clínicos e instrumentales con el fin de valorar que tan eficaz resultan ser los cosméticos (Mosquera, Noriega, & Tapia, 2012).

1.5.1 Método de Evaluación de la Actividad Antioxidante DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazilo).

El fundamento del método DPPH (Depleción del 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo), consiste según (Ramos & Castañeda, 2008) en que:

Este radical tiene un electrón desapareado y es de color azul-violeta, decolorándose hacia amarillo pálido por la reacción de la presencia de una sustancia antioxidante, siendo medida espectrofotométricamente a 517 nm. Por diferencia de absorbancia se determina el porcentaje de captación de radical libre DPPH a una concentración determinada. (p.43)



(Jimenez, 2012) Menciona que “para evaluar la actividad antioxidante se dispone del método del DPPH, que determina actividades de captura de material radicalario en presencia de un antioxidante, midiendo el potencial de inactivación de dicho radical en un medio acuoso” (p. 69).

1.5.2 Eficacia de los cosméticos

Actualmente, la sociedad se ha visto involucrada en la utilización de productos cosméticos que ayuden de manera óptima a cuidar y mejorar las características de la piel, buscando la eficacia como uno de los principales requisitos en un cosmético de calidad.

Resulta de gran importancia la evaluación del grado de acción de un principio activo para determinar la eficacia cosmética, lo cual definirá las cualidades que se le atribuirán al producto. Para esto se utilizarán los dispositivos conocidos como Métodos de Exploración No Invasivos (Robalino & Guarderas, 2015). Existen varios instrumentos que permiten evaluar la condición cutánea sin necesidad de penetrar la piel o el cuerpo. Uno de los métodos de bioingeniería más utilizados en el campo científico para estudiar la elasticidad

de la piel en base a numerosas variables ha sido la cutometría, obteniéndose mediante esta, valores sobre la viscoelasticidad y distensibilidad de la piel, factores que están estrechamente relacionados con la firmeza y grosor de la misma (Mourelle, Carbajo, & López, 2011). Los datos que arroja el equipo se basan en 11 criterios los cuales son explicados por (Akhtar, Waqas, Ahmed, & Saeed, 2010) de la siguiente manera:

R0 = U_f : Extensibilidad máxima (total) de la piel. Cuanto menor sea este parámetro más resistencia a la deformación emite la piel.

R1; R4 = $U_f - U_a$: La capacidad de la piel para volver a su estado original, la disminución significativa en los valores de R1 indica mejoría en la capacidad de la piel para volver a su estado original después de la aplicación de la tensión como la relación matemática

R2 = U_a/U_f : Elasticidad total de la piel. Porción entre amplitud máxima y capacidad de redefinición de la piel (elasticidad bruta). R2 es uno de los principales parámetros para evaluar la elasticidad de la piel y el envejecimiento, por lo tanto, los valores deben aproximarse a 1.

R5 = U_r/U_e : Elasticidad neta de la piel. Cuanto más se aproxime el valor a 1(100%) mayor será la elasticidad de la curva.

R6 = U_v/U_e : Determina la viscoelasticidad. A valores más bajos, mayor elasticidad. Los valores deben disminuir.

R7 = U_r/U_f : se denomina elasticidad biológica. Este parámetro relaciona la elasticidad con la distensión final. Se representa por la relación de

"retracción inmediata" a "distensión final", es decir, U_r / U_f . Cuanto más cercano es el valor 1 (es decir, 100%), más elástica es la piel.

R8 = Ua: Este parámetro es igual a Ua (es decir, recuperación total.

Cuanto más cerca Ua y Uf son, mayor es la capacidad de la piel para volver a su estado original. Es decir, al tener relación con R0 este valor debe disminuir.

R9; R3: Cuanto menor sea el valor de R9 y R3, menores serán los efectos agotadores.

F0: Uf x succión Tiempo, valores tienden que disminuir a cero

F1: Uf x Tiempo de relajación valores tienden que disminuir a cero. (pp. 2-8)

En base a estos criterios, se evalúa la eficacia mediante método estadístico.

1.6 Prueba de Estabilidad Preliminar

Existen diferentes variables que pueden afectar la estabilidad de un producto, como pueden ser o no los activos, la metodología aplicada, materiales utilizados e incluso las condiciones ambientales. Es por esta razón, necesario realizar la prueba de estabilidad en un producto, ya que permite evaluar el desempeño, eficacia y seguridad que este presenta, proporcionando indicaciones acerca del comportamiento del mismo, el cual es sometido a un determinado intervalo de tiempo en condiciones que buscan acelerar alteraciones posibles de suceder durante la estadía en el mercado (Gerencia General de Cosméticos., 2005).

Capítulo II

Marco Metodológico

2.1 Obtención del Material Vegetal.

El material vegetal de guayusa fue proporcionado por La Fundación Chankuap ubicada en la Provincia de Morona Santiago, ciudad de Macas. Este material pasó por el tamiz número 40, obteniéndose un tamaño mediano de la droga en la Universidad Politécnica Salesiana. El aceite de Sacha inchi se obtuvo de manera comercial.

2.2 Obtención del Extracto Fluido de *Ilex guayusa* Loes. (Guayusa).

Se realizó la percolación de la misma utilizando un solvente de agua destilada y glicerina en una relación de 60:40. Se añadieron 500 mL de solvente sobre 1 kg de guayusa y se dejó reposar durante una hora hasta que la droga logre una buena humectación. Se procedió a depositarla en el percolador de acero inoxidable, con un tapón de algodón a la salida de la llave, la cual se abrió para permitir la salida de todo el solvente y poder recoger el percolado en un recipiente para volverlo a introducir en el percolador con la llave cerrada. Se añadió más solvente hasta que el mismo quedó a 10 cm sobre la droga y se tapó el percolador dejándolo en reposo durante 48 horas. Se recogió el percolado hasta obtener la cantidad de 2 L y se añadieron 2 g de phenova. De esta manera se obtuvo un extracto fluido al 50 % formado por una parte de droga y dos partes de solvente y se lo almacenó en frascos ámbar correctamente etiquetados y pesados, bajo refrigeración hasta su próximo uso.

Extracto fluido de *Ilex guayusa* Loes.



Figura 2. Obtención del extracto fluido de *Ilex guayusa* Loes.
Elaborado por: La autora, 2017

2.3 Variable Experimental.

Se realizó el diseño mediante la formulación de la crema testigo (sin principios activos) y tres formulaciones de crema que se ejecutaron con aceite de Sacha inchi al 4.0 % y diferentes concentraciones de extracto fluido de guayusa (1.0 %, 2.5% y 5.0 %), durante el estudio se las identificarán como: F1, F2 y F3 respectivamente. Se utilizaron estas concentraciones debido a que se trabajó con un extracto al 50% y al compararlas con las concentraciones utilizadas en el trabajo investigativo de (Noriega, 2015) titulado *Cosmetic Antioxidant Potential of Extracts from Species of the Cinchona Pubescens* (Vahl), las cuales correspondían a extracto seco, se procedió a aumentar la concentración hasta 5 veces para obtener resultados representativos ya que el extracto en estudio se trataba de un extracto fluido al 50%.

2.3.1 Elaboración de la Crema O/W (aceite/agua formulación acuosa).

Para llevar a cabo la preparación para un lote de 100 g, se dispuso de dos fases, la oleosa y acuosa conformadas de la siguiente manera:

Tabla 4.

Formulación de las cremas con diferente porcentaje de activo

Ingredientes	Crema testigo	F1	F 2	F 3
	%	(%)	%	%
Crodamol IPP	7.5	7.5	7.5	7.5
Aceite de Sacha Inchi	-----	4.0	4.0	4.0
Emulgade 1000 NI	5.0	5.0	5.0	5.0
Trietanolamina	4.0	4.0	4.0	4.0
Extracto fluido de Guayusa	-----	1.0	2.5	5.0
Phenova	0.70	0.70	0.70	0.70
Agua	82.8	77.80	76.3	73.8

Nota: La fase oleosa corresponde a: Crodamol IPP, aceite de sachá inchi y Emulgade 1000 NI y la fase acuosa: Trietanolamina, Phenova y agua. El extracto fue añadido al final.

Elaborado por: La autora, 2017

Las dos fases fueron calentadas hasta llegar a los 70 °C, temperatura en la cual se las unió y mezcló con ayuda del tubo emulsor SILVERSON L5M-A, a 3000 rpm durante el lapso de 10 minutos. Mediante un termómetro se midió constantemente la preparación hasta que disminuya a 40 °C, temperatura óptima en la que se adicionó el extracto fluido de guayusa (1.0 %, 2.5 % y 5.0 %), a los 25 °C se incorporó el conservante (Phenova) al 1.0% y la esencia en concentraciones óptimas hasta que contrarreste el olor natural de la crema. El tubo emulsor fue utilizado hasta el final del proceso con el fin de obtener una mezcla homogénea de todos los ingredientes. Cada formulación fue sometida a diferentes pruebas y se seleccionó la que presentó mejores resultados en cuanto a características organolépticas.



Figura 3. Elaboración de la formulación cosmética.
Elaborado por: La autora, 2017

2.3.2 Prueba de Estabilidad Preliminar.

Las muestras colocadas en tubos eppendorff correspondientes a las diferentes formulaciones, fueron llevadas a centrifugación (SPECTRAFUGE 24D LABNET) por el lapso de tres minutos a 10 rpm. Mediante esta prueba fue posible evaluar si hubo homogeneización en la mezcla. Esta evaluación se realizó de manera visual verificando si ocurrió o no una separación de las dos fases. Al haberse obtenido el resultado deseado no fue necesario recurrir a una reformulación con lo cual se prosiguió con las siguientes pruebas.



Figura 4. Centrifuga Spectrafuge 24 D.
Elaborado por: La autora, 2017

2.3.3 Prueba del DPPH radical 2.2-difenil-1-picrilhidrazilo).

La actividad antioxidante del extracto fluido de Guayusa (*ver anexo 1*) y de este inmerso en la crema fue evaluada mediante la metodología del DPPH (radical 2.2-difenil-1-picrilhidrazilo).

2.3.3.1 Preparación del reactivo de DPPH (radical 2.2-difenil-1-picrilhidrazilo).

De acuerdo al trabajo realizado por (Aldana & Guayasamín, 2014). Se preparó una solución de 0.5 mM de DPPH en etanol al 96 %. Se pesaron 49 mg de DPPH mediante la ayuda de una balanza analítica y se aforó con alcohol al 96 % hasta obtener 250 mL de disolución la cual se colocó en un frasco ámbar y se refrigeró hasta el momento de su uso.

Se colocó 1.0 mL de cada formulación (4 balones para cada formulación) en un balón de 10 mL y se aforó con alcohol al 96% hasta los 10 mL. Todos los balones fueron forrados con aluminio y refrigerados.

Tabla 5.

Preparación de las muestras de DPPH 1:5 para las diferentes concentraciones de extracto fluido de Guayusa.

# FRASCO	MUESTRA	DPPH	ETANOL 96%
Blanco	-	4.5 mL	500 µL
1	50 µL	4.5 mL	450 µL
2	100 µL	4.5 mL	400 µL
3	200 µL	4.5 mL	350 µL
4	400 µL	4.5 mL	100 µL
5	500 µL	4.5 mL	0 µL

Nota: Fuente: (Aldana & Guayasamín, 2014).

Elaborado por: La autora, 2017

2.3.3.2 Preparación del control positivo (Ácido ascórbico).

Se prepararon 1000 ppm de ácido ascórbico el cual sirve como control positivo sintético captador de radicales libres. Se pesaron 10 mg del estándar y se los aforó a 10 mL con alcohol al 96%.

Tabla 6.

Preparación de las muestras de DPPH con el control positivo de ácido ascórbico

# Frasco	Muestra	DPPH	Etanol 96%
1	5 uL	2.8 mL	195 uL
2	10 uL	2.8 mL	190 uL
3	20 uL	2.8 mL	180 uL
5	50 uL	2.8 mL	150 uL
6	100 uL	2.8 mL	100 uL
7	150 uL	2.8 mL	50 uL
8	200 uL	2.8 mL	0 uL
9	Blanco	2.8 mL	200 uL

Nota: Elaborado por: La autora, 2017

2.3.3.2 Medición de la Absorbancia en el Espectrómetro.

Se colocaron los frascos ámbar en vasos de precipitación y fueron sometidos a agitación homogénea a 200 rpm a temperatura ambiente durante el lapso de 30 minutos.



Figura 5. Frascos con muestras de DPPH con formulaciones (1.0%, 2.5% y 5%) y DPPH con ácido ascórbico, en agitación

Elaborado por: La autora, 2017

Se midió la absorbancia de los frascos de forma ascendente empezando por el blanco y terminando con el de mayor cantidad de muestra. El equipo utilizado fue el ESPECTROFOTÓMETRO DE MARCA JASCO V-730. El porcentaje de inhibición se calculó mediante la siguiente fórmula:

$$\% \text{ de inhibición} = 1 - \left(\frac{AA}{AB} \right) * 10$$

Ecuación 1. % de inhibición

Fuente: (Aldana & Guayasamín, 2014).

AA representa la absorbancia del DPPH con el extracto

AB representa la absorbancia del DPPH sin el extracto

Se elaboró un gráfico de porcentaje de inhibición vs la concentración, representando la actividad antioxidante como una concentración IC 50 en $\mu\text{L/mL}$, calculado a partir de la ecuación de la recta. Esto se requiere para el 50% de inhibición de la formación del radical DPPH (Aldana & Guayasamín, 2014).

De acuerdo a estos resultados, se seleccionó la crema de prueba con la cual se trabajó en el ensayo de eficacia *in vivo*.

2.4 Control de Calidad

Control microbiológico de la formulación mediante placas petrifilm.

2.4.1 Preparación del medio de cultivo

Se disolvieron 15 g de agua peptonada en polvo en 1000 mL de agua purificada. Se calentó y al mismo tiempo se agitó con frecuencia con la finalidad de que el polvo se disuelva completamente y se lo autoclavó durante el lapso de 15 minutos para evitar que se presenten variables que afecten la eficacia de la prueba. El recuento de los microorganismos se llevó a cabo en placas petrifilm para *E. coli* y coliformes, Bacterias aerobias y mohos/levaduras.

Se tomaron 2.5 mL de dilución ya mezclada con la muestra y se depositó en cada placa.

2.4.1.1 Placa Petrifilm para Recuento de Mohos y Levaduras.

Esta placa se encuentra enriquecida con nutrientes y antibióticos, en la cual las colonias formadas de moho y levaduras se colorean mediante un pigmento indicador que las colorea permitiendo dar contraste y facilitar de esta manera el recuento respectivo. Las levaduras se tornan con un relieve de color verde azulado y bordes delimitados, mientras que en mohos hay diversos colores en los cuales los bordes no son definidos. La determinación de la población se dio en un lapso de 3 a 5 días necesitando una incubación de 25 °C a 27 °C, temperatura óptima para el crecimiento de los mismos. (Alonso & Poveda, 2008).

2.4.1.2 Placa Petrifilm para Recuento de *E. coli* y coliformes.

Esta placa se encuentra enriquecida con nutrientes del medio VRBG (Violeta Rojo y Bilis Glucosa Agar) y compuesta por una lámina de papel cuadriculado e impreso la cual está recubierta de polipropileno. El 97% de las *E. coli* produce beta-glucuronidasa que les

confiere la coloración propia de la colonia y al producir un gas por la lactosa que fermentan las colonias de *E. coli* se tornan rojas y azules, mientras que las coliformes son rojas.

Para realizar la cuatificación de *E. coli* y coliformes, las placas se incubaron por un lapso de 24 horas \pm 2 a 35 °C (Alonso & Poveda, 2008).

2.4.1.3 Placa petrifilm para recuento de bacterias aerobias.

Las placas AC contienen un indicador de color rojo a partir de nutrientes del agar standard methods que contienen TTC (tetrafenil tetrasolium clorado). Para la cuantificación de aerobios, se colocaron las placas un tiempo de incubación de 24 a 48 horas a una temperatura de 35 °C. (Alonso & Poveda, 2008).

2.5 Prueba de irritabilidad.

La prueba de irritabilidad se realizó basándose en La Norma Oficial Mexicana NOM-039-SSA1-1993, la que establece en el punto 6.3 la prueba de irritación en piel de humanos (Prueba del parche con tres aplicaciones), la misma que corresponde a los métodos llamados MENI (Métodos de Exploración No Invasivos), con la finalidad valorar la compatibilidad cutánea con la formulación, para lo cual se dispuso de 10 voluntarios, los mismos que fueron informados acerca del propósito del estudio y se les planteó un cuestionario que se basó en información relevante sobre el estado de salud de cada individuo. El estudio se realizó en estudiantes de la Universidad Politécnica Salesiana de la Carrera de Biotecnología de 5to semestre (*Ver tabla 11*). La selección se basó en criterios de inclusión y exclusión, aquellas personas con un buen estado de salud y ausencia enfermedades visible en la piel, se los consideró aptos para formar parte del

estudio de irritabilidad y los que no cumplieron los criterios anteriormente mencionados fueron excluidos con la finalidad de evitar variables que influyan en el estudio. Se colocaron 2 parches en el hombro de cada estudiante, intercalando las muestras (con activo y sin activo). Los voluntarios fueron evaluados durante 7 días y los resultados fueron expuestos de acuerdo a una escala de evaluación.

0 No hay reacción visible en la piel.

0.5 Mayor que 0 y menor que 1.

1 Eritema ligero definido o ausencia de eritema con presencia de resequeidad.

1.5 Mayor que 1 y menor que 2.

2 Eritema moderado.

2.5 Mayor que 2 y menor que 3.

3 Eritema severo con coloración rojo brillante.

3.5 Mayor que 3 y menor que 4

4 Eritema moderado a severo o edema que se encuentra extendido más allá del área del parche (Salud, 2017).

2.6 Selección del Panel *In Vivo*.

Para la selección del grupo de las 12 mujeres comprendidas en edades entre 30 a 45 años que conformaron parte del panel *in vivo*, el número escogido corresponde al factorial utilizado DCA 2X2+1, tomando como referencia que en toda estadística el número

mínimo de repeticiones es 3. Las mujeres pertenecientes al estudio fueron evaluadas mediante un cuestionario informativo sobre sus hábitos personales y antecedentes clínicos. Los ítems a evaluar fueron obtenidos del libro de Investigación en la cosmética natural (Mosquera., 2016). Las participantes fueron informadas acerca del objetivo del estudio, procediendo a firmar un consentimiento informado y aceptando formar parte de la investigación. Para el uso adecuado de la crema, se prosiguió con el manejo de un protocolo con las instrucciones necesarias para la colocación de la crema y cuidados de la piel.

2.7 Evaluación de la Eficacia cosmética *in vivo*

Se evaluó la eficacia de las cremas en el tejido cutáneo en 12 panelistas de 30 a 45 años de edad, los 28, 60 y 90 días de evaluación, empleando el cutometer MPA 580 el cual arrojó datos sobre la resistencia de la piel a la succión (firmeza) y su capacidad para volver a su posición original (elasticidad) (MICROCAYA, 2016).

Para la utilización del cutometer, se procedió a evaluar la viscoelasticidad de la parte frontal, lateral izquierda y lateral derecha, realizando cuatro tomas de cada lado, durante tres meses de estudio, evaluando crema con activo en un grupo de 6 mujeres y sin activo en la mitad restante. Los resultados fueron analizados mediante métodos estadísticos y correspondientes análisis de varianza (*Ver anexo 1*).



Figura 6. CUTOMETER MPA 580 (Método de exploración No Invasivo).

Elaborado por: La autora, 2017

Capítulo III

Resultados y Discusión

3.1 Prueba de Estabilidad

Las formulaciones elaboradas fueron sometidas a la prueba de estabilidad en la centrífuga a 10 rpm durante un lapso de 3 minutos, permitiendo confirmar la obtención de un equilibrio adecuado entre los ingredientes sin permitir una separación entre la fase acuosa y oleosa, cumpliendo de esta manera lo expuesto por en el trabajo investigativo de (López, 2004), en el que define a la formulación óptima como aquella en la que existe un estado de equilibrio entre la fase acuosa y la fase de aceite o grasa.

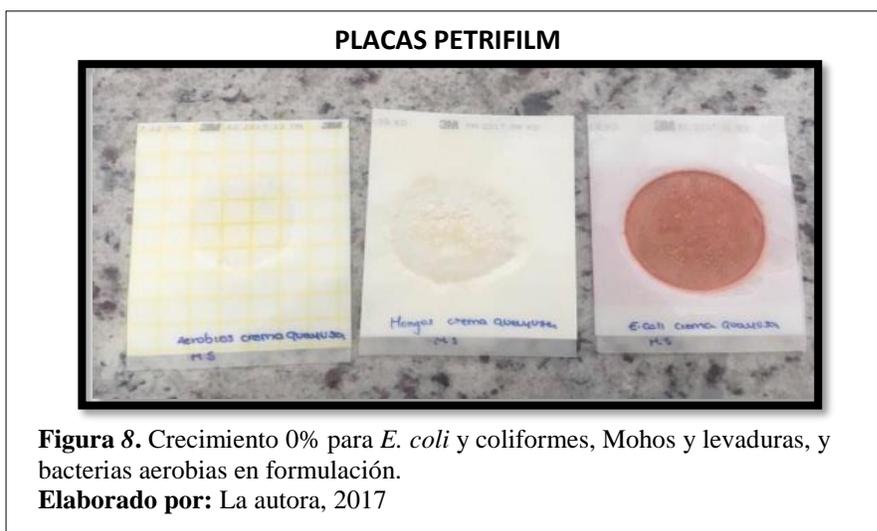


Figura 7. Prueba de estabilidad para la formulación con 5% de extracto fluido de *Ilex guayusa* Loes.

Elaborado por: La autora, 2017

3.2 Prueba Microbiológica

Las pruebas microbiológicas para: *E. coli* y coliformes, Mohos y levaduras, y bacterias aerobias, obtuvo un resultado del 0% en crecimiento en las placas petrifilm.



3.3 Prueba del DPPH

Las formulaciones (F1, F2 y F3), obtuvieron los siguientes resultados y fueron comparados con el estándar de ácido ascórbico por la cantidad significativa de antioxidantes que este presenta (*Ver anexo 2*).

Tabla 7.

Valoración de la actividad antioxidante mediante la prueba del DPPH en Ácido ascórbico.

Concentración en $\mu\text{L/mL}$ BLANCO	% de inhibición ABS 1 a 517 nm	% de inhibición ABS 1 a 517 nm	% de inhibición ABS 1 a 517 nm
0	0	0	0
0.333	0.3633651	0.77416703	3.12927497
1.66	1.22966599	2.80664094	14.1800616
6.66	5.48657234	8.5386741	23.755985
16.66	21.7946867	21.0760693	86.0208618
50	95.97	94.1537829	
IC 50	35.45	34.9	34.29
$\overline{\text{IC 50}} \mu\text{L/mL}$		34.88	

Nota: IC50 calculado a partir de la ecuación de la recta, obtenida por regresión lineal por medio de la relación del % de inhibición y concentración del extracto inmerso en la formulación.

Elaborado por: La autora, 2017

Tabla 8.

Lecturas de la prueba del DPPH (formulación 1.0 % Guayusa) F1.

Concentración en uL/mL BLANCO	% de inhibición ABS 1 a 517 nm	% de inhibición ABS 2 a 517 nm	% de inhibición ABS 3 a 517 nm
0	0.000	0.000	0.000
10	0.9840	0.9071	0.9238
20	5.0028	5.0169	5.0230
40	11.6142	11.6876	11.7608
80	27.2803	27.2913	27.3220
100	33.4163	33.3757	33.3850
IC 50	146.96	146.97	146.88
— IC 50 μL/mL		146.94	

Nota: IC50 calculado a partir de la ecuación de la recta, obtenida por regresión lineal por medio de la relación del % de inhibición y concentración del extracto inmerso en la formulación.

Elaborado por: La autora, 2017

Tabla 9.

Valoración de la actividad antioxidante mediante técnica del DPPH en la formulación (2.5% Guayusa) F2.

Concentración en uL/mL BLANCO	% de inhibición ABS 1 a 517 nm	% de inhibición ABS 2 a 517 nm	% de inhibición ABS 3 a 517 nm
0	0	0	0
10	6.51222581	6.33095499	6.42530717
20	17.3212625	16.9045005	17.1660783
40	36.9208468	36.7096597	36.9126782
500	71.6673049	71.6630077	71.7592973
IC 50	74,76	74,93	74.71
\bar{IC} 50 uL/mL		74,8	

Nota: IC50 calculado a partir de la ecuación de la recta, obtenida por regresión lineal por medio de la relación del % de inhibición y concentración del extracto inmerso en la formulación.

Elaborado por: La autora, 2017

Tabla 10

Valoración de la actividad antioxidante mediante técnica del DPPH en la formulación (5% Guayusa) F3.

Concentración en uL/mL BLANCO	% de inhibición ABS 1 a 517 nm	% de inhibición ABS 2 517 nm	% de inhibición ABS 3 517 nm
0	0	0	0
50	6.49432362	6.48493151	0.44604986
100	17.3054302	17.0410959	11.4467887
400	36.9087676	36.8136986	20.7344772
500	71.6618794	71.709589	49.3035602
IC 50	55.78	55.91	55.75
\bar{IC} 50 uL/mL		55.78	

Nota: IC50 calculado a partir de la ecuación de la recta, obtenida por regresión lineal por medio de la relación del % de inhibición y concentración del extracto inmerso en la formulación.

Elaborado por: La autora, 2017

El análisis de los valores obtenidos a partir del cálculo del IC 50, reflejan que de las tres formulaciones objeto de este estudio, la F3 obtuvo mayor actividad antioxidante con un $\overline{\text{IC 50}}$ de 55.78 uL/mL (*Ver Tabla 10*) en comparación con las demás formulaciones, afirmando de esta manera lo mencionado por (Larrauni, y otros, 2011), los que concluyen que entre menor sea el IC 50 mayor es la eficacia de eliminación de los radicales libres. Sin embargo, al comparar F3 con el estándar (ácido ascórbico), resulta tener una efectividad de 1.60 veces menor, sin embargo, este valor es muy cercano (*Ver Tabla 7*).

Conforme al trabajo realizado por (Fonseca, 2017), al analizar la actividad antioxidante del extracto hidroalcohólico de guayusa al 50%, este presentó un $\overline{\text{IC 50}}$ de 25.047 uL/mL (*Ver Anexo 3*) superando al valor del ácido ascórbico utilizado como estándar, de esta manera se puede tomar en cuenta que dependiendo de los tipos de solventes empleados, los resultados obtenidos tendrán diferencia, es tal como mencionan (Cárdenas, Pozo, Almirrall, & Roque, 2016), concluyendo en su investigación que los mejores solventes con capacidad para extraer metabolitos secundarios corresponden a los hidroalcohólicos (etanol analítico y etanol de caña), esto permite deducir en base a lo mencionado anteriormente, la glicerina en comparación con el solvente hidroalcohólico no permite con eficacia una mayor extracción de metabolitos con actividad antioxidante, no obstante es la óptima para elaboración de productos cosméticos.

3.4 Prueba de Irritabilidad

De acuerdo a lo establecido por la Reglamentación Europea sobre cosmética 76/768 CEE, (EUR-LEX, 2011) esta indica que los productos cosméticos deben garantizar un elevado nivel de protección de la salud humana y bienestar animal con la finalidad de

evitar ensayos en animales y dar prioridad a los Métodos de Exploración No Invasivos. El estudio se llevó a cabo mediante el empleo de 2 parches que fueron colocados en el hombro de cada voluntario (1° crema con activo, 2° crema sin activo), los cuales fueron retirados cada 48 horas de uso para la respectiva valoración durante un lapso de 7 días de prueba, tiempo suficiente para que se dé la aparición de algún tipo de reacción cutánea como picazón, irritación y escozor. Al final de la evaluación (séptimo día), ninguno de los 10 estudiantes voluntarios presentó una reacción visible en la piel (*Ver tabla 11*), obteniéndose un resultado de cero, resultado que da el aval para proseguir con el proceso en el panel *in vivo*.

C1: crema con activo

C2: crema sin activo

Tabla 11.

Resultados prueba de irritabilidad

Sujeto	Posición	23-nov-16	25-nov-16	28-nov-16
		Primer parche	Segundo parche	Tercer parche
S1	C1 C2	0	0	0
S2	C2 C1	0	0	0
S3	C1 C2	0	0	0
S4	C2 C1	0	0	0
S5	C1 C2	0	0	0
S6	C2 C1	0	0	0
S7	C1 C2	0	0	0
S8	C2 C1	0	0	0
S9	C1 C2	0	0	0
S10	C2 C1	0	0	0
PROMEDIO		0	0	0

Nota: resultados obtenidos a partir de la escala de evaluación.

Elaborado por: La autora, 2017

3.5 Evaluación *in vivo* CUTOMETER MPA 580

Los dos grupos que conformaron el estudio *in vivo*, utilizaron las cremas de acuerdo a las indicaciones de uso, durante el mismo tiempo y en las mismas zonas de aplicación. La crema con activo fue empleada por 6 mujeres pertenecientes al estudio y los 6 restantes utilizaron la crema testigo (sin activo). Cabe indicar que, durante el estudio, una de las integrantes del primer grupo (crema con activo) se retiró debido a problemas de salud, por lo cual en las tablas (*Ver anexo 1*) es posible visualizar espacios vacíos, sin embargo, la estadística planteada se adapta a estos bloques incompletos por lo cual no afecta el resultado final.

La evaluación se basó en la utilización del Cutomer MPA 580 (medidor de elasticidad de la piel de succión no invasivo). El estudio se basó en tres meses de evaluación, sin embargo, en la estadística se aplicó el DCA 2X2+1, en el cual se tomaron de referencia dos tratamientos (crema con activo y crema sin activo), dos meses de aplicación más el primer mes que se lo tomó como el tiempo cero.

A partir de los análisis de varianza en los que se indicó si los resultados fueron significativos o altamente significativos se procedió con el análisis del Rango Mínimo de DUNCAN, para determinar el mejor tratamiento.

Tratamientos:

1 (p1a1) Crema con activo en el primer mes

2 (p1a2)..... Cremas sin activo en el primer mes

3 (p2a1)..... Crema con activo en el segundo mes

4 (p2a2)..... Crema sin activo en el segundo mes

De acuerdo a la estadística planteada se obtuvieron los siguientes resultados:

Tabla 12.

Mínima amplitud después de la relajación

Criterio: R1 Y R4		
TRATAMIENTO	PROMEDIO	RANGO
3	0.028100007	a
1	0.035333334	ab
2	0.044736122	b
4	0.06867592	c

Nota: Elaborado por: La autora, 2017

Después de realizado el análisis estadístico se obtuvo para estos criterios una diferencia altamente significativa, lo que conlleva a que se realice un Rango Mínimo de DUNCAN para determinar el tratamiento con mejor resultado al evaluar la capacidad de la piel para regresar a su estado original, para esto entre menores sean los valores resultantes mayor es la eficacia de la formulación (Akhtar, Waqas, Ahmed, & Saeed, 2010), en base a los descrito se puede concluir que para estos criterios el mejor tratamiento corresponde al 3 (crema con activo segundo mes).

Tabla 13.

Viscoelasticidad

Criterio: R6		
TRATAMIENTO	PROMEDIO	RANGO
1	0.508105167	a
3	0.638103333	a
2	0.900149074	b
4	1.253262963	c

Nota: Elaborado por: La autora, 2017

Respecto a la viscosidad y en base a lo establecido por (Akhtar, Waqas, Ahmed, & Saeed, 2010), entre menores sean los valores, mayor es el módulo elástico cutáneo. Los mejores resultados comprenden el tratamiento 1 y 3, los cuales corresponden a crema con activo en el primer mes (tratamiento 1) y en el segundo mes (tratamiento 2), concluyendo que la crema es realmente efectiva para mejorar la capacidad elástica de la piel.

Tabla 14.

Elasticidad Biológica

Criterio: R7

TRATAMIENTO	PROMEDIO	RANGO
4	0.227690741	a
2	0.326264352	abc
1	0.457325	bc
3	0.47702	c

Nota: Elaborado por: La autora, 2017

El criterio para la elasticidad biológica, según (Akhtar, Waqas, Ahmed, & Saeed, 2010), relaciona la elasticidad con la distensión final. Entre más cercanos los valores a 1 se encuentren los resultados son mejores. Sin embargo, respecto al mejor tratamiento se obtuvo el 4, siendo la crema sin activo en el segundo mes. Para este criterio se puede deducir que usar o no crema da lo mismo, ya que el activo no tuvo efecto positivo sobre la piel en base a la elasticidad biológica de la piel.

Tabla 15.

Deformación final por succión tiempo

Criterio: F0		
TRATAMIENTO	PROMEDIO	RANGO
3	0.016983333	a
1	0.042697	bc
2	0.053702778	c
4	0.125739352	d

Nota: Elaborado por: La autora, 2017

Tabla 16

Deformación final por tiempo de relajación

Criterio: F1		
TRATAMIENTO	PROMEDIO	RANGO
3	0.0016645	a
2	0.027690741	ab
1	0.039131667	b
4	0.072377778	c

Nota: Elaborado por: La autora, 2017

Lo criterios F0 y F1, se encuentran relacionados con el criterio R1 (Akhtar, Waqas, Ahmed, & Saeed, 2010), es decir entre menores sean los valores mayor es la eficacia. Los mejores resultados obtenidos en los cuadros resumen, corresponden al tratamiento 3. De esta forma se puede concluir que el tratamiento 3 (crema con activo en el mes dos) tiene

un efecto positivo durante el tiempo de uso mejorando de esta manera la elasticidad de la piel la cual está relacionada directamente con la hidratación cutánea (Brea, 2017). Lo manifestado anteriormente permite destacar que la crema elaborada en base a 5.0 % de extracto fluido de *Ilex guayusa* Loes., y 4.0 % de aceite de Sacha inchi, es útil para mejorar las propiedades elásticas de la piel, confirmando que el extracto de Guayusa y el aceite de Sacha inchi pueden ser utilizadas como materias primas cosméticas.

Conclusiones

- La crema cosmética no produjo ningún tipo de reacción visible en la piel de las personas durante el estudio de irritabilidad, determinando una buena compatibilidad con la formulación en estudio.
- Las formulaciones en estudio (1.0 %, 2.5 % y 5.0 % de extracto) fueron sometidas a la prueba del DPPH, obteniéndose en todas capacidad antioxidante, sin embargo los resultados adquiridos para la crema con 5.0 % y 2.5 % en la prueba del DPPH y lo reflejado en el análisis del *anexo 2*, permite observar que el porcentaje de inhibición para ambos son similares y tienden a equilibrarse, siendo al inicio una curva lineal y al final tornándose logarítmica existiendo una mínima diferencia, concluyendo de esta manera que la actividad antioxidante llega a una estabilidad permitiendo determinar que entre más activo forme parte de la formulación no conduce a que la eficacia sea mejor.
- Mediante el cálculo del IC 50 fue posible analizar que los valores obtenidos para la crema con 5.0 %, están más próximos al valor calculado para el ácido ascórbico, lo que permite indicar que el extracto es posible emplearlo como una materia prima cosmética antioxidante, en la formulación utilizada en el panel *in vivo*.
- Durante los meses de uso la crema con activo tuvo efectos positivos sobre la piel de las participantes del estudio. Los criterios con resultados favorables fueron R1, R4, F0 y F1 relacionados con la capacidad de la piel para regresar a su estado normal y R6 criterio para la viscoelasticidad, concluyendo con el presente estudio que al tener buenos resultados se los puede considerar como una materia prima cosmética antioxidante.

Recomendaciones

- Realizar la prueba de estabilidad preliminar y consecuentemente llevar a cabo una prueba de estabilidad acelerada para asegurar de esta manera el perfeccionamiento de la formulación en cuanto a vida útil y compatibilidad con el material utilizado.
- Emplear el extracto fluido de guayusa y el aceite de sachá inchi como materia prima cosmética antioxidante debido a los resultados favorables obtenidos.
- Proseguir con este tipo de métodos basados en la Normativa Europea 76/768 con el fin de evitar la utilización de animales en este tipo de ensayos.
- Utilizar la concentración de 2.5% de extracto por motivos de funcionalidad y costos de materia prima.

Bibliografía

- Akhtar, N., Waqas, M., Ahmed, M., & Saeed, T. (2010, agosto). Effect of Cream Formulation of Fenugreek Seed Extract on Some Mechanical Parameters of Human Skin. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 2-8.
- Alcalde, M. (2008, octubre 9). Cosmética Natural y Ecológica. *Revista Offarm*, 27, 96.
- Aldana, C., & Guayasamín, L. (2014). *Evaluación de la actividad antioxidante de los extractos (alcohólico y acuoso) de las hojas de Ficus citrifolia y caracterización química de los polifenoles (Tesis de Pregrado)*. Universidad Politécnica Salesiana: Quito.
- Alonso, L., & Poveda, J. (2008). *Estudio comparativo en técnica de recuento rápido en el mercado y placas petrifilm 3M para el análisis de alimentos (Tesis de pregrado)*. Pontificia Universidad Javeriana: Bogotá.
- Barco, D., Roé, E., García, X., Corella, F., & Puig, L. (2008, marzo 03). Envejecimiento Cutáneo. *Revista ELSEVIER*, 64, 65.
- Brea, I. (30 de agosto de 2017). *Introducción a la cosmética y dermofarmacia*. Obtenido de http://www2.uned.es/experto-cosmetica-dermofarmacia/parcial_modulo1.pdf
- Cárdenas, C., Pozo, W., Almirrall, E., & Roque, A. (2016). Fitoquímica de extractos de *Ocotea quixos* y *Piper carpunya*, potenciales fungocontroladores (artículo científico). *Qualitas*, 73-78.

- Castaño, D., Valencia, M., Murillo, E. M., & Eras, j. (2012). Composición de Ácidos Grasos de sacha Inchi y su Relación con la Bioactividad del Vegetal. *Revista Scielo*, 46.
- Cobos, D. (2015). *Elaboración de una crema nutritiva facial a base de la pulpa de chirimoya "Annona cherimola, Annonaceae" (Tesis de maestría)*. Universidad Politécnica Salesiana: Quito.
- Crespo, P. (Noviembre de 2013). *La Guayusa Trayectoria y Sentido*. Recuperado el 2016 de noviembre de 25, de Reppiica: <http://reppiica.iica.int/docs/B3414e/B3414e.pdf>
- EUR-LEX. (21 de octubre de 2011). *DIRECTIVA 76/768 CEE*. Obtenido de http://eur-lex.europa.eu/search.html?scope=EU_SUMMARY&qid=1505696311789&type=advanced&lang=en&SUBDOM_INIT=EU_LEGI_SUM&DTS_SUBDOM=EU_LEGI_SUM&SUM_3_CODED=240303
- Flores, D., & Lock, O. (2013). Revalorando el uso milenario del sacha inchi (*Plukenetia volubilis* L.) para la nutrición, salud y cosmética. *Revista de Fitoterapia*, 24, 25, 26.
- Fonseca, R. (2017). *Flavonoides y actividad antioxidantes de la especie Ilex guayusa (Loes.) (Tesis de pregrado)*. Universidad Politécnica Salesiana: Quito.
- Fundación, R. (MAYO de 2015). *La Guayusa Trayectoria y Sentido*. Obtenido de http://fundacionruna.org/wp-content/uploads/2015/05/La-Guayusa_trayectoria-y-sentido.pdf

- Gerencia General de Cosméticos. (2005). Guía de estabilidad de productos cosméticos. In G. G. Cosméticos., & A. N. Sanitaria (Ed.), *Serie calidad en cosméticos* (Vol. 1, pp. 11-13). Brasilia: ANVISA.
- Jimenez, A. S. (2012). Optimización del método captación del radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (dpph) para evaluar actividad antioxidante. *Revistas UM*, 69.
- Larrauni, M., Zunino, M., Terzariol, L., Maestrallet, M., Zigadlo, J., Grosso, N., & Nepote, V. (2011). Actividad antioxidante de fracciones de polifenoles de tegumentos de mani obtenidos de diferentes procesos . *INTA*, 2.
- López, E. (2004). *Influencia de la formulación sobre la estabilidad de las emulsiones (Tesis de grado)*. Mérida: Universidad de los Andes.
- Lozada, S., & Rueda, R. (2010). Envejecimiento cutáneo. *Rev. Asociación Colombiana Dermatológica*, 18, 11-14.
- Manco, E. (2 de Junio de 2006). *Cultivo de Sacha inchi*. Obtenido de <http://www.incainchi.es/pdf/1358.pdf>
- Manco., E. (junio de 2008). *Cultivo de Sacha Inchi*. Obtenido de Incainchi: <http://www.incainchi.es/pdf/1358.pdf>
- Mateos, M. (2013). *Relación estructura/actividad de procianidinas procedentes de fuentes naturales de origen vegetal (Tesis doctoral)*. Universitat de Barcelona: Barcelona.

MICROCAYA. (2016). *MICROCAYA.COM*. Obtenido de <http://www.microcaya.com/productos/analizadores-de-piel/para-investigacion/33-cutometer-dual-mpa-580>

Mosquera, T., Noriega, P., & Tapia, W. &. (2012, diciembre 13). Evaluación de la eficacia cosmética de cremas elaboradas con aceites extraídos de especies vegetales amazónicas: *Mauritia flexuosa* (morete), *Plukenetia volubilis* (sacha inchi) y *Oenocarpus bataua* (ungurahua). *Revista La granja*, 16-22.

Mosquera., T. (2016). *Investigación en la cosmética natural*. Quito: Universidad Politécnica Salesiana.

Mourelle, M., Carbajo, J., & López, M. (2011). Evaluación en los cambios de la piel tras la aplicación de una emulsión facial con sales de la capuchina mediante métodos de bioingeniería cutánea. *Rev. Anales de hidrología médica*, 3, 65.

Noriega, P. S. (2015). *Cosmetic Antioxidant Potential of Extracts from Species of the Cinchona Pubescens (Vahl)*. Quito: Universidad Politécnica Salesiana.

Ortiz, S. (2015). *Elaboración de una crema antioxidante a partir de productos naturales (Tesis de pregrado)*. UNIVERSIDAD VERACRUZANA: Tuxpan.

Pacha, A. (2012). *Comprobación del efecto adelgazante de la tintura de guayusa (Ilex guayusa) en ratones (Mus musculus) con sobrepeso inducido” (Tesis de Grado)*. Escuela Superior Politécnica del Chimborazo: Riobamba.

- Páez, S. (2011). *Desarrollo del branding plan para el lanzamiento de productos con omega 3, en el distrito metropolitano de quito. Caso: sachá -inchi (Tesis de Pregrado)*. Pontificia Universidad Católica del Ecuador: Quito.
- Pariona, N. (2008). Obtención de los ácidos grasos del aceite de la *Plukenetia volubilis* L. "Sacha Inchi" para la utilización en la industria y estudio fitoquímico cualitativo de la almendra. In *Base de datos Sacha Inchi* (pp. 5,6). Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos .
- Peñaherrera, A. (2016). *Revista Alimentarya: El redescubrimiento del Sacha Inchi*.
Obtenido de <http://www.alimentosecuador.com/2016/03/21/el-redescubrimiento-del-sacha-inchi/>
- Pino, G., Urgilés, V., & Villacreses, P. (2013). *Aceite de Sacha Inchi producción y comercialización para la provincia del Guayas (Tesis de Maestría inédita)*. Escuela Superior Politécnica del Litoral: Guayaquil.
- Ramos, E., & Castañeda, B. (2008). Evaluación de la capacidad antioxidante de plantas medicinales peruanas nativas e introducidas. *Revista Académica Perú*, 43.
- Reyes, A. G. (2011). Antioxidantes: la magia de lo natural. *Revista Académica de Investigación*, 2-5.
- Robalino, E., & Guarderas, M. (2015). *Eficacia cosmética in vivo de una emulsión formulada a partir del extracto seco de hojas de Ficus (Tesis de Maestría inédita)*. Universidad Politécnica Salesiana: Quito.

Salud, S. d. (01 de enero de 2017). *Norma oficial mexicana nom-039-ssa1-1993, bienes y servicios. Productos de perfumería y belleza. Determinación de los índices de irritación ocular, primaria dérmica y sensibilización*. Obtenido de <http://www.salud.gob.mx/unidades/cdi/nom/039ssa13.html>

Tropicos. (2017). *Missouri Botanical Garden*. Obtenido de <http://www.tropicos.org/TaxonomyBrowser.aspx?nameid=2000086&projectid=0&conceptid=1>

Tropicos. (2017). *Missouri Botanical Garden*. Obtenido de <http://www.tropicos.org/TaxonomyBrowser.aspx?nameid=2000086&projectid=0&conceptid=5>

Zorrilla, A. (2017). El envejecimiento y estrés oxidativo. *Revista Offarm*, 98, 99.

Anexos

Anexo 1. Cálculo de promedios para los diferentes tratamientos, en base a los valores obtenidos de los criterios arrojados por el CUTOMETER.

p1a1= crema con activo primer mes

p2a1= crema sin activo primer mes

p1a2= crema con activo segundo mes

p1a2: crema sin activo segundo mes

R0 FIRMEZA

CUADRO I														
TRAT.	REPETICIONES											SUMA TRAT.	PROM. TRAT.	
	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI			
p1 a1	0,17183333	0,27008333	0,27600000	0,14730556	0,23930556								1,10452778	0,22090556
p1a2	0,20583333	0,13058333	0,15688889	0,11213889	0,16443519	0,14725000							0,91712963	0,15285494
p2a1	0,10458333	0,08675000	0,14333333	0,09225000	0,13075000								0,55766667	0,11153333
p2a2	0,26341667	0,29633333	0,26347222	0,31516667	0,27475000	0,30083333							1,71397222	0,28566204
TESTIGO	0,23041667	0,11472222	0,27600000	0,19125000	0,27458333	0,28633333	0,10708333	0,20633333	0,15325000	0,22116667	0,15133333		2,21247222	0,20113384
												SUMA GENERAL	6,50576852	
												PROMEDIO GENERAL		0,19714450

ANÁLISIS DE VARIANZA							
F.V.	GL	SC	CM	Fcal	Ftab.		SIGNIFICANCIA
					5%	1%	
TOTAL	32	0,16264909					
TRATAMIENTOS	4	0,098425879	0,02460647				
Periodo	1	0,002840488	0,00284049	1,2383945	4,2	7,64	NS
Crema – activo	1	0,015344401	0,0153444	6,6898434	4,2	7,64	*
P x crema activo	1	0,079978396	0,0799784	34,868938	4,2	7,64	**
Fact. Vs. Testigo	1	0,000262594	0,00026259	0,1144858	4,2	7,64	NS
EE	28	0,06422321	0,00229369				

Elaborado por: La autora, 2017

R1 MÍNIMA AMPLITUD DESPUÉS DE LA RELAJACIÓN

TRAT.	REPETICIONES											SUMA TRAT.	PROM. TRAT.
	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI		
p1 a1	0,04	0,03675	0,03441667	0,0393333	0,0261667							0,17666667	0,03533333
p1a2	0,0383333	0,050583333	0,05975	0,0349167	0,0326667	0,0521667						0,26841667	0,04473611
p2a1	0,0248333	0,023333333	0,04	0,0294167	0,0229167							0,14050000	0,02810000
p2a2	0,0768333	0,09	0,05772222	0,0700833	0,05375	0,0636667						0,41205556	0,06867593
TESTIGO	0,0460833	0,0435	0,03441667	0,0393333	0,02525	0,0373333	0,0416667	0,0369167	0,0278333	0,0299167	0,0331667	0,39541667	0,03594697
												SUMA GENERAL	1,39305556
												PROMEDIO GENERAL	0,04221380

ANÁLISIS DE VARIANZA

F.V.	GL	SC	CM	Fcal	Ftab.		SIGNIFICANCIA
					5%	1%	
TOTAL	32	0,00815514					
TRATAMIENTOS	4	0,005904343	0,00147609				
Periodo	1	0,000525013	0,00052501	6,5311818	4,2	7,64	*
Crema – activo	1	0,003406187	0,00340619	42,37313	4,2	7,64	**
P x crema activo	1	0,001325134	0,00132513	16,484732	4,2	7,64	**
Fact. Vs. Testigo	1	0,000648008	0,00064801	8,0612514	4,2	7,64	**
EE	28	0,00225080	8,0386E-05				

Elaborado por: La autora, 2017

R2 ELASTICIDAD BRUTA

CUADRO 1

TRAT.	REPETICIONES											SUMA TRAT.	PROM. TRAT.	
	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI			
p1 a1	0,7469	0,826008333	0,841125	0,7946	0,88175							4,09038333	0,81807667	
p1a2	0,8149	0,652008333	0,68447222	0,7371333	0,8284833	0,6435083						4,36050556	0,72675093	
p2a1	0,7743167	0,722433333	0,69345	0,6664	0,7973583							3,65395833	0,73079167	
p2a2	0,704725	0,712733333	0,86891667	0,7807417	0,8173083	0,7882917						4,67271667	0,77878611	
TESTIGO	0,8045583	0,632241667	0,841125	0,7946	0,87925	0,8106417	0,6236583	0,7886917	0,792475	0,8251417	0,7795083	8,57189167	0,77926288	
												SUMA GENERAL	25,34945556	
												PROMEDIO GENERAL		0,76816532

ANÁLISIS DE VARIANZA

F.V.	GL	SC	CM	Fcal	Ftab.		SIGNIFICANCIA
					5%	1%	
TOTAL	32	0,16992484					
TRATAMIENTOS	4	0,031762096	0,00794052				
Periodo	1	0,000701322	0,00070132	0,1421297	4,2	7,64	NS
Crema – activo	1	0,002560365	0,00256037	0,5188825	4,2	7,64	NS
P x crema activo	1	0,026468337	0,02646834	5,3640615	4,2	7,64	*
Fact. Vs. Testigo	1	0,002032071	0,00203207	0,4118186	4,2	7,64	NS
EE	28	0,13816274	0,00493438				

Elaborado por: La autora, 2017

R3 FATIGA

CUADRO 1

TRAT.	REPETICIONES											SUMA TRAT.	PROM. TRAT.	
	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI			
p1 a1	0,1725833	0,270083333	0,276	0,19125	0,2820833								1,19200000	0,23840000
p1a2	0,2058333	0,130583333	0,15688889	0,1275	0,1978333	0,1978333							1,01647222	0,16941204
p2a1	0,1045833	0,08675	0,14333333	0,09225	0,13075								0,55766667	0,11153333
p2a2	0,2634167	0,296333333	0,26347222	0,3151667	0,27475	0,3008333							1,71397222	0,28566204
TESTIGO	0,2304167	0,136	0,276	0,19125	0,2745833	0,2863333	0,1070833	0,2063333	0,15325	0,2211667	0,1513333		2,23375000	0,20306818
													SUMA GENERAL	6,71386111
													PROMEDIO GENERAL	0,20345034

**ANÁLISIS DE
VARIANZA**

F.V.	GL	SC	CM	Fcal	Ftab.		SIGNIFICANCIA
					5%	1%	
TOTAL	32	0,15529857					
TRATAMIENTOS	4	0,095856896	0,02396422				
Periodo	1	0,000181365	0,00018136	0,0854319	4,2	7,64	NS
Crema – activo	1	0,015074421	0,01507442	7,1008058	4,2	7,64	*
P x crema activo	1	0,0805987	0,0805987	37,966017	4,2	7,64	**
Fact. Vs. Testigo	1	2,4097E-06	2,4097E-06	0,0011351	4,2	7,64	NS
EE	28	0,05944167	0,00212292				

Elaborado por: La autora, 2017

R4 MÍNIMA AMPLITUD DESPUÉS DE LA RELAJACIÓN

**CUADRO
1**

TRAT.	REPETICIONES											SUMA TRAT.	PROM. TRAT.	
	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI			
p1 a1	0,0401667	0,03675	0,03441667	0,0393333	0,02625							0,17691667	0,03538333	
p1a2	0,0383333	0,050583333	0,05975	0,0349167	0,0326667	0,0521667						0,26841667	0,04473611	
p2a1	0,0248333	0,023333333	0,04	0,0294167	0,0229167							0,14050000	0,02810000	
p2a2	0,0768333	0,09	0,05772222	0,0700833	0,05375	0,0636667						0,41205556	0,06867593	
TESTIGO	0,0460833	0,0435	0,03441667	0,0393333	0,02525	0,0373333	0,0416667	0,0369167	0,0278333	0,0299167	0,0331667	0,39541667	0,03594697	
												SUMA GENERAL	1,39330556	
												PROMEDIO GENERAL		0,04222138

ANÁLISIS DE VARIANZA							
F.V.	GL	SC	CM	Fcal	Ftab.		SIGNIFICANCIA
					5%	1%	
TOTAL	32	0,00815176					
TRATAMIENTOS	4	0,005900913	0,00147523				
Periodo	1	0,000522573	0,00052257	6,5006873	4,2	7,64	*
Crema – activo	1	0,003399376	0,00339938	42,287451	4,2	7,64	**
P x crema activo	1	0,001329389	0,00132939	16,537288	4,2	7,64	**
Fact. Vs. Testigo	1	0,000649576	0,00064958	8,0805736	4,2	7,64	**
EE	28	0,00225085	8,0387E-05				

Elaborado por: La autora, 2017

R5 ELASTICIDAD NETA DE LA PIEL

CUADRO 1															
TRAT.	REPETICIONES											SUMA TRAT.	PROM. TRAT.		
	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI				
p1 a1	0,555925	0,396791667	0,63493833	0,765375	0,8936917									3,24672167	0,64934433
p1a2	0,5298833	0,527166667	0,54816944	0,4569167	0,9631917	0,6972083								3,72253611	0,62042269
p2a1	0,80665	0,7681	0,64266667	0,7041583	0,86035									3,78192500	0,75638500
p2a2	0,8083	0,601816667	0,79904167	0,7441583	1,1157667	0,7559083								4,82499167	0,80416528
TESTIGO	0,739975	0,8014	0,742925	0,765375	0,8936083	0,8083	0,6018167	0,7990417	0,7441583	1,1157667	0,7559083			8,76827500	0,79711591
														SUMA GENERAL	24,34444944
														PROMEDIO GENERAL	0,73771059

ANÁLISIS DE VARIANZA							
F.V.	GL	SC	CM	Fcal	Ftab.		SIGNIFICANCIA
					5%	1%	
TOTAL	32	0,84075847					
TRATAMIENTOS	4	0,188641625	0,04716041				
Periodo	1	0,121905756	0,12190576	5,2342785	4,2	7,64	*
Crema – activo	1	0,000484974	0,00048497	0,0208234	4,2	7,64	NS
P x crema activo	1	0,008022526	0,00802253	0,3444639	4,2	7,64	NS
Fact. Vs. Testigo	1	0,058228368	0,05822837	2,5001567	4,2	7,64	NS
EE	28	0,65211685	0,02328989				

Elaborado por: La autora, 2017

R6 VISCOELASTICIDAD

CUADRO 1														
TRAT.	REPETICIONES											SUMA TRAT.	PROM. TRAT.	
	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI			
p1 a1	0,6758417	0,566833333	0,43665917	0,5991167	0,262075								2,54052583	0,50810517
p1a2	0,7416667	1,179733333	0,93856944	0,9230333	0,7986417	0,81925							5,40089444	0,90014907
p2a1	0,6848167	0,657775	0,55266667	0,793525	0,5017333								3,19051667	0,63810333
p2a2	1,0537833	1,110083333	1,32628611	1,54235	1,5296917	0,9573833							7,51957778	1,25326296
TESTIGO	0,3520833	0,362483333	0,36859167	0,5991167	0,26195	0,4017833	0,7400083	0,5261583	0,47425	0,930175	0,601725		5,61832500	0,51075682
													SUMA GENERAL	24,26983972
													PROMEDIO GENERAL	0,73544969

ANÁLISIS DE VARIANZA							
F.V.	GL	SC	CM	Fcal	Ftab.		SIGNIFICANCIA
					5%	1%	
TOTAL	32	3,61338787					
TRATAMIENTOS	4	2,632703817	0,65817595				
Periodo	1	0,348434393	0,34843439	9,9483243	4,2	7,64	**
Crema – activo	1	1,383353134	1,38335313	39,496806	4,2	7,64	**
P x crema activo	1	0,067882671	0,06788267	1,938152	4,2	7,64	NS
Fact. Vs. Testigo	1	0,833033619	0,83303362	23,784359	4,2	7,64	**
EE	28	0,98068405	0,03502443				

Elaborado por: La autora, 2017

R7 ELASTICIDAD BIOLÓGICA

CUADRO 1														
TRAT.	REPETICIONES											SUMA TRAT.	PROM. TRAT.	
	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI			
p1 a1	0,2622167	0,246841667	0,569975	0,4748833	0,7327083								2,28662500	0,45732500
p1a2	0,29625	0,2304	0,27591111	0,2356667	0,5326667	0,3866917							1,95758611	0,32626435
p2a1	0,482175	0,465541667	0,43635	0,4015167	0,5995167								2,38510000	0,47702000
p2a2	0,228375	0,159383333	0,29971944	0,2055333	0,2557167	0,2174167							1,36614444	0,22769074
TESTIGO	0,5517417	0,29845	0,569975	0,4748833	0,732675	0,6251833	0,349775	0,540025	0,516525	0,6147	0,4742583		5,74819167	0,52256288
												SUMA GENERAL	13,74364722	
												PROMEDIO GENERAL		0,41647416

ANÁLISIS DE VARIANZA							
F.V.	GL	SC	CM	Fcal	Ftab.		SIGNIFICANCIA
					5%	1%	
TOTAL	32	0,83648219					
TRATAMIENTOS	4	0,413137861	0,10328447				
Periodo	1	0,011046188	0,01104619	0,730595	4,2	7,64	NS
Crema - activo	1	0,197313384	0,19731338	13,05031	4,2	7,64	**
P x crema activo	1	0,019073815	0,01907382	1,2615424	4,2	7,64	NS
Fact. Vs. Testigo	1	0,185704474	0,18570447	12,282497	4,2	7,64	**
EE	28	0,42334432	0,01511944				

Elaborado por: La autora, 2017

R8 RECUPERACIÓN TOTAL

CUADRO 1														
TRAT.	REPETICIONES											SUMA TRAT.	PROM. TRAT.	
	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI			
p1 a1	0,1920083	0,233333333	0,24158333	0,1519167	0,2485							1,06734167	0,21346833	
p1a2	0,1675	0,08	0,09713889	0,0925833	0,1651667	0,0950833						0,69747222	0,11624537	
p2a1	0,07975	0,063416667	0,10333333	0,0628333	0,1078333							0,41716667	0,08343333	
p2a2	0,2063333	0,20575	0,20575	0,2450833	0,221	0,2371667						1,32108333	0,22018056	
TESTIGO	0,1843333	0,0925	0,24158333	0,1519167	0,2493333	0,249	0,065416667	0,1694167	0,1254167	0,19125		0,1181667	1,83833333	0,16712121
											SUMA GENERAL	5,34139722		
											PROMEDIO GENERAL		0,16186052	

ANÁLISIS DE VARIANZA							
F.V.	GL	SC	CM	Fcal	Ftab.		SIGNIFICANCIA
					5%	1%	
TOTAL	32	0,13515343					
TRATAMIENTOS	4	0,077267184	0,0193168				
Periodo	1	3,20746E-05	3,2075E-05	0,0155147	4,2	7,64	NS
Crema - activo	1	0,002130228	0,00213023	1,0304068	4,2	7,64	**
P x crema activo	1	0,074648247	0,07464825	36,107905	4,2	7,64	**
Fact. Vs. Testigo	1	0,000456635	0,00045664	0,2208778	4,2	7,64	NS
EE	28	0,05788624	0,00206737				

Elaborado por: La autora, 2017

F0 DEFORMACIÓN FINAL X TIEMPO DE SUCCIÓN

CUADRO 1														
TRAT.	REPETICIONES											SUMA TRAT.	PROM. TRAT.	
	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI			
p1 a1	0,06431	0,0756	0,03441667	0,0311583	0,008								0,21348500	0,04269700
p1a2	0,0648417	0,058291667	0,06161667	0,0522583	0,0473917	0,0378167							0,32221667	0,05370278
p2a1	0,0178083	0,015475	0,020575	0,021375	0,0096833								0,08491667	0,01698333
p2a2	0,0830417	0,12385	0,13041944	0,1653833	0,1151333	0,1366083							0,75443611	0,12573935
TESTIGO	0,0280833	0,032175	0,03441667	0,0311583	0,0082083	0,0217667	0,022466667	0,03225	0,0163333	0,02965	0,02715		0,28365833	0,02578712
													SUMA GENERAL	1,65871278
													PROMEDIO GENERAL	0,05026402

ANÁLISIS DE VARIANZA							
F.V.	GL	SC	CM	Fcal	Ftab.		SIGNIFICANCIA
					5%	1%	
TOTAL	32	0,05449488					
TRATAMIENTOS	4	0,046664728	0,01166618				
Periodo	1	0,004191091	0,00419109	14,98701	4,2	7,64	**
Crema - activo	1	0,019558483	0,01955848	69,939592	4,2	7,64	**
P x crema activo	1	0,013029695	0,01302969	46,59316	4,2	7,64	**
Fact. Vs. Testigo	1	0,009885459	0,00988546	35,349622	4,2	7,64	**
EE	28	0,00783015	0,00027965				

Elaborado por: La autora, 2017

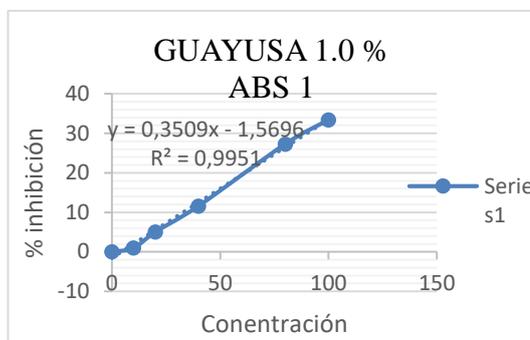
F1 DEFORMACIÓN FINAL X TIEMPO DE RELAJACIÓN

CUADRO 1														
TRAT.	REPETICIONES											SUMA TRAT.	PROM. TRAT.	
	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI			
p1 a1	0,0346417	0,05915	0,04135833	0,036925	0,0235833								0,19565833	0,03913167
p1a2	0,0362083	0,024283333	0,02809444	0,0258333	0,030175	0,02155							0,16614444	0,02769074
p2a1	0,0196917	0,013725	0,02171667	0,0162583	0,0118333								0,08322500	0,01664500
p2a2	0,0467917	0,089658333	0,05599167	0,0892583	0,0731	0,0794667							0,43426667	0,07237778
TESTIGO	0,0369	0,029391667	0,04135833	0,036925	0,023425	0,0306833	0,0193	0,027125	0,0248083	0,0307083	0,0292333		0,32985833	0,02998712
													SUMA GENERAL	1,20915278
													PROMEDIO GENERAL	0,03664099

ANÁLISIS DE VARIANZA							
F.V.	GL	SC	CM	Fcal	Ftab.		SIGNIFICANCIA
					5%	1%	
TOTAL	32	0,01350848					
TRATAMIENTOS	4	0,010660579	0,00266514				
Periodo	1	0,001101774	0,00110177	10,83244	4,2	7,64	**
Crema - activo	1	0,002675138	0,00267514	26,301469	4,2	7,64	**
P x crema activo	1	0,006153145	0,00615315	60,496592	4,2	7,64	**
Fact. Vs. Testigo	1	0,000730521	0,00073052	7,1823503	4,2	7,64	*
EE	28	0,00284790	0,00010171				

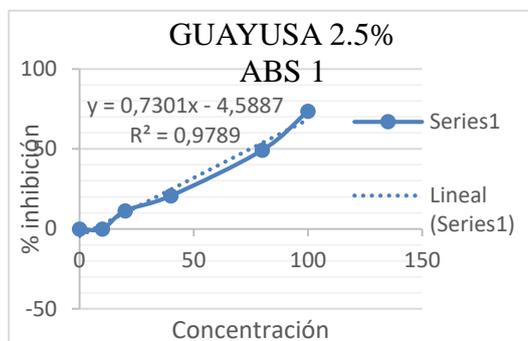
Elaborado por: La autora, 2017

Anexo 2. Porcentaje de inhibición del DPPH vs concentración del extracto de *Ilex guayusa* L. en la formulación cosmética y del estándar artificial ácido ascórbico.



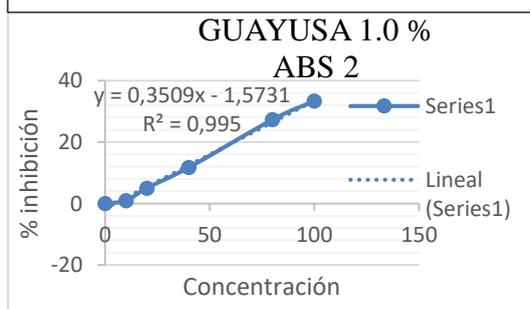
Porcentaje de inhibición vs concentración al 1.0 % de Guayusa. Ic_{50} = 146.96 uL/mL

Elaborado por: La autora, 2017



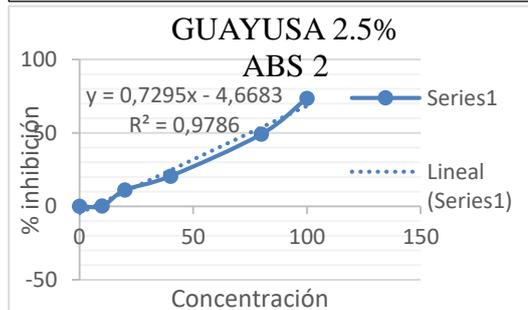
Porcentaje de inhibición vs concentración al 2.5 % de Guayusa. Ic_{50} = 74.76 uL/mL

Elaborado por: La autora, 2017



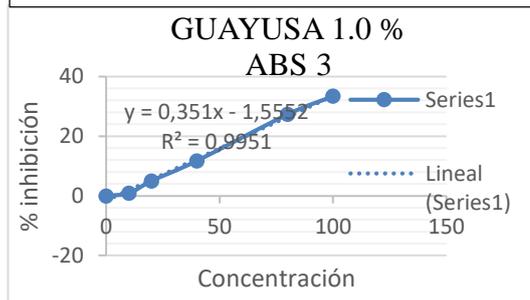
Porcentaje de inhibición vs concentración al 1.0 % de Guayusa. Ic_{50} = 146.97 uL/mL

Elaborado por: La autora, 2017



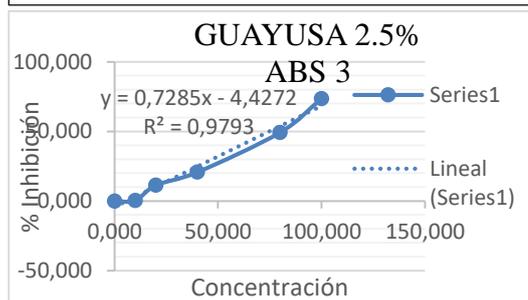
Porcentaje de inhibición vs concentración al 2.5 % de Guayusa. Ic_{50} = 74.93 uL/mL

Elaborado por: La autora, 2017



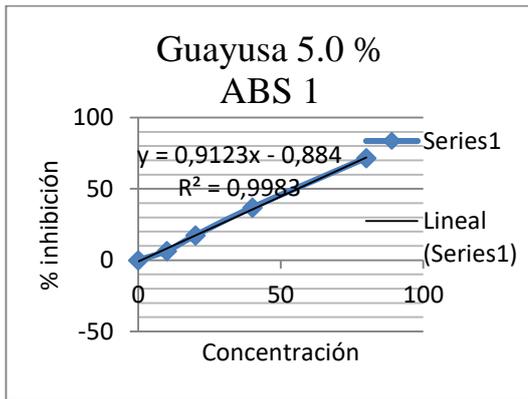
Porcentaje de inhibición vs concentración al 1.0 % de Guayusa. Ic_{50} = 146.88 uL/mL

Elaborado por: La autora, 2017



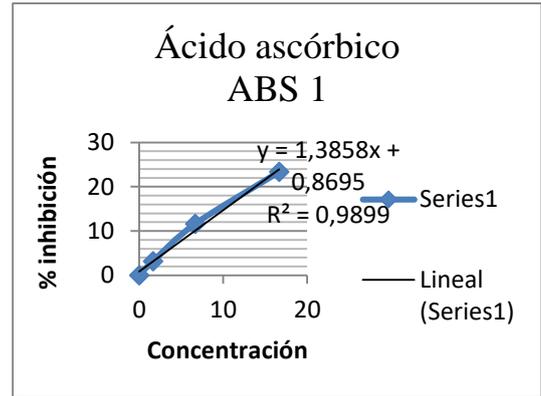
Porcentaje de inhibición vs concentración al 2.5 % de Guayusa. Ic_{50} = 74.71 uL/mL

Elaborado por: La autora, 2017



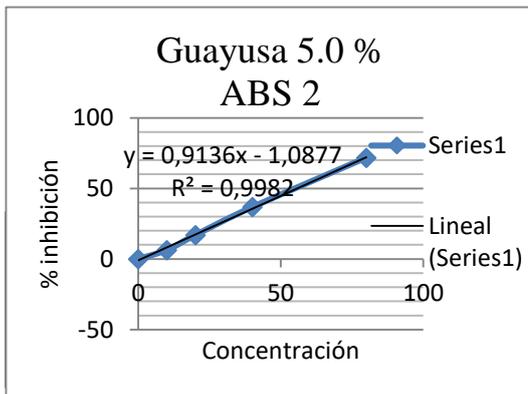
Porcentaje de inhibición vs concentración al 5.0 % de Guayusa. $Ic_{50} = 55.77$ uL/mL

Elaborado por: La autora, 2017



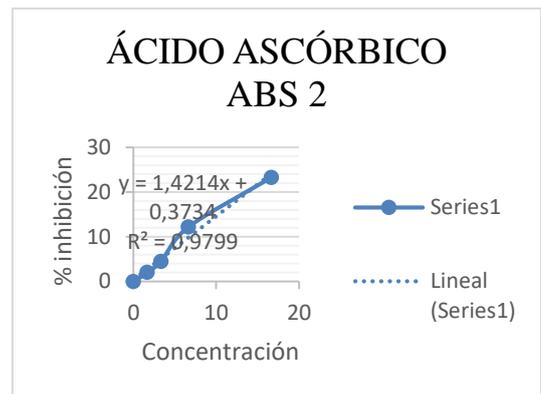
Porcentaje de inhibición vs concentración estándar. $Ic_{50} = 35.45$ uL/mL

Elaborado por: La autora, 2017



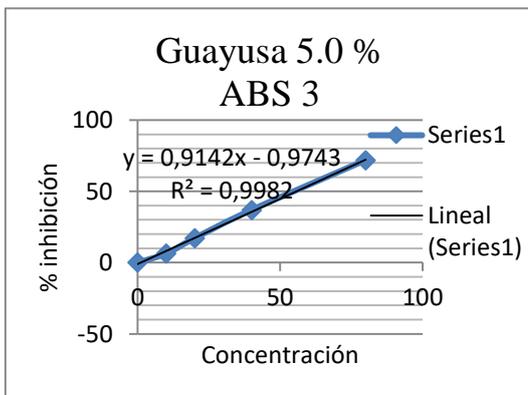
Porcentaje de inhibición vs concentración al 5.0 % de Guayusa. $Ic_{50} = 55.91$ uL/mL

Elaborado por: La autora, 2017



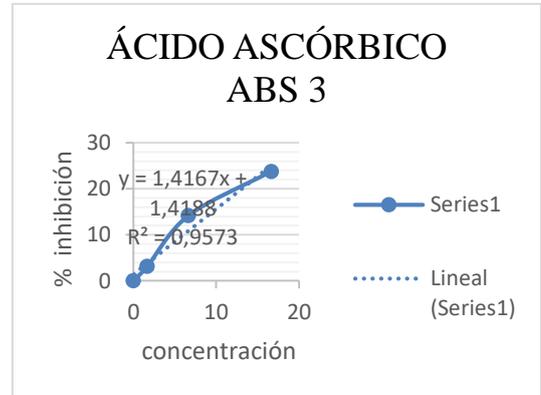
Porcentaje de inhibición vs concentración estándar. $Ic_{50} = 34.91$ uL/mL

Elaborado por: La autora, 2017



Porcentaje de inhibición vs concentración al 5.0 % de Guayusa. $Ic_{50} = 55.75$ uL/mL

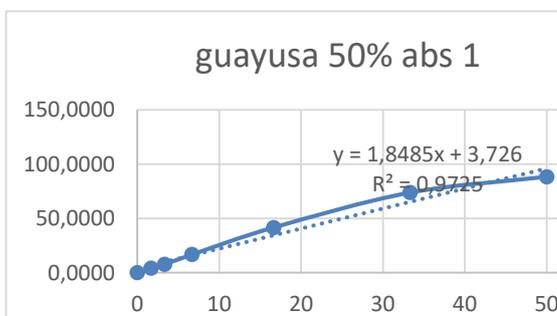
Elaborado por: La autora, 2017



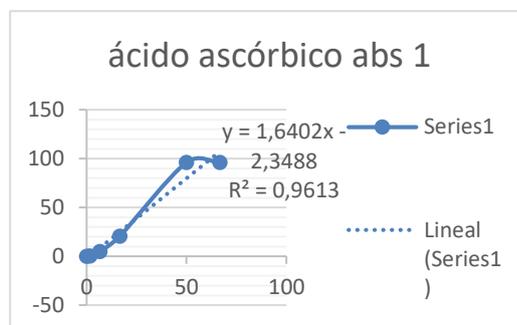
Porcentaje de inhibición vs concentración estándar. $Ic_{50} = 34.29$ uL/mL

Elaborado por: La autora, 2017

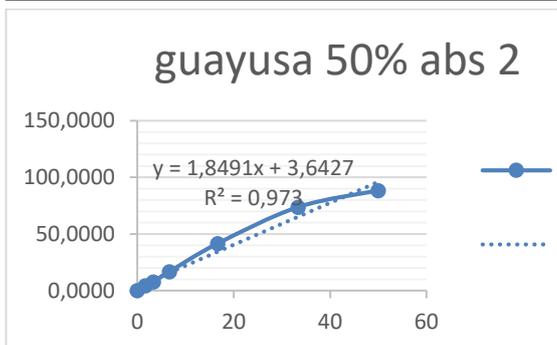
Anexo 3. Porcentaje de inhibición del DPPH vs concentración del extracto de *Ilex guayusa* L. hidroalcohólico y del estándar artificial ácido ascórbico. Datos obtenidos del trabajo investigativo de (Fonseca, 2017).



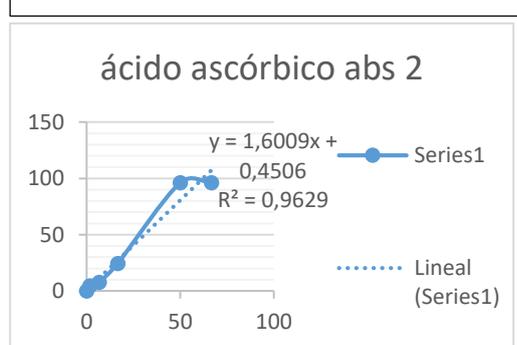
Porcentaje de inhibición vs concentración extracto hidroalcohólico al 50%. Ic_{50} = 26.65 uL/mL



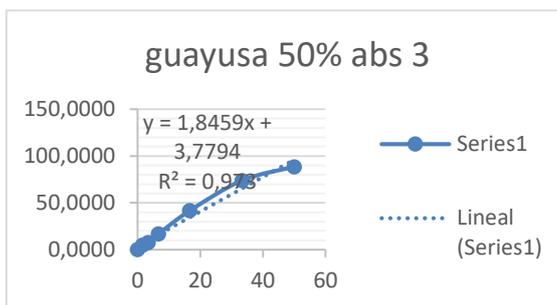
Porcentaje de inhibición vs concentración ácido ascórbico Ic_{50} = 31.91 uL/mL



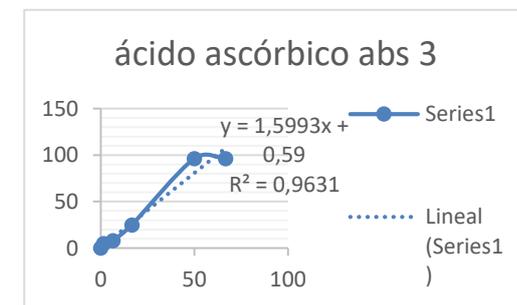
Porcentaje de inhibición vs concentración extracto hidroalcohólico al 50%. Ic_{50} = 25.07 uL/mL



Porcentaje de inhibición vs concentración ácido ascórbico Ic_{50} = 30.95 uL/mL



Porcentaje de inhibición vs concentración extracto hidroalcohólico al 50%. Ic_{50} = 25.03 uL/mL



Porcentaje de inhibición vs concentración ácido ascórbico Ic_{50} = 30.89 uL/mL