



FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
ESCUELA PROFESIONAL DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA

**EVALUACIÓN DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE Y
FOTOPROTECTORA *in vitro* DE LA CREMA GEL
ELABORADA CON EXTRACTO ACUOSO DE LA
CÁSCARA DE LA VARIEDAD AMARILLA DEL FRUTO DE
Opuntia soehrensii B. (AYRAMPO)**

**TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE QUÍMICO
FARMACÉUTICO**

AUTORES:

Bach. VILLAR REYES, CAROL MARIBEL

Bach. CUSI COLLADO, ELOY LUIS

ASESOR:

Mg. INOCENTE CAMONES, MIGUEL ÁNGEL

LIMA – PERÚ

2020

Dedicatoria

Este trabajo lo dedicamos de manera especial:

Primero a dios por darnos siempre una luz de esperanza y demostrarnos que todo se puede ante los peores momentos.

A nuestros padres por darnos la vida, el amor y mostrarnos el camino de la superación ante todo los pesares de la vida y hermanos por todo el amor y apoyo incondicional

Agradecimiento

A todos los profesores por sus buenas enseñanzas durante el ciclo académico.

A nuestro asesor de tesis, Mg. Q.F. Inocente Camones, Miguel Ángel por su orientación, profesionalismo, apoyo incondicional y paciencia para el desarrollo y realización de esta tesis.

A todos nuestros compañeros de trabajo y estudios ya que directa o indirectamente fueron contribuyentes de esta tesis.

Índice general

I.	INTRODUCCIÓN	10
II.	MATERIALES Y METODOS	17
	2.1 Enfoque y diseño de la investigación	17
	2.2 Población, muestra y muestreo	17
	2.3 Variables de investigación	17
	2.4 Técnicas e instrumentos de recolección de datos	17
	2.5 Proceso de recolección de datos	18
	2.6 Métodos de análisis estadístico	23
	2.7 Aspectos éticos	23
III.	RESULTADOS	24
IV.	DISCUSIÓN	29
	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	31
	ANEXOS	35

Índice de Tablas

	Página
Tabla 1. Formulación de la crema gel con ayrampo	21
Tabla 2. Relación del efecto eritemogénico (EE) frente a la intensidad de la radiación (I) en cada longitud de onda	22
Tabla 3. Características del extracto acuoso de ayrampo	24
Tabla 4. Metabolitos hallados en el extracto acuoso de ayrampo	24
Tabla 5. Compuestos fenólicos expresados en Equivalentes Ácido Gálico	25
Tabla 6. Resultados del patrón de referencia para DPHH: Trolox	25
Tabla 7. Resultados de la actividad antioxidante del extracto	26
Tabla 8. Resultados de la actividad antioxidante de la crema gel	27

Índice de Gráficos

	Página
Gráfico 1. Curva de calibración para compuestos fenólicos	25
Gráfico 2. Recta de Trolox para DPPH	26
Gráfico 3. Actividad antioxidante del extracto acuoso en μM Equiv. Trolox	27
Gráfico 4. Actividad antioxidante de la crema gel en μM Equiv. Trolox	28
Gráfico 5. Factor de protección solar de la crema gel de ayrampo	28

Índice de Anexos

	Página
Anexo A. Operacionalización de la variable	35
Anexo B. Colección de fotografías	36

Resumen

Objetivo: Evaluar la capacidad antioxidante y fotoprotectora in vitro de la crema gel elaborada con extracto acuoso de la cáscara de la variedad amarilla del fruto de *Opuntia soehrensii B.* (ayrampo).

Material y método: La investigación corresponde al enfoque cuantitativo, de diseño experimental y explicativo, la especie vegetal de *Opuntia soehrensii B.* (ayrampo) fue recolectada en Cotahuasi, La Unión, Arequipa. Se obtuvo un extracto acuoso al 20% con la cáscara fresca de los frutos de ayrampo. Se realizó el tamizaje fitoquímico según Lock, O. Se desarrolló una crema gel con el extracto. En el extracto y crema gel, se cuantificaron los compuestos fenólicos totales según el método de Folin Ciocalteu; se evaluó la capacidad antioxidante mediante la inhibición del radical DPPH, y se evaluó la capacidad fotoprotectora mediante el método Mansur.

Resultados: El extracto acuoso de cáscara de ayrampo presentó compuestos fenólicos, flavonoides y taninos, con un contenido de compuestos fenólicos de 382,7132 mg Equivalente ácido gálico/g extracto. La crema gel presentó 237,1273 mg Equivalente ácido gálico/g crema gel. La capacidad antioxidante del extracto y de la crema gel a 1000 µg/mL fueron 962,436 y 608,930 µM Equivalente Trolox respectivamente. La capacidad fotoprotectora de la crema gel con extracto resultó 7,048.

Conclusiones: La crema gel elaborada con extracto acuoso al 20% con cáscara fresca de los frutos de ayrampo presenta capacidad antioxidante y fotoprotectora relacionado con la cantidad de compuestos fenólicos determinados.

Palabras clave: *Opuntia soehrensii B.*, crema gel, antioxidante, fenólicos, fotoprotector

ABSTRACT

Objective: To evaluate the antioxidant and photoprotective capacity in vitro of the gel cream elaborated with aqueous extract of the peel of the yellow variety of the fruit of *Opuntia soehrensii* B. (ayrampo).

Method: The research corresponds to the quantitative approach, of experimental and explanatory design, the vegetable species of *Opuntia soehrensii* B. (ayrampo) was collected in Cotahuasi, La Union, Arequipa. A 20% aqueous extract was obtained from the fresh peel of the ayrampo fruit. Phytochemical screening was performed according to Lock, O. A gel cream was developed with the extract. In the extract and gel cream, total phenolic compounds were quantified according to Folin Ciocalteu method; antioxidant capacity was evaluated by means of DPPH radical inhibition, and photoprotective capacity was evaluated by means of Mansur method.

Results: The aqueous extract of ayrampo shell presented phenolic compounds, flavonoids and tannins, with a phenolic compound content of 382.7132 mg Gallic acid equivalent/g extract. The gel cream presented 237,1273 mg Gallic acid equivalent/g gel cream. The antioxidant capacity of the extract and the gel cream at 1000 $\mu\text{g/mL}$ were 962,436 and 608,930 μM Trolox equivalent respectively. The photoprotective capacity of the cream-gel with extract was 7,048.

Conclusions: The gel cream elaborated with aqueous extract at 20% with fresh peel of ayrampo fruits presents antioxidant and photoprotective capacity related to the amount of determined phenolic compounds.

Keywords: *Opuntia soehrensii* B., gel cream, antioxidant, phenolics, photoprotector

I. INTRODUCCIÓN

Dentro de la medicina tradicional, las plantas pertenecientes al género *Opuntia* han sido ampliamente usadas tanto por sus propiedades nutricionales como por su actividad farmacéutica, siendo rico en compuestos antioxidantes, fuente natural de minerales y ácidos orgánicos, entre otros. El ayrampo, cuyo nombre científico es *Opuntia soerehnsii* (Britton & Rose) D. R. Hunt & Iliff o *Tunilla soerehnsii*, según la taxonomía de Britton y Rose (1), ha evidenciado tener una propiedad antioxidante superior a la encontrada en la tuna, debido a su mayor proporción de componentes bioactivos como los polifenoles totales y la vitamina C (2).

Sus propiedades en la industria como colorante también han sido sometida a estudios recientes, determinándose de manera experimental que la estabilidad del extracto de su pulpa es mayor cuando esta se encuentra a una temperatura de 4°C y un pH de 5, debido a que en estas condiciones se retiene mayor porcentaje de pigmentos betacianinas y betaxantinas, con 79,39% y un 63,47% respectivamente (3).

De forma reciente se ha obtenido la molécula 2'-O-apiosil-6'-O- ácido crotónico-betanina, también llamado "Achkiy", después de un proceso de purificación ecológico y de bajo costo del extracto de la cutícula de la semilla de ayrampo. El Achkiy se muestra como una molécula con un amplio campo de investigación en la optoelectrónica de ecomoléculas, donde su proceso de extracción implica un proceso químico verde y donde los principales disolventes utilizados por su alta polaridad agua, cetona y ácido cítrico hacen que esta molécula adquiere interesantes propiedades fisicoquímicas para el campo de la bioelectroluminiscencia, que puede ser aprovechada para mejorar la eficiencia de luminiscencia OLED o diodo orgánico de emisión de luz (4).

En relación al contenido de fenoles totales, betacianinas y su capacidad antioxidante, se ha reportado que las altas concentraciones etanólicas (<50%), favorecen la degradación de estos compuestos; sin embargo, existe un efecto inversamente proporcional del pH en el contenido de fenoles y su capacidad

antioxidante. En el caso de la temperatura, los fenómenos de isomerización y descarboxilación que se producen por encima de los 50°C disminuyen el contenido de betacianinas, fenoles, así como su capacidad antioxidante (5).

El problema de investigación planteado es el siguiente: ¿Cuál es la capacidad antioxidante y fotoprotectora *in vitro* de la crema gel elaborada con extracto acuoso de la cáscara de la variedad amarilla del fruto de *Opuntia soehrensii* B. (ayrampo)?

El ayrampo es una planta perteneciente al género *Opuntia* de características similares a la tuna, que asemeja a un cactus con una altura que no sobrepasa el metro. Su hábitat principal está en la región sierra, entre los 800 y 2,800 m.s.n.m. aproximadamente. Esta planta tiene un uso integral, para la población de la zona, ya que además del fruto se aprovechan las hojas, el tallo e inclusive el gusano que se alimenta y vive dentro de la fruta. El fruto se caracteriza por ser pequeño y tener un color carmesí intenso, y es de un alto valor nutritivo, terapéutico y apreciado en el arte culinario a pesar de sus propiedades todavía son materia de investigación (6).

Un estudio realizado en Huancavelica evidencia que el consumo de ayrampo como complemento de productos alimenticios como vinos, refrescos, mermeladas mazamorras, chupetes y tónicos, contribuyen a mejorar la calidad de vida de algunos poblados de la sierra del Perú, por lo que también puede afirmarse que presenta un valor económico que debe ser motivo de investigación (7).

Una de las propiedades farmacéuticas que ha podido demostrarse experimentalmente ha sido su efecto antipirético en modelos murinos en dosis de 400 mg/kg de peso, aunque esta experiencia no se ha replicado en humanos (8). Asimismo, se ha reportado resultados positivos relacionados con los efectos antihipertensivos del extracto hidroalcohólico de sus semillas en ratas albinas. La eficacia en la reducción de la presión arterial varió de un 17% para la dosis de 250mg/kg hasta un 80% para la dosis de 1000mg/kg, sin embargo, estos resultan inferiores a los obtenidos con el captopril (9).

Su actividad antibacteriana también ha sido motivo de investigación reciente. Se ha reportado que un gel base con los extractos secos de ayrampo (*Opuntia soehrensii* B.) y mora (*Rubus glaucus*) obtenidos por extracción alcohólica presenta actividad antibacteriana significativa para la cepa *Escherichia coli* ATCC 8739 con un halo de inhibición de 18.3 mm, valor que es superior al obtenido con los extractos acuosos, así como con aquellos geles que sólo usaban una de las plantas (10).

Dentro de la composición química del airampo, destaca la presencia de betalaínas, pigmento nitrogenado natural de color rojo, que es hidrosoluble y ha atraído el interés reciente de la industria alimentaria para reemplazar el uso de colorantes sintéticos. Además, las betalaínas han demostrado tener un efecto antioxidante y anti degenerativo frente a diversas enfermedades. Estos pigmentos derivan del ácido betalámico: betacianinas (rojo-violeta) y betaxantinas (amarillo-naranja), pero su uso se ha visto limitado por su inestabilidad ante distintos factores fisicoquímicos como la temperatura, el pH, la luz, la actividad enzimática, y la presencia de oxígeno y/o metales (11).

Las semillas de ayrampo tienen aproximadamente 63,7% de humedad, 26,4% de fibras, 2,4% de proteínas, 5% de carbohidratos, 1% de grasas y 1,5% de cenizas. La obtención experimental de extracto colorante por maceración a partir de sus semillas demuestra que las mejores condiciones para realizar este procedimiento son: un tiempo de 38,35 min y una velocidad de agitación de 198,82 rpm, las cuales permiten obtener 177,927 mg de betacianinas/100 g, 69,073 mg de betaxantinas/100 g y 246,9 mg de betalaínas/100 g (12).

Una utilidad práctica del colorante obtenido con las semillas de ayrampo fue como sustitución del extracto de colorante carmín que se usa en un salame. La evaluación sensorial de esta sustitución demuestra que el nivel óptimo de esta corresponde al 15% (13).

La exposición a los rayos ultravioleta dependen de los siguientes factores: a) la posición del sol, pues la radiación es mayor mientras más alta esté su posición, la cual depende no sólo de la hora del día sino también de los días del año; b) latitud,

siendo mayor la radiación cuando está más cerca de la línea ecuatorial; c) altitud, ya que la atmósfera a mayor altitud absorbe menos los rayos UV aumentando la intensidad aproximadamente entre 10 y 12% por cada 1000 metros de altitud; d) nubosidad, si bien la intensidad es máxima cuando hay cielo despejado, la reflexión de las finas partículas de agua puede incrementar la radiación; e) capa de ozono, que absorbe la radiación UV y cuya concentración varía constantemente; f) reflexión del suelo, siendo esta mayor en el suelo cubierto de nieve donde alcanza el 80% (14).

Se ha demostrado que existen distintos ingredientes de origen biológico (carotenoides, polifenoles, extractos de plantas, vitaminas, proteínas, ácidos grasos y otros compuestos) que poseen una gran capacidad antioxidante y antienvjecimiento, ya sea por vía oral o tópica, los cuales no solo han demostrado su eficacia, sino que también demuestran una seguridad apreciable y un alto valor en la industria cosmética (15).

El fotoenvjecimiento cutáneo (FEC) se produce por la combinación del envjecimiento biológico y de los daños generados a largo plazo por la continua exposición al sol. De acuerdo con la literatura científica, este proceso comienza desde que nace el individuo, pero los signos son evidentes a partir de las tres décadas de vida, en tanto, “la celeridad e intensidad del proceso está determinada por el fototipo de piel, los hábitos tóxicos, la alimentación, mecanismos genéticos, las enfermedades concomitantes, la calidad del descanso y el nivel de fotoprotección, entre otros”. El FEC conduce a la pérdida de la elasticidad de la piel, la formación de arrugas, engrosamiento de la dermis y la epidermis, así como despigmentación y telangiectasias (16).

Los protectores solares son productos que se aplican sobre la piel con el fin de protegerla de los efectos de las radiaciones ultravioletas e impedir el paso de un gran porcentaje de estas (17). El factor de protección solar (FPS) se usa para cuantificar la protección que se da frente a quemaduras solares (expresada en tiempo y no en proporción), así un FPS de 30, es capaz de bloquear el 96,7 % de la RUV (17).

Caldas y col. (2016) en su trabajo de investigación analizaron extractos de semillas de Ayrampo (*Opuntia soehrensii B.*), tradicionalmente utilizados en la región andina como fuente de pigmentos, para determinar las betacianinas (BC), los compuestos fenólicos totales (TPC) y la capacidad antioxidante. Se comparó la estabilidad de BC a 80°C hasta 90 min a pH 3, 4 y 5, durante el almacenamiento a 4 y 25°C, y en yogurt (0,1 y 3% de grasa) con extractos de remolacha roja. Las semividas de BC fueron similares entre los extractos de semillas de ayrampo y los extractos de remolacha roja a 80°C, pero durante el almacenamiento a 4 y 25°C, la semivida para el extracto de ayrampo fue aproximadamente tres y dos veces mayor (272 y 26 días) que la semivida del extracto de remolacha roja (95 y 13 días). La retención de color de los yogures teñidos no se vio influenciada por el contenido de grasa, pero los extractos de ayrampo mostraron una mejor retención de color (~95%) a las 4 semanas de almacenamiento en comparación con la remolacha roja (~91%). Se concluye que las semillas de ayrampo contienen BC y fenólicos que contribuyen a la capacidad antioxidante con un gran potencial como colorante natural para alimentos funcionales (14).

Falcón y Juárez (2016) en su tesis plantearon como objetivo evaluar el contenido de Polifenoles Totales y Betalaínas en una bebida elaborada a partir de Sancayo (*Corryocactus brevistylus*) y Ayrampo (*Opuntia soehrensii B.*). La bebida se realizó utilizando tres proporciones de Pulpa de Sancayo: Extracto de Ayrampo, A (1:2), B (1:1), C (2:1), con una dilución de 1:3 (pulpa: agua); que fueron almacenadas a 4 y 20°C por un periodo de 60 días. Para la cuantificación de Polifenoles Totales se empleó el método de Folin-Ciocalteu y las Betalaínas, utilizando un espectrofotómetro Gold Spectrumlab 54. El extracto de Ayrampo presentó 5°Brix, 3.56 de pH, 1.2% de acidez y 4.2 de índice de madurez. El contenido inicial de polifenoles extracto de Ayrampo fue de 9.08 mg EAG/g. La variación de °Brix, pH y acidez fue mínima; respecto a la estabilidad del contenido de Polifenoles Totales y Betalaínas estas fueron evaluadas respecto a su porcentaje de pérdida durante el almacenamiento; obteniendo así, para polifenoles en la bebidas A(18,47%), B(16,94%), C(12,72%) y para betalaínas A(28,93%), A4(21,19%), B(30,44%), B4(28,25%), C(29,81%), C4(26,47%). La bebida que mejor mantiene el contenido

de Polifenoles y Betalaínas, es la que se elaboró con la proporción C (2:1); almacenado a 4°C. Las pruebas fisicoquímicas realizadas a la mejor bebida donde determinaron una humedad del 66,14%), carbohidratos (32,59%), fibra (0,85%), proteínas (0,19%), grasa (0,17%) y ceniza (0,06%). Los autores concluyen que es importante evaluar las diferencias que pueden generarse por el grado de madurez de los frutos, y analizar en futuro estudios la microencapsulación para obtener una mayor estabilidad y cantidad de polifenoles y betalaínas (15).

Guija y col. (2013) en su trabajo de investigación describieron los efectos antioxidantes y antiinflamatorio del ayrampo sobre la inflamación gastrointestinal aguda inducida por indometacina en ratas. La capacidad antioxidante fue determinada mediante la técnica FRAP y para determinar los polifenoles se empleó el reactivo de Folin-Ciocalteu, El análisis inmuno-histoquímico se realizó mediante la técnica de Ramos-Vara usando anticuerpos monoclonales anti-Cox-1 y anti-Cox-2, con una muestra formada por 4 grupos de 10 ratas albinas cada uno. Al primer grupo se le administró suero fisiológico (control), al segundo grupo se le administró sólo una dosis de indometacina (7,5mg/kg), al tercer grupo se le administró, además de la dosis de indometacina, 2,0 ml de extracto acuoso de ayrampo por vía oral; y al cuarto grupo se le administró la dosis de indometacina junto a una dosis de celecoxib (7,5mg/kg). Los resultados evidencian que la capacidad antioxidante FRAP del ayrampo es de 5,52/100 g de fruta y su contenido de polifenoles es de 192 equivalentes de ácido gálico/100 g. En el aspecto inmuno-histoquímico, el grupo al que se le administró el extracto acuoso de ayrampo presentó una moderada formación de COX-1 y una escasa expresión de COX-2 (16).

Desde un punto de vista teórico, el presente estudio busca ampliar la información existente en torno a esta planta propia de la sierra peruana y cuyas propiedades todavía son motivo de investigación, tanto por su utilidad nutricional como por su potencial farmacológico. Además, debe resaltarse que la mayoría de estudios se centra más en la variedad de color rojo, por lo que un estudio sobre la variedad amarilla sería de gran utilidad.

Desde un punto de vista social, la obtención de resultados positivos en relación a esta planta podría servir de referencia para impulsar en los gobiernos regionales de aquellos departamentos donde crece esta planta una mayor inversión para el desarrollo de productos industriales que aprovechen la capacidad antioxidante del ayrampo.

El objetivo general del estudio es evaluar la capacidad antioxidante y fotoprotectora in vitro de la crema gel elaborada con extracto acuoso de la cáscara de la variedad amarilla del fruto de *Opuntia soehrensii* B. (ayrampo).

II. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1 ENFOQUE Y DISEÑO DE INVESTIGACIÓN

La siguiente investigación presenta un enfoque cuantitativo, pues se basa en datos medibles para determinar una concentración específica que garantice el efecto antirradicalario mediante el método DPPH y la capacidad fotoprotectora mediante el método de Mansur de la crema gel elaborada con extracto acuoso de las cáscaras de los frutos de *Opuntia soehrensii* B. El diseño es experimental y explicativa pues busca la relación de causa y efecto para demostrar los efectos antirradicalarios y la capacidad fotoprotectora a concentraciones experimentales.

2.2 POBLACIÓN

Se desarrollan formulaciones de crema gel a partir del extracto acuoso de la cáscara de los frutos del ayrampo colectados en el departamento de Arequipa; y se realiza un muestreo por conveniencia para la muestra de formulaciones.

2.3 VARIABLE DE ESTUDIO

El presente trabajo de investigación cuenta con dos variables, la primera es la variable independiente, crema gel del extracto acuoso de la cáscara de los frutos de *Opuntia soehrensii* B. (ayrampo).

La variable dependiente será la capacidad antioxidante y la capacidad fotoprotectora de la crema gel elaborada.

2.4 TÉCNICAS E INSTRUMENTOS DE RECOLECCIÓN DE DATOS

La colecta de datos se realizará mediante fichas de recolección de resultados obtenidos de la experimentación para determinar la capacidad antioxidante y capacidad fotoprotectora de la crema gel.

2.5 PROCESO DE RECOLECCIÓN DE DATOS

2.5.1 Recolección y selección de muestra botánica

El cactus *Opuntia soehrensii* B. se colecta de Cotahuasi, La Unión, Arequipa. Se recolecta aproximadamente 3 kg en peso de los frutos del cactus como muestra y se muestrea de forma aleatorizada por conglomerado 1 kg de las mismas previamente acondicionadas, seleccionadas de tal manera que tengan la menor imperfección o manchas.

2.5.2 Preparación de la muestra

Luego se procede al lavado de la cáscara con agua destilada y se divide en trozos pequeños, para pesar.

2.5.3 Obtención del extracto acuoso de ayrampo

En un beacker de 1000 mL, se colocó 100 gramos de cáscara de los frutos de ayrampo y se adicionó 500 mL de agua destilada. Luego se procede a hervir a 90°C durante 30 minutos, en constante recuperación de agua destilada.

Se elaboró el extracto acuoso con muestra fresca y se concentró al 20%. Luego se realizó el filtrado en malla de nylon. Luego, los extractos pasaron al estudio fitoquímico.

2.5.4 Tamizaje fitoquímico de los extractos acuosos

El estudio fitoquímico de los extractos acuosos se realizó mediante pruebas de coloración y precipitación (22, 23).

2.5.5 Cuantificación de compuestos fenólicos del extracto acuoso

Se procedió según método de Folin Ciocalteu (tungstato-fosfomolibdico; carbonato de sodio al 20%) que consiste en la capacidad de los fenoles de interactuar frente a agentes oxidantes y se da una reacción debido a la formación de un complejo de

coloración azul y esto se lee a una absorbancia de 760 nm obteniendo el contenido total de fenoles (24).

Procedimiento

Se prepararon soluciones de:

- Solución estándar de ácido gálico 1000ppm (solución madre).
- Solución de carbonato de sodio 20%: (20g de carbonato de sodio anhidro disueltos en una fiola de 100mL).

De la solución estándar de ácido gálico se realizaron diluciones para obtener soluciones de 5, 25, 50, 100, 250 y 500 ppm, y se construyó la curva de calibración.

Para la determinación de compuestos fenólicos se colocó 0,1 ml de extracto acuoso (10%, 20% y 50%) en tres tubos respectivamente luego se agregó a cada tubo 1,5 ml de Folin Ciocalteu, se homogenizo y dejó en reposo durante 5 minutos. Luego se añadió 1,5 ml de carbonato de sodio 20% y se dejó en reposo por 2 horas a temperatura ambiente y a oscuridad y se leyó a 760 nm es el espectrofotómetro.

2.5.6 Evaluación de la capacidad antioxidante del extracto acuoso y crema gel

Esta prueba se realizó mediante la reacción de la muestra con el radical libre DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidracilo) y tiene como objetivo determinar la capacidad de neutralizar agentes oxidantes en este caso radicales libres y al darse la reacción entre el radical y el antioxidante cuando el radical se reduce ante el antioxidante se presenta una decoloración de azul a amarillo claro y se llevó a lectura de espectrofotómetro a 517 nm; y se usa como estándar TEAC (Trolox equivalent antioxidant capacity) y VEAC (vitamin C equivalent antioxidant capacity), mediante la realización de curvas estándar (24).

Procedimiento

Se prepararon las siguientes soluciones:

- Solución estándar metanólica de Trolox 1000 uM (solución madre)
- Solución estándar solución metanólica de DPPH 0,1 mM
- Blanco: Se mezcló 0,1 mL de agua y 3,9 mL de metanol, para ajustar el espectrofotómetro a cero.

A partir de la solución estándar de Trolox, se realizaron diluciones en metanol de 100, 200, 400 y 800 μ M, y se realizó la curva de calibración

Para evaluar la actividad antioxidante se colocan 3 tubos con 0,1 ml de extracto acuoso (50%), y se añadió el estándar de DPPH, se homogenizó y se dejó en reposo y reposo a 30 minutos a temperatura ambiente y se leyó a 517 nm en el espectrofotómetro.

Se calcula el porcentaje de inhibición del radical DPPH con la ecuación DPPH remanente (%) = $(A_o - A_f) / A_o \times 100$, A_o : absorbancia inicial del DPPH, A_f : absorbancia final DPPH después de 30 min y se calcula la actividad antioxidante equivalente a Trolox. Se despeja X de la ecuación de la recta del estándar de Trolox ($Y = aX + b$), el valor obtenido se multiplica el factor de dilución para obtener la actividad antioxidante equivalente a Trolox real. Y se expresan en μ mol de Trolox/100mL del extracto.

2.5.7 Desarrollo de las formulaciones fotoprotectoras

Para la elección de la forma farmacéutica tópica es importante tener en cuenta la factibilidad de fabricación, compatibilidad con el extracto, aspecto, costo, estabilidad y seguridad. Asimismo, la selección de los excipientes se realizó evaluando la solubilidad, compatibilidad, aspecto, costo, estabilidad y seguridad.

Tabla 1. Formulación de la crema gel con ayrampo

FORMULACIONES	COMPOSICIÓN
Formulación 1: Crema gel en una concentración de 20% de cáscara de <i>Opuntia</i> y filtro solar.	Extracto acuoso a una concentración de 50% de cáscara de <i>Opuntia</i> en proporción del 15%. Filtro solar, benzofenona 4. Ácido ascórbico. Crema gel base.
Formulación 2: Crema gel en una concentración de 20% de cáscara de <i>Opuntia</i>.	Extracto acuoso a una concentración de 50% de cáscara de <i>Opuntia</i> 15%. Ácido ascórbico. Crema gel base.
Formulación 3: Crema gel con filtro solar.	Filtro solar, benzofenona 4. Ácido ascórbico. Crema gel base.

2.5.8 Análisis fisicoquímico y sensorial del producto terminado

Se realizó el análisis físico y sensorial de las formulaciones tomando en cuenta el aspecto, color, olor, pH y consistencia.

- Determinación de pH de la crema gel

La muestra en solución fue filtrada en papel filtro y se determinó el pH del filtrado mediante pH metro marca ISOLAB.

2.5.9 Determinación *in vitro* del Factor de Protección Solar (FPS) de las formulaciones

La determinación del Factor de Protección Solar del producto terminado se realizó según la técnica de Mansur 1986 (25).

Se procede a leer a muestra diluida en etanol en el espectrofotómetro a una concentración de 0,2 mg/ml se pesó 1,0 g de muestra de producto terminado y se llevó a fiola de 100ml y se añade 50ml de etanol P.A se agito 5 minutos, y se homogeniza y filtra luego y se tomó una alícuota de 5,0 ml se lleva a una fiola de 50ml y se diluye con etanol P.A y se lleva a fiola de 25 ml, se lee a 290, 295, 300,

305 ,310 ,315 y 320; luego se relacionan los valores obtenidos según la formulación de FPS, el rango es de 290 a 320 nm.

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

Donde:

FPS= Factor de Protección Solar

FC= 10 (factor de corrección)

EE= efecto eritemogénico de la radiación de longitud de onda

I= intensidad del sol en la longitud de onda

Abs= absorbanza de la solución en la longitud de onda

La relación entre el efecto eritemogénico y la intensidad de la radiación de cada longitud de onda (EE x I).

Tabla 2. Relación del efecto eritemogénico (EE) frente a la intensidad de la radiación (I) en cada longitud de onda (Fuente: Sayre R. et al 1979)

Longitud de onda (nm)	EE (λ) x I (λ)
290	0.0150
295	0.0817
300	0.2874
305	0.3278
310	0.1864
315	0.0839
320	0.0180

2.5.10 Análisis espectral de las formulaciones

Se determino las absorbanzas de la muestra diluida mediante espectrofotómetro UV-visible marca ThermoScientific para el análisis del FPS (10mg/mL).

2.6 Métodos de análisis estadísticos

Para el análisis estadístico se ha utilizado el programa Microsoft Excel 2016, considerando la estadística descriptiva para mostrar los resultados obtenidos.

2.7 Aspectos éticos

El trabajo se realizó bajo las condiciones de las buenas prácticas de laboratorio y normativas internas del Instituto de Investigación Traslacional y Biotransversal Ayru ubicado en el distrito de Cieneguilla, Lima.

III. RESULTADOS

3.1 Del ensayo organoléptico del extracto acuoso

Tabla 3. Características del extracto acuoso de ayrampo

<i>Característica</i>	<i>Extracto acuoso</i>
Aspecto	Líquido
Color	Amarillento
Olor	Característico
Sabor	Astringente
pH	6.78

3.2 Del tamizaje fitoquímico

Tabla 4. Metabolitos hallados en el extracto acuoso de ayrampo

<i>Metabolito</i>	<i>Reactivo</i>	<i>Resultado</i>
Compuestos fenólicos	Cloruro férrico	+++
Flavonoides	Rx. Shinoda	+++
Taninos	Gelatina	++
Alcaloides	Rx. Mayer	-
Saponinas	Prueba de espuma	-
Esteroides y triterpenoides	Rx Lieberman Burchard	-

Leyenda: (+++) Abundante, (++) Regular, (+) Poco (+), Ausente (-)

3.3 Cuantificación de compuestos fenólicos del extracto y crema gel

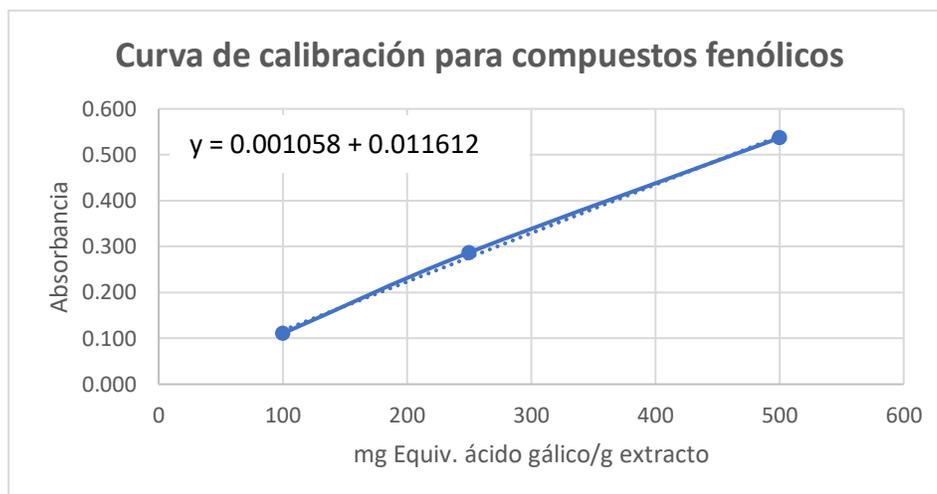


Gráfico 1. Curva de calibración para compuestos fenólicos

Tabla 5. Compuestos fenólicos expresados en Equivalentes Ácido Gálico

DETERMINACIÓN	EXTRACTO	CREMA GEL
Fenoles totales (mg Equivalente ácido gálico/g extracto o crema gel)	382,7132	237,1273

3.4 Evaluación de la capacidad antioxidante del extracto

Tabla 6. Resultados del patrón de referencia para DPPH: Trolox

ECUACION RECTA DE TROLOX	100	200	400	800	1000
Absorbancias	0.814	0.721	0.536	0.204	0.028
Abs. Inicial DPPH:	0.813	0.724	0.538	0.211	0.021
0,8667	0.809	0.723	0.533	0.206	0.023
Promedio de absorbancias	0.812	0.723	0.536	0.207	0.024
Abs. Inicial DPPH – promedio Abs. TROLOX	0.055	0.144	0.331	0.660	0.843
% Inhibición	6.308	16.615	38.192	76.115	97.231

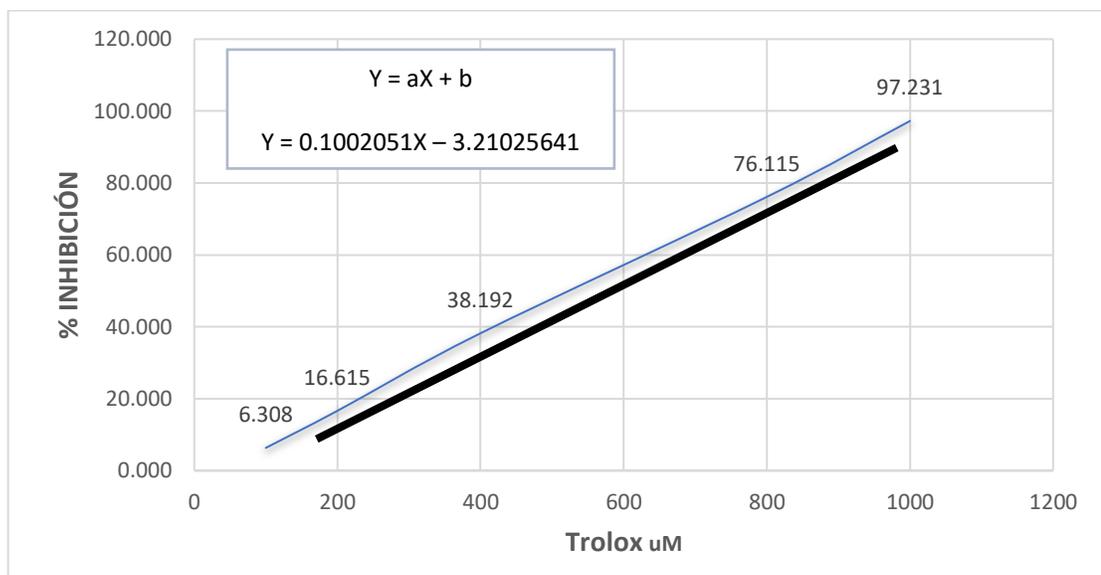


Gráfico 2. Recta de Trolox para DPPH

3.4.1 De la capacidad antioxidante del extracto acuoso de ayrampo

Según el método de DPPH, se obtuvieron: 962,436 en 1000 $\mu\text{g/mL}$, 782,996 en 500 $\mu\text{g/mL}$ y 426,612 en 100 $\mu\text{g/mL}$, del extracto acuoso siendo estos valores expresados en μM Equivalente Trolox.

Tabla 7. Resultados de la actividad antioxidante del extracto

EXTRACTO DE AYRAMPO	1000 $\mu\text{g/mL}$	500 $\mu\text{g/mL}$	100 $\mu\text{g/mL}$
Absorbancias	0.056	0.214	0.521
(Abs. Inicial DPPH: 0.8667)	0.058	0.215	0.527
	0.062	0.218	0.526
Promedio de absorbancias	0.059	0.215	0.524
Abs. DPPH - Abs. Muestra	0.808	0.652	0.343
% Inhibición	93.231	75.250	39.538
μM Equivalente Trolox	962.436	782.996	426.612

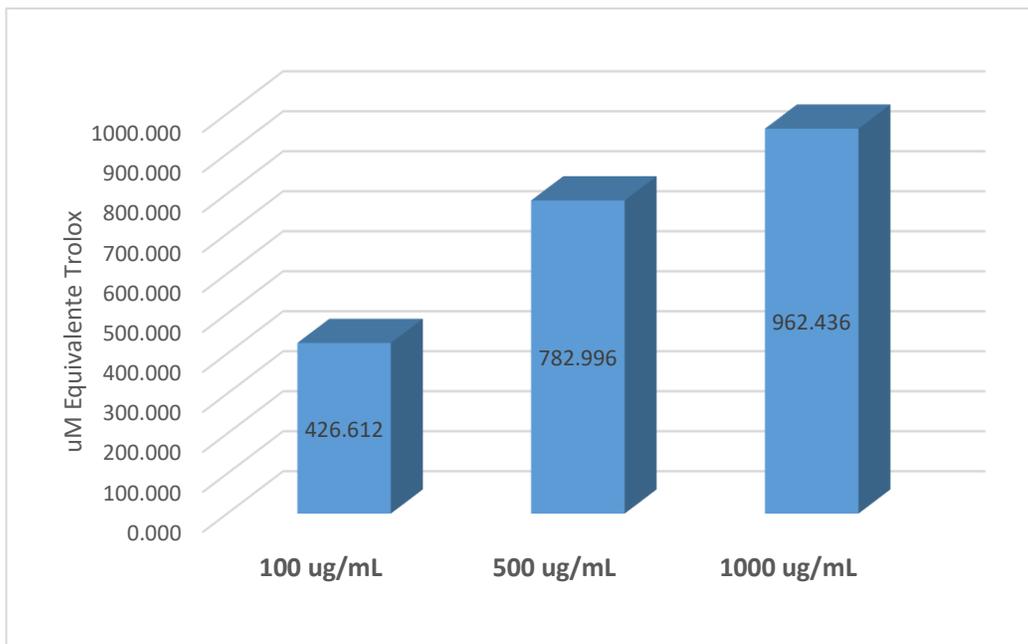


Gráfico 3. Actividad antioxidante del extracto acuoso en µM Equiv. Trolox

3.4.2 De la capacidad antioxidante de la crema gel a base del extracto

Según el método de DPPH, se obtuvieron: 608.930 en 1000 µg/mL, 445.612 en 500 µg/mL y 114.560 en 100 µg/mL, de la crema gel siendo estos valores expresados en µM Equivalente Trolox.

Tabla 8. Resultados de la actividad antioxidante de la crema gel

CREMA GEL DE EXTRACTO	1000 µg/mL	500 µg/mL	100 µg/mL
Absorbancias	0.368	0.503	0.796
(Abs. Inicial DPPH:	0.362	0.512	0.794
0.8667)	0.367	0.507	0.793
Promedio de absorbancias	0.366	0.508	0.795
Abs. DPPH - Abs. Muestra	0.501	0.359	0.072
% Inhibición	57.808	41.442	8.269
µM Equivalente Trolox	608.930	445.612	114.560

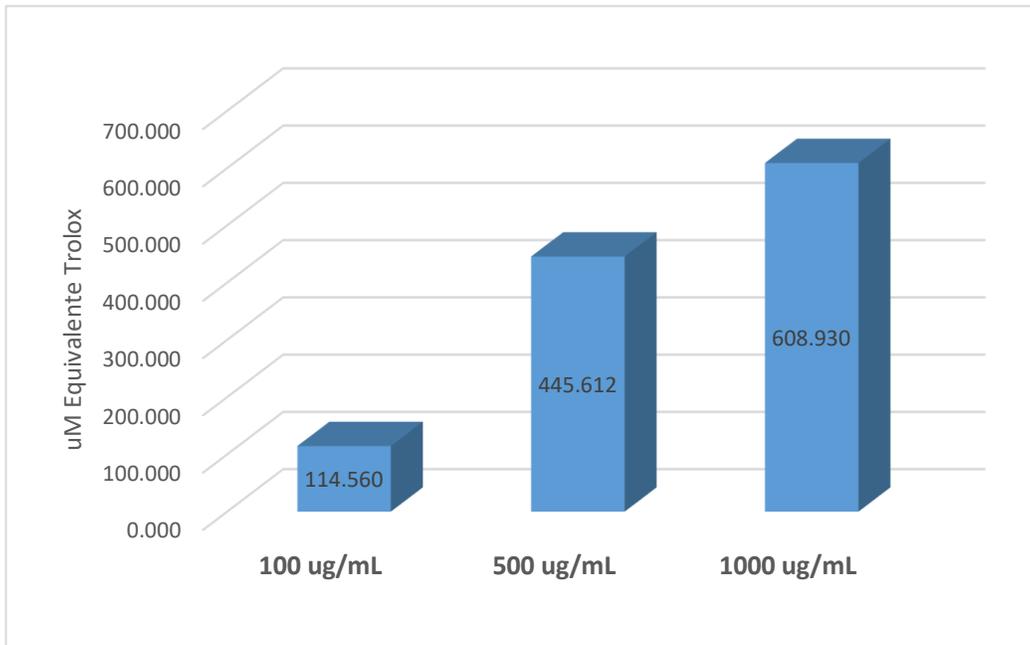


Gráfico 4. Actividad antioxidante de la crema gel en μM Equiv. Trolox

3.5 Evaluación de la capacidad fotoprotectora de la crema gel

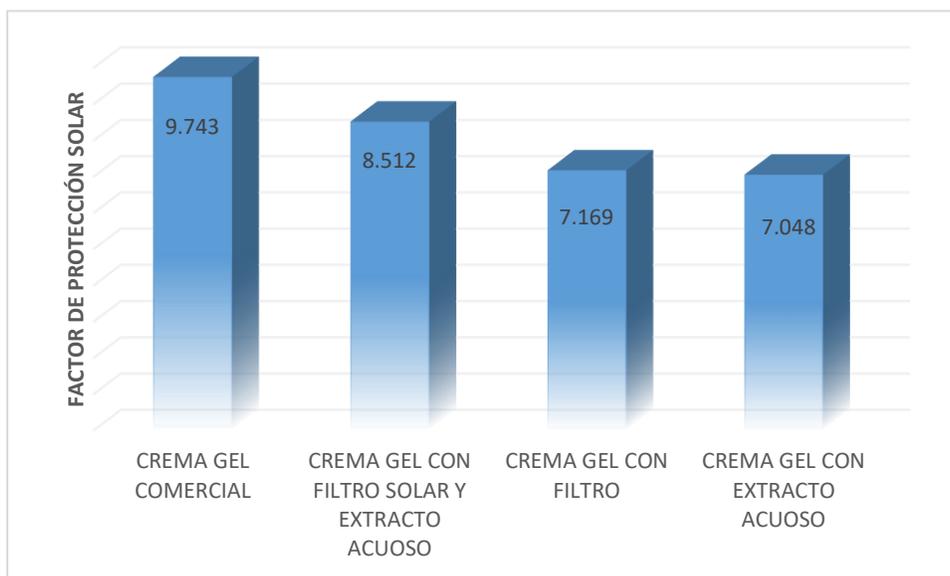


Gráfico 5. Factor de protección solar de la crema gel de ayrampo

IV. DISCUSIÓN

4.1 DISCUSIÓN

La formulación de crema gel con extracto acuoso de las cáscaras de los frutos de ayrampo presentó compuestos fenólicos a los que se les atribuye la capacidad antioxidante potenciando y otorgando valor agregado a la crema gel. Al comparar con los resultados de Moya (2017) que realizó una formulación tópica fotoprotectora como compuestos fenólicos obtuvo 134,73 mg Equivalente ácido gálico a comparación de una mayor cantidad de fenólicos en la crema gel con ayrampo 237,13 mg Equivalente ácido gálico.

En la actividad antioxidante la crema gel presentó 962,436 equivalente Trolox/ mL en comparación de 81,22 mg/mL de la formulación tópica. Y respecto a la determinación del FPS se obtuvo 7,048 al comparar con Moya que obtuvo 12,05; considerando que la crema gel ha sido desarrollado con ingredientes naturales.

Debido a la naturaleza de la muestra que es un desecho natural que normalmente no se consume, y que en esta investigación se logró obtener buenos resultados al poder incluirla dentro de un producto cosmético como lo es la crema gel brinda los beneficios de ser antioxidante y fotoprotectora, debido a su composición química, al ser comparada con como la formulación tópica de Moya (2017) que presenta extracto de la planta *Fragaria vesca* L. La crema gel desarrollada a base de cáscara de ayrampo presento valores superiores respecto a los compuestos fenólicos, actividad antioxidante y capacidad fotoprotectora.

En relación a la actividad fotoprotectora esta fue comparada con un fotoprotector en crema de uso comercial, los resultados fueron de 8,512 a 9,743 de FPS con lo cual tenemos valores semejantes con una diferencia no mayor a 1.5 de FPS, con lo cual se elaboró un producto de tipo cosmético con una buena actividad antioxidante y un FPS similar a lo que se comercializa.

4.2 CONCLUSIONES

- La crema gel elaborada con extracto acuoso al 20% con cáscara fresca de los frutos de ayrampo presenta capacidad antioxidante y fotoprotectora relacionado con la cantidad de compuestos fenólicos determinados.

4.3 RECOMENDACIONES

- Se recomienda continuar con las investigaciones preclínicas y clínicas para implementar el uso de un producto natural con validez científica.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Zuloaga, F. O., O. Morrone, M. J. Belgrano, C. Marticorena & E. Marchesi. (eds.) Catálogo de las plantas vasculares del Cono Sur. Monogr. Syst. Bot. Missouri Bot. Gard. 2008; 107(1–3): i–xcvi, 1–3348. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/262688294_Catalogo_de_las_Plantas_Vasculares_del_Cono_Sur_Argentina_Sur_de_Brasil_Chile_Paraguay_y_Uruguay_volumen_2_Dicotyledoneae-Acanthaceae-Fabaceae
2. Jorge P., Troncoso L. Capacidad antioxidante del fruto de la *Opuntia apurimacensis* (ayrampo) y de la *Opuntia ficus-indica* (tuna). An. Fac. med., 2016; 77 (2): 105-109. Disponible en: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1025-55832016000200002&lng=es
3. Jiménez, Y. Evaluación de la estabilidad del colorante de airampo (*Opuntia soehrensii* B. Britton & Rose). [Tesis] Huancayo: Universidad Nacional del Centro del Perú, 2014. Disponible en: <http://repositorio.uncp.edu.pe/handle/UNCP/2653>
4. Rivera, H. A., Hernández, G., Romero, C., Regulska, E., Jürgensen, N., Zimmermann, J., Salazar, K., Quintana, M. E. Extraction of 2'-O-apiosyl-6'-O-crotonic acid-betanin from the ayrampo seed (*Opuntia soehrensii* B.) cuticle and its use as an emitting layer in an organic light-emitting diode. RSC Advances, 2020; 10(60), 36695-36703. Disponible en: <https://pubs.rsc.org/en/content/articlehtml/2020/ra/d0ra05543c>
5. Apaza, A. Influencia de parámetros fisicoquímicos en la extracción de pigmentos de ayrampo (*Opuntia Soehrensii* B. B.), sobre el contenido de fenoles totales, betacianinas totales y capacidad antioxidante. [Tesis] Moquegua: Universidad Nacional de Moquegua, 2017. Disponible en: <https://repositorio.unam.edu.pe/handle/UNAM/57>
6. Carpio, Y. L., & Portugal, J. L. Determinación de parámetros tecnológicos para la obtención de un colorante natural de Ayrampo (*Opuntia Soherensii*) y

- su aplicación en la obtención de un alimento a base de harina de yuca (Manihot Esculenta Crantz). [Tesis] Arequipa: Universidad Nacional San Agustín, 2014. Disponible en: <http://repositorio.unsa.edu.pe/handle/UNSA/3931>
7. Soto, E. Productos derivados del Ayrampo para mejorar la calidad de vida del centro poblado de Callqui Chico. [Tesis] Huancavelica: Universidad Nacional de Huancavelica, 2013. Disponible en: <http://repositorio.unh.edu.pe/handle/UNH/417>
 8. Condori, I., Loayza, M., Quispe, H. Actividad antipirética de un extracto fluido de *Opuntia* Aff. *soehrensii* B. Britton & Rose en ratas. Invest. And, 2007; 2 (2):90-92. Disponible en. <http://repebis.upch.edu.pe/cgi-bin/wxis.exe/iah/scripts/?IsisScript=iah.xis&lang=es&base=lipecs&nextAction=lnk&exprSearch=ANALGESICOS%20NO%20NARCOTICOS&indexSearch=MH>
 9. Merino, J., Pérez, K. Efecto antihipertensivo del extracto hidroalcohólico de la semilla de *Opuntia soehrensii* B. britton & rose (ayrampo) con inducción en ratas albinas. [Tesis] Lima: Universidad Inca Garcilaso de la Vega, 2019. Disponible en: <http://repositorio.uigv.edu.pe/handle/20.500.11818/4225>
 10. Soto, H. Efecto Antibacteriano y Antifúngico comparativo de los extractos acuosos del *Zea mays* L. (maíz morado), *Rubus glaucus* (mora andina); *Opuntia soherensii* (ayrampo) y diseño de un gel de limpieza cutánea. [Tesis] Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos, 2014. Disponible en: <https://core.ac.uk/download/pdf/323348527.pdf>
 11. Flores, M. A., Rentería, A. L., Sánchez, R., & Chávez, A. Estructura y estabilidad de las betalaínas. Interciencia, 2019; 44(6), 318-325. Disponible en: <https://www.redalyc.org/jatsRepo/339/33960068002/html/index.html>
 12. Justo, R. N. Obtención de extracto colorante por maceración a partir de las semillas de ayrampo (*Opuntia soehrensii* B.) procedentes de la provincia de Candarave. [Tesis] Tacna: Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann, 2018. Disponible en: <http://repositorio.unjbg.edu.pe/handle/UNJBG/3246>

13. Quispe, V. d. C. Sustitución del colorante carmín por un colorante natural a base de ayrampo (*Opuntia soehrensii* B.) en la elaboración de salame. [Tesis] Lima: Universidad Le Cordon Bleu, 2019. Disponible en: <http://repositorio.ulcb.edu.pe/handle/ULCB/53>
14. Arellano, I., Alcalá, D., Barba, J. F., Ortega, B. C., Castanedo, J. P., de la Barreda Becerril, F., & Juárez, L. Recomendaciones clínicas para la fotoprotección en México. *Dermatología CMQ*, 2014; 12(4), 243-255. Disponible en: <https://www.medigraphic.com/pdfs/cosmetica/dcm-2014/dcm144e.pdf>
15. Schalka S, González S, Vidal-Asensi S, Piaserico S. Simposio Satélite IFC: enfoque 360° a la fotoprotección. *Med Cutan Iber Lat Am*. 2013; 41(2):81-94.
16. Vallejo EO, Vargas N, Martínez LM, Agudelo CA, Ortiz IC. Perspectiva genética de los rayos UV y las nuevas alternativas de protección solar. *Rev Argent Dermatol*. 2013; 94(3). Disponible en: http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1851-300X2013000300002
17. Guerra, M, Alemán, AD., & Román, Y. Photoprotection and photodamage in the childhood and adolescence. *MEDISAN*, 2018; 22(8), 804-815. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1029-30192018000800804&lng=es&tlng=en
18. Suárez H, Acosta D, Cadena C. Protección anti-UV de cremas fotoprotectoras: determinación in vitro del factor de protección solar (FPS). *Avances en Energías Renovables y Medio Ambiente*. 2009; 13. Disponible en: <https://docplayer.es/15455402-Proteccion-anti-uv-de-cremas-fotoprotectoras-determinacion-in-vitro-del-factor-de-proteccion-solar-fps-suarez-h-1-acosta-d-2-cadena-c.html>
19. Caldas, J. P., Morales, P., Ludeña, F., Betalleluz, I., Chirinos, R., Noratto, G., & Campos, D. Stability of betacyanin pigments and antioxidants in ayrampo (*Opuntia soehrensii* B. Britton and Rose) seed extracts and as a yogurt natural colorant. *Journal of Food Processing and Preservation*, 2016; 40(3):

- 541-549. Disponible en:
<https://ifst.onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/jfpp.12633>
20. Falcón, J., Juárez, R. Evaluación del contenido de polifenoles y betalainas en una bebida elaborada a partir de Sancayo (*Corryocactus Brevistylus*) y Ayrampo (*Opuntia Soehrensii B.*). [Tesis] Arequipa: Universidad Nacional San Agustín, 2016. Disponible en:
<http://repositorio.unsa.edu.pe/handle/UNSA/4180>
21. Guija, E., Amiel, J., Enciso, J., Reátegui, O., Fukusaki, A. Efecto antioxidante e inhibidor de la *Opuntia soehrensi* (ayrampo) sobre la actividad de la COX-1 y COX-2 en la inflamación gastrointestinal aguda inducida por indometacina en ratas. Lima: Primera Jornada Científica y de Investigación de la Universidad Científica del Sur, 2013. Disponible en:
<https://issuu.com/bibliotecacientifica/docs/jornada/44>
22. Bruneton, J (2001). Farmacognosia. Fitoquímica. Plantas Medicinales, 2° edición. Zaragoza: Acribia.
23. Lock de Ugaz, O (1994). Investigación Fitoquímica. Métodos en el estudio de productos naturales, 2° edición. Perú: Fondo Editorial de la Pontificia Universidad Católica del Perú.
24. Cruzado, M., Pastor, A., Castro, N., Cedrón, J. Determinación de compuestos fenólicos y actividad antioxidante de extractos de alcachofa (*Cynara scolymus L.*) Revista de la Sociedad Química del Perú. 2013; 79(1): 57-63.
25. Mansur J, Breder M, Mansur M, Azulay R. Determinação do fator de proteção solar por espectrofotometria. An. Bras. Dermatol. 1986; 61 (1): 121-124.

ANEXOS

Anexo A. Operacionalización de la variable

VARIABLE INDEPENDIENTE	DIMENSIONES	TIPO	ESCALA	INDICADORES	UNIDAD DE MEDIDA
Crema gel elaborado con extracto acuoso de las cáscaras de los frutos de ayrampo	Concentración	Cuantitativo	Ordinal	Extracto acuoso 20%	Porcentaje
	Compuestos fenólicos	Cuantitativo	Ordinal	Fenoles totales	Mg Equivalente ácido gálico/ g extracto o crema
Capacidad antioxidante <i>in vitro</i>	Inhibición de radical DPPH	Cuantitativo	Ordinal	Equivalente antioxidante	μM Equivalente Trolox
Capacidad fotoprotectora <i>in vitro</i>	Factor de Protección Solar	Cuantitativo	Ordinal	FPS	Dato numérico

Anexo B. Colección de fotografías



Fruto del ayrampo



Evaluación espectrofotométrica



Pesaje de ingredientes