

UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN ANTONIO ABAD DEL CUSCO

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

ESCUELA PROFESIONAL DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA



TESIS

**ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE Y FOTOPROTECTORA UVB *In vitro* DE UN
CREMIGEL ELABORADO CON EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DE
Nostoc sphaericum Vaucher ex Bornet & Flahabit, Cushuro**

PRESENTADA POR:

Br. ADELY NATALIA PUMA CALVO

**PARA OPTAR AL TÍTULO PROFESIONAL DE
QUÍMICO FARMACÉUTICO**

ASESORA:

Dra. CARLA DEL CARPIO JIMÉNEZ

CUSCO-PERÚ

2024

INFORME DE ORIGINALIDAD

(Aprobado por Resolución Nro.CU-303-2020-UNSAAC)

El que suscribe, **Asesor** del trabajo de investigación/tesis titulada: ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE Y FOTOPROTECTORA *in vitro* DE UN CREMIGEL ELABORADO CON EXTRACTO HIDROALCOHOLICO DE *Nostoc sphaericum* Vaucher ex Bornet & Flahabrt, Cuzhuro

Presentado por: ADELY NATALIA TRUJANA CALVO DNI N° 73078640

presentado por: DNI N°:

Para optar el título profesional/grado académico de QUIMICO FARMACEUTICO

Informo que el trabajo de investigación ha sido sometido a revisión por 2 veces, mediante el Software Antiplagio, conforme al Art. 6° del **Reglamento para Uso de Sistema Antiplagio de la UNSAAC** y de la evaluación de originalidad se tiene un porcentaje de 09 %.

Evaluación y acciones del reporte de coincidencia para trabajos de investigación conducentes a grado académico o título profesional, tesis

Porcentaje	Evaluación y Acciones	Marque con una (X)
Del 1 al 10%	No se considera plagio.	<input checked="" type="checkbox"/>
Del 11 al 30 %	Devolver al usuario para las correcciones.	<input type="checkbox"/>
Mayor a 31%	El responsable de la revisión del documento emite un informe al inmediato jerárquico, quien a su vez eleva el informe a la autoridad académica para que tome las acciones correspondientes. Sin perjuicio de las sanciones administrativas que correspondan de acuerdo a Ley.	<input type="checkbox"/>

Por tanto, en mi condición de asesor, firmo el presente informe en señal de conformidad y **adjunto** las primeras páginas del reporte del Sistema Antiplagio.

Cusco, 10 de abril de 2025



Firma

Post firma CARLA DEL CARIPIO JIMENEZ

Nro. de DNI 23945000

ORCID del Asesor 0000-0001-7487-354x

Se adjunta:

1. Reporte generado por el Sistema Antiplagio.
2. Enlace del Reporte Generado por el Sistema Antiplagio: **oid:** 27259:447075153

ADELY NATALIA PUMA CALVO

ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE Y FOTOPROTECTORA UVB In vitro DE UN CREMIGEL ELABORADO CON EXTRACTO HIDROA...

 Universidad Nacional San Antonio Abad del Cusco

Detalles del documento

Identificador de la entrega

trn:oid:::27259:447075153

Fecha de entrega

8 abr 2025, 2:30 p.m. GMT-5

Fecha de descarga

8 abr 2025, 2:36 p.m. GMT-5

Nombre de archivo

ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE Y FOTOPROTECTORA UVB In vitro DE UN CREMIGEL ELABORADO CON....pdf

Tamaño de archivo

3.1 MB

139 Páginas

24.129 Palabras

141.539 Caracteres

9% Overall Similarity

The combined total of all matches, including overlapping sources, for each database.

Filtered from the Report

- ▶ Bibliography
- ▶ Quoted Text
- ▶ Small Matches (less than 15 words)

Exclusions

- ▶ 9 Excluded Matches

Top Sources

- 9%  Internet sources
- 1%  Publications
- 2%  Submitted works (Student Papers)

Integrity Flags

1 Integrity Flag for Review

-  **Replaced Characters**
42 suspect characters on 11 pages
Letters are swapped with similar characters from another alphabet.

Our system's algorithms look deeply at a document for any inconsistencies that would set it apart from a normal submission. If we notice something strange, we flag it for you to review.

A Flag is not necessarily an indicator of a problem. However, we'd recommend you focus your attention there for further review.

DEDICATORIA

Este trabajo, fruto de mi esfuerzo y perseverancia, lo dedico en primer lugar a Dios, quien me ha brindado la oportunidad de seguir creciendo en mi formación profesional.

A mis amados padres, Juana Calvo y Juan Puma, cuyo amor, paciencia y sacrificio han hecho posible que hoy cumpla un sueño más. Papá, quiero expresarte mi eterna gratitud por tu amor incondicional; aunque ya no estés físicamente, sigues siendo mi mayor inspiración y motivación. Este logro es un homenaje a ti y a todo lo que representas en mi vida.

A mis queridos hermanos, Kamila y Juan David, por sus palabras de aliento y su constante apoyo.

Y, finalmente, a cada uno de mis amigos que, en distintos momentos, me brindaron su ayuda y compañía. A todos, gracias por ser parte de este camino y permitirme dar un paso más hacia mis metas.

La tesisista

AGRADECIMIENTOS

Expreso mi profundo agradecimiento a la Escuela de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco por brindarme la oportunidad de desarrollar mi formación académica y profesional.

A mis docentes de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica, gracias por compartir sus conocimientos, experiencias y enseñanzas, que han sido fundamentales para mi crecimiento y preparación como un profesional competente y comprometido.

A la Dra. Carla del Carpio Jiménez por su gran labor de docente e investigadora, como profesional y persona. Su guía, orientación, paciencia y dedicación fue fundamental en cada paso de la investigación y brindarme todas las posibilidades para poder lograrlo.

La tesisista

ÍNDICE

RESUMEN	12
INTRODUCCIÓN	14
CAPÍTULO I	15
GENERALIDADES	15
1.1. Planteamiento de problema	15
1.2. Formulación de problema	16
1.3. Objetivos de la investigación	17
1.3.1. Objetivo general	17
1.3.2. Objetivos específicos.....	17
1.4. Justificación e importancia.....	18
1.5. Hipótesis.....	19
CAPÍTULO II	20
MARCO TEÓRICO CONCEPTUAL	20
2.1. Visión histórica.....	20
2.2. Antecedentes de la investigación	22
2.2.1. Antecedentes internacionales.....	22
2.2.2. Antecedentes nacionales.....	25
2.2.3. Antecedentes locales	28
2.3. Estado de la cuestión	30
2.4. Bases teórico-científicas.....	31
2.4.1. Microalga en estudio: <i>Nostoc sphaericum</i> (cushuro).....	31
2.4.1.1. Descripción taxonómica	31
2.4.1.2. Descripción botánica.....	32
2.4.1.3. Ciclo de vida del <i>N. sphaericum</i>	32
2.4.1.4. Ecología y distribución geográfica	33
2.4.1.5. Usos y aplicaciones	34
2.4.1.6. Composición química.....	35
2.4.2. Actividad antioxidante.....	37
2.4.2.1. Estrés oxidativo.....	37
2.4.2.2. Radicales libres.....	37
2.4.2.3. Principales mecanismos generadores de ERO.....	38
2.4.2.4. Moléculas afectadas por los RL	39

2.4.2.5.	Antioxidantes	40
2.4.2.6.	Líneas de defensa del daño oxidativo.....	41
2.4.3.	Actividad fotoprotectora.....	42
2.4.3.1.	Radiación ultravioleta.....	42
2.4.4.	La piel.....	43
2.4.5.	Efectos de la radiación sobre la piel	44
2.4.6.	Fotoprotectores	45
2.4.7.	Tipos de fotoprotectores.....	46
2.4.8.	Filtros solares biológicos	46
2.4.9.	Factor de protección solar	47
2.4.10.	Fotoestabilidad	48
2.4.11.	Cremas Cosméticas	48
2.4.12.	Formas farmacéuticas de aplicación tópica.....	48
2.4.13.	Estudios de estabilidad.....	50
2.5.	Definición de términos básicos	52
CAPÍTULO III	53
MATERIALES Y MÉTODO	53
3.1.	Materiales	53
3.1.1.	Material biológico.....	53
3.1.2.	Material de laboratorio.....	53
3.1.3.	Equipos.....	53
3.1.4.	Reactivos.....	53
3.2.	Metodología.....	56
3.2.1.	Tipo de estudio	56
3.2.2.	Diseño de estudio.....	56
3.2.3.	Variable: Definición conceptual y operacional	63
3.2.3.1.	Variable independiente	63
3.2.3.2.	Variables dependientes.....	63
3.2.3.3.	Variable interviniente.....	65
3.2.4.	Variables del estudio	74
3.2.4.1.	Operacionalización de variables	74
3.2.5.	Criterios de selección	76
3.3.	Procedimiento general.....	77

3.3.1.	Recolección e identificación del material botánico	78
3.3.1.1.	Recolección de la muestra	78
3.3.1.2.	Determinación de la identidad de la especie.....	78
3.3.2.	Selección y lavado de la muestra	78
3.3.3.	Deshidratación de la muestra	78
3.3.4.	Molienda del material liofilizado.....	79
3.3.5.	Extracción y concentración del extracto hidroalcohólico	79
3.3.6.	Porcentaje de rendimiento.....	79
3.3.7.	Estudio farmacognóstico	79
3.3.7.1.	Análisis organoléptico	79
3.3.7.2.	Solubilidad	80
3.3.7.3.	Screening fitoquímico.....	80
3.3.8.	Pre- formulación y formulación final del cremigel	80
3.3.8.1.	Pre formulación del cremigel.....	80
a)	Análisis organoléptico	81
b)	Análisis fisicoquímico	81
c)	Análisis microbiológico.....	83
3.3.8.2.	Formulación final.....	83
3.3.9.	Determinación de la actividad antioxidante del cremigel elaborado con extracto hidroalcohólico de <i>Nostoc sphaericum</i> Vaucher ex Bornet & Flahabit, Cushuro.	85
3.3.10.	Determinación del factor de protección solar (FPS) del cremigel elaborado con extracto hidroalcohólico de <i>Nostoc sphaericum</i> Vaucher ex Bornet & Flahabit, Cushuro.	88
3.4.	Técnicas e instrumentos de recolección de datos	91
3.5.	Análisis estadístico de datos	91
CAPÍTULO IV		92
ANÁLISIS DISCUSIÓN DE RESULTADOS		92
4.1.	Porcentaje de rendimiento, pruebas de solubilidad y tamizaje fitoquímico cualitativo del extracto hidroalcohólico de <i>Nostoc sphaericum</i> Vaucher ex Bornet & Flahabit, Cushuro.	92
4.1.1.	Porcentaje de rendimiento del extracto hidroalcohólico de <i>Nostoc sphaericum</i> Vaucher ex Bornet & Flahabit, Cushuro.	92
4.1.2.	Solubilidad del extracto hidroalcohólico de <i>Nostoc sphaericum</i> Vaucher ex Bornet & Flahabit, Cushuro.	93

Extracto hidroalcohólico de <i>Nostoc sphaericum</i> Vaucher ex Bornet & Flahabit, Cushuro	93
4.1.3. Análisis fitoquímico cualitativo del extracto hidroalcohólico de <i>Nostoc sphaericum</i> Vaucher ex Bornet & Flahabit, Cushuro	94
4.2. Elaboración del cremigel con el extracto hidroalcohólico de <i>Nostoc sphaericum</i> Vaucher ex Bornet & Flahabit, Cushuro a diferentes concentraciones (0.25%,0.5% y 1%)	96
4.2.1. Evaluación de la estabilidad organoléptica del cremigel a base del extracto hidroalcohólico de <i>Nostoc sphaericum</i> Vaucher ex Bornet & Flahabit, Cushuro.	98
4.2.2. Evaluación de la estabilidad fisicoquímica del cremigel a base del extracto hidroalcohólico de <i>Nostoc sphaericum</i> Vaucher ex Bornet & Flahabit, Cushuro.	100
4.2.3. Evaluación de la estabilidad microbiológica del cremigel a base del extracto hidroalcohólico de <i>Nostoc sphaericum</i> Vaucher ex Bornet & Flahabit, Cushuro.	102
4.3. Determinación de la actividad antioxidante <i>in vitro del cremigel con</i> extracto hidroalcohólico de <i>Nostoc sphaericum</i> Vaucher ex Bornet & Flahabit, Cushuro y vitamina E.	103
4.4. Determinación de la actividad fotoprotectora UVB <i>in vitro del cremigel con</i> extracto hidroalcohólico de <i>Nostoc sphaericum</i> Vaucher ex Bornet & Flahabit, Cushuro.	107
CONCLUSIONES.....	110
BIBLIOGRAFÍA	113

INDICE DE ANEXOS

Anexo 1: Certificado de identificación taxonómica	121
Anexo 2: Marcha fitoquímica cualitativa y solubilidad	122
Anexo 3: Análisis de estabilidad organoléptica	123
Anexo 4: Análisis de estabilidad fisicoquímica	124
Anexo 5: Análisis de estabilidad microbiológica	125
Anexo 6: Control microbiológico del cremigel con extracto hidroalcohólico de <i>Nostoc sphaericum</i> Vaucher ex Bornet & Flahabit, Cushuro.	126
Anexo 7: Porcentaje de inhibición de cremigel con extracto de <i>Nostoc sphaericum</i> Vaucher ex Bornet & Flahabit, Cushuro	127
Anexo 8: Prueba de normalidad del % de inhibición del cremigel con el extracto hidroalcohólico por el método DPPH.....	128
Anexo 9: Análisis de la Varianza del cremigel (0.25%, 0.5% y 1%) de extracto en cremigel y variable de respuesta (% de inhibición).	129
Anexo 10: Análisis de varianza entre el porcentaje de inhibición de Cremigel con <i>Nostoc</i> vs Cremigel con vitamina E.....	130

INDICE DE FIGURAS

Figura 1. Diferentes diámetros del <i>Nostoc sphaericum</i>	32
Figura 2. Ciclo de vida <i>Nostoc sphaericum</i>	33
Figura 3. Aminoácidos glicosilados similares a micosporinas de Nostoc.....	36
Figura 4. Especies reactivas de oxígeno (ERO).....	38
Figura 5. Radiación ultravioleta sobre la piel.....	43
Figura 6. Estructura del DPPH antes y después de la reacción con el antioxidante.	85

INDICE DE GRÁFICOS

Gráfico 1. Gráfico de caja de porcentaje de inhibición del cremigel con extracto y con vitamina E	107
--	-----

INDICE DE FLUJOGRAMAS

Flujograma 1. Diagrama de flujo general de la investigación.....	77
Flujograma 2. Elaboración cremigel con Extracto hidroalcohólico de <i>Nostoc sphaericum</i> Vaucher ex Bornet & Flahabit, Cushuro.	84
Flujograma 3. Actividad antioxidante de los cremigeles elaborados con extracto hidroalcohólico de <i>Nostoc sphaericum</i> Vaucher ex Bornet & Flahabit, Cushuro..	87
Flujograma 4. Determinación del factor de protección solar (FPS).....	90

INDICE DE TABLAS

Tabla 1. Composición nutricional del Cushuro (g/100g)	35
Tabla 2. Categoría de protectores solares según la FDA	46
Tabla 3. Punto de georreferenciación.....	78
Tabla 4. Análisis cualitativo fitoquímico	80
Tabla 5. Límites microbianos según Farmacopea - USP 41 NF36.....	83
Tabla 6. Preparación de la muestra para espectrofotometría.....	86
Tabla 7. Valores del efecto eritemogénico (EE) versus la intensidad de la radiación (I).....	89
Tabla 8. <i>Porcentaje de rendimiento del extracto hidroalcohólico de Nostoc sphaericum Vaucher ex Bornet & Flahabit Cushuro.</i>	92
Tabla 9. <i>Solubilidad del extracto hidroalcohólico de Nostoc sphaericum Vaucher ex Bornet & Flahabit, Cushuro.</i>	93
Tabla 10. <i>Análisis fitoquímico cualitativo del extracto hidroalcohólico de Nostoc sphaericum Vaucher ex Bornet & Flahabit, Cushuro.</i>	94
Tabla 11. Pre - formulación con el 1% del extracto hidroalcohólico de <i>Nostoc sphaericum Vaucher ex Bornet & Flahabit, Cushuro.</i>	96
Tabla 12. <i>Control organoléptico del cremigel a base del extracto hidroalcohólico de Nostoc sphaericum Vaucher ex Bornet & Flahabit, Cushuro.</i>	98
Tabla 13. Control fisicoquímico del cremigel a base del extracto hidroalcohólico de <i>Nostoc sphaericum Vaucher ex Bornet & Flahabit, Cushuro.</i>	100
Tabla 14. Control microbiológico del cremigel a base del extracto hidroalcohólico de <i>Nostoc sphaericum Vaucher ex Bornet & Flahabit, Cushuro.</i>	102
Tabla 15. Actividad antioxidante del cremigel con extracto y cremigel con vitamina E.....	103
Tabla 16. Determinación del factor de protección (FPS) de los cremigeles con extracto hidroalcohólico de <i>Nostoc sphaericum Vaucher ex Bornet & Flahabit, Cushuro</i>	107
Tabla 17. Determinación del factor de protección solar (FPS) <i>in vitro</i> del fotoprotector comercial (Nom Sun FPS 50).....	107

ABREVIATURAS

DPPH	2,2-difenil-1-picrilhidracilo
ERO	Especies reactivas de oxígeno
RL	Radicales libres
FPS	Factor de protección solar
UVA	Radiación ultravioleta A
UVB	Radiación ultravioleta B
UVC	Radiación ultravioleta C
mg	Miligramo
mL	Mililitro
mm	Milímetro
nm	Nanómetro
cm	Centímetro
c.s.p.	Cantidad suficiente para
m.s.n.m.	Metros sobre el nivel del mar
Pa	Pascal
UTM	Universal Transverse Mercator

RESUMEN

El objetivo de la investigación fue determinar la actividad antioxidante y fotoprotectora UVB *in vitro* de un cremigel elaborado con extracto hidroalcohólico de *Nostoc sphaericum* Vaucher ex Bornet & Flahabit, Cushuro. El estudio fue de tipo experimental, para lo cual se realizó una extracción hidroalcohólica al 70%, se determinó el porcentaje de rendimiento y se realizó el tamizaje fitoquímico cualitativo. Con el extracto se elaboraron cremigeles en concentraciones de 0,25; 0,5 y 1%, se realizó el control de estabilidad organoléptica, fisicoquímica y microbiológica, se determinó su actividad antioxidante por el método DPPH, utilizándose como patrón un cremigel con vitamina E, así mismo se determinó su actividad fotoprotectora UVB *in vitro* por el método de Mansur utilizándose como patrón un fotoprotector comercial. En las condiciones experimentales el proceso de extracción posee un rendimiento de 4,5%, la marcha fitoquímica dio positivo a la presencia de flavonoides, esteroides, triterpenos y compuestos fenólicos. El cremigel cumplió con las especificaciones organolépticas, fisicoquímicas y microbiológicas. La evaluación de la actividad antioxidante mostró valores de IC₅₀ de 94 µg/mL, 93 µg/mL y 90 µg/mL para concentraciones de 0.25%, 0.5% y 1%. En comparación, el cremigel con vitamina E mostró una mayor capacidad antioxidante, con valores de IC₅₀ de 92 µg/mL, 90 µg/mL y 83 µg/mL en las mismas concentraciones. Por otro lado, la determinación del FPS mostró valores de 0.448, 0.472 y 0.501 para las concentraciones de 0.25%, 0.5% y 1%, en comparación con el FPS 47 del fotoprotector estándar. Se concluye que el cremigel elaborado con el extracto hidroalcohólico de *Nostoc*, tiene actividad antioxidante, pero ausencia de actividad fotoprotectora contra la radiación UVB.

Palabras Clave: Antioxidante, Fotoprotector, Cremigel, *Nostoc sphaericum*.

ABSTRAC

The objective of the research was to determine the in vitro antioxidant and UVB photoprotective activity of a cremigel prepared with hydroalcoholic extract of *Nostoc sphaericum* Vaucher ex Bornet & Flahabit, Cushuro. The study was experimental in nature, for which a 70% hydroalcoholic extraction was carried out, the percentage yield was determined and qualitative phytochemical screening was performed. The extract was used to make cremigels in concentrations of 0.25, 0.5 and 1%, organoleptic, physicochemical and microbiological stability control was performed, its antioxidant activity was determined by the DPPH method, using a cremigel with vitamin E as a standard, and its UVB photoprotective activity was determined in vitro by the Mansur method, using a commercial photoprotector as a standard. In the experimental conditions, the extraction process has a yield of 4.5%, the phytochemical march was positive for the presence of flavonoids, steroids, triterpenes and phenolic compounds. The cremigel met the organoleptic, physicochemical and microbiological specifications. Evaluation of antioxidant activity showed IC_{50} values of 94 $\mu\text{g/mL}$, 93 $\mu\text{g/mL}$ and 90 $\mu\text{g/mL}$ for concentrations of 0.25%, 0.5% and 1%. In comparison, the cremigel with vitamin E showed a higher antioxidant capacity, with IC_{50} values of 92 $\mu\text{g/mL}$, 90 $\mu\text{g/mL}$ and 83 $\mu\text{g/mL}$ at the same concentrations. On the other hand, the SPF determination showed values of 0.448, 0.472 and 0.501 for the concentrations of 0.25%, 0.5% and 1%, in comparison with the SPF 47 of the standard photoprotector. It is concluded that the cremigel elaborated with the hydroalcoholic extract of *Nostoc* has antioxidant activity, but no photoprotective activity against UVB radiation.

Keywords: Antioxidant, Sunscreen, Cremigel, *Nostoc sphaericum*.

INTRODUCCIÓN

La sobreexposición a los rayos ultravioleta puede causar desde daños agudos como eritema, melasmas (UVB), hasta daños a nivel celular (UVA), incluidos el fotoenvejecimiento prematuro de la piel (1–3), así como la producción de radicales libres que generan una alteración en la homeostasis de función celular (4) . En este contexto, el interés y la investigación sobre compuestos naturales con propiedades antioxidantes y fotoprotectoras han aumentado significativamente en los últimos años, adquiriendo una gran relevancia en la industria cosmética (5,6). Los organismos acuáticos constituyen una fuente de compuestos químicos beneficiosos. Se debe considerar que algunas algas tienen en su composición proteínas, aminoácidos, lípidos y minerales, así como polifenoles y antioxidantes (5,6). La microalga *Nostoc* con más de 300 especies, y con tres especies predominantes (*N. commune*; *N. pruriforme*; *N. sphaericum*) en la región del Cusco-Perú (7), son organismos procariotas de aspecto gelatinoso y esférico de metabolismo fotoautótrofo que se presenta en forma de tricomas sencillos flotando sobre lagos, riachuelos, lagunas, y en ambientes húmedos altoandinos, demostró tener múltiples beneficios sobre la salud en estudios *in vivo* como *in vitro* (8), lo que sugiere su potencial uso en productos dermocosméticos. Dentro de sus metabolitos ya reportados se encuentran triterpenos, flavonoides, esteroides y micosporinas; metabolitos que pueden estar relacionados a su capacidad antioxidante y fotoprotectora; de manera que puedan ser utilizados en formulaciones con el fin de absorber la radiación y neutralizar los radicales libres. Por lo tanto, en este estudio se planteó desarrollar una formulación de un cremigel para incorporar el extracto hidroalcohólico de *Nostoc sphaericum* Vaucher ex Bornet & Flahabit, Cushuro y evaluar su actividad antioxidante y fotoprotectora UVB

in vitro.

CAPÍTULO I

GENERALIDADES

1.1. Planteamiento de problema

El instituto Nacional de Enfermedades Neoplásicas (INEN), muestra que cada año se detectan de 3000 a 5000 casos de Cáncer a la piel, también muestra que el 81.73% de la población son mujeres, con un promedio de edad de 32 años muestran mayor riesgo de generar una fotodermatosis idiopática, en relación a hombres con edad promedio de 28 años (9). La radiación ultravioleta es considerada responsable en un 90% de daños causados en la piel, y del fotoenvejecimiento. Según las estadísticas se mostró valores de más de 1,5 millones de casos de personas que padecen cáncer a la piel, y se mostraron valores de más de 120 000 defunciones asociadas por esta causa (10).

Perú es reconocido como el país con el índice de radiación solar más alto. Según un informe del Servicio Nacional de Meteorología e Hidrología (SENAMHI), durante el verano de 2024 se registraron valores de 17 UVI, un nivel considerado extremadamente alto. Para mitigar los efectos perjudiciales de la radiación solar, se recomienda reducir la exposición al sol en las horas del mediodía, aplicar un fotoprotector de amplio espectro, usar gafas de sol oscuras, entre otras medidas de protección (11).

En ciudades de la sierra el comportamiento temporal y espacial fue de UVI extremadamente alto, como en la ciudad del Cusco con promedio de 16 UVI, al igual que Huánuco y Junín. En la sierra, la población más afectada son las mujeres en un 64,7%, personas con fototipo de piel 3 y 4 que tienen riesgo de generar cáncer a la piel, los problemas de piel más frecuentes son melasmas, rosácea, acné y melanomas (11).

A pesar de los esfuerzos por promover el uso de protectores solares, muchos de estos productos contienen compuestos químicos, como el octocrileno y 3-benzofenona, filtros sintéticos que tienen un impacto negativo ambiental, y sobre la salud humana, se comportan como neurotóxicos, teratogénicos y bioacumulativos (1,12).

En este contexto, la búsqueda de alternativas naturales y efectivas para la protección solar es crucial. El *Nostoc sphaericum* es una cianobacteria presentes en riachuelos, lagos a más de 3000 m.s.n.mn en los andes del Perú con una capacidad de adaptarse a condiciones climáticas extremas como barrera de protección, ha demostrado tener una alta capacidad antioxidante capaces de producir bioactivos como los flavonoides, saponinas, esteroides, terpenos, fenoles y pigmentos como el B-caroteno y ficobiliproteínas (5,6).

Los extractos naturales en formulaciones cosméticas, designados como fitocosméticos son ampliamente utilizados, por los beneficios que este pueda ofrecer, sin embargo, es necesario realizar su caracterización y evaluar su estabilidad química, parámetros importantes que se deben considerar en el proceso de preparación, almacenamiento y aplicación de los productos formulados (5,6).

Por lo tanto, en este estudio propuso tomar como recurso a la especie de *Nostoc sphaericum* Vaucher ex Bornet & Flahabit, Cushuro, para demostrar mediante el desarrollo de un cremigel, el poder antioxidante y fotoprotector UVB mediante una evaluación *in vitro* (10).

1.2. Formulación de problema

¿Tendrá actividad antioxidante y fotoprotectora UVB *in vitro* el cremigel elaborado con extracto hidroalcohólico de *Nostoc sphaericum* Vaucher ex Bornet & Flahabit, Cushuro?

1.3. Objetivos de la investigación

1.3.1. Objetivo general

Determinar la actividad antioxidante y fotoprotectora UVB *in vitro* de un cremigel elaborado con extracto hidroalcohólico de *Nostoc sphaericum* Vaucher ex Bornet & Flahabit, Cushuro.

1.3.2. Objetivos específicos

1. Determinar el porcentaje de rendimiento, pruebas de solubilidad y tamizaje fitoquímico cualitativo del extracto hidroalcohólico de *Nostoc sphaericum* Vaucher ex Bornet & Flahabit, Cushuro.
2. Elaborar un cremigel que contenga diferentes concentraciones del extracto hidroalcohólico de *Nostoc sphaericum* Vaucher ex Bornet & Flahabit, Cushuro y evaluar la estabilidad organoléptica, fisicoquímica y microbiológica.
3. Determinar la actividad antioxidante del cremigel elaborado con el extracto hidroalcohólico de *Nostoc sphaericum* Vaucher ex Bornet & Flahabit, Cushuro.
4. Determinar el factor de protección solar UVB *in vitro* del cremigel elaborado con el extracto hidroalcohólico de *Nostoc sphaericum* Vaucher ex Bornet & Flahabit, Cushuro.

1.4. Justificación e importancia

Prioridad: El objetivo de la investigación fue evaluar la actividad fotoprotectora y antioxidante de la microalga *Nostoc sphaericum*, Vaucher ex Bornet & Flahabit (Cushuro), a partir del extracto hidroalcohólico de este, en una formulación de un cremigel, con un propósito de contrarrestar y prevenir el daño por la radiación UV. la situación actual muestra la preocupación de la población que toman la decisión de utilizar productos cosméticos de cuidado de la piel que sean más efectivos, orgánicos y accesibles, es por ello el aporte de los beneficios de la cianobacteria de *Nostoc sphaericum*, Vaucher ex Bornet & Flahabit, Cushuro como un antioxidante y fotoprotector en un producto cosmético (9).

Conocimiento: El eritema causado por la radiación ultravioleta genera disminución en la protección de los sistemas antioxidantes por los múltiples daños originados, cuando los radicales libres sobrepasan nuestros mecanismos de defensa (antioxidantes endógenos), se genera un desequilibrio. Los flavonoides, así como otros antioxidantes exógenos ayudan a contrarrestar el daño, las especies marinas tienen un importante potencial antioxidante, por lo cual este estudio demostró la actividad antioxidante del Cushuro una microalga rica en bioactivos adicionada en una forma farmacéutica de un cremigel, en donde se determinó la actividad antioxidante y fotoprotectora UVB *In vitro*, y aportar de esta manera en el conocimiento para el uso de esta especie en productos cosméticos (9) .

Aplicabilidad: El envejecimiento es inevitable sea por factores internos o externos, el uso de compuestos antioxidantes tiene un papel muy importante en la prevención del fotoenvejecimiento ocasionado por la radiación solar, los compuestos polifenólicos de las

plantas muestran un gran poder antioxidante, fotoprotector y acción anticancerígena, estos compuestos pueden ser adicionados a cremas faciales una forma farmacéutica con más aplicación a nivel industrial (9).

El uso de antioxidantes naturales en el desarrollo de productos cosméticos es una estrategia de combatir el daño causado por los radicales libres y la radiación solar, la especie de *Nostoc* una microalga capaz de adaptarse a condiciones críticas para su crecimiento, nos facilita su producción para utilizarlo para diferentes fines en la salud humana, y aplicabilidad en el desarrollo de nuevos productos (9).

Social: La exposición a los radicales libres y a la radiación UV repercuten en la salud pública, ocasionando un prematuro envejecimiento de la piel, y mayor riesgo de enfermedades, según los reportes del MINSA en el periodo de los años 2021 y 2023 se registraron 3 525 casos de cáncer a la piel ocasionado en mayor porcentaje por exposición a la radiación UV. El uso de extractos naturales podría ofrecer una alternativa más segura y sostenible en comparación con los filtros sintéticos que a menudo tienen efectos secundarios y un impacto ambiental negativo, además este estudio podría beneficiar a comunidades a promover el uso de recursos naturales, promoviendo el desarrollo en la industria cosmética natural y sostenible (5,6).

1.5. Hipótesis

- El cremigel elaborado con extracto hidroalcohólico de *Nostoc sphaericum* Vaucher ex Bornet & Flahabit, Cushuro presenta una elevada actividad antioxidante y fotoprotectora UVB *In vitro*.

CAPÍTULO II

MARCO TEÓRICO CONCEPTUAL

2.1. Visión histórica

A lo largo de la historia el uso de sustancias con fines de fotoprotección ha ido evolucionando, desde el uso de arcillas, aceites utilizados por el antiguo Egipto, hasta la actualidad en donde seguimos en la búsqueda de ingredientes nuevos que van incorporándose a la lista (13) .

A lo largo de los años, el uso de sustancias con fines de fotoprotección ha ido en aumento. Sin embargo, no fue hasta el siglo XIX cuando se inició el verdadero desarrollo de la industria de la fotoprotección, en 1920 se utilizó por primera vez los salicilatos y cinamatos, y en 1933 se lanzó los primeros fotoprotectores solares como el producto creado por la empresa francesa L'Oréal, el fotoprotector Ambré Solaire, entre los años de 1960 y 1970, se realizó más estudios de la luz UVA, y en el 2000 se desarrolló el primer filtro UVB altamente fotoestable, el Uvinul® T 150 derivado de la triazina (13).

En la actualidad existe una lista de filtros aprobados por la FDA (Administración de Alimentos y Medicamentos de los Estados Unidos), en donde especifica el porcentaje máximo en que debe ser utilizado, ya que muchos estudios muestran, que en concentraciones elevadas pueden generar daños, un estudio por la universidad Gotinga (Alemania), y Suiza, encontraron que algunos filtros químicos se comportan como hormonas sexuales o tiroideas, como la benzofenona-3 y el octinoxato, ya que tienen una estructura similar a los estrógenos o interferir en la síntesis de hormonas tiroideas, pueden unirse a proteínas transportadoras de hormonas tiroideas en la sangre, reduciendo la cantidad de T3 y T4; estos filtros también pueden generar un daño psíquico

y físico en el feto de una mujer embarazada, ya que pueden penetrar las barreras y al entrar en contacto con la piel generar alergias o eccema de contacto fotoalergénico y en casos de compuestos micronizados generar alteraciones a nivel del ADN (14).

En el mercado global de la fotoprotección, los atributos relacionados con los ingredientes y la sostenibilidad están cobrando mayor relevancia. En este contexto, la cantidad de productos formulados sin octocrileno (OCR) y etilhexilmetoxicinamato (EHMC) se ha multiplicado por cinco desde 2015. Además, más del 70 % de los protectores solares lanzados sin estos compuestos incluyen declaraciones que destacan su compromiso con el medio ambiente (15).

La mayoría de los radicales libres (64%) son generados por la radiación ultravioleta, que es el factor principal del fotoenvejecimiento cutáneo acelerado, el desarrollo de productos naturales que contengan en su composición antioxidantes o filtros naturales son los más demandados actualmente, es motivo por el cual seguir desarrollando productos libres de estos compuestos beneficiosos para la salud, como lo son los extractos de algas marinas, frutos, flores o en combinación con otros de origen natural con actividad fotoprotectora y antioxidante de radicales libres (13,14) .

2.2. Antecedentes de la investigación

2.2.1. Antecedentes internacionales

Cruz R, Larryssa et.al, Evaluación de los parámetros de calidad fisicoquímicos de cremas-gel a base de ácido hialurónico adquiridos en farmacias magistrales, Brasil 2023.

El objetivo de este estudio fue analizar la calidad de los dermocosméticos elaborados con ácido hialurónico al 5%, que expendían laboratorios magistrales en la ciudad de Campo Grande. Se evaluó las características fisicoquímicas y el análisis de etiquetado, los resultados mostraron que los ensayos organolépticos estuvieron dentro de los estándares estipulados; a diferencia del ensayo de densidad, el cual estuvo fuera de los valores estipulados, y en cuanto al etiquetado, ningún producto contenía los componentes en su etiqueta, se concluyó que los productos tuvieron un desempeño satisfactorio en la mayoría de las pruebas, siendo de calidad, segura y accesible para la población (16).

Silva M, Ellen et.al, Microalga *Scenedesmus obliquus*: Extracción de componentes bioactivos y actividad antioxidante, Brasil 2021.

Este estudio tuvo como objetivo extraer y caracterizar los ácidos grasos de *Scenedesmus obliquus*, además de separar, cuantificar y evaluar la capacidad antioxidante de los carotenoides y compuestos fenólicos, para la extracción de carotenoides se utilizó diferentes solventes entre ellos, acetona, éter de petróleo y hexano, y para los compuestos fenólicos se utilizó etanol, los resultados mostraron mayor prevalencia de ácido linoleico, el contenido con mayor concentración de carotenoides fue en el extracto con hexano, con un porcentaje de inhibición del radical DPPH de 88%, y para los compuestos fenólicos fue de 72%, se concluye por lo tanto que *Scenedesmus obliquus*, es una alternativa natural de

compuestos bioactivos (17).

Widowati I, Zainuri, Actividad antioxidante de tres microalgas *Dunaliella salina*, *Tetraselmis chuii* e *Isochrysis galbana* clon Tahití, Indonesia 2017. Este estudio tuvo como objetivo evaluar el potencial antioxidante, se realizó el ensayo en el contenido total de compuestos fenólicos, preparados en diferentes concentraciones (50, 100, 250, 500 y 1000 ppm), se realizó mediante el ensayo DPPH. Los resultados mostraron que *G. Tahití* fue la especie que mostró mayor porcentaje de inhibición con 61.64% y un contenido total de compuesto fenólicos de 17,798 mg GAE g⁻¹, seguida por *D. salina* con 58.45% de inhibición del radical DPPH, con un contenido total de compuestos fenólicos de por último la especie de 4.672 mg GAE g⁻¹, por último la especie de *T. chuii* con 52.58% de inhibición, con un contenido de compuestos fenólicos de 16.868 mg GAE g⁻¹, se concluye que estas tres especies de microalga pueden considerarse con aplicaciones en la medicina, suplementos alimenticios, cosmética o industrias alimentarias(18).

Débora M, Zaninin F. Evaluación fisicoquímica de estabilidad, esparcibilidad *in vitro*, capacidades antioxidantes y fotoprotectoras de formulaciones tópicas que contiene extracto de hojas de *Caléndula officinalis* L, Brasil. 2015. Este estudio tuvo como objetivo desarrollar y evaluar la estabilidad de formulaciones tópicas con un contenido al 5% del extracto hidroetanólico de las hojas de *caléndula officinalis*, para esto se desarrolló dos formas farmacéuticas, una crema y un gel, a las cuales se evaluó, la estabilidad, su capacidad de untuosidad, fotoprotectora y antioxidante *in vitro*. la estabilidad se evaluó mediante controles organolépticos, pH y parámetros de viscosidad, la capacidad fotoprotectora se realizó mediante espectrofotometría SPF, para la

capacidad antioxidante se utilizó el método DPPH, y como estándar una crema y gel de rutina al 5%, a las mismas concentraciones que las muestras, *caléndula officinalis* mostró buena estabilidad física y química, las formulaciones en cremas conservaron mejores características que las formulaciones en gel, excepto la untabilidad. Según la regulación brasileña no pueden ser utilizados como fotoprotectores independientes, en cuanto a la capacidad antioxidante no mostró variaciones significativas demostrando una buena actividad *in vitro* (19) .

Hong-Bin Wang, Sheng-Jun Wu, Dou Liu. Preparación de polisacáridos de la cianobacteria *Nostoc commune* y sus actividades antioxidantes, Huahai-China, 2014. Este estudio tuvo como objetivo determinar la actividad antioxidante, la optimización de rendimiento del polisacárido de Nostoc, y también se realizó una prueba de espectro infrarrojo por transformada de Fourier (FTIR), para esto se realizó una extracción acuosa por Soxhlet, se extrajeron usando los solventes de petróleo, etanol y acetona. Para la actividad antioxidante se determinó la capacidad de eliminación de radicales hidroxilos. Los resultados mostraron que el tiempo y temperatura óptimo de 4 horas a una temperatura de 90°C, obteniéndose un contenido de polisacáridos del 96,7%, y un rendimiento de 9,18% (p/p), la cianobacteria mostró una capacidad de eliminación de radicales hidroxilos del 92,71 % a una concentración de 10 mg/mL, el FTIR mostró que la muestra estaba formada principalmente por polisacáridos, concluyendo que la especie de *Nostoc commune* tuvo una alta capacidad reductora de radicales libres (20) .

Matsui k, Nazifi E, Nuevos aminoácidos similares a la micosporina con capacidad de eliminación de radicales de la cianobacteria *Nostoc commune*, Japón 2015. Este estudio tuvo como objetivo caracterizar nuevos aminoácidos similares a micosporina y determinar su actividad antioxidante por el método ABTS•+ del extracto acuoso de *Nostoc commune* mediante una purificación en metanol al 30% y una caracterización por cromatografía líquida acoplada a espectrometría de masas en tándem LC-MS/MS. Se logró aislar dos cromóforos distintos, 3-aminociclohexen-1-ona y 1,3-diaminociclohexeno, con una absorción máxima de 312 y 340 nm, con una capacidad de eliminación de radicales de 27%, resultados que sugieren que los compuestos glicosilados similares a micosporina tienen una acción como protector UV y antioxidante (21)

2.2.2. Antecedentes nacionales

Evaluación *in vitro* de la actividad antioxidante y efecto fotoprotector UVB de una formulación dermocosmética como protector solar elaborada con el extracto acetónico del líquen *Everniastrum sp*, Lima 2023. Este estudio tuvo como objetivo determinar la actividad antioxidante y fotoprotectora UVB *in vitro*, de una formulación dermocosmética elaborada a base del extracto acetónico de líquen *Everniastrum sp*. Se elaboró emulsiones a tres concentraciones 1,5%, 3% y 6%. La actividad antioxidante se evaluó mediante los métodos de DPPH, ABTS y FRAP. Para la actividad fotoprotectora se determinó el factor de protección solar, mediante el método planteado por Mansur et.al. La marcha fitoquímica dio positivo para compuestos, la actividad antioxidante mostró un valor de IC 50 de 92,9998 µg/mL, por el método de ABTS se obtuvo un valor de IC 50 de 8,6266 µg/mL, y por el método de FRAP se obtuvo un valor de un equivalente

de 238,8 μmol de ácido ascórbico/g, y para la determinación del FPS se obtuvo un valor de 0,135, 0,398, 0,595 y 1,431 de la base y las formulaciones al 1,5%, 3% y 6%, respectivamente. El estudio concluye que el extracto acetónico de líquen *Everniastrum sp* y las formulaciones poseen actividad antioxidante, sin embargo, los valores de FPS obtenidos fueron limitados (22).

Venegas C, Roli, Actividad fotoprotectora *In vitro* del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Solanum nitidum* R.&P, “ñununga”, Ayacucho 2023. En este estudio se determinó la actividad fotoprotectora de *Solanum nitidum* R.&P, ñununga. Se realizó una extracción con etanol al 70°, se determinó los fenoles totales, la actividad antioxidante por el método colorimétrico DPPH, así mismo el FPS. Se obtuvo valores de $162 \pm 1,92$ mg GAE/g para el primer objetivo, obtuvo un porcentaje de inhibición del radical de $37,74 \pm 1,05\%$ a concentración de 250 $\mu\text{g/mL}$, por último un valor de FPS de 17,82 a una concentración de 200 $\mu\text{g/mL}$, se concluye que el extracto de dicha especie posee actividad fotoprotectora solar (23).

Baltonado T, Celia, Evaluación de una crema dermocosmética con potencial antioxidante y efecto humectante a base del extracto de *Nostoc sphaericum*, cushuro, Lima 2018. Este estudio tuvo como objetivo elaborar y evaluar la capacidad antioxidante y humectante de un dermocosmético a base del extracto liofilizado de *N. sphaericum*, se realizó una marcha fitoquímica para identificar los metabolitos secundarios, se elaboró las emulsiones a tres concentraciones (0.25; 0.5 y 1%) a partir del extracto, se utilizó el ensayo del radical DPPH para determinar la capacidad antioxidante, y se utilizó un equipo DermoAnalyzer para el efecto humectante, los resultados mostraron la presencia de alcaloides, saponinas y flavonoides en el perfil

fitoquímico, en cuanto a la actividad antioxidante de las cremas mostró un valor de $IC_{50}=138.18\text{mg/mL}$ para la crema base, $IC_{50}=25.37\text{ mg/mL}$ para la crema de 0.25%, un $IC_{50}=20.05\text{ mg/mL}$ para la crema de 0.5% y $IC_{50}=19.95\text{ mg/mL}$ para la crema de 1%, y los resultados del efecto humectante muestra el grado de humectación con mejores resultados para piel expuesta a la crema en estudio, el estudio concluye que la crema dermatocósmética tiene un efecto humectante así como un efecto antioxidante deseado (24).

Chávez H. Lourdes Pilar. Composición química y actividad antioxidante *in vitro* del extracto acuoso de *Nostoc sphaericum* (cushuro), laguna Cushurococha, Junín 2014. Este estudio tuvo como objetivo estudiar la composición química y la actividad antioxidante del extracto liofilizado de *N. sphaericum*, para lo cual se determinó la concentración de proteínas, carbohidratos totales, fenoles totales y la actividad antioxidante por el método colorimétrico ABTS, dentro de los resultados se encontró un porcentaje de rendimiento de 0.074% del extracto liofilizado, 15.1 mg/g de proteínas solubles, 70.63 ug/100g de carbohidratos totales, 2.98 mg EAG/g de fenoles totales y para la actividad antioxidante mostró un valor medio CI_{50} de 10 – 15ug/mL de la muestra frente 3.03ug/mL de estándar, con un porcentaje del 52% de inhibición del radical ABTS a 0,15mg/mL de concentración equivalente a 1.164 ug Eq. Trolox por mililitro de extracto (25).

2.2.3. Antecedentes locales

Aparicio. A, Chabely, Evaluación del efecto fotoprotector frente a la radiación UVB y actividad antioxidante del cremigel a base de manteca de *Theobroma grandiflorum* (Copoazú), Cusco 2022. En este estudio se evaluó la capacidad antioxidante y fotoprotectora de una formulación de cremigel elaborado con *teobroma grandiflorum* al 5,10 y 20% de concentración del extracto, para la actividad fotoprotectora se siguió el método planteado por Mansur et.al, para el cual se utilizó un producto comercial como patrón, para la evaluación de la actividad antioxidante se utilizó el método colorimétrico DPPH, y se elaboró un cremigel con Vit E como patrón a las mismas concentraciones. Se obtuvo un valor de 44.741 FPS para el fotoprotector comercial, y un valor máximo de 11.672 para la concentración del cremigel al 20%, con valores de IC₅₀ 8.47±0.013, 7.93±0.031, 4.53±0.046 para las formulaciones con el extracto respecto a la actividad antioxidante, y valores de IC₅₀ 7.91±0.034, 4.71±0.004, 3.89±0.005 para los cremigeles con vitamina E. Se concluye que *Theobroma grandiflorum* (Copoazú) posee buena actividad antioxidante y baja capacidad fotoprotectora (26) .

Colque A, Gaby, Evaluación de la capacidad fotoprotectora, determinación del FPS e irritación primaria en piel de ratones de una crema elaborada con el extracto etanólico al 96% de las semillas de *Bixa Orellana* (Achiote), Cusco 2019. Este estudio tuvo como objetivo evaluar la capacidad fotoprotectora y fotorreparadora mediante la valoración de cambios inflamatorios y morfológicos cutáneos. se realizó una extracción etanólica 96%, se formuló emulsiones a tres concentraciones de 1.0, 3.0, 5.0%; se determinó el factor de protección solar de las emulsiones *in vitro* e *in vivo*, los resultados mostraron la presencia de compuestos fenólicos, flavonoides,

leucoantocianinas y quinonas, la determinación del FPS fue de 1.1, 1.2 y 1.4 para las cremas al 1.0, 3.0 y 5% respectivamente, y se observó menor grado de eritema y edema con la formulación al 1%. Se concluye que el extracto etanólico de *Bixa orellana* presentó un FPS= 1.1 en la emulsión al 1% con menores cambios morfológicos cutáneos (27).

Durán C, Renato, Actividad antioxidante *in vitro* de los extractos etanólicos y metanólico de *Sphagnum maguellanicum* “Musgo Blanco”, Cusco 2018. Este estudio tuvo como objetivo determinar la actividad antioxidante de *Sphagnum maguellanicum* “Musgo Blanco”, se realizó dos extracciones con diferentes solventes (etanol y metanol), al 40%, 70% y 90% y fueron evaluados por dos métodos, el ensayo por DPPH y ABTS●+ respectivamente. Los resultados mostraron la capacidad de inhibición por el método del radical DPPH valores de 38.26 %, 48.74 %, 23.40 % y 43.01 % y 38.33 %, 51.98 %, 28.35% y 45.90 % para ABTS●+, obteniéndose un valor de IC50 de 0.8967 y 0.8189 mg/mL para ambos métodos del extracto etanólico al 70%, el estudio concluye que *Sphagnum maguellanicum*, tiene alta actividad antioxidante (28).

2.3. Estado de la cuestión

El Cushuro es una cianobacteria comestible, conocida por sus propiedades nutricionales, Se ha informado de su consumo en muchos países y regiones, especialmente en Asia. La gente de algunos distritos de China ha utilizado ampliamente y tradicionalmente esta alga como un manjar o ingrediente de la medicina (8). Luego de una revisión bibliográfica se encontró estudios previos de China, Brasil, India, donde muestran resultados de la actividad antioxidante, hipocolesterolémico, anticancerígeno e inmunomodulador, así mismo se han identificado que contiene compuestos bioactivos como proteínas, polisacáridos, vitaminas (como la vitamina C y E), minerales y antioxidantes, que podrían conferirle propiedades antioxidantes y fotoprotectoras. La actividad fotoprotectora puede ser limitado, algunas investigaciones han explorado las propiedades fotoprotectoras de extractos naturales similares, como algas y cianobacterias, debido a la presencia de pigmentos como la ficocianina (8).

En el Perú el Nostoc es conocido como el “Caviar andino” por su gran valor nutricional, en el Cusco mediante un estudio etnobotánico se describió tres especies con mayor presencia (*N. commune*, *N. Pruriforme*, *N. sphaericum*), así mismo se realizaron estudios fitoquímicos, químico-proximales, sin embargo, no hay estudios de desarrollo de formulaciones cosméticas (7,29).

Si bien hay un creciente interés en el uso de extractos naturales con propiedades antioxidantes y fotoprotectoras, el Cushuro representa un campo emergente con un potencial significativo que aún no ha sido completamente explorado. Se requiere más investigación, particularmente sobre su perfil bioquímico, su eficacia en formulaciones cosméticas como cremigeles y su actividad fotoprotectora evaluada en estudios *in vitro*.

2.4. Bases teórico-científicas

2.4.1. Microalga en estudio: *Nostoc sphaericum* (cushuro)

Nombre científico: *Nostoc sphaericum* Vaucher ex Bornet & Flahabit.

Nombre común: Murmunta, Cushuro, Llullucha y Murmuntay.

Fotografía 1. *Nostoc sphaericum*, Cushuro.



Fuente: Elaboración propia, 2023.

2.4.1.1. Descripción taxonómica

- **División** : Cyanophyta
- **Clase** : Cyanophyceae
- **Subclase** : Hormonophycidae
- **Orden** : Nostocales
- **Familia** : Nostocaceae
- **Género** : Nostoc
- **Especie** : *Nostoc sphaericum* Vaucher ex Bornet & Flahabit (29).

2.4.1.2. Descripción botánica

Nostoc sphaericum, se le conoce con el nombre de “Cushuro” que en el idioma quechua significa “crespo”. Está formada por filamentos (tricomas) de células redondeadas o esféricas envueltas en una matriz mucilaginosa que forma estructuras gelatinosas compactas, que al principio forman colonias que luego se aplanan, Tiene un aspecto gelatinoso de color coriáceo, verde azulado, verde oliva o marrón (8). La producción de clorofila da un color verde, la ficocianina da un color azul, así mismo la producción de ficoeritrina da un aspecto de color rojo. Estas cianobacterias pueden alcanzar varios centímetros y un diámetro de 10 a 25 nm aproximadamente, envuelta por una capa externa firme, viven en simbiosis con otras plantas, especialmente cícadas o plantas acuáticas, actuando como fijadora de nitrógeno (29). La Figura 2, muestra los diferentes diámetros de *N.sphaericum*.

Figura 1. Diferentes diámetros del *Nostoc sphaericum*.



Fuente: Corpus-Gomez A, et al. Características y Habilidad del Caviar andino. *Rev.Agroindustrial* 2021 (29).

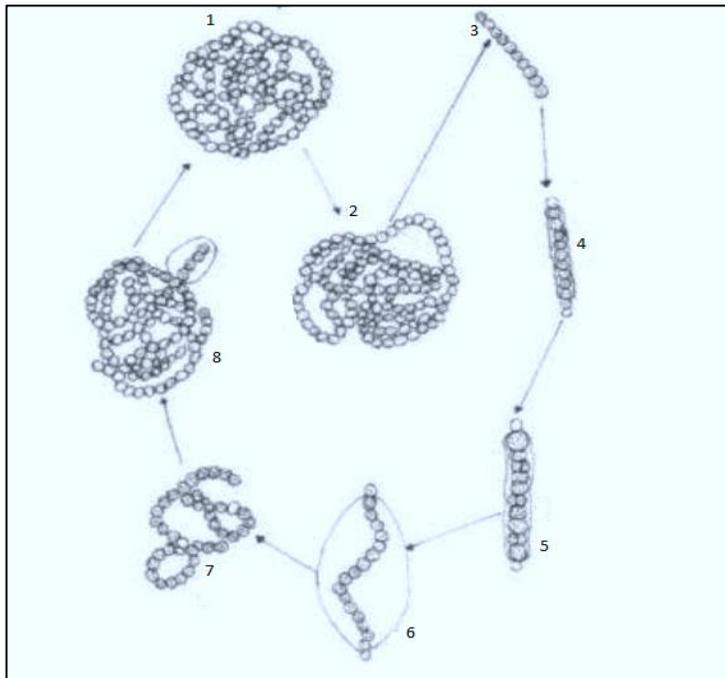
2.4.1.3. Ciclo de vida del *N. sphaericum*

Su reproducción se da por división simple, fisión binaria, por bipartición o fragmentación de los filamentos (7), en la Figura 3, se muestra el ciclo de vida de *N.sphaericum*.

1. Colonia madura, los tricomas son indistinguibles.
2. Desarrollo de un poro en la película de la colonia madura. El formado por el poro puede dar lugar a otra colonia o llegar a ser un hormogonio.

3. Hormogonio móvil
4. Tricoma corto después de cesar el movimiento.
5. Tricoma pluriceriado.
6. Desarrollo del tricoma. Las células decrecen en anchura por división longitudinal de las células.
7. Colonia madura.
8. Colonia madura colonias hijas producidas con brote.

Figura 2. Ciclo de vida *Nostoc sphaericum*.



Fuente: Cruz-Miranda L, Holgado-Rojas M. Estudio Bioecológico del Llullucha. Rev. Univ UNSAAC, 2008 (7).

2.4.1.4. Ecología y distribución geográfica

Las regiones de zonas altoandinas del Perú por sobre los 3000 msnm son aptas para el crecimiento y desarrollo de estas cianobacterias, generalmente aparecen en épocas de lluvia, flotando sobre superficies acuáticas de lagunas, puquios, lagos ricos en nitrógeno y pueden permanecer por más de 100 años en forma deshidratada, Estos organismos

prosperan en ecosistemas con presencia natural de compuestos como cloruros, sulfatos típicos de riachuelos y lagunas (30). Viven en condiciones extremas, tolerando temperaturas bajo cero y altitudes superiores a 3000 msnm, llegando hasta 5000 msnm en ambientes con poco oxígeno. Su resistencia a la radiación UV les permite realizar fotosíntesis de manera eficiente. son especies primitivas que abarca países de Latinoamérica como Brasil, Bolivia y países europeos como Alemania, Francia y en regiones de China, e Indonesia. En el Perú se encuentra en las regiones como Cajamarca, Ancash, Huánuco, Junín, Cusco y Puno (29)(31).

2.4.1.5. Usos y aplicaciones

El Cushuro puede ser incorporado en productos alimenticios debido a sus beneficios para la salud y nutrición, ya que se considera un superalimento debido a su elevado contenido de nutrientes y proteínas. Así mismo tiene una aplicación como estabilizante, en la producción de alimentos, se emplean aditivos alimentarios, sustancias utilizadas para facilitar los procesos tecnológicos, mejorar las propiedades organolépticas o prolongar la vida útil de los productos, siendo este una alternativa natural y económica para obtener un viscosante. Tiene propiedades medicinales como el hipolesterolémico gracias a su capacidad inhibitoria de cadenas de glicerol por la nostocarbolina que están presentes en estas cianobacterias (31). Además, el calcio presente en esta alga interactúa con el fósforo, lo que favorece en problemas de osteoporosis. También ayuda a estabilizar el sistema nervioso gracias a su riqueza en vitaminas del complejo, Así mismo, como antioxidante gracias a su capacidad reductora de radicales libres en estudios *In vitro* del extracto de *Nostoc sphaericum*, entre otras propiedades como antibacteriana y antiinflamatoria (8,31).

2.4.1.6. Composición química

Una muestra fresca de cushuro posee entre un 35% y 42% de proteínas, además de minerales esenciales. También contiene aminoácidos esenciales y es una fuente abundante de vitaminas B1, B2, B5 y B8. (29). Posee un alto contenido proteico, se digiere fácilmente por el organismo humano, ya que no contiene celulosa en su pared celular como los organismos eucariotas, contiene más proteínas, calcio, hierro y fósforo que la carne de cuy (31). En la tabla 1, se observa la composición nutricional de cushuro.

Tabla 1. Composición nutricional del Cushuro (g/100g)

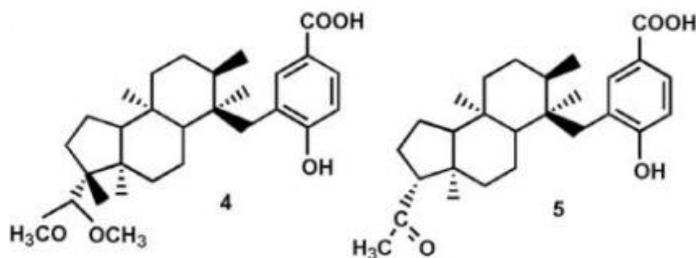
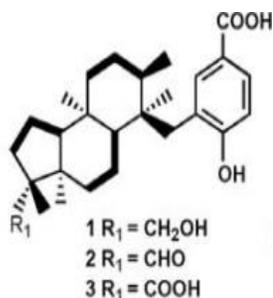
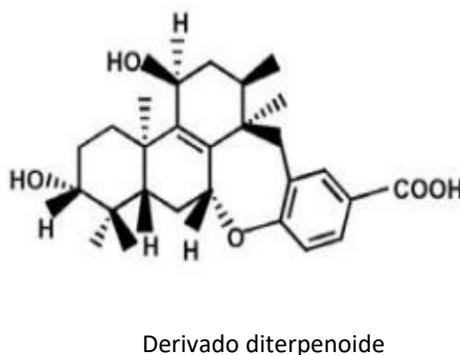
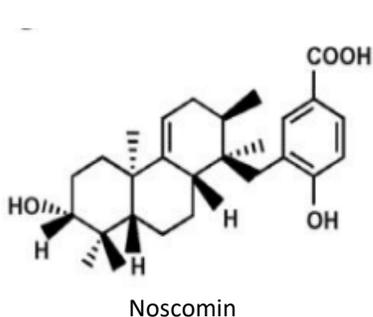
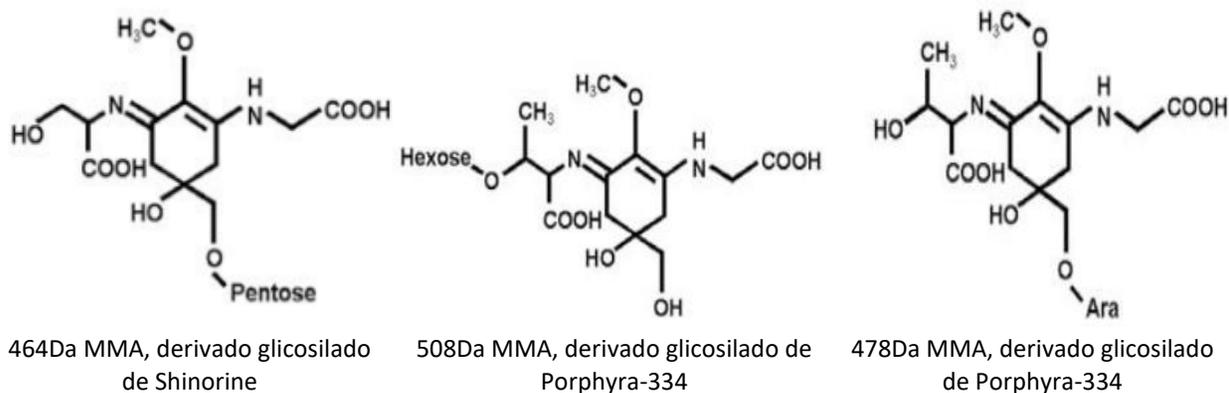
Propiedad	Centro nacional de alimentos y nutrición (2017)	Aldave (2015)	Gantar (2008)
Energía	242 kcal	320,5 kcal	--
Agua	15,1 g	15 g	6,3 g
Proteína	29 g	30 g	2,4 g
Grasa total	0,5 g	0,5 g	0,8 g
Carbohidratos	46,9 g	50 g	62,4 g
Cenizas	8,5 g	--	5,10 g
Calcio	147 mg	145 mg	1076 mg
Fosforo	64 mg	64 mg	258 mg
Hierro	83,6 mg	83,6 mg	19,6 mg
Vitamina A	--	--	0,01 mg
Tiamina	0,2 mg	0,2 mg	--
Riboflavina	0,41 mg	0,41 mg	--

Fuente: Quitral V, Morales C, Sepúlveda M, Schwartz M. Propiedades nutritivas y saludables de algas marinas Rev. *Nutrición Chilena*. 2012 (31).

Algunos estudios han identificado fitoquímicos y compuestos bioactivos purificados de *Nostoc*. Estos compuestos se pueden clasificar en varios tipos como aminoácidos, grasas y lípidos, como los diterpenoides, que es relativamente raro en las cianobacterias (8). Así mismo, contiene una rica matriz de polisacáridos formados por azúcares neutros y ácidos como glucosa, galactosas, arabinosa, xilosa, alginato, la pared celular es de alta densidad aniónica, contiene grupos sulfato, ficobiliproteínas, metabolitos secundarios como los flavonoides, fenoles y antocianinas (32).

Es importante señalar que la mayoría de estos compuestos han sido descubiertos y clasificados, pero se conoce poco acerca de sus posibles propiedades funcionales. Esta especie destaca por su amplia variedad de nutrientes, especialmente rica en diversas moléculas pequeñas, comparables a otros organismos, en la Figura 4, se observan algunos aminoácidos glicosilados tipo micosporinas del género de *Nostoc*.

Figura 3. Aminoácidos glicosilados similares a micosporinas de *Nostoc*.



1-5 comnostinas A-E

Fuente: Li Z, Guo M. Eficacia saludable de *Nostoc commune*. *Oncotarget*. 2018 (8).

2.4.2. Actividad antioxidante

2.4.2.1. Estrés oxidativo

Los radicales libres en altas concentraciones en las células genera un desequilibrio causando acumulación o estrés oxidativo, ya que los complejos antioxidantes no tienen la capacidad de compensar ese desequilibrio en la generación y eliminación de estos compuestos (33).

En el estrés oxidativo existe una ganancia de electrones y pérdida de moléculas de oxígeno, conocido como una reacción redox. Generalmente el oxígeno se encuentra en forma de O_2 , sus reacciones fisicoquímicas provocan pro-oxidantes (radicales libres reactivos) que generan una serie de reacciones bioquímicas en el cuerpo humano, cambiando carbohidratos, lípidos, proteínas y ácidos nucleicos a través de los niveles de la membrana celular, citoplasma y núcleo, y sus posibles acciones. También afectan a los leucocitos al promover su activación anormal, lo que puede generar enfermedades degenerativas, cardíacas y cerebrales (34).

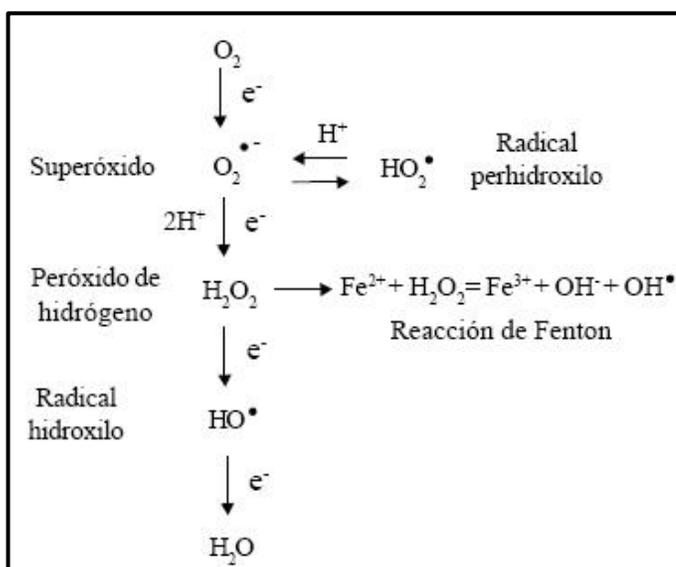
2.4.2.2. Radicales libres

Un radical libre (RL) se considera una molécula con al menos un número impar de electrones en su último nivel de energía, lo que le confiere una conformación que provoca un grado de inestabilidad de alta determinación. Su tendencia natural a donar este electrón o recibirlo por apareamiento lo hace altamente reactivo (34).

Los radicales libres (RL) tienden a estabilizarse robando electrones de otras moléculas, lo que los hace altamente reactivos. Como resultado, la molécula que pierde su electrón se convierte en un nuevo radical libre, desencadenando una reacción en cadena. Entre los principales RL se encuentran las especies reactivas de oxígeno (ERO) y las especies

reactivas de nitrógeno (ERN). Dentro de las ERO se destacan el radical hidroxilo ($\text{OH}\cdot$), el anión superóxido (O_2^-) y el oxígeno singlete ($^1\text{O}_2$), mientras que las ERN incluyen el óxido nítrico ($\text{NO}\cdot$) y el catión nitrosilo (NO^+), entre otros. (35).

Figura 4. Especies reactivas de oxígeno (ERO)



Fuente: Coronado-H M, Antioxidantes. *Rev Nutr Chil*, 2015 (35).

2.4.2.3. Principales mecanismos generadores de ERO

Los principales mecanismos por lo que se generan EROS son:

1. Cadena de transporte electrónico mitocondrial; La mitocondria satisface la mayor parte de las necesidades energéticas de la célula mediante el metabolismo oxidativo, siendo también la principal fuente de especies reactivas de oxígeno (EROS). Aproximadamente entre el 1-5% del oxígeno consumido es transformado en anión radical superóxido ($\text{O}_2^{\cdot-}$) debido a una reducción parcial del oxígeno (15).
2. Las reacciones bioquímicas redox dependientes de oxígeno que ocurren en el metabolismo celular incluyen la actividad de la monoamino oxidasa (MAO) (15).
3. Durante la actividad física, el cuerpo aumenta su consumo de oxígeno hasta 20 veces, mientras que en el músculo esquelético este incremento puede llegar a ser

hasta 100 veces superior, con el objetivo de incrementar la producción de ATP mediante la fosforilación oxidativa en las mitocondrias. Este aumento en el uso de oxígeno también provoca una mayor generación de aniones radical superóxido ($O_2\bullet^-$) (15).

4. La radiación ionizante, ya sea de origen atmosférico o utilizada en radioterapia, es absorbida principalmente por el agua debido a su abundancia. Esto genera una gran cantidad de radicales libres, como $H\bullet$, $\bullet OH$, H_2O_2 , H_2O , en un lapso aproximado de 10^{-9} segundos tras la exposición (15).
5. Plaguicidas, contaminantes ambientales, humo de tabaco y ciertos fármacos (15).

2.4.2.4. Moléculas afectadas por los RL

Los radicales libres derivados del oxígeno y nitrógeno pueden dañar las macromoléculas así como el ADN, ARN.

- **Lípidos:** La oxidación ocurre principalmente en los lípidos insaturados debido a la presencia de dobles enlaces con hidrógenos reactivos, un proceso conocido como peroxidación lipídica. Este fenómeno inicia cuando el radical hidroxilo ($OH\bullet$) ataca el grupo metilo (CH_2) de un lípido insaturado (LH), generando un radical lipídico ($L\bullet$). Al reaccionar con el oxígeno (O_2), se forma un radical peroxil lipídico ($LOOH\bullet$), altamente reactivo, capaz de atacar otros ácidos grasos y perpetuar el ciclo. Como resultado de múltiples reacciones, pueden generarse subproductos perjudiciales como el malondialdehído (MDA) y el 4-hidroxinonenal (4-HNE).(36).
- **Proteínas:** Los radicales libres, particularmente el radical hidroxilo, el superóxido y el peróxido de hidrógeno, atacan directamente los residuos de aminoácidos en las proteínas, como cisteína, metionina, treonina, tirosina e histidina. Este ataque

puede causar diversas modificaciones, como la formación de agregados proteicos y alteraciones en la estructura tridimensional de las proteínas. Los grupos carbonilo en las proteínas son un indicativo de su oxidación. (37).

- **ADN:** Los radicales libres, como el radical ($\bullet\text{OH}$), tienen la capacidad de interactuar directamente con las bases nitrogenadas del ADN (adenina, timina, citosina y guanosina), lo que puede llevar a la ruptura de su doble cadena. Un indicador relevante del daño oxidativo en el ADN es la 8-hidroxi desoxiguanosina, un aducto que se forma cuando una purina reacciona con el radical $\text{OH}\bullet$. La presencia de este aducto está vinculada a procesos como la carcinogénesis, la mutagénesis y el envejecimiento (34).
- **ARN:** El ARN es más propenso al daño debido a su estructura química única, que incluye el azúcar ribosa, el cual posee un grupo hidroxilo adicional ($-\text{OH}$) en la posición 2', lo que lo hace más susceptible a la oxidación. La 7,8-dihidro-8-oxoguanosina es un biomarcador clave para detectar el daño en el ARN (34).

2.4.2.5. Antioxidantes

Los antioxidantes donan electrones a los radicales libres, deteniendo así la reacción en cadena y garantizando la estabilidad de los átomos. Su acción antioxidante se relaciona con procesos que inhiben la generación de radicales libres o disminuyen considerablemente su reactividad. (36).

Lo que hacen los antioxidantes es acelerar la descomposición de los radicales libres, en primera instancia disminuyendo la presencia de iones metálicos mediante compuestos quelantes, existen varios mecanismos endógenos propios del organismo y exógenos provenientes de la dieta que contrarrestan el daño por ROS (38).

2.4.2.6. Líneas de defensa del daño oxidativo

Los antioxidantes en los sistemas biológicos se clasifican en diferentes líneas de defensa según su capacidad para actuar en diversas etapas del proceso de daño oxidativo. Estas son (38):

1. **Primera línea de defensa antioxidante:** Compuesta principalmente por mecanismos enzimáticos de acción rápida, esta defensa neutraliza las especies reactivas de oxígeno (ERO) y nitrógeno (ERN), evitando el daño celular inmediato. Entre sus principales enzimas se encuentran la superóxido dismutasa (SOD), que utiliza cobre/zinc como cofactor en el citosol y manganeso en las mitocondrias; la catalasa (CAT), localizada en los peroxisomas; y la glutatión peroxidasa (GP), presente en las mitocondrias. (33,39) .
2. **Segunda línea de defensa antioxidante:** Estos compuestos atrapan y desactivan los radicales libres, transformándolos en moléculas menos perjudiciales o más fáciles de eliminar. Dentro de esta categoría se incluyen el glutatión, el ácido ascórbico (vitamina C), los tocoferoles (vitamina E) y los carotenoides. (39).
3. **Tercera línea de defensa antioxidante:** Aquí se encuentran los sistemas de reparación del ADN que permiten corregir el daño producido por los radicales libres o conocidas como las enzimas de *novo*. Su función consiste en descomponer y eliminar proteínas dañadas. Entre los ejemplos más comunes se encuentran las enzimas responsables de la reparación del ADN (como las polimerasas y nucleasas) y las enzimas proteolíticas (como las proteasas y peptidasas), que se localizan tanto en el citosol como en las mitocondrias. (33)

4. Cuarta línea de defensa antioxidante: Esta línea está relacionada con los mecanismos de eliminación de células dañadas que pueden convertirse en peligrosas si no son controladas tales como el proceso de apoptosis que consiste en eliminar las células que han sufrido un daño irreparable, evitando que se conviertan en malignas y el proceso de autofagia, proceso por el cual las células eliminan componentes dañados o innecesarios, incluyendo proteínas oxidadas y orgánulos defectuosos (38,40).

2.4.3. Actividad fotoprotectora

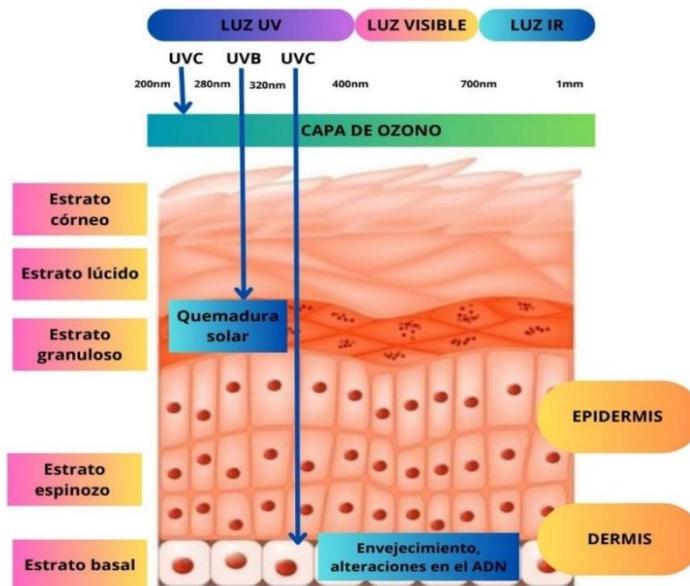
2.4.3.1. Radiación ultravioleta

La radiación ultravioleta (UV), corresponde a un 6-7% de la energía que el sol emite hacia la tierra, que se encuentra entre 100-400 nm de longitud de onda, clasificados en tres categorías. Los gases de la atmosfera especialmente el ozono y el agua, absorben la radiación ultravioleta UVB en un 90% que causa mayor daño y de manera débil la radiación UVA y totalmente la radiación UVC (41).

- **Radiación UVA:** Este tipo de radiación varía entre 320 y 400 nm, y llega a la superficie en un 5%, es el que genera menos daño, pero llega a la tierra en mayores cantidades, responsable del bronceado solar, el fotoenvejecimiento por producción de radicales libres (40).
- **Radiación UVB:** Este tipo de radiación varía entre 280 y 320 nm, y llega a la superficie en un 0,5%, es el que mayor daño causa a nivel del ADN genético, ocasionando desde problemas como ceguera, melanoma maligno y cáncer (15).
- **Radiación UVC:** este tipo de radiación varía entre 100 y 280 nm, es la forma más dañina, sin embargo, ésta es absorbida por el oxígeno y ozono, imposibilitando su

llegada a la superficie. En la Figura 3 se observa la radiación ultravioleta sobre la piel (40,41).

Figura 5. Radiación ultravioleta sobre la piel.



Fuente: Burgos-Blasco P, Indicaciones y tratamiento fotoprotector. *Rev. Medicine*, 2022 (42).

2.4.4. La piel

La piel es el órgano más grande del cuerpo humano con una superficie aproximada de 1,5 m², que no solo nos protege de los agentes externos (radiación ultravioleta); sino también regula la temperatura y la sensación táctil. Esta barrera está formada por tres capas, la epidermis compuesta por varias células como los melanocitos, queratinocitos, células Langerhans, y células Merkel; la dermis formada por el tejido conjuntivo por fibras elásticas y fibras de colágeno y la capa subcutánea o hipodermis. Las principales células que se encuentran son los fibroblastos que sintetizan el colágeno y fibras proteicas de la matriz extracelular, los adipocitos y macrófagos (3).

2.4.5. Efectos de la radicación sobre la piel

- **Bronceado:** la melanina en un inicio se considero que tenia entre 3 a 7 de protección solar de los rayos ultravioletas, sin embargo, este favorece a la producción o síntesis de dímeros de ciclobutano que pueden desencadenar mutagénesis y metástasis después de haber sido la piel expuesta al sol. La feomelanina de los fototipos claros y rojizos son más propensos a la producción de estos dímeros ciclobutánicos, a diferencia de la eumelanina en fotipos oscuros y morenos es menor su producción (41).
- **Quemadura:** la exposición al sol a temprana edad, como son los infantes y adolescentes repercute en la salud de su piel a largo plazo, que puede empezar con la aparición de manchas denominados melasmas y a largo plazo desarrollar carcinoma basocelular y melasma maligno, en estudios de epidemiología se señala que en promedio de haber tenido cinco episodios de quemadura se aumenta el riesgo de padecer estas alteraciones tres veces más aproximadamente (15).
- **Fotoenvejecimiento:** La melanina que se sintetiza en los melanocitos son la primera fuente de protección frente a los rayos UV, los melanocitos mediante la secreción citocrina sintetizan la melanina, los queratinocitos fagocitan las terminaciones dendríticas llenas de melanina y las incorporan en su citoplasma, formando una cobertura por encima del núcleo, de esa manera evitar que los rayos ultravioleta lleguen al núcleo de la célula y evitar alteraciones en el ADN, sin embrago las radiaciones que logran escapar de la absorción de la melanina pueden generar daño celular que interfieren directamente en las reacciones de

fragmentación, generando ionización o formando dímeros de pirimidina ciclobutano (DPC), que conlleva la formación de 6-4 fotoproductos o bien a la generación de especies reactivas de oxígeno (ROS), formaciones que generan alteración del ciclo celular y apoptosis (3,15).

- **Cáncer cutáneo melanoma y no melanoma:** Cuando la exposición al sol es demasiado o intermitente, al ser absorbida en la epidermis se une a las bases nitrogenadas del ADN, provocando la síntesis DPM. Aunque los queratinocitos reparan este daño, una reparación incompleta genera mutaciones. Si el daño es severo, la proteína p53, cuya producción aumenta con los RUV, activa la apoptosis de los queratinocitos dañados. Sin embargo, si los RUV mutan el gen p53, se pierde el control del genoma. Esto favorece la aparición de queratosis actínicas y carcinomas espinocelulares o basocelulares. La mutación en p53 es clave en este proceso (41).
- **Inmunosupresión:** Es la inhibición de la respuesta inmunitaria, lo que, de manera indirecta, favorece la aparición de cáncer. Además, incrementa la susceptibilidad a infecciones oportunistas, como las causadas por el virus del herpes (15,41).

2.4.6. Fotoprotectores

Los filtros de fotoprotección tienen el papel más importante en contrarrestar el daño ocasionado por la radiación UVA, UVB y UVC. En su composición contienen compuestos activos capaces de absorber, reflejar o dispersar las radiaciones (41).

Las formulaciones en su composición contienen filtros, en su mayoría sintéticos que tienen la capacidad de absorber la radiación UV en un rango de 290 a 400 nm. En los países latinoamericanos es considerado como un cosmético, pero en países europeos

como EE. UU, Australia o Canadá se expenden como un medicamento de venta libre. En Estados Unidos, la FDA, describen sus monografías el ensayo y pruebas que deben pasar estos filtros, además de establecer los requisitos de indicaciones, en caso sea un fotoprotector orgánico o libre de parabenos, ya que debe ser claro para el consumidor. Actualmente en EE. UU existe 16 de estos filtros que han sido considerados, frente a 34 en Australia y 26 en la Unión Europea (15).

2.4.7. Tipos de fotoprotectores

- **Fotoprotectores físicos o minerales:** Funcionan reflejando o dispersando la radiación UV, impidiendo que penetre en la piel. Contienen minerales óxido de zinc junto al dióxido de titanio, son filtros más comúnmente utilizados en fotoprotectores que cubren la piel como una barrera física frente a los RUV.
- **Fotoprotectores químicos:** Absorben la radiación UV y la transforman en energía no dañina (generalmente en forma de calor) antes de que alcance las células de la piel. Estos suelen incluir compuestos como el avobenzona, octocrileno y oxibenzona, que absorben distintos tipos de rayos UV (UVB, UVA).

En la Tabla 3, se visualiza la categoría de filtros solares según la FDA.

Tabla 2. Categoría de protectores solares según la FDA (41).

Categoría I	Oxido de zinc, dióxido de titanio
Categoría II	Ácido aminobenzóico (PABA), salicilato de trolamina.
Categoría III	Cinoxato, dioxibenzona, ensulizol, homosalato, meradimato, oxtinoxato, octisalato, octocrileno, padimato O, sulisobenzona, oxibenzona, avobenzona.

2.4.8. Filtros solares biológicos

Los compuestos antioxidantes de origen natural tienen la capacidad de neutralizar y

eliminar los radicales libres causantes del daño en la piel, los más utilizados en formulaciones son el tocoferol y el ácido ascórbico (41).

- **Tocoferol (Vit E):** La vitamina E es una de las sustancias antioxidantes más destacadas por su efecto fotoprotector, especialmente por su capacidad para inhibir la peroxidación lipídica. La vitamina E gracias a su estructura interfiere en la generación de las cadenas de los radicales libres, además poseen la capacidad de regenerarse utilizando como cofactor a la vitamina C, y tener actividad reparadora de los daños causados por los RUV.(15).

2.4.9. Factor de protección solar

El factor de protección solar (FPS) es una medida que evalúa la potencia del fotoprotector solar en función de su capacidad para prevenir el eritema, ofreciendo protección frente a los rayos UVB. Se calcula como la relación de la dosis mínima de RUV necesaria para causar eritema en la piel con la barrera del fotoprotector aplicada (DEM) y la requerida para causar el mismo efecto en la piel sin protección. Esta medida no se relaciona con el tiempo de exposición a los RUV siendo no lineal, un valor de 15 FPS bloquea el 93% de la radiación UVB, mientras un valor de FPS de 30 bloquea el 97%, y un valor de FPS de 50 alcanza el 98%. La sensibilidad a los UVB es similar en niños y adultos. (41).

Expresada por la siguiente fórmula:

$$FPS = \frac{\text{MED con protector solar}}{\text{MED sin protector solar}}$$

Donde:

SPF: factor de protección solar

MED: dosis eritematogena mínima

2.4.10. Fotoestabilidad

La estabilidad fotoquímica es la capacidad de una molécula de no degradarse durante la exposición solar, garantizando una protección constante en el tiempo. Es una característica esencial de un filtro UV eficaz, ya que su descomposición reduce la capacidad fotoprotectora y puede generar reacciones de fotoalergia o fototoxicidad. La piel u otras moléculas, pudiendo originar compuestos con propiedades tóxicas desconocidas. Además, puede dar lugar a RL con efectos teratogénicos. En este contexto, las formulaciones con filtros de origen mineral se consideran más estables a la degradación por los RUV (41).

2.4.11. Cremas Cosméticas

Son formas farmacéuticas semisólidas, gracias a su consistencia pastosa puede ser aplicado sobre diferentes zonas del cuerpo con fines de embellecimiento, de protección o dar un mejor aspecto a la piel, dentro de su composición pueden contener vehículos y excipientes que ayuden a penetrar al principio activo o tener un efecto local (43).

2.4.12. Formas farmacéuticas de aplicación tópica

Las preparaciones de aplicación tópica ya sea con fines terapéuticos o cosméticos sea este un semisólido como las cremas, geles, pomadas, etc. Cumplan con las exigencias en sus propiedades fisicoquímicas, ya que permanecen sobre la piel como una capa delgada, gracias a su capacidad de adherencia, que con una fuerza mecánica puede ser deformada (44).

- **Gel:** Están formadas por líquidos gelificados que le dan la naturaleza sea esta un gel hidrófilo (formado por polietilenglicoles o celulosas) o hidrófoba (formado por parafina líquida, aceites gelificados), los geles presentan un buen efecto

evanescente, siendo una buena opción en pieles con acné (45).

- **Crema:** Son preparaciones semisólidas multifacéticas que contienen agua por lo menos en un 50% y aceites o compuestos no miscibles en agua, que mediante un agente emulsificante las dos fases se unen formando una mezcla estable. Los sistemas más clásicos son: (45).
 - **Cremas lipófilas:** Este sistema es W/O, el agua esta dispersa en grasa, la fase externa se evapora con la variación de la temperatura, dejando la fracción lipófila sobre la piel, esto favorece en problemas de piel reseca, en la psoriasis y dermatitis, donde la piel tiende mucho a reseca, tienen un efecto refrescante y gracias a la oclusividad evita la deshidratación (45).
 - **Cremas hidrófilas:** Este sistema es O/W, el aceite esta dispersa en agua, contienen más cantidad de agua que grasas, al momento de la evaporación de agua la poca cantidad de grasa es absorbida fácilmente y es de fácil lavado. En su composición las grasas más usadas son los alcoholes como el estearílico o el cetílico que dan resultado a emulsiones estables. pueden contener agentes lipófilos y grasas, aunque no necesariamente compuestos hidrófilos (45).
- **Cremital:** son semisólidos de tipo O/W con la sea acuosa gelificada, generalmente se usan derivados de la celulosa o polímeros como el carbopol, se utilizan glicoles para estabilizar el pH, ya que juega un papel importante en la consistencia, poseen buena capacidad evanescente, tiene la capacidad de recibir varios principios activos en su sistema, mantiene la piel hidratada y es apto para pieles con sensibilidad como en los casos de rosácea y acné (43).

- **Pomadas:** Es una preparación semisólida de una sola fase, la fase grasa que sobre esta se puede agregar líquidos o sólidos, tiene propiedades oclusivas (45).
- **Pasta:** Están constituidos entre un 20 a 50% de sólidos que están dispersos gracias a esta propiedad tiene una función de barrera física frente a irritaciones o inflamaciones causadas por fricción (45).
- **Loción;** Es un preparado semisólido, de consistencia líquida y de fácil aplicación sobre la piel y mucosas (45).
- **Espuma:** Son preparaciones conformada por dos fases, una fase dispersa y líquida, que dan la formación de una estructura espumosa, es de fácil aplicación, absorción y posee una textura ligera (45).

2.4.13. Estudios de estabilidad

Un producto o formulación debe mantener sus propiedades físicas, químicas, microbiológicas y sensoriales en un periodo de tiempo, para estimar su vida útil, existen dos tipos de estudio de estabilidad, está la preliminar o estabilidad acelerada (46). Dentro de estos ensayos se evalúa diferentes parámetros como son:

Parámetros organolépticos: Este parámetro determina la aceptación del consumidor, los ensayos incluyen en evaluación del olor, color, sabor, sensación al tacto y e aspecto de la formulación (46).

Parámetros fisicoquímicos: Es importante que la formulación mantenga una estructura que simple vista no se pueda observar, alteraciones en propiedades físicas, como la formación de grumos, separación de fases, y dentro de las propiedades químicas como el pH, densidad, viscosidad, entre otras. Son indicadores de la estabilidad de la formulación (46).

Parámetros microbiológicos: La estabilidad microbiológica permite evaluar el sistema conservante adecuado, si la compatibilidad de compuestos no afecte la eficacia de la formulación, de acuerdo a la farmacopea americana, en su capítulo de evaluación microbiológica en productos no estériles, considera el método por conteo en placa, donde especifica el microorganismo, el medio y las condiciones de evaluación, así mismo existe la prueba de desafío del sistema conservante (Challenge test) (46).

Al iniciar la prueba de estabilidad es necesario someter a la formulación a un aprueba preliminar que consta en centrifugar a 3000 rpm durante 30 minutos, si se observa separación de fases u otra alteración se debe reformular, en caso no se visualice separación de fases, etc. Se continuará con la prueba de estabilidad (46).

2.5. Definición de términos básicos

Nostoc sphaericum: Son cianobacterias esféricas fotosintéticas que habitan en lagos, lagunillas, charcos de los andes peruanos con aparición generalmente en épocas pluviales (29).

Extracto hidroalcohólico: Es una técnica de utilizar como solvente (mezcla etanol/agua) a concentraciones diferentes para extraer compuestos orgánicos mediante distintas técnicas (47).

Compuestos fenólicos: Son metabolitos que tienen como estructura grupos hidroxilo y anillos aromáticos, estos son biosintetizados en las plantas, actúan capturando y estabilizando los compuestos oxidantes (48).

Actividad antioxidante: Capacidad de una sustancia para inhibir la descomposición oxidativa, asociada a mecanismos que suprimen la producción de radicales libres o reducen significativamente la reactividad (49).

Actividad fotoprotectora: Capacidad de una sustancia o compuesto activo de despesar, reflejar o absorber radiaciones UVA, UVB (41).

Cremigel: Sistema conformada por tres fases, una fase líquida gelificada, fase oleosa y el emulgente. (50)

IC₅₀ (Concentración Inhibitoria 50%): Es la capacidad que tiene un compuesto de inhibir un cierto componente o una sustancia a la mitad de la concentración (51).

In vitro: Técnicas que se realizan fuera del organismo vivo utilizando tubos de ensayo, y en grupos controlados (52) .

CAPÍTULO III

MATERIALES Y MÉTODO

3.1. Materiales

3.1.1. Material biológico

- Colonias de cianobacterias de *Nostoc sphaericum*, Cushuro.

3.1.2. Material de laboratorio

- Matraz erlenmeyer 250 y 500 mL
- Vasos de precipitado 20, 50,100 mL
- Tubos de ensayo 10, 20 mL
- Probetas 50 y 100 ml
- Fiolas 10,25 mL
- Luna de reloj
- Tips de 1000µL,
- Potes de 30 gr.

3.1.3. Equipos

- Liofilizador (Freeze Dryer)
- Balanza analítica (Ohaus Pioneer PA523)
- Espectrofotómetro UV-VIS (PGInstruments mod.t80+, Software UV-Win5.2.01104).
- Sonicador Branson 2800
- Rota vapor Boeco – RVO 400 SD
- Centrífuga (LC-04R Greatlab)

- Microscopio (GREETMED)
- Estufa (Ovens)
- Colorímetro Konica Minolta CR-400

3.1.4. Reactivos

a) Reactivo para la extracción del extracto hidroalcohólico de *Nostoc sphaericum*, cushuro.

- Etanol 70%

b) Reactivos para el tamizaje fitoquímico

- Lieberman- Burchard
- Reactivo de Dragendorff
- Reactivo de Mayer
- Reacción de Shinoda
- Cloruro férrico
- Cloruro férrico
- Bortranger

c) Reactivos para el ensayo de solubilidad

- Agua destilada
- Metanol
- Etanol 70°
- Acetona
- Acetato de etilo
- Cloroformo
- Hexano

d) Reactivos para la actividad antioxidante

- Etanol absoluto
- 2,2-difenil-1-picrilhidracilo DPPH,
- Vitamina E

e) Reactivos para la determinación de FPS

- Etanol absoluto
- Fotoprotector: Non Sun 50

f) Insumos para la preparación del cremigel

- Metilparabeno
- Carbopol 450
- Olivem 1000
- Vaselina líquida
- Alcohol cetílico
- Monoestearato de isopropilo
- Miristato de isopropilo
- Agua destilada csp.

3.2. Metodología

3.2.1. Tipo de estudio

- El estudio tiene un enfoque cuantitativo, tipo Experimental. Debido a que se manipula intencionalmente la variable independiente (concentración del extracto en la formulación), para evaluar su efecto antioxidante y fotoprotector en un modelo *In vitro*. (53).

3.2.2. Diseño de estudio

- Cuasi- experimental: Ya que no se manipuló un conjunto completo de variables, sino únicamente la concentración del cremigel a diferentes concentraciones (0,25;0.5 y1%) sin asignación aleatoria, para evaluar su efecto en la actividad antioxidante y factor de protección solar UVB *In vitro* (53).
- Transversal: Porque la recopilación de datos se realiza en un solo periodo, observando las propiedades del cremigel (actividad antioxidante y fotoprotectora UVB) bajo condiciones controladas en un solo punto de tiempo (53).

a) Diseño cuasi-experimental de la actividad antioxidante del cremigel elaborado con extracto hidroalcohólico de *Nostoc sphaericum* Vaucher ex Bornet & Flahabit, Cushuro.

GRUPO	TRATAMIENTO	OBSERVACIÓN
G ₁	X ₁	O ₁
G ₂	X ₁	O ₂
G ₃	X ₁	O ₃

G: Solución etanólica diluida del cremigel a base del extracto hidroalcohólico de *Nostoc sphaericum* Vaucher ex Bornet & Flahabit (Cushuro) y DPPH.

X₁: Condiciones de absorbancia en nanómetros (nm).

O: Medición de la absorbancia a 517 nm.

G₁: Solución etanólica diluida de cremigel a base del extracto hidroalcohólico al 0.25% y DPPH.

G₂: Solución etanólica diluida de cremigel a base del extracto hidroalcohólico al 0.5% y DPPH.

G₃: Solución etanólica diluida de cremigel a base del extracto hidroalcohólico al 1% y DPPH.

X₁: Solución etanólica diluida del cremigel a base del extracto hidroalcohólico de *Nostoc sphaericum* (Cushuro) y DPPH.

O₁: Lectura de la absorbancia a 517 nm de la solución etanólica diluida del cremigel al 0.25% a base del extracto hidroalcohólico de *Nostoc sphaericum* Vaucher ex Bornet & Flahabit (Cushuro) y DPPH.

O₂: Lectura de la absorbancia a 517 nm de la solución etanólica diluida del cremigel al 0.5% a base del extracto hidroalcohólico de *Nostoc sphaericum* Vaucher ex Bornet & Flahabit (Cushuro) y DPPH.

O₃: Lectura de la absorbancia a 517 nm de la solución etanólica diluida del cremigel al 0.5% a base del extracto hidroalcohólico de *Nostoc sphaericum* Vaucher ex Bornet & Flahabit (Cushuro) y DPPH.

Nota: Las lecturas de cada dilución se realizaron por triplicado.

b) Diseño cuasi-experimental de la determinación UVB *in vitro* del factor de protección solar (FPS), del cremigel elaborado con extracto hidroalcohólico de *Nostoc sphaericum* Vaucher ex Bornet & Flahabit, Cushuro.

GRUPO	TRATAMIENTO	OBSERVACIÓN
G ₁	X ₁	O ₁
G ₂	X ₁	O ₂
G ₃	X ₁	O ₃

G: solución etanólica de los cremigeles a base del extracto hidroalcohólico de *Nostoc sphaericum* Vaucher ex Bornet & Flahabit, (cushuro) en una concentración determinada.

X: condiciones a longitudes de onda establecidas nm.

O: Lectura al espectrofotómetro por triplicado.

G₁	X₁	O₁
G₁	X₂	O₂
G₁	X₃	O₃
G₁	X₄	O₄
G₁	X₅	O₅
G₁	X₆	O₆
G₁	X₇	O₇
G₂	X₈	O₈
G₂	X₉	O₉
G₂	X₁₀	O₁₀
G₂	X₁₁	O₁₁
G₂	X₁₂	O₁₂

G₂	X₁₃	O₁₃
G₂	X₁₄	O₁₄
G₃	X₁₅	O₁₅
G₃	X₁₆	O₁₆
G₃	X₁₇	O₁₇
G₃	X₁₈	O₁₈
G₃	X₁₉	O₁₉
G₃	X₂₀	O₂₀
G₃	X₂₁	O₂₁

G₁: Solución etanólica a base del cremigel al 0.25% del extracto hidroalcohólico de *Nostoc sphaericum* Vaucher ex Bornet & Flahabit en una concentración de 0.2mg/mL.

G₂: Solución etanólica a base del cremigel al 0.5% del extracto hidroalcohólico de *Nostoc sphaericum* Vaucher ex Bornet & Flahabit en una concentración de 0.2mg/mL.

G₃: Solución etanólica a base del cremigel al 1% del extracto hidroalcohólico de *Nostoc sphaericum* Vaucher ex Bornet & Flahabit en una concentración de 0.2mg/mL.

X₁: Longitud de onda a 290 nm.

X₂: Longitud de onda a 295 nm.

X₃: Longitud de onda a 300 nm.

X₄: Longitud de onda a 305 nm.

X₅: Longitud de onda a 310 nm.

X₆: Longitud de onda a 315 nm.

X₇: Longitud de onda a 320 nm.

X₈: Longitud de onda a 290 nm.

X₉: Longitud de onda a 295 nm.

X₁₀: Longitud de onda a 300 nm.

X₁₁: Longitud de onda a 305 nm.

X₁₂: Longitud de onda a 310 nm.

X₁₃: Longitud de onda a 315 nm.

X₁₄: Longitud de onda a 320 nm.

X₁₅: Longitud de onda a 290 nm.

X₁₆: Longitud de onda a 295 nm.

X₁₇: Longitud de onda a 300 nm.

X₁₈: Longitud de onda a 305 nm.

X₁₉: Longitud de onda a 310 nm.

X₂₀: Longitud de onda a 315 nm.

X₂₁: Longitud de onda a 320 nm.

O₁: Lectura espectrofotométrica a 290 nm del cremigel al 0.25% del extracto hidroalcohólico de *Nostoc sphaericum* Vaucher ex Bornet & Flahabit.

O₂: Lectura espectrofotométrica a 295 nm del cremigel al 0.25% del extracto hidroalcohólico de *Nostoc sphaericum* Vaucher ex Bornet & Flahabit.

O₃: Lectura espectrofotométrica a 300 nm del cremigel al 0.25% del extracto hidroalcohólico de *Nostoc sphaericum* Vaucher ex Bornet & Flahabit.

O₄: Lectura espectrofotométrica a 305 nm del cremigel al 0.25% del extracto hidroalcohólico de *Nostoc sphaericum* Vaucher ex Bornet & Flahabit.

O₅: Lectura espectrofotométrica a 310 nm del cremigel al 0.25% del extracto hidroalcohólico de *Nostoc sphaericum* Vaucher ex Bornet & Flahabit.

O₆: Lectura espectrofotométrica a 315 nm del cremigel al 0.25% del extracto hidroalcohólico de *Nostoc sphaericum* Vaucher ex Bornet & Flahabit.

O₇: Lectura espectrofotométrica a 320 nm del cremigel al 0.25% del extracto hidroalcohólico de *Nostoc sphaericum* Vaucher ex Bornet & Flahabit.

O₈: Lectura espectrofotométrica a 290 nm del cremigel al 0.5% del extracto hidroalcohólico de *Nostoc sphaericum* Vaucher ex Bornet & Flahabit.

O₉: Lectura espectrofotométrica a 295 nm del cremigel al 0.5% del extracto hidroalcohólico de *Nostoc sphaericum* Vaucher ex Bornet & Flahabit.

O₁₀: Lectura espectrofotométrica a 300 nm del cremigel al 0.5% del extracto hidroalcohólico de *Nostoc sphaericum* Vaucher ex Bornet & Flahabit.

O₁₁: Lectura espectrofotométrica a 305 nm del cremigel al 0.5% del extracto hidroalcohólico de *Nostoc sphaericum* Vaucher ex Bornet & Flahabit.

O₁₂: Lectura espectrofotométrica a 310 nm del cremigel al 0.5% del extracto hidroalcohólico de *Nostoc sphaericum* Vaucher ex Bornet & Flahabit.

O₁₃: Lectura espectrofotométrica a 315 nm del cremigel al 0.5% del extracto hidroalcohólico de *Nostoc sphaericum* Vaucher ex Bornet & Flahabit.

O₁₄: Lectura espectrofotométrica a 320 nm del cremigel al 0.5% del extracto hidroalcohólico de *Nostoc sphaericum* Vaucher ex Bornet & Flahabit.

O₁₅: Lectura espectrofotométrica a 290 nm del cremigel al 1% del extracto hidroalcohólico de *Nostoc sphaericum* Vaucher ex Bornet & Flahabit.

O₁₆: Lectura espectrofotométrica a 295 nm del cremigel al 1% del extracto hidroalcohólico de *Nostoc sphaericum* Vaucher ex Bornet & Flahabit.

O₁₇: Lectura espectrofotométrica a 300 nm del cremigel al 1% del extracto hidroalcohólico

de *Nostoc sphaericum* Vaucher ex Bornet & Flahabit.

O₁₈: Lectura espectrofotométrica a 305 nm del cremigel al 1% del extracto hidroalcohólico de *Nostoc sphaericum* Vaucher ex Bornet & Flahabit.

O₁₉: Lectura espectrofotométrica a 310 nm del cremigel al 1% del extracto hidroalcohólico de *Nostoc sphaericum* Vaucher ex Bornet & Flahabit.

O₂₀: Lectura espectrofotométrica a 315 nm del cremigel al 1% del extracto hidroalcohólico de *Nostoc sphaericum* Vaucher ex Bornet & Flahabit.

O₂₁: Lectura espectrofotométrica a 320 nm del cremigel al 1% del extracto hidroalcohólico de *Nostoc sphaericum* Vaucher ex Bornet & Flahabit.

Nota: Las lecturas de cada dilución se realizaron por triplicado.

3.2.3. Variable: Definición conceptual y operacional

3.2.3.1. Variable independiente

Extracto hidroalcohólico de *Nostoc sphaericum* Vaucher ex Bornet & Flahabit, Cushuro.

Definición conceptual: Solución concentrada de principios activos obtenidas por maceración con un solvente orgánico, que contiene los principios activos responsables de las actividades (54).

Definición operacional

- Naturaleza: Cuantitativa
- Forma de medición: Directa
- Escala de medición: Razón
- Instrumento de medición: Micropipeta
- Procedimiento: Se pesó el extracto seco (mg) del extracto hidroalcohólico seco de *Nostoc sphaericum* Vaucher ex Bornet & Flahabit, Cushuro.
- Expresión final: mg/mL

3.2.3.2. Variables dependientes

a) Actividad antioxidante *in vitro* del cremigel elaborado con el extracto hidroalcohólico de *Nostoc sphaericum* Vaucher ex Bornet & Flahabit, Cushuro.

Definición conceptual: Determinación espectrofotométrica del porcentaje de inhibición del radical DPPH, que representan los cremigeles al 0.25, 0.5 y 1% (55).

Definición operacional

- Naturaleza: Cuantitativa
- Forma de medición: Directa

- Escala de medición: Razón
- Instrumento de medición: Espectrofotómetro UV-visible.
- Procedimiento de medición: Se realizó diluciones en etanol absoluto de los cremigeles, y se agregó el reactivo DPPH, y se procedió a leer en el espectrofotómetro a 517 nm (55).
- Indicador: Porcentaje de inhibición del radical DPPH.
- Expresión final: IC50

b) Actividad fotoprotectora UVB *in vitro* del cremigel elaborado extracto hidroalcohólico de *Nostoc sphaericum* Vaucher ex Bornet & Flahabit, Cushuro.

Definición conceptual: Determinación del factor de protección solar (SPF) de los cremigeles mediante el método de Mansur et.al (56).

Definición operacional

- Naturaleza: Cuantitativa
- Forma de medición: Directa
- Escala de medición: Razón
- Instrumento de medición: Espectrofotómetro UV-visible.
- Procedimiento de medición: Se realizó diluciones en etanol absoluto de los cremigeles a concentración de 0.2 mg/mL y se procedió a realizar las lecturas en un espectrofotómetro entre 290-320nm de longitud de onda con intervalos de cinco, y se determinó su FPS mediante una ecuación.
- Indicador: Factor de protección solar (FPS).
- Expresión final: Protección alta: Protección Baja: 2 – 6; Medio: 8 –

12; Alto: 15 – 25; Muy alto: 30 – 50.

3.2.3.3. Variable interviniente

Cremigel elaborado con extracto hidroalcohólico de *Nostoc sphaericum* Vaucher ex Bornet & Flahabit, Cushuro.

a) Parámetros organolépticos

Definición conceptual: Son indicadores que demuestran que la muestra o formulación está en un buen estado que asegure la aceptación del consumidor (46).

Sub- indicadores

➤ Color

Definición conceptual: Apreciación visual se que se muestra de un cuerpo reflejada por la luz (46).

Definición operacional

Naturaleza: Cuantitativa

Forma de medición: Indirecta

Escala de medición: Razón

Instrumento de medición: Colorímetro CR-400 Minolta

Procedimiento de medición: se coloca una mínima cantidad de muestra en el lente del colorímetro y se procede a realizar las lecturas.

Expresión final: Espacio CIElab.

➤ Aspecto

Definición conceptual: la apariencia uniforme que debe presentar una cierta mezcla (46).

Definición operacional

Naturaleza: Cualitativa

Forma de medición: Directa

Escala de medición: Nominal

Instrumento de medición: Ficha de recolección de datos

Procedimiento de medición: Se realiza una observación macroscópica para ver alteraciones o presencia de separación de fases, presencia de grumos o precipitación.

Expresión final:

- Homogéneo
- No Homogéneo

➤ **Olor**

Definición conceptual: Es la percepción al olfato de una sustancia o aroma que emerge de una masa o materia (46).

Definición operacional

Naturaleza: Cualitativa

Forma de medición: Directa

Escala de medición: Nominal

Instrumento de medición: Ficha de recolección de datos

Procedimiento de medición: Se colocó una pequeña muestra de la crema en una tira de papel inerte y se evaluó el olor que generó.

Expresión final:

- Agradable

- Desagradable
- Sin olor

b) Parámetros fisicoquímicos

Definición conceptual: Propiedades de estructura que la formulación mantenga, como la formación de grumos, separación de fases, y dentro de las propiedades químicas como el pH, densidad, viscosidad, entre otras. Son indicadores de la estabilidad de la formulación (46).

Sub- indicadores

➤ **pH**

Definición conceptual: Es el logaritmo negativo de la concentración molar de iones de hidrogeno, representa la alcalinidad o la acidez (19).

Definición operacional

Naturaleza: Cuantitativa

Forma de medición: Indirecta

Escala de medición: Razón

Instrumento de medición: pH- metro

Procedimiento de medición: Se inicia con la calibración del equipo usando soluciones amortiguadoras o solución tampón, posterior a ello se realiza las lecturas de la muestra.

Expresión final: Valor del pH dentro del rango de referencia de 6-7.

Conforme (dentro del rango) o No conforme (fuera del rango).

➤ **Extensibilidad**

Definición conceptual: Es el aumento creciente del área generada por

una masa y sobre esta se aplica un pesos definidos de manera creciente en periodos de tiempo. (57).

Definición operacional

Naturaleza: Cuantitativa

Forma de medición: Indirecta

Escala de medición: Razón

Instrumento de medición: Laminas portaobjeto

Procedimiento de medición. Se colocó 25 mg de cremigel sobre un portaobjeto de peso conocido y se cubre con otro de peso conocido, luego se procede colocar pesas de 2, 4 y 6 gr en intervalos de tiempo de 60" y se apunta las medidas.

Expresión final: mm²

➤ **Microscopia**

Definición conceptual: Son las partículas o cuerpos no visibles a simple vista (57).

Definición operacional

Naturaleza: Cualitativa

Forma de medición: Directa

Escala de medición: Nominal

Instrumento de medición: Microscopio

Procedimiento de medición: Se depositó una capa fina del cremigel en un portaobjeto, y se observó a 10x.

Expresión final:

- Homogéneo
- No homogéneo

➤ **Sedimentación**

Definición conceptual: Evalúa posible floculación, sedimentación y separación de fases, se realiza mediante una centrifugación (57).

Definición operacional

Naturaleza: Cualitativa

Forma de medición: Directa

Escala de medición: Nominal

Instrumento de medición: Centrífuga

Procedimiento de medición: Se pesó 5 gramos de muestra y se centrifugó a 3000 rpm durante de 30 minutos.

Expresión final:

- Estable
- No estable (separación de fases)

c) Parámetros microbiológicos

Definición conceptual: es el desempeño que tiene una muestra de estar libre de contaminantes que lo demuestra mediante estudios y ensayos en un tiempo definidos que determina su capacidad de conservación, así mismo la calidad que tuvo en el momento de la fabricación o formulación (58).

Sub- indicadores

➤ **Recuento de aerobios mesófilos totales**

Definición conceptual: Microorganismos aerobios que se desarrollan

entre 20 y 45°C de temperatura, los valores mayores al límite establecido sugieren contaminación de los insumos, por patógenos o inestabilidad del producto (58).

Definición operacional

Naturaleza: Cuantitativa

Forma de medición: Indirecta

Escala de medición: Razón

Instrumento de medición: Contador de colonias

Procedimiento de medición.

Expresión final: UFC/g

➤ **Recuento de mohos y levaduras**

Definición conceptual: Son microorganismos que suelen desarrollarse en ambientes húmedos entre 10 y 35°C de temperatura, representan un riesgo microbiológico importante en los cosméticos y suele evidenciarse en forma de capas (58).

Definición operacional

Naturaleza: Cuantitativa

Forma de medición: Indirecta

Escala de medición: Razón

Instrumento de medición: Contador de colonias

Procedimiento de medición: Contador de colonias

Expresión final: UFC/g

➤ ***Escherichia coli***

Definición conceptual: Bacilo Gram-negativo, aerobio. Los resultados positivos pueden ser originados por el propio personal por un mal manejo, insumos contaminados, área de trabajo no aséptico (58).

Definición operacional

Naturaleza: Cuantitativa

Forma de medición: Indirecta

Escala de medición: Nominal

Instrumento de medición: Siembra en placa Petri e identificación

Procedimiento de medición: Siembra en placa Petri e identificación

Expresión final: Ausencia/g

➤ ***Pseudomona aeruginosa***

Definición conceptual: Es un patógeno Gram-negativo aerobio y oxidasa positivo. Se desarrolla entre 37 a 42°C. La presencia *p. aeruginosa* indica contaminación durante la manufactura del producto o contaminación de los insumos (58).

Definición operacional

Naturaleza: Cuantitativa

Forma de medición: Indirecta

Escala de medición: Nominal

Instrumento de medición: Siembra en placa Petri e identificación

Expresión final: Ausencia/g

➤ ***Staphylococcus aureus***

Definición conceptual: Es una bacteria Gram-positiva, es anaerobia facultativa y de metabolismo fermentativo, la temperatura óptima de crecimiento es entre 15 a 45°C. La presencia de este microorganismo es originada por el mismo personal, mal manejo durante la manufactura del producto (58).

Definición operacional

Naturaleza: Cuantitativa

Forma de medición: Indirecta

Escala de medición: Nominal

Instrumento de medición: Siembra en placa Petri e identificación

Expresión final: Ausencia/g

➤ ***Salmonella spp***

Definición conceptual: Es un bacilo Gram-negativo, flagelado y aerobio facultativo, que se encuentra en el tracto gastrointestinal o en el medio ambiente, adaptable a temperaturas bajas. La presencia de *S. spp* indica una contaminación fecal, Indica manejo inadecuado (58).

Definición operacional

Naturaleza: Cuantitativa

Forma de medición: Indirecta

Escala de medición: Nominal

Instrumento de medición: Siembra en placa Petri e identificación

Expresión final: Ausencia/g.

➤ ***Cándida albicans***

Definición conceptual: Es un hongo difórmico oportunista perteneciente al *Phylum Ascomycota*, *C. albicans* debe estar ausente en productos cosméticos, ya que, al entrar en contacto con la piel, provoca infecciones fúngicas (58).

Definición operacional

Naturaleza: Cuantitativa

Forma de medición: Indirecta

Escala de medición: Nominal

Instrumento de medición: Siembra en placa Petri e identificación

Expresión final: Ausencia/g

3.2.4. Variables del estudio

3.2.4.1. Operacionalización de variables

Variable		Naturaleza	Forma de medición	Escala de medición	Indicador	Expresión final
Independiente	Concentración del extracto hidroalcohólico de <i>Nostoc sphaericum</i> Vaucher ex Bornet & Flahabit, Cushuro.	Cuantitativa	Directa	Razón	% de rendimiento del extracto seco	mg/mL
Dependientes	Actividad antioxidante del Cremigel elaborado con extracto hidroalcohólico de <i>Nostoc sphaericum</i> Vaucher ex Bornet & Flahabit, Cushuro.	Cuantitativa	Directa	Directa	Porcentaje de inhibición del radical DPPH.	IC ₅₀ (ug/mL)
	Actividad fotoprotectora UVB <i>in vitro</i> del Cremigel elaborado con extracto hidroalcohólico de <i>Nostoc sphaericum</i> Vaucher ex Bornet & Flahabit, Cushuro.	Cuantitativa	Directa	Directa	Factor de protección solar (FPS)	Protección Baja: 2 – 6 Medio: 8 – 12 Alto: 15 – 25 Muy alto: 30 - 50

Variable		Indicador	Sub indicador	Naturaleza del indicador	Escala de medición	Escala de medición	Expresión final
Interviniente	Cremigel elaborado con extracto hidroalcohólico de <i>Nostoc sphaericum</i> Vaucher ex Bornet & Flahabit, Cushuro.	Análisis organoléptico	Aspecto	Cualitativa	Directa	Nominal	- Homogéneo - No homogéneo
			Color	Cuantitativa	Indirecta	Razón	- Espacio CIE L*, a*, b*
			Olor	Cualitativa	Directa	Nominal	- Agradable - Desagradable - Sin olor
		Análisis fisicoquímico	pH	Cuantitativa	Indirecta	Razón	Valor de pH dentro del valor de referencia
			Extensibilidad	Cuantitativa	Indirecta	Razón	Variación del área en mm ²
			Microscopia	Cualitativa	Directa	Nominal	- Homogéneo - No homogéneo
			Sedimentación	Cualitativa	Directa	Nominal	- Estable - No estable (separación de fases)
		Análisis microbiológico	Recuento de aerobios mesófilos viables	Cuantitativa	Indirecta	Razón	< 10 ³ UFC/g
			Recuento de mohos y levaduras	Cuantitativa	Indirecta	Razón	< 10 ² UFC/g
			<i>Escherichia coli</i>	Cuantitativa	Directa	Nominal	Ausente en 10g
			<i>Pseudomona aeruginosa</i>	Cuantitativa	Directa	Nominal	Ausente en 10g
			<i>Staphylococcus aureus</i>	Cuantitativa	Directa	Nominal	Ausente en 10g
			<i>Salmonella spp.</i>	Cuantitativa	Directa	Nominal	Ausente en 10g
		<i>Candida albicans</i>	Cuantitativa	Directa	Nominal	Ausente en 10g	

Fuente: Elaboración propia

3.2.5. Criterios de selección

De la especie *Nostoc sphaericum* Vaucher ex Bornet & Flahabit, Cushuro.

a. Criterios de inclusión

- Cushuro (*Nostoc sphaericum*), recolectado en la laguna de Qoricocha del distrito de Coya-Cusco.
- Cushuro con características en buen estado, color verde o marrón de aspecto esférico y textura lisa.
- Tamaño aproximadamente mayor a 10 mm, con textura mucilaginosa lisa intacta y aroma característico.

b. Criterios de exclusión

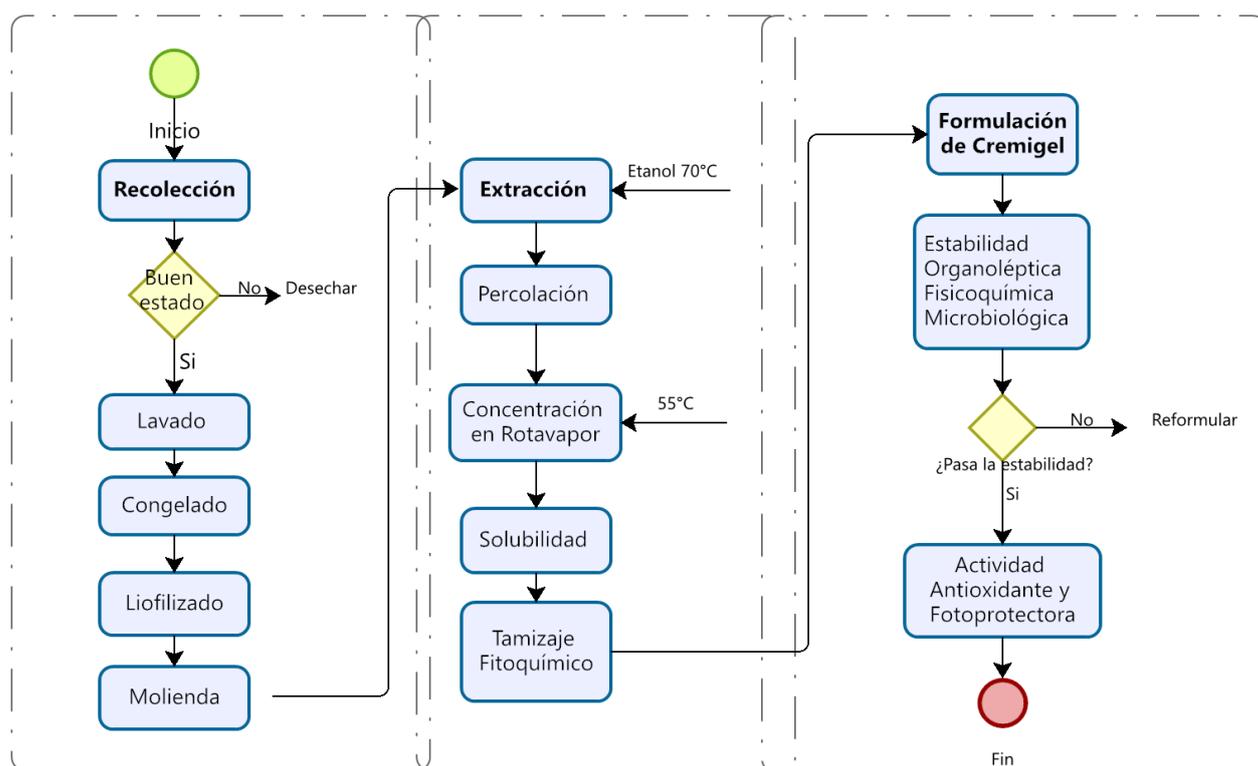
- Se excluyo Cushuro (*Nostoc sphaericum*), que no fueran de la laguna de Qoricocha del distrito de Coya-Cusco.
- Se excluyo Cushuro (*Nostoc sphaericum*), en estado de desintegración o con signos de deshidratación.
- Se excluyo Cushuro (*Nostoc sphaericum*) de tamaño aproximado menor a 10 mm.

3.3. Procedimiento general

La investigación tuvo tres etapas que se describen a continuación:

- **Primera etapa:** Se inició con la recolección de la muestra, seguido por un tratamiento de selección, lavado, congelado liofilizado y tamizado.
- **Segunda etapa:** Se realizó la obtención del extracto hidroalcohólico con etanol de 70° al cual se le hizo pruebas de solubilidad y tamizaje fitoquímico.
- **Tercera etapa:** Se realizó la formulación del cremigel y se evaluó su estabilidad organoléptica, fisicoquímica y microbiológica, así mismo se evaluó su actividad antioxidante y fotoprotectora.

Flujograma 1. Diagrama de flujo general de la investigación.



Fuente: Elaboración propia

3.3.1. Recolección e identificación del material botánico

3.3.1.1. Recolección de la muestra

Las colonias de *Nostoc sphaericum* Vaucher ex Bornet & Flahabit, Cushuro fue recolectada de la laguna de Qoricoha, del distrito de Coya, provincia de Calca, departamento de Cusco, a 4,058 msnm en el mes de marzo del 2023, las colonias de colectaron del litoral de la laguna, con una malla de 1 mm de diámetro, arrastrando por el substrato del agua y colocándolos en un cooler en bolsas de polietileno (59).

Tabla 3. Punto de georreferenciación.

UTM	
Lugar	Coya-Calca-Cusco
Este	18094
Norte	8513773
Zona	19L
Altitud	4, 058 msnm
Latitud	-13.4266066
Longitud	-71.94575574

3.3.1.2. Determinación de la identidad de la especie

La identificación taxonómica se realizó por el Herbario Vargas de la Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco. UNSAAC, (Anexo 1).

3.3.2. Selección y lavado de la muestra

Se procedió a seleccionar las colonias, las que estuvieron en mal estado se desechó, la muestra seleccionada pasó por una desinfección con hipoclorito de sodio 0.5% (cinco gotas de hipoclorito de sodio por litro de agua), durante 30 minutos, posteriormente se lavó con agua destilada (59).

3.3.3. Deshidratación de la muestra

Las colonias fueron liofilizadas previa congelación en bolsas de polietileno en capas delgadas a -14°C por 24 horas, el proceso de deshidratado se realizó por

48 horas, a una temperatura de -35°C y 65 Pa de presión (59).

3.3.4. Molienda del material liofilizado

Las colonias deshidratadas se trituraron en un molino manual hasta obtener un polvo fino (60).

3.3.5. Extracción y concentración del extracto hidroalcohólico

El material pulverizado se humedeció con alcohol de 70° por un periodo de cuatro horas, luego fue trasvasado a una percoladora con el extremo inferior cerrado, por 24 horas, de allí se vertió el solvente hasta saturación de la muestra y se extrajo por goteo lentamente, La adición de disolvente se detuvo cuando el volumen de disolvente añadido alcanzó el 75 % del previsto (60).

El filtrado obtenido se evaporó en un rotavapor al vacío a una temperatura de 55°C, hasta evaporación del solvente y formación de una pasta viscosa (61).

3.3.6. Porcentaje de rendimiento

Se determinó el rendimiento del extracto hidroalcohólico de *Nostoc sphaericum* Vaucher ex Bornet & Flahabit (Cushuro), mediante la siguiente ecuación (22).

$$\%E = \frac{Pf}{Pi} \times 100$$

Donde:

%E= porcentaje de rendimiento

Pi = peso inicial (muestra seca)

Pf = peso final (extracto etanólico seco)

3.3.7. Estudio farmacognóstico

3.3.7.1. Análisis organoléptico

El análisis del extracto hidroalcohólico de *Nostoc sphaericum* Vaucher ex Bornet & Flahabit, Cushuro. Se consideró evaluar aspecto, color y olor (60).

3.3.7.2. Solubilidad

Se colocó 2,5 mg del extracto en tubos de ensayo para disolver con solventes de distinta polaridad (agua, metanol, etanol absoluto, etanol 70°, acetona, acetato de etilo, cloroformo, y hexano) (Anexo 2) (60).

3.3.7.3. Screening fitoquímico

Los metabolitos secundarios del extracto de *Nostoc sphaericum* Vaucher ex Bornet & Flahabit (Cushuro), se identificaron mediante reacciones de coloración y precipitación, descritas por Olga Lock (Anexo 2), (62).

Tabla 4. Análisis cualitativo fitoquímico (62)

Metabolito secundario	Reacción
Alcaloides	Dragendorff
	Mayer
Flavonoides	Shinoda
Compuestos fenólicos	Cloruro férrico
Taninos	Gelatina
Saponinas	Índice de espuma
Triterpenos	Liebermand-buchard
Esteroides	
Quinonas	Bortranger

3.3.8. Pre- formulación y formulación final del cremigel

3.3.8.1. Pre formulación del cremigel

Se realizaron tres bases de cremigel a las cuales se le agregó el extracto hidroalcohólico a la concentración más alta (1%), tanto para el patrón de la vitamina E. las pre- formulaciones fueron sometidas a condiciones de 5 ± 2 °C, 20 ± 25 °C, 40 ± 2 °C en ciclos de 24 horas, durante un periodo de 15 días, durante este tiempo se realizó evaluaciones organolépticas y fisicoquímicas en

los días 0,5,10 y 15.

La elección de la base del cremigel se basó en la estabilidad que presentó cada uno, y se eligió la base que presentó mejor aspecto, ausencia de separación de fases y compatibilidad con el extracto. Se evaluaron los siguientes parámetros.

a) Análisis organoléptico

- **Aspecto:** En una luna de reloj se observó la uniformidad del cremigel, asegurando la ausencia de partículas visibles, grumos o posible separación de fases, se observó la homogeneidad o no homogeneidad como parte de la evaluación (46).
- **Color:** Se analizó mediante el uso de un colorímetro CR-400 marca Minolta, para esto se tomó una pequeña muestra del cremigel y se colocó en el lente del equipo previa calibración, se realizó las lecturas y se procesó los datos usando la escala de color CIElab con coordenadas (L^* , a^* , b^*), donde:
 - **L^* :** Muestra el nivel de claridad del color, en un intervalo de 0 – 100, mientras más próximo el valor a cero más oscuro es el tono.
 - **a^* :** Los números > 0 muestra la tendencia a rojo y en números < 0 tiende al verde.
 - **b^* :** Los valores > 0 muestra la tendencia del amarillo, y en valores < 0 tiende al azul.
- **Olor:** Se colocó una pequeña muestra de la crema en una tira de papel inerte y se evaluó el olor que generó (46).

b) Análisis fisicoquímico

- **Evaluación del pH:** Se determinó utilizando un pHmetro digital previa

calibración, se realizó una disolución de 10% de cremigel en agua destilada, se sumergió el electrodo en cada muestra y se procedió a tomar nota del pH por triplicado (46).

- **Determinación de extensibilidad:**

- Se trazó los bordes de un portaobjeto en un papel milimetrado.
- Se trazó dos diagonales en el papel milimetrado.
- Se pesó 0.25 mg de cremigel en el portaobjeto de peso conocido.
- Se cubrió con otro portaobjeto con peso conocido.
- Se cronometró el tiempo de 1 minuto
- Se midió el diámetro de las diagonales.
- Se procedió a poner la masa de 2 gr, se esperó 1 min para medir el diámetro de las diagonales, y se repitió el mismo procedimiento para las masas de 4 y 6 gramos.

Utilizando un vernier se midió el diámetro por triplicado y se determinó la superficie que ocupa la muestra, mediante la siguiente ecuación.

$$AE = \pi (rp)^2$$

Dónde:

rp: Radio promedio de las 2 mediciones (mm²) (46).

- **Microscopia**

Se empleó un microscopio marca GREETMED para observar la presencia de cristales líquidos, y presencia de gotas secundarias o separación de fases, se depositó una pequeña cantidad de cremigel en un portaobjeto, se cubrió y observó a 10x (57) .

- **Sedimentación**

La formulación se sometió a una prueba de centrifugación para garantizar

la estabilidad del producto y ausencia de separación de fases, floculación o sedimentación. Para ello se tomó 5 gramos del cremigel y se centrifugó a 3000 rpm durante 30 minutos (46).

c) Análisis microbiológico

La formulación se sometió a un control microbiológico al final del periodo de evaluación (para garantizar que el sistema conservante es adecuado, según la farmacopea USP 41, en su capítulo <61> Examen microbiológico de productos no estériles (58).

La evaluación microbiológica de las muestras fue realizada por el Método de Recuento en Placa. Se llevó a cabo en el Centro de Control Analítico (CENPROFARMA) de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos (UNMSM) (Anexo 5 y 6)

Tabla 5. Límites microbianos según Farmacopea - USP 41 NF36.

Análisis microbiológico	
Ensayo	Especificaciones
Recuento total de aerobios mesófilos viables	< 10 ³ UFC/g
Recuento de mohos y levaduras	< 10 ² UFC/g
<i>Escherichia coli</i>	Ausente en 10g
<i>Pseudomona aeruginosa</i>	Ausente en 10g
<i>Salmonella spp.</i>	Ausente en 10g
<i>Staphylococcus aureus</i>	Ausente en 10g
<i>Candida albicans</i>	Ausente en 10g

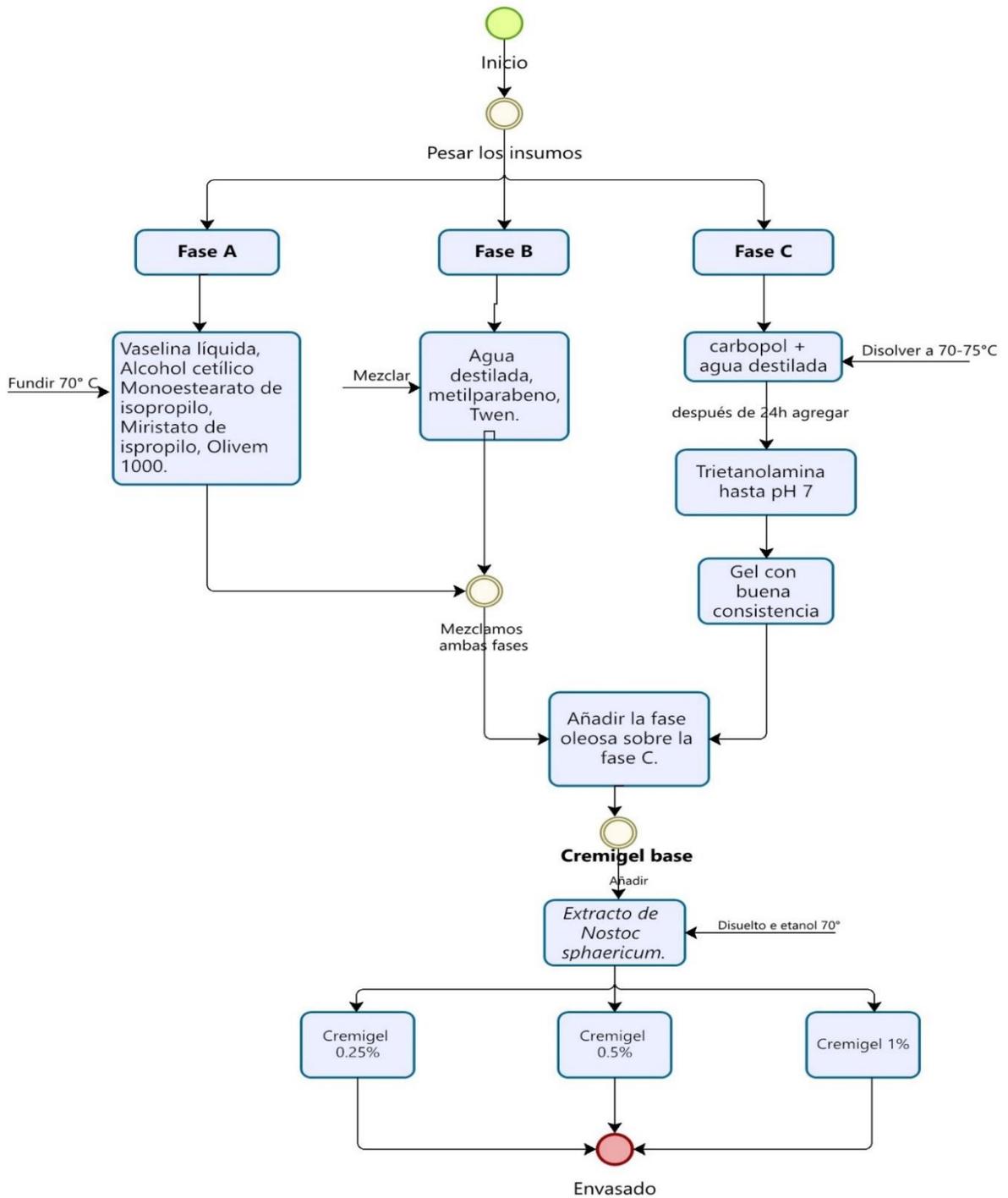
Fuente: Farmacopea Estadounidense 41, Examen microbiológico para productos no estériles. 36(61):1–6. 2022 (58).

3.3.8.2. Formulación final

Se eligió el cremigel base que presentó las mejores características organolépticas y fisicoquímicas, a la cual se le agregó el extracto hidroalcohólico

de *Nostoc sphaericum* Vaucher ex Bornet & Flahabit, Cushuro a tres concentraciones de 0.25%, 0.5% y 1%, las cuales fueron evaluadas durante 15 días para observar posibles cambios.

Flujograma 2. Elaboración cremigel con Extracto hidroalcohólico de *Nostoc sphaericum* Vaucher ex Bornet & Flahabit, Cushuro.



Fuente: Elaboración propia.

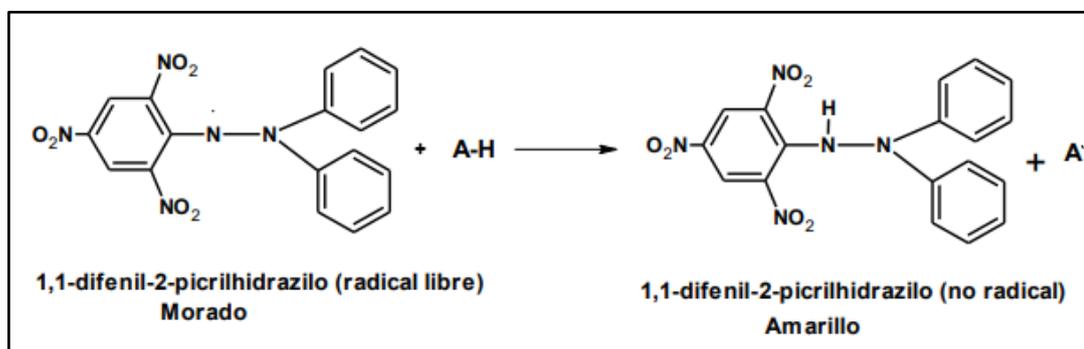
3.3.9. Determinación de la actividad antioxidante del cremigel elaborado con extracto hidroalcohólico de *Nostoc sphaericum* Vaucher ex Bornet & Flahabit, Cushuro.

Se realizó mediante el método de 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH)

- **Fundamento del método**

El radical DPPH es un método basado en la capacidad de un compuesto antioxidante de donar electrones o hidrógenos a los radicales libres como el radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH), reacción que se observa mediante el cambio de color de un púrpura a un color amarillo, es un método rápido y cuantitativo que determina la capacidad de un compuesto de neutralizar los radicales libres (51).

Figura 6. Estructura del DPPH antes y después de la reacción con el antioxidante.



Fuente: Guija-Poma E. Evaluación de la técnica 2,2-Difenil-1-Picrilhidrazilo (DPPH) para determinar capacidad antioxidante. *Horiz Med.* 2015 (51).

Procedimiento

- Se preparó una solución 0.1mM de DPPH en etanol.
- Se realizó diluciones de los cremigeles, se tomó 10 mg de cremigel en 10 mL de etanol absoluto, para obtener una concentración de 1mg/ml, se obtuvieron concentraciones de: 1000, 500, 250, y 125 µg/ml de cada muestra (0.2%, 0.5% y 1%) se utilizaron volúmenes de muestra de 2.5

mL, a los cuales se añadió 1 mL de la solución etanólica del radical estable de DPPH, completando un volumen total de 3 mL en cada tubo, luego se dejó en reposo durante 30 minutos, posterior a ello se realizó la lectura en un espectrofotómetro a 517 nm.

- Se calibró el equipo con etanol absoluto como muestra blanco, y como patrón la solución etanólica del radical DPPH, la lectura de las muestras se realizó por triplicado para cada uno, se siguió el mismo procedimiento para el cremigel patrón con vitamina E (19).
- La actividad antioxidante se calculó mediante la siguiente reacción.

$$\%I = \frac{[(\text{Abs muestra} - \text{Abs blanco})]}{\text{Abs control}} \times 100$$

Donde:

Abs muestra: Absorbancia de las diluciones de las muestras + DPPH.

Abs blanco: Absorbancia de las diluciones de las muestras (blancos, sin DPPH).

Abs control: Absorbancia de la solución de DPPH en etanol.

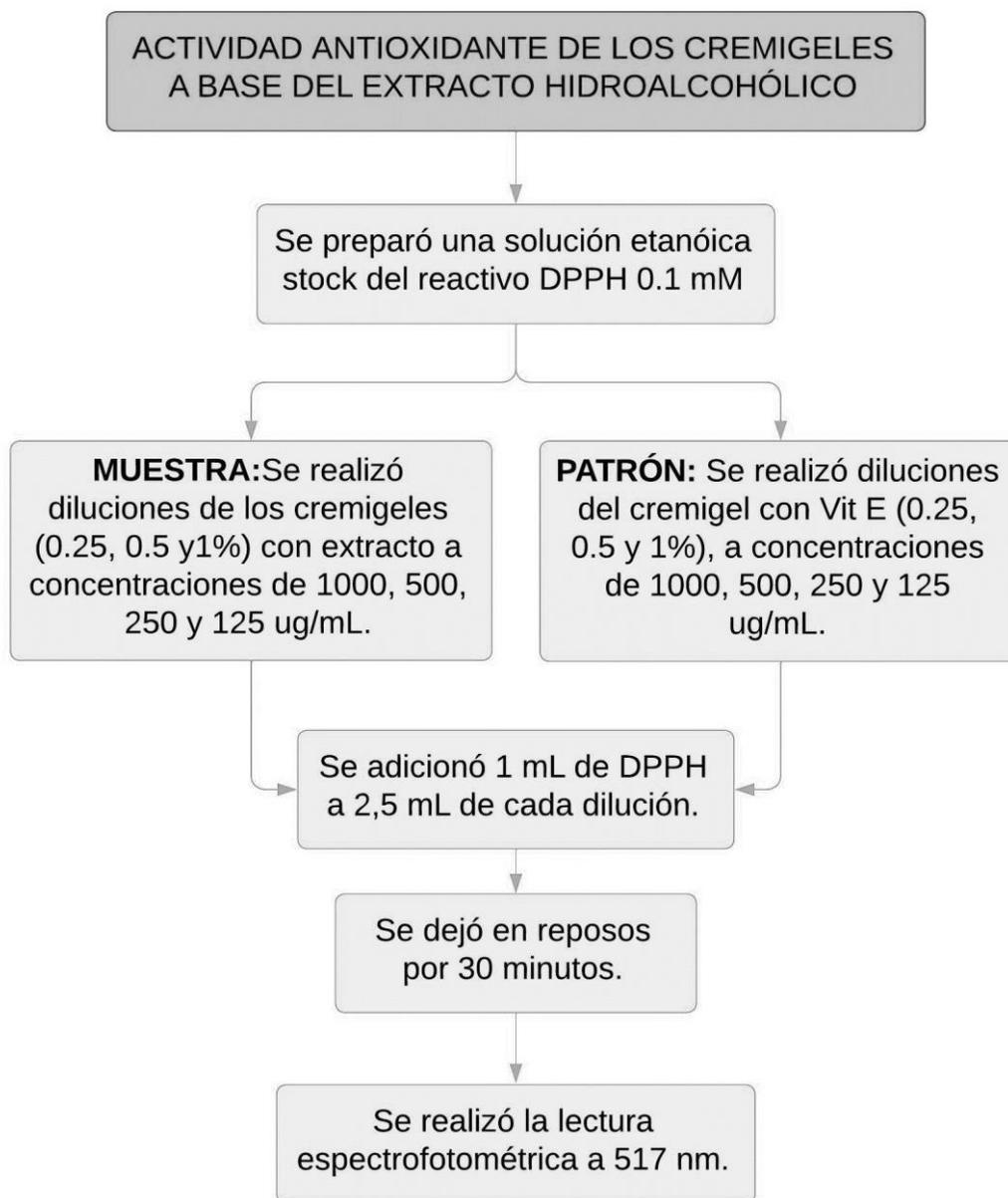
Tabla 6. Preparación de la muestra para espectrofotometría.

Tubos	Blanco	Estándar	Tubo I	Tubo II	Tubo III
Cremigel 0,25%			2,5 ml		
Cremigel 0,5%				2,5 mL	
Crema 1%					2,5 mL
Sol.DPPH/Etanol	1 mL	1 mL	1 mL	1 mL	1 mL
Total	1 mL	1 mL	3 mL	3 mL	3 mL
Dejar en reposo y protegido de la luz por 30 min/por triplicado					

Fuente: Elaboración propia.

Los resultados fueron expresados como IC₅₀ (µg/ml). La concentración de muestra que inhibe el 50% del radical (IC₅₀) se determinó mediante interpolación en la curva de % inhibición.

Flujograma 3. Actividad antioxidante de los cremigeles elaborados con extracto hidroalcohólico de *Nostoc sphaericum* Vaucher ex Bornet & Flahabit, Cushuro.



Fuente: Elaboración propia.

3.3.10. Determinación del factor de protección solar (FPS) del cremigel elaborado con extracto hidroalcohólico de *Nostoc sphaericum* Vaucher ex Bornet & Flahabit, Cushuro.

Se determinó por el método descrito por Sayre y utilizada por Mansur en 1986.

- **Fundamento del método**

El factor de protección solar es una medición para determinar la capacidad de un fotoprotector, de disminuir los efectos dañinos de la radiación UV, uno de los métodos para determinar el FPS es el método descrito por Sayre y utilizada por Mansur en 1986, método que muestra una correlación entre el FPS y la absorbancia de un compuesto en un rango de 290 – 320 nm longitud de onda dentro de la región UVB, este método muestra buena correlación con estudios *in vivo*, para productos que contienen filtros orgánicos, donde la concentración final es de 0.2 mg/mL (56).

El FPS fue obtenida mediante la aplicación de la siguiente fórmula

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

Donde:

FPS = Factor de Protección Solar

FC = 10 (factor de corrección)

EE (λ) = Efecto eritemogénico de la radiación

λ I (λ) = Intensidad del sol en la longitud de onda λ

Abs (λ) = Absorbancia de la solución en la longitud de onda λ

Tabla 7. Valores del efecto eritemogénico (EE) versus la intensidad de la radiación (I).

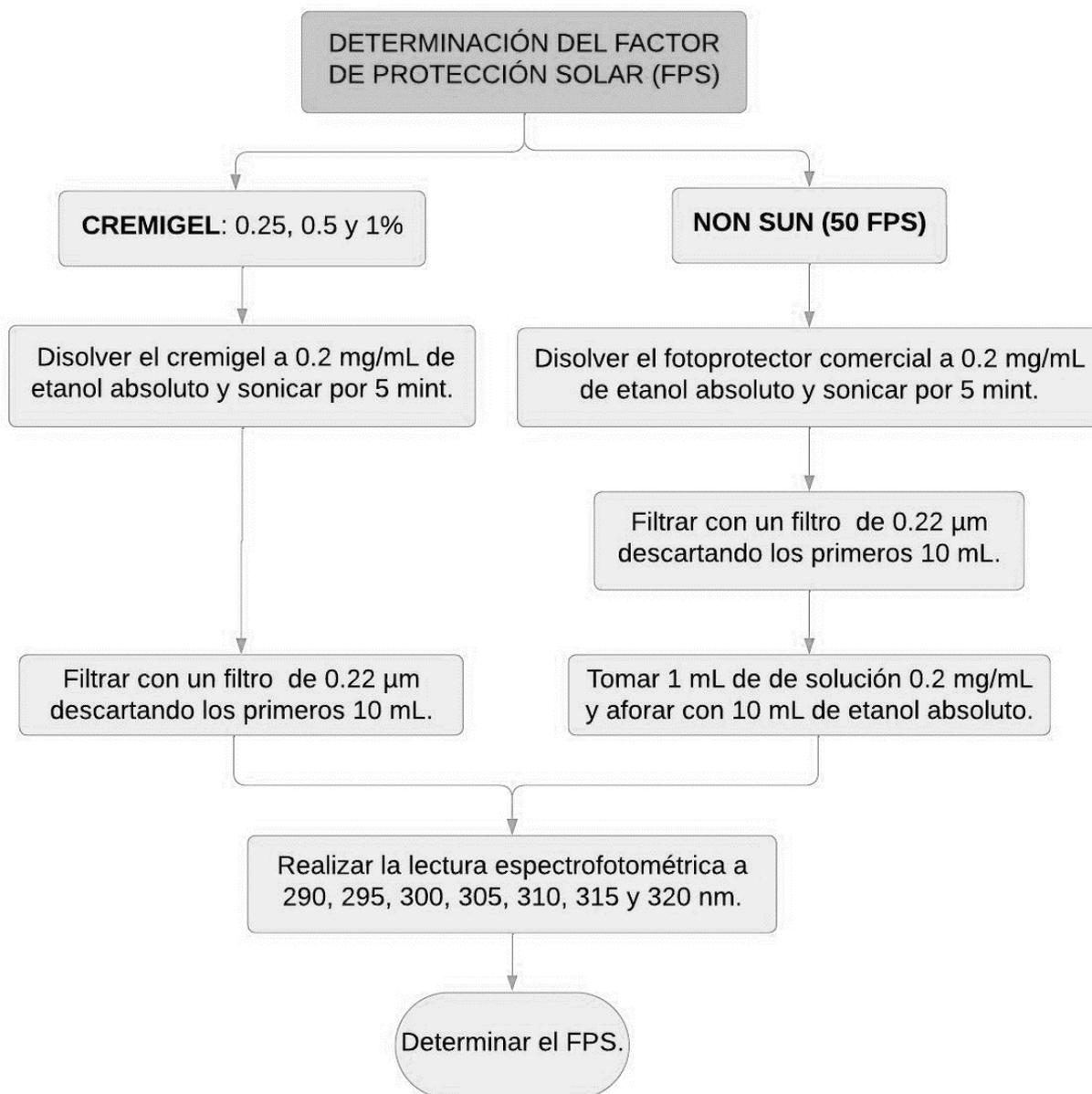
$\lambda(\text{nm})$	$\text{EE} \times \text{I}$
290	0.0150
295	0.0817
300	0.2874
305	0.3278
310	0.1864
315	0.0839
320	0.0180

Fuente: Mansur JS. et.al. Determinación del factor de protección solar por espectrofotometría. *An Bras Dermatol.* 1986 (56).

Procedimiento

- ✓ Se realizó diluciones de los cremigeles, se pesó 0,25 mg en una fiola de 25 mL, conteniendo 10 mL de etanol absoluto, se procedió a sonicar por 5 minutos, y se aforó con el mismo solvente, para obtener una concentración de 2mg/mL, una vez homogenizado se procedió a filtrar desechándose los primeros 10 mL, se tomó 1,0 mL de alícuota y se aforó en una fiola de 10 mL se homogenizó y filtró.
- ✓ Se realizó las lecturas en un espectrofotómetro a un rango de 290 a 320 nm con intervalos de 5 nm, las lecturas se realizaron por triplicado para cada concentración, y se determinó el FPS (56).
- ✓ Se siguió el mismo procedimiento para el fotoprotector comercial (Non sun de FPS 50).

Flujograma 4. Determinación del factor de protección solar (FPS).



Fuente: Elaboración propia.

3.4. Técnicas e instrumentos de recolección de datos

Para la recolección de datos la técnica que se empleó fue una ficha de recolección de datos, el cual fue diseñado y adecuado al trabajo de investigación con referencia a la revisión bibliográfica disponible, se tomaron nota de los datos obtenidos de los ensayos de la actividad antioxidante y fotoprotectora del cremigel a concentraciones de 0,25; 0,5 y 1% elaborados con el extracto hidroalcohólico de *Nostoc sphaericum*, evaluados por espectroscopia ultravioleta visible.

3.5. Análisis estadístico de datos

Para el análisis estadístico de datos se utilizó Minitab Statistical Software versión 18, en lo referente a la capacidad antioxidante de la concentración inhibitoria al 50% (I_{c50}). Se determinó la normalidad de los datos, la varianza mediante ANOVA y se comparó las medias de los grupos en cuanto al porcentaje de inhibición del cremigel con el extracto y cremigel con vitamina E.

CAPÍTULO IV

ANÁLISIS DISCUSIÓN DE RESULTADOS

4.1. Porcentaje de rendimiento, pruebas de solubilidad y tamizaje fitoquímico cualitativo del extracto hidroalcohólico de *Nostoc sphaericum* Vaucher ex Bornet & Flahabit, Cushuro.

4.1.1. Porcentaje de rendimiento del extracto hidroalcohólico de *Nostoc sphaericum* Vaucher ex Bornet & Flahabit, Cushuro.

Tabla 8. *Porcentaje de rendimiento del extracto hidroalcohólico de *Nostoc sphaericum* Vaucher ex Bornet & Flahabit Cushuro.*

Extracto hidroalcohólico	Peso de colonias	Peso de extracto seco	% de Rendimiento
<i>Nostoc sphaericum</i> , Cushuro.	61.43 gr	2.8 gr	4.5 %

Fuente: Elaboración propia a partir de los datos obtenidos.

Análisis e interpretación de resultado

En la tabla 8, se observa el porcentaje de rendimiento del extracto hidroalcohólico de *N.sphaericum*. Los trabajos realizados en algas, generalmente se trabajan con muestras frescas o secas, el solvente a utilizar dependerá de la fracción de sustancias bioactivas de interés, solventes como hexano, metanol, soluciones hidroalcohólicas(60). En el presente trabajo se liofilizó la muestra fresca y por percolación se obtuvo el extracto hidroalcohólico que fue concentrado en un rotavapor al vacío a una temperatura de 55°C, y se obtuvo un rendimiento de 4.06 %, diferente a lo reportado por Chávez P. que estudiaron en el extracto acuoso de *N. sphaericum*, donde el valor de rendimiento obtenido fue 0.074% (25), la diferencia del rendimiento puede deberse a varios factores, uno de ellos es la polaridad del solvente para la

extracción de los compuestos bioactivos de interés, la elección del solvente debe tener similar polaridad con los compuestos de interés, así también una relación de estructura, otros factores que pueden afectar son la temperatura y el tiempo de extracción (25).

En el presente estudio primero se liofilizó la muestra y luego se añadió el solvente hidroalcohólico para la obtención del extracto por percolación, mientras que en el de Chávez P, primero se obtuvo el extracto acuoso y luego se liofilizó.

por otro lado, Hong B. y colaboradores estudiaron el extracto metanólico de *N. commune* por el método de Soxhlet, donde obtuvieron un rendimiento de 9.18% (20). El método, el solvente y la especie de la muestra pueden ser los factores de un mayor rendimiento, ya que, en el estudio de Hong B, los compuestos de interés fueron los polisacáridos, moléculas no polares que se solubilizan en solventes apolares para obtener un mejor rendimiento de extracción (20).

4.1.2. Solubilidad del extracto hidroalcohólico de *Nostoc sphaericum* Vaucher ex Bornet & Flahabit, Cushuro.

Tabla 9. Solubilidad del extracto hidroalcohólico de *Nostoc sphaericum*

Vaucher ex Bornet & Flahabit, Cushuro.

Extracto hidroalcohólico de <i>Nostoc sphaericum</i> Vaucher ex Bornet & Flahabit, Cushuro								
Solubilidad	Agua	Metanol	Etanol Abs	Etanol 70°	Acetona	Acetato de etilo	Cloroformo	Hexano
	++	++	++	+++	+	+++	+++	+
Muy soluble = +++, parcialmente soluble = ++, poco soluble = +, insoluble = -								

Fuente: Elaboración propia a partir de los datos obtenidos.

Análisis y discusión de resultados

Según la tabla 9, muestra que el extracto es muy soluble en etanol al 70°, acetato de etilo, y cloroformo, parcialmente soluble en agua, metanol, y etanol absoluto,

y poco soluble en acetona y hexano. La alta solubilidad en etanol de 70° se debe a su extracción con un solvente polar.

La elección del menstruo o disolvente para extraer dependerá del tipo de muestra y bioactivo de interés, los solventes polares como el agua, metanol y etanol extraen compuestos polares, mientras que los solventes no polares como el hexano extraen compuestos apolares (63).

4.1.3. Análisis fitoquímico cualitativo del extracto hidroalcohólico de *Nostoc sphaericum* Vaucher ex Bornet & Flahabit, Cushuro

Tabla 10. Análisis fitoquímico cualitativo del extracto hidroalcohólico de *Nostoc sphaericum* Vaucher ex Bornet & Flahabit, Cushuro.

Metabolito secundario	Reacción	Observación	Resultado
Alcaloides	Dragendorff	Precipitado rojo	-
	Mayer	Precipitado blanco	-
Flavonoides	Shinoda	Coloración roja	+++
Compuestos fenólicos	Cloruro férrico	Coloración verde o azul	+
Taninos	Gelatina	Turbidez	-
Saponinas	Índice de espuma	1cm persistente	-
Triterpenos	Liebermand-buchard	Coloración roja a purpura	+++
Esteroides		Coloración azul verdoso	+++
Quinonas	Bortranger	Amarillo – anaranjado	-
Leyenda: Ausente = -; Muy poco = +; Poco = ++; Abundante = +++			

Fuente: Elaboración propia a partir de los datos obtenidos.

Análisis e interpretación de resultados:

En la tabla 10, se muestra los resultados de la evaluación fitoquímica, según las reacciones de coloración y precipitación hubo presencia abundante de flavonoides, triterpenos y esteroides, y en poca cantidad compuestos fenólicos. La identificación de estos compuestos es crucial para conocer los grupos químicos funcionales que contiene la microalga, comprender la bioquímica de las reacciones que ocurre dentro de la fisiología que nos dan a entender la presencia o ausencia de dichos compuestos (62).

En la evaluación fitoquímica del extracto acuoso en el estudio de Baltonado C. de *N.sphaericum*, se observó la presencia de alcaloides, flavonoides, a su vez dio negativo para fenoles (24). Al analizar los metabolitos secundarios presentes en la muestra se observa la presencia de flavonoides que fueron identificados mediante la reacción de Shinoda, estos tienen una gran distribución en el reino vegetal, así mismo las microalgas tienen la capacidad de sintetizar este tipo de compuestos, que generalmente se encuentra en forma de glicósidos que les confiere una alta solubilidad en solventes polares, lo cual se incrementa por su alta polaridad de sus estructuras como se observa en el resultado del estudio (64).

La presencia de esteroides, metabolito derivado de los triterpenoides se identificaron mediante la reacción de Libermann-Burchard, reacción típica de los esteroides que contienen dos dobles enlaces conjugados con un grupo adyacente hidroxilo, característica por la cual la reacción se lleva en un medio anhidro, esto explica la ausencia de esteroides en el estudio de Baltonado C. a diferencia del estudio que se hizo en un extracto hidroalcohólico, además de las condiciones edafológicas de las muestras en ambos estudios (64,65).

4.2. Elaboración del cremigel con el extracto hidroalcohólico de *Nostoc sphaericum* Vaucher ex Bornet & Flahabit, Cushuro a diferentes concentraciones (0.25%,0.5% y 1%)

Tabla 11. Pre - formulación con el 1% del extracto hidroalcohólico de *Nostoc sphaericum* Vaucher ex Bornet & Flahabit, Cushuro.

FORMULACIÓN 1		
Excipientes	Proporción	Observaciones
Vaselina líquida	1%	La formulación presentó buenas características organolépticas y fisicoquímicas, siendo la base de cremigel adecuada para la formulación.
Alcohol cetílico	2%	
Monoestearato de isopropilo	2%	
Miristato de isopropilo	2%	
Agua destilada	65 %	
Metilparabeno	0,2%	
Tween 80	1%	
Olivem 1000	2%	
Carbopol	1%	
Trietanolamina 99%	0,2%	
Extracto de cushuro	1%	
FORMULACIÓN 2		
Metilparabeno	0,2%	La formulación no tuvo buena textura, se observó presencia de grumos, y consistencia fluida inestable, por lo cual se descartó.
Propilparabeno	0,2%	
Propilenglicol	5%	
Carbopol	1%	
Olive m 1000	2%	
Monoestearato de glicerol	2%	
Vaselina líquida	2%	
Agua destilada c.s.p.	30gr	
Extracto de cushuro	1%	
FORMULACIÓN 3		
Olivem 1000	3%	La formulación no tuvo buena extensibilidad, por lo cual se descartó, y se observó variación del color.
Propilenglicol	2%	
Carbopol	1%	
Trietanolamina	Cs pH7	
Agua destilada c.s.p.	30 gr	
Extracto de cushuro	1%	

Fuente: Elaboración propia a partir de los datos obtenidos.

Análisis y discusión de resultados

En la tabla 11, se observa las pre- formulaciones con la mayor concentración del extracto (1%), ya que permite evaluar como interactúa el extracto con los componentes de las diferentes bases de cremigel. A concentraciones altas el extracto podría saturar la fase continua del cremigel, por ende, podría afectar la solubilidad y la dispersión, observándose formaciones de agregados o precipitados que afecten la estabilidad y la textura (66).

Se realizaron tres formulaciones con diferentes componentes y cantidades, donde la 1° formulación, presentó mejores características organolépticas y fisicoquímicas, estuvo formada por tres fases: La fase "A", estuvo conformada por vaselina líquida, alcohol cetílico, monoestearato de isopropilo, miristato de isopropilo y Olivem 1000, la fase "B" estuvo conformada por agua destilada, metilparabeno y Tween 80 y la fase "C" estuvo conformada por carbopol, agua y trietanolamina. Martínez. C, en su estudio realizó una formulación de cremigel en donde aplicó la técnica tradicional de que implicó la fusión de las grasas (fase A) y el calentamiento de la fase acuosa (fase B) y una fase adicional (fase C) correspondiente al gel de carbopol que fue adicionada al 1% (67).

4.2.1. Evaluación de la estabilidad organoléptica del cremigel a base del extracto hidroalcohólico de *Nostoc sphaericum* Vaucher ex Bornet & Flahabit, Cushuro.

Tabla 12. Control organoléptico del cremigel a base del extracto hidroalcohólico de *Nostoc sphaericum* Vaucher ex Bornet & Flahabit, Cushuro.

Control organoléptico del cremigel					
Condiciones	5 ± 2 °C, 20 ± 25 °C, 40 ± 2 °C en ciclos de 24 horas.				
Emulsión	Parámetro	Día 0	Día 5	Día 10	Día 15
0.25%	Aspecto	Homogéneo (sin grumos)	Homogéneo (sin grumos)	Homogéneo (sin grumos)	Homogéneo (sin grumos)
	Color	l* 52.112% ± 0.2, a* -4.06% ± 0.2, b* 26.754% ± 0.1			
	Olor	<i>Sui generis</i>	<i>Sui generis</i>	<i>Sui generis</i>	<i>Sui generis</i>
0.5%	Aspecto	Homogéneo (sin grumos)	Homogéneo (sin grumos)	Homogéneo (sin grumos)	Homogéneo (sin grumos)
	Color	l* 37.741% ± 0.3, a* -4.926% ± 0.2, b* 28.587% ± 0.2			
	Olor	<i>Sui generis</i>	<i>Sui generis</i>	<i>Sui generis</i>	<i>Sui generis</i>
1%	Aspecto	Homogéneo (sin grumos)	Homogéneo (sin grumos)	Homogéneo (sin grumos)	Homogéneo (sin grumos)
	Color	l* 25.034% ± 0.2, a* -0.403% ± 0.3, b* 19.818% ± 0.3			
	Olor	<i>Sui generis</i>	<i>Sui generis</i>	<i>Sui generis</i>	<i>Sui generis</i>

Fuente: Elaboración propia a partir de los datos obtenidos.

Análisis y discusión de resultados

En la tabla 12, Se muestra los resultados de la evaluación de la estabilidad organoléptica en condiciones de 5 ± 2 °C, 20 ± 25 °C, 40 ± 2 °C en ciclos de 24 horas.

La evaluación del aspecto se realizó con la observación visual, durante la

evaluación dentro de 15 días, la formulación se mantuvo homogéneo sin presencia de grumos ni separación de fases, desde el inicio hasta el final.

En cuanto al color de los cremigels, se realizó mediante la escala CIElab, en la tabla 12, se muestra que para el cremigel al 0,25% tuvo una variación de color en de: $L^* 52.112\% \pm 0.2$, $a^* -4.06\% \pm 0.2$, $b^* 26.754\% \pm 0.1$ en la escala de CIElab, para el cremigel al 0,5% tuvo una variación de color de: $L^* 37.741\% \pm 0.3$, $a^* -4.926\% \pm 0.2$, $b^* 28.587\% \pm 0.2$ y para el cremigel al 1% tuvo una variación de color de: $L^* 25.034\% \pm 0.2$, $a^* -0.403\% \pm 0.3$, $b^* 19.818\% \pm 0.3$ en la escala CIElab, donde el color varió de acuerdo al porcentaje de extracto agregado, la coordenada L^* muestra que a medida que aumenta la concentración del extracto el valor se acerca más a cero, es decir, más oscuro; la coordenada a^* muestra valores negativos lo que indica una tendencia hacia el color verde y la coordenada b^* muestra valores mayores a 0, lo que indica que la muestra tiene tendencia a amarillo. El cremigel mantuvo su color y la intensidad del mismo durante el tiempo de la evaluación.

La evaluación del olor se realizó utilizando el sentido del olfato, percibiéndose un aroma agradable y ligero, típico de la microalga *N. sphaericum*. Las propiedades organolépticas se conservaron durante todo el tiempo del estudio.

El cremigel se describe como un semisólido homogéneo, libre de grumos, con un color que tiende al verde según la escala CIElab, y un aroma característico.

4.2.2. Evaluación de la estabilidad fisicoquímica del cremigel a base del extracto hidroalcohólico de *Nostoc sphaericum* Vaucher ex Bornet & Flahabit, Cushuro.

Tabla 13. Control fisicoquímico del cremigel a base del extracto hidroalcohólico de *Nostoc sphaericum* Vaucher ex Bornet & Flahabit, Cushuro.

Control fisicoquímico del cremigel					
Condiciones	$5 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$, $20 \pm 25 \text{ }^\circ\text{C}$, $40 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$ en ciclos de 24 horas.				
Cremigel	Parámetro	Día 0	Día 5	Día 10	Día 15
0.25%	pH	6.18	6.16	6.14	6.18
	Extensibilidad	2.725 mm ²	2.653 mm ²	2.862 mm ²	2.747 mm ²
	Microscopia	Homogéneo (sin separación de fases)			
	Sedimentación	Estable	Estable	Estable	Estable
0.5%	pH	6.17	6.17	6.04	6.08
	Extensibilidad	2.754 mm ²	2.746 mm ²	2.643 mm ²	2.654 mm ²
	Microscopia	Homogéneo (sin separación de fases)			
	Sedimentación	Estable	Estable	Estable	Estable
1%	pH	6.16	6.20	6.18	6.14
	Extensibilidad	2.754 mm ²	2.856 mm ²	2.824 mm ²	2.725 mm ²
	Microscopia	Homogéneo (sin separación de fases)			
	Sedimentación	Estable	Estable	Estable	Estable

Fuente: Elaboración propia a partir de los datos obtenidos.

Análisis y discusión de resultados

En la tabla 13 se presentan los resultados de la evaluación de la estabilidad fisicoquímica bajo diferentes condiciones de temperatura: 5 ± 2 °C, 20 ± 25 °C y 40 ± 2 °C, durante ciclos de 24 horas. En relación con la determinación del pH, Cruz L, en su estudio titulado "Evaluación de los parámetros de calidad fisicoquímicos de cremas-gel a base de ácido hialurónico", resalta la importancia del pH como un factor clave que puede influir en la estabilidad del producto, así como en su compatibilidad con el tejido en el que se aplique. (16). Los productos cosméticos que utilizan crema-gel como base según Amiralian, L, debe estar en un rango de pH entre 6,0 y 7,0. Los cremigeles elaborados en el estudio muestra valores según lo establecido por Amiralian, L., mostrando un valor promedio pH de 6,15 para las formulaciones con extracto.

En cuanto a la extensibilidad se obtuvo valores finales de 2.747, 2.654, 2.725 mm² para los cremigeles a concentraciones de 0.25, 0.5, y 1% respectivamente, como se observa los valores tienen una variación ligera, esto se puede deber al porcentaje de extracto que contiene cada uno, lo que indica que el cremigel es estable en relación al índice de extensibilidad. Según Favero, menciona que este parámetro puede influir en la eficacia y aceptación del producto, ya que una extensibilidad desigual puede comprometer la penetración del principio activo en la piel (68).

La evaluación de la homogeneidad se realizó mediante observación microscópica a un aumento de 10x, con el objetivo de identificar la presencia de cristales líquidos y gotas secundarias. Los cremigeles en las concentraciones evaluadas mostraron una adecuada homogeneidad, sin evidencias de coalescencia (57).

La prueba de centrifugación somete a tensión la muestra y simula un aumento de la fuerza de gravedad que puede indicar una inestabilidad mediante la presencia de separación de fases, cremación, floculación, coalescencia entre otras (46), en el estudio no se observó ningún signo de inestabilidad, los cremigeles mantuvieron su integridad durante el periodo de evaluación (46).

El cremigel se describe como un semisólido con un pH equilibrado, de modo que no altera el pH natural de la piel, ayudando a mantener el manto ácido que actúa como una barrera protectora. Además, presenta una buena extensibilidad, lo que facilita su aplicación y distribución homogénea, sin que ocurra separación de fases.

4.2.3. Evaluación de la estabilidad microbiológica del cremigel a base del extracto hidroalcohólico de *Nostoc sphaericum* Vaucher ex Bornet & Flahabit, Cushuro.

Tabla 14. Control microbiológico del cremigel a base del extracto hidroalcohólico de *Nostoc sphaericum* Vaucher ex Bornet & Flahabit, Cushuro.

Análisis microbiológico			
Ensayo	Especificaciones	Método	Resultado
Recuento de aerobios mesófilos viables	-	USP 41	< 5 UFC/g (Ausencia)
Recuento de mohos y levaduras	-	USP 41	< 5 UFC/g (Ausencia)
<i>Escherichia coli</i>	Ausente en 10g	USP 41	Ausente en 10g
<i>Pseudomona aeruginosa</i>	Ausente en 10g	USP 41	Ausente en 10g
<i>Salmonella spp.</i>	Ausente en 10g	USP 41	Ausente en 10g
<i>Staphylococcus aureus</i>	Ausente en 10g	USP 41	Ausente en 10g
<i>Candida albicans</i>	Ausente en 10g	USP 41	Ausente en 10g

Fuente: Elaboración propia a partir de los datos obtenidos.

Análisis y discusión de resultados

En la tabla 14, se observa los resultados de la estabilidad microbiológica, donde

se observa que fueron negativos para aerobios mesófilos viables, negativo para mohos y levaduras, así como también ausencia para *Escherichia coli*, *Pseudomona aeruginosa*, *Salmonella spp*, *Staphylococcus aureus* y *Candida albicans*.

Lo cual describe un cremigel elaborado en condiciones sanitarias óptimas, con un sistema conservante adecuado y que cumplió con las especificaciones de calidad según el protocolo de análisis (tabla 5), y ensayos para productos no estériles según la farmacopea USP 41 (58).

4.3. Determinación de la actividad antioxidante *in vitro* del cremigel con extracto hidroalcohólico de *Nostoc sphaericum* Vaucher ex Bornet & Flahabit, Cushuro y vitamina E.

En la tabla siguiente se muestra los resultados de la actividad antioxidante por el método DPPH del cremigel elaborado con extracto hidroalcohólico de *Nostoc* y vitamina E.

Tabla 15. Actividad antioxidante del cremigel con extracto y cremigel con vitamina E.

Cremigel	Concentración µg/ml	VITAMINA E %Inhibición	CUSHURO %inhibición	VITAMINA E IC ₅₀	CUSHURO IC ₅₀
0.25%	125	62.29	61.13	92 µg/mL	94 µg/mL
	250	69.38	66.63		
	500	69.50	68.13		
	1000	70.50	68.75		
0.5%	125	63.64	61.80	90 µg/mL	93 µg/mL
	250	69.13	69.00		
	500	69.17	69.63		
	1000	71.63	69.88		
1%	125	67.63	63.67	83 µg/mL	90 µg/mL
	250	70.42	71.63		
	500	74.75	71.83		
	1000	74.88	72.17		

Fuente: Elaboración propia a partir de los datos obtenidos.

Análisis y discusión de resultados

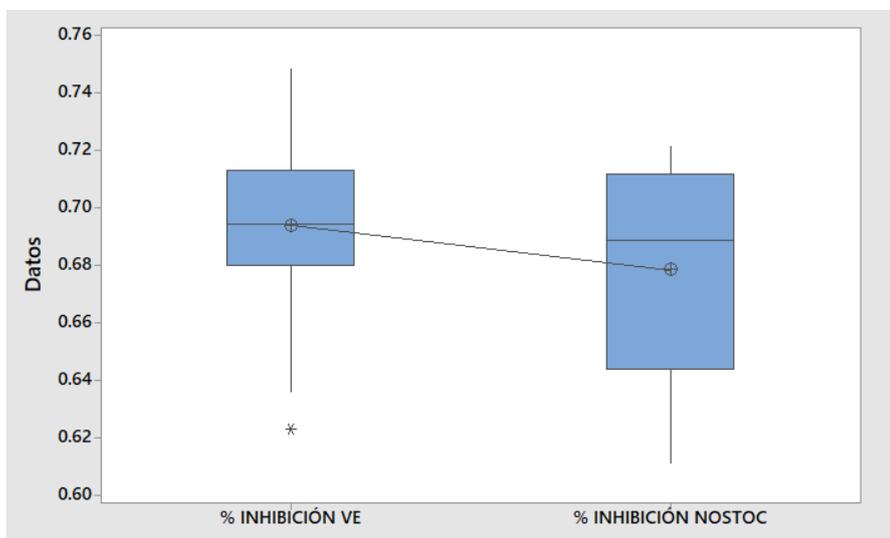
La tabla 15, muestra los resultados de la actividad antioxidante de las diluciones a diferentes concentraciones del cremigel (125, 250, 500 y 1000 $\mu\text{g/mL}$) con el extracto y con vitamina E, se observa una disminución de la concentración inhibitoria media (IC_{50}), es decir el cremigel al 0.25% muestra valores de dilución más altos de IC_{50} que las diluciones del cremigel al 1%. A menor IC_{50} mayor será la actividad antioxidante, ya que menor será la cantidad de la muestra necesaria para inhibir el 50% del radical libre DPPH, Se observa que los valores de IC_{50} del cremigel con vitamina E ($\text{IC}_{50}= 92 \mu\text{g/mL}$, $90 \mu\text{g/mL}$, $83 \mu\text{g/mL}$) es menor que el cremigel con el extracto de Cushuro ($\text{IC}_{50}= 94 \mu\text{g/mL}$, $93 \mu\text{g/mL}$, $90 \mu\text{g/mL}$), lo que indica incluso a concentraciones bajas del rango evaluado ya se logra inhibir el 50% de la actividad media. En el estudio de Baltonado.C evaluó la capacidad antioxidante de una emulsión del extracto liofilizado de *N. sphaericum* por el método de DPPH, donde encontró que el valor de IC_{50} es de 19.95 mg/mL para la emulsión del 1%, al contrastar este resultado con el obtenido en el presente estudio, el IC_{50} fue de $90 \mu\text{g/mL}$ para el cremigel al 1%, por lo que se puede inferir que nuestro extracto hidroalcohólico tiene mayor actividad antioxidante, en otro estudio de Chávez. L, evaluó la actividad antioxidante del extracto acuoso de *N. sphaericum*, y obtuvo un valor medio de $10 - 15 \mu\text{g/mL}$ para una concentración de 0.15 mg/mL de la muestra con una capacidad de inhibición del 52% del radical ABTS, valores que pueden diferir con nuestro estudio, por el método y el tipo de extracto utilizado. En el gráfico de histogramas (Anexo 7), se observa que, a mayor concentración del extracto en el cremigel, el porcentaje de inhibición también aumenta, sin embargo, estadísticamente no es significativo, en el análisis de la varianza, se ha demostrado que el valor de significancia del factor de F, es mayor a 0.05, es decir, se acepta la hipótesis nula H_0 (Las medias

son iguales entre los grupos de 0.25%, 0.5% y 1% de las emulsiones) (Anexo 8), (22,23).

El rendimiento entre los grupos de Cremigel con extracto de *Nostoc* y la vitamina E, son similares, según el análisis de varianza entre ambos grupos, se ha determinado el valor de significancia del factor $F = 0.32$, el cual es mayor que 0.05, con el cual, se acepta la hipótesis nula. (H_0 : Todas las medias son iguales) (Anexo 10). Ramos et al, en su estudio de evaluación de la actividad antioxidante de plantas medicinales en Cuba, reportaron criterios para evaluar el potencial antioxidante expresado en IC_{50} , donde los valores $< 30 \mu\text{g/mL}$, son los que se consideran con alto potencial antioxidante, valores de IC_{50} entre $30 \mu\text{g/mL}$ y $100 \mu\text{g/mL}$, son considerados con capacidad moderada, y valores por encima de $100 \mu\text{g/mL}$, son considerados de bajo potencial antioxidante, al realizar una comparación con el presente estudio, el valor de una IC_{50} obtenido para el cremigel con el extracto fue de $90 \mu\text{g/mL}$, el cual sería considerado con un moderado potencial antioxidante (69). La buena capacidad antioxidante del extracto hidroalcohólico de *Nostoc sphaericum*, puede deberse a la composición de metabolitos secundarios presentes, como son los compuestos fenólicos, dentro de este los flavonoides, compuestos formados por grupos hidroxilos en su estructura, presente en el estudio y en las investigaciones de comparación, otra explicación puede ser el mecanismo de reacción del reactivo DPPH con los compuestos antioxidantes que reaccionan de manera rápida con el radical DPPH reduciendo el número de moléculas de DPPH que corresponde al número de grupos hidroxilo (70). Finalmente se considera continuar con la investigación con la posibilidad de obtener nuevos compuestos bioactivos de interés, la cianobacteria *Nostoc sphaericum* podría ser una fuente de antioxidantes con un

futuro promisorio en la industria cosmética.

Gráfico 1. Gráfica de caja del porcentaje de inhibición del cremigel con extracto y cremigel con vitamina E.



En el gráfico 1, se observa el porcentaje de inhibición del cremigel con extracto y vitamina E. Según las medias, el porcentaje de inhibición del cremigel con vitamina E es similar que el cremigel con el extracto de Nostoc, sin embargo, no se observa una diferencia estadísticamente significativa, lo que indica una efectividad comparable en términos de inhibición antioxidante.

En estudios que utilizan el método DPPH para evaluar la actividad antioxidante de la vitamina E (α -tocoferol), los resultados indican un porcentaje de inhibición significativo, dependiendo de la concentración utilizada. estudios reportan que el α -tocoferol tiene un porcentaje de inhibición superior al 70% a concentraciones de 100 a 500 $\mu\text{g/mL}$, siendo este un valor bastante alto, comparable a otros antioxidantes conocidos como el ter-butilhidroquinona (71).

Gonzales A, evaluó diversos extractos de hongos, donde reporta que el α -tocoferol alcanza un porcentaje de inhibición de alrededor de 72-81% a

concentraciones altas, destacándose por su capacidad antioxidante (71).

Estos valores son indicativos de su efectividad en neutralizar los radicales libres, un atributo clave para las propiedades antioxidantes de la vitamina E.

Por lo tanto, se puede decir que la capacidad antioxidante del cremigel con extracto de *Nostoc* es comparable a la de la vitamina E, dado que los porcentajes de inhibición en el gráfico son similares. Sin embargo, la mayor dispersión en los datos de *Nostoc* podría indicar que la eficacia del extracto puede variar más dependiendo de factores como la concentración o el tipo de extracto utilizado.

4.4. Determinación de la actividad fotoprotectora UVB *in vitro* del cremigel con extracto hidroalcohólico de *Nostoc sphaericum* Vaucher ex Bornet & Flahabit, Cushuro.

Tabla 16. Determinación del factor de protección (FPS) de los cremigeles con extracto hidroalcohólico de *Nostoc sphaericum* Vaucher ex Bornet & Flahabit, Cushuro.

Longitud de onda λ (nm)				Absorbancia		EE X I X Abs	
	EE X I	0.25%	0.5%	1%	0.25%	0.5%	1%
290	0.015	0.119	0.119	0.125	0.002	0.002	0.002
295	0.0817	0.106	0.107	0.112	0.009	0.009	0.009
300	0.2847	0.033	0.035	0.038	0.009	0.010	0.011
305	0.3278	0.037	0.039	0.042	0.012	0.013	0.014
310	0.1864	0.039	0.043	0.045	0.007	0.008	0.008
315	0.0839	0.041	0.044	0.046	0.003	0.004	0.004
320	0.018	0.113	0.128	0.128	0.002	0.002	0.002
				sumatoria	0.045	0.047	0.050
				x 10	0.448	0.472	0.501
				FPS	0.448	0.472	0.501

Fuente: Elaboración propia a partir de los datos obtenidos.

Tabla 17. Determinación del factor de protección solar (FPS) *in vitro* del

fotoprotector comercial (Nom Sun FPS 50).

Longitud de onda λ (nm)	EE X I	Abs	EE X I X Abs
290	0.015	0.412	0.006
295	0.0817	0.416	0.034
300	0.2847	0.249	0.071
305	0.3278	0.253	0.083
310	0.1864	0.352	0.066
315	0.0839	0.406	0.034
320	0.018	9.999	0.180
		sumatoria	0.474
		x 10	47.351
		FPS	47

Fuente: Elaboración propia a partir de los datos obtenidos

Análisis y discusión de resultados

En la tabla 16, se muestra los resultados del valor de FPS *in vitro* del fotoprotector comercial (Non Sun 50), y en la tabla 17, se muestra los valores de FPS del cremigel de *N.sphaericum* a las concentraciones de 0.25, 0.5 y 1%.

Se obtuvo un valor de 47 FPS para el fotoprotector comercial, un valor aproximado que indica en el empaque (Non Sun 50 FPS), y para el cremigel con el extracto de *N. sphaericum* a concentraciones de 0.25, 0.5 y 1%, se obtuvo un valor de 0.448, 0.472 y 0.501 FPS, respectivamente. En los resultados se muestra una correlación directa de la concentración del extracto frente al valor de FPS, es decir a mayor concentración mayor factor de protección solar.

La diferencia de estos resultados entre el fotoprotector comercial y el cremigel de *N.sphaericum* puede deberse a muchos factores, como el tipo de emulsión, los excipientes, y sobre todo los filtros utilizados.

Según el reglamento técnico de MERCOSUR, establece categorías en productos de foto protección, considerando una protección recomendada baja de 6 SPF, al

comparar con el estudio, los valores de SPF no alcanzan este valor, siendo así, que el cremigel con el extracto hidroalcohólico de *N. sphaericum* no se considera como fotoprotector (72) .

Muchos protectores solares contienen compuestos químicos, conocidos como filtros orgánicos e inorgánicos, estos pueden tener en su composición más de un filtro con el fin de obtener un amplio espectro de protección, sin embargo estos compuestos tienden a sufrir una fotodegradación con múltiples repercusiones en la salud de la piel, los compuestos antioxidantes de origen natural, pueden intervenir evitando la formación de ROS, contribuyendo a prevenir los efectos dañinos del sol y favoreciendo la foto estabilidad del producto (15).

CONCLUSIONES

1. El cremigel con extracto hidroalcohólico de *Nostoc sphaericum* Vaucher ex Bornet & Flahabit, Cushuro, mostró una actividad antioxidante significativa a concentraciones de 0.25%, 0.5% y 1%, aunque no se evidenció actividad fotoprotectora UVB en dichas concentraciones.
2. El extracto hidroalcohólico de *Nostoc sphaericum* Vaucher ex Bornet & Flahabit, Cushuro, mostró un buen rendimiento 4.5% y con importante presencia flavonoides, esteroides, triterpenos y compuestos fenólicos.
3. Se obtuvo una formulación de cremigel que evidencia buenas características organolépticas, fisicoquímicas y microbiológicas, según las especificaciones, con 0.25%, 0.5% y 1% del extracto hidroalcohólico de *Nostoc sphaericum* Vaucher ex Bornet & Flahabit, Cushuro.
4. El cremigel con extracto hidroalcohólico de *Nostoc sphaericum* Vaucher ex Bornet & Flahabit, Cushuro, presentó actividad antioxidante *In vitro* con valores de IC₅₀ de 94 µg/mL, 93 µg/mL y 90 µg/mL para concentraciones de 0.25%, 0.5% y 1%, respectivamente. Estos resultados, aunque inferiores a los del cremigel con vitamina E (IC₅₀ de 92 µg/mL, 90 µg/mL y 83 µg/mL), confirman el potencial antioxidante del extracto.
5. Los valores de factor de protección solar obtenidos de los cremigeles al 0.25%, 0.5% y 1%, elaborados con el extracto hidroalcohólico de *Nostoc sphaericum* Vaucher ex Bornet & Flahabit, fueron bajos (0.448, 0.472, 0.501 FPS), no considerándose fotoprotector UVB, según el método de Mansur *et.al.*

RECOMENDACIONES

A LAS AUTORIDADES DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN ANTONIO ABAD DEL CUSCO

- Impulsar la investigación mediante la innovación de tecnologías nuevas e implementación de los laboratorios.
- Impulsar la publicación de artículos en revistas indexadas de alto impacto.
- Motivar a la investigación de recursos nativos de nuestra biodiversidad.

A LOS DOCENTES DE LA ESCUELA PROFESIONAL DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA

- Fortalecer y brindar apoyo a los círculos de investigación existentes.
- Se sugiere desarrollar nuevas formulaciones cosméticas a partir de la cianobacteria, logrando su aplicación como un ingrediente activo de aplicación cosmética.

A LOS ALUMNOS DE LA ESCUELA PROFESIONAL DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA

- Situar mayor enfoque en los compuestos lipofílicos que contienen la cianobacteria *Nostoc sphaericum*, Cushuro.
- Realizar la variabilidad de compuestos que contiene la especie *Nostoc sphaericum*, Cushuro, mediante un estudio metabólico.
- Continuar las investigaciones de las propiedades antioxidantes y fotoprotectoras por otros métodos, con la finalidad de obtener mejores resultados.
- Evaluar la actividad antioxidante y fotoprotectora del extracto hidroalcohólico en otras formas farmacéuticas.

- Realizar estudios de los parámetros que puedan afectar en el rendimiento del extracto hidroalcohólico de *N. sphaericum*.
- Obtener un extracto estabilizado de la especie *Nostoc sphaericum*, Cushuro, con aplicación en otras áreas.
- Continuar el estudio en otras especies de Nostoc, utilizando otros métodos y solventes.
- Evaluar la toxicidad del extracto hidroalcohólico de *N. sphaericum*.

BIBLIOGRAFÍA

1. Santos MB dos, Londero JEL, Mainardi AA, Cechin SZ, Schuch AP. Genotoxic risk assessment of solar UV radiation in tadpoles from Brazilian wetlands. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis* [Internet]. 2023 Jan [cited 2024 Jul 1];885:503578. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1383571822001401>
2. Kaddurah H, Braunberger TL, Vellaichamy G, Nahhas AF, Lim HW, Hamzavi IH. The Impact of Sunlight on Skin Aging. *Curr Geriatr Rep* [Internet]. 2018 Dec 29 [cited 2024 Jul 1];7(4):228–37. Available from: <https://link.springer.com/article/10.1007/s13670-018-0262-0>
3. Delgado-Villacis CH, Calvo-Betancur VD, Escobar-Franco MM. Fotoenvejecimiento cutáneo y su relación con el cáncer de piel: revisión sistemática. *Medicina y Laboratorio* [Internet]. 2022 Sep 26 [cited 2024 Jul 1];26(4):335–51. Available from: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=8741875>
4. Cambios en la piel del rostro asociados a la edad en el contexto del cambio de sus estructuras morfológicas. *International Journal of Pharmaceutical Research* [Internet]. 2020 Oct 2 [cited 2024 Jul 1];12(02). Available from: <https://openurl.ebsco.com/EPDB%3Aagcd%3A3%3A19900019/detailv2?sid=ebsco%3Aplink%3Ascholar&id=ebsco%3Aagcd%3A155597737&crl=f>
5. Santander Ballestín S, Luesma Bartolomé MJ. Toxicity of different chemical components in sun cream filters and their impact on human health: A Review. *Applied Sciences* [Internet]. 2023 Jan 4 [cited 2024 Jul 1];13(2):712. Available from: <https://www.mdpi.com/2076-3417/13/2/712>
6. Couselo-Rodríguez C, González-Esteban PC, Diéguez Montes MP, Flórez Á. Impacto de los filtros ultravioleta en el entorno natural. *Actas Dermosifiliogr* [Internet]. 2022 Sep [cited 2024 Jul 1];113(8):T792–803. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0001731022006226>
7. Cruz-Miranda L, Holgado-Rojas M. Estudio Bioecológico del Llullucha, *Nostoc* sp. *Revista Universitaria-Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco-Perú* [Internet]. 2008 [cited 2024 Jul 1];140:70–85. Available from: <https://revistas.unsaac.edu.pe/index.php/RU/article/view/503>
8. Li Z, Guo M. Healthy efficacy of *Nostoc commune* Vaucher. *Oncotarget* [Internet]. 2018 Mar 6 [cited 2024 Jul 1];9(18):14669–79. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29581873/>

9. Hernández-Catillo JR, Pardo-Ruiz JD. Estudio monográfico del uso y aplicación de productos naturales en la industria cosmética natural y ecológica [Internet]. 2015 [cited 2022 Apr 21]. Available from: <https://core.ac.uk/download/pdf/326430979.pdf>
10. Garnacho-Saucedo G, Salido-Vallejo R, Moreno-Gimenez J. Effects of solar radiation and an update on photoprotection [Internet]. Vol. 92, An Pediatr (Barc). 2020. Available from: www.analesdepediatria.org
11. Ministerio del Ambiente. Servicio Nacional de Meteorología e Hidrología del Perú (SENAMHI). 2024.
12. Seuma JMC, Vilardell F, Gari E. Fotocarcinogénesis cutánea y respuesta inmune. FMC [Internet]. 2023 Mar [cited 2024 Jul 1];30(3):1–13. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1134207223000609>
13. Bonet Ramón-Garrote Antonieta. Protección solar, nuevos activos [Internet]. 2011 May [cited 2024 May 21]. Available from: <https://www.elsevier.es/es-revista-offarm-4-articulo-proteccion-solar-nuevos-activos-X0212047X11205105>
14. Navarro C, Núñez M, Cebrián J. Los problemas de la sintética cosmética. In: Service.S.L, editor. El libro de la Cosmética Natural. 4th ed. Barcelona; 2021. p. 17–44.
15. García CS, Pérez Leal M, Cortijo Gimeno J. Revisiones en farmacoterapia, La radiación solar y la fotoprotección [Internet]. Vol. 19, Act Farma Terap. 2021 [cited 2024 Jul 1]. Available from: <https://www.socesfar.es/wp-content/uploads/2021/10/AFTV19N2-06D-Revisiones-en-farmacoterapia-1.pdf>
16. Cruz Rocco L, Soken Ikeda N, de Toledo C. Muller K, Ribeiro A. Miranda M. Avaliação dos parâmetros de qualidade físico-químicos de creme-géis à base de ácido hialurônico adquiridos em farmácias magistrais do município de Campo Grande-MS. Revista Colombiana de Ciencias Químico-Farmacéuticas [Internet]. 2023 Mar 23 [cited 2024 Jul 1];51(3). Available from: <https://pesquisa.bvsalud.org/portal/resource/pt/biblio-1431780>
17. Silva MET da, Martins MA, Leite M de O, Milião GL, Coimbra JS dos R. Microalga Scenedesmus obliquus: extraction of bioactive compounds and antioxidant activity. Revista ciencia agronómica. 2021;52(2).
18. Widowati I, Zainuri M, Kusumaningrum HP, Susilowati R, Hardivillier Y, Leignel V, et al. Antioxidant activity of three microalgae Dunaliella salina, Tetraselmis chuii and Isochrysis galbana clone Tahiti. IOP Conf Ser Earth Environ Sci [Internet]. 2017 Feb [cited 2024 Jul 1];55:012067. Available

from: <https://iopscience.iop.org/article/10.1088/1755-1315/55/1/012067>

19. Deuschle V, Cecília K, Deuschle R, Bortoluzzi M, Athayde M. Evaluación fisicoquímica de la estabilidad, esparcibilidad, capacidad in vitro antioxidante y fotoprotectora de formulaciones tópicas que contienen extracto de hoja de *Calendula officinalis* L. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2015 Mar;51(1):63–75.
20. Wang HB, Wu SJ, Liu D. Preparation of polysaccharides from cyanobacteria *Nostoc commune* and their antioxidant activities. *Carbohydr Polym* [Internet]. 2014 Jan [cited 2022 Dec 6];99:553–5. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0144861713008503>
21. Matsui K, Nazifi E, Kunita S, Wada N, Matsugo S, Sakamoto T. Novel glycosylated mycosporine-like amino acids with radical scavenging activity from the cyanobacterium *Nostoc commune*. *J Photochem Photobiol B*. 2011 Oct;105(1):81–9.
22. Huamani G C, Huaman F S. Evaluación in vitro de la actividad antioxidante y efecto fotoprotector UVB de una formulación dermocosmética como protector solar elaborada con el extracto acetónico del líquen *Everniastrum* sp [Internet]. [Perú]: Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2023 [cited 2024 Jul 1]. Available from: <https://cybertesis.unmsm.edu.pe/item/9b9e1816-42e8-4c8a-928c-fe50fcd162cf>
23. Venegas R. Actividad fotoprotectora in vitro del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Solanum nitidum* R.&P. [Perú]: Universidad Nacional de San Cristobal de Huamanga; 2023.
24. Baltonado Torres C. Baltonado T, Celia, Evaluación de una crema dermocosmética con potencial antioxidante y efecto humectante a base del extracto de *Nostoc sphaericum*, cushuro [Internet]. [Perú]: Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2018 [cited 2024 Jul 1]. Available from: <https://cybertesis.unmsm.edu.pe/item/8a5f5def-be37-4546-af4d-fc1a5f0c0d0b>
25. Chávez-Hidalgo LP. Composición química y actividad antioxidante in vitro del extracto acuoso de *Nostoc sphaericum* (Cushuro), laguna Cushurococha – Junín [Internet]. 2014 [cited 2022 Dec 6]. Available from: <https://cybertesis.unmsm.edu.pe/handle/20.500.12672/3897>
26. Aparicio-Alvarez CM, Espinoza-Salazar CE. Evaluación del efecto fotoprotector frente a la radiación UVB y actividad antioxidante del cremigel a base de manteca de *Theobroma grandiflorum* (Copoazú) [Internet]. 2022 [cited 2022 Dec 6]. Available from: <http://repositorio.unsaac.edu.pe/handle/20.500.12918/6543>

27. Colque Arce G. Evaluación de la capacidad fotoprotectora, determinación del FPS e irritación primaria en piel de ratones de una crema elaborada con el extracto etanólico al 96% de las semillas de Bixa Orellana (Achiote), Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco [Internet]. [Perú]: Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco; 2019 [cited 2024 Jul 1]. Available from: <https://repositorio.unsaac.edu.pe/handle/20.500.12918/4160?show=full>
28. Durán Cascamayta R. Actividad antioxidante in vitro de los extractos etanólicos y metanólico de *Sphagnum maguellanicum* “Musgo Blanco” [Internet]. [Perú]: Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco; 2018 [cited 2024 Jul 1]. Available from: <https://repositorio.unsaac.edu.pe/handle/20.500.12918/3823>
29. Corpus-Gomez A, Alcantara-Callata M, Celis-Teodoro H, Echevarria-Alarcón B, Paredes-Julca J, Paucar-Menacho LM. Hábitat, características fisicoquímicas, composición nutricional, formas de consumo y propiedades medicinales. *Agroindustrial Science* [Internet]. 2021 Aug 25 [cited 2024 Jul 1];11(2):231–8. Available from: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=8085154>
30. Vilchez-Palomino H. Efecto de la Temperatura Sobre la Capacidad Antioxidante del *Cushuro* (*Nostoc commune*). 2017.
31. Ponce E. *Nostoc*: Un alimento diferente y su presencia en la precordillera de Arica [Internet]. Vol. 32. Chile; 2014 Mar [cited 2022 Apr 21]. Available from: <https://scielo.conicyt.cl/pdf/idesia/v32n2/art15.pdf>
32. Quitral Vilma, Carla Morales, Sepúlveda Marcela, Schwartz Marco. Propiedades nutritivas y saludables de algas marinas y su potencialidad como ingrediente funcional. *Nutrición Chilena* [Internet]. 2012 [cited 2022 Dec 6];39(4):1–7. Available from: https://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0717-75182012000400014
33. Zamora-S JD. Antioxidantes: Micronutrientes en lucha por la salud. *Revista chilena de nutrición* [Internet]. 2007 Mar [cited 2024 Jul 1];34(1). Available from: https://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0717-75182007000100002
34. Sánchez-Valle V, Méndez-Sánchez N. Estrés oxidativo, antioxidantes y enfermedad. Vol. 20, *Rev Invest Med Sur Mex*, Julio-Septiembre. 2013.
35. Coronado-H M, Vega-León S, Gutiérrez-T R, Vásquez-F M, Radilla-V C. Antioxidantes: perspectiva actual para la salud humana [Internet]. Vol. 42, *Rev Chil Nutr*. 2015 [cited 2024 Jul 1]. Available from: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=9543865>
36. Venereo-Gutiérrez J. Daño oxidativo, radicales libres y antioxidantes

- [Internet]. Vol. 31, Rev Cubana Med Milit. 2002 [cited 2024 Jul 1]. Available from: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0138-65572002000200009
37. Mayor-Oxilia R. Estrés oxidativo y sistema de defensa antioxidante [Internet]. Vol. 5, R. Rev. Inst. Med. Trop. Paraguay; 2010 [cited 2024 Jul 1]. Available from: <http://scielo.iics.una.py/pdf/imt/v5n2/v5n2a05.pdf>
 38. Trigo-López J, Benítez-Zequeira DE. Vitaminas y oxidorreductasas antioxidantes: defensa ante el estrés oxidativo [Internet]. Chile; 2006 [cited 2022 Apr 21]. Available from: <http://scielo.sld.cu/pdf/ibi/v25n2/ibi10206.pdf>
 39. He L, He T, Farrar S, Ji L, Liu T, Ma X. Antioxidants Maintain Cellular Redox Homeostasis by Elimination of Reactive Oxygen Species. *Cellular Physiology and Biochemistry*. 2017;44(2):532–53.
 40. De Gálvez MV. Antioxidantes en fotoprotección, ¿realmente funcionan? *Actas Dermosifiliogr* [Internet]. 2010 Apr [cited 2024 Jul 1];101(3):197–200. Available from: <https://www.actasdermo.org/es-antioxidantes-fotoproteccion-realmente-funcionan-articulo-S0001731010000888>
 41. Garnacho Saucedo GM, Salido Vallejo R, Moreno Giménez JC. Efectos de la radiación solar y actualización en fotoprotección. *An Pediatr (Engl Ed)*. 2020 Jun;92(6):377.e1-377.e9.
 42. Burgos-Blasco P, Melian-Olivera A, Vañó-Galván GSE y S. Indicaciones y tratamiento fotoprotector. *Medicine - Programa de Formación Médica Continuada Acreditado* [Internet]. 2022 Jan [cited 2024 Jul 1];13(47):2775–8. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0304541222000087>
 43. Sánchez-Regaña M, Llambí-Mateos F, Salleras-Redonnet M, Iglesias Sancho M, Collgros Totosaus H, Umbert-Millet P. La formulación magistral en la terapéutica dermatológica actual. *Actas Dermosifiliogr*. 2013 Nov;104(9):738–56.
 44. Vila-Jato JL. Tecnología Farmacéutica, Formas Farmacéuticas. 2nd ed. Vila Jato JL, editor. Vol. 2. España; 2001. 513–535 p.
 45. Farmacopea de los Estados Unidos de América USP. Formas Farmacéuticas. 2020;41(NF36):750–64.
 46. Gerencia General de Cosméticos. Guía de estabilidad de productos cosméticos [Internet]. Brasil; 2005 May [cited 2024 Jul 1]. Available from: <https://antigo.anvisa.gov.br/documents/106351/107910/Gu%C3%ADa+de+Estabilidad+de+Productos+Cosm%C3%A9ticos/dd40ebf0-b9a2-4316-a6b4-818cac57f6de>
 47. Villar del Fresno. *Farmacognosia General*. 1st ed. M Á, Villar del F, editors. 1999.

48. Repo de Carrasco R, Encina-Zelada CR. Determinación de la capacidad antioxidante y compuestos bioactivos de frutas nativas Peruanas [Internet]. Perú; 2008 [cited 2024 Jul 1]. Available from: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1810-634X2008000200004
49. Obando-Barrera LH. Evaluación de la actividad antioxidante y anticologenasa del látex de *Croton lechleri* y elaboración de una crema dermocosmética. Universidad Nacional Mayor de San Marcos [Internet]. 2020 [cited 2024 Jul 1];1–90. Available from: <https://cybertesis.unmsm.edu.pe/item/efb5e6c8-0486-450e-a29b-3556365e1ef6>
50. Fernández-Montes EA. Recursos tecnológicos y procedimientos en formulación magistral dermatológica [Internet]. Catalá; 2011 May. Available from: www.dfarmacia.com
51. Guija-poma E, Inocente-Camones MA, Ponce-Pardo J, Zarzosa-Norabuena E. Evaluación de la técnica 2,2-Difenil-1-Picrilhidrazilo (DPPH) para determinar capacidad antioxidante. Horizonte Médico, USMP, Lima-Perú [Internet]. 2015 [cited 2024 Jul 1];15(1):1–4. Available from: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=371637138008>
52. Sanchez-Sebastián Luis Alberto. Evaluación fitoquímica y capacidad antioxidante in vitro del extracto etanólico de *Nostoc commune* (Cushuro) [Internet]. 2018 [cited 2024 Jul 1]. Available from: <https://repositorioslatinoamericanos.uchile.cl/handle/2250/3209349>
53. Hernández-Sampieri R. Metodología de la Investigación. Irma Pérez Guzmán. McGRAW-HILL, editor. Vol. 1. México; 2013. 70–80 p.
54. Yarin-Carrizales CA. Actividad antioxidante in vitro y fotoprotectora in vivo del extracto hidroalcohólico de semillas de *Bixa orellana* L. “achiote” y elaboración de una forma dermocosmética. Universidad Nacional Mayor de San Marcos Lima- Perú [Internet]. 2019 [cited 2022 Dec 6];1–89. Available from: https://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12672/11501/Yarin_cc.pdf?sequence=3&isAllowed=y
55. Débora-Mariotti, Zanini-Frasson AP. Evaluación de la estabilidad y actividad antioxidante de las formulaciones cosméticas que contienen el extracto etanólico del fruto de *Fragaria vesca* L. (fresa). Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences [Internet]. 2011 [cited 2024 Jul 1];23(3/4):1–7. Available from: https://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/20.500.12672/20713/1/Huamani_gc.pdf
56. Mansur J de S, Breder MNR, Mansur MC, Azulay RD. Determinación del factor de protección solar por espectrofotometría. An Bras Dermatol

- [Internet]. 1986 [cited 2024 Jul 1];61:121–4. Available from: <https://pesquisa.bvsalud.org/portal/resource/pt/lil-34224?lang=es>
57. Lillini G, Pasquali R, Pedemonte C, Bregni C, Lavaselli S. Estudio de la estabilidad de emulsiones con estructuras líquido-cristalinas, y su aplicación farmacéutica mediante el agregado de un principio activo liposoluble: Econazol. *Revista Colombiana de Ciencias Químico-Farmacéuticas* [Internet]. 2016 Jun 13 [cited 2024 Jul 1];45(1):5–20. Available from: <https://pesquisa.bvsalud.org/portal/resource/pt/lil-791288>
 58. United States Pharmacopeia 41. Microbiological Examination of Nons sterile Products: Microbial enumeration tests. USP. 2022 Aug 9;NF 36(61):1–6.
 59. Phillips T. Cómo la liofilización conserva el material biológico. ThoughtCo. 2020 Oct 29;1–5.
 60. Abubakar A, Haque M. Preparation of medicinal plants: Basic extraction and fractionation procedures for experimental purposes. *J Pharm Bioallied Sci.* 2020;12(1):1.
 61. Abubakar A, Haque M. Preparation of medicinal plants: Basic extraction and fractionation procedures for experimental purposes. *J Pharm Bioallied Sci* [Internet]. 2020 [cited 2024 Jul 1];12(1):1. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7398001/>
 62. Lock de Ugaz O. Investigación Fitoquímica, Métodos en el estudio de Productos Naturales. Pontificia Universidad Católica del Perú. 1994;2:111–35.
 63. Sasidharan S, Chen Y, Saravanan D, Sundram KM, Yoga Latha L. Extraction, isolation and characterization of bioactive compounds from plants' extracts. *Afr J Tradit Complement Altern Med* [Internet]. 2011 [cited 2024 Jul 1];8(1):1–10. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3218439/>
 64. Ruíz S, Venegas E, Chávez M. Identificación preliminar de los metabolitos secundarios de los extractos acuosos y etanólicos del fruto y hojas de *Morinda citrifolia* L. "Noni" y cuantificación espectrofotométrica de los flavonoides totales. *SALUD* [Internet]. 2023 Sep [cited 2024 Aug 30];2:1–12. Available from: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=6181488>
 65. Sasidharan S, Chen Y, Saravanan D, Sundram KM, Yoga Latha L. Extraction, isolation and characterization of bioactive compounds from plants extracts. *Afr J Tradit Complement Altern Med* [Internet]. 2011 [cited 2024 Jul 1];8(1):1–10. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3218439/>
 66. González Minero FJ, Bravo Díaz L. Estudio botánico y farmacéutico de

- productos con aplicación en cosmética y cuidado de la piel. *Ars Pharmaceutica* (Internet) [Internet]. 2017 Dec 20 [cited 2024 Aug 30];58(4):175–91. Available from: https://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2340-98942017000400007
67. Martínez DM, Tobón Zapata GE. Incorporación de un novedoso complejo de tinidazol con propiedades antimicrobianas a dos formas semisólidas de uso tópico. *Revista Colombiana de Ciencias Químico-Farmacéuticas*. 2021 Aug 24;50(2).
 68. Da J, Favero S. Caracterización, tratamiento y viabilidad de la aplicación de arcillas a partir de residuos de extracción de arena en el área cosmética. [Internet]. 2016 [cited 2024 Jul 1]. Available from: <https://repositorio.ucs.br/handle/11338/2599>
 69. Ramos A, Visozo A, Piloto J, García A, Rodríguez CA, Rivero R. Screening of antimutagenicity via antioxidant activity in Cuban medicinal plants. *J Ethnopharmacol*. 2003 Aug;87(2–3):241–6.
 70. Soung SH, Lee S, Lee SH, Kim HJ, Lee NR, Lee CH. Metabolomic-Based Comparison of Traditional and Industrial Doenjang Samples with Antioxidative Activities. *Foods*. 2021 Jun 15;10(6):1377.
 71. González-Morales A, Ribas-Aparicio RM, Burrola-Aguilar C. Actividad antioxidante de hongos silvestres consumidos tradicionalmente en el centro de México. *Sci Fungorum*. 2021 Nov 18;52:e1410.
 72. MERCOSUR/GMC/RES. N°26/02. Reglamento Técnico MERCOSUR sobre Protectores Solares en Cosméticos.

ANEXOS

Anexo 1: Certificado de identificación taxonómica

UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN ANTONIO ABAD DEL CUSCO

- APARTADO POSTAL
N° 921 - Cusco - Perú
- FAX: 238156 - 238173 - 222512
- RECTORADO
Calle Tigre N° 127
Teléfonos: 222271 - 224891 - 224181 - 254398
- CIUDAD UNIVERSITARIA
Av. De la Cultura N° 733 - Teléfonos: 228661 - 222512 - 232370 - 232375 - 232226
- CENTRAL TELEFÓNICA: 232398 - 252210
243835 - 243836 - 243837 - 243838
- LOCAL CENTRAL
Plaza de Armas s/n
Teléfonos: 227571 - 225721 - 224015
- MUSEO INKA
Cuesta del Almirante N° 103 - Teléfono: 237380
- CENTRO AGRONÓMICO K'AYRA
San Jerónimo s/n Cusco - Teléfonos: 277145 - 277246
- COLEGIO "FORTUNATO L. HERRERA"
Av. De la Cultura N° 721
"Estadio Universitario" - Teléfono: 227192

CERTIFICACION

El que suscribe, Profesor Investigador Asociado al Herbario Vargas (CUZ), **CERTIFICA:** Que la Señorita. **ADELY NATALIA, PUMA CALVO**, Bachiller de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica de la Facultad de Ciencias de la Salud, de la Universidad de San Antonio Abad del Cusco ; me ha presentado muestras frescas de una alga andina colectadas para su determinación taxonómica, las que al ser debidamente observadas ,diagnosticadas utilizando bibliografía especializada y larga experiencia de campo que poseo, la muestra corresponde a la especie *Nostoc sphaericum*, cuya posición taxonómica es como sigue:

División : Cyanophyta
Clase : Cyanophyceae
Sub clase : Hormonophycidae
Orden : Nostocales
Familia : Nostocaceae
Género : Nostoc
Especie : *Nostoc sphaericum* Vaucher ex Bornet & Flahavit
Nombres locales: "Llullucha," "cushuru", "murmunta" y "murmuntay".

Se otorga la presente certificación, para los fines de investigación conducentes a la tesis profesional de Químico Farmacéutico de la interesada.

Cusco, 30 de octubre del 2023.



M.Cs. Blgo. Alfredo Tupayachi Herrera
Prof. Invg. Asociado al Herbario Vargas CUZ.

Anexo 2: Marcha fitoquímica cualitativa y solubilidad



UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN ANTONIO ABAD DEL CUSCO
 FACULTAD DE CIENCIAS
 LABORATORIO DE CROMATOGRAFIA Y ESPECTROMETRÍA – Pabellón de Control de Calidad
 AV. De la Cultura 733 CUSCO-PERÚ Contacto 973868855

RESULTADOS

Cusco, 14 de Septiembre 2023

Solicitante : Adely Natalia Puma Calvo
 Tipo de Análisis : Marcha fitoquímica cualitativa, solubilidad y Polifenoles
 Método : Reacciones a la gota y solubilidad y Folin Ciocalteu,
 Tipo de Muestras : Extracto Etanólico al 70% de *Nostoc sphaericum* "Cushuco"
 Cantidad de Muestra : 1 Frasco con 0.7gr aproximadamente
 Almacenamiento : 4 °C.

Marcha fitoquímica

Ensayo	Extracto Etanólico al 70% de <i>Nostoc sphaericum</i>
Compuestos Fenólicos	+
Flavonoides	+++
Alcaloides	-
Triterpenos y Esteroides	+++
Saponinas	-
Taninos	-
Quinonas	-

Abundante = +++, Poco = ++, Muy Poco = +, Ausente = -

Ensayo de solubilidad

Extracto Etanólico <i>Nostoc sphaericum</i>	Agua	Metanol	Etanol Abs	Etanol 70	Acetona	Acetato de Etilo	Cloroformo	Hexano
Solubilidad	++	++	++	+++	+	+++	+++	+

Muy Soluble = +++, Parcialmente Soluble = ++, Poco Soluble = +, Insoluble = -

Nota:

El ensayo fitoquímico realizado al extracto consistió en reacciones de coloración y/o precipitación, en el que se evaluó la presencia o ausencia de metabolitos secundarios



Químico. Jorge Choquenaira Pari
 Analista del Laboratorio de Cromatografía y
 Espectrometría – UNSAAC.
 CQP - 914

Anexo 3: Análisis de estabilidad organoléptica

Control organoléptico del cremigel					
Condiciones	5 ± 2 °C, 20 ± 25 °C, 40 ± 2 °C en ciclos de 24 horas.				
Emulsión	Parámetro	Día 0	Día 5	Día 10	Día 15
0.25%	Aspecto				
	Color				
	olor				
0.5%	Aspecto				
	Color				
	olor				
1%	Aspecto				
	Color				
	olor				

Fuente: Elaboración propia

Anexo 4: Análisis de estabilidad fisicoquímica

Control fisicoquímico del cremigel					
Condiciones	5 ± 2 °C, 20 ± 25 °C, 40 ± 2 °C en ciclos de 24 horas.				
Cremigel	Parámetro	Dia 0	Dia 5	Dia 10	Dia 15
0.25%	pH				
	Extensibilidad				
	Microscopia				
	Sedimentación				
0.5%	pH				
	Extensibilidad				
	Microscopia				
	Sedimentación				
1%	pH				
	Extensibilidad				
	Microscopia				
	Sedimentación				

Fuente: Elaboración propia

Anexo 5: Análisis de estabilidad microbiológica



Universidad Nacional Mayor de San Marcos

Universidad del Perú. Decana de América

Facultad de Farmacia y Bioquímica

CENTRO DE CONTROL ANALÍTICO – CCA



REPORTE DE ANÁLISIS N° 00304-CCA-2024

SOLICITADO POR* : ADELY NATALIA PUMA CALVO
 DIRECCIÓN* : CUSCO
 MUESTRA* : CREMIGEL CON EXTRACTO HIDROALCHÓLICO DE *Nostoc sphaericum* AL 1%
 DESCRIPCIÓN DEL PRODUCTO RECEPCIONADO : 02 tubos cónicos de plástico transparente con tapa rosca celeste y rotulado a mano.
 VARIEDAD RECEPCIONADA* : -
 PRINCIPIO ACTIVO* : - N° CAS*: -
 NÚMERO DE LOTE* : CRG-003
 CANTIDAD : 02 unidades x 50 g
 ORDEN DE ANÁLISIS : 0286-2024
 FECHA DE RECEPCIÓN : 13 de septiembre del 2024
 FECHA DE FABRICACIÓN* : 29 de agosto del 2024
 FECHA DE VENCIMIENTO* : -
 EJECUCIÓN DEL ENSAYO : Del 16 de septiembre del 2024 al 23 de septiembre del 2024
 FECHA DE EMISIÓN : 24 de septiembre del 2024

ANÁLISIS MICROBIOLÓGICOS

ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO			
ENSAYOS	ESPECIFICACIONES	MÉTODOS	RESULTADOS
Recuento de aerobios mesófilos viables	-	USP 41	<5 UFC/g (Ausencia)
Recuento de mohos y levaduras	-	USP 41	<5 UFC/g (Ausencia)
<i>Escherichia coli</i>	Ausente en 10 g	USP 41	Ausente en 10 g
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Ausente en 10 g	USP 41	Ausente en 10 g
<i>Staphylococcus aureus</i>	Ausente en 10 g	USP 41	Ausente en 10 g
<i>Salmonella spp.</i>	Ausente en 10 g	USP 41	Ausente en 10 g
<i>Candida albicans</i>	Ausente en 10 g	USP 41	Ausente en 10 g

Q.F. Paul Iván Gutiérrez Elescano
 Director del Centro de Control Analítico

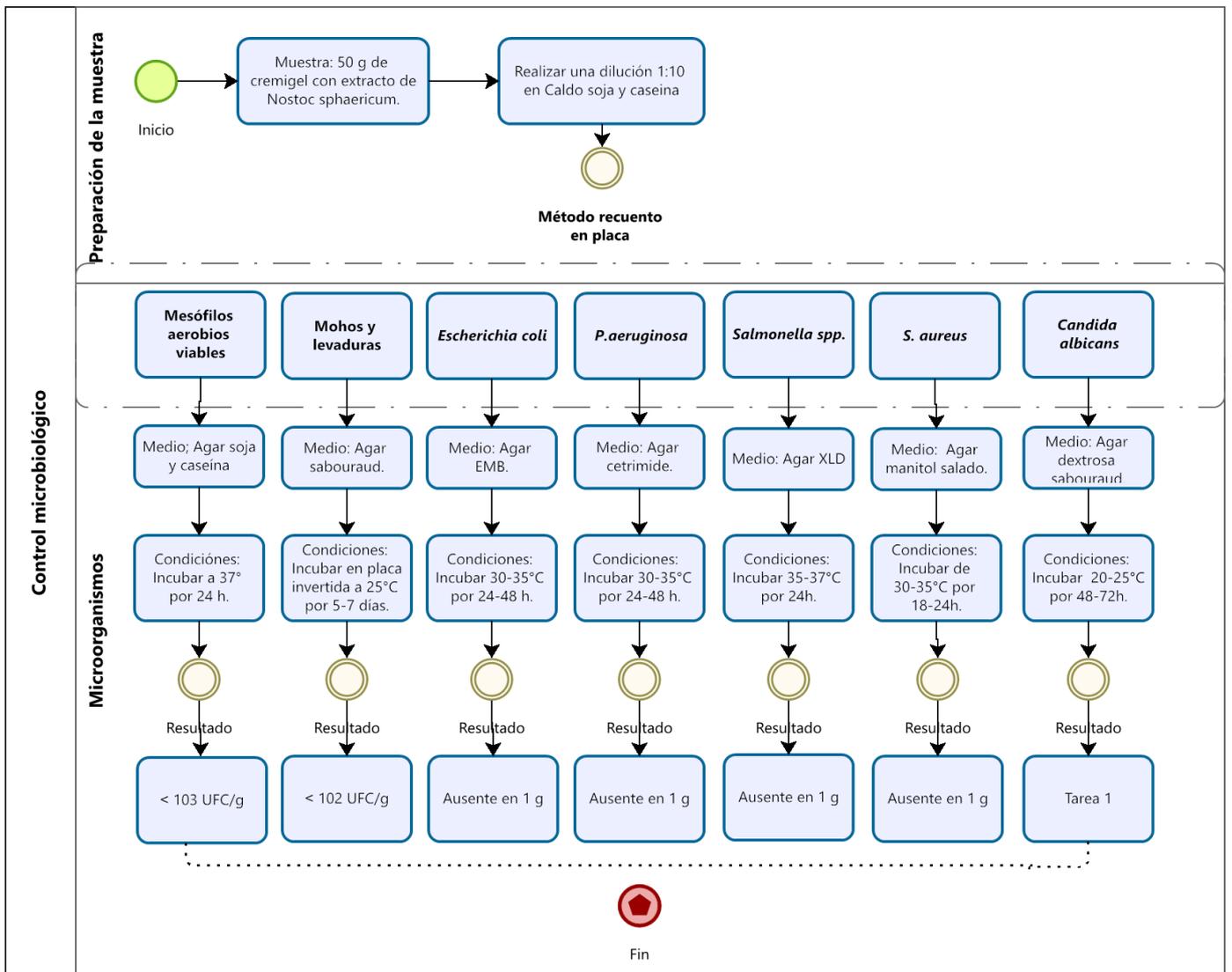
*Datos proporcionados por el cliente.
 Los resultados son válidos solo para la muestra ensayada.



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

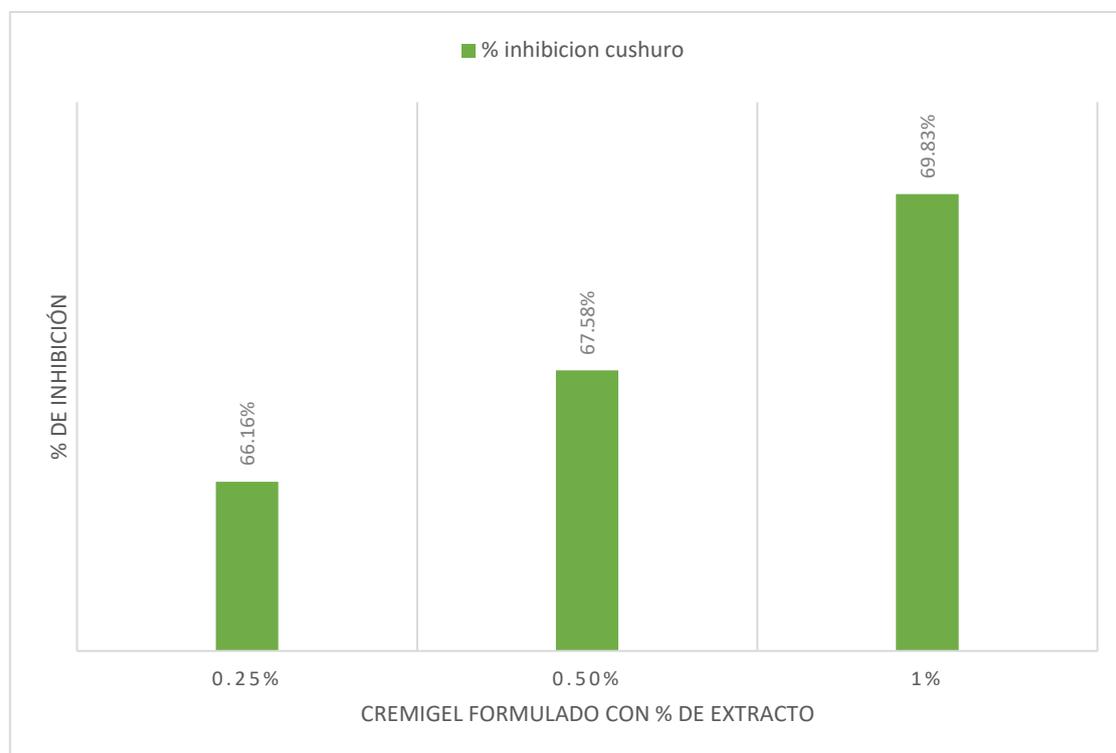
Jr. Puno N° 1002, Jardín Botánico – Lima 1 – Perú Teléfonos: 619-7000 anexo 4824 - 982949135 – Lima 1
 E-mail: cca.farmacia@unmsm.edu.pe <http://farmacia.unmsm.edu.pe>

Anexo 6: Control microbiológico del cremigel con extracto hidroalcohólico de *Nostoc sphaericum* Vaucher ex Bornet & Flahabit, Cushuro.



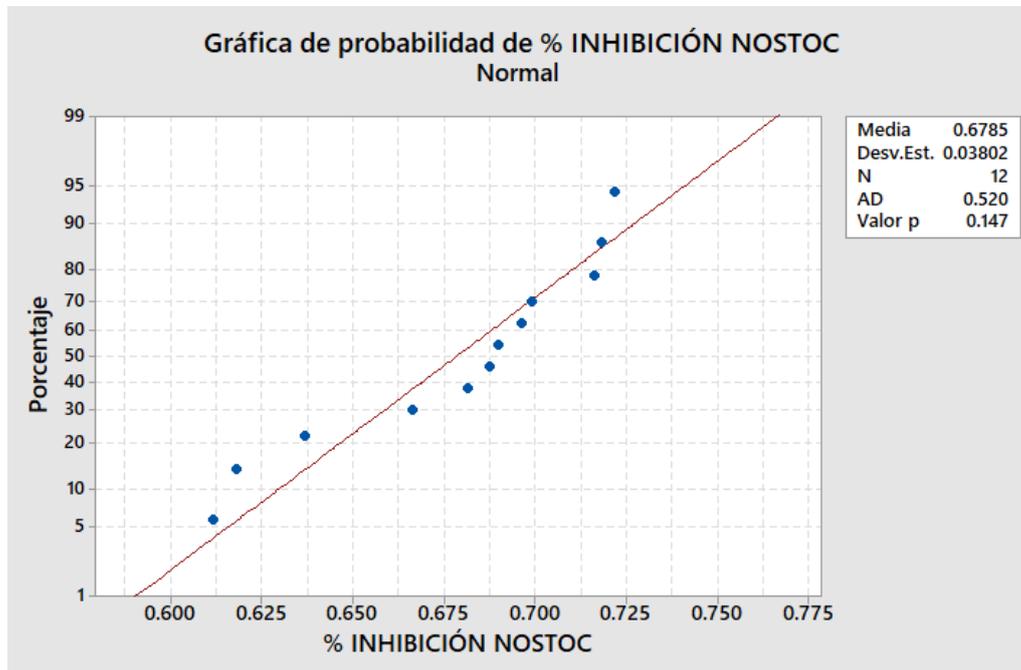
Nota: Adaptado de la USP 41, para el control microbiológico de productos no estériles. En la imagen se muestra el método y los medios para cada microorganismo evaluado según farmacopea (58).

Anexo 7: Porcentaje de inhibición de cremigel con extracto de *Nostoc sphaericum* Vaucher ex Bornet & Flahabit, Cushuro



Nota: Porcentaje de inhibición del cremigel con el extracto de *Nostoc sphaericum*, Cushuro al 0.25%, 0.5% y 1%.

Anexo 8: Prueba de normalidad del % de inhibición del cremigel con el extracto hidroalcohólico por el método DPPH.



Según este informe resumen de gráfica, el análisis a través de la prueba de normalidad de Anderson-Darling, el P value es 0.147, el cual es mayor que 0.05. Por lo tanto, la variable respuesta de % de inhibición tiene un comportamiento normal.

Anexo 9: Análisis de la Varianza del cremigel (0.25%, 0.5% y 1%) de extracto en cremigel y variable de respuesta (% de inhibición).

Análisis de Varianza					
Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Crema	2	0.002732	0.001366	0.93	0.428
Error	9	0.013169	0.001463		
Total	11	0.015901			

No se detectan diferencias significativas entre las medias porque el p-valor es mayor que 0.05.

Resumen de modelo			
S	R-cuad.	R-cuad. (ajustado)	R-cuad. (pred)
0.0382520	17.18%	0.00%	0.00%

Anexo 10: Análisis de varianza entre el porcentaje de inhibición de Cremigel con Nostoc vs Cremigel con vitamina E.

ANOVA de un solo factor:

Hipótesis nula	Todas las medias son iguales
Hipótesis alterna	No todas las medias son iguales
Nivel de significancia	$\alpha = 0.05$

Se presupuso igualdad de varianzas para el análisis.

Análisis de Varianza					
Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Factor	1	0.001452	0.001452	1.02	0.322
Error	22	0.031189	0.001418		
Total	23	0.032641			

Resumen del modelo

S	R-cuad.	R-cuad. (ajustado)	R-cuad. (pred)
0.0376519	4.45%	0.11%	0.00%

Medias

Factor	N	Media	Desv.Est.	IC de 95%
% Inhibición Vit E	12	0.6941	0.0373	(0.6716; 0.7166)
% Inhibición Nostoc	12	0.6785	0.0380	(0.6560; 0.7011)

Desv.Est. agrupada = 0.0376519

Fotografía 2: Laguna de Qoricocha distrito de Coya, provincia de Calca, departamento de Cusco.



Fuente: A.P.C

Fotografía 3: Recolección de las colonias de *Nostoc sphaericum*, Cushuro



Fuente: A.P.C

Fotografía 4: Liofilizado de la muestra



Fuente: A.P.C

Fotografía 5: Molienda de la muestra



Fuente: A.P.C

Fotografía 6: Cantidad obtenida en gramos de la muestra



Fuente: A.P.C

Fotografía 7: Percolación de la molienda con etanol de 70%



Fuente: A.P.C

Fotografía 8: Concentración del extracto hidroalcohólico de *Nostoc sphaericum*, Cushuro.



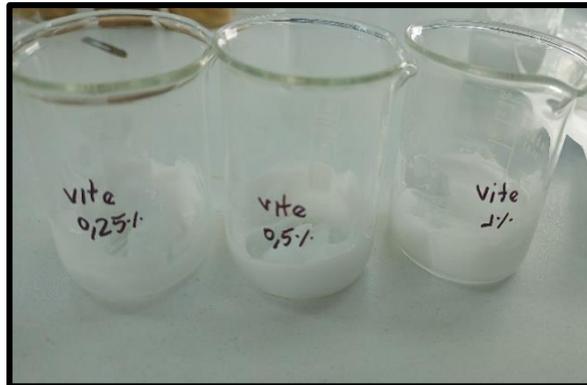
Fuente: A.P.C

Fotografía 9: Formulación de las bases con Olivem 1000



Fuente: A.P.C

Fotografía 10: Formulación del cremigel con vitamina E a concentraciones de 0.25%, 0.5% y 1%.



Fuente: A.P.C

Fotografía 11: Formulación del cremigel con el extracto hidroalcohólico de *Nostoc sphaericum* Vaucher ex Bornet & Flahabit, Cushuro a concentraciones de 0.25%, 0.5% y 1%.



Fuente: A.P.C

Fotografía 12: Equipos para la evaluación fisicoquímica de las formulaciones



Fuente: A.P.C

Fotografía 13: Determinación del color por colorimetría de los cremigeles.



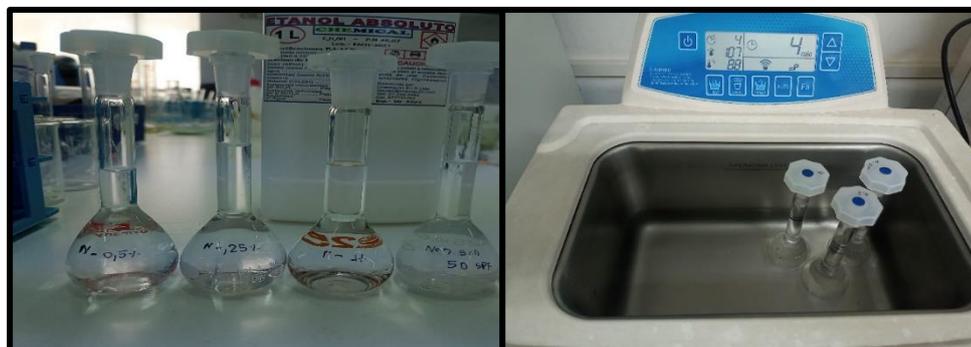
Fuente: A.P.C

Fotografía 14: Análisis de la actividad antioxidante del cremigel con extracto y cremigel con vitamina E.



Fuente: A.P.C

Fotografía 15: Análisis de la actividad fotoprotectora del cremigel con extracto y fotoprotector comercial.



Fuente: A.P.C