

UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN ANTONIO ABAD DEL CUSCO
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

ESCUELA PROFESIONAL DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA



EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIMICOTICA IN VITRO FRENTE A *Malassezia furfur* CEPA ATCC 14521 Y DETERMINACIÓN DE LA CAPACIDAD DE COLORACIÓN CAPILAR DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO Y DEL TINTE SHAMPOO ELABORADO A PARTIR DEL FRUTO DE *Genipa americana L.* (Huito)

TESIS PRESENTADO POR:

Br. Dany Gutierrez Ninachoque

Br. Jimmy Oscar Ortiz de Orue Meza

PARA OPTAR AL TÍTULO PROFESIONAL DE QUÍMICO FARMACÉUTICO

ASESORA:

Dra. CARLA DEL CARPIO JIMENEZ

CO-ASESORES:

Mgt. Zany Sigrig Frisancho Triveño

Qf. Roger Giancarlo Gutierrez Chavez

CUSCO - PERÚ

2022

DEDICATORIA

Dedico el trabajo de investigación a Dios por darme la oportunidad de dar un paso más en mi carrera profesional, en un tiempo perfecto, también dedico la tesis a mis padres por brindarme su apoyo incondicional en todo momento, por creer en mí dándome ejemplo de superación, sacrificio y humildad enseñándome a valorar todo lo que tengo.

A mis asesores y amigos, especialmente a mi compañero de tesis que siempre estuvo comprometido en cada proceso de nuestro trabajo de investigación porque sin el equipo que formamos no hubiera sido posible ejecutar esta meta.

A mi hermana Roxana y amigos Karina y Edwin que nos brindaron su apoyo en el proceso de ejecución de la tesis.

Dany Gutierrez Ninachoque

DEDICATORIA

Primeramente, dedico el trabajo de investigación a Dios por permitirme cumplir una meta más en mi formación y vida profesional, ayudándome a sobrellevar todos los momentos de tropiezos en el camino.

A mis padres Mercedes y Juvenal, por su apoyo incondicional durante toda mi formación profesional y por todos los consejos dados.

A mis asesores y compañeros, en especial a mi compañera de tesis que siempre dio el máximo de esfuerzo y tiempo para cumplir las metas trazadas durante la elaboración y ejecución de este trabajo de investigación.

A mis hermanos porque siempre me apoyaron y aconsejaron sin importar el tiempo ni el lugar.

Jimmy Oscar Ortiz de Orue Meza

AGRADECIMIENTOS

Primeramente, Agradecemos a Dios por darnos la fuerza y protección todos los días en cada momento y lugar.

A la Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco, por habernos permitido ser parte de esta casa de estudios.

A nuestra asesora Dra. Carla del Carpio Jiménez, por asesorarnos, apoyarnos, guiarnos y aconsejarnos de forma dedicada e incondicionalmente durante todo este proceso.

A nuestros co- asesores Mgt. Zany Sigrid Frisancho Triveño y Qf. Roger Giancarlo Gutierrez Chavez por sus consejos y apoyo en los momentos que los solicitamos y requerimos.

A nuestros docentes de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica, por brindarnos sus conocimientos y apoyo en nuestra formación profesional para ser profesionales capaces en el campo laboral.

A nuestros familiares y amigos, que siempre estuvieron a nuestro lado brindándonos su apoyo y consejos tanto en momentos felices como en momentos difíciles.

Dany Gutierrez Ninachoque y Jimmy Oscar Ortiz de Orue Meza

CONTENIDO

DEDICATORIA.....	ii
DEDICATORIA.....	iii
AGRADECIMIENTOS	iv
RESUMEN	1
ABSTRACT	3
INTRODUCCIÓN	5
CAPITULO I	7
GENERALIDADES.....	7
1.1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA:	7
1.2. FORMULACION DEL PROBLEMA.....	9
1.3. OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN.....	9
1.3.a. OBJETIVO GENERAL.....	9
1.3.b. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	9
1.4. JUSTIFICACIÓN E IMPORTANCIA:.....	10
1.5. HIPÓTESIS:.....	11
CAPITULO II	12
MARCO TEÓRICO.....	12
2.1. VISIÓN HISTÓRICA:.....	12
2.2. ANTECEDENTES:	15
2.2.a. ANTECEDENTES INTERNACIONALES:.....	15
2.2.b. ANTECEDENTES NACIONALES:.....	17
2.2.c. ANTECEDENTES LOCALES	19
2.3. ESTADO DEL ARTE	20
2.4. BASES TEÓRICO CIENTÍFICAS.....	21
2.4.a. Aspectos botánicos de la especie vegetal	21
2.4.b. Aspectos generales de la caspa.....	25
2.4.c. Patología dérmica	29
2.4.d. Descripción del hongo en estudio.....	31
2.4.e. Forma Cosmética: Shampoo Anticaspa	36
2.4.f. Fármaco utilizado como Patrón	40
2.4.g. Control de Calidad	41
2.4.h. El cabello	49
2.4.i. Tintes capilares.....	54
2.4.j. Colorimetría	56

2.5. MARCO CONCEPTUAL:	59
CAPÍTULO III	61
MATERIALES Y MÉTODOS	61
3.1 MATERIALES:	61
3.2 DISEÑO METODOLÓGICO:.....	64
TIPO DE ESTUDIO:.....	64
3.3 IDENTIFICACIÓN, DEFINICIÓN Y OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES	68
3.3.1 IDENTIFICACIÓN DE VARIABLES	68
3.3.2 DEFINICIÓN DE VARIABLES	69
3.3.3 OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES	69
3.4 CRITERIOS DE INCLUSIÓN Y EXCLUSIÓN	75
3.4.1 CRITERIOS DE INCLUSION.....	75
3.4.2 CRITERIOS DE EXCLUSIÓN.....	75
3.5 PROCEDIMIENTO	76
TINTURACION DE MECHONES.....	78
3.5.1. RECOLECCIÓN DE LA MUESTRA VEGETAL	79
3.5.2. DETERMINACIÓN DE LA IDENTIDAD DE ESPECIE LA ESPECIE VEGETAL	79
3.5.3. MOLIENDA DE LA MUESTRA VEGETAL.....	79
3.5.4. PORCENTAJE DE HUMEDAD.....	79
3.5.5. OBTENCIÓN DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO	80
3.5.6. PRUEBAS DE SOLUBILIDAD	80
3.5.7. ANALISIS FITOQUÍMICO CUALITATIVO	80
3.5.8. PRE- FORMULACION DEL TINTE SHAMPOO	81
3.5.9. DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIMICÓTICA.....	81
3.5.10. CONTROL MICROBIOLÓGICO:.....	85
3.5.11. TINTURACION DE MECHONES	85
3.5.12. LAVADO DE MECHONES:	85
3.5.13. MEDICION COLORIMÉTRICA.....	86
3.6 TÉCNICAS E INSTRUMENTOS PARA LA RECOLECCIÓN DE DATOS.....	86
CAPITULO IV.....	88
ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS	88
CONCLUSIONES.....	106
SUGERENCIAS	108

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	109
ANEXOS	117
REGISTRO FOTOGRAFICO	126
MATRIZ DE CONSISTENCIA	139

INDICE DE TABLAS

Tabla 1: OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES.....	72
Tabla 2: VARIABLES NO IMPLICADAS.....	74
Tabla 3: Formulación del tinte shampoo.....	81
Tabla 4: Determinación del porcentaje de extracción.....	89
Tabla 5: Resultados de la prueba de solubilidad.	90
Tabla 6: Resultados de la prueba piloto del extracto hidroalcohólico al 70% de Genipa americana L. “Huito”.	92
Tabla 7: Prueba estadística T de Student de la actividad antimicótica de los extractos hidroalcohólicos de Genipa americana L. “Huito”.....	94
Tabla 8: Prueba estadística T de Student de la actividad antimicótica del tinte shampoo elaborado a partir del extracto hidroalcohólico al 70% de Genipa americana L. “Huito”.....	96
Tabla 9: Resultados de pruebas fisicoquímicas a la formulación de tinte shampo a tres diferentes concentraciones de extracto.	97
Tabla 10: Resultados de los diámetros de inhibición de la actividad antimicótica del tinte shampoo elaborado con el extracto hidroalcohólico al 70% de Genipa americana L. “Huito”.	98
Tabla 11: Resultados de control de estabilidad acelerada a corto plazo. .	99
Tabla 12: Resultados de control de calidad microbiológico según parámetros de la comunidad andina.	101
Tabla 13: Resultados de control de toxicidad ocular del tinte shampoo en conejos.....	102
Tabla 14: Resultados de la coloración en mechones de cabello decolorados sometidos al tinte shampoo elaborado a partir del extracto hidroalcohólico del fruto de Genipa americana L. “Huito”.....	104

INDICE DE CUADROS

Cuadro 1: Análisis fitoquímico cualitativo de los extractos.....	24
Cuadro 2: Flora residente en el cuero cabelludo.	30
Cuadro 3: Parámetros de control microbiológico para cosméticos.	46
Cuadro 4: Condiciones y límites microbiológicos para productos cosméticos.....	47
Cuadro 5: Contenido de la eumelanina en cabello humano.....	53
Cuadro 6: Agentes químicos contenidos en tintes.	55
Cuadro 7: Diseño con posprueba únicamente y grupos intactos.	65
Cuadro 8: Diseño con postprueba únicamente y grupos intactos.	66

Cuadro 9: Diseño con postprueba de la capacidad de la coloración capilar.	67
Cuadro 10: Análisis Fitoquímico Cualitativo.	80
Cuadro 11: Determinación de porcentaje de Humedad.	88
Cuadro 12: Análisis Fitoquímico Cualitativo del extracto al 70% de Genipa americana L. “Huito”.	91
Cuadro 13: Prueba estadística ANOVA de la actividad antimicótica de los del tinte-shampoo elaborado a partir del extracto hidroalcohólico al 70% de Genipa americana L. “Huito”.	96

INDICE DE FIGURAS

Figura 1: Uso de tinte en Egipto.	12
Figura 2: Preparación de tintes.	13
Figura 3: Evolución histórica del shampoo.	13
Figura 4: Estructura química de los iridoides presentes en Genipa americana L. “Huito”, genipósido y genipina.	24
Figura 5: Fases de desarrollo de un microorganismo.	35
Figura 6: Estructura del ketoconazol	41
Figura 7: Sección transversal del cabello	50
Figura 8: Estructura química de la Eumelanina.	52
Figura 9: Estructura química de la Feomelanina.	52
Figura 10: El Espacio de Color CIE L*A*B*.	57
Figura 11: Coordenadas de la Escala CIELAB.	58

INDICE DE GRAFICOS

Gráfico 1: Resultados de los diámetros de inhibición de la actividad antimicótica de los extractos hidroalcohólico de Genipa americana L. “Huito”.	94
Gráfico 2: Resultados de los diámetros de inhibición de la actividad antimicótica del tinte-shampoo elaborado a partir del extracto hidroalcohólico al 70% de Genipa americana L. “Huito”.	95

INDICE DE FLUJOGRAMAS

Flujograma 1: Procedimiento general.	76
Flujograma 2: Evaluación de la actividad antimicótica in vitro del tinte Shampoo elaborado con extracto hidroalcohólico.	77
Flujograma 3: Evaluación de la capacidad de coloración capilar.	78
Flujograma 4: Control de calidad microbiológico.	84

RESUMEN

El trabajo de investigación tiene como objetivo principal evaluar la actividad antimicótica in vitro frente a *Malassezia furfur* ATCC 14521 del extracto hidroalcohólico y del tinte shampoo elaborado a partir del fruto de *Genipa americana* L. "Huito" y determinar la capacidad de coloración capilar del tinte shampoo. Se recolectaron los frutos verdes de *Genipa americana* "Huito" en el sector Sicllabamba, distrito de Echarati, provincia de La Convención, departamento de Cusco a 1200m.s.n.m.

Se realizaron pruebas preliminares para determinar la concentración adecuada de alcohol (40°, 70° y 90°) para su extracción.

Para el ensayo de concentración inhibitoria mínima se realizó, en el piloto, mediante la prueba de sensibilidad en disco al medir los halos generados obteniendo valores promedios de 7.60 al 40%; 20.71mm a una concentración al 70% y 7.31mm a una concentración de extracto al 90%.

Para elegir la formulación del tinte shampoo se realizaron las pruebas de sensibilidad en disco generando halos de inhibición de 13.43mm al 7.5%; 17.84mm al 10% y 18.43 mm al 12.5%.

La capacidad de coloración capilar en cabellos decolorados se realizó mediante el método de medición CIELab a diferentes tiempos por un periodo de un mes, utilizando tres diferentes concentraciones de extracto en la formulación (7.5%, 10% y 12.5%) dando como resultado el valor de luminosidad de 46.93; el valor de la escala a* de 7.35 y el valor de la escala b* de 16.83 en el tinte shampoo al 10% con el mechón de aplicación diaria de 30 minutos.

Se realizó el control de calidad del producto, obteniendo ausencia total de microorganismos en el control microbiológico realizada según la Comunidad Andina, en el estudio de estabilidad durante 15 días (estabilidad acelerada) se colocó el tinte shampoo temperaturas de 4°C, 20-25°C y 40°C, obteniendo como resultado que a 4°C hubo variación en el pH, color, apariencia, olor y se solidificó, a temperaturas de 20-25°C no se presentó ninguna variación en la estabilidad, a la temperatura de 40°C no se presentó variación en color, olor, pH y la viscosidad

dio un valor de 4849 mPa a 12rpm siendo más fluido el producto; en cuanto al control de calidad toxicológico, se realizó mediante el método de irritación ocular en conejos durante 3 días, observándose a los dos primeros días irritación ocular moderada la cual desapareció al tercer día.

Concluimos que presentan actividad antimicótica el extracto hidroalcohólico a 70° extraído del fruto inmaduro de *Genipa americana* L. "Huito" y la formulación del Tinte Shampoo elaborado a partir del extracto hidroalcohólico a 70° extraído del fruto inmaduro de *Genipa americana* L. (Huito) y este último también presenta la capacidad de coloración capilar; eligiendo como optimo la formulación al 10% porque presentó mayor efecto antimicótico con menor cantidad de extracto usado y la variación de color fue muy parecido al de 12.5%.

PALABRAS CLAVE: *Genipa americana* L. (Huito), *Malassezia furfur*, ATCC, extracto hidroalcohólico, antimicótico, capacidad de coloración capilar.

ABSTRACT

The main objective of the research work is to evaluate the in vitro antifungal activity against *Malassezia furfur* ATCC 14521 of the hydroalcoholic extract and the shampoo dye made from the fruit of *Genipa americana* L. "Huito" and to determine the hair coloring capacity of the shampoo dye. The green fruits of *Genipa americana* "Huito" were collected in the Sicllabamba sector, Echarati district, La Convencion province, Cusco department at 1200m.s.n.m.

Preliminary tests were carried out to determine the adequate concentration of alcohol (40 °, 70 ° and 90 °) for its extraction.

For the minimum inhibitory concentration test, it was performed, in the pilot, by means of the disk sensitivity test when measuring the halos generated, obtaining average values from 7.60mm to 40%; 20.71mm at 70% concentration and 7.31mm at 90% extract concentration.

To choose the formulation of the shampoo dye, sensitivity tests were carried out on a disk, generating inhibition halos of 13.43mm at 7.5%; 17.84mm at 10% and 18.43mm at 12.5%.

The capacity of capillary coloring in bleached hair was carried out using the CIELab measurement method at different times for a period of one month, using three different concentrations of extract in the formulation (7.5%, 10% and 12.5%), resulting in the value of luminosity of 46.93; the a * value of 7.35 and the b * value of 16.83 in the 10% shampoo dye with the 30-minute daily application lock.

The quality control of the product was carried out, obtaining total absence of microorganisms in the microbiological control carried out according to the Andean Community, in the stability study for 15 days (accelerated stability) the shampoo dye was placed at temperatures of 4 ° C, 20-25 ° C and 40 ° C, obtaining as a result that at 4 ° C there was variation in pH, color, appearance, odor and it solidified, at temperatures of 20-25 ° C there was no variation in stability, at temperature At 40 ° C there was no variation in color, odor, pH and the viscosity gave a value of 4849 mPa at 12rpm, the product being more fluid; Regarding the toxicological quality control, it was carried out using the eye irritation method in rabbits for 3 days, observing moderate eye irritation in the first two days, which disappeared on the third day.

We conclude that the hydroalcoholic extract at 70 ° extracted from the immature fruit of *Genipa americana* L. "Huito" and the formulation of the Shampoo Tint made from the hydroalcoholic extract at 70 ° extracted from the immature fruit of *Genipa americana* L. "Huito" have antifungal activity. and the latter also has the ability to color hair; choosing the 10% formulation as optimal because it presented a greater antifungal effect with a smaller amount of extract used and the color variation was very similar to that of 12.5%.

KEY WORDS: American *Genipa* L. "Huito", *Malassezia furfur*, ATCC, hydroalcoholic extract, antifungal, capillary coloring capacity.

INTRODUCCIÓN

La importancia de utilizar cosméticos que contengan principios activos que produzcan efectos específicos, como el shampoo anticaspa, es cada vez mayor, lo que indica una mayor tendencia hacia los productos de origen vegetal en los últimos años. Esto ha llevado a la investigación de nuevas opciones que brindan mayores beneficios en el cuidado y manejo del cabello. (1)

En el Callao se observa que la mayoría de los habitantes emplean el uso tintes para el cabello en forma habitual y se ha observado presentación de daños a la salud sensibilidad del cuero cabelludo desde enrojecimiento de este, formación de pequeñas ampollas, hinchazón, escozor, caída de cabello, irritación de garganta y nariz, como también lesiones en el cuello etc.

Los daños no solo son para las personas que se tiñen el cabello con estas sustancias que se exponen directamente sino también con las personas que tiñen el cabello y para el medio ambiente que se comentara posteriormente. (2)

Actualmente, con fines terapéuticos y cosméticos, los productos naturales se han vuelto muy importantes porque por su naturaleza brindan a los usuarios beneficios para su salud y bienestar. (3)

La caspa (pitiriasis capitis, dermatitis seborreica limitada al cuero cabelludo) es una enfermedad consecuente de la alteración del funcionamiento del cuero cabelludo, que existe desde hace siglos a pesar de varias opciones de tratamiento. Lo que representa una preocupación estética para el profesional de la salud que trata de mejorar el bienestar del individuo mediante el desarrollo de nuevas tendencias de tratamiento capilar. (1)

La diversidad de plantas medicinales en nuestro país es muy variada, lo cual es muy conocido gracias a nuestros ancestros que transmiten estos conocimientos de generación en generación, desde tiempos inmemoriales hasta la actualidad. Siendo estas utilizadas en forma empírica por sus beneficios terapéuticos en el cuidado y preservación de la salud.

Por lo tanto, el extracto hidroalcohólico del fruto de *Genipa americana* L. "Huito" se utilizó en la formulación y elaboración de un tinte shampoo, con el propósito

de evaluar su actividad antimicótica *In vitro* y su capacidad de coloración capilar, para evitar así el uso de tintes con componentes agresivos para nuestra salud a través del desarrollo y validación de un producto cosmético de origen natural.

Esta investigación se llevó a cabo mediante la prueba de sensibilidad en disco para determinar el efecto antimicótico y la escala CIELAB para la determinación de la coloración capilar en los mechones decolorados.

CAPITULO I

GENERALIDADES

1.1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA:

Durante los últimos años el uso de los tintes permanentes ha aumentado en mujeres a partir de los 18 años, y en una considerable cantidad en hombres. La exposición a los químicos que contienen los tintes para el cabello es muy elevada, y al no haber un adecuado control, el riesgo de presencia de daño genético aumenta. (4)

Los efectos de los componentes químicos conducen a un deterioro de proteínas y aminoácidos, en particular a la destrucción del triptófano y una reducción de la resistencia a la tracción, puntas abiertas, pérdida de color, flexibilidad y brillo. La presencia de estas sustancias desestabiliza los enlaces de azufre, provocando que las fibras se expandan en forma de escamas. Luego se facilita la entrada de productos químicos, por lo que se cambia la estructura del cabello. (5)

La tendencia por la imagen personal cada vez tiene mayor valor y se encuentra en alza, por lo que, presentar problemas de caspa ocasiona momentos vergonzosos que pueden causar inseguridad, estas personas se encuentran constantemente obsesionadas con la apariencia de su cabello, estando condicionadas en su modo de vestir. (1)

“El incremento de la formación de la caspa se da por el cambio de temperatura en cada estación, también, existen otros factores son: usar champús con pH no adecuado, los tintes duraderos y sintéticos para el cabello, el estrés, los cambios hormonales, la predisposición genética y otros factores del estilo de vida, como consumo excesivo de alcohol o una dieta inadecuada”, afirmó la especialista capilar Ana Menéndez del Instituto Médico Dermatológico de Madrid- España (IMD). (6)

La caspa considerada como una forma de dermatitis seborreica afecta a casi 50% de la población adulta a nivel mundial, en cuanto, que la dermatitis seborreica afecta al 1- 5% de la población; siendo la prevalencia en individuos inmunocomprometidos de 30-33%, afecta a individuos de ambos sexos y de diferentes edades, la prevalencia de dermatitis seborreica es mayor en hombres y ocurre principalmente en la fase etaria de 30 a 50 años, también se da en

pacientes con desórdenes neurológicos o psiquiátricos, como depresión y enfermedad de Parkinson y en pacientes con Síndrome de Down. (1)

Malassezia furfur, un hongo saprófito que pertenece al microbiota de la piel y se encarga de aumentar la descamación celular de la piel en el cuero cabelludo.

El incremento de descamación producida por el hongo *Malassezia furfur* permite la aparición de escamas amarillentas que no se desprende del cuero cabelludo con un lavado normal ya que hay un exagerado aumento de descamación, para lo cual se requiere un especial tratamiento, a estas escamas se les denomina caspa. (7)

El árbol silvestre de *Genipa americana* L. “Huito”, se llega a expandir probablemente desde las cuencas amazónicas, su distribución se realizó mediante los trópicos americanos por las comunidades indígenas en tiempos prehistóricos, crece a nivel del mar hasta los 1200 m.s.n.m, y una temperatura media anual de 18 a 30°C. (8)

Es una planta natural que crece en el distrito de Echarati, provincia de la Convención del departamento del Cusco. El uso tradicional de esta planta se basa en las propiedades del fruto como diuréticas, para problemas estomacales (enteritis crónica), problemas respiratorios (especialmente la bronquitis y asma). El fruto verde se usa como astringente, antiinflamatorio, cicatrizante, antihemorrágico y como repelente. (9)

Así como también, se usa el extracto de sus frutos rayados como tinte para la piel y el cabello, para evitar infecciones en la piel, además se menciona que el lavado con este extracto evita la aparición de caspa y otras enfermedades de la piel y del cuero cabelludo. (8)

En la región del Cusco la demanda de productos cosméticos es alta, especialmente los tintes (16.7% de frecuencia de servicio de teñido de cabello en el Cusco- 2018), siendo el segundo de mayor demanda en centros estéticos después de los cortes de cabello (42.8% de demanda). (10)

En la actualidad la cantidad de químicos causantes de daño ha disminuido, sin embargo, aún existen algunos ingredientes que son conocidos por causar cáncer en animales, como son: benceno, amoniaco de plomo, acetato de plomo, hidroquinonas, alcohol tetrahidrofurfurílico, resorcinol, p-fenilendiamina, p-

toluendiamina, 4-amoníaco, persulfato de amonio, persulfato potásico (4), y la tendencia mundial es evitar este tipo de químicos y explorar nuevas fuentes naturales.

Por ello se plantea dar una posible solución a este problema, mediante el uso de productos naturales, atacando uno de los principales agentes etiológicos de problema de salud capilar como es la *Malassezia furfur*, con la formulación y elaboración de un tinte shampoo, con recursos propios de la región, contribuyendo a disminuir la contaminación de nuestro ambiente utilizando el fruto de *Genipa americana* L. “Huito”.

1.2. FORMULACION DEL PROBLEMA

¿Presentarán actividad antimicótica in vitro frente a *Malassezia furfur* ATCC 14521 el extracto hidroalcohólico y el tinte shampoo elaborados a partir del fruto de *Genipa americana* L. “Huito”?

¿Presentará capacidad de coloración capilar el tinte shampoo elaborado a partir del fruto de *Genipa americana* L. “Huito”?

1.3. OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN

1.3.a. OBJETIVO GENERAL:

Evaluar la actividad antimicótica in vitro frente a *Malassezia furfur* ATCC 14521 del extracto hidroalcohólico y del tinte shampoo elaborado a partir del fruto de *Genipa americana* L. “Huito”.

Determinar la capacidad de coloración capilar del tinte shampoo elaborado a partir del extracto del fruto de *Genipa americana* L. “Huito”.

1.3.b. OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

1. Obtener el extracto hidroalcohólico del fruto de *Genipa americana* L. “Huito” y determinar sus propiedades fisicoquímicas y fitoquímicas.
2. Determinar la actividad antimicótica in vitro del extracto hidroalcohólico del fruto de *Genipa americana* L. “Huito” frente a la cepa de *Malassezia furfur* ATCC 14521.
3. Realizar los estudios de pre-formulación y determinar la formulación del tinte shampoo a partir del extracto hidroalcohólico del fruto de *Genipa americana* L. “Huito”.

4. Determinar la actividad antimicótica del tinte shampoo elaborado a partir del extracto hidroalcohólico del fruto de *Genipa americana* L. “Huito” frente a la cepa de *Malassezia furfur* ATCC 14521.
5. Realizar el control de calidad fisicoquímico, microbiológico y toxicológico del tinte shampoo elaborado a partir del extracto hidroalcohólico del fruto de *Genipa americana* L. “Huito”.
6. Determinar el comportamiento de la variación de color en los mechones de los cabellos decolorados sometidos al tinte shampoo elaborado a partir del extracto hidroalcohólico del fruto de *Genipa americana* L. “Huito”.

1.4. JUSTIFICACIÓN E IMPORTANCIA:

SOCIAL:

Genipa americana L. “Huito” es usado por los pobladores nativos como protector de malos espíritus en los niños (pintándolos completamente en una ceremonia), los adultos decoran sus rostros, cuerpos, vestimentas, y también es usado por sus propiedades medicinales; por ello la presente investigación pretende utilizar este recurso natural aportando una base científica para promover su uso en la población con problemas de caspa, evitando así el uso de productos más agresivos para el cuero cabelludo. Además, la formulación de nuevas alternativas naturales en uso de productos de limpieza y cosmética con menor impacto ambiental contribuye al fortalecimiento de una conciencia ambiental en la población, buscando una menor contaminación con este producto.

ECONOMICA:

En Yarinacocha- Ucayali, desde el 2018 se realiza una intervención efectiva de manejo forestal comunitario de forma autogestionaria por los pueblos indígenas, para la reforestación y organización de la cadena de valor del huito que asegure la oferta, fomente la transformación y comercialización del producto con valor agregado, beneficiando a 150 familias Shipibo–Konibo (11), también desde el año 2012 se realiza una tinta para impresora a base de *Genipa americana* L. “Huito” en Contamana-Loreto (12). En el Cusco no se registra proyecto alguno para poder obtener beneficios de este recurso natural de gran importancia, promoviendo con nuestra investigación una alternativa de uso que propiciaría una mejora económica para los pobladores

productores de esta planta, incidiendo además en el mejor manejo forestal de esta especie por parte de los pobladores indígenas de la provincia de la Convención- Cusco.

TEORICA:

Es de gran importancia valorar y analizar las tradiciones y costumbres de nuestra cultura que nos brindan un punto de partida para ponerlas en práctica y efectuar investigaciones científicas para dar un buen uso y explotación a nuestros recursos naturales y así poder realizar formulaciones en el campo farmacéutico. Esta investigación pretende contribuir al conocimiento sobre la actividad antimicótica y propiedad de coloración de un tinte-shampoo elaborado a partir del extracto hidroalcohólico del fruto de *Genipa americana* L. "Huito". Además, podrían realizarse investigaciones para verificar los diferentes usos tradicionales empleados por los pobladores de algunas zonas de la Amazonia.

PRÁCTICA:

El extracto de huito podrá ser aplicada en el campo farmacéutico y cosmético en una formulación de tinte shampoo, para el alivio y prevención de la caspa, siendo biodegradable y amigable con el medio ambiente. También aportará mayor beneficio en el cuidado y manejo capilar, siendo así, que tendrá ventajas adicionales como que podrá cubrir las canas, evitando el uso de tintes sintéticos lo que podría prevenir enfermedades cancerígenas y la presencia de la caspa.

1.5. HIPÓTESIS:

El extracto hidroalcohólico del fruto de *Genipa americana* L. "Huito" y el tinte shampoo elaborado presentan actividad antimicótica in vitro frente a *Malassezia furfur* ATCC 14521.

El tinte shampoo elaborado a partir del extracto hidroalcohólico del fruto de *Genipa americana* L. "Huito" presenta capacidad de coloración capilar.

CAPITULO II MARCO TEÓRICO

2.1. VISIÓN HISTÓRICA:

Desde la antigüedad existió la moda de cambiar el color del cabello, pero, al estudiarlos a través del tiempo surgieron algunas limitaciones de su uso, porque algunos presentaban toxicidad, actualmente se rige en la legislación cosmética vigente. Los arqueólogos encontraron pruebas que demuestran, desde los tiempos del hombre de Neanderthal, que el ser humano utilizaba diferentes productos para modificar el color del cabello y de la piel. (13)

Figura 1: Uso de tinte en Egipto.



En Egipto, las personas para cambiar el color del cabello utilizaban el kohl y la henna, de origen mineral y vegetal respectivamente, aunque no era una práctica tan frecuente como en otras civilizaciones. (14)

Fuente: Fitness Lady. Tendencias y belleza (2017).

Durante la antigua Roma, las mujeres introdujeron el proceso de decoloración del cabello en el cuidado capilar, practicado por las esclavas galas. Este procedimiento consistía en colocar una mezcla elaborada con cenizas de madera de haya y sebo de cabra para su decoloración. En Venecia, durante la época renacentista, se practicaba la decoloración del cabello (inicio de este método) con sosa natural o nature, y dejándolo durante horas al sol. Siendo transferido a toda de Europa y aceptado de mejor manera en Francia. También se crearon formulaciones para teñir el cabello con macerados de plantas, raíces y cortezas de árboles. (15)

Otra técnica consistía en secar las plantas, trozarlas y mezclarlas, con ceniza de árbol; El polvo homogéneo obtenido se mezclaba con agua caliente, luego se hacía una cataplasma que se depositaba durante horas en el pelo.

Figura 2: Preparación de tintes.

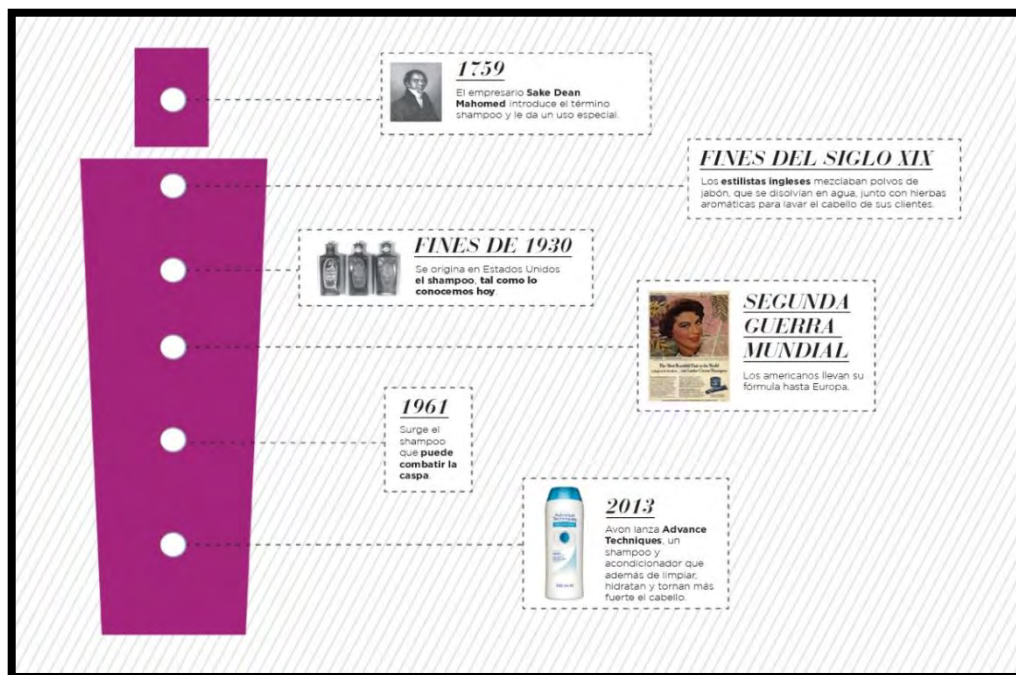


El alumbre de potasio se utilizaba para potenciar los tintes, usados en el teñido de la lana. (16)

Fuente: Braman, Noreen. Historia de los colores de tinte para el cabello (2017).

En 1759 apareció un producto para el cuidado e higiene del cabello “Shampoo”, proviniendo su nombre del hindi Chāmpo que significa “masajear”. Sake Dean Mahomed un hombre de negocios, creador de los primeros “baños de shampoo”, se basó en el estilo de los baños turcos en Gran Bretaña, los reyes Jorge IV y Guillermo IV lo nombraron como el “Cirujano del shampoo” debido a su exitosa propuesta que consistía en realizar masajes terapéuticos. (17)

Figura 3: Evolución histórica del shampoo.



Fuente: AVON. Belleza por un propósito – México (2016).

En 1860 se usaba el agua oxigenada para la decoloración, conocida como “el agua dorada de la fuente de la juventud” y seguían empleando los extractos vegetales para la coloración capilar. (16)

Durante el siglo XIX, Eugene Schueller inició diferentes estudios de productos químicos que sean inofensivos, basando su formulación en un nuevo componente llamado parafenilendiamina; Creando una base para las coloraciones que actualmente se conoce. Además, pionero en realizar la técnica de mecha como un paso fundamental en el proceso de coloración y como químico en L'Oréal colaboró en la creación de nuevos productos que cambiaron los rumbos capilares femeninos. (18)

El próximo en aparecer, fue el proceso doble para teñir el cabello de rubio, en 1932 Lawrence Gelb (dueño de la compañía "Clairol") refinó los tintes, creando un tinte que penetraba el pelo, en 1950, introdujo el primer tinte de un solo paso que consistía en iluminar el cabello sin llegar a decolorarlo. Esto posibilitaba hacer el teñido del cabello en el hogar, marcando el inicio de la era moderna en esta área. Actualmente se cuenta con una infinita variedad de colores disponibles, como tonos naturales y otros. Aún existen colorantes que dañan y maltratan el cabello, pero se pueden disminuir este daño con el uso de acondicionadores. (16)

Como una alternativa natural a los tintes químicos, se presenta el tinte de Huito, debido a que en estudios realizados en Francia (París) el 2004, donde se concluyó que los tintes químicos contienen sustancias cancerígenas, causando daño folicular, alergias, daño hepático y renal, estas sustancias son: Aminas Aromáticas como la Anilina (fenilamina), Amoniaco y para-fenilamina, siendo sustancias nocivas para la salud y para el bienestar humano. (19)

2.2. ANTECEDENTES:

2.2.a. ANTECEDENTES INTERNACIONALES:

- ✓ **Tenesaca, S. (2012) Elaboración de cosméticos decorativos a partir de frutos verdes de *Genipa americana* L. (Tesis de pre- grado) Escuela Superior Politécnica de Chimborazo- Ecuador.**

Esta investigación tenía como objetivo principal de realizar productos cosméticos naturales a partir del fruto de *Genipa americana* L. Se recolectaron el fruto en las provincias de Pastaza y Morona Santiago, para realizar diferentes pruebas y determinar el mejor porcentaje de extracción, “analizando la estabilidad forzada y acondicionándolo a una formulación por medio de diseños experimentales fundamentado en los métodos dados por Endo y Taguchi, Barbosa, Rodrigues y en ICH 2000”. Los resultados obtenidos demostraron que la extracción con etanol al 50% a 20°C, se llegó a aislar 3.5mg de Genipósido que es el encargado del color en este fruto. También se logró producir el delineador semipermanente tipo emulsión O/W llegando a tener un pH y características físicas dentro de los valores de referencia. Concluyendo que el delineador semipermanente tuvo optimas características como aplicación fácil, inocuidad, extensibilidad sin grumos, trazo conciso, fijación por 5 días y cumpliendo con los requisitos de referencia”. (20)

- ✓ **Sarayva de Assis, C. (2015) Evaluación de los efectos tóxicos in vitro e in vivo del extracto hidroalcohólico de los frutos de *Genipa americana* L. (Rubiaceae) en ratones suizos. (Tesis de maestría) Universidade Federal do Rio Grande do Norte- Brasil.**

Esta investigación tenía como objetivo principal evaluar la toxicidad in vivo (toxicidad aguda y subcrónica) e in vitro (citotoxicidad) del extracto de los frutos de *Genipa americana* L. En el método, se realizó el extracto hidroalcohólico por maceración, un análisis fitoquímico preliminar para evaluar la presencia de metabolitos secundarios en el extracto, en el estudio de citotoxicidad del extracto fueron utilizados células de fibroblasto de ratón, adenocarcinoma renal de humano, para la evaluación de toxicidad aguda (dosis única de 2000mg/Kg) y subcrónica (100, 500 y 1000 mg/Kg por 30 días) fueron utilizados ratones suizos

de ambos sexos. En los resultados de la prueba fitoquímica demostró la presencia principalmente de iridoides, en los ensayos de citotoxicidad la de inhibición de la proliferación celular es de 59% frente a células de B16, en la dosis de 100ug/100uL, es hasta 29% frente las células 786- 0, en la dosis de 1000 ug/100uL, durante las evaluaciones in vivo no se presentó muerte de los animales. Llegando a la conclusión de que el extracto no promueve la muerte celular, se sugiere que el extracto hidroalcohólico tiene una toxicidad baja y un posible potencial citotóxico contra las células de melanoma (B16). (21)

- ✓ **Martínez, A. (2016) “Elaboración de un producto cosmético para tinción del cabello a partir del extracto de los frutos del huito, planta nativa del Centro Cultural Uni-Shu de la comuna Chiguilpe de Santo Domingo de los Tsáchilas” (Trabajo de investigación) Universidad Regional Autónoma de los Andes – Ecuador**

Esta investigación tenía como objetivo principal el realizar la identificación taxonómica, análisis físico-químicos y el tamizaje fitoquímico; utilizando ensayos cualitativos, físico-químicos y microbiológicos para identificar los principios activos presentes en el fruto de Genipa americana, elaborar el tinte natural y realizar su control de calidad. Se obtuvo en el extracto alcohólico al 70%, la presencia de la genipina el responsable de la acción de tinte, la presencia de azúcares reductores, la presencia de flavonoides y taninos y También existió la presencia de quinonas (acción antifúngica y antibacteriana) y así como en mínima cantidad los triterpenos y alcaloides. Concluyendo que el extracto de huito presenta una gran actividad de tinción del cabello de color negro-azulado con ausencia de microorganismos con el cumplimiento de las especificaciones de calidad de la Norma INEN. (22)

- ✓ **Arroyo Figueroa G; Medina Saavedra T. (2019) “Calidad y solidez de un producto cosmético elaborado con el extracto del insecto grana cochinilla” (trabajo de investigación) Universidad de Guanajuato- México.**

El objetivo principal de la investigación fue determinar la calidad y solidez del producto cosmético champú tinte elaborado con extracto del insecto grana cochinilla, como colorante natural. En la metodología se tuvo que obtener el

extracto hidrosoluble del insecto seco, determinar el porcentaje de ácido carmínico, elaborar el champú tinte realizando luego pruebas fisicoquímicas como: densidad relativa, solubilidad, pH, humedad, cenizas, espuma y viscosidad, también fueron aplicadas a un champú control comercial. Se midió el color de las extensiones antes y después de ser teñidas con el champú tinte y el control, posteriormente se realizó la prueba de solidez en seco del color a las extensiones teñidas, con ambos champús. Como resultados, se observó una similitud entre el champú tinte y el control en las pruebas fisicoquímicas. Para la prueba de solidez al frote en seco las extensiones de cabello natural teñidas con el champú tinte, tuvieron una mejor solidez de color del frote en seco al obtener un valor menor en cuanto al error en las coordenadas CIELab* ($\Delta E=1,11\pm 0,32$), comparado con el champú control ($\Delta E=6,99\pm 2,06$). Se concluyó que el champú tinte elaborado con el colorante natural presenta buena calidad, y una buena solidez del color al frote en seco en las extensiones naturales. (23)

2.2.b. ANTECEDENTES NACIONALES:

- ✓ **Miranda- Perlacio, C. Cárdenas- Enriquez, G. (2015) “Evaluación de la potencialidad del fruto de huito (*Genipa Americana*) como fuente de colorante natural”. (tesis de pre- grado) Universidad Nacional Amazónica de Madre de Dios.**

En esta investigación tenía como objetivo principal evaluar la capacidad de coloración del fruto de Huito (*Genipa americana*). En el método, se realizó un medio de contraste realizado por tres niveles de disolvente (agua, etanol 50% y etanol 95%), también realizaron variaciones de pH (desde pH 4 a pH 9) y variaciones de temperatura (desde 35° a 75°), los tintes fueron determinados por colorimetría como la desviación de la norma índigo sintético azul, considerándolos como los que demostraron menor desviación. En los resultados se vió un color que varía de azul oscuro a un color negro a menudo que se incrementa la temperatura, pero sin haber un cambio total del color. Se concluyó que la mejor coloración se obtuvo a pH 4 a 75° y que esta planta es una gran fuente de coloración del azul hasta diferentes tonalidades en condiciones adecuadas y una preparación optima. (8)

- ✓ **Ayala, C. y colaboradores. (2018) Desarrollo de un tinte cosmético a base de semilla de *Bixa orellana* L. (Bixaceae) y evaluación de su efecto in vitro. (Trabajo de investigación) Universidad Nacional de Trujillo.**

En esta investigación tenía como objetivo principal elaborar un tinte cosmético a partir de la semilla de *Bixa orellana* L. El método utilizado fue el del álcali acuoso, considerando las concentraciones del colorante obtenido al 5% y al 10%, después se realizó estudios de compatibilidad de las materias primas con el colorante en estudiado, se realizaron pruebas de estabilidad acelerada y de largo plazo durante un tiempo de 18 meses llegando a cumplir con todos los parámetros de control de calidad y finalmente se determinó su coloración in vitro en mechones de cabello virgen. En los resultados se observó que la coloración presenta mayor brillo y se mantiene el color durante varios lavados de los mechones. Concluyendo que presenta un gran poder de teñido esta planta. (24)

- ✓ **Sánchez, J. (2018) Actividad antibacteriana de extractos etanólicos de plantas frente a cepas multiresistentes. (Tesis de pre- grado) Universidad Nacional de la Amazonia Peruana- Iquitos.**

Esta investigación tenía como objetivo principal determinar la actividad antibacteriana de tres plantas “Huito”, *Genipa americana*, “Toronja”, *Citrus Jambhiri* y el “Jengibre”, *Zingiber officinale*, frente a bacterias resistentes más comunes.” Las cepas evaluadas fueron: *Salmonella entérica*, *Staphylococcus saprophyticus*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Escherichia coli* (aisladas y caracterizadas de casos clínicos del Laboratorio Bioservice S.R.L.)”. El método fue mediante antibiogramas (método de disco difusión de Kirby & Bauer) que se realizaron utilizando más de dieciocho tipos de antibióticos de los cuales se obtuvieron al menos 10 antibióticos resistentes a estas cepas bacterianas. En los resultados se observó que solo el extracto etanólico de *Genipa americana* “Huito” presenta la actividad antimicrobiana frente a todas las bacterias del estudio, por otro lado, las dos especies de plantas (Jengibre y Toronja) no presentaron ninguna actividad antimicrobiana. Se concluye que el Huito es un potencial para la industria farmacéutica y se debería continuar con los estudios que amplíen la producción de nuevos antibióticos que colaboren en contra la resistencia antibacteriana. (25)

2.2.c. ANTECEDENTES LOCALES

- ✓ **Quispe, R. Paredes, Y. Solis, L. (2014) “EXTRACCIÓN Y CARACTERIZACIÓN FÍSICOQUÍMICA DEL COLORANTE DEL HUITO (*Genipa americana*) EN EL DISTRITO DE TAMBOPATA” Universidad Nacional Amazónica de Madre de Dios, Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco.**

Esta investigación tenía como objetivo principal realizar la extracción y caracterización del fruto de Huito (*Genipa americana*). El método utilizado fue de extracción por percolación con etanol al 90%, 70% y finalmente con agua caliente hasta agotamiento, se realizó el análisis fitoquímico (solo al extracto acuoso). En los resultados se observó una alta cantidad de glucosidos, moderada cantidad de flavonoides y baja proporción de alcaloides, fenoles y taninos. En cuanto al porcentaje de extracción el extracto hidroalcohólico del 90% tuvo mayor rendimiento con un 33.26% seguida del extracto acuoso que tuvo un 16% y presentando un bajo rendimiento de 0.76% el extracto hidroalcohólico al 70%, en las pruebas de estabilidad de la coloración haciendo variaciones en la temperatura y el pH se observó que la coloración se mantiene constante. Concluyó que en el extracto acuoso se obtuvo un tinte de buena calidad. (26)

- ✓ **Jauregui, S. Cardona, A. Frisancho, Z. De Oliveira, P. (2018) “EVALUACION DE LA ACTIVIDAD ANTIMICOTICA DEL EXTRACTO HIROALCOHOLICO IN VITRO DE LA RAIZ TUBEROSA DE SACHA PARACCAY (*Colignonia parvifloravar. biumbellata* Rafinesque) FRENTE A *Malassezia furfur* CEPA S 14521 Y FORMULACION DE SHAMPOO ANTICASPA”.(tesis de pregrado) Universidad Nacional Amazónica de Madre de Dios, Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco.**

Esta investigación tenía como objetivo principal determinar la actividad antimicótica frente al hongo *Malassezia furfur* cepa 14521 y elaborar un shampoo a partir de las raíces tuberosas de Sacha paraccay. En el método se comparó con controles mediante difusión en agar, para la evaluación de la actividad antimicótica midiendo los halos de inhibición. En cuanto a los resultados, se observó que el extracto al 70% presentaba mayor porcentaje de rendimiento y

mejor solubilidad en agua. “La concentración de 80mg/UL presenta halos de inhibición máximos y fueron de 18mm y en la formulación de shampoo se halló un halo promedio de 36 mm”. Concluyendo que el extracto hidroalcohólico como el shampoo presentan la actividad antimicótica. (1)

2.3. ESTADO DEL ARTE

En un estudio de mercado, realizado por la empresa Euromonitor, indica que la venta de cosméticos en el mercado latinoamericano se aproximó a los US\$75,6 billones en el año 2012, en la cual el 14.5% fueron las ventas de productos cosméticos para los cuidados capilares, de los cuales los más vendidos fueron los acondicionadores y shampoos precedidos de los tintes. En la actualidad hay una mayor tendencia por elaborar productos de origen natural, sobre todo en cosméticos para el cabello que contengan un principio activo, la cual genere efectos importantes como el shampoo anticaspa. Esto conllevó a una mayor investigación en nuevas plantas y materia prima natural que den mejores beneficios para el cuidado capilar en la industria cosmética. (27)

Hoy en día las personas se preocupan por el uso de cosméticos capilares de origen natural elaborados a partir de extractos vegetales y minerales, lo cual ocasionó que la industria cosmética investigue y elabore productos cosméticos naturales, a pesar de que muchos de estos componentes no son nuevos se amplía más la investigación en el uso de nuevas especies. (28)

La elaboración del tinte- shampoo natural de *Genipa americana* L. “Huito” será un aprovechamiento importante en lugar de los tintes sintéticos que muchas veces ocasionan efectos tóxicos en el ser humano. Se realizó una investigación en el 2004 en Francia donde corroboró que los tintes sintéticos tenían en su composición aminas aromáticas como la Anilina (fenilamina), Amoniaco, para-fenilamina los cuales causarían problemas cancerígenos, alergias, daño al folículo piloso, daño a nivel hepático y renal. (19)

En nuestra región podemos aprovechar los recursos naturales (plantas) para generar en el país cambios y mayores ventas de productos capilares fabricados; Este producto podrá modificar el color del cabello, teñir las canas

reducir el riesgo de sufrir algún tipo de enfermedad cancerígena y evitar la presencia de la caspa.

2.4. BASES TEÓRICO CIENTÍFICAS

2.4.a. Aspectos botánicos de la especie vegetal

2.4.a.1. Clasificación taxonómica

- Según Mielke M. S. et al., (2003), la división taxonómica del Huito, es:

REINO: Plantae

SUBREINO: Tracheobionta

DIVISION: Magnoliophyta

CLASE: Magnoliopsida

SUBCLASE: Asteridae

ORDEN: Gentianales

FAMILIA: Rubiaceae

GENERO: *Genipa*

ESPECIES: *Genipa americana* L.

Nombres comunes: Huito, yaguayagua (Perú); jenipapo, jenipapeiro (Brasil); bigrande (Bolivia); jagua (Colombia y Ecuador); caruto; jagua (Venezuela), genipap (inglés). (8)

2.4.a.2. Características de la familia genipa

***Genipa americana* L. (Huito)**

La *Genipa americana* L. "Huito" es un arbusto perteneciente a la familia de las Rubiaceae, es nativa comúnmente en la Amazonía de Perú, Brasil, Venezuela y Colombia (Cuenca del Amazonas), florecen entre los meses de mayo a

septiembre y desde septiembre hasta abril dan sus frutos, estos frutos tardan alrededor de un año en madurar. (8)

Genipa americana L. "Huito", tiene un tamaño entre pequeño y mediano, que va desde los 8 hasta los 20 metros de altura, aunque podemos encontrar algunas especies que miden hasta 30 metros de altura. Su tronco tiene un diámetro entre 30 a 80 cm y su corteza es gruesa y también suave. Su copa es densa y las ramas más bajas crecen horizontalmente, con 10 a 35 hojas en los extremos. El fruto es una baya grande que cuenta con una alta tasa de germinación. En la Amazonía peruana, tiene el nombre de Huito, en Brasil de Jenipapo, en las Guayanas Francesas de Genipa, en Panamá de Guayatil y en Argentina se le conoce como Jagua. (20)

Este fruto cuando aún no es maduro tiene una propiedad astringente. Conteniendo alta cantidad de azúcar y acidez pronunciada, variando según al tipo y dependiendo del clima y suelo de donde crece. Tiene una corteza suave arrugada de color amarillo-marrón, a veces un poco oscuro y verdoso. Su pulpa tiene un olor vinoso aromático, es suave y contiene numerosas semillas duras y fibrosas. El colorante que se obtiene a partir de la *Genipa americana* L. "Huito" de los frutos verdes, siendo el producto un jugo verde color azulado; al madurar los frutos, pueden ser aprovechados como dulces. Además, al fermentar el jugo de Huito podemos obtener vino y licores. (20)

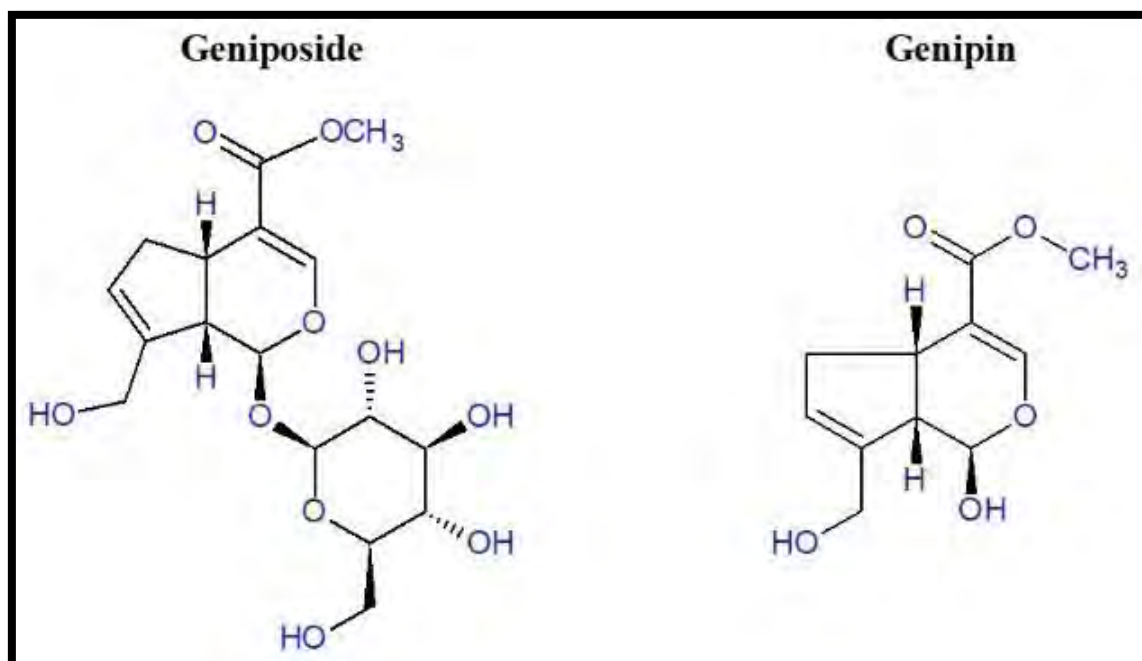
El fruto de *Genipa americana* L. "Huito" presenta un sabor ácido y aroma afrutado. En el año 2000 Borges y Rao encontraron que los ácidos, octanoico (34,1%) 2-metilbutírico (9, 1%), hexanoico (18,2%) y 2-metil-éster 2-(E)-butenoato de metilo (4,1%), octanoato (3,2%) y 2-propilfurano (2,5%) y ácido butírico, ácido 2-metilbutírico y hexanoico son los responsables del sabor amargo, y el aroma afrutado que lo caracteriza es porque presenta éster de 2- y 3-metilbutirato de etilo. (8)

La pulpa del fruto de *Genipa americana* L. "Huito" es muy abundante comparando con otros frutos similares, teniendo la relación corteza: fruto 12,05%, 47,81% y 40,61%. Esta pulpa presenta una acidez reducida, humedad elevada, porcentaje de proteínas y lípidos bajos, cantidad de carbohidratos es

alto, cantidad de hierro es regular, cantidad elevada de calcio y fósforo, cantidad de taninos alto, y pequeñas trazas de vitamina E y pectina. El fruto inmaduro de *Genipa americana* L. "Huito" presenta en su pulpa mayor cantidad de proteína que en la pulpa madura del fruto, esto se da por las variaciones en el nivel de reorganización en los sistemas celulares del período climatérico. Según va madurando el fruto la cantidad de almidón presente va disminuyendo, debido a que los carbohidratos solubles junto al almidón, se metabolizan en su totalidad durante la maduración. Las concentraciones de calcio y hierro son mayores en la pulpa del fruto inmaduro, pero en el fruto maduro las concentraciones de hierro son mayores. La pulpa del fruto de *Genipa americana* L. "Huito", indica que, en su composición química y su valor nutritivo, contiene: genipina, genipósido, manitol, taninos, metilésteres, hidantoina y ácidos tánicos. (8)

El fruto inmaduro de *Genipa americana* L. "Huito" es rico en iridoides, son metabolitos secundarios que normalmente se encuentran como glucósidos. Los iridoides son monoterpenos bicíclicos (C₁₀), su esqueleto básico es un anillo de ciclopentano- [C] -pirano fusionado típicamente con un heterociclo oxigenado de seis miembros. Entre los iridoides presentes en el fruto destacan la genipina y el genipósido como fuentes naturales para la obtención del color azul. La genipina es una sustancia incolora, presente en frutos verdes de *Genipa americana* L. "Huito", capaz de reaccionar espontáneamente en presencia de oxígeno, con grupos de amina primaria de aminoácidos, péptidos o proteínas y formar un color azul. La genipina está presente en *Genipa americana* L. "Huito" en la proporción de 1-3% de fruto y se puede obtener directamente de *Genipa americana* L. "Huito" mediante extracción con disolventes orgánicos o después de la hidrólisis enzimática de genipósido con β -glicosidasas. El genipósido representa alrededor del 4 al 6% de la fruta seca. (29)

Figura 4: Estructura química de los iridoides presentes en *Genipa americana* L. “Huito”, genipósido y genipina.



Fuente: Náthia, Grazielle; Nogueira, Gislaine. Identification and quantification of genipin and geniposide from *Genipa americana* L. by HPLC-DAD using a fused-core column (2018).

Cuadro 1: Análisis fitoquímico cualitativo de los extractos

Metabólico	Prueba	Extracto		Leyenda:
		Acuoso	Etanol 90%	
Azúcares reductores	Benedict	-	+++	Leyenda: -- Negativo ± Muy poca proporción + Baja proporción ++ Moderada proporción +++ Abundante proporción
Glucósidos	Hidrólisis + Benedict	+++	-	
flavonoides	Shinoda	-	±	
	UV	+	+	
	NH ₃ + UV	++	++	
Compuesto fenólicos	FeCl ₃	+	±	
Quinonas	Borntrager	-	+	
Alcaloides	Dragendorff	+	+	
	Mayer	+	+	
Lactonas	Bajlet	-	+++	
Triterpenos y esteroides	Liebermann-Burchard	-	-	
Taninos	FeCl ₃	+	±	

Fuente: Quispe-Herrera Rosel; Solis-Quispe Leoncio. Extracción y caracterización fisicoquímica del colorante de *genipa americana* L. (2014).

2.4.a.3. Usos tradicionales de la especie

En bibliografías etnobotánicas y etnofarmacológicas, indican que la *Genipa americana* L. “Huito” es usado de forma medicinal y como tintura en fibras textiles, también es considerado en algunos lugares como afrodisíaco. La pulpa es utilizada en personas con ictericia y en enfermedades del estómago, del bazo y del hígado. La goma extraída de *Genipa americana* L. “Huito” actúa contra la gonorrea. La raíz es utilizada hervido como purgante, como emético las semillas trituradas, las hojas en infusión son empleadas para tratar la diarrea, para problemas de asma el fruto rallado, y como tónico estomacal y diurético el zumo del fruto maduro. (30)

2.4.a.4. Vida Útil del Fruto de *G. americana*

El fruto de *Genipa americana* L. “Huito” es altamente perecible, como muchos frutos tropicales, el deterioro se produce en pocos días, esto complica seriamente su comercialización (incremento en las pérdidas). Planteando un proceso para su contribuir a la conservación del producto y preservación de las características sensoriales, siendo este un sistema de deshidratación osmótica.

La conservación de los frutos en refrigeración puede ser entre los 10 a 15°C, manteniéndose así hasta 15 días, siendo este el tiempo máximo para su procesamiento inmediato. A menores temperaturas de 10°C, se evidencia que el fruto se ennegrece, presentando quemaduras a nivel del epicarpio. (31)

2.4.b. Aspectos generales de la caspa

2.4.b.1. Cuero cabelludo.

Numerosos cabellos de diferentes longitudes recubren el cuero cabelludo, teniendo en su superficie una elevada cantidad de poros (pequeños orificios) de donde sale el sudor producido por las glándulas sudoríparas. También se encuentran muchos vasos sanguíneos, sensible al sangrado excesivo. El crecimiento del cabello se presenta en diferentes fases, pero en su última fase el cabello se desprende naturalmente y otros nuevos lo reemplazan.

La descamación del cuero cabelludo (hecho fisiológico), es un proceso similar al que se realiza en toda la piel, siendo esto porque en la capa basal se producen

constantes mitosis de las células epidérmicas. Cuando se presentan los fraccionamientos de los queratinocitos por la capa espinosa y la capa granulosa, las células cambian hasta convertirse en células muertas (pierden el núcleo), que son denominados corneocitos. (32)

Capas: (32).

- **La piel:** Por la fascia superficial está pegado al músculo epicráneo.
- **Fascia superficial:** Encargada de resistir la presión de la cabeza, se encuentra pegada al exterior de la piel y al interior del músculo. Su elasticidad es por la pequeña cantidad de grasa contenida.
- **Músculo epicráneo:** La sensibilidad capilar depende de su elasticidad.
- **Fascia profunda:** Presenta vasos sanguíneos, dando irrigación al cuero cabelludo.
- **Periostio o hueso:** Previene la infección de un hueso a otro rodeando por separado al hueso con un líquido.

2.4.b.2. Caspa

Es una exfoliación exagerada, persistente e inflamatoria del cuero cabelludo, manifestada como una exfoliación escamosa. La caspa no arroja una sola célula de la piel normalmente a la vez, sino que se aglomera debido a la acumulación de grumos, que son considerablemente grandes y de fácil visibilidad en el cuero cabelludo. Empieza con la pubertad y se produce por la proliferación descontrolada de microorganismos (*Malassezia spp*), existentes en nuestra piel de manera natural. (33)

La caspa aparece es porque se eleva la tasa de descamación de la epidermis, porque en la capa basal las células necesitan alcanzar el estrato córneo a tiempo medio que el no afectado. Esta proliferación anormal conduce a un aumento del número de queratinocitos y se acompaña de una base anormal, ya que, en términos de producción de caspa invernal, en términos de su diversidad estacional, provoca la acumulación de una gran cantidad de queratinocitos en el cuero cabelludo. Se intensifica, mientras que, en verano, la caspa disminuye. (34)

Debido a que la caspa tiene síntomas similares, a menudo se confunde con la dermatitis seborreica. Pero, se diferencian porque la dermatitis seborreica presenta inflamación y descamación en áreas donde las glándulas sebáceas están altamente concentradas, como el cuero cabelludo, cejas, frente, pestañas, regiones retroauriculares y pliegues nasofaríngeos. (35)

Tipos: (33)

Estructuralmente la caspa es clasificada en dos tipos:

a) Caspa seca.

Caspa seca o Pityriasis simplex, es la más frecuente. Presentándose una exfoliación de escamas blancas, delgadas y secas, desprendidas con facilidad estando en casi toda el área capilar. El cuero cabelludo presenta un poco de sequedad, mas no presenta problemas inflamatorios ni aparición de prurito. Aunque este tipo de caspa puede aparecer de forma espontánea, tiene que ser tratada de forma adecuada, porque se mantiene durante un largo tiempo y puede llegar cambiar a caspa grasa.

b) Caspa grasa.

Lo característico de esta exfoliación es que va acompañado de seborrea. Localizado normalmente en los lugares con exceso de grasa en la cabeza (frente y nuca). Presenta una escama más grande, espesa, grasosa, de color amarillo, suelen pegarse al cuero cabelludo produciendo mucho escozor, ronchas y forma placas en el pelo. A veces llega a producir alopecia, asociándolo a la dermatitis seborreica.

Factores específicos:

Cuando lavamos el cabello se busca quitar las células muertas, pero en el cuero cabelludo existe un hongo llamado *Malassezia spp*, el cual se nutre de los aceites grasos en los folículos pilosos; de esta manera por la higiene y el hongo, se mantiene sano el cabello. Aún se desconocen con veracidad las condiciones adecuadas para la multiplicación excesiva del hongo, llevando esto a una irritación en el cuero cabelludo obligando a las células que se modifiquen en poco tiempo. (35)

Por ende, el proceso de intercambio de células que se produce normalmente en un mes, este sería realizado solo en dos semanas y todas las células muertas no se desprenden con facilidad. Las células muertas se van aglomerando en el cuero cabelludo mezclándose con la grasa de los folículos pilosos llegando a formar escamas de color blanco con aspecto desagradable que se desprenden y caen hacia los hombros. (33)

a) Desequilibrio hormonal.

La frecuencia de la aparición de la caspa no está mediada por el sexo. Apareciendo normalmente en la pubertad y este aumenta de forma progresiva hasta llegar a la edad de 30 años; Aunque a veces se observa estos problemas en niños y de mayor edad. La actividad hormonal está relacionada directamente con la edad de proliferación de la caspa, porque aumenta de forma considerable en el período de mayor actividad de las glándulas sebáceas. (33)

b) Producida por hongos.

Producido por el hongo *Pityrosporum ovale*, *Malassezia furfur* y conocido como *Pityriasis simplex*, *Furfuracea*, se da cuando estos hongos, que son parte de la flora normal de la piel, empiezan a reproducirse de manera descontrolada. (33)

c) Causada por psoriasis.

Psoriasis, problema crónico que aparte de afectar al cuero cabelludo también afecta a la piel y a las uñas. Produce escamas gruesas, relacionadas de mayor forma con heridas. (33)

d) Causada por dermatitis seborreica.

Es un problema crónico de presentado en la piel con prurito, comezón, escamas gruesas y también usualmente afecta a la frente y lados de la nariz. (33)

e) Causada por parásitos.

La pediculosis (piojos), pueden ocasionar caspa por el rascado del cuero cabelludo para aliviar la intensa picazón producida por la irritación en el cuero cabelludo. (33)

f) Causada por alergia.

Se puede producir una alergia por el uso de artículos para el cabello como: tintes, sustancias para alisados, champú, acondicionadores, etc. A veces provocan

comezón, prurito; sin embargo, no se llega a ver con facilidad estos síntomas por el cabello y apenas pueden observarse escamas muy finas. (33)

g) Causada por estrés.

Ante el estrés, la piel es el primero que sufre sus efectos, en estos momentos de tensión aparecen ciertos tipos de erupciones denominados dermatitis nerviosa, por ello el cuero cabelludo es susceptible a presentar este problema. (33)

h) Causada por carencias nutricionales.

La deficiencia de algunas vitaminas como la vitamina A y del complejo B, así como la deficiencia de minerales, en especial el zinc son causas principales de descamación de la piel del cuero cabelludo. (33)

Mecanismos desencadenantes

Aún son desconocidos las causas específicas que lleven a que aparezca la caspa. Pero, han determinado la existencia de algunas circunstancias que influyen en la proliferación del hongo y desorden funcional de la epidermis. A estos factores se les relaciona con el clima en cada estación del año, a la reproducción celular en el estrato basal, a como está el individuo hormonalmente y a la actividad metabólica de microbiota en el cuero cabelludo. (32)

- Condiciones ambientales.
- Actividad hiperproliferativa de la epidermis.
- Desequilibrio hormonal.
- Flora microbiana.

2.4.c. Patología dérmica

En la parte superficial de la piel humana, existen una variedad de microorganismos. Estos microorganismos están en las hendiduras del estrato córneo y en los folículos pilosos como bacterias saprofitas. El microbiota normal de la piel se distribuye en micro-colonias de diferentes tamaños, género, raza y terreno. No se encontraron glándulas endocrinas ni apocrinas. La flora cutánea normal se define como microorganismos que habitualmente viven de forma inofensiva en la superficie de la piel y en los folículos. El precio lo divide en dos categorías: flora residente o flora consuetudinaria y flora de transición. (33)

a) Flora residente

Son organismos que tienen la facultad de reproducirse y adherirse a la parte superficial de la piel, siendo los componentes principales de la piel. Esta flora residente no es dañina para los humanos y la cantidad de organismos se encuentra entre 200 y 50.000/cm², viven en pequeñas colonias en la superficie del estrato córneo y la capa más externa de la epidermis, y su composición varía según ciertas áreas de la superficie de la piel, compuesta de un número limitado de bacterias, levaduras, ácaros aeróbicos y anaeróbicos. (36)

Cuadro 2: Flora residente en el cuero cabelludo.

Flora cutánea residente	Micrococcaceae	<i>Estafilococcus</i>	<i>S. epidermidis</i> <i>S. capitis.</i> <i>S. aureus.</i> <i>S. Pyogenes.</i>
	Organismos corineiformes	<i>Brevibacterium</i>	
		<i>Propionibacterium (corineiformes anaeróbicos)</i>	<i>P. acné.</i> <i>P. granulosum.</i>
	Bacilos gramnegativos	<i>Acinetobacter</i>	<i>A. calcoaceticus var. anitratus.</i> <i>A. calcoaceticus var. Iwoffii</i>
	Microflora	<i>Malassezia (Pityrosporum)</i>	<i>M. furfur.</i> <i>P. ovale.</i> <i>P. orbiculare</i>
		<i>Cándida sp</i>	<i>C. glabrata.</i> <i>C. albicans</i>
Flora parasitaria	<i>Demodex folliculorum</i>		

Fuente: Modificado de Sánchez, L. Sáenz, E. Infecciones Cutáneas bacterianas (2006).

b) Flora Transitoria

Está compuesto por microbios del medio ambiente, estos microbios caen libremente sobre la piel de forma accidental, no tienen nada que ver con la piel, y pueden ser retenidos por un corto período de tiempo. Se encuentran comúnmente en la piel desnuda, no pueden crecer ni reproducirse en estos ambientes casi desolados sin ningún sentido de adherencia a la piel. En algunas personas se presenta la flora nómada que puede colonizar la piel ocasionalmente, conocida también como residentes temporales o flores acompañantes, porque tienden a adherirse a la piel y reproducirse en un corto

período de tiempo, dependiendo de las actividades de la flora de los residentes y las influencias ambientales. (36)

2.4.d. Descripción del hongo en estudio

Malassezia furfur

Los hongos del género *Malassezia* pertenece a la flora normal de la piel humana y de algunos animales homeotermos, sin embargo, se llegan a convertirse en patógenos oportunistas teniendo relación con varios tipos de dermatosis como dermatitis seborreica, pitiriasis versicolor, algunas formas de foliculitis, psoriasis, dermatitis atópica, papilomatosis reticulada confluyente de Gougerot y Carteaud, eritema anular centrífugo, blefaritis seborreica marginal, intertrigo, acné neonatal y otras complicaciones sistémicas en humanos, como otitis externa y dermatitis seborreica en animales, comúnmente en perros. (37)

En niños el índice de proliferación es baja en comparación al de los adultos. En la piel sana del recién nacido, la colonización se produce dentro del primer mes de vida, es un proceso asintomático y no tiene nada que ver con la salud del bebé. Especies *M. pachydermatis*, *M. caprae*, *M. equina*, *M. nana* y *M. cuniculi* forman parte de la flora normal de la piel de los animales isotérmicos, se encuentran en las personas que entran en contacto con estos animales (especialmente paquidermatis), forman parte de la microbiota cutánea humana, pero de forma temporal.

Malassezia es el agente causante de la enfermedad de la mancha negra y su epidemiología ha cambiado mucho, porque hasta ahora, de las 14 especies descritas, se han aislado ocho especies, a veces incluso dos, de la escala de pacientes con manchas negras. Sin embargo, según la literatura mundial, aunque se obtuvieron casos esporádicos de todas las lesiones de pacientes con psoriasis variegada, las micobacterias esporádicas han confirmado su papel como patógeno, aunque la mayoría de las investigaciones aislaron a la *M. globosa*, *M. furfur* y *M. sympodialis*, en algunas situaciones se encontró *M. pachydermatis* e los lugares lesionados de pacientes con pitiriasis versicolor, siendo el agente causal por transferencia, incluso en recién nacidos. (38)

2.4.d.1. Historia y taxonomía

Por primera vez en 1846, Eichstedt describió, la relación de un hongo con heridas de pitiriasis versicolor; en 1853, Robin le puso el nombre de *Microsporon furfur*, y en 1889, Baillon clasificó al hongo en del género *Malassezia*.

Durante mucho tiempo, los investigadores han creído que la levadura y el micelio son organismos diferentes, por lo que se incluyen en diferentes géneros: la forma de levadura es *Pityrosporum* y la forma de micelio es *Malassezia*. Más tarde, el primero en vincular estas dos formas fue Sabouraud, y en 1927 Panja las agrupó en el mismo género. La primera clasificación taxonómica oficial del género *Pityrosporum*, que consta de dos especies: *Pseudomonas ovale* y *Pseudomonas pachyderm*. En 1977, varios investigadores descubrieron que la levadura producía hifas in vitro, lo que unificó los dos géneros en 1986, incluidos *Malassezia furfur* y *Mycobacterium pachyderm*. El género se limita a dos especies, una es lipídica dependiente (*Malassezia furfur*) y el otro no lipofílico (*M. pachydermatis*).

En 1939, Beham descubrió que debido a la dificultad de cultivar *Malassezia*, se necesitaba un medio rico para promover su crecimiento. Entre 1960 y 1970, los estudios han demostrado que para desarrollar *Mycobacterium furfur*, se necesitarán ácidos grasos saturados con más de 12 átomos de carbono, pero menos de 20 átomos de carbono.

En 1996, Guillot y Guého compararon la secuenciación de genes de grandes unidades de ARNr, realizaron investigaciones complementarias sobre ADN nuclear y revisaron la taxonomía de 7 géneros de *Malassezia*. En la actualidad, el género *Malassezia* pertenece a la clase Basilia, subclase Ustilaginomycotina, *Exobasidiomycetes* y *Malassezia*, e incluye 14 especies: *Malassezia furfur*, *M. pachydermatis*, *M. sympodialis*, *M. globosa*, *M. obtusa*, *M. slooffiae*, *M. dermatis*, *M. japonica*, *M. nana*, *M. yamatoensis*, *M. caprae*, *M. equina* y *M. cuniculi*. (39)

2.4.d.2. Pitiriasis Versicolor:

Es una infección superficial producida por hongo, no produce recidivas y es benigna, comúnmente caracterizado por heridas con manchas irregulares de un solo color y que se descaman, pero en algunos se presenta de diferentes tonos de color como rosado o marrón (en lugares cubiertos de preferencia) o blanca

(en áreas expuestas a la luz), siendo más común en la parte superior del cuerpo, manifestándose de manera hiperpigmentada e hipopigmentada.

Es una patología del tejido epitelial distribuida por el mundo, más común en zonas tropicales y subtropicales con climas húmedos y cálidos, favoreciendo la invasión del hongo en el tejido epitelial, la hidratación excesiva del estrato córneo debido a la sudoración y el calor provocado. La disminución del recambio celular de serotonina, explicando el aumento de esta patología durante el verano. Encontramos otros tipos de factores precipitantes como: Factores externos como la humedad, temperatura de la piel, obstrucción (tipo de ropa), hiperhidrosis, mala nutrición, uso de aceites, corticoides sistémicos o inmunosupresores, etc. Y factores Intrínsecos, incluida la genética, infecciones crónicas (como tuberculosis), embarazo, diabetes y otras formas de inmunosupresión. (40)

La hipopigmentación en la piel, se puede explicar porque se bloquea el traslado del melanosoma al queratinocito o cuando se inhibe la melanina porque se produce el ácido azelaico e inhibe también la propiedad de filtro UV dado por el producto indólico del hongo. Pero, en caso de la hiperpigmentación se da a razón del edema y de la pérdida de grosor en la piel o porque se encuentran en mayor cantidad estos organismos presentes en la lesión.

Por una prueba histopatológica, se evidencia una gran concentración del organismo en la capa córnea de la piel dañada, presentado un pequeño edema, con poca hiperqueratosis y acantosis o con pequeña cantidad de infiltrado linfocítico perivascular en la superficie, siendo estos fácilmente visibles en la piel dañada hiperpigmentada.

El tratamiento primario es tópico; con una duración de muchas semanas; lociones, cremas o jabones con ácido salicílico y azufre 1-3%, ketoconazol 2%, terbinafina 1%, imidazoles tópicos en cremas o solución (1-2%), butenafina o derivados de piridona como cliclopiroxolamina y griseofulvina tópicos. Los tratamientos orales son una opción cuando hay muchas zonas involucradas o cuando el tratamiento tópico no es suficiente.

Se presenta recaídas comúnmente: 60% antes de cumplir el primer año y 80% antes de cumplir los dos años. Las máculas restantes de coloración leve persisten a veces cuando ya no se presenta esta patología. (39)

2.4.d.3. Crecimiento y reproducción micótica

En medio líquido agitado se hace difícil determinar el crecimiento de hongos filamentosos (parecido al de bacterias), pero la fase logarítmica es cambiada por una fase casi lineal. Este desarrollo en medio líquido agitado es globoso, porque esta acción lo cumplen las puntas de hifas y no individualmente de cada célula. Se requiere que el hongo flote en un medio líquido estacionario o no obtendrá oxígeno necesario. Su crecimiento se da en superficies de poca extensión en el medio y el crecimiento aéreo es variado. (41)

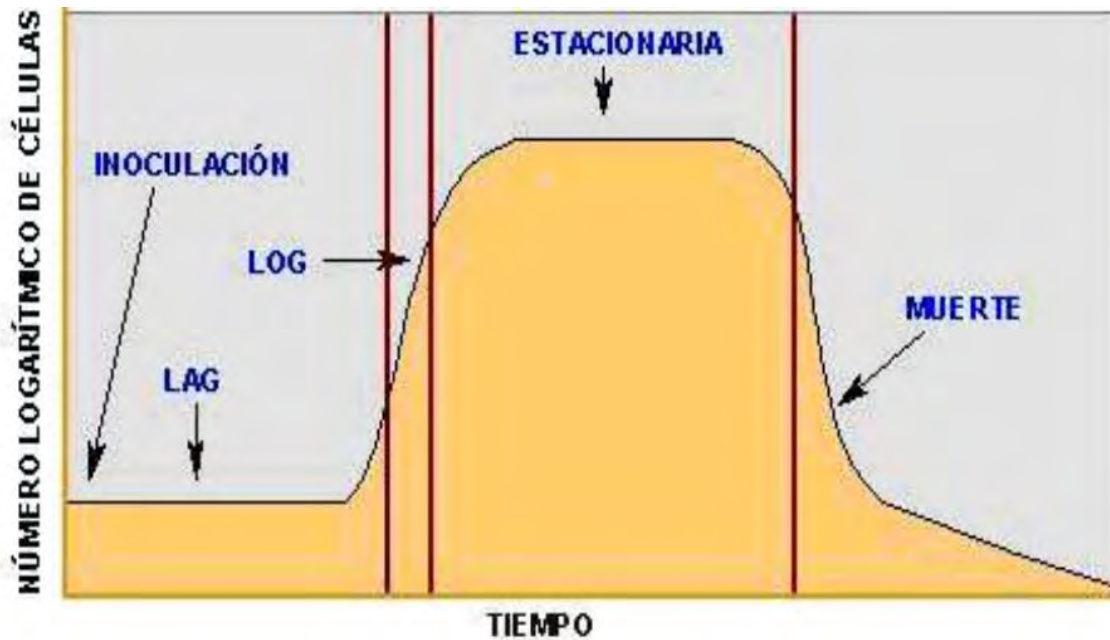
La reproducción de los hongos es por esporas, siendo estos estructuralmente unicelulares de resistencia, en el cual se encuentra toda la información genética. Los hongos pueden clasificarse por sus principales características como el tipo de espora que presenta, tamaño y la manera de su esporulación.

Su reproducción puede darse de manera asexual (por simple diferenciación del micelio) o de manera sexual (al fusionar los núcleos haploides o formar un cigoto sexual). (42)

2.4.d.4. Curva de proliferación

Se mide el incremento en el número de células o de masa celular, o las dos formas simultáneamente; su proliferación dependerá de las condiciones ambientales y a la composición de medio al que se expone. Si el hongo está creciendo en un medio acuoso que tiene los nutrientes esenciales necesarios, el peso seco se grafica contra el tiempo obteniendo una curva que tiene las siguientes fases:

Figura 5: Fases de desarrollo de un microorganismo.



Fuente: Estrada, Gloria; Ramírez, Martha. Micología General (2019).

Es posible distinguir cuatro fases:

- A. Fase lag o retardada.
- B. Fase logarítmica o exponencial.
- C. Fase estacionaria.
- D. Fase de autólisis o de muerte

Fase lag o retardada: Cuando se inocula el hongo en un nuevo medio no hay reproducción de forma inmediata, no presenta variación por algún tiempo; pero las células individualmente crecen, siendo más activos sintetizando un nuevo protoplasma. En este nuevo medio la célula puede presentar déficit de enzimas y coenzimas, siendo los primeros en ser sintetizados para obtener las cantidades óptimas para un buen funcionamiento del mecanismo químico de la célula.

Fase logarítmica o exponencial: La población crece muy rápido, siendo uniforme en composición, actividad metabólica y otras propiedades fisiológicas. Es elevado el acopio de micelio en peso seco.

Fase estacionaria. La caída de la fase exponencial es gradual, hasta la suspensión del crecimiento, esto se da por el consumo total de los nutrientes y también por el acopio de subproductos nocivos.

Fase de autólisis o de muerte. Generalmente el consumo total de nutrientes esenciales y el acopio de subproductos nocivos en cantidades significativas para inhibir cualquier acción explican esta fase. (41)

2.4.e. Forma Cosmética: Shampoo Anticaspa

2.4.e.1. Definición de Shampoo

El champú o shampoo, es un producto usado para la higiene del cabello, limpiando la suciedad, la grasa segregada por las glándulas sebáceas, las células muertas de la piel y en general fragmentos contaminantes acumuladas en el cabello. (43)

2.4.e.2. Etimología

La palabra champú deriva del inglés shampoo, primera vez usado en 1762, y originalmente significaba "masajear". Pero esta palabra viene del Anglo-Indio shampoo, y esta viene del Hindi champo, del champna que significaba "presionar, amasar los músculos, masajear". (44)

2.4.e.3. Requerimientos

- Los shampoos tienen que mantener el cabello flexible, suave, brillante y dejándolo fácil para poder peinarlo.
- Al cabello le debe conferir un aspecto agradable y sin electricidad estática.
- No debe haber modificaciones de pH en el cuero cabelludo. (44)

2.4.e.4. ¿Cómo funciona el shampoo?

La limpieza del cabello por el shampoo se da separando el sebo del cabello y llevándose la suciedad presente, por los surfactantes del shampoo. El sebo es secretado por los folículos pilosos que las mechas de cabello lo absorben con facilidad conformando una capa protectora. Este sebo defiende a la estructura proteínica del cabello de los daños externos, pero este también atrapa la suciedad, células muertas del cuero cabelludo (caspa) y productos que usualmente son usados en el cabello (perfumes, gomina, geles, etc.). (44)

2.4.e.5. Elemento principal del shampoo

El principal componente en una formulación de shampoo tensioactivo (surfactante) conocido como agente limpiador, clasificado en las siguientes categorías:

a. Tensioactivos aniónicos: normalmente contienen uno de los cuatro grupos polares solubles, a saber, carboxilato, sulfonato, sulfato o fosfato, combinado con una cadena de hidrocarburo hidrófobo. Si la cadena es corta, significa que es soluble en agua, por el contrario, su solubilidad en agua es muy pequeña y puede jugar un papel en los sistemas aceitosos. Los tensioactivos más producidos pertenecen a esta categoría: detergentes como alquilbencenosulfonatos, jabones o sales ácidas. (45)

b. Tensioactivos catiónicos: se utilizan habitualmente en detergentes, limpiadores, lavavajillas y cosméticos, compuestos por moléculas lipofílicas e hidrofílicas, y compuestos por uno o más grupos amonio terciario y cuaternario. Las sales de amonio terciario de cadena larga obtenidas neutralizando aminas con ácidos orgánicos o inorgánicos generalmente no se usan en detergentes y productos de limpieza. Su objetivo principal es tratar los textiles y, a veces, como suavizante que se aclara. Las sales de amonio cuaternario con un solo grupo alquilo (C12-C18) o dos grupos más cortos (C8-C10) se utilizan como sustancias activas antibacterianas. Debido a su capacidad de adsorberse a las fibras o al cabello, las sustancias mencionadas anteriormente se utilizan como acondicionadores del cabello. (44)

c. Tensioactivos no iónicos: Los tensioactivos no iónicos no se descomponen en iones hidratados en medios acuosos. La hidrofilia viene dada por la hidratación de amida, amino, éter o hidroxilo. Cuando el número de estos grupos es aceptable, su solubilidad en agua es similar a la de los tensioactivos iónicos. Tiene una amplia gama de aplicaciones, dependiendo del número de grupos polares presentes (solubilidad en agua). Muchos de estos tensioactivos son alcoholes o fenoles etoxilado (lavavajillas, champú). Algunos derivados de sorbitol pueden usarse para producir tensioactivos no tóxicos con fines farmacéuticos o alimentarios. (45)

d. Tensoactivos anfóteros: estos productos mostrarán cargas tanto positivas como negativas, dependiendo del pH de la solución. Como aminoácidos, betaína o fosfolípidos. Dependiendo del pH del medio, prevalece una de las dos disociaciones. Este tipo de tensoactivo solo se utiliza en determinadas circunstancias debido a su elevado coste. (44)

Surfactante proviene de la contracción de la expresión agente activo de superficie (surface-active agent), creado por la corporación GAF. Generalmente los champús, exceptuando algunos especiales, contienen un surfactante porque es requerido para formar la espuma y también es el encargado de la limpieza. El surfactante es formado principalmente por una parte lipofílica y otra hidrofílica. Gracias a esta propiedad se mezclan íntimamente el agua y el aceite / grasas. La habilidad del shampoo de remover el sebo y el sucio se debe a la cuidadosa selección y mezcla de los surfactantes para no causar daño ni irritación del cuero cabelludo ni del cabello. (46)

2.4.e.6. Mecanismo de acción:

El área a limpiar tiene una gran variación dependiendo a su diámetro y número de fibras capilares, estimándolo entre 4 y 8 m² en la cabeza femenina, esto sin tener en cuenta la exfoliación continua que es añadida al área del cabello y que puede llegar a cinco capas. (47)

EL shampoo actúa sobre la queratina dura y porosa de la fibra capilar y blanda del cuero cabelludo (sustrato básico). El tallo piloso tiene porosidad que varía debido a: Tintes permanentes, decolorantes, deslizadores y exposición al medio ambiente; En el cuero cabelludo se deposita muchas partículas y materiales extraños provenientes del medio ambiente y restos de productos cosméticos capilares. (44)

2.4.e.7. Función de los agentes tensoactivos:

Con tal de lograr la limpieza del cabello y cuero cabelludo se requiere agentes con gran afinidad por las grasas, por ello los agentes tensoactivos logran la remoción de grasas, presentando otras características de los shampoos y siendo una base en su formulación. La parte polar en los agentes surfactantes tiene que

presentar atracción al área donde se humedece el pelo, así es como las moléculas detergentes en la interfase arrastran el agua sobre el área del cabello separando la capa de grasa que es eliminado en el enjuagado. (45)

El Mecanismo de remoción de la capa de grasa del área capilar es complejo, indicando 5 etapas para este proceso:

- 1) Transporte del surfactante al área del cabello.
- 2) Adsorción de micelas sobre el área de las grasas.
- 3) Solubilización de la grasa por formación de micelas mixtas aceite-detergente.
- 4) Desprendimiento de las micelas mixtas del área.
- 5) Transporte de la grasa, fuera del área del cabello. (47)

2.4.e.8. Shampoo Anticaspa

Numerosas industrias de cosmética trabajaron en el problema de combatir la caspa utilizando el Ketoconazol en sus formulaciones, al ser considerado un poderoso antimicótico, también incorporando sulfito de selenio, piritiona de zinc, alquitrán y salicilato, que tienen fungicidas. (48)

Los componentes activos más empleados que combaten la caspa son:

- Zinc piritiona: Tiene la función de disminuir la multiplicación de microbios, así como también presenta un efecto citostático, lo cual contribuye con el cuidado capilar y renovación celular. (44)

- Alquitrán: Actúa de manera similar que el zinc piritiona, inhibiendo la división celular en el cuero cabelludo como queratoprotector. (45)

- Sulfuro de selenio: es empleada para prevenir la división celular acelerada, tiene como efecto desfavorable decolorar el cabello por ello se debe usar con debida precaución. (44)

- Ácido salicílico: Este componente al combinarse con el azufre coloidal y sulfuro de selenio actúa como exfoliante eliminando las excesivas células muertas en el cuero cabelludo, por otro lado, también es utilizado en el tratamiento de la caspa

severa disminuyendo la inflamación después de la descamación producida por esta dermatitis capilar. (45)

2.4.f. Fármaco utilizado como Patrón

2.4.f.1. Ketoconazol

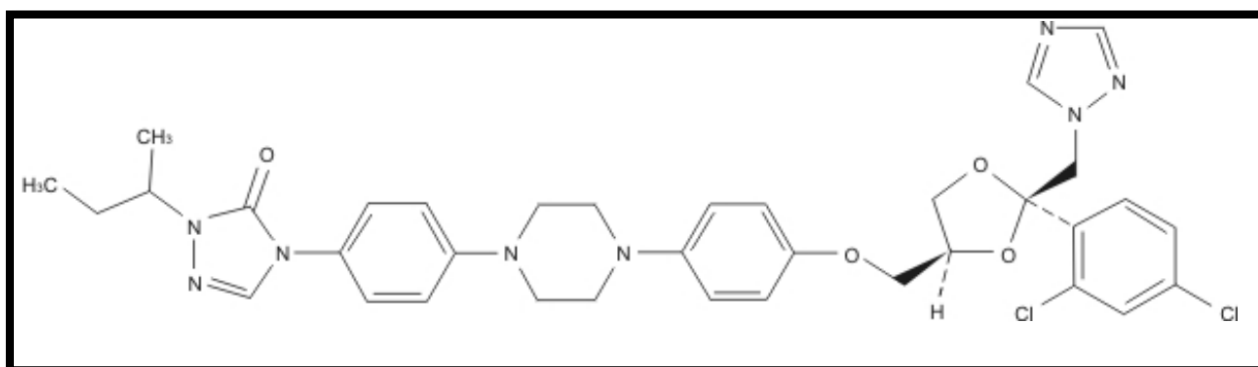
Este medicamento perteneciente a los imidazoles es utilizado para tratar infecciones causadas por hongos, dentro de esta familia se encuentran el clotrimazol, fluconazol, itraconazol e imidazol. (49)

Los antifúngicos imidazólicos tienen varios mecanismos de acción, las cuales son inhibiendo la respiración endógena del hongo y la transformación de los hongos a micelas, así como también alterar la interacción de los fosfolípidos de la membrana celular. El shampoo de ketoconazol al 2% inhibe de la biosíntesis de ergosterol u otros esteroides, lesionando la membrana de la pared celular del hongo y alterando su permeabilidad; inhibe la biosíntesis de triglicéridos y fosfolípidos de los hongos y la actividad enzimática oxidativa y peroxidativa.

El ketoconazol de forma in vitro evita la aparición de pseudo hifas en la especie *Cándida* y aumenta la fagocitosis de estos hongos. También este fármaco a una dosis de 200 a 400mg/día actúa inhibiendo la síntesis de esteroides, aldosterona, cortisol y testosterona en el ser humano. Por otro lado, el ketoconazol es empleado en la clínica para el tratamiento del cáncer prostático y el estrés respiratorio al inhibir la síntesis de tromboxanos en pacientes mayores de alto riesgo. (50)

La biodisponibilidad de Ketoconazol como medicamento es de 80% y es intensamente metabolizado, siendo excretado por los riñones solo de 2 a 4%. Es el medicamento preferido en la candidiasis mucocutánea crónica, raramente existe resistencia al Ketoconazol. Puede interaccionar con las cefalosporinas, aumentando la concentración sanguínea de esta última, lo que puede resultar en nefrotoxicidad. El Shampoo de ketoconazol al 2% no se detecta en plasma en individuos sanos ni en pacientes con infecciones, quedándose en la epidermis sin ser absorbido sistemáticamente. (49)

Figura 6: Estructura del ketoconazol



Fuente: Pérez Castellano, Teresa. Antifúngicas dosis veterinarias para *Cándidas y Malassezia* (2016).

2.4.g. Control de Calidad

El nombre calidad proviene de la palabra griega Kalos que significa “lo bueno, lo apto” desde inicios de la industria. Al medir las características de un producto relacionando con los fines que tendrá realizamos un estudio de la calidad.

En la industria farmacéutica el control de calidad implica una planificación de diseñar, mantener y dar seguridad de los productos que se elaboran, así como evaluar la pureza del principio activo desde su fabricación hasta el consumo humano, a este proceso se le denomina buenas prácticas de manufactura (B.P.M.) para universalizar los criterios a tener en cuenta durante estos procesos y obtener la calidad del producto. Para la producción de shampoo en la industria cosmética se debe realizar el control de calidad en varios procesos tanto en la elaboración del producto y en el producto ya acabado listo para su uso. (51)

2.4.g.1. Pruebas de Control de Calidad en Cosméticos

Para realizar el control de calidad fisicoquímico en productos cosméticos es importante supervisar y comparar el producto con las especificaciones declaradas por el fabricante. Durante este análisis de calidad se debe verificar la forma adecuada de manipulación del producto y que estas condiciones estén especificadas por el importador, además deben estar realizadas por un especialista con un protocolo ya estandarizado y equipos calibrados en condiciones idóneas. Más adelante se describen las pruebas de control de

calidad microbiológico, fisicoquímico y organoléptico a la cual debe estar condicionado el producto. (52)

a) Pruebas organolépticas

Estas pruebas necesitan del uso de los sentidos como el olor, color, aspecto, sabor y tacto, mediante los cuales analizamos las características del producto. Gracias a estas características que se evalúan se pueden identificar alteraciones que se presentan en la muestra como: separación de fases, precipitación, formación de grumos (cambios físicos) y variaciones en el color, turbidez (cambios químicos de oxidación), etc. (53)

El control fisicoquímico se debe realizar mediante una comparación con la muestra estándar, que esté en condiciones de temperatura y humedad controlados a las del medio ambiente, para poder observar si se presenta cambios en sus propiedades organolépticas de la muestra analizada o si mantiene estas características macroscópicas; Para utilizar la muestra estándar o de referencia también se deben realizar al inicio controles de sus características organolépticas y fisicoquímicas que deben estar ya establecidas por el fabricante. (53)

Existen diferentes métodos empleados para evaluar el color; Los métodos visuales e instrumentales son los más aplicados hoy en día. Para el análisis visual se hace una comparación entre los colores de la muestra y el patrón, almacenados en las mismas condiciones según las especificaciones establecidas, este examen se realiza a diferentes longitudes de onda (en cámaras especiales), en condiciones de luz blanca, natural o artificial. En cambio, en el análisis instrumental la detección del color se realiza por un espectrofotómetro en la cual se compara el espectro en la región visible de la muestra con el espectro de referencia o estándar, señalando los cambios que se presentan en las tonalidades del color. Esta prueba solo es posible para muestras homogéneas, pero para las emulsiones que son productos heterogéneos mezclas de polvos y otras mezclas con diferentes intensidades de color se prefiere antes tomar fotografías, que ayuden a evidenciar los cambios,

en condiciones ideales; Por ejemplo, sin flash y con un fondo claro, para evitar que la coloración cambie con la muestra de referencia. (54)

En la evaluación del olor, se realiza a través del sentido del olfato, se comparan los olores entre la muestra y la referencia o estándar manteniendo su olor, y deben estar almacenados en el mismo material de empaque; Solicitar otra vez la muestra o del extracto utilizado para elaborar de nuevo el producto es una alternativa para asegurarse de que no hay variaciones del olor en la prueba. (52)

Para cosméticos como labiales cremas dentales y enjuagues bucales se realiza mediante el paladar, en la cual el producto debe cumplir con la muestra estándar interno. El análisis sensorial se realiza siguiendo protocolos ya estandarizados, con la finalidad de no desviarse por las preferencias propias de uno mismo (del fabricante), sino que contenga aspectos equiparables a lo que prefiere el consumidor, siendo:

- Como se observa el producto.
- Como se siente el producto al tomarlo.
- Como se siente el producto al ser aplicado.
- Característica secundaria y sensación al tacto.

La calidad de un cosmético está dada por cómo se adecua las propiedades que presenta frente al uso que se le da y para el que fue elaborado. (54)

b) Pruebas Físicoquímicas

Tienen un procedimiento estándar para realizar pruebas que determinen las características del producto, estas pruebas se llevan a cabo con el uso de equipos debidamente calibrados, con un mantenimiento que garantice su resultado en las mediciones, los resultados deben ser repetitivos sin variaciones al seguir los procedimientos ya establecidos, también deben tener documentos donde se registren sus resultados para comprobar la veracidad de estos resultados.

Los métodos más comunes son:

- Determinación del pH: El pH es definido como el logaritmo negativo en base 10 de la concentración de hidrogeniones que se encuentra en una disolución acuosa acida. (55)

$$\text{pH: } -\log[\text{H}^+] = \log(1 / [\text{H}^+])$$

Cuando se observa un cambio en $[\text{H}^+]$ por un factor de 10 resulta en un cambio de unidad de pH; El pH está dado por:

$$\text{pH} = -\log [\text{H}^+] = -\log (1.0 \times 10^{-7}) = 7.00$$

En esta forma el pH de una disolución neutra es 7.00.

Las disoluciones se pueden diferenciar en acidas y alcalinas de acuerdo con la variación en las concentraciones de hidrogeniones que definen el pH:

- $\text{pH} < 7$ en disoluciones ácidas.
- $\text{pH} > 7$ en disoluciones básicas.
- $\text{pH} = 7$ en disoluciones neutras. (53)

Potenciométrica mente el pH se calcula mediante la diferencia del potencial de electrodos que se sumergen en la muestra analizada. Esta prueba depende de las concentraciones de hidrogeno presentes en la solución y deben estar correctamente calibrados los equipos con soluciones buffer de referencia. (54)

- La viscosidad: es la capacidad de resistencia a la fluidez de los líquidos, junto con la tensión superficial son propiedades propias de los líquidos, la viscosidad tiene como unidad general al poise que equivale a 1 g/cm-s, generalmente la viscosidad se mide en centipoises (cP), que tienen como valor equivalente a 0.01 poise (P). (55)

Existen diferentes métodos para determinar la viscosidad. Los viscosímetros más conocidos son: rotación, de orificio y capilar. (53)

- Viscosímetro rotatorio: estos viscosímetros son empleados en tipos de sustancias liquidas que son independientes de la temperatura y de la presión (a

diferentes exposiciones y condiciones de la muestra); En la estructura del equipo se tienen dos partes las cuales son el cabezal con un motor y un husillo accionado por el motor; La viscosidad se determina al medir la resistencia del husillo que se encuentra girando dentro de la muestra.

- Viscosímetro de orificio: este tipo de viscosímetro es usada para comparar la fluidez de la muestra con la del agua, para esta medición el equipo consta de un vaso en forma de cono con un orificio ubicada en la base; para elegir el diámetro del orificio se determina de acuerdo de la viscosidad a analizar

- Viscosímetro capilar: se mide la duración con la que fluye la muestra en comparación al flujo del agua, esto se consigue gracias a que se genera la fuerza hidrostática que permite fluir al líquido dentro del tubo capilar.

Se define como densidad al peso de masa que existe sobre un volumen de líquido o muestra:

$$\text{Densidad} = \text{masa} / \text{Volumen}$$

Para realizar mediciones de densidad en muestras solidas o liquidas se representan en unidades de gramos por mililitro (g/ml). También hay que tener en cuenta que las variaciones en la temperatura influyen con el cambio del volumen, aumentando o disminuyendo también la densidad, por ello al medir la densidad se debe indicar la temperatura de nuestra muestra. La temperatura ambiente se considera a 25 °C que se entiende como temperatura normal. Para medir la densidad tenemos varias formas dentro de ellas están: (54)

Densidad absoluta: Es medida por el valor de una masa que tiene una sustancia entre el volumen que ocupa esta sustancia ($d=m/v$).

Densidad relativa: Es la comparación de las densidades absolutas que existen entre una muestra liquida y una muestra estándar o de referencia que ya está determinada.

Densidad aparente: esta medida se realiza al inicio del proceso de compactación, la cual consiste en realizar una comparación de forma directa entre la masa y su volumen que es medida en un cilindro graduado. (53)

c) Pruebas Microbiológicas

para realizar los controles microbiológicos en productos cosméticos se deben tener en cuenta los límites microbiológicos permitidos por la Comunidad Andina de Naciones, emitida en su resolución 1482 del año 2002, con la finalidad de garantizar las acciones de control en la industria cosmética, para así tener normas estandarizadas que deben cumplirse según la notificación sanitaria de forma obligatoria. (56)

En el cuadro 3 y 4 se muestran los parámetros de control establecidos por la comunidad andina en los últimos años.

Cuadro 3: Parámetros de control microbiológico para cosméticos. (57)

ÁREA DE APLICACIÓN Y FASE ETARIA	LÍMITES DE ACEPTABILIDAD
Productos para uso en infantes (hasta 3 años) Productos para uso en el área de los ojos Productos que entran en contacto con las membranas mucosas	a) Recuento de microorganismos mesófilos aerobios totales. Límite máximo 5×10^2 UFC/g o ml. b) Ausencia de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> en 1 g o ml c) Ausencia de <i>Staphylococcus aureus</i> en 1 g o ml. d) Ausencia de Coliformes totales y fecales en 1 g o ml.
Demás productos cosméticos susceptibles a contaminación microbiológica	a) Recuento de microorganismos mesófilos aerobios totales. Límite máximo 5×10^3 UFC/g o ml. b) Ausencia de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> en 1 g o ml c) Ausencia de <i>Staphylococcus aureus</i> en 1 g o ml. d) Ausencia de Coliformes totales y fecales en 1 g o ml.

Fuente: Comunidad andina. Resolución 797- límites de contenido microbiológico de productos cosméticos (2012).

Cuadro 4: Condiciones y límites microbiológicos para productos cosméticos.

CONDICIONES Y LÍMITES MICROBIOLÓGICOS	LÍMITES
CONDICIONES	
pH ácido	$\leq 3,0$
pH Alcalino	$\geq 10,0$
Soluciones hidroalcohólicas	$\geq 20\%$
Temperatura de llenado	$\geq 65,0 \text{ }^\circ\text{C}$
Actividad del agua (aW)	$\leq 0,75$
Productos de base solvente	Sin límite
Productos Oxidantes	Sin límite
Clorhidrato de aluminio y sales relacionadas	15% al 25%

Fuente: División de Alimentos, Medicamentos y Cosméticos. Manual de microbiología aplicada a las industrias farmacéutica, cosmética y de productos médicos (2016).

El contenido de agua presente en la formulación del producto cosmético favorece a un aumento en la velocidad de multiplicación y aparición de microorganismos y esto no depende de la cantidad de humedad que exista en el producto, ya que para la división y metabolismo de microorganismos se requiere de agua que se encuentra en la formulación; También se emplea la actividad del agua, que es la cantidad de agua que está presente dentro de un producto, y se define con una comparación entre la presión de vapor de agua presente en un producto y la del agua pura (ambos a una temperatura igual). (54)

La multiplicación de microorganismos dentro de un producto cosmético genera alteraciones en la estabilidad fisicoquímica del producto (cambios en el aspecto, coloración, olor y textura); También presenta un riesgo para la salud de las personas, con la aparición de posibles infecciones en la zona de aplicación. Los

productos cosméticos generalmente necesitan de conservantes en sus formulaciones que eviten la proliferación de microorganismos.

Estas son las principales características que debe tener un conservante:

- Debe ser de amplio espectro (actividad contra hongos, levaduras, bacterias Gram positivas y Gram negativos)
- Considerar solubilidad en agua y aceite
- Coeficiente de repartición
- Temperatura de adición
- Espectro de acción
- Eficiente a bajas concentraciones
- Debe ser estable
- Debe ser incoloro e inodoro
- Tener un rango de pH amplio
- Compatible con la formulación y con todos los ingredientes que la forman.
- Toxicidad
- Porcentaje de uso y relación costo-beneficio

Es importante evaluar la eficacia del conservante que se va a utilizar en el producto, para ello se tiene los ensayos ya estandarizados por la USP, uno de los métodos empleados es la inoculación del conservante que está dentro del producto con un microorganismo, según los procedimientos descritos en la técnica. (53)

En el análisis microbiológico se debe almacenar el producto cosmético en condiciones ya determinadas por un periodo de tiempo en la cual se realizará los controles microbiológicos (para contabilizar los microorganismos sobrevivientes) hasta cumplir el periodo de un mes.

Los microorganismos causantes de contaminación microbiana en productos cosméticos con mayor frecuencia son: (58)

- ✓ *Pseudomonas aeruginosa*
- ✓ *Staphylococcus aureus*
- ✓ *Escherichia coli*
- ✓ *Salmonella spp*

- ✓ *Clostridium spp*
- ✓ *Hongos filamentosos y levaduras*
- ✓ *Cándida albicans*

Para verificar la presencia de microorganismos en productos cosméticos se utiliza las pruebas de recuento microbiológico, las cuales se mencionan a continuación: (56)

- Recuento Aerobios Mesófilos: Se siembra 0.1ml de muestra, previamente diluida en la solución madre que contiene caldo Caso en placas con medio de agar PCA; Luego se realiza el recuento total de microorganismos que aparezcan en las placas cultivadas después de las 48 horas a una temperatura de 32.5°C.
- Recuento de Hongos y Levaduras: Se realiza el sembrado de la muestra en placas que contengan el medio agar Sabouraud y se realiza el conteo de hongos y levaduras después de 5 días de cultivo a 22.5°C.
- Ausencia de Patógenos: Se realiza con la finalidad de evaluar la presencia o ausencia de microorganismos como: *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* y *Salmonella ssp*; Se realiza el sembrado de la muestra en un medio específico para cada microorganismo y se procede con la lectura después de 24 horas de haber cultivado.

Test de desafío o Efectividad de Preservantes: Esta prueba se realiza para evaluar que el conservante presente en la formulación del producto cosmético cumple su función como conservante, para ello se coloca al interior de la muestra diferentes tipos de cepas patógenas “*Candida albicans* (ATCC No. 10231), *K* (ATCC No. 16404), *Escherichia coli* (ATCC No. 8739), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC No. 9027), y *Staphylococcus aureus* (ATCC No. 6538)” las cuales se observan que disminuyan dentro de un rango ya definido después de un periodo de 28 días de incubación. (54)

2.4.h. El cabello

2.4.h.1. Estructura del cabello

En el cabello se pueden considerar dos partes principales:

El Tallo: Presenta un diámetro de 70 a 100 micras con una carga de ruptura que oscila entre 40 a 60 gramos; Esta ubicada en la parte externa del cuero cabelludo

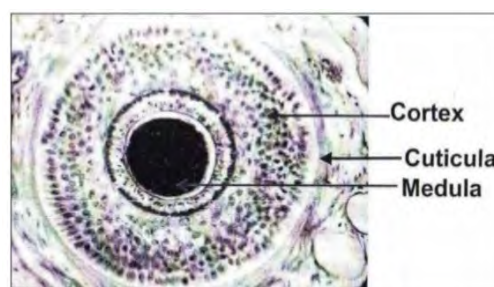
y formado a través de tres estructuras concéntricas que son: cutícula, córtex y medula. (59)

- ✓ Cutícula: está ubicada en la parte externa del tallo, estructurada de 6 a 8 capas de células que se extienden a las puntas del tallo, la cutícula determina el grado en el que está maltratado nuestro cabello ya sea por excesivos procesos de decoloración, exposición a tintes permanentes o por daños del propio medio (viento, polvo, la lluvia luz solar, agua salada, etc.). (60)
- ✓ Corteza: Formando parte de la parte gruesa del tallo piloso cumple con la función de dar elasticidad y resistencia (características mecánicas del cabello), también la coloración del pelo está condicionado a este sector del tallo; Por ello los cosméticos van a actuar en esta parte generando cambios. (4)
- ✓ Médula: formada por células especiales que tienen espacios de aire entre ellas, se encuentra la medula central solo en los cabellos largos, pueden estar presentes en todo el tallo piloso o solo en la parte inicial, así como también no estar presentes en el tallo piloso. (4)

La Raíz: se encuentra en la zona de la dermis, dentro de la raíz se realiza el metabolismo y división mitótica de las células; La buena circulación sanguínea favorece en la aceleración del crecimiento del cabello y disminuye cuando hay una mala circulación de la sangre; La raíz termina en un bulbo en cuyo hueco central se alberga la papila dérmica que es la que alimenta el pelo. (59)

La raíz se forma a partir de un bulbo en la porción del estrato de Malpighi, donde las células se multiplican al unirse con la papila y van eliminando al exterior las más antiguas a través de la oxidación. (61)

Figura 7: Sección transversal del cabello



Fuente: Arroyave, María; Gómez, Paula. Elaboración de un producto con base en colorantes naturales para teñir el cabello (2006).

2.4.h.2. Química del cabello

La composición del cabello se basa en cinco elementos orgánicos (carbono, hidrogeno, oxígeno, nitrógeno y azufre) los cuales al unirse con otros elementos forman proteínas como la queratina, los lípidos, los minerales y pigmentos que dan coloración al cabello: (62)

La queratina alfa es una proteína que se encuentra en altas concentraciones en el cabello, inclusive mucho mayor que en la lana de los ovinos (en una proporción de 15 – 17%). Tiene un peso molecular de 45 000 aproximadamente; En sus propiedades fisicoquímicas es completamente insoluble en el agua, sustancias de medio alcalino y en medio ácido; También presenta resistencia a la digestión de enzimas. Además, tiene alta cantidad de cistina y baja proporción de azufre. (13)

En la estructura química del cabello también se encuentran a los lípidos que tienen dificultad en determinarse cuantitativamente, porque son derivados del sebo; los lípidos se encuentran formados por colesterol, fosfolípidos, triglicéridos, ceras, escualeno y ácidos grasos libres.

Los minerales forman parte de la estructura química, en general están conformados por: hierro, zinc, magnesio, cobre y plomo; Estos oligoelementos ayudan en los procesos proteico-enzimáticos. (62)

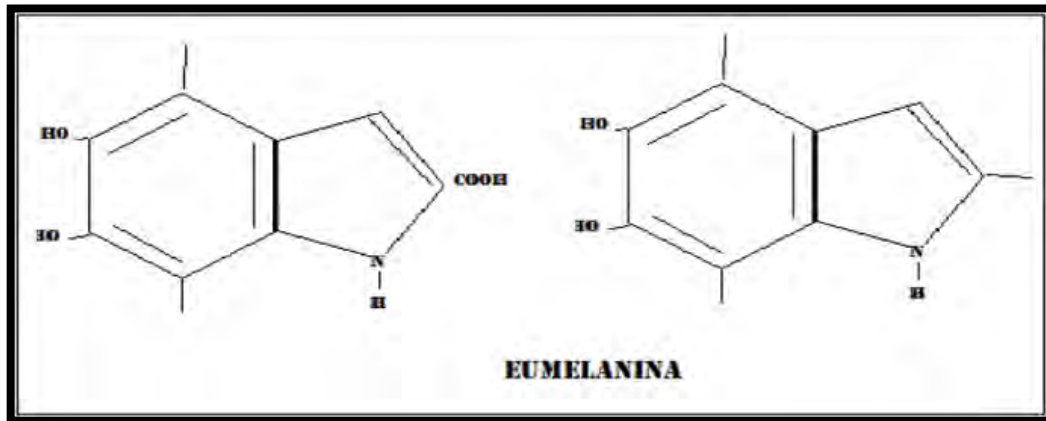
2.4.h.3. Pigmentación del cabello

La coloración del cabello está controlada genéticamente, y se da por la presencia de melanocitos que son pigmentos naturales localizados al interior del córtex, la ausencia de melanina genera la aparición de las canas; Por lo tanto, se afirma que a mayor concentración de melanocitos mayor coloración tiene nuestro cabello. (13) La queratina que es una proteína del cabello se forma a partir de la transferencia de melanina a través de los queratinocitos (63)

La síntesis y producción de melanina se realiza únicamente a través de los melanocitos (células hormonales) y no se regeneran, esto produce la aparición de canas, ya que al ser hormonales cuando mueren ya no es posible su síntesis. (13)

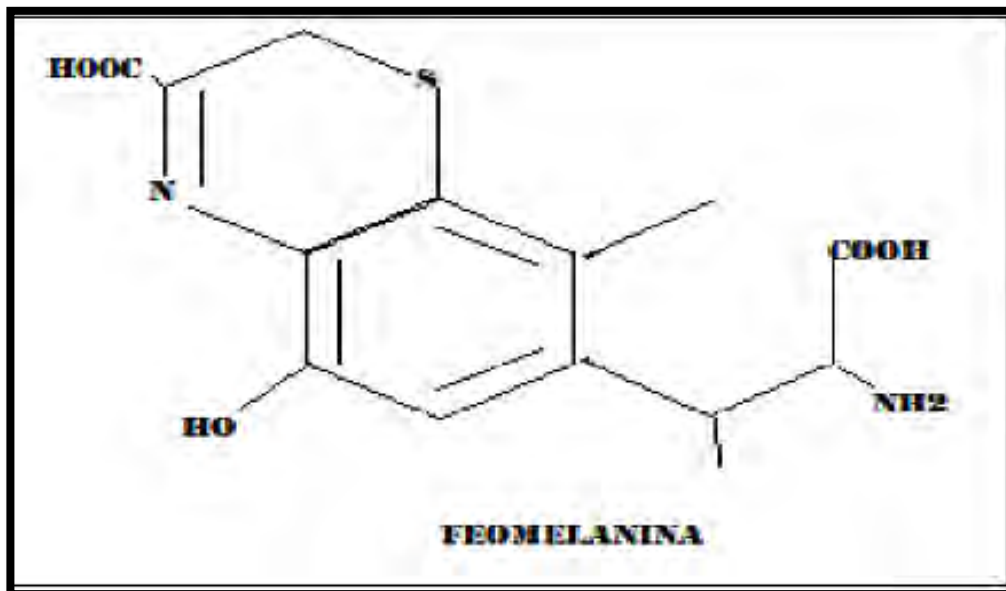
En la coloración del cabello se tiene dos tipos de melanina:

Figura 8: Estructura química de la Eumelanina.



Fuente: Ginna, Machado. Quimoa, amaranto y arginina como ingredientes protectores en tintes para cabello (2015).

Figura 9: Estructura química de la Feomelanina.



Fuente: Ginna, Machado. Quimoa, amaranto y arginina como ingredientes protectores en tintes para cabello (2015).

La feomelanina y la eumelanina están presentes en la piel y los cabellos, y se biosintetizan a través del metabolismo de la tirosina, ambos componentes se encuentran presentes en el interior de los melanocitos del cabello en forma de gránulos; la eumelanina es el más abundante en el cabello. (63)

Eumelaninas: es la que da coloraciones oscuras, que van desde un color negro hasta una coloración castaña, no es soluble en soluciones acuosas; Estructuralmente están formados por "ácido 5,6 dihidroxiindole-2 carboxílico y

ácido pirrol carboxílico” enlazados por enlaces covalentes C-C de forma intercalada. (13)

Feomelaninas: Estos pigmentos a diferencia de las eumelaninas generan colores claros, que pueden variar desde un color amarillo hasta una coloración rojiza, son muy solubles en soluciones alcalinas; Estructuralmente están formados por “unidades de 1,4-Benzotiazina” unidos mediante enlaces de puentes de manera intercalada. (13)

La cantidad de melanina que se encuentra en el hombre depende de la variación interindividual como: el tipo de gen, raza, etc. A continuación, mostramos en la siguiente tabla los porcentajes de melanina:

Cuadro 5: Contenido de la eumelanina en cabello humano.

CONTENIDO DE LA EUMELANINA EN CABELLO HUMANO	
ORIGEN DEL PIGMENTO	CONTENIDO DE EUMELANINA (%)
CABELLO CASTAÑO ITALIANO	1.1
CABELLO NEGRO JAPONÉS	2.0
CABELLO PELIROJO IRLANDÉS	0.3
CABELLO RUBIO ESCANDINAVO	0.06
CABELLO ALBINO	0.0

Fuente: Ginna, Machado. Quimica, amaranto y arginina como ingredientes protectores en tintes para cabello (2015).

2.4.h.4. Decoloración del cabello

Es un proceso que se realiza para aclarar suavemente el color normal del cabello; este procedimiento puede realizarse a través de dos maneras:

- Aplicando decolorantes directamente al cabello
- Utilizando tintes especiales. (64)

Decolorantes: Ayudan el aclaramiento del color de cabello, para esto necesitan de sustancias pre-oxigenadas, como el peróxido de hidrogeno, que es el más utilizado por sus ventajas:

- a) la decoloración es en tiempo más corto que otros decolorantes y no presenta efectos secundarios.
- b) Se puede controlar fácilmente la decoloración.
- c) tienen un amplio margen de seguridad al usarlo.

El proceso de oxidación se realiza mediante la unión del peróxido de hidrogeno, que se encuentra en el agua oxigenada, con la melanina lo que conduce rápidamente a absorberse y expandirse por el tallo capilar; Logrando el aclaramiento de la melanina que está presente en el cabello aclarando el cabello. La melanina puede ser destruida en su totalidad por soluciones muy alcalinas, por ello la oxigenta tiene un estabilizador de pH de 3.5 a 4.0 que se mezcla con el peróxido de hidrogeno. (61)

2.4.i. Tintes capilares

Los tintes capilares tienen sustancias químicas que tienen la función de cambiar la coloración del cabello, ya sea la tonalidad del cabello o cubriendo los cabellos canos, se clasifican de acuerdo con su duración o componentes. (65)

2.4.i.1. Tipos de tintes

Según su permanencia se clasifican en:

1. Coloración temporal. Estos tipos de tintes se almacenan en la parte externa del cabello, no penetrando el cabello, porque no contienen amoniaco ni oxidantes (que son los componentes que dilatan la fibra capilar abriendo las capas del pelo permitiendo así la difusión del tinte por el tallo capilar). Son empleados para modificar la tonalidad del cabello, aclarar el color natural, mejorar el teñido de un tinte permanente u ocultar las canas; Las presentaciones de estos tintes son en forma de aerosoles, gel, espumas, entre otras. (4)
2. Colorantes semipermanentes. son elaborados a partir de fórmulas suaves, que no penetran intensamente los cabellos, y al ser empleados no es necesario el peróxido de hidrogeno; y tienen una permanencia moderada ya que se mantienen hasta por 4 a 5 lavados. (4)
3. Colorantes permanentes. A diferencia de los tintes ya mencionados, los tintes permanentes si penetran totalmente la cutícula y se almacena sus partículas en la corteza, produciendo una coloración más prolongada que resiste a los lavados y factores del medio ambiente; La duración de la coloración depende del volumen de peróxido de hidrogeno incluido en la preparación; Al pasar el tiempo la coloración va disminuyendo en

tonalidades de acuerdo a los lavados, en algunos casos cambiando totalmente el color del cabello. (4)

Por su origen se clasifican en: (15)

- a. Tintes vegetales: Henna, manzanilla, quina, nuez verde, ruibarbo, índigo.
- b. Tintes Minerales: Acetatos (Pb, S, Cu, Ni, Ag y Co), sales de plomo, sales de plata, sales de tiosulfato.
- c. Tintes Sintéticos: Nitrofenilediaminas, nitraminofenoles, aminoantraquinonas, derivados aromáticos polihidroxílico.

El siguiente cuadro nos muestra los daños que pueden ocasionar los tintes según sus componentes:

Cuadro 6: Agentes químicos contenidos en tintes.

AGENTE	DAÑO
Benceno	La exposición prolongada del benceno produce defectos en el nacimiento o el cáncer, daño en los tejidos celulares sanguíneos al tener contacto con la piel; periodos cortos causan irritación y enrojecimiento de la piel.
Amoniaco de plomo	Es muy toxico para el sistema nervioso al ser inhalado y al tener contacto directo con la piel ocasiona lesiones graves.
Hidroquinonas	Genera irritaciones en la piel y sensaciones de quemadura.
Resorcinol	Produce alteraciones en el sistema endocrino, irritaciones en la piel y en los ojos (por alergia a este componente).
p-fenilendiamina	Puede ocasionar dermatitis de contacto irritativa y alérgica sensibilizante.
p-toluendiamina, 4-Amoniaco, Persulfato de amonio	Causa irritación a nivel ocular, cutáneo, respiratorio y urticaria en la piel.
Persulfato potásico	Puede causar rinitis y asma.

Fuente: Cervantes, Yesica; Ramírez Yazmín. Estudio de cáncer en micronúcleos de la mucosa oral (2015).

Colorantes vegetales:

Estos colorantes que son naturales se clasifican en familias, las cuales son:

- a) Carotenoides: Poseen en general la estructura química “poliénica”, formada a partir de 40 átomos de carbono; A este grupo pertenecen las xantofilas y los carotenos. (66)
- b) Clorofila: este colorante se encuentra en los cloroplastos, en abundantes cantidades en la naturaleza, también es insoluble en soluciones polares. (67)
- c) Antocianinas: tienen propiedades importantes; El cambio en la temperatura puede ocasionar la pérdida del color, por disminución del peso molecular

(eliminación del glicósido); también son completamente solubles en soluciones acuosas. Estos pigmentos son los que dan una variedad de colores, rojo, azul, anaranjado, púrpura que están presentes en las frutas. (66)

d) Flavonoides: Son pigmentos que generan la coloración amarilla, están formados estructuralmente por una aglicona (formado a partir del 2-fenilbenzopirona). (68)

e) Betalainas: Están formados estructuralmente por glucósidos, a partir de setenta pigmentos hidrosolubles que forman parte de este grupo, También están clasificadas en dos grandes grupos: las betaxantinas que generan la coloración amarilla y las betacianinas que dan la coloración roja. (67)

f) Taninos: Están formados por compuestos fenólicos que producen una coloración amarillo-café, pueden ser solubles o insolubles en agua; También son empleados en el cabello ondulado para alisar los rizos logrando la disminución del pelo encrespado. (68)

2.4.j. Colorimetría

El colorímetro realiza mediciones triestímulo, donde se observa a través de filtros los colores básicos a semejanza del ojo humano (rojo, amarillo y azul). Los colorímetros miden valores de la cantidad de estas coloraciones que tienen los productos, esto ayuda a ajustar los componentes del color. También este equipo tiene muchas ventajas como: ser de fácil manipulación y costo bajo; Además, ayuda a medir la reflectancia a través de una iluminación simple, una de las desventajas de este equipo es que no se puede realizar mediciones en complejas como fuerza de color y meteorismo. (69)

2.4.j.1. Características

- ✓ Con el método de medición CIELAB, el color se mide en forma de tres variables, L^* , a^* , y b^* .
- ✓ Se debe especificar el tipo de iluminante para realizar la medición.
- ✓ La semejanza del color se establece por el límite de impresión en el color para el control de un producto.
- ✓ El colorímetro es un instrumento de medición del color específico
- ✓ Tienen la capacidad de medir los colores directamente.
- ✓ Los colorímetros se basan en medir a través de filtros de color en base a la medición triestímulo de colores directos; Sin tomar en cuenta las

densidades, las tonalidades, grisura, entre otras especificaciones o características. (70)

2.4.j.2. Entendiendo El Espacio de Color CIE L*A*B*

La observación del color es distinta en cada persona debido a la variabilidad interindividual, esto conlleva a observaciones equivocadas y confusiones al especificar el color para los fabricantes y proveedores, generando gastos adicionales a la empresa.

Espacio de Color

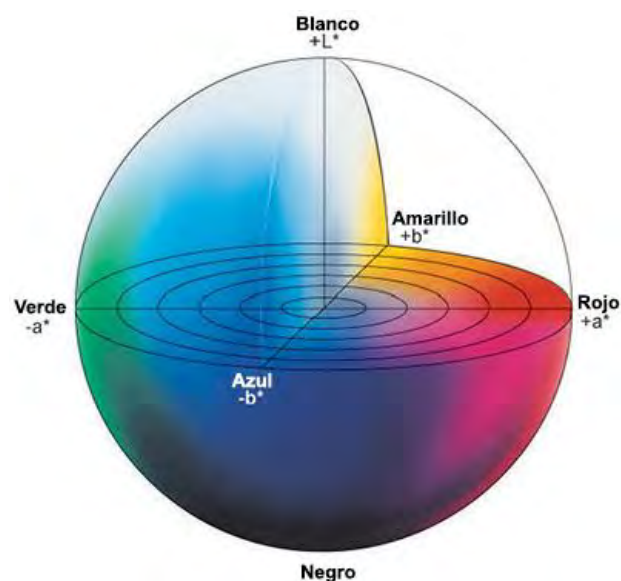
Para describir el color de un producto se puede determinar a través de mediciones numéricas, a esta anotación llamamos “espacio de color”.

La autoridad encargada de la luz y el color es el CIE (Commission Internationale del Éclairage) que actualmente define tres espacios de medición del color: CIE XYZ, CIE L*C*h, y CIE L*a*b*, para estandarizar el color de un objeto en forma objetiva.

Actualmente el espacio de color CIELAB o también llamado L*a*b*, es el más conocido y empleado para analizar la coloración de un objeto, este espacio de color es más utilizado porque realiza una medición coherente y uniforme al comparar los datos cuantitativos con la percepción del ojo humano.

Coordenadas L*a*b*:

Figura 10: El Espacio de Color CIE L*A*B*.



Fuente: Konika Minolta Sensing Americans. Entendiendo el espacio de color CIE L*A*B* (2020).

Al clasificar a los colores se analiza en tres aspectos: saturación (vividez), luminosidad (brillo), y matiz (color). Al crear rangos para estas características se logra una forma específica que define el color.

El espacio de coloración $L^*a^*b^*$ se basa en la teoría de color oponente, donde afirma que dos colores (rojo-verde) y (azul - amarillo) no pueden estar a la misma vez.

Donde:

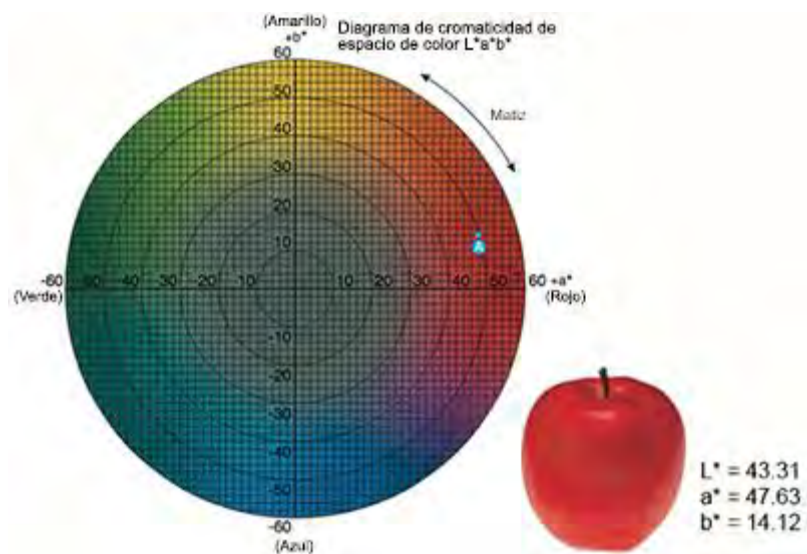
L^* =luminosidad

a^* = coordenadas rojo/verde (+a indica rojo, -a indica verde)

b^* = coordenadas amarillo/azul (+b indica amarillo, -b indica azul)

Existen muchos equipos que miden cuantitativamente las características del color, estos equipos miden el color de un objeto en diferentes espacios de color y generan valores para comparar con las coordenadas L^* , a^* , y b^* . (71)

Figura 11: Coordenadas de la Escala CIELAB.



Fuente: Konika Minolta Sensing Americans. Entendiendo el espacio de color CIE $L^*A^*B^*$ (2020).

2.5. MARCO CONCEPTUAL:

- ♣ Medicina tradicional: Se denomina así, a todo el conjunto de acciones y conocimientos ancestrales de diversas culturas que se practican, con la finalidad de prevenir o curar, física y/o mentalmente al ser humano. Estas acciones se basan en experiencias, creencias hipotéticas que no tienen sustentos científicos. (72)
- ♣ Principio activo: Es toda sustancia o combinación de dos o más sustancias, que se usan para elaborar medicamentos con la finalidad de ejercer efectos fisiológicos y/o modificaciones dentro de nuestro organismo; Esta sustancia llega a ser el componente activo del medicamento con acciones farmacológicas, inmunológicas o metabólicas. (73)
- ♣ ATCC: American Type Culture Collection.
- ♣ Bioseguridad: se llama así a todo el conjunto de procedimientos, normas y acciones ya estandarizadas que se deben cumplir durante la ejecución de las investigaciones científicas, con la finalidad de prevenir riesgos químicos, físicos que pueden poner en peligro la salud humana. (74)
- ♣ Cepa: se denomina así, a un conjunto de bacterias u hongos que tengan las mismas características biológicas propias, de una misma especie, generadas a partir de un solo aislamiento.
- ♣ Colonia: Es el crecimiento y reproducción de los hongos que se pueden observar a simple vista; Generados a partir de un solo hongo que existía anteriormente. (75)
- ♣ Concentración mínima inhibitoria (CIM): Se denomina así, a la cantidad más ínfima del antibiótico o antimicótico capaz de inhibir o eliminar al crecimiento observable de una cepa del hongo, dentro de un periodo de 18 a 24 horas de incubación. (76)
- ♣ Disco de sensibilidad: Son materiales de forma circular con un diámetro regular, que contienen cantidades de sustancias (antimicrobianos o antimicóticos o soluciones estándar), que pueden o no generar la inhibición

de los hongos dentro de una cepa determinada, esto ayuda a determinar la concentración más mínima a la cual puede ser eliminada el hongo o las bacterias. (77)

- ♣ Esterilización: Es un procedimiento validado que se realiza con la finalidad de eliminar todo tipo de microorganismos vivientes o existentes en el medio. Se puede ejecutar a través de diferentes métodos (físicos, químicos o gaseosos). (76)
- ♣ Iritis: es la hinchazón e irritación (inflamación) en el anillo de color alrededor de la pupila del ojo (iris). (78)

CAPÍTULO III

MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 MATERIALES:

3.1.1. Material Biológico

3.1.1.1. Microorganismo de experimentación.

3.1.1.2. Mechones de cabello natural decolorado.

- *Malassezia furfur* ATCC14521.

3.1.1.3. Material botánico.

- Frutos de *Genipa americana* L. "Huito" obtenido del distrito de Echarati, provincia de la Convención del departamento del Cusco.

3.1.2. Materiales e instrumentos de laboratorio.

3.1.2.1. Material de campo.

- Bolsa de papel Craft.
- Bolsas de polietileno.
- Termómetro ambiental digital.
- Tijeras y cuchillo.
- Cámara Fotográfica Digital.
- Cuaderno de campo.
- Lápices y lapiceros.
- Reloj.
- Papel periódico reciclado.
- Cinta adhesiva.

3.1.2.2. Material de Laboratorio

- Pipetas.
- Vasos de precipitado.
- Balones.
- Placas Petri.
- Tubos de ensayo.
- Micropipetas.
- Discos de sensibilidad.
- Tips de 100UI.
- Viales.

- Probetas.
- Buretas.
- Espátulas.
- Pinzas estériles.
- Matraces de Erlenmeyer de 200, 500 y 1000 ml.
- Fiolas de 50 y 1000 ml.
- Goteros.
- Gradilla.
- Luna de reloj.
- Asa de siembra.
- Regla milimétrica.

3.1.2.3. Equipos (Especificaciones)

- Balanza Analítica con una capacidad de 210 g, resolución de 0,1 mg y sensibilidad de 1 mg
- Autoclave Modelo LS - BSOI - 1. Pres. Max. 0.22 Mpa, T° max. 134°C.
- Incubadora MERD, con un rango de temperatura desde 5°C temperatura ambiente hasta 60°C
- Baño maría.
- Refrigeradora Coldex hasta -20°C.
- pHmetro WMeters pH-009, rango 0.00- 14.00 pH, resolución 0.1 pH, precisión ±0.1 pH.
- Viscosímetro rotatorio Aton Paar ViscoQC™ con husillo N°3.
- Colorímetro Konica Minolta CR-400, área de medida de 8 mm.

3.1.2.4. Medios de Cultivo

- Agar Sabouraud
- Agar PCA
- Agar Mac KonKey
- Agar cetrimide
- Agar Manitol salado
- Caldo TSB
- Caldo CASO

3.1.2.5. Insumos para elaboración del shampoo

- Agua destilada (Vehículo).
- Sodio Lauril Sulfato 70%.

- Cloruro de sodio
- Butil hidroxil tolueno (BHT)
- Metil parabeno
- Dietanolamina de ácido graso de coco
- EDTA
- Trietanolamina
- Extracto del fruto de huito (Principio activo antimicótico).
- 3.1.2.6. Discos de sensibilidad y Shampoo Patrón
- Discos de sensibilidad de Ketoconazol.
- Shampoo Ketoconazol 2%- Formulario Magistral.
- 3.1.2.7. Reactivos y Solventes
- Alcohol 96°.
- Alcohol 70°.
- Agua destilada.
- Acetato de etilo Q.P.
- Acetona.
- Ácido clorhídrico concentrado.
- Ácido sulfúrico concentrado.
- Aceite de oliva.
- Cloroformo Q.P.
- Cloruro férrico al 1%.
- Éter etílico Q.P.
- Metanol.
- N- hexano Q.P.
- Propilenglicol.
- Reactivo de Bajlet.
- Reactivo de Felhing A y B.
- Reactivo de Shinoda.
- Reactivo de Dragendorff.
- Tween 80.
- 3.1.2.8. Materiales de Escritorio
- Laptop HP Pavilion.
- Hojas bond.
- Lapiceros.

- Resaltador.
- Cuaderno de apuntes.

3.1.2.9. Otros materiales

- Guantes estériles.
- Barbijo.
- Gorros.
- Algodón.
- Pabilo.
- Pinzas.
- Papel filtro.
- Papel aluminio.
- Cinta adhesiva.
- Secador de cabello
- Brochas
- Reglas milimétricas.
- Tijeras.
- Envases de vidrio color ámbar.
- Envases de plástico.
- Recipiente de plástico.

3.2 DISEÑO METODOLÓGICO:

TIPO DE ESTUDIO:

El presente estudio es del tipo experimental porque se manipuló como mínimo una variable independiente, y se estableció relación de causa efecto entre la concentración del extracto del fruto de *Genipa americana* L. "Huito" sobre el efecto antimicótico in vitro y de la capacidad de coloración capilar del tinte shampoo elaborado.

DISEÑO DE LA INVESTIGACION:

La investigación presente tiene un diseño cuasiexperimental, porque se manipuló la variable independiente de forma intencional y se realizó en grupos de muestra intactas de forma no aleatorizada. Las variables que se evaluaron fueron las concentraciones del extracto hidroalcohólico presentes en las formulaciones del tinte shampoo elaborado, en relación; a la actividad

antimicótica que demostraron frente a la cepa del hongo *Malassezia furfur* ATCC 14521 y a la capacidad de coloración en los mechones de cabello. (79)

3.2.2.1 DISEÑO DE PRUEBA ANTIMICÓTICA DEL EXTRACTO HIDROALCOHOLICO.

Diseño con post prueba únicamente y grupos intactos.

Cuadro 7: Diseño con posprueba únicamente y grupos intactos.

Grupo	Tratamiento experimental	Medición de la prueba		
G ₁₋₃	X ₁₋₃	O ₁	O ₂	O ₃
G ₄	X ₄	O ₄	O ₅	O ₆
G ₅	--	O ₇	O ₈	O ₉



Donde:

G₁₋₅: Placas petri con cepas estándar de *Malassezia furfur* ATCC 14521.

X₁₋₃: Discos de sensibilidad con diferentes concentraciones de extracto hidroalcohólico de *Genipa americana* L. “Huito”

X₄: Discos de sensibilidad de Ketoconazol 15 µg.

-- : Ausencia de estímulo (administración de agua destilada).

O₁, O₂, O₃ : Observación y medición de los halos de inhibición representados por los extractos hidroalcohólicos de *Genipa americana* L. “Huito”.

O₄, O₅, O₆ : Observación y medición de los halos de inhibición generados por el grupo patrón (Ketoconazol 15 µg.).

O₇, O₈, O₉ : Observación y medición de los halos de inhibición generados por el grupo ausente de principio activo (control).

Posteriormente se realizó la comparación de los resultados de los grupos tratados en la postprueba a través del análisis estadístico.

3.2.2.2 DISEÑO DE PRUEBA ANTIMICOTICA DEL TINTE SHAMPOO ELABORADO CON EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO.

Cuadro 8:. Diseño con postprueba únicamente y grupos intactos.

Grupo	Tratamiento experimental	Medición de la prueba		
G₁₋₃	X₁₋₃	O₁	O₂	O₃
G₄	X₄	O₄	O₅	O₆
G₅	--	O₇	O₈	O₉

Donde:



G₁₋₅: Placas petri con cepas estándar de *Malassezia furfur* ATCC 14521

X₁₋₃: Tinte Shampoo elaborado con extracto hidroalcohólico de *Genipa americana* L. “Huito” a diferentes concentraciones.

X₄: Shampoo Ketoconazol 2% - formulario magistral.

--: Shampoo control (sin componente activo).

O₁, O₂, O₃: Observación y medición de los halos de inhibición representada por el tinte shampoo elaborado con extracto hidroalcohólico de *Genipa americana* L. “Huito”.

O₄, O₅, O₆: Observación y medición de los halos de inhibición representada por el grupo patrón de Shampoo Ketoconazol 2% - formulario magistral.

O₇, O₈, O₉: Observación y medición de los halos de inhibición representada por el shampoo control (sin componente activo).

Posteriormente se realizó la comparación de los resultados de los grupos tratados en la postprueba a través del análisis estadístico.

3.2.2.3 DISEÑO DE CAPACIDAD DE COLORACIÓN CAPILAR DEL TINTE SHAMPOO ELABORADO CON EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO.

Cuadro 9: Diseño con postprueba de la capacidad de la coloración capilar.

Grupo	Tratamiento experimental	Medición de la prueba		
G ₁₋₃	X ₁₋₃	O ₁	O ₂	O ₃
G ₄	--	O ₄	O ₅	O ₆

Donde:



G₁₋₄: Mechones de cabellos decolorados.

X₁₋₃: Tinte Shampoo elaborado con extracto hidroalcohólico de *Genipa americana* L. "Huito" a diferentes concentraciones.

--: Shampoo control (sin componente activo).

O₁, O₂, O₃: Observación de la variación de coloración en los mechones de cabellos sometidos al tinte shampoo elaborado con extracto hidroalcohólico de *Genipa americana* L. "Huito".

O₄, O₅, O₆: Observación de la variación de coloración en los mechones de cabellos sometidos al shampoo control (sin componente activo).

Posteriormente se realizó la comparación de los resultados de los grupos tratados en la postprueba a través del análisis estadístico.

3.3 IDENTIFICACIÓN, DEFINICIÓN Y OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES

3.3.1 IDENTIFICACIÓN DE VARIABLES

VARIABLES INDEPENDIENTES:

Concentración del extracto hidroalcohólico de *Genipa americana* L.
"Huito"

Tinte shampoo elaborado en base al extracto hidroalcohólico de *Genipa americana* L. "Huito"

VARIABLE DEPENDIENTE:

Actividad antimicótica in vitro frente a la cepa *Malassezia furfur* ATCC 14521.

VARIABLES INTERVINIENTES:

De la especie vegetal

- Lugar de recolección
- Temporada de recolección
- Técnica de recolección
- Partes de la planta a estudiar
- Estadio del crecimiento.

Del hongo

- Medio de cultivo
- Cepas *Malassezia furfur* ATCC 14521
- Estadio de crecimiento.

De la formulación

- Color
- Olor
- Apariencia
- Determinación del pH
- Viscosidad

- Índice de espuma
- Estabilidad del color

3.3.2 DEFINICIÓN DE VARIABLES

Variables independientes

- Concentración del extracto hidroalcohólico del fruto de *Genipa americana* L. "Huito".

Definición Conceptual

Cantidad presente de la especie vegetal que está presente en un determinado porcentaje de alcohol para ejercer la acción farmacológica adecuada.

- Shampoo elaborado en base al extracto hidroalcohólico del fruto de *Genipa americana* L. "Huito".

Definición Conceptual

Producto elaborado que en la que se adaptan los principios activos y excipientes con la finalidad de formar un medicamento. (80)

Variables Dependientes

- Actividad antimicótica frente a la cepa de *Malasezia Furfur* ATCC 14521.

Definición Conceptual

Es la capacidad de evitar el crecimiento de hongos y en algunos casos provocando su muerte. (81)

3.3.3 OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES

3.3.3.1 Variables implicadas

3.3.3.1.1 Variables independientes

Concentración del extracto hidroalcohólico de *Genipa americana* L. "Huito".

- Naturaleza : Tipo cuantitativa
- Forma de medir : Directa
- Escala de medición : Razón
- Instrumento de medición : Micropipeta
- Procedimiento al medir : Pesar el extracto seco y disolver en etanol a diferentes concentraciones.
- indicador : porcentaje

- se expresa en : % en miligramos

Tinte shampoo elaborado en base al extracto acuoso de *Genipa americana* L.
“Huito”

- Naturaleza : Tipo cuantitativa
- Forma de medir : Directa
- Escala de medición : Razón
- Instrumento de medición : Micropipeta
- Procedimiento al medir : Pesar el extracto hidroalcohólico que se incluye a diferentes concentraciones en la formulación del tinte shampoo
- Indicadores : porcentaje :
- Expresión final : % en miligramos

3.3.3.1.2 Variables dependientes

Actividad antimicótica in vitro frente a la cepa *Malassezia furfur* ATCC 14521.

- Naturaleza : cuantitativa
- Forma de medir : Directa
- Escala de medición : Razón
- Instrumento de medición : Vernier
- Procedimiento de medición : Se procedió a medir los diámetros de los halos de inhibición del crecimiento que se forma después de realizar el sembrado del hongo.
- Indicadores : Diámetro del halo de inhibición del crecimiento del hongo.
- Expresión final : Diámetro del halo de inhibición del crecimiento del hongo.

3.3.3.2 Variables no implicadas

3.3.3.2.1 Variables intervinientes

De la especie vegetal

Lugar donde se recolectó: La planta de *Genipa americana* L. “Huito” se recolectó en el sector Sicllabamba de la provincia La Convención y departamento del Cusco a una altura de 2000 m.s.n.m. aproximadamente.

Temporada de la recolección: El fruto de *Genipa americana* L. “Huito” se recolectó durante los meses de enero y febrero.

Horario en la que se recolectó: La especie vegetal *Genipa americana* L. “Huito” se recolectó en horas de la mañana.

Técnica de recolección: se recolectó realizando cortes longitudinales del fruto.

Partes de la planta a estudiar: Se estudia el fruto

Estadio del crecimiento. : Especies inmaduras, en floración

Del hongo

Medio de cultivo : Se utilizó el medio de cultivo agar Sabouraud.

Hongo aislado : Cepas de hongos viables (*Malassezia furfur*) que se observaron en la placa Petri previamente identificadas.

Estado de crecimiento: Fase de crecimiento.

De la formulación

- **Color** : Se observó el color, se espera un color azul oscuro.
- **Olor** : Para analizar el olor del shampoo se sumergió un extremo de una tira de papel secante (1cm de ancho por 10cm de largo) al interior de la muestra y al sacarla se evaluó el olor desprendido.
- **Apariencia** : Se realizó un análisis del aspecto externo
- **Determinación del pH:** para este proceso se utilizaron las tiras de pH y se compararon con la escala de colores para determinar el pH.
- **Viscosidad** : Se midió directamente utilizando un viscosímetro rotacional.
- **Índice de espuma:** Se midió un mililitro de muestra en el tubo de ensayo, luego se agitó la muestra para luego medir la altura de espuma producida en 1 minuto, 3 y 5 minutos.
- **Estabilidad del color:** se analizó mediante exposiciones del tinte shampoo a la luz solar de forma indirecta por un periodo de 12 horas, donde se debe observar un color que se mantiene estable.

Tabla 1: OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES.

OPERACIONALIZACION DE VARIABLES IMPLICADAS								
INDEPENDIENTE								
Variables	Indicadores	Definición conceptual de los indicadores	Naturaleza del indicador	Forma de medición	Escala de medición	Instrumento	Procedimiento de medición	Expresión final
Concentración del extracto hidroalcohólico de <i>Genipa americana</i> L. "Huito"	Porcentaje de extracto hidroalcohólico obtenido	Es la obtención del principio activo de una planta o parte de ella por medio del proceso de extracción con etanol y/o agua, que presentan aroma y color característicos.	cuantitativa	Directa	Razón	Ficha de Recolección de Datos	Pesar el extracto seco y disolver en etanol a diferentes concentraciones.	% en mg.
Tinte shampoo elaborado en base al extracto hidroalcohólico	concentración del extracto hidroalcohólico	Es la cantidad del extracto hidroalcohólico que se encuentra en la	cuantitativa	Directa	Razón	Ficha de Recolección de Datos	Pesar el extracto hidroalcohólico que se incluye a diferentes	% en mg.

de <i>Genipa americana</i> L. "Huito"		formulación del tinte shampoo.					concentraciones en la formulación del tinte shampoo	
	Capacidad de coloración capilar.	Es una operación que se da por un agente externo para modifica el color natural o artificial del cabello, con fines estéticos.	Cuantitativa	Directa	Razón	Formato de registro de la coloración capilar.	Se procederá a medir la coloración de los cabellos, expuestos al tinte shampoo, con el instrumento.	Escala CIELAB
DEPENDIENTE								
Actividad antimicótica in vitro frente a la cepa <i>Malassezia furfur</i> ATCC 14521.	Diámetro del halo de inhibición.	Es una medida de la potencia del antimicótico frente al hongo.	cuantitativa	Directa	Razón	Ficha de registro de los halos de inhibición.	Se procederá a medir los diámetros de los halos de inhibición del crecimiento que se forma después de realizar el sembrado del hongo.	Diámetro del halo de inhibición del crecimiento del hongo (μm).

Tabla 2: VARIABLES NO IMPLICADAS

OPERACIONALIZACION DE VARIABLES IMPLICADAS	
VARIABLES INTERVINIENTES	
De la especie vegetal	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Lugar donde se recolectó ➤ Temporada de la recolección ➤ Horario en la que se recolectó ➤ Técnica de recolección ➤ Partes de la planta a estudiar ➤ Estadio del crecimiento
Del hongo	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Medio de cultivo ➤ Hongo aislado ➤ Estado de crecimiento
De la formulación	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Color ➤ Olor ➤ Apariencia ➤ Determinación del pH ➤ Viscosidad ➤ Índice de espuma ➤ Estabilidad del color

3.4 CRITERIOS DE INCLUSIÓN Y EXCLUSIÓN

3.4.1 CRITERIOS DE INCLUSION

a) De la especie vegetal

Se utilizó solo el fruto inmaduro de la planta que no presentó daño evidente, haciendo una selección.

b) Del hongo

Se utilizó solo la cepa de la especie *Malassezia furfur* ATCC 14521.

c) De la formulación

Se escogió la formulación de tinte shampoo, elaborado a partir del extracto hidroalcohólico de *Genipa americana* L. "Huito" que fue más estable.

3.4.2 CRITERIOS DE EXCLUSIÓN

d) De la especie vegetal

No se tomó en cuenta las hojas y el tallo, de igual forma los frutos dañados con parásitos o los que presentaron contaminantes.

e) Del hongo

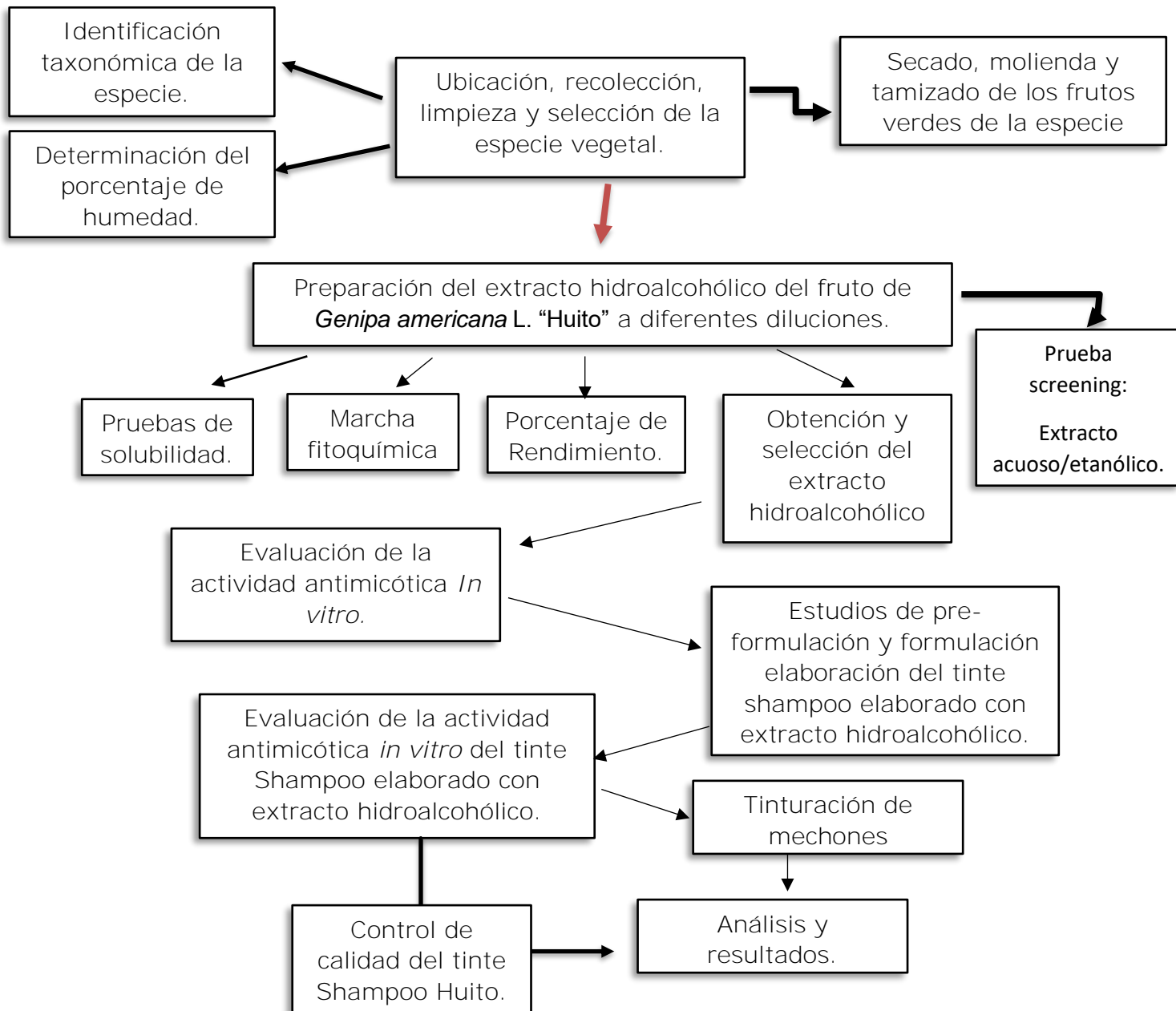
No se utilizaron las cepas contaminadas o que no cumplieron las especificaciones de las características fundamentales de la cepa.

f) De la formulación

Se excluyeron formulaciones del tinte shampoo que presentaron inestabilidad durante el periodo del control de calidad.

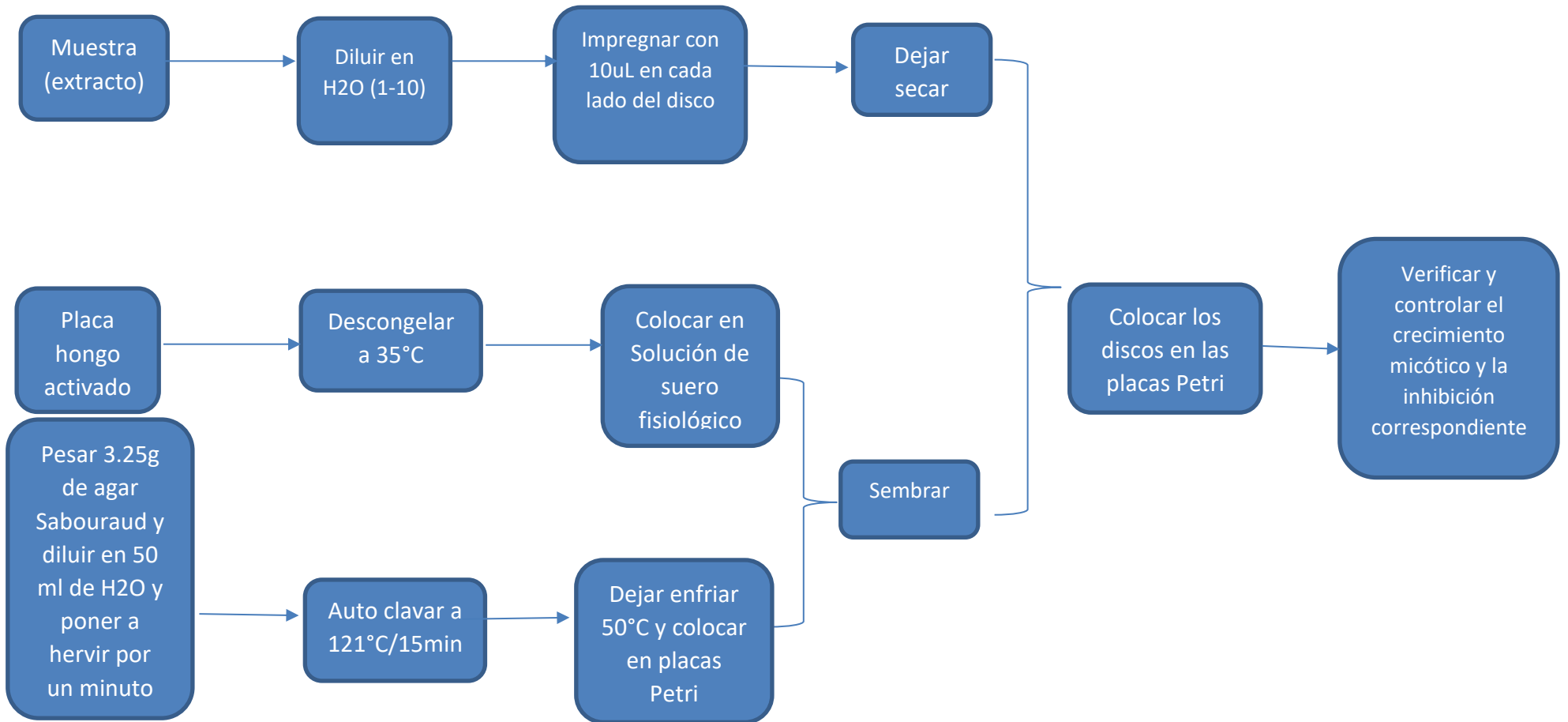
3.5 PROCEDIMIENTO

Flujograma 1: Procedimiento general.



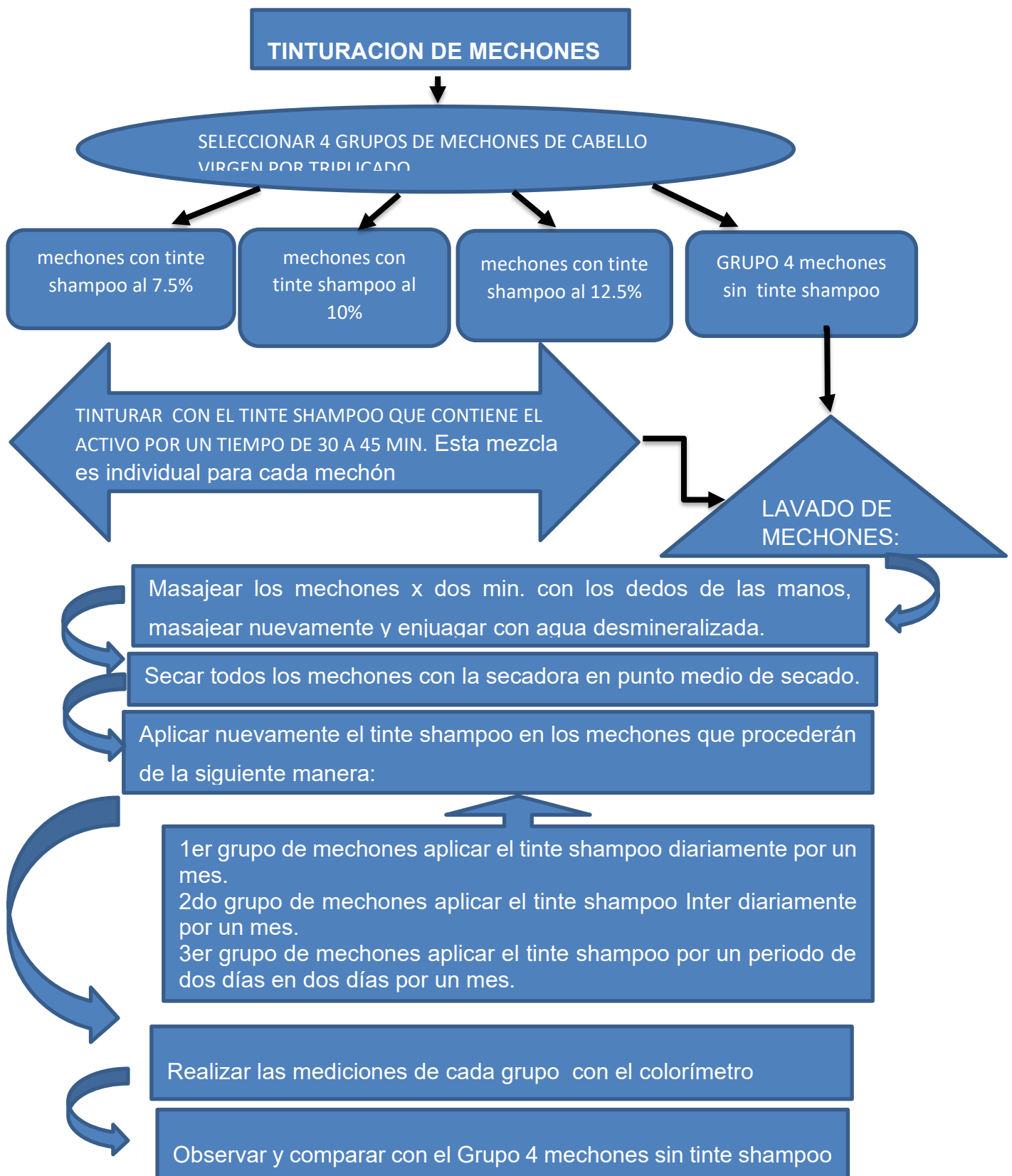
Fuente: Elaboración propia.

Flujograma 2: Evaluación de la actividad antimicótica in vitro del tinte Shampoo elaborado con extracto hidroalcohólico.



Fuente: Elaboración propia.

Flujograma 3: Evaluación de la capacidad de coloración capilar.



Fuente: Elaboración propia.

3.5.1. RECOLECCIÓN DE LA MUESTRA VEGETAL

Se recolectaron los frutos verdes de *Genipa americana* L. “Huito” del sector Sicllabamba, distrito de Echarati, provincia de la Convención a 1000 m.s.n.m., departamento de Cusco tomándose en cuenta los criterios de inclusión y exclusión.

3.5.2. DETERMINACIÓN DE LA IDENTIDAD DE ESPECIE LA ESPECIE VEGETAL

Para obtener la certificación botánica por el Herbario “Vargas” se llevó la muestra (fruto y hojas) del árbol de *Genipa americana* L. “Huito” a la facultad de ciencias biológicas de la Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco donde se analizó por un especialista botánico responsable del área.

3.5.3. MOLIENDA DE LA MUESTRA VEGETAL

Luego de haber sido escogida e identificada la muestra vegetal se procedió a realizar cortes longitudinales, lo suficientemente delgados para ser secada en el laboratorio de la escuela profesional de Biología y se conservó en papel periódico hasta la eliminación completa de agua para proceder con la molienda, este proceso de secado duro como dos semanas aproximadamente.

3.5.4. PORCENTAJE DE HUMEDAD

Para determinar el porcentaje de humedad se escogió tres frutos de *Genipa americana* L. “Huito” de tamaño regular con un peso semejante, tomando un peso inicial, luego se colocaron a la estufa a la temperatura de 40°C hasta que mantengan un peso constante, finalmente se calculó el porcentaje de humedad mediante la siguiente fórmula: (1)

$$\%H = \frac{P1 - P2}{P1} * 100$$

Ecuación N°1 cálculo del porcentaje de humedad.

En donde:

- %H** = Porcentaje de Humedad
- P1** = Peso inicial del fruto fresco
- P2** = Peso del fruto seco

3.5.5. OBTENCIÓN DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO

En la obtención del extracto hidroalcohólico se maceró la muestra con etanol al 70%, durante 20 días.

El tipo de extracción es sólido-líquido. La parte molida fue envasada en recipientes color ámbar y sometidas a maceración en soluciones hidroalcohólicas al 70%, durante 20 días a temperatura ambiente. Luego de este periodo, se empezó con el filtrado envasando a vasos precipitados (forrados) y evaporándolos en baño maría a 40°C aproximadamente. (9)

3.5.6. PRUEBAS DE SOLUBILIDAD

En este ensayo se colocaron 100mg de extracto seco aproximadamente en varios tubos de ensayo, luego se les añadió 1 ml de soluciones de disolventes con diferente grado de polaridad: agua destilada, metanol, etanol (al 40%, 70%, 96%), acetona, acetato de etilo, cloroformo, benceno y hexano. (82)

3.5.7. ANALISIS FITOQUÍMICO CUALITATIVO

El extracto hidroalcohólico obtenido fue analizado mediante una marcha fitoquímica para la determinación de los metabolitos secundarios. (83)

Cuadro 10: Análisis Fitoquímico Cualitativo.

REACTIVO	METABOLITOS SECUNDARIOS
Lieberman- Burchard	Esteroides
Cloruro férrico 1%	Compuestos Fenólicos
Reacción de Shinoda	Flavonoides
Borntrager	Quinonas
Gelatina	Taninos
Ácido sulfúrico concentrado	Saponinas
Fehling A y Fehling B	Azúcares Reductores
Molisch	Glicósidos
Ninhidrina	Aminoácidos
Dragendorf	Alcaloides

Fuente: Adaptado de Rengifo, Diana. Estudio fitoquímico cualitativo preliminar y cuantificación de flavonoides y taninos del extracto etanólico de hojas de *Desmodium vargasianum* Schubert (2018).

3.5.8. PRE- FORMULACION DEL TINTE SHAMPOO

INSUMOS:

Tabla 3: Formulación del tinte shampoo.

Materia Prima	Función
Lauril Sulfato de Sodio	Tensioactivo aniónico
Dietanolamina de ácido graso de coco	Tensioactivo no ionico
EDTA	Quelante
BHT	Antioxidante
Cloruro de sodio	Espesante
Metilparabeno	Preservante
Extracto de Huito	Principio activo
Trietanolamina	Ajuste de Ph
Agua	Vehículo

Nota: La Tabla muestra los componentes de la formulación del tinte shampoo

MODUS OPERANDI:

- Colocar Lauril Sulfato de Sodio, metilparabeno, EDTA, BHT, Dietanolamina de ácido graso de coco em agua caliente a 55°C hasta completar solubilidad (agitar y no formar espuma).
- Enfriar.
- Colocar el extracto de *Genipa americana* L. "Huito" a la mezcla.
- Cambiar a pH= 7 con trietalonamina.
- Completar con agua destilada a 100 ml.
- Adicionar NaCl hasta espesar.

3.5.9. DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIMICÓTICA

En la actualidad tenemos varios métodos que determinan el efecto antimicótico de las plantas medicinales, pero los métodos más aplicados son: de difusión y dilución. (84)

3.5.9.a MÉTODO DE DIFUSIÓN AGAR

El fundamento de este método se basa en la colocación de discos (de papel filtro), que ya estén con la muestra antifúngica o muestra vegetal, en la parte

superficial de placas con agar Sabouraud que contiene cepas de la especie *Malassezia furfur* previamente ya sembradas. Una vez que el disco este impregnado con la superficie del agar el filtro del disco absorbe el agua y a la misma vez difunde al antifúngico por el agar; creando un “gradiente de concentración”, pasados un día o dos días de incubación en la placa se pueden observar que los discos estén rodeados por una zona de color claro casi transparente que indica la inhibición del crecimiento del hongo *Malassezia furfur*.
(85)

Procedimiento

a. Pasos para preparar el inóculo y sembrar:

- Se inicia a partir de un cultivo puro que haya sido incubado desde hace 24 h a 37°C, se coge la cepa con un asa de siembra para suspender en un tubo de ensayo que contiene 5ml de solución salina.
- Luego homogenizar y mezclar para ajustar la turbidez según la escala de Mc Farland a 0,5 (que equivale a $1 \times 10^6 - 5 \times 10^6$ UFC/ml).
- Realizar el sembrado cuidadosamente en la placa de agar Sabouraud de forma uniforme, en toda la superficie de la placa, en tres distintas direcciones; para evitar la humedad se debe colocar la placa con la tapa arriba por lo menos unos 10- 15 minutos, el tiempo prolongado puede generar contaminación durante el secado.
- finalmente colocar el disco, que contenga el antimicótico o la muestra a probar, de manera equidistante.

b. Pasos para la colocar los discos e incubar:

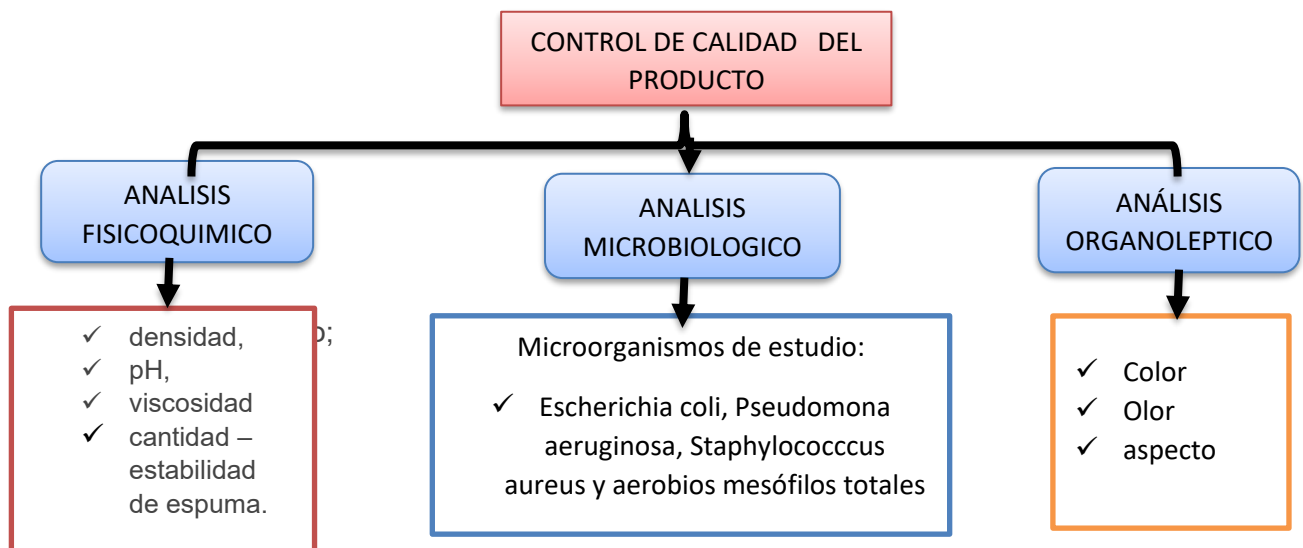
- Una vez esterilizados los discos se colocan a temperatura ambiente por un tiempo de 10 a 15 minutos.
- Colocar los discos en la superficie del agar de la placa anteriormente ya sembrada con la cepa y fijar presionando ligeramente con la pinza en el centro del disco.
- Al colocar los discos se debe tener como referencia una distribución de 20mm al borde de la placa y una distancia de 40mm de separación entre sí.

- Se debe esperar 10 a 15 minutos con la tapa hacia arriba dejando a temperatura ambiente, para luego proceder con la incubación.
- Dejar en la incubadora a temperatura de 37°C las placas de forma invertida con los discos ya impregnados por 24h.
- Si en el periodo de 24 horas no se logra observar claramente los halos se debe alargar el tiempo de incubación hasta las 72 horas para poder evaluar hongos que tienen un crecimiento más lento.

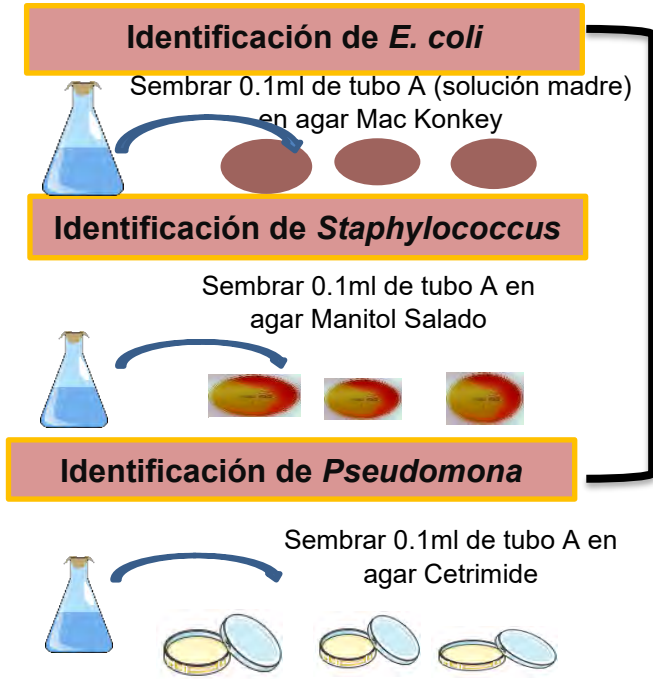
C. Observación de los halos de inhibición:

- Para recoger los resultados se deben medir los halos, formados al exterior de los discos, con un vernier o regla milimétrica; en la zona de inhibición se puede observar también colonias con un crecimiento inhibido con un diámetro menor al de las colonias externas, en este caso también se consideran estas colonias dentro del halo de inhibición.

CONTROL DE CALIDAD DEL TINTE SHAMPOO ELABORADO CON EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DE *Genipa americana* L. “HUITO”.

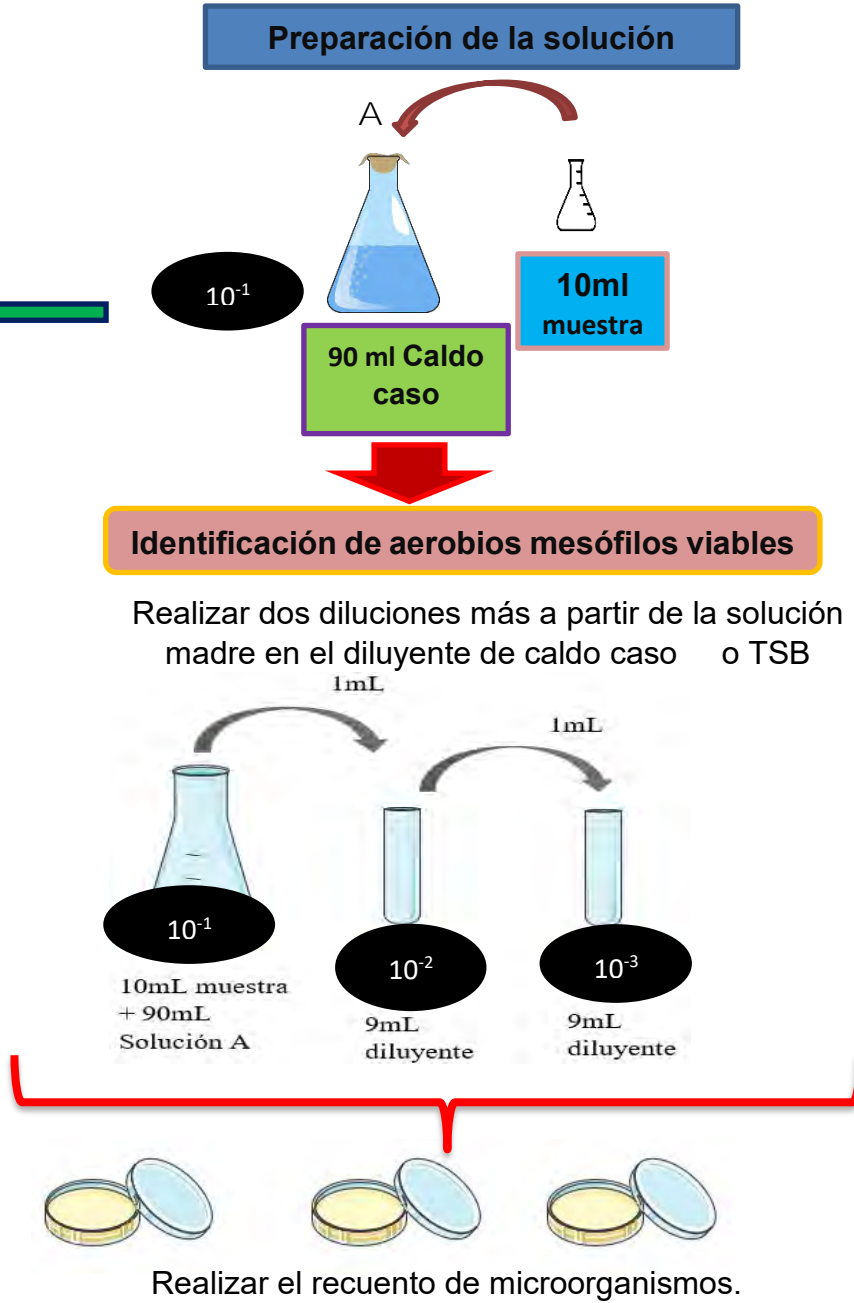


Flujograma 4: Control de calidad microbiológico.



Sembrar 0.1 mL de cada disolución en agar PCA, cada uno por triplicado.

Fuente: Elaboración propia



3.5.10. CONTROL MICROBIOLÓGICO:

DEL TINTE SHAMPOO ELABORADO A PARTIR DEL HIDROALCOHÓLICO AL 70% DE *Genipa americana* L. "Huito".

Para el análisis microbiológico se tomaron en cuenta los criterios y especificaciones de la USP 40.

Se analizaron cuatro microorganismos: (86)

- ❖ *Escherichia coli*
- ❖ *Pseudomona aeruginosa*
- ❖ *Aerobios mesófilos totales*
- ❖ *Staphylococcus aureus*

3.5.11. TINTURACION DE MECHONES

PROCEDIMIENTO: Se selecciona 4 mechones (transparencia de cabello virgen), luego se tintura con el tinte shampoo que contiene el activo realizando una mezcla. Durante un tiempo de 30 minutos a 45 minutos. Esta mezcla es individual para cada mechón. (23)

3.5.12. LAVADO DE MECHONES:

- Una vez tinturado los mechones se procede a masajear los mechones durante dos minutos con los dedos de las manos, masajear nuevamente y enjuagar con agua desmineralizada.
- Proceder a secar todos los mechones con la secadora en punto medio de secado.
- Aplicar nuevamente el tinte shampoo en los mechones que procederán de la siguiente manera:
 - o 1er grupo de mechones aplicar el tinte shampoo diariamente por un mes (30 lavados).
 - o 2do grupo de mechones aplicar el tinte shampoo interdiariamente por un mes (15 lavados).
 - o 3er grupo de mechones aplicar el tinte shampoo por un periodo de dos días en dos días por un mes (10 lavados).
- Realizar las mediciones de cada grupo con el colorímetro.
- Observar y comparar con el Grupo 4 (mechones sin tinte shampoo).

3.5.13. MEDICION COLORIMÉTRICA

Para analizar el color se utilizó el colorímetro marca Minolta CR-400, que tiene como fundamento medir el color mediante la escala CIELAB empleando las coordenadas L^* , a^* , b^* . Donde:

-Coordenada L^* : Indica la claridad del color, sus valores van en un intervalo de 0 hasta 100, el valor más próximo a cero genera un color más oscuro de tonalidad.

-Coordenada a^* : Esta coordenada indica la variación de color que va de rojo a verde, los valores se encuentran en el eje horizontal, donde los valores mayores a cero tienden al color rojo y los valores menores a cero tienden a una coloración verde.

-Coordenada b^* : Se encuentra en el eje vertical, los colores varían del amarillo al azul, a medida que aumenta el valor numérico a partir del cero genera una tendencia al color amarillo y cuando disminuyen estos valores por debajo de cero el color tiende al azul. (23)

3.6 TÉCNICAS E INSTRUMENTOS PARA LA RECOLECCIÓN DE DATOS

✚ Técnicas para la recolección de datos

Para realizar la investigación se emplearon técnicas de observación experimental en laboratorio como: crecimiento micótico, variaciones de las características organolépticas, fisicoquímicas, microbiológicas y determinación del color instrumental.

✚ Instrumentos para la recolección de datos

Para la determinación de porcentaje de humedad. (**Anexo N°4**)

Para la determinación del porcentaje de extracción. (**Anexo N°5**)

Para la determinación de la actividad antimicótica del extracto hidroalcohólico de Huito. (**Anexo N°6**)

Para las pruebas fisicoquímicas de la formulación tinte shampoo. (**Anexo N°7**)

Para la actividad antimicótica del tinte shampoo de Huito. (**Anexo N°8**)

Para el control de estabilidad acelerada a corto plazo. (**Anexo N°9**)

Control de calidad microbiológico. (**Anexo N°10**)

Control de toxicidad ocular en conejos expuestos al tinte shampoo. (**Anexo N°11**)

Coloración de mechones con tinte shampoo. (**Anexo N°12**)

3.7 MÉTODOS PARA EL PROCESAMIENTO DE LA INFORMACIÓN Y ANÁLISIS DE RESULTADOS

El método que se empleó mediante la estadística inferencial, para el análisis de resultados que se obtuvieron en la determinación de la actividad antimicótica tanto de la especie vegetal y del tinte shampoo, fue el paquete estadístico “Statistical Package for Social Sciences” (SPSS) versión 25. En el procesamiento de variables cuantitativas se realizó mediante Prueba “t” de Student para determinar si hay una diferencia significativa entre las medias de dos grupos.

Para el análisis de los resultados de la coloración capilar en los mechones, se utilizó el programa estadístico EXCEL.

CAPITULO IV

ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

4.1. DE LA PREPARACIÓN DE LA MUESTRA

4.1.1 RECOLECCIÓN DE LA MUESTRA

Los frutos de *Genipa americana* L. “Huito” se recolectaron durante el mes de febrero del año 2020, en el sector de Sicllabamba del distrito de Echarati, provincia La Convención del departamento del Cusco, a una altura de 2000 m.s.n.m. aproximadamente; según Miranda (2015) indica que la etapa de producción del fruto se da entre los meses de setiembre a abril después de la etapa de floración, por lo cual la fecha de recolección fue adecuada por estar dentro de estos meses.

4.1.2. SECADO DE LA PLANTA

En el proceso de secado, se realizó una selección de los frutos recolectados, escogiendo los frutos inmaduros en buen estado, sin plagas ni las que demuestren algún daño, para luego cortarlas longitudinalmente y secarlas a 40°C; según Reinoso (2006), la temperatura óptima para evitar alguna alteración en los metabolitos presentes en órganos carnosos de la planta debe ser desde 30°C a 40°C como máximo, no siendo conveniente una mayor temperatura para evitar que se alteren los órganos de la planta (87).

4.1.3. PORCENTAJE DE HUMEDAD

Cuadro 11: Determinación de porcentaje de Humedad.

Peso de fruto <i>Genipa americana</i> L. “Huito”	TIEMPO								Porcentaje de humedad (%)
	24 h	48 h	72 h	96 h	120 h	144 h	168 h	192 h	
Peso 1: 135.091g	104.28	91.70	70.57	34.08	26.80	26.34	26.12	26.12	80.66
Peso 2: 108.31g	77.06	63.54	46.92	23.30	20.60	20.35	20.24	20.24	81.31
Peso 3: 124.72g	94.2	82.74	63.16	32.77	23.08	22.88	22.71	22.71	77.78
Promedio de % de humedad del fruto de <i>Genipa americana</i> L. “Huito”									79.92

Fuente: Datos experimentales del estudio.

El cuadro N° 11 nos muestra los resultados obtenidos del porcentaje humedad, después de haber realizado el secado en horno a 40 °C durante siete días, obteniendo un promedio de 79.92% (porcentaje de humedad); según Rivas (2014) el porcentaje de Humedad de *Genipa americana* L. “Huito” (fruto verde) que se obtuvo en su estudio fue de 72 % a 45°C, el porcentaje de humedad en nuestro estudio es mayor que puede deberse a la temperatura de secado y a la diferente ubicación geográfica de la planta (88).

Este valor nos indica que para obtener mayor cantidad de muestra seca necesitamos mayor cantidad de muestra fresca por su gran contenido de agua en el fruto.

4.2. PORCENTAJE DE RENDIMIENTO DE EXTRACCIÓN

Tabla 4: Determinación del porcentaje de extracción.

		Concentraciones Hidroalcohólicas		
		40%	70%	90%
Pesos		1	1	1
Pi:	Peso inicial (muestra vegetal)	10g	10g	10g
Pf:	Peso final (extracto seco)	3	3.94	2.91
%R:	Porcentaje de rendimiento	30.00%	39.40%	29.10%

Fuente: Datos experimentales del estudio.

Análisis, interpretación y discusión:

La tabla N° 4 nos presenta el porcentaje de extracción obtenida por maceración del fruto de *Genipa americana* L. “Huito” con etanol de 40°, 70° y 90° hasta agotamiento; resultando una extracción de 30%, 39.40% y 29.10% respectivamente. Este valor permite determinar que la concentración hidroalcohólica de 70° presenta mayor porcentaje de extracción. Además, nos indica la cantidad de muestra vegetal necesaria, para la realización de los diferentes ensayos del trabajo de investigación y que hay buena cantidad de materia prima, para la elaboración del tinte shampoo.

Quispe Leoncio Solis (2014) en su investigación acerca de la extracción y caracterización fisicoquímica del colorante de *Genipa americana* L. "Huito" en el distrito de Tambopata, determinó un porcentaje de extracción de 33.26% del extracto hidroalcohólico al 90%, 0.82% del extracto hidroalcohólico del 70% y un 16.43% del extracto acuoso. (26) En el presente trabajo hay un mayor porcentaje de extracción en las tres concentraciones y aún más al del 70 %, a pesar de ser la misma especie, esto podría deberse a la variación geográfica del lugar de crecimiento de la planta en estudio.

4.3. DETERMINACIÓN DE LAS PRUEBAS DE SOLUBILIDAD

Tabla 5: Resultados de la prueba de solubilidad.

DISOLVENTE	Solubilidad		
	40%	70%	90%
H ₂ O	+++	+++	+++
ETANOL 40%	+++	+++	+++
ETANOL 70%	+++	+++	+++
ETANOL ABSOLUTO	+++	++	+++
ACETONA	+	+	+
ETER ETILICO	-	+	-
ACETATO DE ETILO	-	+	-
CLOROFORMO	-	-	-
HEXANO	-	-	-

Fuente: Datos experimentales del estudio.

LEYENDA:

+++ : Muy soluble

++ : Soluble

+ : Poco soluble

- : Insoluble

Análisis e interpretación

El tabla N° 5 muestra los resultados del extracto hidroalcohólico al 40%, 70% y 90% de *Genipa americana* L. "Huito" frente a diferentes solventes de polaridad descendente.

Se observa que las tres concentraciones hidroalcohólicas presentan mayor solubilidad en solventes polares, en especial son muy solubles en agua, lo que favorece su incorporación en la formulación del tinte shampoo. Según el investigador Penalter et al. (1996), concluyó también que hubo buena extracción

del colorante de Genipapo en agua y etanol, dando un color azul intenso a una temperatura de 80°C, mas no hubo extracción con hexano por lo cual afirmó que el colorante es polar. (89)

En el estudio de Miranda P. emplearon tres niveles de disolvente (agua, solución acuosa de etanol al 75% y etanol al 95%) donde observaron variaciones en la coloración a diferente pH y temperatura observando un color azul oscuro, que tiraba negro y esto les permitió escoger un disolvente alcohólico en lugar de agua, ya que la eliminación de agua se da en mucho tiempo y el proceso es caro. (8)

4.4. ANÁLISIS FITOQUÍMICO CUALITATIVO

Cuadro 12: Análisis Fitoquímico Cualitativo del extracto al 70% de Genipa americana L. “Huito”.

METABOLITOS SECUNDARIOS	REACTIVO	70%
FLAVONOIDES	Shinoda	+
	Vapores de NH ₃	+
FENOLICOS	FeCl ₃	++
QUINONAS	Börntragner	++
TANINOS	FeCl ₃ 1%	++
AZUCARES REDUCTORES	Fheling	+++
GLICOSIDOS	Fheling	++
ALCALOIDES	Dragendorff	++
SAPONINAS	Prueba de espuma	-
LACTONAS	Balget	+++
SESQUITERPENICAS		
ESTEROIDES	Liberman-Burchar	-

Fuente: Laboratorio Fitoquímica de la Universidad Nacional de San Antonio Abad Del Cusco.

LEYENDA:

- +++: Muy abundante
- ++: Abundante
- +: Poco abundante
- : negativo

INTERPRETACIÓN Y ANÁLISIS

La detección de metabolitos secundarios se realizó mediante reactivos de identificación específicos para cada familia de compuesto, obteniéndose en algunas pruebas coloraciones específicas y siendo otras de precipitación.

De acuerdo con el cuadro N° 12 se determinó muy abundante presencia de azúcares reductores, y lactonas sesquiterpénicas. En abundante cantidad la presencia de compuestos fenólicos alcaloides, quinonas, glicósidos y taninos. En pequeña presencia de flavonoides. En ausencia de saponinas y esteroides.

La abundante presencia de lactonas contribuye a determinar su efecto antimicótico de nuestro tinte shampoo elaborado a partir de esta planta *Genipa americana* L. "Huito". (90)

La presencia abundante de glucosidos nos indican la presencia de genipina y genipósido (iridoides) , favoreciendo a la coloración azul. (29)

Según Martínez (2016) en su investigación se obtuvo gran presencia de azúcares reductores, flavonoides y taninos, También presentó una cantidad regular de quinonas casi igual al obtenido en nuestra investigación y así como una mínima cantidad de alcaloides comparando lo con el nuestro que presentamos una mayor cantidad en este metabolito. (8)

4.5. DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIMICÓTICA

4.5.1 ENSAYO DE LA SENSIBILIDAD MICÓTICA DE LA PRUEBA PILOTO SOBRE CEPAS DE *Malassezia furfur* ATCC 14521

4.5.1.1 RESULTADO DE LOS DIÁMETROS DE INHIBICIÓN DE LA PRUEBA PILOTO DE LA ACTIVIDAD ANTIMICÓTICA DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO AL 70% DE *Genipa americana* L. "HUITO"

Tabla 6: Resultados de la prueba piloto del extracto hidroalcohólico al 70% de *Genipa americana* L. "Huito".

Concentración %	Diámetro del halo de Inhibición (mm) en cepas de <i>Malassezia furfur</i> ATCC 14521			
	I	II	III	Promedio
40	7.5	7.52	7.79	7.60
70	21.34	19.78	21.01	20.71
90	6.09	8.23	7.6	7.31

Fuente: Datos experimentales propios del estudio.

Leyenda:

I: Primer grupo de halos

II: Segundo grupo de halos

III: Tercer grupo de halos

INTERPRETACIÓN Y ANÁLISIS

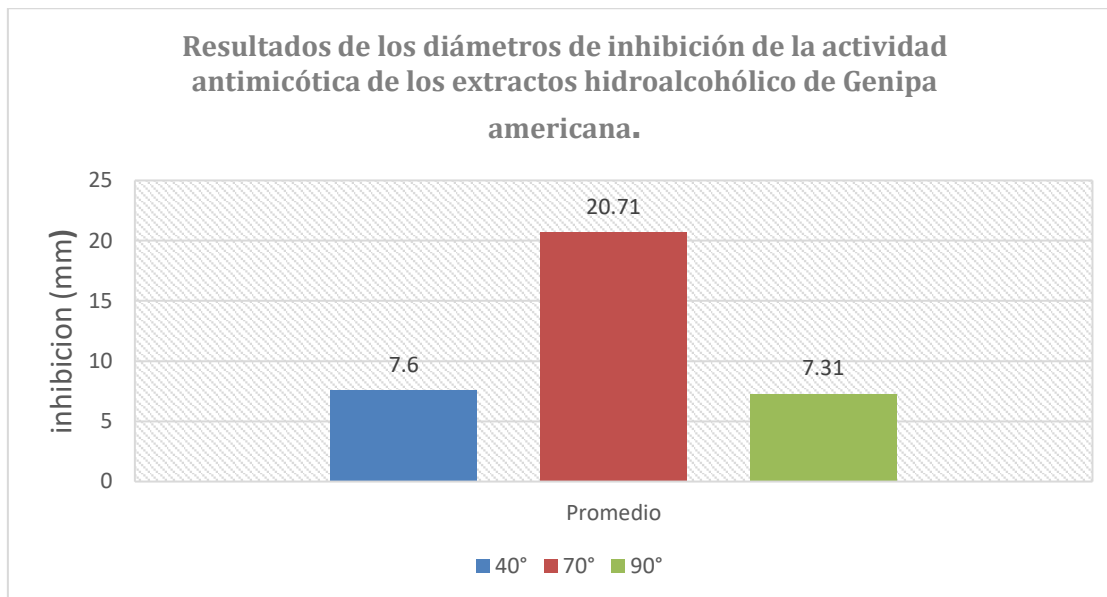
En la Tabla N°6 se encuentran los resultados de los diámetros de los halos de inhibición obtenidos de la prueba piloto de la evaluación del extracto hidroalcohólico al 70% sobre cepas de *Malassezia furfur* ATCC 14521. Se observa que el extracto hidroalcohólico presenta un halo mínimo de inhibición de 7.31mm en promedio a una concentración al 90%.

Los halos de inhibición máximos que se obtuvieron fueron de 20.71mm en promedio a una concentración al 70%, pero a concentraciones mayores se obtienen halos de inhibición menores. De esta manera se evidencia que el extracto hidroalcohólico al 70% del fruto de *Genipa americana* L. "Huito", posee actividad antimicótica *in vitro* sobre las cepas de *Malassezia furfur* ATCC 14521. Esta prueba se realizó para elección de la concentración considerada óptima, para el siguiente paso que es la elaboración de la forma cosmética, se observa una similitud entre las concentraciones al 40° y 90°, lo cual se va a discernir mediante un análisis estadístico y revisión de bibliografía.

Según Jáuregui Zela (2018) en su investigación encontró que en el extracto de la raíz tuberosa de Sacha Paraccay presento un diámetro de inhibición de 18 mm, siendo menor el halo en comparación con el diámetro de inhibición de nuestra formulación que fue de 20.71 mm (extracto hidroalcohólico con alcohol al 70%).

ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LA ACTIVIDAD ANTIMICÓTICA DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO AL 70% DE *Genipa americana* L. “Huito” SOBRE CEPAS DE *Malassezia furfur* ATCC 14521.

Gráfico 1: Resultados de los diámetros de inhibición de la actividad antimicótica de los extractos hidroalcohólico de *Genipa americana* L. “Huito”.



Fuente: propios del estudio.

ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN

En el grafico N° 1, se observa que el extracto hidroalcohólico extraído con alcohol a 70° presenta mayores diámetros en los halos de inhibición, siendo el que nos brinda mayor eficacia del efecto antimicótico ante el hongo *Malassezia furfur*, en comparación con las otras concentraciones de extracto. Por ello elegimos el extracto al 70% para nuestra formulación de tinte shampoo.

Tabla 7: Prueba estadística T de Student de la actividad antimicótica de los extractos hidroalcohólicos de *Genipa americana* L. “Huito”.

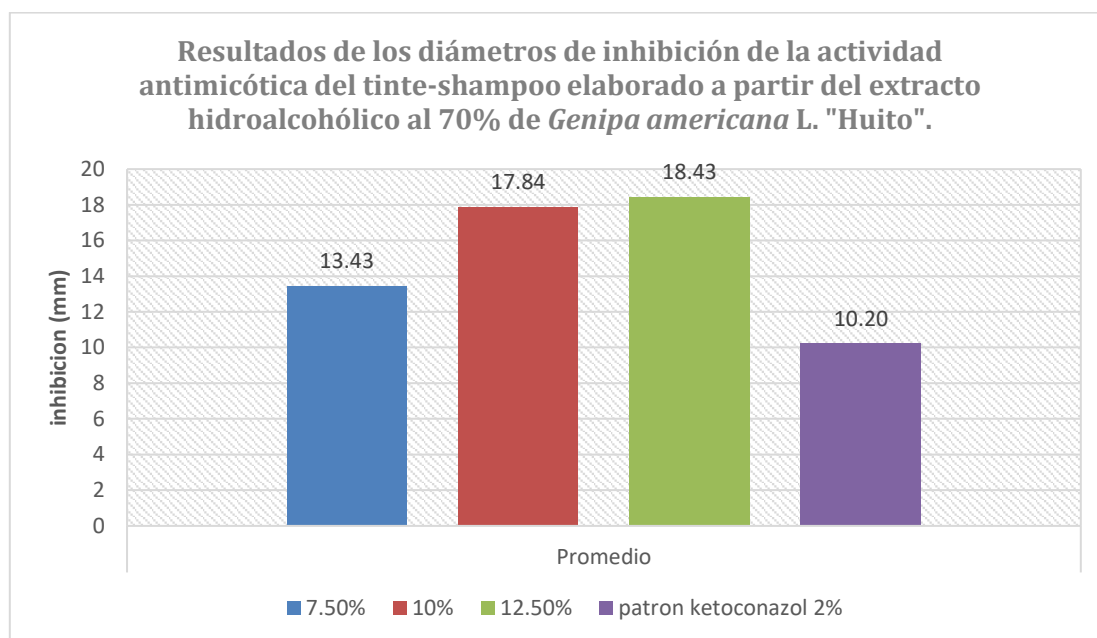
Prueba para una muestra						
	Valor de prueba = 0					
	T	gl	Sig. (bilateral)	Diferencia de medias	95% de intervalo de confianza de la diferencia	
					Inferior	Superior
HINB_DE_HONG	2,687	2	0,115	11,87333	-7,1406	30,8873

Fuente: Valores brindados por el programa estadístico SPSS versión 25

ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN

En la tabla N° 7, se obtuvo estadísticamente en el programa SPSS, mediante la prueba estadística T de Student el valor de $P=0.115$ (significancia bilateral) de los resultados de la prueba antimicótica de los extractos extraídos con alcohol 40°, 70° y 90°; lo cual nos indica que todos los extractos presentan actividad antimicótica, siendo esta la hipótesis nula, la cual es aceptada debido a que el valor de p es mayor a 0.05 (grado de error), notándose una alta variación de las medias en los resultados.

Gráfico 2: Resultados de los diámetros de inhibición de la actividad antimicótica del tinte-shampoo elaborado a partir del extracto hidroalcohólico al 70% de *Genipa americana* L. "Huito".



Fuente: propios del estudio.

ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN

En el gráfico N° 2 se muestra los resultados de inhibición del tinte shampoo a diferentes concentraciones de extracto (7.5%, 10% y 12.5%) y del patrón (shampoo de ketoconazol al 2%); donde se observa que la formulación al 10% de extracto presenta halos de inhibición con una diferencia mínima al de la formulación al 12.5% de extracto, también presenta una diferencia significativa en los halos de inhibición en comparación con el shampoo patrón (Ketoconazol 2%) y con la formulación al 7.5% de extracto. Escogiendo la formulación al 10%

de extracto por ser más óptimo como tinte shampoo antimicótico utilizando una menor cantidad de extracto de *Genipa americana* L. “Huito”.

Cuadro 13: Prueba estadística ANOVA de la actividad antimicótica de los del tinte-shampoo elaborado a partir del extracto hidroalcohólico al 70% de *Genipa americana* L. “Huito”.

ANOVA					
HINB_DE_HONG	Suma de cuadrados	Gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	117,172	2	58,586	.	.
Dentro de grupos	,000	0	.	.	.
Total	117,172	2	.	.	.

Fuente: Valores brindados por el programa estadístico SPSS versión 25

En test de Anova no muestra el estadístico F ni el P value por los reducidos grados de libertad. En consecuencia, respaldamos la investigación con la prueba T menciona a continuación. Para muestras dependientes o relacionadas es recomendable usar la prueba de t de student, así determinar si hay relación entre estas muestras. (91)

Tabla 8: Prueba estadística T de Student de la actividad antimicótica del tinte shampoo elaborado a partir del extracto hidroalcohólico al 70% de *Genipa americana* L. “Huito”.

Prueba para una muestra						
	Valor de prueba = 0					
	T	Gl	Sig. (bilateral)	Diferencia de medias	95% de intervalo de confianza de la diferencia	
					Inferior	Superior
PROMEDIO	7,705	3	0,005	14,97500	8,7895	21,1605

Fuente: Valores brindados por el programa estadístico SPSS versión 25

En tabla N° 8, se obtuvo estadísticamente en el programa SPSS, mediante la prueba estadística T de Student el valor de $P=0.005$ (significancia bilateral) de los resultados de la prueba antimicótica de las formulaciones del tinte shampoo (7.5%, 10% y 12.5%) y del patrón (shampoo de ketoconazol al 2%); lo cual nos indica que no todos los shampoos presentan la misma actividad antimicótica, siendo esta la hipótesis alterna; por consiguiente rechazamos la hipótesis nula

(todos presentan la misma actividad antimicótica), la cual es no aceptada, debido a que el valor de p es menor a 0.05 (grado de error), notándose una alta variación de las medias en los resultados.

4.6. FORMULACIÓN Y ELABORACIÓN DE LA FORMA COSMÉTICA CON EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO AL 70% DE *Genipa americana* L. “HUITO” A TRES DIFERENTES CONCENTRACIONES.

Tabla 9: Resultados de pruebas fisicoquímicas a la formulación de tinte shampo a tres diferentes concentraciones de extracto.

Pruebas	7.5%	10%	12.5%
pH	6	6	6
Color	++	+++	+++
Olor	+	++	++
Formación de espuma	5cm	5cm	5cm
Facilidad de incorporación de insumos	Buena	Buena	Buena
Homogeneidad	Homogénea	Homogénea	Homogénea
Formación de precipitado	No precipita	No precipita	Si precipita después de una semana

LEYENDA:

Valoración	Aspecto	Color (Negro-azul)	Olor (Característico a Huito)
+	Líquido	Suave	Ligero
++	Viscoso	Moderado	Tenue
+++	Sólido	Intenso	Intenso

Fuente: Elaboración propia del estudio

ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN

En la tabla N° 9 se muestra los resultados de las pruebas fisicoquímicas de la formulación del tinte shampoo a tres diferentes concentraciones de extracto, donde se observa que las tres formulaciones presentan similares características fisicoquímicas presentándose pequeñas variaciones como en la coloración; siendo menos intensa la formulación de 7.5% que los otros dos formulaciones; también se presentó una precipitación en la formulación del 12.5% después de una semana, lo cual no hubo en las otras dos formulaciones; por lo tanto se eligió la formulación al 10 % porque presentar mejores características fisicoquímicas.

4.7. RESULTADO DE LOS DIÁMETROS DE INHIBICIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIMICÓTICA DEL TINTE SHAMPOO ELABORADO CON EL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO AL 70% DE *Genipa americana* L. “HUITO”

Tabla 10: Resultados de los diámetros de inhibición de la actividad antimicótica del tinte shampoo elaborado con el extracto hidroalcohólico al 70% de *Genipa americana* L. “Huito”.

Concentración %	Diámetro del halo de Inhibición (mm) en cepas de <i>Malassezia furfur</i> ATCC 14521			
	I	II	III	Promedio
7.50%	11.29	14.13	14.87	13.43
10%	19.12	16.94	17.45	17.84
12.50%	19.28	17.79	18.23	18.43
patrón ketoconazol 2%	11.31	9.93	9.36	10.20

Fuente: Elaboración propia del estudio

ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN

En la Tabla N° 10 se observan los resultados descriptivos de los diámetros de los halos de inhibición del efecto antimicótico de la formulación farmacéutica del tinte shampoo elaborado con extracto hidroalcohólico al 70% de *Genipa americana* L. “Huito”, en tres concentraciones que se incorporaron a la formulación del tinte shampoo, y del shampoo patrón de Ketoconazol al 2%.

Se puede observar que la concentración del 10 % y 12.5 % presentan mejor actividad antimicótica frente a *Malassezia furfur*.

Según Jáuregui Zela (2018) en su investigación encontró que su formulación de shampoo elaborado a partir de la raíz tuberosa de Sacha Paraccay presentó un diámetro de inhibición de 36mm, siendo mayor el halo en comparación con el diámetro de inhibición de nuestra formulación al 10% que fue de 17.84 mm.

Según los criterios expuestos por Espinosa T. (2017) para la susceptibilidad antimicótica el ketoconazol como medicamento inhibe al hongo *Malassezia furfur* en un rango intermedio de 15 a 25 mm, lo cual indica que nuestro tinte shampoo 10% presenta un halo de inhibición de 17.4mm, siendo una inhibición intermedia al comparar con el dato teórico.

4.8. CONTROL DE CALIDAD DEL TINTE SHAMPOO ELABORADO A PARTIR DEL EXTRACTO HIDROALCOHOLICO DEL FRUTO DE *Genipa americana* L. “HUITO”

4.8.1. CONTROL DE ESTABILIDAD

Tabla 11: Resultados de control de estabilidad acelerada a corto plazo.

T I E M P O	pH			Aspecto			Color			Olor			Viscosidad (mPa) 12 rpm		
	4°C	20- 25°C	40°C	4°C	20- 25°C	40°C	4°C	20- 25°C	40°C	4°C	20- 25°C	40°C	4°C	20-25°C	40°C
0	6	6	6	++	++	++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	4849	4849	4849
3	7	6	7	+++	++	+	+	+++	+++	+	+++	+++			
7	7	6	6	+++	++	+	+	+++	+++	+	+++	+++	4749	-----	4849
10	7	6	6	+++	++	+	+	+++	+++	+	+++	+++			
15	7	6	6	+++	++	+	+	+++	+++	+	+++	+++			

LEYENDA:

Valoración	Aspecto	Color (Negro-azul)	Olor (Característico a Huito)
+	Líquido	Plomo	Ligero
++	Viscoso	Plomo- azul	Tenue
+++	Sólido	Negro- azul	Intenso

Fuente: propio del estudio.

ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN

En la tabla N° 11 se muestran los resultados de estabilidad acelerada de la formulación final expuesta a tres temperaturas diferentes (4°C, 20- 25°C y 40°C) durante quince días. Donde se observó que el pH se mantuvo dentro de los parámetros normales (pH 6-7) a las tres temperaturas; en cuanto al aspecto se observó una solidificación a temperatura de 4°C, se mantuvo viscoso a temperatura ambiente y se observó mayor fluidez(liquido) a temperatura de 40°C; en la coloración se observó que a 4°C el color varía de negro-azul a plomo, manteniendo una coloración constante a temperatura ambiente y de 40°C; el olor es característico al fruto de *Genipa americana* L. "Huito" en todas las temperaturas, pero se evidencia una ligera disminución del aroma a temperatura de 4°C.

En los resultados de viscosidad a temperatura ambiente se mantiene constante, habiendo una variación a las temperaturas de 4°C y 40°C.

Teniendo en cuenta que la comisión de la comunidad andina en la Decisión 833 "Armonización de legislaciones en materia de Productos Cosméticos", en el artículo 3 indica que "Los productos cosméticos que se comercialicen dentro de la Subregión no deberán perjudicar la salud humana cuando se apliquen en las condiciones normales o razonablemente previsibles de uso, teniendo presente particularmente, la presentación del producto, su etiquetado y las eventuales instrucciones de uso y eliminación, así como cualquier otra indicación o información que proceda del fabricante o del responsable de comercialización del producto". (86)

4.8.2. CONTROL DE CALIDAD MICROBIOLÓGICO

Tabla 12: Resultados de control de calidad microbiológico según parámetros de la comunidad andina.

ÁREA DE APLICACIÓN		RESULTADOS	LÍMITES DE ACEPTABILIDAD
Productos cosméticos susceptibles a contaminación microbiológica	Mesófilos aerobios totales	0×10^3 UFC/ml	Límite máximo 5×10^3 UFC/g o ml.
	<i>Pseudomona aeruginosa</i>	Ausencia	Ausencia en 1 g o ml
	<i>Staphylococcus aureus</i>	Ausencia	Ausencia en 1 g o ml.
	Coliformes totales y fecales	Ausencia	Ausencia en 1 g o ml.

Fuente: Modificado de la comunidad andina

ANÁLISIS E INTERPRETACION

En la tabla N°12 se observan los resultados de la ausencia total de patógenos en la formulación final de tinte shampoo elaborado a partir del extracto del fruto de *Genipa americana* L. "Huito". Al comparar con los límites permisibles dados por la Comunidad Andina, encontramos que el tinte shampoo presenta inocuidad por no evidenciarse ningún tipo de crecimiento de los microorganismos estudiados, por lo cual se determina que el tinte shampoo elaborado a partir del fruto de *Genipa americana* L. "Huito" cumple con los parámetros microbiológicos establecidos.

4.8.3. CONTROL DE SENSIBILIDAD OCULAR

Tabla 13: Resultados de control de toxicidad ocular del tinte shampoo en conejos.

			TIEMPO DE OBSERVACION				No se requirió realizar hasta los 7 días porque a las 72 ya ninguno presentaba alteraciones oculares
			1h	24h	48h	72h	
CONEJO N°1 565g	CÓRNEA	OPACIDAD	1	1	1	0	
		ULCERACIÓN	0	0	0	0	
	CONJUNTIVA	INFLAMACIÓN	1	1	0	0	
		IRRITACIÓN	2	2	1	0	
IRIS	IRITIS	1	1	0	0		
CONEJO N°2 481g	CÓRNEA	OPACIDAD	1	1	0	0	
		ULCERACIÓN	0	0	0	0	
	CONJUNTIVA	INFLAMACIÓN	1	0	0	0	
		IRRITACIÓN	2	0	0	0	
IRIS	IRITIS	1	0	0	0		
CONEJO N°3 456g	CÓRNEA	OPACIDAD	1	1	0	0	
		ULCERACIÓN	0	0	0	0	
	CONJUNTIVA	INFLAMACIÓN	1	0	0	0	
		IRRITACIÓN	2	1	0	0	
IRIS	IRITIS	1	0	0	0		
CONEJO N°4 474g	CÓRNEA	OPACIDAD	1	1	0	0	
		ULCERACIÓN	0	0	0	0	
	CONJUNTIVA	INFLAMACIÓN	1	0	0	0	
		IRRITACIÓN	2	0	0	0	
IRIS	IRITIS	1	0	0	0		

Escala de puntuación:

I. CORNEA (total de lesiones corneales $a \times b \times 5 = 80$)		
a.- Grado de opacidad	Opacidad ligera	1
	Áreas opacas diseminadas	2
	Áreas translucidas con iris visible	3
	Opacidad completa con iris invisible	4
b.- Extensión de la opacidad	Más de $\frac{1}{4}$ del área total	1
	Más de $\frac{1}{4}$ y menos de $\frac{1}{2}$ del área	2
	Menos de $\frac{3}{4}$ y más de $\frac{1}{2}$ del área	3
	Más de $\frac{3}{4}$ del área total	4
II. IRIS (Total de lesiones iridianas $a \times 5 = 10$)		
a.- Evaluación de las lesiones	Con alteración, pero reaccionando a la luz	1
	Lesionados hasta que no reaccionan a la luz	2
III. CONJUNTIVA (total de lesiones en la conjuntiva $(a \times b \times c) \times 2 = 20$)		
a.- Enrojecimiento	Vasos enrojecidos sobre lo normal	1
	Enrojecimiento moderado	2
	Enrojecimiento difuso intenso	3
b.- Edema	Edema ligero, incluyendo la membrana nictitante	1
	Edema con eversión parcial del párpado	2
	Edema con párpados cerrados a la mitad	3
	Edema con párpados totalmente cerrados	4
c.- Secreción	Secreción ligera	1
	Secreción moderada en ambos párpados	2
	Secreción en ambos párpados y alrededores	3

Fuente: Adaptado de MINSAs "Diseño e interpretación de pruebas farmacológicas en control de calidad" (1997) (92)

ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN

Según la tabla N° 13, se observa que todos los conejos presentaron enrojecimiento e irritación ocular moderado los dos primeros días, inflamación del párpado inferior (donde fue administrado) y pequeñas alteraciones en el iris con reacción a la luz; lo cual indica que la reacción más grave presente en esta prueba es la irritación en la conjuntiva, desapareciendo todos estos antes del tercer día. Al comparar con el cuadro de valoración de puntos del MINSAs (1997)

se determina que el tinte shampoo produce pequeñas lesiones que están dentro del margen de seguridad para Shampoos.

Para el manejo de los conejos en laboratorio se realizaron de acuerdo a la “Guía de manejo y cuidado de animales de laboratorio: Conejo”. (93)

4.9. COLORACIÓN DE MECHONES DE CABELLOS DECOLORADOS SOMETIDOS AL TINTE SHAMPOO ELABORADO APARTIR DEL EXTRACTO HIDROALCOHOLICO DEL FRUTO DE *Genipa americana* L. “HUITO”

Tabla 14: Resultados de la coloración en mechones de cabello decolorados sometidos al tinte shampoo elaborado a partir del extracto hidroalcohólico del fruto de *Genipa americana* L. “Huito”.

MUESTRA	TIEMPO DE COLORACION (días)	L*	a*	b*
BLANCO	0	93.07	0.42	2.78
DECOLORADO	0	55.4	7.32	22.01
7.50%	1	51.73	7.1	18.78
	2	54.74	6.65	19.43
	3	56.9	6.82	20.65
10%	1	46.93	7.35	16.83
	2	50.45	6.99	17.16
	3	54.94	6.45	18.37
12.50%	1	47.24	7.46	14.52
	2	48.69	7.25	15.86
	3	52.27	6.23	16.54

Fuente: Elaboración propia del estudio

Leyenda:

L*=luminosidad

a*= coordenadas rojo/verde (+a indica rojo, -a indica verde)

b* = coordenadas amarillo/azul (+b indica amarillo, -b indica azul)

ANALISIS E INTERPRETACION DE RESULTADOS

En la tabla N° 14 se muestra los resultados de la coloración, de las diferentes concentraciones del tinte shampoo frente al tiempo que fueron sometidos los mechones de cabellos decolorados, siendo estos cada día (1), cada dos días (2) y cada tres días (3), por media hora y finalmente lavarlo, obteniendo que L^* , a^* y b^* varían de forma considerable en relación a los datos obtenidos del cabello decolorado y una coloración más oscura, también se observa que cuando la exposición del cabello al tinte shampoo es más constante (cada día) el cambio de coloración es mayor.

Cuando L^* (luminosidad), es mayor que cero la coloración tiende a mayor claridad, pero cuando es menor que cero tiende a oscurecer por consiguiente cuando disminuye este valor el color se oscurece; Cuando a^* , es mayor a cero tiende al color rojo, pero cuando es menor que cero tiende al color verde y por consiguiente los mechones sometidos con nuestro producto no presenta una variación considerable de cambio de color en este rango en comparación con los mechones decolorados; Cuando b^* , es mayor a cero tiende al color amarillo, en cambio cuando b^* es menor a cero tiende al color azul, por consiguiente los mechones sometidos al tinte shampoo presentan una disminución considerable de este valor lo que demuestra la tendencia hacia el color azul en comparación con los mechones decolorados.

Según Arroyo Figueroa (2019) en su investigación donde evaluó la coloración en mechones de cabello de tinte shampoo elaborado con el extracto del insecto grana cochinilla, obteniendo la disminución en el valor de L^* (luminosidad) de 22.30 (control) a 15.14 (tinte shampoo) lo cual coincide con nuestros resultados, porque el valor del control fue 55.4 disminuyendo hasta 46.9 (tinte shampoo 10%, cada día/ 30 min.).

CONCLUSIONES

1. El extracto hidroalcohólico al 70% extraído del fruto inmaduro de *Genipa americana* L. "Huito" y la formulación del Tinte Shampoo elaborado a partir del extracto hidroalcohólico al 70% extraído del fruto inmaduro de la *Genipa americana* L. "Huito" al 10% presentan actividad antimicótica.
2. La formulación del Tinte Shampoo al 10% elaborado a partir del extracto hidroalcohólico al 70% extraído del fruto inmaduro de la *Genipa americana* L. "Huito" al 10% presenta la capacidad de coloración capilar.
3. Se logró obtener el 39.40% de extracto seco hidroalcohólico del fruto de *Genipa americana* L. "Huito" por maceración con alcohol al 70% siendo esta cantidad mayor a lo extraído con los alcoholes al 40% y 90%, presentando el extracto al 70% una solubilidad total en agua y abundante cantidad de lactonas sesquiterpénicas, azúcares reductores y gran cantidad de taninos.
4. El extracto hidroalcohólico del fruto de *Genipa americana* L. "Huito" frente a la cepa de *Malassezia furfur* ATCC 14521 extraído con alcohol a 70% presentó mayor halo de inhibición (20.71 mm) que los extraídos a 40% y 90% (7.6mm y 7.31 mm respectivamente).
5. La mejor formulación del tinte shampoo a partir del extracto hidroalcohólico del fruto *Genipa americana* L. "Huito" fue con 10% de extracto a 70% en la formulación por presentar mayor estabilidad en sus características fisicoquímicas y organolépticas.
6. De la formulación elegida a tres diferentes concentraciones del extracto, el tinte shampoo elaborado al 10% del extracto hidroalcohólico extraído con alcohol a 70% del fruto de *Genipa americana* L. "Huito" presentó un óptimo halo de inhibición (con menor cantidad de extracto en la formulación) de 17.34mm frente a la cepa de *Malassezia furfur* ATCC 14521 en comparación a los halos obtenidos de la formulación con extracto al 7.5% y 12.5% siendo estos valores de 13.43mm y 18.43mm respectivamente.
7. El tinte shampoo elaborado al 10% del extracto hidroalcohólico extraído con alcohol a 70% del fruto de *Genipa americana* L. "Huito", no presentó bacterias, inestabilidad ni variaciones fisicoquímicas (a temperatura

ambiente), pero presentó irritación ocular moderada por dos días, dentro de los rangos de seguridad.

8. El tinte shampoo elaborado al 10% del extracto hidroalcohólico extraído con alcohol a 70% del fruto de *Genipa americana* L. "Huito" presentó variación de color en mechones de cabello decolorado sometidos diariamente por media hora durante un mes, que se percibió por el ojo humano un oscurecimiento en el color, comprobada esta variación con el colorímetro triestímulo mediante la escala CIElab, con los resultados obtenidos en las dimensiones; L* de 55.4 (mechón decolorado) a 46.93 (mechón sometido al tinte shampoo al 10%); a* de 7.32 (mechón decolorado) a 7.35 (mechón sometido al tinte shampoo al 10%); b* de 22.01 (mechón decolorado) a 16.83 (mechón sometido al tinte shampoo al 10%).

SUGERENCIAS

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

- ✓ Fomentar la investigación en plantas naturales de la región a nivel de todas las carreras involucradas en la salud.
- ✓ Implementar el área de control microbiológico para evitar contaminación cruzada en los productos elaborados en el laboratorio de Tecnología Farmacéutica.

A LOS DOCENTES DE LA ESCUELA PROFESIONAL DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA

- ✓ Capacitar a los alumnos en el manejo y cuidado de los equipos y reactivos que hay en los diferentes laboratorios.
- ✓ Fomentar a la investigación y elaboración de productos cosméticos a base de los diferentes recursos naturales del departamento del Cusco.
- ✓ Incentivar a la investigación de nuevas tendencias metodológicas para la elaboración de productos farmacéuticos y cosméticos.

A LOS ESTUDIANTES DE LA ESCUELA PROFESIONAL DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA

- ✓ Continuar investigando las diferentes propiedades que presenta el fruto de *Genipa americana* L. "Huito" para elaborar nuevos productos naturales.
- ✓ Realizar la marcha fitoquímica cuantitativa para especificar la cantidad de los metabolitos presentes responsables de sus propiedades medicinales.
- ✓ Realizar investigaciones en plantas medicinales de las que aún no se tiene conocimientos amplios ni certificados sobre sus usos tradicionales.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Jauregui S, Cardona A, Frisancho Z, De Oliveira P. Evaluación de la actividad antimicótica del extracto hidroalcohólico in vitro de la raíz tuberos de Sacha -Paraccay (*colignonia parviflora* var. *biumbellata* Rafinesque) frente a *Malassezia furfur* cepa ATCC 14521 y formulación de shampoo anticaspa. tesis. Cusco: Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco, Farmacia y Bioquímica. FAR T 375.
2. Quiroa Y. Determinacion de Sustancias Toxicas Usadas en la Industria de Teñido de Cabello y las Consecuencias que Producen a la Salud en la Region Callao..
3. García G. Biblioteca USAC. [Online].; 2017. Acceso 20] de Diciembre de 2019. Disponible en: http://Biblioteca.usac.edu.gt/tesis/06/06_2996.pdf.
4. Ramírez Y, Ramírez Y. Universidad de Guadalajara Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias. [Online].; 2015. Acceso 5] de 12 de 2019. Disponible en: http://repositorio.cucba.udg.mx:8080/xmlui/bitstream/handle/123456789/5988/Ramirez_Cervantes_Yesica_Yazmin.pdf?sequence=1&isAllowed=y.
5. Garrote A. Cosmetica capilar de tratamiento en alteraciones del cabello y cuero cabelludo. [Online].; 2008. Acceso 10] de diciembre de 2019. Disponible en: http://www.dfarmacia/ctl_serblet? f=3781d=13116881.
6. Guillén J. Todo Dermo. [Online]; 2015. Acceso 12] de diciembre de 2019. Disponible en: <https://www.correofarmaceutico.com/tododermo/enfermedades-de-la-piel/causas-caspa-combatirla.html>.
7. Instituto Médico Dermatológico. ¿Qué es la caspa y porqué sale? pagina web.
8. Miranda C, Guilliana D. Repositorio Institucional de la Universidad Nacional Amzónica de Madre de Dios. [Online]. Puerto Maldonado; 2015. Acceso 10] de Diciembre de 2019. Disponible en: <http://repositorio.unamad.edu.pe/handle/UNAMAD/72>.
9. Ayala E. Efecto antiinflamatorio del extracto hidroalcohólico del fruto de *Genipa americana* "Wito" en animales de experimentación. Tesis.
10. Laura A, Gonzales D. Factores que influyen en el comportamiento del consumidor de los centros de estética en la ciudad del Cusco en el año 2018. [Online].; 2019. Acceso 13] de Diciembre de 2019. Disponible en: <http://repositorio.unsaac.edu.pe/handle/UNSAAC/4451>.
11. Comunicación intercultural para un mundo más humano y diverso. Ucayali: Proyecto aprovechará el huito como tinte natural. [Online]; 2018. Acceso 3]

- de Diciembre de 2020. Disponible en: <https://www.servindi.org/actualidad-noticias/02/03/2018/proyecto-aprovechara-el-huito-como-tinte-natural>.
12. Inga L, Araca A. CONCYTEC. [Online]; 2013. Acceso 5] de Junio de 2020. Disponible en: <http://www.concytec.gob.pe/eureka/index.php/component/content/article/93-ganadores-regionales/186-region-lima-metropolitana>.
 13. Machado G. Quinoa (*Chenopodium quinoa*), Amaranto (*Amaranthus caudatus*) y Arginina como ingredientes protectores en tintes para cabello. [Online].; 2015. Acceso 16] de DICIEMBRE de 2019. Disponible en: <https://dspace.ups.edu.ec/handle/123456789/7790>.
 14. Lady Fitness. tendencias- belleza. [Online]; 2017. Acceso 13] de enero de 2020. Disponible en: https://www.vitonica.com/?utm_source=tendencias&utm_medium=network&utm_campaign=favicons.
 15. Benaigesa A. Tintes capilares: Evolución histórica y situación actual. elsevier. 2014; 26(10).
 16. Braman N. Historia de los colores de tinte para el cabello. [Online]; 2017. Acceso 15] de diciembre de 2019. Disponible en: http://www.ehowenespanol.com/historia-colores-tinte-cabello-sobre_102819/.
 17. AVON- México. Belleza por un propósito. [Online]; 2016. Acceso 14] de enero de 2019. Disponible en: <http://bellezaporunproposito.mx/conoce-la-historia-del-shampoo/>.
 18. L'OREAL- Paris. L'OREAL. [Online]; 2019. Acceso 13] de enero de 2020. Disponible en: <https://www.loreal-paris.com.mx/Beauty-Library/Articles/historia-tinte-del-cabello>.
 19. Vidal D. FitobellPeru: Tinte de Huito. [Online]; 2017. Acceso 13] de diciembre de 2019. Disponible en: ["/>https://www.fitobellperu.com/wp-content/uploads/2017/03/TINTE-DE-HUITO-1080x675.jpeg" alt="Tinte de Huito – Producto Natural – FitobellPeru" width='1080' height='675' />](https://www.fitobellperu.com/wp-content/uploads/2017/03/TINTE-DE-HUITO-1080x675.jpeg).
 20. Tenesaca S. Elaboracion de cosméticos decorativos a partir de frutos verdes de Genipa americana L. [Online].; 2012. Acceso 16] de Diciembre de 2019. Disponible en: <http://dspace.esPOCH.edu.ec/handle/123456789/2022>.
 21. Sarayva de Assis C. Repositorio Institucional UFRN. [Online].; 2015. Acceso 16] de diciembre de 2019. Disponible en: <https://repositorio.ufrn.br/jspui/handle/123456789/20796>.
 22. Martinez A. UNIANDES. [Online].; 2016. Acceso 14] de Abril de 2021. Disponible en:

<https://dspace.uniandes.edu.ec/bitstream/123456789/4782/1/PIUABQF008-2016.pdf>.

23. Arroyo G. Calidad y solidez de un producto cosmético elaborado con el extracto del insecto grana cochinilla. *Journal of Agro-Industry Sciences*. 2019; I(1).
24. Ayala C, Castillo E. Desarrollo de un tinte cosmético a base de semilla de *Bixa orellana* L. (Bixaceae) y evaluación de su efecto in vitro. *Scientia Agropecuaria*. 2018; IX(1).
25. Sánchez J. Repositorio UNAP. [Online].; 2018. Acceso 16] de Diciembre de 2019. Disponible en: <http://repositorio.unapiquitos.edu.pe/handle/UNAP/5567>.
26. Quispe R, Paredes Y, Solis L. Extracción y caracterización fisicoquímica del colorante de huitón (*Genipa americana*) en el distrito de Tambopata. *Biodiversidad Amazonica*. 2014; IV(4).
27. Silva L, Andrea B, Betancourt R. Cosméticos capilares a partir de materias primas naturales a partir de origen vegetal. *Alerta Tecnológica*. 2013; I(1).
28. Silva L. Capítulo III Patentes de cosméticos capilares con ingredientes bioderivados. *Boletín Tecnológico Cosméticos Capilares*. 2012; V(1).
29. Náthia G, Nogueira G. Identificación y cuantificación de genipina y genipósido de *Genipa americana* L. por HPLC-DAD usando una columna de núcleo fusionado. *Ciencia de los alimentos*. 2018; XXXVIII(1).
30. Hirsche L. Cultivo e aproveitamento do jenipapo. *Bahia Agrícola*. 2001; 4(3).
31. Attokaran M. *Natural Food Flavors and Colorants*. Segunda ed. Iowa, USA: Wiley-Blackwell; 2017.
32. Sevilla E. Epidemiología de la caspa. *Revista Tecnología Autónoma*. 2013; XIV(18).
33. Leranoz S. La caspa: causas y tratamiento. *Revista Dermo Farmacia*. 1999; XXII(9).
34. Acedo F. Epidemiología de la caspa: Provocado por *Malassezia* presente en el cuero cabelludo sano que crece de forma descontrolada causante de la irritación en la piel, que acelera la renovación celular en el cuero cabelludo. *Diario Siglo XXI*. 2015; XVII(13).
35. Ferreira L, Escalante A, Escobar R. Epidemiología de la caspa seca y grasa: Una afección del cuero cabelludo. *Revista Dermatológica*. 2005; XVI(13).

36. Sanchez L, Sénz E. Infecciones cutaneas bacterianas. Revista Dermatología Peruana. 2006; XVI(1).
37. Giusiano G. Malassezia: Estado del conocimiento y perspectivas en su estudio. Revista Argentina de Microbiología. 2006; XXXVIII(1).
38. Hernández F, Méndez L, Bazán E. Especies de Malassezia asociadas a diversas dermatosis y a piel sana en población mexicana. Iberoam Micol. 2003; XX(1).
39. Salah S, Makni F, Marrakchi S. Identification of Malassezia species from Tunisian patients with pityriasis versicolors and normal subjects. Mycoses. 2005; XLVIII(4).
40. Krisanty R, Bramono K, Made I. Identification of Malassezia species from pityriasis versicolor in Indonesia and its relationship with clinical characteristics. Mycoses. 2009; LII(3).
41. Estrada G, Ramirez M. Micología General. Primera ed. Castaño C, editor. Manizales- Caldas: Universidad Católica de Manizales; 2019.
42. Deacon J. Introduccion a la Micología Moderna. segunda ed. México: Limusa; 1993.
43. Alulena A. Repositorio Institucional de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. [Online].; 2010. Acceso 20] de Diciembre de 2019. Disponible en: <http://dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/734/1/56T00252.pdf>.
44. Cheraandiz C. Dermatología Clínica. Segunda ed. Madrid: Elsevier; 2001.
45. Chavez J. Repositorio Institucional de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. [Online].; 2013. Acceso 20] de Diciembre de 2019. Disponible en: <http://dspace.esPOCH.edu.ec/handle/123456789/2558>.
46. Wilkinson M. Cosmetología de Harry. Primera ed. Madrid: Díaz de Santos; 1990.
47. Toruño M, Ulloa A. Repositorio UNAN Leon. [Online].; 2005. Acceso 20] de Diciembre de 2019. Disponible en: <http://riul.unanleon.edu.ni:8080/jspui/bitstream/123456789/1987/1/195692.pdf>.
48. Terrones M, Terrones J. Efecto anticasca del shampoo preparado a base del decocto de Lupinus mutabilis Sweet "Chocho" e infusión de Salix humboldtiana Willdenow "Sauce" en las adolescentes de la Casa Hogar de la Niña Belén Urrelo UPAG, editor. Cajamarca: Tesis; 2017.
49. Silva P. Farmacología. Octava ed. G K, editor. Rio de Janeiro: Saraiva; 2010.

50. Vives E. Farmacología II. Drogas Antimicóticas.
51. Llana B. Dirección General. [Online].; 2015. Acceso 20] de Diciembre de 2019. Disponible en: <http://www.digemid.minsa.gob.pe/UpLoad/UpLoaded/PDF/Establecimientos/Reuniones/Reunion I/I Control de Calidad.pdf>.
52. ONUDI. Recomendaciones para el desarrollo de estudios de estabilidad de productos cosméticos. Tercera ed. SAFE P, editor. Bogota- Colombia: ISBN; 2018.
53. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Guia para Avaliação de Segurança de Produtos Cosméticos. Segunda ed. Brasília: Anvisa; 2012.
54. Agencia Nacional de Vigilancia Sanitaria- Brasilia. Guía de Estabilidad de Productos Cosméticos. Cosméticos. 2015; I(1).
55. Brown T. Química: La ciencia central. Tercera ed. México D.F.: programas educativos S.A de C.V.; 1987.
56. División de Alimentos, Medicamentos y Cosméticos. Manual de microbiología aplicada a las industrias farmacéutica, cosmética y de productos médicos. División de Alimentos, Medicamentos y Cosméticos- Argentina.
57. Secretaria General de la Comunidad Andina. Gaceta Oficial del Acuerdo de Cartagena. [Online].; 2012. Acceso 5] de Febrero de 2021. Disponible en: <http://intranet.comunidadandina.org/Documentos/Gacetas/Gace2068.pdf>.
58. Brock T, Madigan M. MICROBIOLOGÍA. Sexta ed. México: Prentice Hall; 1993.
59. Merck Sharp & Dohme. MSD. [Online]; 2019. Acceso 14] de Enero de 2020. Disponible en: <https://consumidores.msd.com.mx/enfermedades/calvicie/estructura-del-pelo.xhtml>.
60. Federacion de enseñanza de Andalucía. temas para la educacion. Revista digital para profesionales de la enseñanza. 2010;(10).
61. Arroyave M, Gomez P. Elaboración de un producto con base en colorantes naturales para teñir el cabello. [Online].; 2006. Acceso 19] de diciembre de 2019. Disponible en: https://repository.eafit.edu.co/bitstream/handle/10784/357/MariaElena_ArroyaveAlzate_2006.pdf;sequence=1.
62. Toscani M, Fino P. Cesare Ragazzi Laboratories. [Online]; 2018. Acceso 14] de enero de 2020. Disponible en: <https://www.cesareragazzi.com/es/estructura-y-quiacaquitectura-del-cabello>.

63. Beauty Media Network. Cosmetologas.com.La piel de la web. [Online]; 2019. Acceso 14] de enero de 2020. Disponible en: <http://www.cosmetologas.com/noticias/val/1535-0/la-melanina-y-el-color-del-cabello.html>.
64. L'Oréal España S.A. Redken. [Online]; 2020. Acceso 14] de enero de 2020. Disponible en: <https://www.redken.com.es/educacion/principios-y-fundamentos-cabello/principios-y-fundamentos-del-cabello/principios-de-la-coloracion/aplicacion-de-la-cloracion>.
65. Pareja B. DermofarmaciaA: Los tintes para el cabello. Folia Dermatologica Peruana. 2000; 1(11).
66. Red Textil. Moda Argentina. [Online]; 2015. Acceso 14] de enero de 2020. Disponible en: <https://www.ciaindumentaria.com.ar/plataforma/colorantes-naturales/>.
67. UAM Iztapalapa. Colorantes. [Online]; 2015. Acceso 14] de enero de 2020. Disponible en: http://sgpwe.izt.uam.mx/files/users/uami/acym/color_II_2015.pdf.
68. Torres J. Flavonoides.org. [Online]; 2019. Acceso 14] de enero de 2020. Disponible en: <https://www.flavonoides.org/taninos/>.
69. Konika Minolta. Konika Minolta Sensing Americans. [Online]; 2020. Acceso 12] de Febrero de 2021. Disponible en: <https://sensing.konicaminolta.us/mx/blog/colorímetros-vs-espectrofotómetros/>.
70. Ministerio de Educación, Cultura y Deporte- España. Formación Profesional. [Online]; 2013. Acceso 12] de Febrero de 2021. Disponible en: http://recursos.cnice.mec.es/fp/artes/ut.php?familia_id=5&ciclo_id=1&modulo_id=2&unidad_id=125&menu_id=1494&padre_id=0&submenu_id=1634&pagestoyen=6&ncab=3.2&contadort=5.
71. Konika Minolta. Konika Minolta Sensing Americans. [Online]; 2020. Acceso 5 de Febrero de 2021. Disponible en: <https://sensing.konicaminolta.us/mx/blog/entendiendo-el-espacio-de-color-cie-lab/>.
72. Zhang X. Medicina tradicional, Medicamentos Esenciales y Política Farmacéutica (EDM). [Online].; 2017. Acceso 15] de Diciembre de 2019. Disponible en: https://www.who.int/topics/traditional_medicine/definitions/es/.
73. Asociación Española de medicamentos genéricos. AESEG. [Online]; 2015. Acceso 14] de Enero de 2020. Disponible en:

<https://www.aeseg.es/es/definiciones-medicamentos-genericos/principio-activo>.

74. Clinica Alemana Universidad de Desarrollo. Biblioteca UDD. [Online]; 2018. Acceso 14] de Enero de 2020. Disponible en: <https://medicina.udd.cl/sobre-la-facultad/comite-institucional-de-bioseguridad/definicion-de-bioseguridad/>.
75. Venemedia comunicaciones CA. Concepto Definicion. [Online]; 2019. Acceso 14] de Enero de 2020. Disponible en: <https://conceptodefinicion.de/cepa-bacteriana/>.
76. Carbone F. Ministerio de Salud del Peru: Instituto Nacional de Salud. [Online].; 2002. Acceso 15] de Diciembre de 2019. Disponible en: <http://www.ins.gob.pe/insvirtual/images/otrpubs/pdf/manual%20sensibilidad%202.pdf>.
77. Bernal M. El antibiogramas en discos. Biomedica. 1984; 4(3).
78. MAYO CLINIC. MAYO CLINIC. [Online]; 2020. Acceso 28] de Noviembre de 2021. Disponible en: <https://www.mayoclinic.org/es-es/diseases-conditions/iritis/symptoms-causes/syc-20354961>.
79. Hernández R. Concepción o elección del diseño. En Hernández R. Metodología de la investigación. 6th ed. México D.F.: MCGRAW HILL; 2014. p. 126-152.
80. Litte M. Farmacología Experimental y Clínica. Séptima ed. Ateneo E, editor. Buenos Aires: El Ateneo; 1988.
81. Dominguez X. Métodos de investigación Fitoquímico. Primera ed. Nuevo Leon- México: Limusa; 1979.
82. Villar Del Fresno A. Farmacognosia General. Primera ed. Villar Del Fresno A, editor. Madrid: Sintesis; 1999.
83. Rengifo D. Estudio fitoquímico cualitativo preliminar y cuantificación de flavonoides y taninos del extracto etanólico de hojas de Desmodium vargasianum Schubert. Soc Quím Perú. 2018; LXXXIV(2).
84. Koneman EK. Diagnostico Microbiologico. Primera ed. Buenos Aires: Medica P.; 2008.
85. Zurita S, Urcia F. Manual de procedimientos técnicos para el diagnóstico micológico. Primera ed. Lima: SOLVIMA GRAF; 2017.
86. Comunidad Andina. SICE. [Online].; 2018. Acceso 10 de Marzo de 2021. Disponible en: http://www.sice.oas.org/trade/JUNAC/Decisiones/DEC833_s.pdf.

87. Reinoso E. Repositorio de la Escuela Politecnica del ejercito - Ecuador. [Online].; 2006. Acceso 15] de Mayo de 2021. Disponible en: <http://repositorio.espe.edu.ec/xmlui/bitstream/handle/21000/875/T-ESPE-014384.pdf?sequence=1&isAllowed=y>.
88. Rivas A. Obtención y caracterización del entrecruzante natural genipina a partir del fruto del caruto (*Genipa americana* L.). Tesis.
89. Toledo I. Extracao e estabilidade do corante azul de Jenipapo (*Genipa americana* L.). [Online].; 2008. Acceso 25] de Febrero de 2022. Disponible en: <https://www.locus.ufv.br/bitstream/123456789/2833/1/texto%20completo.pdf>.
90. Bruneton J. Farmacognosia: Fitoquímica. Segunda ed. Zaragoza: Acribia; 2001.
91. Caceres N. Analisis de Datos y Diseños Experimentales Aplicados en Investigacion. Primera ed. UNSAAC , editor. Cusco: UNSAAC; 2009.
92. Ministerio de salud. Diseño e interpretación de pruebas farmacológicas en control de calidad. Piblicacion.
93. Fuentes F, Mendoza R, Rivera R. Guía de manejo y cuidado de animales de laboratorio: Conejo Velasquez A, editor. Lima: Ministerio de Salud, Instituto Nacional de Salud; 2010.
94. Espinosa A, Carlos C. Evaluacion de la actividad in vitro de antifungicos contra dermatofitos aislados en e animales de compañía. AMMVEPE. 2017; XXVIII(5).

ANEXOS
Anexo N°1

Certificación de la planta *Genipa americana* L. "Huito"



UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN ANTONIO ABAD DEL CUSCO
FACULTAD DE CIENCIAS

HERBARIO VARGAS (CUZ)

CERTIFICADO DE DETERMINACIÓN TAXONÓMICA N° 002-2020-HVC-FCB-UNSAAC

La directora del Herbario Vargas (CUZ)-Facultad de Ciencias de la Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco (UNSAAC), deja constancia que: la señorita **Dany Gutierrez Ninachoque**, con código de matrícula 130404, egresada de la Escuela Profesional Farmacia y Bioquímica, de la Facultad de Ciencias de la Salud, de la Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco, ha presentado a la Dirección del Herbario Vargas (CUZ) una muestra botánica para su determinación taxonómica (expediente N° 214103), para el proyecto de tesis intitulado "**Evaluación de la Actividad Antimicótica in vitro frente a *Malassezia furfur* CEPA ATCC 1452 y determinación de la capacidad de coloración capilar del extracto hidroalcohólico y del tinte shampoo elaborado a partir del fruto de huito (*Genipa spp.*)**". La que al ser diagnosticada por el Mgt. Abel Monteagudo Mendoza, utilizando claves dicotómicas, consulta con bibliografía especializada, y comparación con muestras del Herbario, concuerdan con la siguiente especie; de acuerdo a la clasificación del Grupo del Sistema Filogenético de las Angiospermas (Angiosperm Phylogeny Group-APG IV, 2016).

N°	FAMILIA	ESPECIE	NOMBRE LOCAL
1	Rubiaceae	<i>Genipa americana</i> L.	Huito

Se le expide la presente certificación a petición formal de la interesada para los fines que viera por conveniente.

Cusco, 04 de Noviembre del 2020.

Dgda. María Livia Dávalos Camacho
Directora del Herbario Vargas (CUZ)



Anexo N°2

Análisis Fitoquímico del extracto hidroalcohólico a 70° de *Genipa americana* L. "Huito".

INFORME DE ANALISIS FITOQUIMICO Y SOLUBILIDAD DE EXTRACTO ETANOLICO M1 = extracto azul oscuro

Solicitante:

Fecha: 26 de octubre de 2020

RESULTADOS DE MARCHA FITOQUIMICA

METABOLITOS SECUNDARIOS	REACTIVO	M1
FLAVONOIDES	<u>Shinoda</u>	+
	Vapores de NH ₃	+
FENOLICOS	FeCl ₃	++
QUINONAS	<u>Börntraguer</u>	++
TANINOS	FeCl ₃ 1%	++
AZUCARES REDUCTORES	<u>Fehling</u>	+++
GLICOSIDOS	<u>Fehling</u>	++
ALCALOIDES	<u>Dragendorff</u>	++
SAPONINAS	Prueba de espuma	-
LACTONAS SESQUITERPENICAS	<u>Balget</u>	+++
ESTEROIDES	<u>Lieberman-Burchard</u>	-

LEYENDA +++ muy abundante ++ abundante +poco abundante – negativo

RESULTADOS DE SOLUBILIDAD

DISOLVENTE	M1
H ₂ O	+++
ETANOL 40%	+++
ETANOL 70%	+++
ETANOL ABSOLUTO	++
ACETONA	+
ETER ETILICO	+
ACETATO DE ETILO	+
CLOROFORMO	-
HEXANO	-

LEYENDA +++ muy soluble ++ soluble +poco soluble – insoluble

Se realizó en laboratorio fitoquímica de la UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN ANTONIO ABAB DEL CUSCO.

Anexo N°3

Criterios de Actividad Antimicótica atendiendo al halo de inhibición.

Para definir el tipo de actividad antimicótica, se utilizarán los criterios expuestos por Espinosa T. Alejandra Paula (2017) (94)

Antifúngico	Rango		
	R	I	S
Anfotericina B	≤10	15-25	≥26
Clotrimazol	≤11	15-29	≥30
Ketoconazol	≤10	15-25	≥26
Fluconazol	≤14	15-21	≥22
Itraconazol	≤11	15-28	≥30
Terbinafina	≤12	25-35	≥40

Dónde:

- R : resistente, menores a este valor no presenta actividad antimicótica,
- I : intermedio, entre estos valores presenta actividad antimicótica intermedia (dosis dependiente).
- S : susceptible, mayores a este valor presenta actividad antimicótica muy buena.

Fuente: EVALUACION DE LA ACTIVIDAD in vitro DE ANTIFUNGICOS CONTRA DERMATOFITOS AISLADOS EN ANIMALES DE COMPAÑÍA 2017)

Anexo N°4

Determinación de porcentaje de humedad

Peso de fruto <i>Genipa americana</i> L. "Huito"	TIEMPO								
	24 h	48 h	72 h	96 h	120 h	144 h	168 h	192 h	Porcentaje de humedad (%)
Peso 1									
Peso 2									
Peso 3									
Promedio de % de humedad del fruto de <i>Genipa americana</i> L. "Huito"									

Elaboración Propia

Anexo N°5

Determinación del porcentaje de extracción

Pesos	Concentraciones Hidroalcohólicas		
	40%	70%	90%
<i>Pi</i> : Peso inicial (extracto seco)			
<i>Pf</i> : Peso final (muestra vegetal)			
<i>%E</i> : Porcentaje de rendimiento			

Elaboración Propia

Anexo N°6

Actividad antimicótica del extracto hidroalcohólico de *Genipa americana* L.
"Huito"

Concentración %	Diámetro del halo de Inhibición (mm) en cepas de <i>Malassezia furfur</i> ATCC 14521			
	I	II	III	Promedio
40				
70				
90				

Elaboración Propia

Leyenda:

I: Primer grupo de halos

II: Segundo grupo de halos

III: Tercer grupo de halos

Anexo N°7

Pruebas fisicoquímicas de la formulación tinte shampoo

Pruebas	7.5%	10%	12.5%
pH			
Color			
Olor			
Formación de espuma			
Facilidad de incorporación de insumos			
Homogeneidad			
Formación de precipitado			

LEYENDA:

Valoración	Aspecto	Color (Negro-azul)	Olor (Característico a Huito)
+	Líquido	Suave	Ligero
++	Viscoso	Moderado	Tenue
+++	Sólido	Intenso	Intenso

Elaboración Propia

Anexo N°8

Actividad antimicótica del tinte shampoo de *Genipa americana* L. "Huito".

Concentración %	Diámetro del halo de Inhibición (mm) en cepas de <i>Malassezia furfur</i> ATCC 14521			
	I	II	III	Promedio
7.50%				
10%				
12.50%				
patron ketoconazol 2%				

Elaboración Propia

Anexo N°9

Control de estabilidad acelerada a corto plazo

T I E M P O	pH			Aspecto			Color			Olor			Viscosidad (mPa) 12rpm		
	4°C	20- 25°C	40 °C	4° C	20- 25° C	40 °C	4°C	20- 25° C	40 °C	4°C	20- 25° C	40 °C	4°C	20- 25°C	40° C
0															
3															
7															
10															
15															

LEYENDA:

Valoración	Aspecto	Color (Negro-azul)	Olor (Característico a Huito)
+	Líquido	Plomo	Ligero
++	Viscoso	Plomo- azul	Tenue
+++	Sólido	Negro- azul	Intenso

Elaboración Propia

Anexo N°10

Control de calidad microbiológico

ÁREA DE APLICACIÓN Y FASE ETARIA		RESULTADOS	LÍMITES DE ACEPTABILIDAD
Productos cosméticos susceptibles a contaminación microbiológica	Mesófilos aerobios totales		Límite máximo 5×10^3 UFC/g o ml.
	Pseudomona aeruginosa		Ausencia en 1 g o ml
	Staphylococcus aureus		Ausencia en 1 g o ml.
	Coliformes totales y fecales		Ausencia en 1 g o ml.

Fuente: modificado de la comunidad andina

Anexo N°11

Control de toxicidad ocular en conejos expuestos al tinte shampoo

			TIEMPO DE OBSERVACION			
			1h	24h	48h	72h
CONEJO N°1 peso	CORNEA	OPACIDAD				
		ULCERACION				
	CONJUNTIVA	INFLAMACION				
		IRRITACION				
	IRIS	IRITIS				
CONEJO N°2 peso	CORNEA	OPACIDAD				
		ULCERACION				
	CONJUNTIVA	INFLAMACION				
		IRRITACION				
	IRIS	IRITIS				
CONEJO N°3 peso	CORNEA	OPACIDAD				
		ULCERACION				
	CONJUNTIVA	INFLAMACION				
		IRRITACION				
	IRIS	IRITIS				
CONEJO N°4 peso	CORNEA	OPACIDAD				
		ULCERACION				
	CONJUNTIVA	INFLAMACION				
		IRRITACION				
	IRIS	IRITIS				

Escala de puntuación:

I. CORNEA (total de lesiones corneales $a \times b \times 5 = 80$)		
a.- Grado de opacidad	Opacidad ligera	1
	Áreas opacas diseminadas	2
	Áreas translucidas con iris visible	3
	Opacidad completa con iris invisible	4
b.- Extensión de la opacidad	Más de $\frac{1}{4}$ del área total	1
	Más de $\frac{1}{4}$ y menos de $\frac{1}{2}$ del área	2
	Menos de $\frac{3}{4}$ y más de $\frac{1}{2}$ del área	3
	Más de $\frac{3}{4}$ del área total	4
II. IRIS (Total de lesiones iridianas $a \times 5 = 10$)		
a.- Evaluación de las lesiones	Con alteración pero reaccionando a la luz	1
	Lesionados hasta que no reaccionan a la luz	2
III. CONJUNTIVA (total de lesiones en la conjuntiva $(a \times b \times c) \times 2 = 20$)		
a.- Enrojecimiento	Vasos enrojecidos sobre lo normal	1
	Enrojecimiento moderado	2
	Enrojecimiento difuso intenso	3
b.- Edema	Edema ligero, incluyendo la membrana nictitante	1
	Edema con eversión parcial del párpado	2
	Edema con párpados cerrados a la mitad	3
	Edema con párpados totalmente cerrados	4
c.- Secreción	Secreción ligera	1
	Secreción moderada en ambos párpados	2
	Secreción en ambos párpados y alrededores	3

Fuente: Adaptado de MINSA "Diseño e interpretación de pruebas farmacológicas en control de calidad" (1997)

Anexo N°12

Coloración de mechones con tinte shampoo

MUESTRA	TIEMPO DE COLORACION (dias)	L	a	b
BLANCO	0			
DECOLORADO	0			
7.50%	1			
	2			
	3			
	24hrs			
10%	1			
	2			
	3			
	24hrs			
12.50%	1			
	2			
	3			
	24hrs			

Elaboración Propia

Leyenda:

L*=luminosidad

a*= coordenadas rojo/verde (+a indica rojo, -a indica verde)

b* = coordenadas amarillo/azul (+b indica amarillo, -b indica azul)

REGISTRO FOTOGRAFICO

Parte N° 1: Recolección de la especie en estudio

Fotografía N° 01: Sector Sicllabamba, distrito de Echarati, provincia de Cusco, departamento de Cusco a 1000 m.s.n.m.



Fuente: D. Gutierrez y J. Ortiz de Orue.

Fotografía N° 02 y 03: Recolección de los frutos inmaduros de *Genipa americana* L. "Huito".



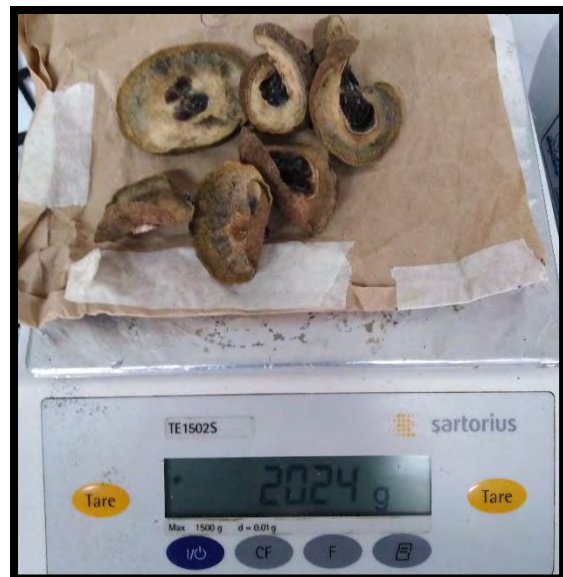
Fuente: D. Gutierrez y J. Ortiz de Orue.

Fotografía N° 03: Selección de los frutos inmaduros de *Genipa americana* L. "Huito".



Fuente: D. Gutierrez y J. Ortiz de Orue.

FOTOGRAFIA N° 04 y 05: Resultados de la determinación del porcentaje de Humedad de los frutos inmaduros de *Genipa americana* L. (Huito).



Fuente: D. Gutierrez y J. Ortiz de Orue.

FOTOGRAFIA N°06: Cortes longitudinales de los frutos inmaduros de *Genipa americana* L. (Huito).



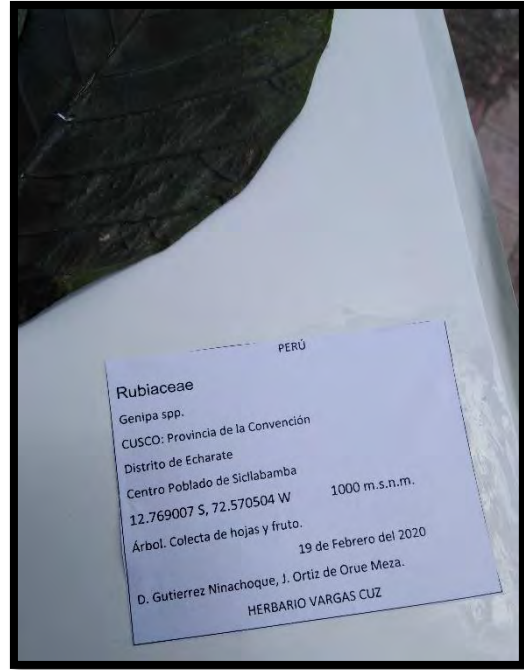
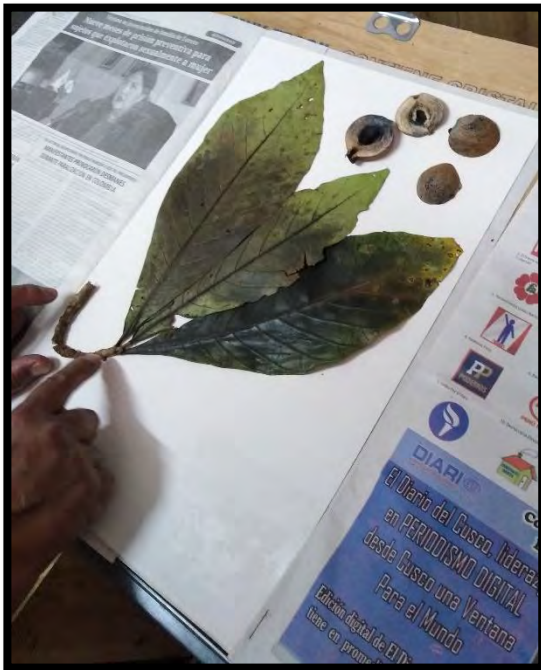
Fuente: D. Gutierrez y J. Ortiz de Orue.

FOTOGRAFIA N° 07 y 08: Secado de los frutos inmaduros de *Genipa americana* L. "Huito" en el secadero del herbario Vargas- UNSAAC.



Fuente: D. Gutierrez y J. Ortiz de Orue.

FOTOGRAFIA N° 09 Y 10: Identificación de la especie vegetal *Genipa americana* L. “Huito” por el herbario Vargas- UNSAAC.



Fuente: D. Gutierrez y J. Ortiz de Orue.

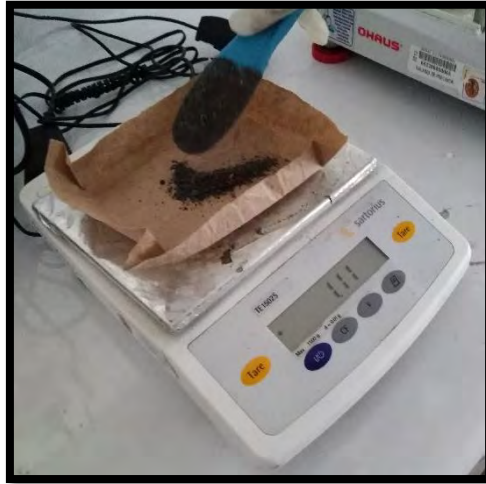
FOTOGRAFIA N° 11: Molienda del fruto seco de *Genipa americana* L. “Huito”.



Fuente: D. Gutierrez y J. Ortiz de Orue.

Parte N° 2: Obtención del extracto hidroalcohólico con alcohol de 70° del fruto seco de *Genipa americana* L. (Huito).

FOTOGRAFIA N° 12: Pesado del fruto seco molido de *Genipa americana* L. "Huito".



Fuente: D. Gutierrez y J. Ortiz de Orue.

FOTOGRAFIA N° 13 y 14: Obtención del extracto hidroalcohólico seco con alcohol de 70° de *Genipa americana* L. "Huito".



Fuente: D. Gutierrez y J. Ortiz de Orue.

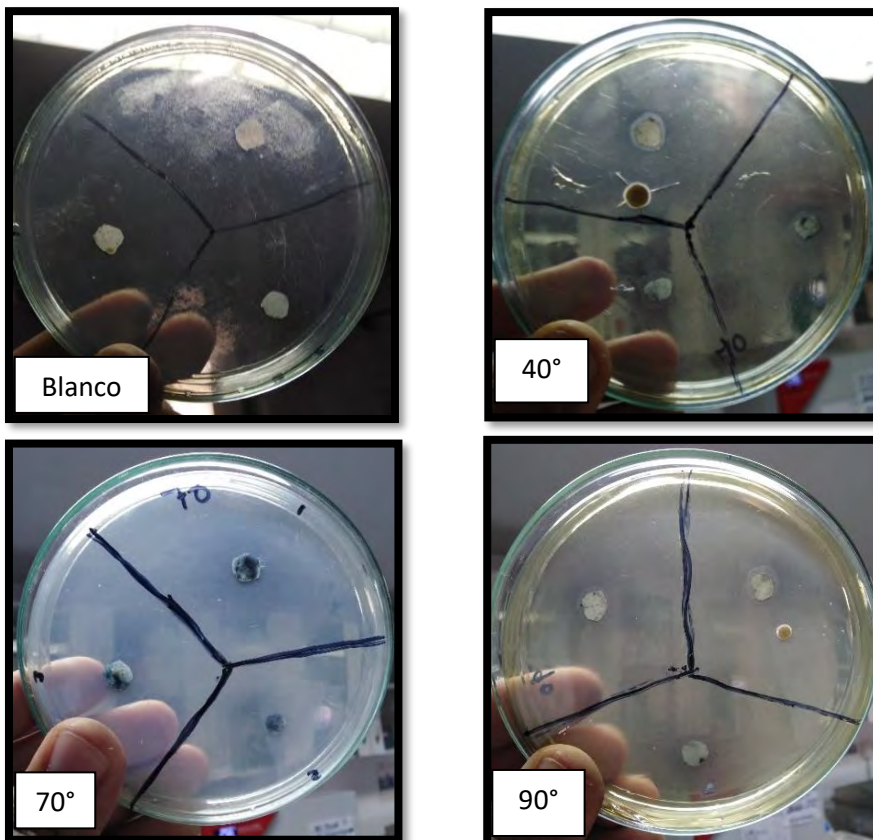
Parte N° 3: Determinación de la actividad antimicótica del extracto hidroalcohólico con alcohol de 70° del fruto seco de *Genipa americana* L. "Huito".

FOTOGRAFIA N° 15: Sembrado del hongo *Malassezia furfur* Cepa ATCC 14521 en agar Sabourand.



Fuente: D. Gutierrez y J. Ortiz de Orue.

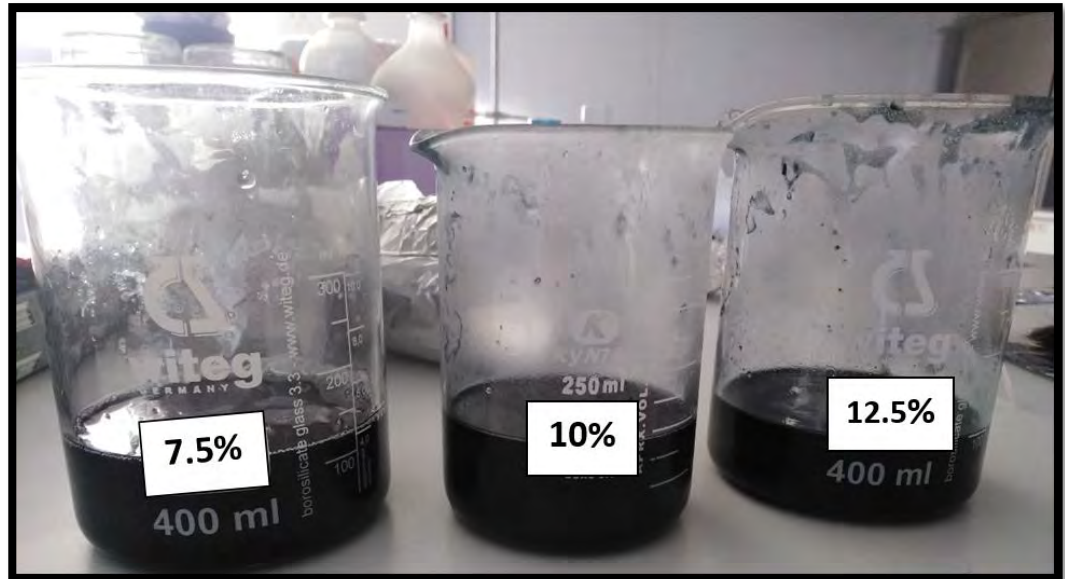
FOTOGRAFIA N° 16, 17, 18 y 19: Determinación del efecto antimicótico del extracto hidroalcohólico con alcohol de 70° del fruto seco de *Genipa americana* L. "Huito", sembrado, Blanco, 40°, 70° y 90°.



Fuente: D. Gutierrez y J. Ortiz de Orue.

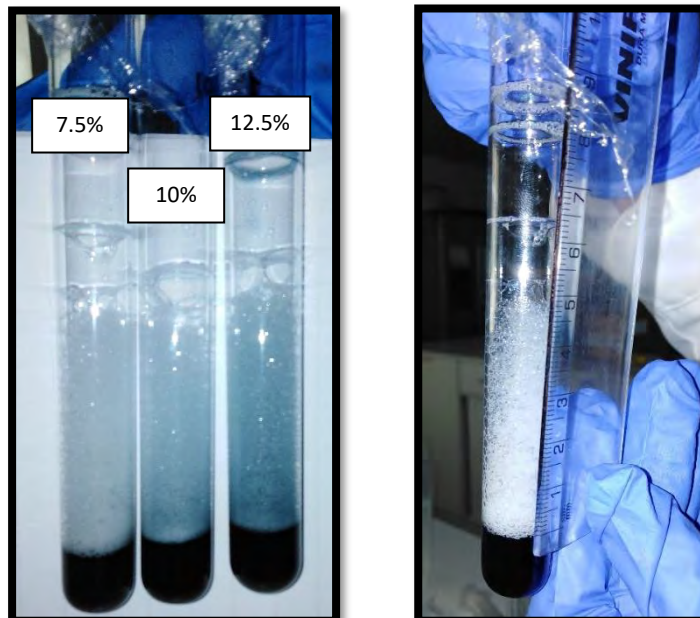
Parte N° 4: Formulación del tinte Shampoo elaborado a partir del extracto hidroalcohólico del fruto de *Genipa americana* L. (Huito)

FOTOGRAFIA N° 20: Formulación del tinte Shampoo elaborado a partir de tres diferentes concentraciones de extracto hidroalcohólico del fruto de *Genipa americana* L. "Huito".



Fuente: D. Gutierrez y J. Ortiz de Orue.

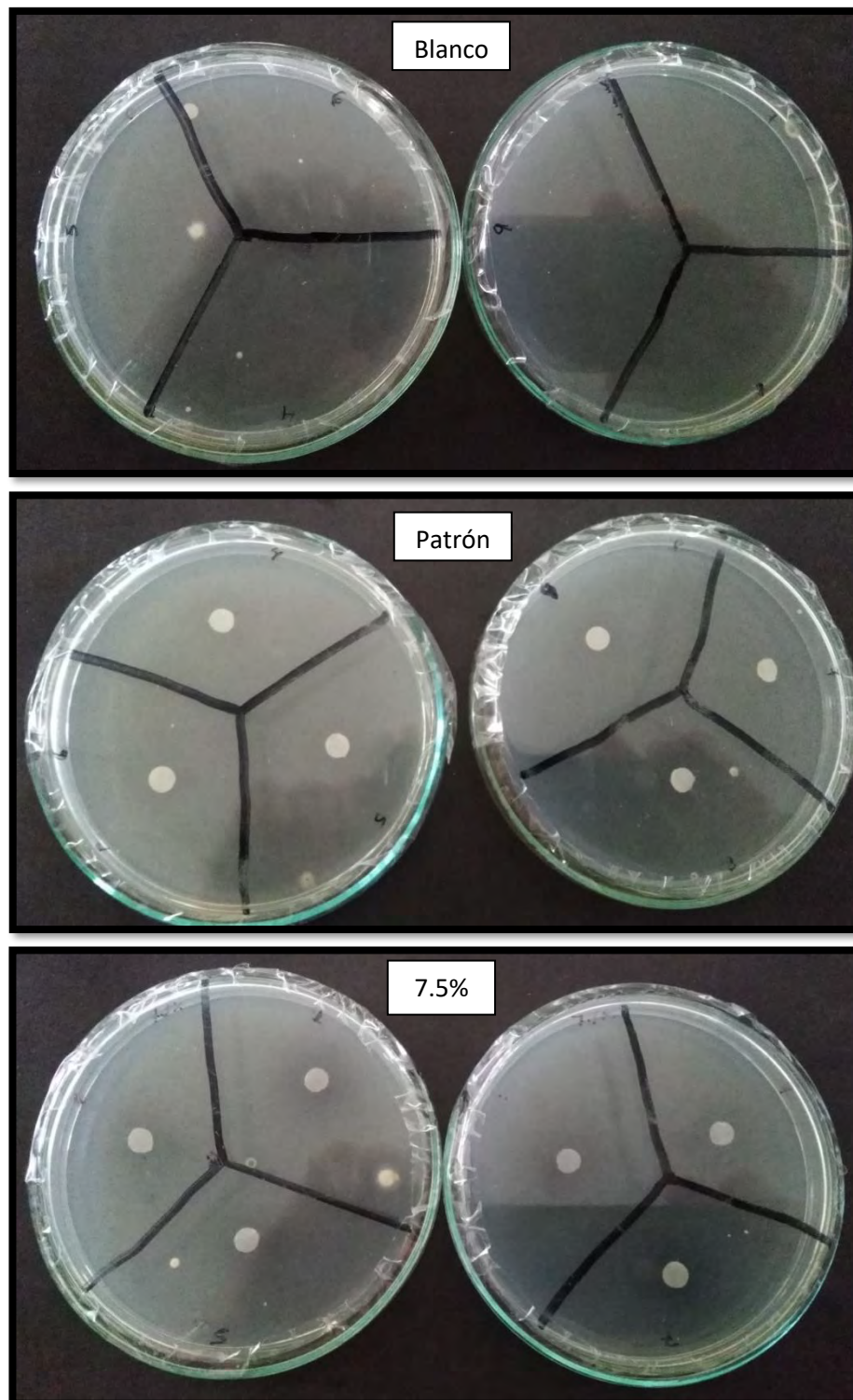
FOTOGRAFIA N° 21 y 22: Índice de espuma de la formulación de tinte Shampoo elaborado a partir del extracto hidroalcohólico de *Genipa americana* L. "Huito" a tres diferentes concentraciones.

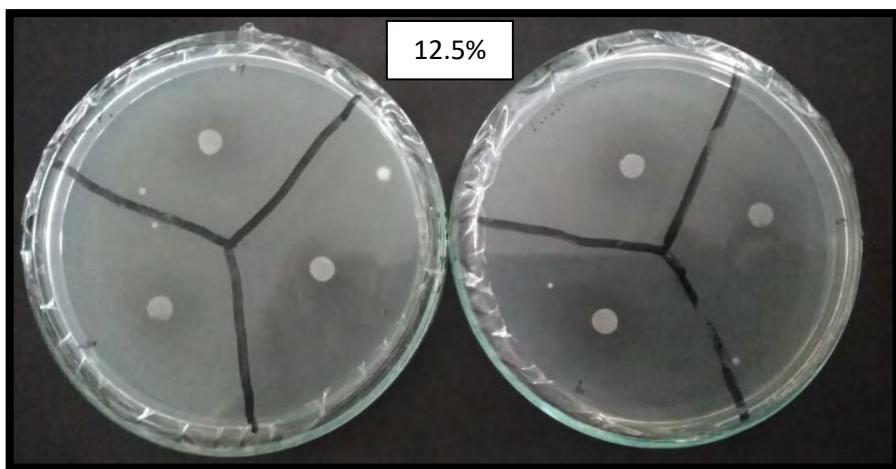
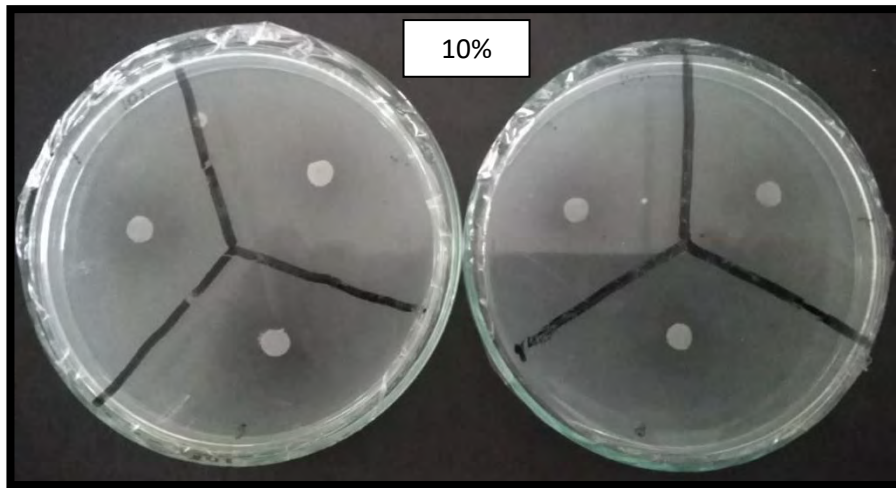


Fuente: D. Gutierrez y J. Ortiz de Orue.

Parte N° 5: Determinación de la actividad antimicótica y capacidad de coloración capilar del tinte Shampoo elaborado a partir del extracto hidroalcohólico del fruto de *Genipa americana* L. "Huito".

FOTOGRAFIA N° 24, 25, 26, 27 y 28: Determinación del efecto antimicótico del tinte Shampoo elaborado a partir del extracto hidroalcohólico de *Genipa americana* L. "Huito" a diferentes concentraciones, Blanco, patrón, 7.5%, 10% y 12.5%.

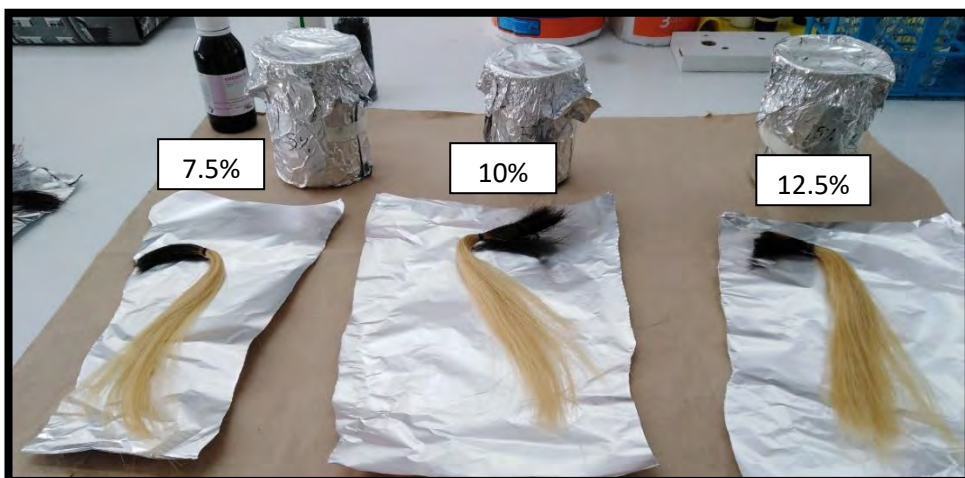




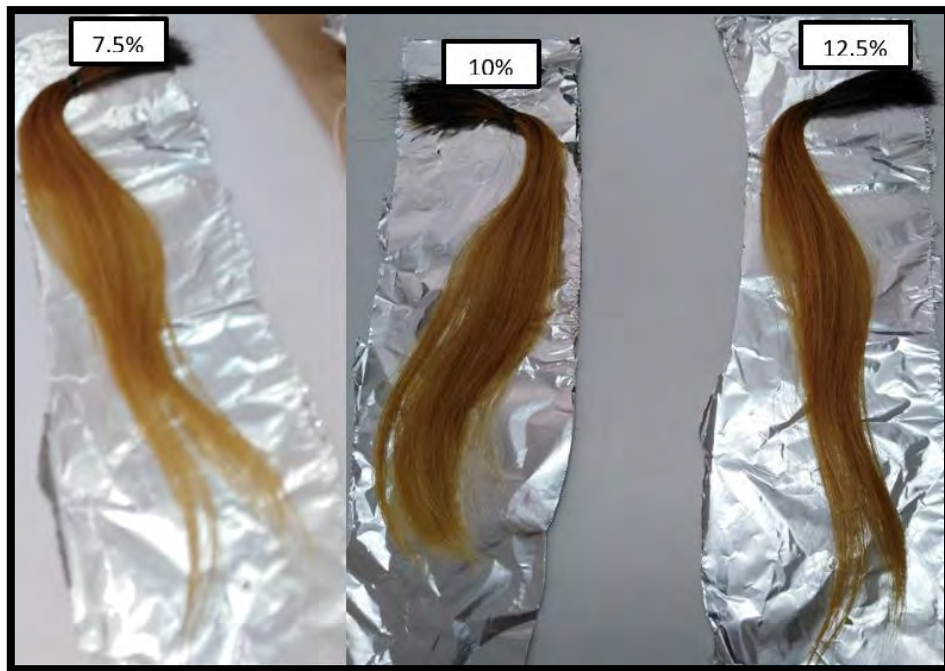
Fuente: D. Gutierrez y J. Ortiz de Orue.

FOTOGRAFIA N° 29, 30: Mechones decolorados antes y después de ser sometidos al tinte Shampoo elaborado a partir del extracto hidroalcohólico de *Genipa americana* L. "Huito" para la determinación de su capacidad de coloración capilar.

Antes:



Después:



Fuente: D. Gutierrez y J. Ortiz de Orue.

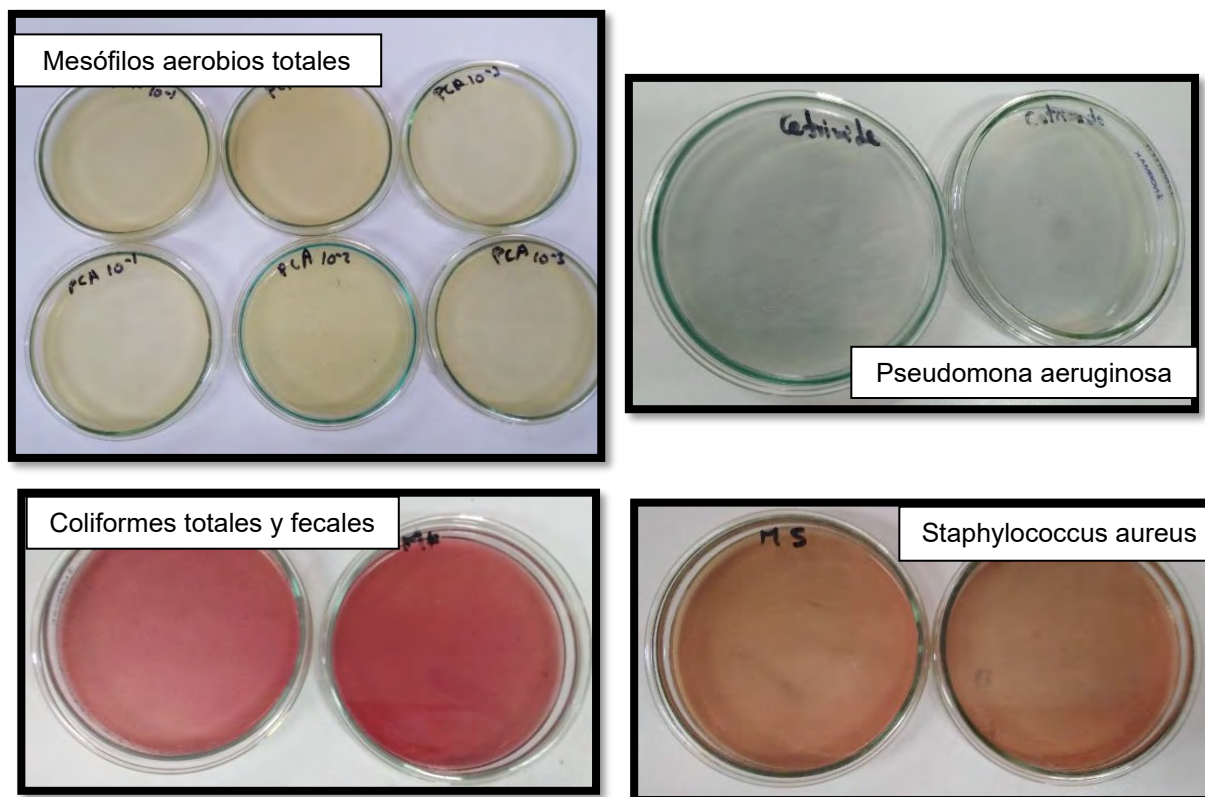
Parte N° 6: Control de calidad del tinte Shampoo elaborado a partir del extracto hidroalcohólico del fruto de *Genipa americana* L. "Huito" al 10%.

FOTOGRAFIA N° 31: Elaboración de los caldos y medios de cultivos para el análisis de Control de calidad microbiológico del tinte Shampoo elaborado a partir del extracto hidroalcohólico de *Genipa americana* L. "Huito".



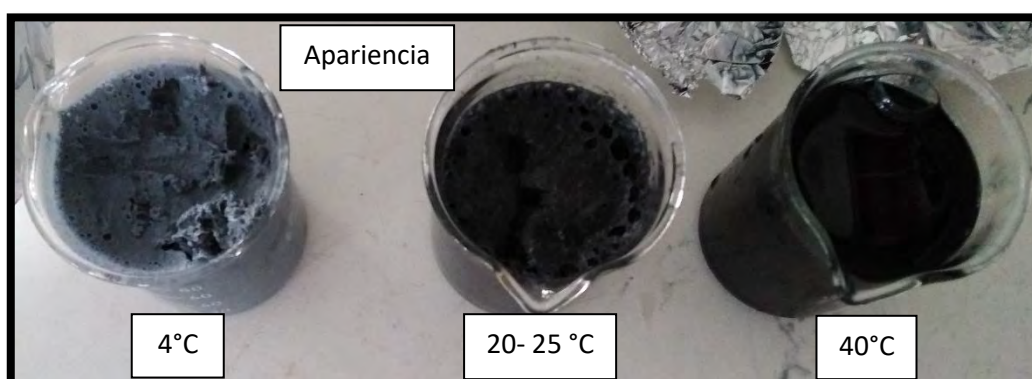
Fuente: D. Gutierrez y J. Ortiz de Orue.

FOTOGRAFIA N° 32, 33, 34 y 35: Observación de los microorganismos presentes en el control de calidad microbiológico del tinte Shampoo elaborado a partir del extracto hidroalcohólico de *Genipa americana* L. "Huito".



Fuente: D. Gutierrez y J. Ortiz de Orue.

FOTOGRAFIA N° 36, 37 y 38: Control de Estabilidad fisicoquímica del tinte Shampoo elaborado a partir del extracto hidroalcohólico de *Genipa americana* L. "Huito".





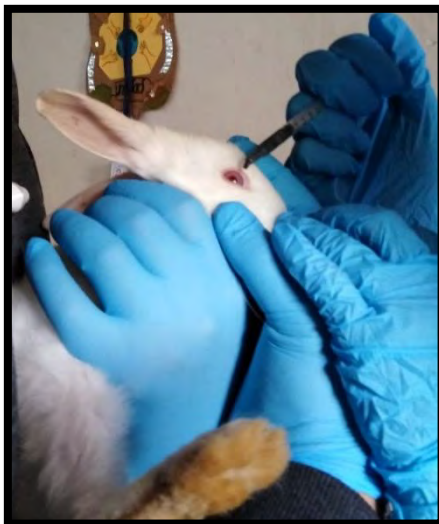
Fuente: D. Gutierrez y J. Ortiz de Orue.

FOTOGRAFIA N° 39 y 40: Conejos empleados para el control de sensibilidad ocular del tinte Shampoo elaborado a partir del extracto hidroalcohólico de *Genipa americana* L. "Huito".



Fuente: D. Gutierrez y J. Ortiz de Orue.

FOTOGRAFIA N° 39 y 40: Aplicación del tinte Shampoo elaborado a partir del extracto hidroalcohólico de *Genipa americana* L. “Huito” en el parpado inferior del conejo.



Fuente: D. Gutierrez y J. Ortiz de Orue.

FOTOGRAFIA N° 39 y 40: Observación de efecto causado por el tinte Shampoo elaborado a partir del extracto hidroalcohólico de *Genipa americana* L. “Huito” al primer y tercer día.



Fuente: D. Gutierrez y J. Ortiz de Orue.

MATRIZ DE CONSISTENCIA

EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIMICÓTICA IN VITRO FRENTE A *Malassezia furfur* CEPA ATCC 14521 Y DETERMINACIÓN DE LA CAPACIDAD DE COLORACIÓN CAPILAR DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO Y DEL TINTE SHAMPOO ELABORADO A PARTIR DEL FRUTO DE *Genipa americana* L. “Huito”.

FORMULACION DEL PROBLEMA	OBJETIVOS	HIPÓTESIS	VARIABLES	INDICADORES	METODOLOGÍA	INSTRUMENTOS
<p>¿Presentarán actividad antimicótica in vitro frente a <i>Malassezia furfur</i> ATCC 14521 el extracto hidroalcohólico y el tinte shampoo elaborados a partir del fruto de <i>Genipa americana</i> L. “Huito”?</p> <p>¿Presentará capacidad de coloración capilar el tinte shampoo elaborado a partir del fruto de <i>Genipa americana</i> L. “Huito”?</p>	<p>Objetivo General Evaluar la actividad antimicótica in vitro frente a <i>Malassezia furfur</i> ATCC 14521 del extracto hidroalcohólico y del tinte shampoo elaborado a partir del fruto de <i>Genipa americana</i> L. “Huito”. Determinar la capacidad de coloración capilar del tinte shampoo elaborado a partir del extracto del fruto de <i>Genipa americana</i> L. “Huito”.</p> <p>Objetivos Específicos</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Obtener el extracto hidroalcohólico de la especie vegetal de <i>Genipa americana</i> L. “Huito” y determinar sus propiedades fisicoquímicas y fitoquímicas. 2. Determinar la actividad antimicótica in vitro del extracto hidroalcohólico del fruto de <i>Genipa americana</i> L. “Huito” frente a la cepa de <i>Malassezia furfur</i> ATCC 14521. 3. Realizar los estudios de pre-formulación y determinar la mejor formulación del tinte shampoo a partir del extracto hidroalcohólico del fruto de <i>Genipa americana</i> L. “Huito”. 4. Determinar la actividad antimicótica del tinte shampoo elaborado a partir del extracto hidroalcohólico del fruto de <i>Genipa americana</i> L. “Huito” frente a la cepa de <i>Malassezia furfur</i> ATCC 14521. 5. Realizar el control de calidad del tinte shampoo elaborado a partir del extracto hidroalcohólico del fruto de <i>Genipa americana</i> L. “Huito”. 6. Monitorear el comportamiento de la coloración de mechones de cabellos virgen sometidos al tinte shampoo elaborado a partir del extracto hidroalcohólico del fruto de <i>Genipa americana</i> L. “Huito”. 	<p>El extracto hidroalcohólico del fruto de <i>Genipa americana</i> L. “Huito” y el tinte shampoo elaborado presentan actividad antimicótica in vitro frente a <i>Malassezia furfur</i> ATCC 14521. El tinte shampoo elaborado a partir del extracto hidroalcohólico del fruto de <i>Genipa americana</i> L. “Huito” presenta capacidad de coloración capilar</p>	<p>Variables independientes: Concentración del extracto hidroalcohólico de <i>Genipa americana</i> L. “Huito” Tinte shampoo elaborado en base al extracto hidroalcohólico de <i>Genipa americana</i> L. “Huito”</p> <p>Variable dependiente: Actividad antimicótica in vitro frente a la cepa <i>Malassezia furfur</i> ATCC 14521.</p>	<p>- Porcentaje de extracto hidroalcohólico obtenido</p> <p>- Concentración del extracto hidroalcohólico</p> <p>- Capacidad de coloración capilar</p> <p>- Diámetro del halo de inhibición.</p>	<p>Tipo de estudio: Cuasi experimental-Longitudinal.</p> <p>Nivel de la investigación: Correlacional.</p> <p>Diseño de Investigación: Diseño Completamente al azar.</p>	<p>- Fichas de observación y recolección de datos (Anexo N° 4- 12).</p> <p>- Paquete estadístico SPSS versión 25.</p> <p>- Programa estadístico EXCEL.</p>