



**ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO**  
**FACULTAD DE CIENCIAS**  
**CARRERA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA**

**“DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD FOTOPROTECTORA *in vitro* DE *Zea mays*”**

Trabajo de Titulación presentado para optar al grado académico de:  
**BIOQUÍMICA FARMACÉUTICA**

**AUTORA:** ANA KARINA BARRERA MAYORGA

**TUTOR:** BQF. DIEGO R. VINUEZA TAPIA, M.Sc.

Riobamba-Ecuador

2017

**©2017, Ana Karina Barrera Mayorga**

Se autoriza la reproducción total o parcial, con fines académicos, por cualquier medio o procedimiento, incluyendo la cita bibliográfica del documento, siempre y cuando se reconozca el derecho del autor.

**ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO**  
**FACULTAD DE CIENCIAS**  
**ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA**

El tribunal de trabajo de titulación certifica que el trabajo de investigación: “DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD FOTOPROTECTORA *in vitro* DE *Zea mays*” de responsabilidad de la señorita Ana Karina Barrera Mayorga, ha sido prolijamente revisado por los Miembros del Tribunal de Trabajo de titulación, quedando autorizada su presentación.

**FIRMA**

**FECHA**

BQF. Diego Vinueza Tapia, M.Sc.

**DIRECTOR DE TRABAJO  
DE TITULACIÓN**

\_\_\_\_\_

Dra. Susana Abdo L., M.Sc.

**MIEMBRO DEL TRIBUNAL**

\_\_\_\_\_

## **DECLARACIÓN DE AUTENTICIDAD**

Yo, Ana Karina Barrera Mayorga, declaro que el presente trabajo de titulación es de mi autoría y que los resultados del mismo son auténticos y originales. Los textos constantes en el documento que provienen de otra fuente están debidamente citados y referenciados.

Como autora, asumo la responsabilidad legal y académica de los contenidos de este trabajo de titulación.

Riobamba, 20 de abril del 2017

Ana Karina Barrera Mayorga  
Cédula de Identidad 180465256-6

## **DECLARACIÓN DE RESPONSABILIDAD**

Yo, Ana Karina Barrera Mayorga, soy responsable de las ideas, doctrinas y resultados; expuestos en este trabajo de titulación y el patrimonio intelectual del trabajo pertenece exclusivamente a la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.

**ANA KARINA BARRERA MAYORGA**

## **DEDICATORIA**

Este trabajo de titulación se lo dedico a mi DIOS por ser mi guía y darme la fuerza y sabiduría para tomar las decisiones correctas.

A mis padres y hermanos que han estado pendientes de mi brindándome su ayuda y apoyo en cada momento de mi vida.

A todos mis seres queridos y amigos que de una u otra forma han contribuido a mi formación profesional.

Ana Karina Barrera M.

## **AGRADECIMIENTO**

En primer lugar quiero agradecer a Dios que es mi guía espiritual y mi protector quien está en cada momento de mi vida derramando sus bendiciones, por haberme dado la fuerza necesaria para llegar hasta este punto importante de mi formación profesional.

A mis padres Mercedes Mayorga y Luis Barrera por su apoyo, consejos, comprensión, amor, ayuda en los momentos difíciles. Me han dado todo lo que soy como persona, mis valores, mis principios, mi carácter, mi empeño, mi perseverancia para conseguir mis objetivos.

A mis hermanos y familiares cercanos por estar siempre presentes, y acompañarme en todo momento, compartiendo mis penas y glorias a lo largo de mi vida.

A la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo por ser ente institucional de sabiduría y formación profesional.

Al grupo de investigación GIPRONAF en especial a mi tutor BQF. Diego Vinueza Tapia y colaboradora Dra. Susana Abdo por su ardua y valiosa contribución en el desarrollo de esta tesis y sobre todo por brindarme su valiosa amistad.

Ana Karina Barrera M.

## ÍNDICE DE ABREVIATURAS

ADN	Ácido desoxirribonucleico
ATCC	American Type Culture Collection
°C	Grado Celsius
CBC	Carcinoma Basocelular
<i>E.coli</i>	<i>Escherichia coli</i>
FPS	Factor de Protección Solar
h	hora
g	gramo
mg	miligramo
min	minuto
mL	mililitro
nm	nanómetro
NMSC	<i>Non-melanoma Skin Cancer</i>
OMC	etilhexil metoxicinamato
OMS	Organización Mundial de la Salud
ppm	partes por millón
Rf	Factor de retención
SOLCA	Sociedad de Lucha Contra el Cáncer
TLC	Thin layer chromatography
UFC	Unidad formadora de colonias
μL	microlitro
UV	ultravioleta
W/m <sup>2</sup>	Intensidad de la radiación

## TABLA DE CONTENIDO

	<b>Páginas</b>
DECLARACIÓN DE AUTENTICIDAD .....	iii
DECLARACIÓN DE RESPONSABILIDAD .....	iv
DEDICATORIA .....	v
AGRADECIMIENTO .....	vi
ÍNDICE DE ABREVIATURAS .....	vii
TABLA DE CONTENIDO.....	viii
ÍNDICE DE TABLAS .....	xii
ÍNDICE DE FIGURAS.....	xiii
INDICE DE GRÁFICOS .....	xiv
ÍNDICE DE ANEXOS.....	xv
RESUMEN.....	xvi
SUMMARY .....	xvii
INTRODUCCIÓN .....	1
CAPITULO I	
1 MARCO TEÓRICO .....	4
1.1 Luz solar.....	4
1.1.1 Interacción entre la radiación electromagnética y la piel: Fototoxicología .....	4
1.2 Radiación Ultravioleta .....	5
1.2.1 Tipos de radiación .....	5
1.2.2 Índice ultravioleta .....	7
1.2.3 Efectos biológicos de la radiación UV en la salud .....	8
1.3 La Piel .....	8
1.3.1 Melanina.....	10
1.3.2 Pigmentación de la piel.....	10

1.3.3	Respuestas cutáneas a los rayos UV .....	11
1.3.4	Foto envejecimiento prematuro .....	13
1.3.5	Cáncer de piel .....	14
1.4	Fotoprotección .....	16
1.4.1	Factor de Protección Solar.....	16
1.4.2	Filtros solares.....	17
1.4.3	Filtros químicos u orgánicos.....	17
1.4.4	Filtros físicos o inorgánicos.....	19
1.4.5	Filtros Biológicos .....	20
1.5	<i>Zea mays</i> .....	22
1.5.1	Clasificación científica .....	22
1.5.2	Descripción botánica .....	22
1.5.3	Uso medicinal .....	23
1.5.4	Composición y principios activos.....	23
1.5.5	Plantas C4.....	23

## CAPÍTULO II

2	MARCO METODOLÓGICO .....	25
2.1	Lugar de investigación .....	25
2.2	Recolección del material vegetal .....	25
2.3	Acondicionamiento del material vegetal.....	25
2.4	Control de calidad de la materia vegetal .....	25
2.4.1	Determinación del contenido de humedad.....	25

2.4.2	Determinación de cenizas totales.....	26
2.4.3	Determinación de cenizas solubles en agua.....	26
2.4.4	Determinación de cenizas insolubles en ácido clorhídrico .....	26
2.5	Tamizaje Fitoquímico .....	26
2.6	Obtención del extracto seco de hojas de <i>Zea mays</i> .....	26
2.7	Cromatografía en capa fina .....	27
2.8	Preparación del estándar McFarland.....	27
2.9	Efecto de protección solar por el método de muerte celular inducida .....	28
2.10	Determinación del factor de protección solar (FPS) in vitro.....	28
2.11	Determinación del contenido de flavonoides totales.....	29
2.12	Determinación de fenoles totales .....	30
2.13	Determinación de la Capacidad Antioxidante.....	30
2.14	Análisis de datos .....	31

### CAPÍTULO III

3	MARCO DE RESULTADOS ANÁLISIS Y DISCUSIÓN .....	33
3.1	Control de calidad de la materia vegetal .....	33
3.1.1	Determinación del contenido de humedad.....	33
3.1.2	Determinación de cenizas Totales .....	34
3.1.3	Determinación de cenizas solubles en agua.....	34
3.1.4	Determinación de cenizas solubles en ácido clorhídrico .....	34
3.2	Tamizaje Fitoquímico .....	34
3.3	Extracto seco de hojas de <i>Zea mays</i> .....	35
3.4	Cromatografía en capa fina .....	36

3.5	Preparación del estándar McFarland.....	37
3.6	Efecto de protección solar por el método de muerte celular inducida .....	38
3.7	Análisis estadístico.....	43
3.8	Factor de protección solar (FPS) in vitro .....	43
3.9	Contenido de flavonoides totales .....	45
3.10	Contenido de fenoles totales .....	46
3.11	Capacidad captadora de radicales libres.....	47
CONCLUSIONES .....		50
RECOMENDACIONES .....		51
BIBLIOGRAFÍA		
ANEXOS		

## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1-1. Tipos de radiación UV.....	6
Tabla 2-1. Clasificación del FPS según COLIPA.....	17
Tabla 3-1. Clasificación científica de <i>Zea mays</i> .....	22
Tabla 1-3. Determinación del Control de calidad de las hojas de <i>Zea mays</i> .....	33
Tabla 2-3 Resultados del tamizaje fotoquímico de hojas de <i>Zea mays</i> .....	35
Tabla 3-3. Posibles compuestos identificados en hojas de <i>Zea mays</i> por TLC.....	36
Tabla 4-3. Estándar McFarland.....	37
Tabla 5-3. Efecto fotoprotector del control positivo etilhexil metoxicinamato (OMC).....	39
Tabla 6-3. Efecto fotoprotector del control positivo octildimetil-PABA.....	39
Tabla 7-3. Efecto fotoprotector del extracto de las hojas de <i>Zea mays</i> .....	40
Tabla 8-3. Test Anova de un factor para el índice de fotoprotección.....	43
Tabla 9-3. Resultados del Factor de Protección Solar (FPS) in vitro.....	44
Tabla 10-3. Contenido de Flavonoides Totales en hojas de <i>Zea mays</i> .....	45
Tabla 11-3. Absorbancias del estándar de ácido gálico.....	46
Tabla 12-3. Contenido de fenoles totales en las hojas de <i>Zea mays</i> .....	47
Tabla 13-3. Absorbancias de estándar de ácido gálico con DPPH*.....	48
Tabla 14-3. Resultado de la actividad antioxidante IC <sub>50</sub> del extracto de <i>Zea mays</i> .....	49

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1-1.</b> Penetración de la piel de las diferentes radiaciones .....	4
<b>Figura 2-1.</b> Categorías de UV .....	7
<b>Figura 3-1.</b> Estructura epidérmica y diferenciación de queratinocitos.....	9
<b>Figura 4-1.</b> Mecanismos de la respuesta fisiológica del bronceado.....	13
<b>Figura 5-1.</b> Carcinoma de Células Escamosas .....	15
<b>Figura 6-1.</b> Carcinoma de Células Basales .....	15
<b>Figura 7-1.</b> Melanoma Maligno .....	16
<b>Figura 8-1.</b> <i>Zea mays</i> .....	22
<b>Figura 1-2.</b> Valores de EE× I preestablecidos.....	29
<b>Figura 1-3.</b> Cromatografía en capa fina del extracto de <i>Zea mays</i> .....	36

## INDICE DE GRÁFICOS

<b>Gráfico 1-3.</b> Curva de calibración del estándar McFarland .....	38
<b>Gráfico 2-3.</b> Efecto fotoprotector contra la muerte celular inducida de <i>E. coli.</i> por UV-B Blanco, OMC 20 ppm, PAMIDATO 20 ppm, <i>Zea mays</i> 20 ppm.....	40
<b>Gráfico 3-3.</b> Efecto fotoprotector contra la muerte celular inducida de <i>E. coli.</i> por UV-B Blanco, OMC 200 ppm, PAMIDATO 200 ppm, <i>Zea mays</i> 200 ppm .....	41
<b>Gráfico 4-3.</b> Efecto fotoprotector contra la muerte celular inducida de <i>E. coli.</i> por UV-B Blanco, OMC 2000 ppm, PAMIDATO 2000 ppm, <i>Zea mays</i> 2000 ppm.....	41
<b>Gráfico 5-3.</b> Comparación de resultados del FPS <i>in vitro</i> .....	44
<b>Gráfico 6-3.</b> Curva de calibración del ácido gálico.....	46
<b>Gráfico 7-3.</b> Curva de calibración de estándar de ácido gálico.....	48

## **ÍNDICE DE ANEXOS**

ANEXO A: Análisis estadístico del efecto fotoprotector

ANEXO B: Evidencias fotográficas de la investigación

## RESUMEN

El objetivo fue la determinación de la actividad fotoprotectora *in vitro* del extracto hidroalcohólico liofilizado las hojas de *Zea mays*, analizada a las concentraciones de 2000, 200 y 20 ppm. Se efectuó el acondicionamiento y control de calidad de la droga cruda. El tamizaje fitoquímico demostró la presencia de compuestos fenólicos y flavonoides en las hojas de *Zea mays*. El extracto utilizado en todos los ensayos fue obtenido por liofilización a partir del extracto hidroalcohólico concentrado previamente en un evaporador rotatorio. Mediante cromatografía en capa fina se evidenció la posible presencia de compuestos flavónicos de tipo glucosídico. El contenido de flavonoides totales, fenoles totales, y capacidad captadora de radicales libres fueron determinadas por métodos espectrofotométricos. El factor de protección solar fue obtenido mediante la aplicación de la ecuación de Mansur. La actividad fotoprotectora *in vitro* fue evaluada a través del método de muerte celular inducida por radiación UVB sobre *Escherichia coli*. Las Unidades formadoras de colonias (UFC) sobrevivientes fueron detectadas en intervalos de 30 minutos durante 3 horas. Los contenidos de flavonoides y fenoles totales fueron de 158.41 mg QE/100 g extracto liofilizado y de 128.22 mg GAE/100 g extracto liofilizado, respectivamente. La capacidad captadora de radicales libres obtuvo un valor de 29.4%. El extracto de las hojas de *Zea mays* de concentración 20 ppm presentó un FPS de 6.8 en contraste con los controles etilhexil metoxicinamato y octildimetil-PABA que obtuvieron valores de 16.88 y 14.59, respectivamente. El extracto de *Zea mays* a una concentración de 2000 ppm exhibió un carácter fotoprotector mayor sobre *Escherichia coli* con respecto a los controles positivos etilhexil metoxicinamato y octildimetil-PABA ensayados a la misma concentración, hecho que se verifica por la presencia de UFC en el caso del extracto hasta los 150 min y en los controles hasta los 120 min. Se recomienda el estudio toxicológico de las hojas de *Zea mays* para posteriores investigaciones.

**Palabras clave:** <BIOQUÍMICA>, <FARMACOLOGÍA>, <MAÍZ (*Zea mays*) >, <EXTRACTO SECO>, <FOTOPROTECCIÓN>, <FACTOR DE PROTECCION SOLAR>, <RADIACIÓN UVB>, <*Escherichia coli* (BACTERIA) >.

## SUMMARY

The objective was to determine the *in vitro* photoprotective activity of lyophilized hydroalcoholic extract of the *Zea mays* leaves which were analyzed at concentrations of 2000, 200, 20 ppm. The conditioning and quality control of the raw drug was carried out. Phytochemical screening showed the presence of flavonoids and phenolic compounds in the *Zea mays* leaves. The extract used in all tests was obtained by lyophilization from the previously concentrated hydroalcoholic extract on a rotary evaporator. By thin layer chromatography, the possible presence of flavone compounds type glycosidic was evidenced. The content of total flavonoids, total phenols, and capacity to attract some free radicals were determined by spectrophotometric methods. The sun protection factor was obtained by applying the Mansur equation. *In vitro* photoprotective activity was evaluated by the cell death method induced by UVB radiation on *Escherichia coli*. Surviving colony forming units (CFUs) were detected in a 30 minute intervals for 3 hours. The contents of total phenols and flavonoids were 158.41 mg QE / 100 g lyophilized extract and 128.22 mg GAE / 100 g of lyophilized extract, respectively. The capacity of free radicals obtained a value of 29.4%. The extract from the *Zea mays* leaves concentration 20 ppm showed an SPF of 6.8 in contrast to ethylhexyl methoxycinnamate and octyldimethyl-PABA controls which obtained values of 16.88 and 14.59, respectively. A greater photoprotective character on *Escherichia coli* with respect to the ethylhexyl methoxycinnamate and octyldimethyl-PABA positive controls tested at the same concentration, was shown in a *Zea mays* extract at a concentration of 2000 ppm, this is verified by the presence of CFU in the case of extract up to 150 min and in controls up to 120 min. It is recommended the toxicology study of *Zea mays* leaves for further investigations.

**KEY WORDS:** BIOCHEMISTRY, PHARMACOLOGY, MAIZE OR CORN AS IT IS KNOWN IN SOME COUNTRIES (ZEA MAYS), DRY EXTRACT, PHOTOPROTECTION, SUN PROTECTION FACTOR (SFP), UV RADIATION, ESCHERICHIA COLI BACTERIA,

## INTRODUCCIÓN

Es consabido que la radiación solar es vital para el desarrollo de la vida en la Tierra; además, proporciona muchos beneficios a la salud, ya que; estimula la producción de vitamina D3 (colecalfierol), que está implicada en el metabolismo óseo, y en el funcionamiento del sistema inmune. También se utiliza para tratar enfermedades de la piel tales como psoriasis y vitíligo. Sin embargo la radiación solar es capaz de producir perjuicios a la salud y dañar principalmente la piel por efecto de los rayos UV (Mora, et al., 2012, pp. 825-837) .

En los últimos años, la incidencia de diversas enfermedades y trastornos en la piel relacionada con la radiación ultravioleta (UV), han tenido un incremento considerable. La reducción en la concentración del ozono en la estratosfera ha provocado que la población se encuentre a exposición directa a la radiaciones ultravioleta A y B (Mollineda, et al., 2015, pp. 52-61). Un informe del departamento de Ciencias Planetarias de la Agencia Espacial Civil Ecuatoriana (EXA) determinó que el nivel de radiación ultravioleta en el Ecuador presenta alto riesgo para los habitantes del país, especialmente para las ciudades de la sierra por la altitud, latitud, y la cercanía con la línea equinoccial (Auquilla Guzmán & Quizhpe Tello , 2016).

La exposición excesiva de la piel a la radiación UV activa un proceso complejo asociado con reacciones morfológicas y químicas; dando como resultado la formación de especies reactivas de oxígeno, cambios histoquímicos de diferente gravedad, espesamiento del estrato espinoso y aplanamiento de la unión dermo-epidérmica (Romanhole, et al., 2015, p. 366–370).

La radiación UV es absorbida por varios cromóforos en la piel, tales como melanina, ADN, ARN, proteínas, aminoácidos aromáticos (tirosina y triptófano) y ácido urocánico, entre otros. La absorción de la radiación UV por los cromóforos desencadena diferentes reacciones fotoquímicas e interacciones secundarias (Romanhole, et al., 2015). Se encuentra epidemiológica y molecularmente vinculada a los tres tipos más comunes de cáncer de piel, carcinoma basocelular, carcinoma de células escamosas y melanoma maligno. Los factores genéticos también influyen en el riesgo de enfermedades de la piel mediadas por la radiación UV (D’Orazio , et al., 2013, pp. 12222-12248).

Los efectos ocasionados por la radiación UV en la piel son irreversibles, y acumulativos como: envejecimiento y patologías dérmicas, que actualmente son un importante problema de salud a nivel mundial (Cefali, et al., 2016, pp. 346-353).

Las plantas medicinales constituyen un recurso invaluable constante expansión de preparaciones medicinales, con una excelente ventaja de un mínimo efecto secundario. La identificación y validación científica de fuentes que contienen compuestos activos valiosos entre la biodiversidad, puede proporcionar una cura para muchas enfermedades y trastornos (Balasubramania & Padma, 2013, pp. 4034-4037).

Muchos de estos compuestos poseen capacidades antioxidantes significativas que se asocian con menores incidencias y tasas de mortalidad de varias enfermedades humanas (Cemeli, et al., 2009, p. 51–67). Además, los compuestos antioxidantes que son responsables de la capacidad antioxidante pueden aislarse y utilizarse como antioxidantes para la prevención y el tratamiento de trastornos relacionados con los radicales libres (Iannitti & Palmieri, 2011, pp. 1-34). De este modo muchos enfoques de la investigación globalmente están buscando identificar plantas para combatir enfermedades asociadas con el daño oxidativo (Balasubramania & Padma, 2013, pp. 4034-4037) .

Por lo anterior, la investigación tiene como objetivo la determinación de la actividad fotoprotectora *in vitro* del extracto hidroalcohólico liofilizado de las hojas de *Zea mays* a 2000, 200 y 20 ppm para su potencial aplicación como filtro UVB, mediante el método de muerte celular inducida a *E. coli* ATCC 25922, identificando a su vez los compuestos responsables de dicha actividad a través del screening fitoquímico y cromatografía en capa fina (TLC).

Balasubramania, Kiruthika y colaboradores en el año 2013 realizan la primera investigación sobre los extractos de las hojas de *Zea mays* demostrando que poseen un alto contenido de antioxidantes especialmente en las primeras etapas de crecimiento de la planta, dicha investigación se enfoca en: Proyección de Propiedades Antioxidantes de *Zea mays* en diferentes períodos de crecimiento los resultados revelaron que las hojas de *Zea mays* poseían niveles considerables de antioxidantes en todos los periodos de crecimiento estudiados, pero observaron que las hojas en el décimo día de crecimiento tenían la máxima actividad de los antioxidantes , seguido de cerca por las hojas en los 5 y 15 días de crecimiento. El examen fitoquímico reveló la presencia de fenoles y flavonoides en las hojas de *Zea mays* (Balasubramania & Padma, 2013, pp. 4034-4037). Posterior a esta investigación se realizaron varias investigaciones con extractos de *Zea mays* como: Actividad anticancerígena de los extractos de las hojas de *Zea mays* sobre células Hep2 inducida por estrés oxidativo, que se centra en la capacidad de los diferentes extractos (acuoso, metanólico y clorofórmico) de las hojas de *Zea mays*, los resultados obtenidos validan que los extractos de las hojas de *Zea mays* son un excelente agente antiapoptótico, como lo demostró en su capacidad para reducir el estrés oxidativo que fue inducido en las células por H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. La actividad máxima fue exhibida por el extracto metanólico seguido de los extractos acuoso y clorofórmico (Balasubramanian & Padma, 2013, pp. 149-158). Además se estudia Los extractos

de hojas de *Zea mays* protegen a la célula de *Saccharomyces cerevisiae* contra muerte celular inducida por el estrés oxidativo; este estudio, fue realizado al igual que la anterior investigación descrita con tres extractos diferentes de las hojas de *Zea mays*, los resultados mostraron que los tres extractos pueden aliviar efectivamente la toxicidad del estrés oxidativo. Los extractos de hojas de *Zea mays* son una rica fuente de antioxidantes y pueden proteger eficazmente las células eucariotas (células de levadura) contra el estrés oxidativo inducido por el peróxido de hidrógeno (Balasubramania & Padma, 2013, pp. 83-92). Al obtener excelentes resultados en estas investigaciones realizaron el estudio de Los extractos de hojas de *Zea mays* protegen a las células de fibroblastos de embriones de pollo primario de la apoptosis inducida por peróxido de hidrógeno in vitro los resultados indican que las hojas de *Zea mays* proporcionan protección a los fibroblastos de embriones de pollo contra la muerte celular inducida por H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (Balasubramania, et al., 2013, pp. 638-646).

Las investigaciones más recientes fueron realizadas por Okokon Jude y colaboradores donde investigan la actividades analgésica y antiinflamatoria de las hojas de *Zea mays* los resultados obtenidos en esta investigación revelan que el extracto (170-520 mg / kg) inhibió la inflamación y dolores causados por diferentes agentes flogísticos utilizados de una manera dependiente de la dosis. El GC-MS determinó la presencia de ácidos grasos poliinsaturados y compuestos fenólicos que pueden ser responsables de las actividades observadas del extracto, el mismo que podría ser útil para el tratamiento de la inflamación y patologías que causan dolor (Okokon & Koofreh Davies, 2016, pp. 73-82).

El uso de protección solar es esencial para combatir el daño de la piel, por lo tanto, se está llevando a cabo numerosos estudios dirigidos a desarrollar formulaciones que sean seguras y eficaces, explorando compuestos naturales de origen vegetal capaces de absorber la radiación UV y que posean actividad fotoprotectora . Los polifenoles, especialmente los flavonoides, que poseen propiedades de absorción de la radiación serian útiles en este sentido (Cefali, et al., 2016, pp. 346-353).

## CAPITULO I

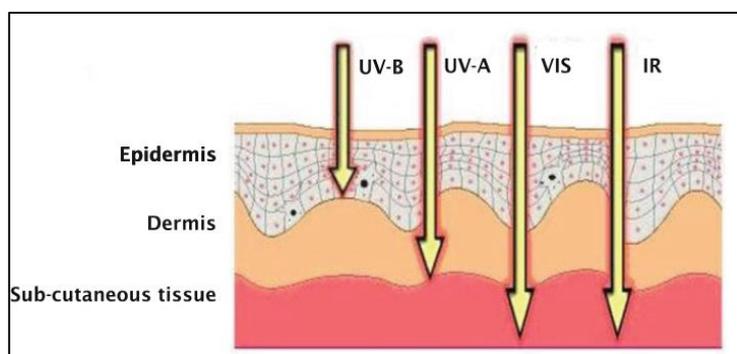
### 1 MARCO TEÓRICO

#### 1.1 Luz solar

La luz solar es una energía electromagnética radiante constituida principalmente por el espectro de luz ultravioleta (100 – 400 nm), luz visible (400 – 760 nm) e infrarroja (760 – 1.800 nm), también están presentes longitudes de onda corta (ionizantes) y de onda larga (microondas y radiofrecuencia). Estas radiaciones son modificadas de manera importante por su paso a través de la atmosfera y solamente los dos tercios de esta energía penetran la tierra (Young, et al., 2017, p. S100–S109)

##### 1.1.1 Interacción entre la radiación electromagnética y la piel: Fototoxicología

A lo largo de la vida, la piel se expone a diferentes longitudes de onda del espectro electromagnético que alcanzan la superficie de la Tierra, incluyendo la radiación UV, luz visible e infrarroja (IR) del sol, luz artificial y fuentes de calor. Estas radiaciones tienen diferentes niveles de penetración cuando impactan la piel humana, como puede verse en la Fig. 1.1. Es interesante comparar la capacidad de penetración del UV-A y las radiaciones UV-B a través de la piel. Mientras la radiación UV-A atraviesa la dermis, la radiación UV-B más energética sólo penetra en la epidermis. Las radiaciones visibles e IR tienen mayor capacidad de penetración pero, afortunadamente, son menos energéticas. Teniendo en cuenta los efectos inducidos por la radiación UV sobre la piel (León, 2014, pp. 3-5)



**Figura 1-1.** Penetración de la piel de las diferentes radiaciones

Fuente:(León, 2014, pp. 3-5).

## **1.2 Radiación Ultravioleta**

La radiación solar ultravioleta o radiación UV es una parte de la energía radiante del sol, se transfiere en forma de ondas electromagnéticas en cantidad casi constante (constante solar), su longitud de onda fluctúa entre 100 y 400 nm y constituye la porción más energética del espectro electromagnético que incide sobre la superficie terrestre (Méndez Flores, 2011).

La radiación solar ultravioleta es vital para el desarrollo de la vida en la Tierra; además, proporciona muchos beneficios a la salud ya que interviene en la producción de la vitamina D, en el proceso de la fotosíntesis e incluso sirve como antidepresivo. Pero sus efectos no solo son buenos, pues también es capaz de producir perjuicios a la salud y de dañar principalmente la piel por efecto de la radiación UV (Mora, et al., 2012, pp. 825-837).

El daño provocado por la radiación ultravioleta dependerá de la intensidad de la radiación, el tiempo de exposición y el tipo de piel de cada persona (Narayanan et al. 2010). Los niveles de penetración de los rayos UVB y UVA a nivel de la piel son diferentes. El 70% de la radiación UVB es absorbida por el estrato córneo de la epidermis, a diferencia de la radiación UVA que es absorbida entre el 70-80% por células de la dermis y melanocitos de la epidermis basal. (Young, et al., 2017, p. S100–S109)

La potencia de los rayos UV que llega al suelo depende de un número de factores, tales como:

Hora del día, Temporada del año, Distancia desde el ecuador (latitud), Altitud, Formación nubosa, Reflejo de las superficies. (Mora, et al., 2012, pp. 825-837)

### **1.2.1 Tipos de radiación**

Aun cuando los rayos UVA y UVB constituyen sólo una pequeña porción de los rayos solares, estos son la causa principal de los efectos dañinos del sol en la piel. Los rayos UV dañan el ADN de las células de la piel. Los cánceres de piel comienzan cuando este daño afecta el ADN de los genes que controlan el crecimiento de las células de la piel. (Lozano, et al., 2016)

La radiación UV se divide en tres tipos en función de su longitud de onda como se muestra a continuación:

**Tabla 1-1.** Tipos de radiación UV

RADIACIÓN UV	LONGITUD DE ONDA	CARACTERÍSTICAS	PORCENTAJE DE DAÑO QUE PROVOCA
<b>UVA</b>	315 - 400 nm	El extremo superior del rango corresponde al límite con la luz visible es la que produce el bronceado. No tiene tanta energía.. Esta radiación provoca el envejecimiento prematuro de la piel	20%
<b>UVB</b>	280 - 315 nm	En este rango del espectro el ozono atmosférico absorbe casi el 90% de esta radiación. Esta radiación provoca daños en los ojos y en la piel, eritemas solares (enrojecimientos de la piel). La sobreexposición puede provocar cáncer de la piel. Dado que la cantidad de radiación UVB que llega a la superficie está fuertemente relacionada con la capa de ozono, una reducción en esta capa implicará un aumento en la radiación que llega a la superficie terrestre.	80%
<b>UVC</b>	100 - 280 nm	El rango inferior de la banda (100 nm) corresponde al límite con los rayos X	-----

Fuente: (Lozano, et al., 2016)

### 1.2.2 Índice ultravioleta

El índice ultravioleta (UVI) es una escala de valores recomendada por la OMS (Organización Mundial de la Salud), relacionada con la intensidad de la radiación UV que induce el inicio del eritema en la piel humana (Sergio, et al., 2014, pp. 1-79) .Sin embargo, es importante enfatizar que no hay límite superior. Cuanto mayor sea el valor, mayor será el potencial de daño solar a la piel y los ojos. El índice se expresa como un valor superior a cero, mientras más alto, mayor es la probabilidad de lesiones cutáneas y oculares y menor el tiempo en que tarda en producirse (OMS, et al., 2013).

El Índice UV es una escala de irradiación calculada multiplicando por 40 la integral de irradiancia eritemática CIE en vatios  $m^{-2}$ . El término "eritema" se refiere al enrojecimiento de la piel debido a quemaduras solares. Existen otras integrales de irradiación que describen otros efectos físicos y biológicos de la radiación UV. Sin embargo, éste se ha convertido en el que se usa con más frecuencia. Para una descripción más completa, incluyendo el cálculo de la integridad de irradiancia eritemal de CIE (Fioletov, et al., 2016, pp. 15-19).

Existe una estrecha relación entre el incremento de cáncer de piel en poblaciones de piel clara de todo el mundo y la exposición excesiva a la radiación UV solar; este incremento también está asociado a al contacto continuo con fuentes artificiales de radiación UV como las camas solares (OMS, et al., 2013).

El IUV es un vehículo importante para aumentar la concienciación de la población sobre los riesgos de la exposición excesiva a la radiación UV y para advertir a las personas de la necesidad de adoptar medidas de protección. Si se impulsa a las personas a que reduzcan su exposición al sol, pueden reducirse los efectos perjudiciales para la salud y pueden disminuirse de forma significativa los costos de la atención de salud (OMS, et al., 2013).

CATEGORÍA DE EXPOSICIÓN	INTERVALO DE VALORES DEL IUV
<b>BAJA</b>	<b>&lt; 2</b>
<b>MODERADA</b>	<b>3 A 5</b>
<b>ALTA</b>	<b>6 A 7</b>
<b>MUY ALTA</b>	<b>8 A 10</b>
<b>EXTREMADAMENTE ALTA</b>	<b>11+</b>

**Figura 2-1.** Categorías de UV  
**Fuente:** (OMS, et al., 2013)

### ***1.2.3 Efectos biológicos de la radiación UV en la salud***

Las consecuencias biológicas que se derivan del aumento de la radiación UV son numerosas. En los ecosistemas terrestres, éstos afectan plantas, patógenos, herbívoros, microbios del suelo y otros procesos básicos. Como cada tipo de organismo reacciona a los daños inducidos por UV de una manera diferente, los cambios eventuales en el equilibrio pueden conducir a alteraciones significativas en el ciclo de carbono y nitrógeno. Además, aparte de la dependencia de la concentración de ozono, la radiación UV también se ve afectada por factores de cambio climático, por lo que se espera que se produzcan interacciones complejas, afectando así de manera diversa a los ecosistemas terrestres (Yagura, et al., 2012).

Los efectos de la radiación UV en la salud humana están mejor definidos. Además de producir vitamina D, la radiación UV-B está relacionada con el cáncer de piel, fotoenvejecimiento, inmunosupresión y cataratas, por mencionar sólo algunos de los efectos nocivos. Es ampliamente conocido que en los seres humanos el beneficio más importante se deriva de la producción de vitamina D. Sin embargo, hay un límite en esta producción que, al pasar, conduce a la degradación de las vitaminas ya formadas, logrando así niveles tóxicos. Se ha demostrado que las dosis diarias y poco diarias de UV son suficientes para prevenir la falta de vitamina D (Lopes & McMahon, 2016, p. 118–126).

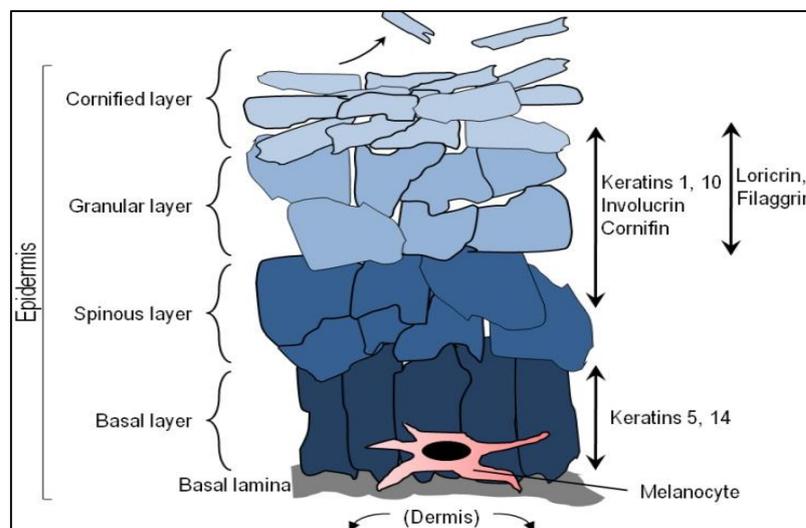
Se especula que las ventanas y los protectores solares, que bloquean principalmente UVB y facilitan la penetración de UVA, dan lugar a una reducción de los niveles cutáneos de vitamina D, posiblemente correlacionada inversamente con el aumento de la incidencia de melanoma. Mecánicamente, la radiación UV es la causa de muchos efectos destructores, como la inducción del daño del ADN, inseparable de los benéficos. Además, varias longitudes de onda UV muestran diferentes capacidades de penetración de la piel, con la diversificación en la carcinogénesis como el resultado (Yagura, et al., 2012, p. 4277–4294).

## ***1.3 La Piel***

La piel constituye aproximadamente el 16 % de la masa corporal, es el órgano más grande del cuerpo. La piel está constituida por dos capas primarias, la epidermis y la dermis, que juntas esta formadas por componentes epiteliales, mesenquimales, glandulares y neurovasculares. La epidermis, de origen ectodérmico, es la capa más externa y sirve de punto de contacto del cuerpo con el medio ambiente. Como tal, las características biológicas y físicas de la epidermis desempeñan un papel enorme en la resistencia a factores estresantes ambientales tales como patógenos infecciosos, agentes químicos y UV (D’Orazio , et al., 2013, pp. 12222-12248).

Los queratinocitos son las células más abundantes en la epidermis y se caracterizan por su expresión de citoqueratinas y formación de desmosomas y uniones estrechas entre sí para formar una barrera fisicoquímica efectiva. La dermis, derivada del mesodermo, subyace a la epidermis y alberga estructuras cutáneas incluyendo folículos pilosos, nervios, glándulas sebáceas y glándulas sudoríparas. La dermis también contiene abundantes células inmunes y fibroblastos, que participan activamente en muchas respuestas fisiológicas en la piel (D’Orazio , et al., 2013, pp. 12222-12248).

La epidermis, demarcada de la dermis por una membrana basal, está organizada en capas funcionales definidas en gran parte por características de queratinocitos tales como tamaño, forma, nucleación y expresión de la queratina. Los queratinocitos epidérmicos nascentes formados como resultado de la división celular por las células madre de queratinocitos en el estrato basal experimentan una diferenciación programada a medida que emigran hacia afuera hacia la superficie de la piel para formar finalmente corneocitos, que están estrechamente unidos a células muertas pero intactas que forman el principio Barrera de la capa más externa de la epidermis (D’Orazio , et al., 2013, pp. 12222-12248).



**Figura 3-1** Estructura epidérmica y diferenciación de queratinocitos  
**Fuente:** (D’Orazio , et al., 2013, pp. 12222-12248).

Además de la creación de una barrera física altamente efectiva, los queratinocitos también acumulan pigmentos de melanina a medida que maduran, y la melanina epidérmica funciona para bloquear de manera potente la penetración de UV en la piel. Aunque la melanina puede encontrarse en abundancia en los queratinocitos epidérmicos, no se fabrica en estas células. Más bien, la síntesis de melanina se limita a los melanocitos, que se derivan de la cresta neural y son la segunda célula más abundante en la epidermis (James & Nordlund, 2007, pp. 271-281).

De hecho, la mayoría de la melanina en la piel se encuentra en los queratinocitos donde se acumula para funcionar como un "protector solar natural" para proteger la piel contra los fotones UV entrantes. Además de bloquear la penetración de UV en la piel, la melanina puede tener muchos otros efectos fisiológicos importantes, incluyendo influencias reguladoras sobre la homeostasis epidérmica, barrido de radicales libres para proteger contra lesiones oxidativas y, posiblemente, incluso la actividad antimicrobiana ( Wang, et al., 2008, pp. 679-682) .

### ***1.3.1 Melanina***

La cantidad y el tipo de melanina epidérmica es el principal factor que determina la tez de la piel y la sensibilidad UV. La melanina es un gran bioagregado compuesto de subunidades de diferentes especies de pigmento formado por la oxidación y la ciclación del aminoácido tirosina. Intrigante, los intermedios de la melanogénesis pueden tener importantes funciones reguladoras en la piel. La melanina existe en dos formas químicas principales: eumelanina, un pigmento oscuro expresado abundantemente en la piel de individuos fuertemente pigmentados, y feomelanina, pigmento sulfatado de color claro resultante de la incorporación de cisteínas en los precursores de melanina. La eumelanina es mucho más eficiente en el bloqueo de los fotones UV que feomelanina, por lo tanto más eumelanina en la piel, menos UV-permeable es la epidermis (Slominski, et al., 2010, pp. 1155-1228).

Las personas de piel clara que son casi siempre sensibles a los rayos UV y tienen alto riesgo de cáncer de piel tienen poca eumelanina epidérmica y por lo tanto "reciben" mucho más UV que los individuos de piel más oscura. Por lo tanto, cuanto más clara sea la piel, más dañina será la exposición a los rayos UV. De hecho, los niveles de feomelanina son similares entre los individuos de piel oscura y de piel clara, y es la cantidad de eumelanina epidérmica la que determina la tez de la piel, la sensibilidad UV y el riesgo de cáncer. Los datos sugieren que la feomelanina puede promover la lesión oxidativa del ADN y la melanomagénesis al generar radicales libres en los melanocitos incluso en ausencia de radiación UV (Slominski AT, 2013, p. 212).

### ***1.3.2 Pigmentación de la piel***

La pigmentación de la piel es uno de los rasgos físicos humanos más evidentes con consecuencias sobre la susceptibilidad al cáncer de piel. Las variaciones en la pigmentación de la piel dependen de la ubicación geográfica y la etnia de la población (Scherer & Rajiv, 2010, p. 141–153).

La coloración de la piel se debe principalmente a la sustancia pigmentaria melanina, producida en orgánulos especializados (melanosomas) dentro de melanocitos dendríticos, y transferida a queratinocitos vecinos. Los dos tipos de melanina sintetizados en reacciones químicas bien

definidas son la eumelanina protectora de color oscuro y la feomelanina ligera rojo-amarilla que contiene azufre. Los eventos que conducen a la síntesis de la melanina son controlados por cascadas de señalización que implican una serie de genes que codifican ligandos, receptores, factores de transcripción, transportadores de canal y muchas otras moléculas cruciales. Varias variantes dentro de los genes involucrados en la pigmentación se han asociado con fenotipos de alto riesgo como piel clara, cabello castaño-rojo y ojos verde-azules. Muchas de estas variantes también han estado implicadas en el riesgo de varios cánceres de piel. Las variantes dentro del gen de la pigmentación clave, el receptor de melanocortina 1 (MC1R), en particular, han estado ubicuosamente ligados con rasgos de alto riesgo y cánceres de piel que implican tanto funciones pigmentarias como no pigmentarias y probable interacción con variantes en otros genes (Scherer & Rajiv, 2010, p. 141–153).

La piel está entre los determinantes más importantes de la sensibilidad UV y el riesgo de cáncer de piel. La "Escala de Fitzpatrick" es una escala semicuantitativa compuesta de seis fototipos que describen el color de la piel por cutis basal, nivel de melanina, respuesta inflamatoria a los rayos UV y riesgo de cáncer (Scherer & Rajiv, 2010, p. 141–153).

La dosis eritematosa mínima (MED) es un método cuantitativo para informar la cantidad de UV (particularmente UVB) necesaria para inducir quemaduras en la piel 24-48 horas después de la exposición, determinando eritema (enrojecimiento) y edema (hinchazón) como puntos finales. Cuanto más justa sea la piel, más fácil será para los rayos UV causar inflamación (quemaduras solares). MED, por lo tanto, es más alto en personas de piel oscura ya que se necesita más radiación UV para "quemar" la piel rica en eumelanina. En contraste, las personas de piel clara cuya piel expresa predominantemente feomelanina tienen MEDs bajos. Baja fototipo Fitzpatrick se correlaciona con ambos MED y con melanoma y otros cáncer de piel riesgo (Ravnbak, 2010).

### ***1.3.3 Respuestas cutáneas a los rayos UV***

La radiación UV tiene muchos efectos sobre la fisiología de la piel, con algunas consecuencias que se producen agudamente y otros de manera retrasada. Uno de los efectos agudos más obvios de la radiación UV en la piel es la inducción de la inflamación. La radiación UVB induce una cascada de citocinas, mediadores vasoactivos y neuroactivos en la piel que juntos dan lugar a una respuesta inflamatoria y provoca "quemaduras solares". Si la dosis de UV excede una respuesta de daño umbral, los queratinocitos activan las vías apoptóticas y mueren. Tales queratinocitos apoptóticos pueden ser identificados por sus núcleos picnóticos y se conocen como "células de quemadura solar" (Skobowiat C, 2013, pp. 595-601).

La radiación UV también conduce a un aumento en el espesor epidérmico, denominado hiperqueratosis. Al causar lesiones celulares, la radiación UV induce las vías de respuesta al daño en los queratinocitos. Las señales de daño, tales como la activación de p53, alteran profundamente la fisiología de los queratinocitos, mediando el paro del ciclo celular, activando la reparación del ADN e induciendo la apoptosis si el daño es suficientemente grande. Varias horas después de la exposición a los rayos UV, sin embargo, y las señales de respuesta al daño disminuyen, los queratinocitos epidérmicos proliferan de forma robusta, mediada por una variedad de factores de crecimiento epidérmico. El aumento de la división celular de los queratinocitos después de la exposición a los UV conduce a la acumulación de queratinocitos epidérmicos que aumenta el espesor epidérmico. La hiperplasia epidérmica protege mejor la piel contra la penetración UV (Slominski AT, 2013, p. 212).

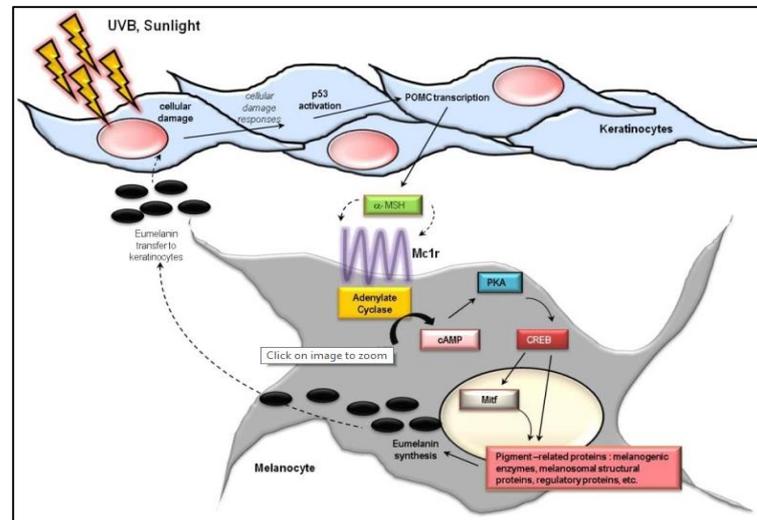
Junto con la hiperqueratosis epidérmica es la melanización adaptativa de la piel, también conocida como curtido. La radiación UV up-regula la producción y la acumulación epidérmica de melanina pigmento en la piel (McGill & Martin Horstmann, 2013, p. 707–718). Esta importante respuesta fisiológica protege la piel contra los subsiguientes daños por UV, y los defectos en esta vía están relacionados con la susceptibilidad al cáncer. (Park & Youn, 2011, pp. 23-28) .

El oscurecimiento de la piel mediada por UV es en realidad bifásico, con un oscurecimiento inicial de la piel que se produce a partir de la redistribución y / o cambios moleculares a los pigmentos de melanina epidérmica existentes. Aumentos tardíos en el oscurecimiento de la piel, mediada por la real regulación en la síntesis de melanina y la transferencia a queratinocitos, comienzan varios horas a días después de la exposición a los rayos UV (Park & Youn, 2011, pp. 23-28) .

La melanización adaptativa es probable una respuesta fisiológica compleja que implican múltiples tipos de células de la piel que interactúan de una variedad de maneras. La radiación UV tiene muchos otros efectos sobre la piel, incluyendo la inducción de un estado inmunotolerante o inmunosupresores y la producción de vitamina D mediante la conversión directa de 7-deshidrocolesterol en vitamina D (colecalfiferol) (Polefka, et al., 2012, p. 134–143).

La luz solar del ambiente, en su mayor parte, es una mezcla de UVA y UVB, sin embargo, cada componente UV puede ejercer diferentes y distintos efectos sobre la piel ( Sklar, et al., 2013).

La radiación UVB, por ejemplo, es un potente estimulador de la inflamación y la formación de fotolesiones de ADN (como los dímeros de timina mutagénicos), mientras que UVA es mucho menos activo en estas medidas, pero en su lugar es un potente conductor de daño oxidativo de radicales libres al ADN Y otras macromoléculas (Slominski AT, 2013, p. 212).



**Figura 4-1.** Mecanismos de la respuesta fisiológica del bronceado  
Fuente: (D’Orazio J, 2013, p. 12222–12248)

### 1.3.4 Foto envejecimiento prematuro

La exposición repetida y prolongada a los rayos ultravioleta generan envejecimiento prematuro de la piel o fotoenvejecimiento, este proceso está caracterizado por cambios bioquímicos, químicos e histológicos. La radiación UV afecta principalmente al tejido conectivo provocando una degradación de la elastina y colágeno que provoca elastosis, intensa sequedad cutánea, arrugas muy definidas, flacidez entre otras (Han, et al., 2014, p. 291–299)

La radiación UVA Y UVB son capaces de cruzar la epidermis y llegar a las dermis, estas pueden interactuar con cromóforos y fotosensibilizadores endógenos, resultando en la generación de ROS causando daño al ADN, a las proteínas Y lípidos. Además, la radiación UVB puede interactuar directamente con el ADN y generar fotoproductos de dipirimidina tales como dímeros de pirimidina de ciclo butano y fotoproductos de pirimidona de pirimidina (Hiraku, et al., 2007, p. 205–212).

La radiación UVB es considerada como la radiación más danina. La radiación UV activa varias vías de transducción de señales relacionadas con el crecimiento, la diferenciación, la senescencia y la degradación del tejido conectivo por la activación de varios receptores de la superficie celular. Esto incluye citocinas o receptores de factores de crecimiento como receptores del factor

de crecimiento epidérmico (EGF), factor de necrosis tumoral (TNF), interleuquina 1 (IL-1) y factor de crecimiento de queratinocitos (KGF). Inmediata y transitoria (inflamación, formación de células de quemadura solar, prurito) o retrasada y crónica (fotoenvejecimiento, inmunosupresión, carcinogénesis). Las exposiciones a los rayos UV también se usan en la dermatología para tratar muchas enfermedades de la piel incluyendo psoriasis, dermatitis atópica, vitiligo, etc (Debacq, et al., 2012, p. 236–240.).

### ***1.3.5 Cáncer de piel***

El cáncer de piel es una de las consecuencias de la exposición excesiva al sol, pero también hay otros efectos. Las quemaduras y los bronceados son los resultados a corto plazo de la exposición excesiva a los rayos UV, y son señales de daño a la piel. La exposición prolongada pueden causar envejecimiento prematuro de la piel, arrugas, pérdida de la elasticidad de la piel, manchas oscuras (peças, algunas veces llamadas “manchas de envejecimiento” o “manchas del hígado” y cambios precancerosos de la piel (Valachovic & Zurbenko, 2014).

La exposición solar UVR es el principal factor de riesgo para las tres formas más comunes de melanoma cutáneo maligno (MM), carcinoma basocelular (CBC) y carcinoma escamoso (SCC). La exposición a la radiación UV provoca daños en el ADN de la piel. (Norval & Halliday, 2011, p. 965–977)

El cáncer de piel es un crecimiento no regulado de células anormales; llamado así por el tipo de células de la piel de la que se originan, por ejemplo: Basal, escamosa y melanoma. El riesgo de cáncer de piel está fuertemente influenciado por la exposición UV y por la pigmentación de la piel (Valachovic & Zurbenko, 2014).

Los cánceres de piel se dividen principalmente en melanomas y cánceres de piel no melanoma (CPNM), estos últimos incluyendo carcinomas de células basales y de células escamosas (BCC y SCC, respectivamente). Melanoma es responsable de la mayoría de las mortalidades relacionadas con el cáncer, y los NMSC se describen típicamente como teniendo un curso más benigno con características localmente agresivas (Narayanan & Saladi, 2010, p. 978–986).

Los cánceres de piel no melánicos (CPNM) comprenden los carcinomas de células basales y los carcinomas de células escamosas. Aunque raramente son mortales, el tratamiento quirúrgico es doloroso y a menudo desfigurante.

Es difícil determinar la evolución en el tiempo de la incidencia de los cánceres de piel no melánicos porque no se ha logrado un registro fiable de estos tipos de cáncer. Los cánceres de piel no melánicos son más frecuentes en las partes del cuerpo que tiene mayor exposición a la radiación UV las orejas, cara, el cuello y los antebrazos (OMS, et al., 2013).



**Figura 5-1.** Carcinoma de Células Escamosas  
**Fuente:** (OMS, et al., 2013)



**Figura 6-1.** Carcinoma de Células Basales  
**Fuente:** (OMS, et al., 2013)

Los melanomas son menos frecuente ,pero es l principal causa de muerte por cancer de piel y su notificacion y diagnostico correcto es mas probable que en los Los cánceres de piel no melánicos.

Dentro de los factores de riesgo de melanomas tenemos

- En las poblaciones de piel clara es la presencia de numerosos lunares atípicos .
- Se ha comprobado en estudios experimentales que los pacientes con melanoma presentan un menor tiempo de eritema y un enrojecimiento de la piel más prolongada que los controles.
- Exposición alta e intermitente a la radiación UV solar.
- La incidencia de melanoma en poblaciones de piel blanca generalmente aumenta conforme disminuye la latitud (OMS, et al., 2013).



**Figura 7-1.** Melanoma Maligno

Fuente: (OMS, et al., 2013)

#### **1.4 Fotoprotección**

La Fotoprotección tópica moderna implica tanto factores protectores primarios (filtros solares) que absorben o reflejan la radiación UV y factores secundarios (por ejemplo, antioxidantes, osmolitos y enzimas de reparación del ADN) que pueden interrumpir la cascada fotoquímica provocada por la penetración de UV, limitando así el daño de la piel (Reena, et al., 2012, p. 335–342). Los efectos de protección se pueden clasificar de acuerdo a mecanismos como:

- Absorción directa de fotones
- Modulación de la inmunodepresión
- Inhibición de la inflamación crónica
- Inducción de apoptosis
- Actividad antioxidante directa para neutralizar o atrapar especies reactivas del oxígeno
- Actividad antioxidante indirecta (inducción de las respuestas citoprotectoras intrínsecas que permiten la detoxificación de diversos oxidantes)

La Fotoprotección es una estrategia preventiva y terapéutica fundamental frente al fotoenvejecimiento y el cáncer de piel (Hupel, et al., 2011, pp. 362-371).

##### **1.4.1 Factor de Protección Solar**

El Factor de Protección Solar (SPF) es el dato más importante para cuantificar la efectividad de un protector solar, siendo universalmente aceptado. El método se basa en determinar la dosis eritematosa mínima (MED), definida como la menor cantidad de energía necesaria para desencadenar el eritema, en áreas de piel protegida y no protegida. El valor de SPF se calcula entonces como la relación entre el MED de piel protegida y no protegida. La primera publicación de un método para determinar el SPF fue presentada en 1978 por la agencia estadounidense de la

FDA, seguida por otras publicaciones de la FDA y otras agencias reguladoras internacionales (Sergio, et al., 2014, pp. 1-79).

El Factor de Protección Solar (SPF 25) protege contra el 92% de la radiación UV-B, en comparación con el Factor De Protección Solar 30+ (SPF 30+) que protege más del 97,5 %. Se considera que un Factor De Protección Solar debe tener, por lo menos, un SPF 30+ y que al adicionarle filtros UV-A, se potencie su eficacia contra el espectro de radiación ultravioleta (UV) (Moreno & Moreno, 2015, pp. 31-39).

**Tabla 2-1.** Clasificación del FPS según COLIPA

FPS	TIPO DE FOTOPROTECCIÓN	INTENSIDAD SOLAR
<b>2-4-6</b>	Bajo	Baja
<b>8-10-12</b>	Medio	Madia
<b>15-20-25</b>	Alto	Alta
<b>30-40-50</b>	Muy alto	Alta
<b>+50</b>	Ultra	Muy alta

Realizado por: BARRERA, Ana, 2017

#### 1.4.2 *Filtros solares*

Los filtros solares son aquellas sustancias que contenidas en productos cosméticos de protección solar, están destinadas específicamente a filtrar ciertas radiaciones para proteger la piel de efectos perjudiciales de causan los rayos UV, que tienen la capacidad de interactuar con la radiación incidente a través de tres mecanismos básicos: la reflexión, la dispersión y la absorción ( Schalkal & Silva, 2011) .

La dispersión ocurre cuando los rayos UV chocan contra una película o pantalla que desvía su trayectoria, permitiendo así la disipación en el entorno. En la absorción las moléculas del protector solar absorbe la radiación UV. Implica la incorporación de energía en la estructura del protector, los fotones son absorbidos hasta alcanzar la piel y conducidos en forma de calor (Moreno & Moreno, 2015, pp. 31-39).

#### 1.4.3 *Filtros químicos u orgánicos*

Los filtros solares químicos absorben la energía dañina y transforman en forma no agresiva antes de transmitirla a la piel, estos son compuestos orgánicos aromáticos conjugados con un grupo carbonilo, absorben el 95% de la radiación en longitudes de onda de 290-320 nm. Los filtros químicos tienen un mecanismo de acción muy diferente al de los filtros inorgánicos; por medio de anillos aromáticos conjugados que hacen parte de su estructura, y de la excitación y posterior

estabilización de electrones, convierten la radiación en calor. Están divididos en filtros contra UVB y contra UVA (Dias da Silva Cabral, et al., 2011).

#### 1.4.3.1 *Filtros contra UV-B*

El PABA fue el primer filtro solar utilizado en el mercado, tiene un pico de absorción de 283 nm. Mediante puentes de hidrogeno se unen fuertemente a los queratinocitos. Es resistente al agua, alta sustentividad y eficacia. Pero pronto se limitó debido a las frecuentes reacciones cutáneas adversas que producía, razón por la cual desde los años 80, es común encontrar filtros solares libres de PABA (Moreno & Moreno, 2015, pp. 31-39).

Esteres de PABA: son derivados del PABA con una molécula adicional de Hidrocarbano. También es conocido como Pamidato u octil-dimetil-PABA (2-etil-hexil p-dimetil-aminobenzeno) tiene resistencia al agua, protege hasta longitudes de onda de 311 nm, es usado poco en cosméticos por ser derivado del PABA (Dias da Silva Cabral, et al., 2011).

Los cinamatos son solubles en agua tiene bajo potencial irritante, se usa con frecuencia en cosméticos fotoprotectores. Existen dos tipos octinoxato (octil-metoxi-cinamato), u OMC y cinoxato (2-etoxi-etil-p-metoxicinamato). El OMC es el filtro más usado en lo protectores solares con un pico de acción sobre longitudes de onda hasta 320 nm (UVB). El cinoxato cubre un espectro de hasta 289 nm y es un filtro poco usado. (Moreno & Moreno, 2015, pp. 31-39)

Los salicilatos son usados para aumentar los efectos de otros filtros solares UVB, disminuyendo la fotodegradación. Por su alta sustentividad y efectividad, se usan en varios protectores, combinados con filtros como avobenzona (Moreno & Moreno, 2015, pp. 31-39).

Octocrileno: el perfil de absorción se extiende desde 290 hasta 360 nm con absorción máxima a 307 nm. El compuesto tiene un excelente perfil de seguridad con baja irritación, fototoxicidad y potencial fotoalérgico. El octocrileno se puede utilizar en combinación con otros absorbedores de UV para lograr fórmulas SPF más altas y para agregar estabilidad (Reena, et al., 2012, p. 335-342).

Ensulizol o Fenilbenzimidazol ácido sínfónico es un filtro UVB selectivo, que permite casi toda la transmisión UVA, soluble en agua, se utiliza en productos formulados para sentirse más ligero y menos aceitosos, como el uso diario de cremas hidratantes cosméticas (Reena, et al., 2012, p. 335-342).

#### 1.4.3.2 *Filtros contra UV-A*

Benzofenonas son principalmente absorbentes de UVB, la oxibenzona absorbe bien a través de UVA II y puede considerarse un absorbente de amplio espectro. Aumenta significativamente la protección UVB cuando se usa en una fórmula dada. La oxibenzona tiene la mayor incidencia de dermatitis por contacto y fotocontacto de todos los filtros solares, y estas reacciones se intensifican por la exposición al sol o al calor. Las benzofenonas tienen una sustantividad pobre, pero la captación de las moléculas es detectable en la sangre y la orina después de la aplicación tópica. Sin embargo, la absorción sistémica parece ser de poca consecuencia biológica. Las moléculas se vuelven inestables con la exposición UV a través de reacciones de oxidación y el consumo de reservas antioxidantes (Cole, 2001).

La oxibenzona no es fotostable y puede generar radicales de oxígeno tras la exposición a los rayos UV. Existe una preocupación por su efecto endocrino y carcinógeno, aunque los estudios científicos actuales no han apoyado estos temores (Reena, et al., 2012, p. 335–342).

Los antranilatos son filtros UVB débiles, y absorben principalmente en la porción cercana al UVA del espectro. Los antranilatos son menos eficaces en este intervalo que las benzofenonas, y son menos utilizados (Reena, et al., 2012, p. 335–342).

El butil methoxidibenzoilmetano o avobenzona proporciona una protección superior a través de una gran porción del rango UVA, incluyendo UVA I. A pesar de su eficacia y amplio espectro, la avobenzona es intrínsecamente fotounstable y puede producirse fotodegradación significativa con una pérdida de 50-90% de moléculas después de 1 hora de exposición a los rayos UV. Para aumentar la fotoestabilidad de la avobenzona, se añaden moléculas tales como absorbente de UV (por ejemplo, octocrileno) y filtro no UV (por ejemplo, 2, 6-naftalato de dietilhexilo) (Reena, et al., 2012, p. 335–342).

El ácido tereftalilideno dicamfor sulfónico o Mexoryl SX proporciona protección dentro del rango cercano a los UVA. El compuesto es fotoestable, resistente al agua, y tiene baja absorción sistémica (Reena, et al., 2012, p. 335–342).

#### **1.4.4 *Filtros físicos o inorgánicos***

Los filtros inorgánicos, o filtros físicos, son moléculas estables a la luz que protegen de la radiación ultravioleta por dispersión, reflejo o absorción de la misma, dependiendo del tamaño de la partícula, debido a que el tamaño original es grande, los filtros son opacos y pueden alcanzar a brindar protección hasta contra la luz visible, por lo cual son muy útiles en fotodermatosis como

el lupus eritematoso sistémico y otras. Los filtros UV inorgánicos más utilizados son: Dióxido de titanio (TiO<sub>2</sub>) y óxido de zinc (ZnO) que funcionan bien en la luz reflectora. (Lowe, 2006, pp. 9-17). El dióxido de titanio es un filtro UV de amplio espectro que no penetra en el estrato córneo. Se ha sometido a un proceso de micronización para mejorar la cosmesis. El dióxido de titanio microfino proporciona fotoprotección contra UVB y UVA II (315-340 nm), pero carece de cobertura dentro de UVA I (340-400 nm) (Lowe, 2006, pp. 9-17).

El óxido de zinc es un ingrediente seguro y eficaz en los productos fotoprotectores. Es fotoestable, no fotorreactivo, y no fotocatalítico. Tiene poco potencial para irritación o sensibilización. El óxido de zinc micronizado más pequeño se considera como un protector UV de amplio espectro. Aunque no es tan eficiente en la gama UVB como el dióxido de titanio, este filtro UV inorgánico cubre predominantemente los espectros UVA, con protección en UVA I. El óxido de zinc también se considera inferior como un filtro UV a los protectores solares orgánicos (Lowe, 2006, pp. 9-17).

#### **1.4.5 Filtros Biológicos**

Nuevos compuestos, especialmente de materiales vegetales, con la capacidad para absorber o bloquear la radiación UV han sido ampliamente investigados para el desarrollo como productos para proteger la piel contra radiación solar. Por lo tanto, nuestro objetivo fue realizar una revisión de la literatura de los compuestos vegetales que se la piel contra la radiación solar cuando se incorpora en formulaciones tópicas. El término «Fito cosmética» se utiliza para referirse a extractos de plantas o aceites con propiedades cosméticas (Cefali, et al., 2016, pp. 346-353).

##### **1.4.5.1 Antioxidantes**

El efecto antioxidante es un mecanismo clave de la actividad de protección fotográfica de extractos de plantas. El daño UV de la piel depende principalmente de la generación de especies reactivas del oxígeno, llamadas ROS. Estas especies incluyen radicales peroxilo, radicales hidroxilo, anión superóxido y, principalmente, sus precursores activos: ozono, peróxido de hidrógeno y oxígeno singlete. La presencia de ROS determina la lipo-peroxidación de la célula de membrana y mejora el envejecimiento de la piel y daño tisular. Los antioxidantes probinientes de plantas pueden proporcionar nuevas posibilidades para el trataendo y prevención de varias enfermedades. Los extractos de planta poseen una fuente importante de antioxidantes como: compuestos fenólicos, polifenólicos y flavonoides, a los cuales se atribuye propiedades fotoprotectoras (Radice, et al., 2016, pp. 144-162).



## 1.5 *Zea mays*



**Figura 8-1.** *Zea mays*

Fuente: (Yáñez, et al., 2013)

### 1.5.1 *Clasificación científica*

**Tabla 3-1.** Clasificación científica de *Zea mays*

Reino: Plantae	Orden: Cyperales
División: Magnoliophyta	Familia: Poaceae
Clase: Liliopsida	Género: Zea - maíz
Subclase: Commelinidae	Especie: <i>Zea mays</i> – maíz

Realizado por: BARRERA, Ana, 2017

### 1.5.2 *Descripción botánica*

*Zea mays* es una planta monocotiledónea anual de elevado porte (60-80 cm de altura), frondosa, con un sistema radicular fibroso y un sistema caular con pocos macollos. Las yemas laterales en la axila de las hojas de la parte superior de la planta formarán una inflorescencia femenina (mazorca) cubierta por hojas y que servirán como reserva. Las mazorcas son espigas de forma cilíndrica con un raquis central donde se insertan las espiguillas por pares estando cada espiguilla con dos flores postiladas, una fértil y otra abortiva, en hileras paralelas (Ortega, 2015).

Las hojas que se desprenden de los nodos son alternas, lanceoladas y acuminadas, con pequeñas lígulas, naciendo en los nudos de forma alternada. Los entrenudos y las yemas florales están

cubiertos por una vaina. La parte superior de la planta está compuesta de una espiga central con algunas ramificaciones laterales que es donde se producirán los granos de polen (Inflorescencia masculina en panícula dominante). La coloración de la panícula está en función de la tonalidad de las glumas y las anteras pudiendo ser verdosa o amarillenta. A lo largo del eje central las espiguillas se distribuyen de forma polística estando protegidas por dos glumas (superior e inferior). La lemma del flósculo estéril es ovada, membranosa, sin nervios, mientras que el flósculo fértil es orbicular, sin quilla. Ambas inflorescencias presentan espiguillas apareadas (Ortega, 2015).

### **1.5.3 *Uso medicinal***

Las hojas de *Zea mays* tiene una historia en la etno medicina ya que eran usadas para diversos tratamiento por lo tanto se puede asumir que no son toxicas estas tiene un efecto diurético, actividad antidiabética, anticancerígena y antibacterial (Balasubramania, et al., 2013, pp. 638-646).

### **1.5.4 *Composición y principios activos***

Estudios previos de *Zea mays* indican que presentan un alto contenido de antioxidantes entre ellos: ácido ascórbico, tocoferol, Carotenoides, licopeno, glutatión reducido, clorofila, fenoles totales y Flavonoides (Balasubramania & Padma, 2013, pp. 4034-4037).

### **1.5.5 *Plantas C4***

Las plantas C4 son aquellas plantas con un mecanismo de concentración de CO<sub>2</sub> en el que los ácidos C4 (malato, aspartato) son el primer producto de fotosíntesis. El número de especies de plantas terrestres que son C4 es reducida (alrededor del 3%), aproximadamente el 50% de las gramíneas son C4 siendo un ejemplo de estas el maíz (*Zea mays*). Las plantas C4 tienden a estar activas durante el verano, cuando las temperaturas son más altas y agua del suelo más baja. La vía C4 también da como resultado una mejora en el uso de agua y nitrógeno en comparación con las plantas C3.

La posesión de un mecanismo de concentración de CO<sub>2</sub> que sobrepasa la fotorrespiración tiene un impacto en la eficiencia con la que la luz, el nitrógeno y el agua son utilizados por las plantas y en la temperatura óptima para la fotosíntesis. En las plantas C4, la fotosíntesis está saturada de CO<sub>2</sub> en el aire y las tasas de fotosíntesis saturada de CO<sub>2</sub> son a menudo más altas que en las plantas C3.

El mecanismo C4 confiere ventajas a la eficiencia del uso del agua a las plantas C4 porque la fotosíntesis puede operar a bajas concentraciones intercelulares de dióxido de carbono (c.100

mbar), y por lo tanto menor conductancia estomática, que en las plantas C3. La eficiencia del uso del agua en las plantas C4 es el doble de las plantas C3 (por ejemplo, el trigo (C3) y el maíz (C4) usan, respectivamente, aproximadamente 600 y 300 g H<sub>2</sub>O por gramo de materia seca producida). Las plantas C4 tienen mayor gasto de energía porque generan el PEP y la enzima asociada y por ende necesita mayor cantidad de luz. (Leegood, 2016, p. 680–688)

## CAPÍTULO II

### 2 MARCO METODOLÓGICO

#### 2.1 *Lugar de investigación*

La presente investigación se llevó a cabo en el Laboratorio de Productos Naturales, Laboratorio clínico, y Laboratorio de Bromatología de la Escuela de Bioquímica y Farmacia perteneciente a la Facultad de Ciencias de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, localizada en el Cantón Riobamba, Provincia de Chimborazo.

#### 2.2 *Recolección del material vegetal*

La recolección del material vegetal se realizó en la comunidad Yayulihui del Cantón Quero Provincia de Tungurahua, la planta se encontraba en estado de floración por el mes de septiembre del 2016 a una altura de 3091 msnm entre las coordenadas S 1°24'41.9076", W 78°37'28.1712"

#### 2.3 *Acondicionamiento del material vegetal*

Luego de la recolección del material vegetal se procedió a su limpieza, lavándolas con agua potable para eliminar cualquier tipo de sustancias extrañas inmersas en las hojas seleccionadas. Posteriormente fueron colocadas sobre papel periódico para su secado a una temperatura ambiente y protegidos de la luz. Una vez seco el material vegetal se procedió a moler en un molino de cuchilla giratoria marca Arthur H, Tomas C.O, para obtener partículas pequeñas de 2 y 3 mm. El material vegetal triturado fue almacenado en una funda de papel en un lugar seco y protegido de la luz para evitar todo tipo de contaminación.

#### 2.4 *Control de calidad de la materia vegetal*

##### 2.4.1 *Determinación del contenido de humedad*

La determinación de humedad de la muestra vegetal se realizó mediante el método gravimétrico el cual se basa en la pérdida en masa de la muestra por desecación basado en la Farmacognosia de Trease and Evans. (EVANS , 2009)

#### **2.4.2 *Determinación de cenizas totales***

La determinación de cenizas totales de la muestra vegetal se realizó mediante el método gravimétrico el cual se basa del residuo obtenido de la incineración de la muestra, basado en la Farmacognosia de Trease and Evans. (EVANS , 2009)

#### **2.4.3 *Determinación de cenizas solubles en agua***

La determinación de cenizas solubles en agua se realizó mediante el método gravimétrico, basado en la Farmacognosia de Trease and Evans. (EVANS , 2009)

#### **2.4.4 *Determinación de cenizas insolubles en ácido clorhídrico***

La determinación de cenizas insolubles en ácido clorhídrico se realizó mediante el método gravimétrico, basado en la Farmacognosia de Trease and Evans. (EVANS , 2009)

### **2.5 *Tamizaje Fitoquímico***

Se procedió a identificar cualitativamente los componentes químicos presentes en las hojas de *Zea mays* mediante screening o tamizaje Fitoquímico para lo cual se realizaron extracciones sucesivas con solventes de polaridad creciente: éter etílico, etanol, y agua respectivamente según la Farmacognosia y Productos Naturales de Miranda Martinez y Cuellar (Miranda Martinez & Cuellar, 2010)

Luego de haber obtenido los diferentes extractos vegetales se procedió a realizar la caracterización de cada extracto. Mediante reacciones selectivas se logró identificar cualitativamente los metabolitos secundarios presentes en las hojas de *Zea mays*.

### **2.6 *Obtención del extracto seco de hojas de Zea mays***

En un frasco de vidrio ámbar se colocó 50 g de material vegetal seca y triturada y 100 ml de etanol al 70 % .y se procedió a sonicar en un sonicador marca por 45min posteriormente se filtró al vacío, el residuo sólido fue desechado .El filtrado se transfirió a un balón esmerilado de 250 mL y se concentró en un rotavapor BÜCHI 461 a 60°C y presión reducida, hasta evaporar el etanol por completo .seguidamente se procedió a filtrar y congelar el concentrado.

El siguiente paso fue la eliminación del agua por liofilización usando manteniendo congelado el concentrado con nitrógeno líquido hasta eliminación completa del agua. (KINUTHIA, et al., 2016, p. 416-422. )

## 2.7 *Cromatografía en capa fina*

Los flavonoides presentes en las hojas de *Zea mays* fueron identificados mediante cromatografía de capa fina (TLC), utilizando como fase estacionaria placas de sílica gel 60 F 254 marca Merck de 10 cm de largo por 5 cm de ancho; como fase móvil se utilizó un sistema de solventes compuesto por: Acetato de etilo: Ácido acético: Ácido fórmico: Agua, en proporción (10: 1.1: 1.1:2.6) mL respectivamente; como revelador se empleó Cloruro de aluminio al 1 % en metanol y como potenciador de fluorescencia PEG 400 al 5% en metanol (Wagner & Bladt, 1996).

Se disolvieron 20 mg de extracto seco en 10 mL de etanol al 70% que corresponden a 2000ppm mediante agitación magnética por 15 min con un Agitador Vortex Modelo: Vibrate- IT, una vez disuelto se procedió a sembrar 20 µL de la muestra en la placa de sílica gel a 1 cm de distancia del borde inferior dejándolo secar por 1 minuto. La placa sembrada fue colocada en el interior de una cuba que contenía la fase móvil (Acetato de etilo: Ácido acético: Ácido fórmico: Agua). Luego del desarrollo de la cromatografía se dejó secar la placa al ambiente para su posterior revelado con cloruro de aluminio ( $\text{AlCl}_3$ ) al 1 % y después sumergida en PEG 400 al 5% para mejorar su fluorescencia. Se observó con una lámpara UV maraca largo (365 nm) en la cual se pudieron visualizar manchas redondas de color verde y se calcula los Rf.

## 2.8 *Preparación del estándar McFarland*

Mediante el método de la FDA se realizó la preparación del estándar McFarland que fue usado para estandarizar la concentración de las suspensiones bacterianas utilizadas en el ensayo de fotoprotección mediante la comparación de la turbidez. Se preparó el estándar McFarland Nº 0.5 que corresponde a una suspensión bacteriana con una concentración aproximada de  $1.5 \times 10^8$  UFC/mL, para lo cual se mezcló 0.5 mL de Cloruro de Bario ( $\text{BaCl}_2$ ) al 1% con 9.5 mL de Ácido Sulfúrico ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ) al 1 % esta reacción produjo Sulfato de Bario precipitado apreciando una solución blanquecina turbia (FDA, 2015).

Para comprobar la exactitud de la turbidez se realizó la curva de calibración del estándar McFarland por espectrofotometría midiendo la absorbancia a una longitud de onda de 625 nm; este valor debe estar entre 0.08-0.1

Para determinar el Nº de estándar McFarland que corresponde a la suspensión, el valor de su absorbancia se reemplazó en la ecuación de la recta obtenida a partir de la curva de calibración realizada con el estándar McFarland Nº 1, 2, 3,4,

## 2.9 *Efecto de protección solar por el método de muerte celular inducida*

Aplicando el método propuesto por Ávila Acevedo con pequeñas modificaciones se realizó la reactivación de una cepa de *Escherichia coli* ATCC 25922, la misma que se cultivó en caldo de infusión cerebro corazón y luego en agar Muller Hinton para su reactivación. Se preparó una solución de 2000ppm de extracto de las hojas de *Zea mays* pesando 50 mg de extracto seco en 25 mL de etanol al 70%; las soluciones de 200 y 20 ppm se prepararon por diluciones a partir de la solución de 200ppm y 200ppm respectivamente. Las suspensiones bacterianas de concentración 0.5 McFarland ( $1.5 \times 10^8$  UFC/mL) fueron diluidas con 5 mL solución salina (cloruro de sodio) al 9% de igual manera en tubos de cuarzo de 1 cm de diámetro (Avila Acevedo, et al., 2005, pp. 301-309).

Los tubos que contenía las suspensiones bacterianas fueron colocados detrás de cada uno de los tubos que contenían los extractos de *Zea mays* de diferente concentración ambas columnas formaron unidades experimentales. Las unidades experimentales fueron irradiadas con una lámpara de UVB marca Philips Broadband TL 40 w/12 RS a una dosis de radiación de 0.60 J/cm<sup>2</sup>. Se determinó el número de UFC sobrevivientes a la radiación UVB sembrando aproximadamente 5µL de la suspensión bacteriana en agar Muller ;cada 30 minutos durante 3 horas. En el tiempo 0 y 1 las bacterias fueron sembradas luego de realizar diluciones con solución salina al 0.9% (Avila Acevedo, et al., 2005, pp. 301-309).

Se realizó el análisis del extracto de las hojas de *Zea mays* y de los controles etilhexil metoxicinamato (OMC) y octildimetil-PABA (pamidato O) a concentraciones de 20 ppm, 200 ppm, 2000 ppm cada muestra por triplicado en tres replicas. El blanco utilizado fue el etanol al 70%.

## 2.10 *Determinación del factor de protección solar (FPS) in vitro*

La determinación del factor de protección solar (FPS) *in vitro* de las hojas de *Zea mays* se realizó a una concentración de 20 ppm y de igual concentración a los controles positivos (OMC Y Pamidato-O), el blanco fue etanol al 70% el mismo que fue usado para disolver las sustancias fotoprotectoras.

Se realizó un análisis espectrofotométrico registrando las absorbancias a diferentes longitudes de onda comprendidas entre 290-320 nm, con intervalos de 5nm; utilizando el espectrofotómetro UV Cole Parmer S-21590 y celdas de cuarzo de 1 cm. (Goncalves, et al., 2013, pp. 122-127).

El cálculo del FPS del extracto y de los controles positivos se determinó mediante la ecuación propuesta por Mansur.

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

Donde:

EE ( $\lambda$ ) Representa el espectro del efecto eritemal

I ( $\lambda$ ) Representa la intensidad del espectro solar

Abs ( $\lambda$ ) Representa la absorbancia del producto con protección solar

CF es el factor de corrección igual a 10

Los valores de la relación entre el efecto eritemal y la intensidad de la radiación para cada longitud de onda EE ( $\lambda$ )  $\times$  I ( $\lambda$ ) son constantes como se indica a continuación.

<b>Wavelength (nm)</b>	<b>EE x I (normalized)</b>
290	0.0150
295	0.0817
300	0.2874
305	0.3278
310	0.1864
315	0.0839
320	0.0180
<b>Total</b>	<b>1.0000</b>

EE – erythemal effect spectrum; I – Solar intensity spectrum.

**Figura 1-2** Valores de EE  $\times$  I preestablecidos

Fuente: (Goncalves, et al., 2013, pp. 122-127)

## 2.11 Determinación del contenido de flavonoides totales

Se procedió a cuantificar los flavonoides totales presentes en los extractos de las hojas de *Zea mays* a 3200ppm para lo cual se disolvieron 32mg de extracto seco en 10 ml de etanol al 70%.

- Posteriormente se tomó una alícuota de 100  $\mu$ L del extracto etanólico se mezcló con 300  $\mu$ L de solución de Nitrito de Sodio ( $\text{NaNO}_2$ ) al 5% p/v y 4 mL de agua destilada.
- Se agitó la mezcla y se dejó reposar 5 minutos a temperatura ambiente protegido de la luz.
- Transcurrido los 5 minutos se agregó a la mezcla 300  $\mu$ L de solución de cloruro de aluminio ( $\text{AlCl}_3$ ) al 10 % p/v.
- Se agitó y se dejó reposar por 6 minutos a temperatura ambiente protegido de la luz
- Como siguiente paso se adicionaron 2 ml de Hidróxido de sodio ( $\text{NaOH}$ ) 1M.
- Seguidamente se mezcló y se dejó reposar durante por 5 minutos a temperatura ambiente y protegido de la luz.
- Finalmente se procedió a registrar las absorbancias a una longitud de onda de 510 nm; el blanco utilizado se preparó de la misma manera excepto la sustancia fotoprotectora (Boukhris, et al., 2012, p. 1206–1213) .

El contenido de flavonoides totales se expresaron como miligramos equivalentes de quercetina por gramos de extracto seco (mg EQ/g ES) los cuales fueron calculados mediante la ecuación de la recta  $A=0.001C+0.0015$  establecida anteriormente obtenida a partir de la curva de calibración del estándar de quercetina que fue elaborada con soluciones de 20, 40, 60, 80, y 100ppm en metanol al 98% con un coeficiente de correlación de  $R^2 = 0.9948$  (Chavez, 2016).

El ensayo se realizó por triplicado; los resultados fueron obtenidos despejando la concentración en la ecuación de la recta, reemplazando el valor de la absorbancia y multiplicando el resultado obtenido por el factor de dilución empleado.

### **2.12 Determinación de fenoles totales**

Se preparó los extractos de las hojas de *Zea mays* a 3000ppm con etanol al 70%.

- Posteriormente se tomó una alícuota de 2ml del extracto etanólico de hojas de *Zea mays* se mezcló con 0.5 mL de reactivo de Folin –Ciocalteu al 20%
- Mezclar bien por 1 minutos y dejar reposar durante 5 minutos
- Se añadieron 0.5 mL de carbonato de sodio ( $\text{NaCO}_3$ ) al 20 %
- Inmediatamente se añadieron 5 mL de agua destilada y se agito por 1 minuto.
- Se dejó reposar la mezcla por 1 hora a temperatura ambiente y protegido de la luz.
- Se centrifugó por 4 minutos
- Se efectuaron las lecturas a una longitud de onda de 765 nm.

El contenido de fenoles totales se expresó como miligramos equivalentes de ácido gálico por gramos de extracto seco (mg EGAE/gES). (Huang & Teik, 2013, pp. 122-127)

El ensayo se realizó por triplicado; los resultados fueron obtenidos despejando la concentración en la ecuación de la recta, reemplazando el valor de la absorbancia y multiplicando el resultado obtenido por el factor de dilución empleado.

### **2.13 Determinación de la Capacidad Antioxidante**

La capacidad antioxidante del extracto de las hojas de *Zea mays* se evaluó mediante el ensayo de radical estable DPPH\* (2,2- difenil-1-picrilhidrazil libre).

El DPPH\* es un radical libre que se puede obtener directamente disolviendo el reactivo en un solvente orgánico (metanol). La reducción del DPPH\* se monitorea por la disminución de la absorbancia a una longitud de onda característica, en su forma de radical libre el DPPH\* absorbe a 515 nm y cuando sufre una reducción por la acción de un antioxidante, esta absorción

desaparece. La disminución del radical DPPH\* proporciona un índice para evaluar la capacidad antioxidante del compuesto que se está analizando. (Gonçalves de Oliveira, et al., 2013, p. 102–105)

- Para preparar el extracto se pesó 50 mg de extracto seco de las hojas de *Zea mays* y se aforó a 25 ml con etanol al 70% obteniendo una concentración de 2000 ppm.
- Para la determinación de la actividad antioxidante se preparó una solución pesando 5g del reactivo DPPH\* aforando a 250 mL con metanol al 99,83%.
- Se elaboró una curva de calibración del ácido gálico pesando 5 mg y aforando a 100 mL, posteriormente se realizó diluciones a concentración de 10,20,40,60,80,100 ppm

Para realizar el ensayo se tomó 100 µL de extracto de las hojas de *Zea mays* y se mezcló con 3,9 mL de DPPH\* en metanol (60µm).

- Se agitó vigorosamente se dejó reposar durante 1 hora a temperatura ambiente y protegido de la luz.
- Transcurrido el tiempo se midió la absorbancia a una longitud de onda de 515 nm en el siguiente orden: a) Metanol (para encerrar el equipo), b) Muestra de DPPH\*, c) Blanco (3,9mL Metanol+ 100µL solvente del extracto), d) Patrón (estándares de ácido gálico), e) Muestra de *Zea mays* 2000ppm.

La inhibición de los radicales libres DPPH\* en porcentaje (%I) se calculó de la siguiente manera de acuerdo al autor Behnaz Tohidi, y colaboradores (Tohidi, et al., 2016, pp. 153-161)

$$I\% = \frac{\text{Abs control} - \text{Abs muestra}}{\text{Abs control}} \times 100$$

Donde:

%I=Porcentaje de inhibición de los radicales libres

Abs control= Absorbancia de la muestra de la reacción control que contienen los reactivos excepto de prueba.

Abs muestra= Absorbancia del extracto de las hojas de *Zea mays*

Posteriormente se determinó Actividad antioxidante IC50 del extracto etanólico de *Zea mays* mediante la ecuación de la recta

## 2.14 Análisis de datos

Los datos de las unidades formadoras de colonias (UFC) sobrevivientes, fueron obtenidos en tres ensayos cada uno por triplicado de cada muestra a diferentes concentraciones, tanto para los controles positivos como para el extracto etanólico de hojas de *Zea mays* (20 ppm, 200 ppm, 2000

ppm), los cuales fueron transformados a las áreas bajo la curva para su respectivo análisis estadístico.

El tratamiento de los datos se realizó mediante el programa estadístico SPSS STATICS 21 aplicando el diseño de bloques Aleatorios utilizando pruebas no paramétricas, de este la prueba de Kolmogorov-Smirnov y Shapiro-Wilk para determinar la normalidad y permite medir el grado de concordancia que existe entre la distribución de un conjunto de datos y una distribución teórica específica. Posterior se realizó Anova de un factor y prueba de tukey.

## CAPÍTULO III

### 3 MARCO DE RESULTADOS ANÁLISIS Y DISCUSIÓN

#### 3.1 Control de calidad de la materia vegetal

Al someter al material vegetal a las pruebas de control de calidad descritas anteriormente en el Capítulo II se obtuvieron los siguientes resultados.

**Tabla 1-3.** Determinación del Control de calidad de las hojas de *Zea mays*

PARÁMETRO	<i>Zea mays</i>	LÍMITES ACEPTADOS (Real Farmacopea Española 2002)
Contenido de Humedad	11.17±0.87%	14%
Contenido de Cenizas Totales	4.3±0.26%	5%
Contenido de Cenizas Solubles en Agua	1.5±0.11%	2%
Contenido de Cenizas Solubles en Ácido Clorhídrico	0.32±0.038%	1%

Realizado por: BARRERA, Ana, 2017

##### 3.1.1 Determinación del contenido de humedad

El contenido de humedad fue determinado mediante el método gravimétrico basado en la pérdida en masa de la muestra por desecación, obteniendo como resultado un valor de 11.17% de humedad de la droga cruda de las hojas de *Zea mays*, dicho resultado se encuentra dentro de los límites establecidos por la Real Farmacopea Española 2002 donde nos establece que el valor debe encontrarse en un máximo de 14%. El resultado obtenido puede evitar procesos enzimáticos de degradación de los metabolitos presentes o proliferación de microorganismos, desencadenando la pérdida de su acción cosmecéutica, garantizando de esta manera la estabilidad y calidad de la droga vegetal durante el desarrollo de la investigación.

### **3.1.2 Determinación de cenizas Totales**

El contenido de cenizas totales fue determinado mediante el método gravimétrico, el cual se basa en el residuo obtenido de la incineración de la muestra. El resultado que se obtuvo en este análisis fue 4.3 %, este porcentaje se encuentra dentro de los límites establecidos por la Real Farmacopea Española 2002 donde nos establece que el valor debe encontrarse en un máximo de 5%. Este parámetro de calidad analizado nos permite conocer la calidad del material vegetal, ya que un porcentaje bajo descarta la posibilidad de contaminación.

### **3.1.3 Determinación de cenizas solubles en agua**

El contenido de cenizas solubles en agua fue de 1.5 % este porcentaje se encuentra dentro de los límites establecidos por la Real Farmacopea Española 2002 donde nos establece que el valor debe encontrarse en un máximo de 2%, lo que indica que hubo un contenido bajo de materia orgánica en la droga cruda de hojas de *Zea mays*.

### **3.1.4 Determinación de cenizas solubles en ácido clorhídrico**

La determinación de cenizas solubles en ácido clorhídrico se realizó mediante el método gravimétrico, obteniendo un resultado de 0.32%, este porcentaje se encuentra dentro de los límites establecidos por la Real Farmacopea Española 2002 donde nos establece que el valor debe encontrarse en un máximo de 1%, dicho resultado es un indicativo de ausencia de contenido de arena y tierra silíceas.

Los resultados obtenidos en el control de calidad de la droga cruda, permitió conocer que cumplía con todos los parámetros establecidos para la realización de la presente investigación.

## **3.2 Tamizaje Fitoquímico**

Se realizó el tamizaje fitoquímico para identificar los metabolitos secundarios presentes en las hojas de *Zea mays*, mediante reacciones de coloración y precipitación. La extracción de los metabolitos secundarios se realizó con solventes de polaridad creciente: éter etílico, etanol, y agua respectivamente.

Los resultados obtenidos en el tamizaje fitoquímico fueron los siguientes :en el extracto etéreo se pudo identificar la presencia de aceites y grasa mediante la reacción de Sudan, Triterpenos y esteroides a través de la reacción de Lieberman- Burchard con una coloración de verde oscuro, en el extracto alcohólico se pudo observar cualitativamente la presencia de catequinas , compuestos fenólicos mediante la reacción de Cloruro Férrico con una coloración de verde

intenso, además la presencia de flavonoides con la reacción de shinoda y Antoncianidina. En el extracto acuoso se ratificó la presencia de aceites y grasas, Compuestos fenólicos, y flavonoides mediante reacciones de identificación descritas anteriormente para cada compuesto.

Gracias a los resultados obtenidos en el tamizaje fitoquímico de las hojas de *Zea mays* se evidenció la presencia de compuestos fenólicos y flavonoides que poseen propiedades antioxidantes los cuales son de gran interés en el presente estudio para la determinación de la actividad fotoprotectora.

Los resultados corroboran estudios anteriores sobre extractos de las hojas de *Zea mays* en la cual identifican la presencia de compuestos fenólicos y los flavonoides y la ausencia de alcaloides en las hojas de *Zea mays*. (Balasubramania & Padma, 2013, pp. 4034-4037)

**Tabla 2-3** Resultados del tamizaje fotoquímico de hojas de *Zea mays*

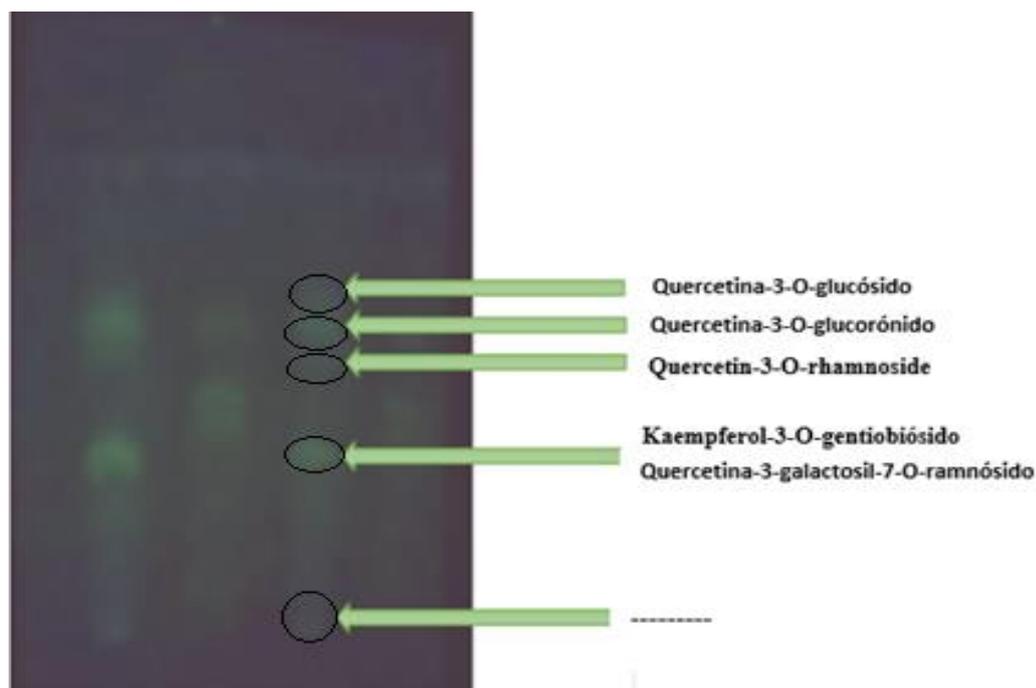
ENSAYO	TIPO DE METABOLITO	EXTRACTO ETÉREO	EXTRACTO ALCOHÓLICO	EXTRACTO ACUOSO
<b>Sudán</b>	Aceites y grasas	+	N/A	++
<b>Dragendorff</b>	Alcaloides	-	-	-
<b>Mayer</b>	Alcaloides	-	-	-
<b>Wagner</b>	Alcaloides	-	-	-
<b>Balget</b>	Lactonas y coumarinas	-	-	N/A
<b>Lieberman-Burchard</b>	Triterpenos y esteroides	++ (Verde oscuro)	++ (Verde oscuro)	N/A
<b>Catequinas</b>	Catequinas	N/A	+	N/A
<b>Resinas</b>	Resinas	N/A	-	N/A
<b>Fehling</b>	Azucares reductores	N/A	-	-
<b>Espuma</b>	Saponinas	N/A	-	-
<b>Cloruro Férrico</b>	Compuestos fenólicos	N/A	+++ (Verde intenso)	+++ (Verde intenso)
<b>Boritrager</b>	Quinonas	N/A	-	N/A
<b>Shinoda</b>	Flavonoides	N/A	++	++
<b>Antoncianidina</b>	Antoncianidina	N/A	+	N/A
<b>Mucilagos</b>		N/A	N/A	-
<b>Nihidrina</b>		N/A	-	N/A
<b>(+++)</b> Abundante	<b>(++)</b> Moderado	<b>(+)</b> Escaso	<b>(-)</b> Ausencia	<b>(N/A)</b> No aplica

Realizado por: BARRERA, Ana, 2017

### 3.3 Extracto seco de hojas de *Zea mays*

Finalizado el proceso de liofilización se obtuvo un polvo fino y homogéneo de color amarillento el mismo que fue sellado y guardado en un desecador para evitar la hidratación.

### 3.4 Cromatografía en capa fina



**Figura 1-3.** Cromatografía en capa fina del extracto de *Zea mays*  
Realizado por: BARRERA, Ana, 2017

**Tabla 3-3.** Posibles compuestos identificados en hojas de *Zea mays* por TLC

<i>Zea mays</i>			
Compuesto	Rf	Posibles compuestos identificados	Rf
1	0.04	-----	-----
2	0.33	Quercetina-3-galactosil-7-O-ramnósido	0.34
		Kaempferol-3-O-gentiobiósido	0.30
3	0.52	Quercetin-3-O-rhamnoside	0.48
4	0.58	Quercetina-3-O-glucorónido	0.55
5	0.65	Quercetina-3-O-glucósido	0.64

Realizado por: BARRERA, Ana, 2017

Mediante cromatografía se obtuvo un perfil cromatógrafico de los compuestos de tipo flavónico, en las hojas de *Zea mays* evidenciando los Rf que se detallan a continuación los cuales fueron

comparados con datos bibliográficos para su posible identificación. Con el uso de una lámpara UV a una longitud de onda de 365 nm se pudo apreciar la presencia de cuatro compuestos de interés, los cuales se presumen que son los siguientes: Quercetina-3-galactosil-7-O-ramnósido o Kaempferol-3-O-gentiobiósido con un Rf de 0.33, Quercetin-3-O-rhamnosidecon un Rf de 0.52, Quercetina-3-O-glucorónido con un Rf de 58 y Quercetina-3-O-glucósido con un Rf de 0.65. Dichos compuestos se asumen que pueden ser los responsables de la actividad fotoprotectora ya tienen propiedades antioxidantes.

Según Gupta, Alka en el año 2016 menciona que la quercetina y sus derivados han mostrado un gran potencial antioxidante frente a los efectos de fotodegradación en la piel ya que inhibe el daño oxidativo inducido por irradiación UVB. (Gupta, et al., 2016, pp. 248-252)

Harborne y Williams (1976) han llevado a cabo extensas investigaciones quimiotaxonómicas de flavonoides de la familia Poáceas, a la cual pertenece *Zea mays* y detectó la presencia de compuestos flavónicos de tipo glucosídico entre ellos la flavona C-glicósidos y tricina en extractos hidrolizados de la mayoría de las especies de esta familia. En extractos no hidrolizados, el tricín-5-glucósido podría ser identificado por medio de Cromatografía en capa fina, ya que este compuesto da una mancha fluorescente característica. Sin embargo, la mayoría de los otros glicósidos no se estudiaron en detalle. (Bouaziz, et al., 2001, pp. 849-851)

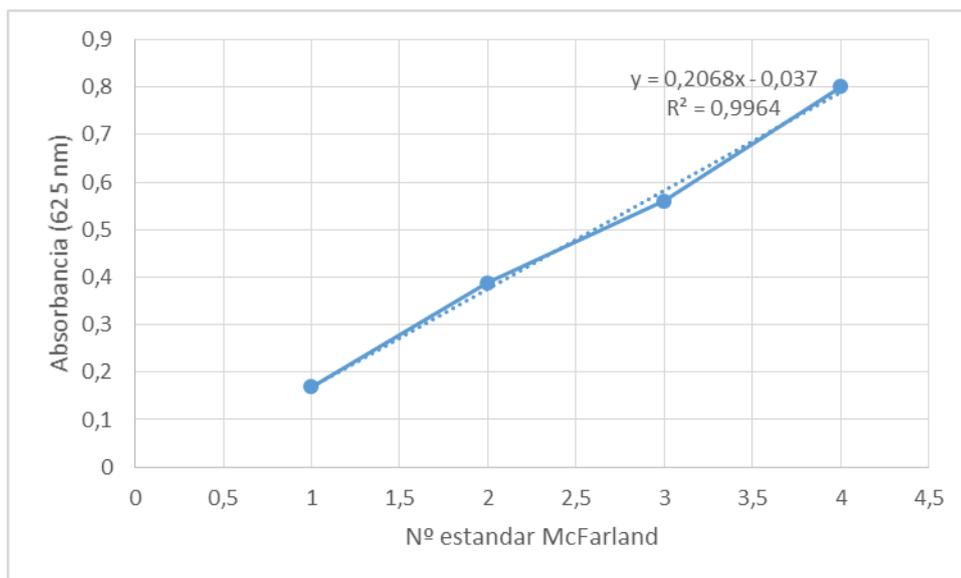
### 3.5 Preparación del estándar McFarland

Se realizó una curva de calibración para identificar la concentración del estándar McFarland N.0.5

**Tabla 4-3.** Estándar McFarland

Nº estándar McFarland	Absorbancia 625 ppm
1	0,169
2	0,389
3	0,561
4	0,801
<b>X= 0,58</b>	0,082

Realizado por: BARRERA, Ana, 2017



**Gráfico 1-3.** Curva de calibración del estándar McFarland  
Realizado por: BARRERA, Ana, 2017

Luego de realizar la curva de calibración del estándar McFarland se obtuvo la absorbancia de la muestra de 0.082; dicho valor se encuentra dentro del rango establecido (0,08-0.1) para el estándar McFarland N<sub>0</sub>0.5. Al reemplazar la absorbancia obtenida en la ecuación de la recta se obtuvo un valor de 0.58, lo que es un indicativo de que la muestra corresponde al estándar McFarland N<sub>0</sub> 0.5.

A través de la curva de calibración del estándar McFarland N<sub>0</sub> 0.5 se pudo identificar que aproximadamente esta presentaba una suspensión bacteriana homogénea de *E. coli* a una concentración de  $1.5 \times 10^8$  UFC/mL. Mediante este ensayo permitió la preparación de inóculos normalizados para el uso en el ensayo de la actividad fotoprotectora de *Zea mays*

### 3.6 Efecto de protección solar por el método de muerte celular inducida

La actividad fotoprotectora se evaluó mediante muerte celular inducida por UV-B usando un modelo celular de *E. coli*.

Los datos obtenidos en este ensayo tanto para los controles como para los extractos de diferente concentración, fueron en Unidades formadoras de colonia (UFC) sobrevivientes. El número de bacterias supervivientes se detectó de acuerdo con el método de dilución en diferentes períodos de tiempo.

**Tabla 5-3.** Efecto fotoprotector del control positivo etilhexil metoxicinamato (OMC)

<b>TIEMPO (min)</b>	<b>BLANCO UFC/mL</b>	<b>20ppm UFC/mL</b>	<b>200 ppm UFC/mL</b>	<b>2000 ppm UFC/mL</b>
<b>0</b>	76000000 (±14422205,1)	84000000 (±5431390,25)	8088888,9 (±9752492,56)	88888888,9 (±17524585,9)
<b>30</b>	0	1188888,89 (±284800,125)	2433333,33 (±403112,89)	5177777,78 (±556277,31)
<b>60</b>	0	2688,89 (±679,05)	3555,56 (±487,62)	5355,56 (±343,19)
<b>90</b>	0	0	2155,56 (±240,370)	3111,11 (±266,67)
<b>120</b>	0	0	0	1000 (±282,84)
<b>150</b>	0	0	0	0
<b>180</b>	0	0	0	0

Realizado por: BARRERA, Ana, 2017

**Tabla 6-3.** Efecto fotoprotector del control positivo octildimetil-PABA

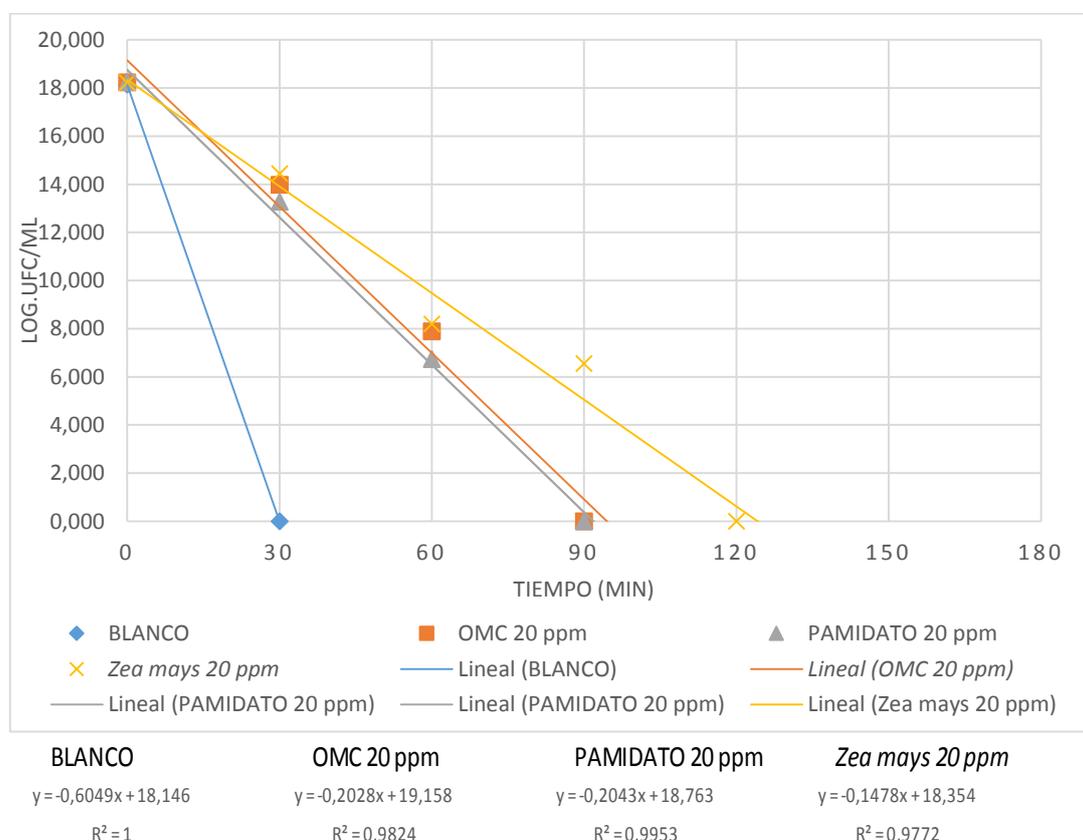
<b>TIEMPO (min)</b>	<b>BLANCO UFC/mL</b>	<b>20ppm UFC/mL</b>	<b>200 ppm UFC/mL</b>	<b>2000 ppm UFC/mL</b>
<b>0</b>	76000000 (±14422205,1)	84222222,2 (±8273115,76)	87555555,6 (±11215069,2)	90666666,7 (±12961481,4)
<b>30</b>	0	588888,89 (±176383,42)	2044444,44 (±328295,26)	4311111,11 (±257120,81)
<b>60</b>	0	844,44 (±240,37)	3933,33 (±400)	4822,22 (±737,86)
<b>90</b>	0	0	711,11 (±226,08)	1511,11 (±247,21)
<b>120</b>	0	0	0	355,56 (±218,58)
<b>150</b>	0	0	0	0
<b>180</b>	0	0	0	0

Realizado por: BARRERA, Ana, 2017

**Tabla 7-3.** Efecto fotoprotector del extracto de las hojas de *Zea mays*

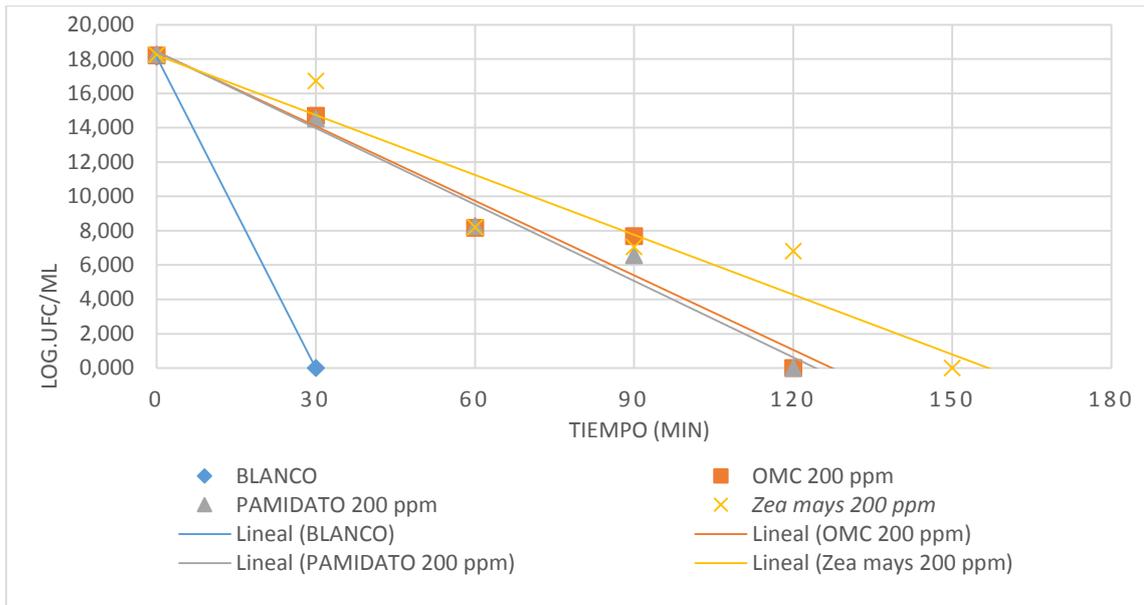
TIEMPO (min)	BLANCO UFC/mL	20ppm UFC/mL	200 ppm UFC/mL	2000 ppm UFC/mL
0	76000000 (±14422205,1)	82000000 (±2121320,34)	84111111,1 (±4284986,71)	87333333,3 (±2598076,21)
30	0	1888888,89 (±252212,43)	1822222,22 (±210818,51)	1877777,78 (±258736,24)
60	0	3644,44 (±455,83)	3666,67 (±489,90)	3211,11 (±176,38)
90	0	700 (±132,29)	1144,44 (±166,67)	1888,89 (±176,38)
120	0	0	911,11 (±105,41)	1200 (±158,11)
150	0	0	0	980 (±557,31)
180	0	0	0	0

Realizado por: BARRERA, Ana, 2017



**Gráfico 2-3.** Efecto fotoprotector contra la muerte celular inducida de *E. coli*. por UV-B Blanco, OMC 20 ppm, PAMIDATO 20 ppm, *Zea mays* 20 ppm

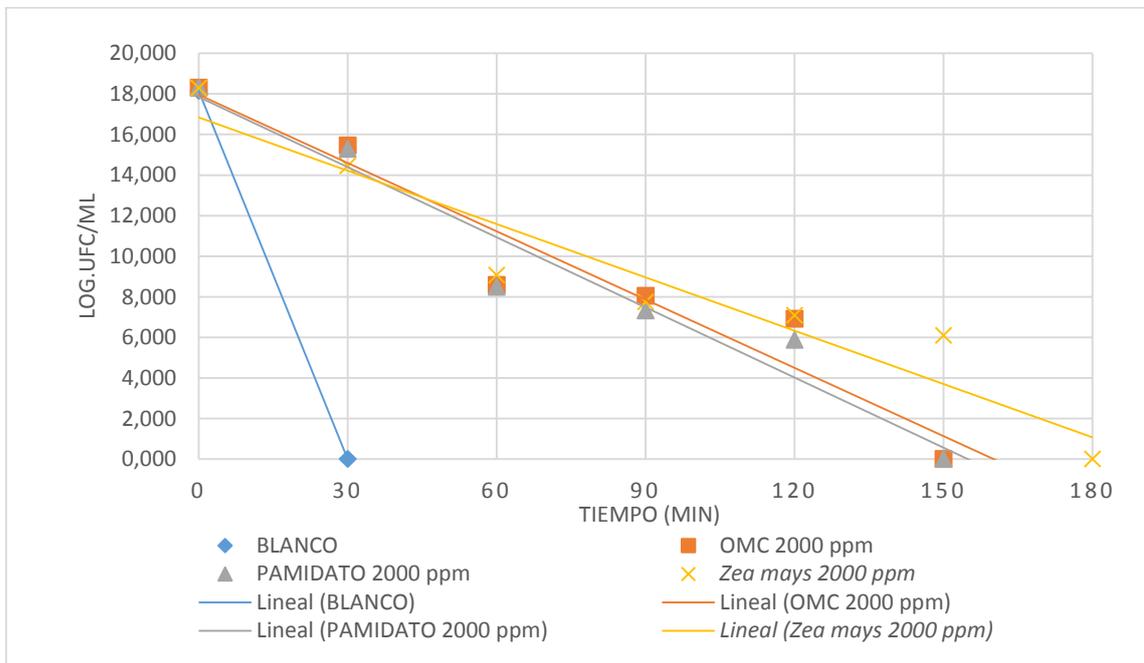
Realizado por: BARRERA, Ana, 2017



BLANCO	OMC 200 ppm	PAMIDATO 200 ppm	Zea mays 200 ppm
$y = -0,6049x + 18,146$	$y = -0,1448x + 18,443$	$y = -0,1485x + 18,441$	$y = -0,1163x + 18,228$
$R^2 = 1$	$R^2 = 0,9536$	$R^2 = 0,9778$	$R^2 = 0,9112$

**Gráfico 3-3.** Efecto fotoprotector contra la muerte celular inducida de *E. coli*. por UV-B  
Blanco, OMC 200 ppm, PAMIDATO 20 ppm, *Zea mays* 20 ppm

Realizado por: BARRERA, Ana, 2017



BLANCO	OMC 2000 ppm	PAMIDATO 2000 ppm	Zea mays 2000 ppm
$y = -0,6049x + 18,146$	$y = -0,1121x + 17,958$	$y = -0,1152x + 17,854$	$y = -0,0876x + 16,842$
$R^2 = 1$	$R^2 = 0,9297$	$R^2 = 0,9509$	$R^2 = 0,9176$

**Gráfico 4-3.** Efecto fotoprotector contra la muerte celular inducida de *E. coli*. por UV-B  
Blanco, OMC 2000 ppm, PAMIDATO 2000 ppm, *Zea mays* 2000 ppm

Realizado por: BARRERA, Ana, 2017

Los resultados mostraron que la población bacteriana de concentración  $1.5 \times 10^8$  UFC sin protección (Blanco) alcanzó la muerte celular a los 10 minutos de someterle a radiación UV-B con una disminución de las UFC sobrevivientes igual a cero. Posterior a los 30 minutos del ensayo se observa que las UFC sobrevivientes van disminuyendo considerablemente tanto para los controles como para el extracto etanólico de las hojas de *Zea mays* es decir que todas las muestras analizadas poseen actividad fotoprotectora a las diferentes concentraciones; siendo las UFC sobrevivientes directamente proporcional a la concentración. El extracto hidroalcohólico de hojas de *Zea mays* protegieron sus respectivas poblaciones bacterianas de una manera similar a los controles positivos etilhexil metoxicinamato (OMC) y octildimetil-PABA (Pamidato O) ya que no alcanzaron la muerte celular hasta los 60 min en todas las concentraciones analizadas. Transcurridos los 90 min del ensayo se puede apreciar una disminución considerable de las UFC sobrevivientes de los controles positivos en las concentraciones de 200 ppm y 2000 ppm identificando que para la concentración de 20 ppm los dos controles hay muerte celular, en tanto que para el extracto de las hojas de *Zea mays* tuvo mejor eficiencia ya que la población bacteriana protegidas con este extracto no alcanzó muerte celular identificando las UFC sobrevivientes tanto para la concentración de 20 ppm, 200 ppm, 2000 ppm. En el tiempo 120 min se evidenció las UFC sobrevivientes para los controles positivos solo para la concentración de 2000 ppm, mientras que para el extracto etanólico de las hojas de *Zea mays*. Las UFC sobrevivientes se evidenciaron en la concentración de 200 ppm y 2000 ppm. Las UFC sobrevivientes en tiempo 150 min para los controles positivos fue nula es decir que hubo muerte celular; en cambio para el extracto de las hojas de *Zea mays* presentó actividad fotoprotectora a una concentración de 2000 ppm verificando que presenta un efecto fotoprotector significativo a mayor tiempo que los controles positivos.

Ávila Acevedo y colaboradores en el año 2005 publicó una investigación, en la cual determina la actividad fotoprotectora de *Buddleja escorpioides*, mediante el método de muerte celular inducida a *Escherichia coli* ATCC 25922, en esta investigación el control positivo fue ethylhexyl methoxycinnamate identificando un menor efecto fotoprotector que los extractos analizados (Ávila Acevedo, et al., 2005, pp. 301-309)

García Bore Ana y colaboradores en el año 2010 publicó una investigación en la cual realiza la determinación de la Actividad fotoprotectora de polifenoles de *Yucca periculosa*, mediante el método de muerte celular inducida a *Escherichia coli* ATCC 25922 basándose en la investigación de Ávila Acevedo realizada en el año 2005, en esta investigación menciona que la exposición de un cultivo bacteriano a radiación UVB produce un rápido descenso de la población bacteriana debido al daño al ADN  $\alpha$  46  $\beta$ . La supervivencia celular tratada con el extracto analizado

y el tiempo de 150 min fueron similares a los de Parsol (ethylhexyl methoxycinnamate) el compuesto activo de los filtros solares comerciales. (Garcia Bores , et al., 2010, pp. 100-108)

### 3.7 Análisis estadístico

El análisis estadístico se realizó con los datos de área bajo la curva obtenidos de los controles positivos y el extracto hidroalcohólico liofilizado las hojas de *Zea mays* a concentraciones de: 20, 200, 2000 ppm. Mediante las pruebas de Kolmogorov-Smirnov y Shapiro-Wilk para determinar la normalidad de los datos estas pruebas reportaron que los datos se encuentran normales, identificando la normalidad de la distribución en ambas pruebas

Se aplicó el test de ANOVA de un factor, para verificar si existe diferencia entre los índices de fotoprotección.

**Tabla 8-3.** Test Anova de un factor para el índice de fotoprotección

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	11375644767294 58820,000	9	12639605296993 9872,000	5,895	,000
Intra-grupos	17151596350772 37760,000	80	21439495438465 472,000		
Total	28527241118066 96400,000	89			

Realizado por: BARRERA, Ana, 2017

Planteamiento de la hipótesis:

Ho: No existe diferencias en los fotoprotectores (etilhexil metoxicinamato , octildimetil-PABA y *Zea mays*) en índice de fotoprotección  $p \geq 0.05$

H1: Existe diferencias en los fotoprotectores (etilhexil metoxicinamato, octildimetil-PABA y *Zea mays*) en índice de fotoprotección  $p \leq 0.05$ .

Decisión:

Existe argumentos para desechar Ho, porque el nivel de significación es menor a 0.05 (0.00) por lo tanto existe diferencia significativa en los fotoprotectores (etilhexil metoxicinamato, octildimetil-PABA y *Zea mays*) con respecto al índice de fotoprotección.

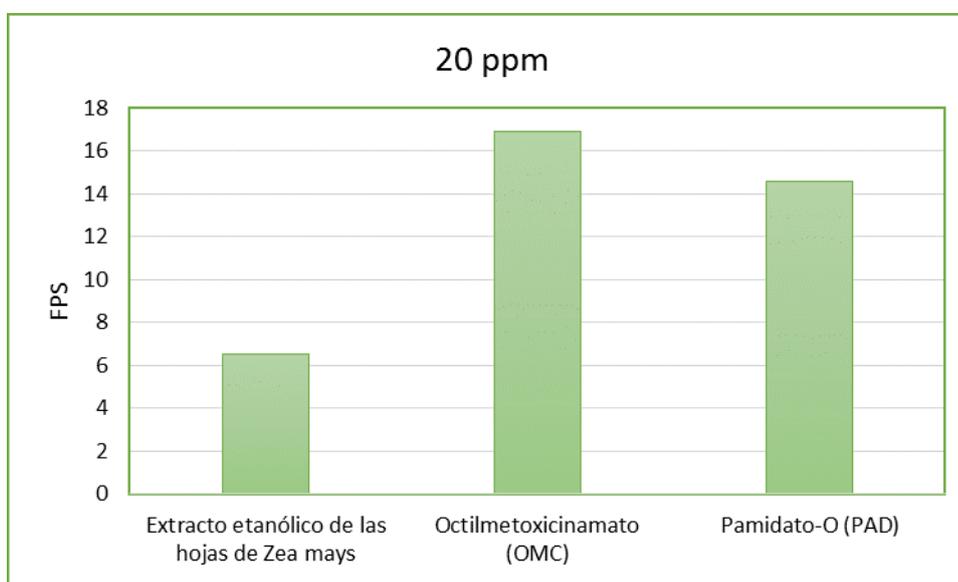
### 3.8 Factor de protección solar (FPS) in vitro

El factor de protección solar del extracto etanólico de las hojas de *Zea mays* y de los controles se determinó a una concentración de 20 ppm la misma concentración mínima utilizada en el ensayo de Fotoprotección, calculando mediante la ecuación de Mansur.

**Tabla 9-3.** Resultados del Factor de Protección Solar (FPS) in vitro

SUSTANCIA FOTOPROTECTORA	FPS <i>in vitro</i>
Extracto etanólico de las hojas de <i>Zea mays</i>	6.8 ( $\pm 0.09$ )
etilhexil metoxicinamato (OMC) (OMC)	16.88 ( $\pm 0.34$ )
Pamidato-O (PAD)	14.59 ( $\pm 0.57$ )

Realizado por: BARRERA, Ana, 2017



**Gráfico 5-3** Comparación de resultados del FPS *in vitro*

Realizado por: BARRERA, Ana, 2017

Los resultados obtenidos en este ensayo determinó un valor de FPS de  $6.8 \pm 0.09$  para el extracto etanólico de las hojas de *Zea mays*  $16.88 \pm 0.34$  para el control ethylhexyl methoxycinnamate (OMC),  $14.59 \pm 0.57$  para el control octildimetil-PABA (Pamidato-O) apreciando el factor de protección más alto para el control etilhexil metoxicinamato (OMC) seguido por el control octildimetil-PABA (Pamidato-O) y posteriormente del extracto etanólico de las hojas de *Zea mays*, el cual se encuentra en un rango medio según la clasificación COLIPA. Este valor de FPS del extracto puede deberse a la concentración con la que se realizó esta determinación ya que fue de 20 ppm, la concentración mínima con la que se realizó el ensayo de actividad fotoprotectora por muerte celular inducida con *E. coli*.

Los filtros solares deben tener dos actividades: primero, proporcionar un FPS mayor de 15 y, segundo, tener propiedades antioxidantes. (Avila Acevedo, et al., 2005, pp. 301-309)

### 3.9 Contenido de flavonoides totales

El contenido de flavonoides totales se determinó mediante el método espectrofotométrico con cloruro de aluminio ( $\text{AlCl}_3$ ); para lo cual se tomó como referencia la ecuación de la recta que  $A=0.001C+0.0015$  ( $R^2=0.9948$ ) corresponde a la curva de calibración del estándar de quercetina propuesta anteriormente por un estudio similar (Chavez, 2016).

El ensayo se realizó con una concentración del extracto de 3200ppm del cual se tomó una alícuota de 100  $\mu\text{L}$  con el propósito de que la absorbancia obtenida se encuentre dentro de la curva de calibración del estándar de quercetina. Posteriormente se realizó los cálculos, reemplazando el valor de la absorbancia obtenida en la ecuación de la recta propuesta anteriormente; dando como resultado una concentración de 57.5 ppm a partir de la cual se procedió a realizar los cálculos para obtener el contenido de flavonoides totales expresados en mgEQ/g de extracto seco y en %EQFT. Obteniendo de esta manera los resultados expresados en la siguiente tabla:

**Tabla 10-3.** Contenido de Flavonoides Totales en hojas de *Zea mays*

SUSTANCIA FOTOPROTECTORA	FLAVONOIDES TOTALES	
	mg Equivalentes de quercetina /g de extracto seco	g Equivalentes de quercetina /100 g de extracto seco (% EQFT)
Extracto etanólico de las hojas de <i>Zea mays</i>	158.41 $\pm$ 0,91	15.841 $\pm$ 0.12

Realizado por: BARRERA, Ana, 2017

El contenido de flavonoides totales presentes en las hojas de *Zea mays* fue de 158.41 mg Equivalentes de quercetina /g de extracto seco, lo que significa que existe 15.84 g Equivalentes de quercetina /100 g de extracto seco (% EQFT).El contenido de flavonoides presentes en las hojas de *Zea mays* corroboran en los resultados obtenidos en el ensayo de Fotoprotección donde estos filtros naturales bloquean o neutralizan la radiación UV con buena eficacia.

Kiruthika, Balasubramanian y colaboradores en el año 2013,realizaron una investigación acerca de Propiedades Antioxidantes en la hojas de *Zea mays* en diferentes períodos de crecimiento, en la que observaron que las hojas en el décimo día de crecimiento tenían la máxima actividad de los antioxidantes especialmente la presencia de fenoles y flavonoides (Balasubramania & Padma, 2013, pp. 4034-4037), sin embargo en esta investigación no se cuantifico los flavonoides totales, pero fue reportada su presencia de los mismos en las hojas de *Zea mays* .

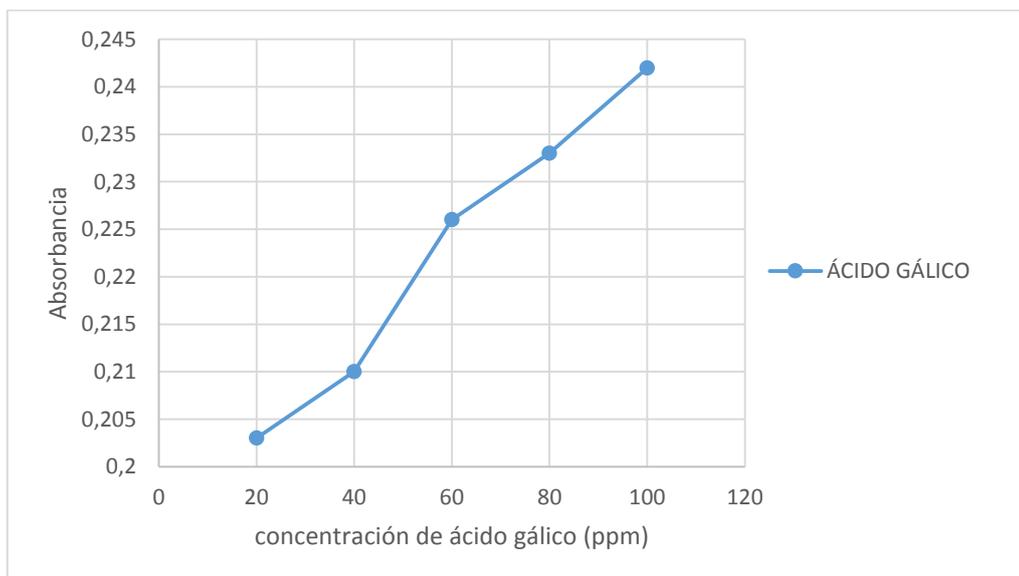
### 3.10 Contenido de fenoles totales

El contenido de fenoles totales se determinó mediante el método espectrofotométrico con el reactivo de Folin –Ciocalteu al 20%; para lo cual se tomó como referencia la ecuación de la recta  $A=0.1925 C+5.05\times 10^{-4}$  ( $R^2=0.9909$ ) correspondiente a la curva de calibración del estándar de ácido gálico con soluciones de 20, 40, 60, 80 y 100 ppm respectivamente.

**Tabla 11-3.** Absorbancias del estándar de ácido gálico

Concentración de ácido gálico	Absorbancia
20	0,203
40	0,21
60	0,226
80	0,233
100	0,242

Realizado por: BARRERA, Ana, 2017



**Gráfico 6-3.** Curva de calibración del ácido gálico

Realizado por: BARRERA, Ana, 2017

**Tabla 12-3.** Contenido de fenoles totales en las hojas de *Zea mays*

SUSTANCIA FOTOPROTECTORA	FENOLES TOTALES	
	mg Equivalentes de Ácido Gálico /g de extracto seco	g Equivalentes de Ácido Gálico /100g de extracto seco
Extracto etanólico de las hojas de <i>Zea mays</i>	128.22±1.55	12.822±0.155

Realizado por: BARRERA, Ana, 2017

El contenido de fenoles totales presentes en las hojas de *Zea mays* fue de 128.22 mg Equivalentes de Ácido Gálico /g de extracto seco lo que significa que existe 12.822 g Equivalentes de Ácido Gálico /100g de extracto seco.

Kiruthika Balasubramanian en el año 2013 realiza una investigación en la cual, mediante el cribado fitoquímico identificó compuestos fenólicos y flavonoides como los principales componentes antioxidantes en las hojas de *Zea mays*. Los efectos protectores del cáncer se han atribuido a los flavonoides y compuestos fenólicos mediante una amplia variedad de mecanismos, incluyendo la eliminación de radicales libres, enzimas modificadoras que activan o desintoxican carcinógenos (Balasubramanian & Padma, 2013, pp. 149-158).

Chathurika Wijewardana y colaboradores en el año 2016 en una investigación denominada “Efectos interactivos sobre el CO<sub>2</sub>, la sequía y la radiación ultravioleta-B sobre el crecimiento y el desarrollo del maíz”. Identificó un aumento de la concentración fenólica bajo tratamiento UV-B, lo que implica que las plantas conservan mecanismos para proteger los tejidos subyacentes contra la radiación dañina. Algunos estudios indican que la radiación UV-B induce la acumulación de compuestos fenólicos en la planta al activar su biosíntesis, que podría ser un mecanismo protector contra la radiación UV-B. (Wijewardana & W. Brien Henry, 2016, p. 198–209). Lo que corrobora la importancia compuestos fenólicos en las hojas de *Zea mays*.

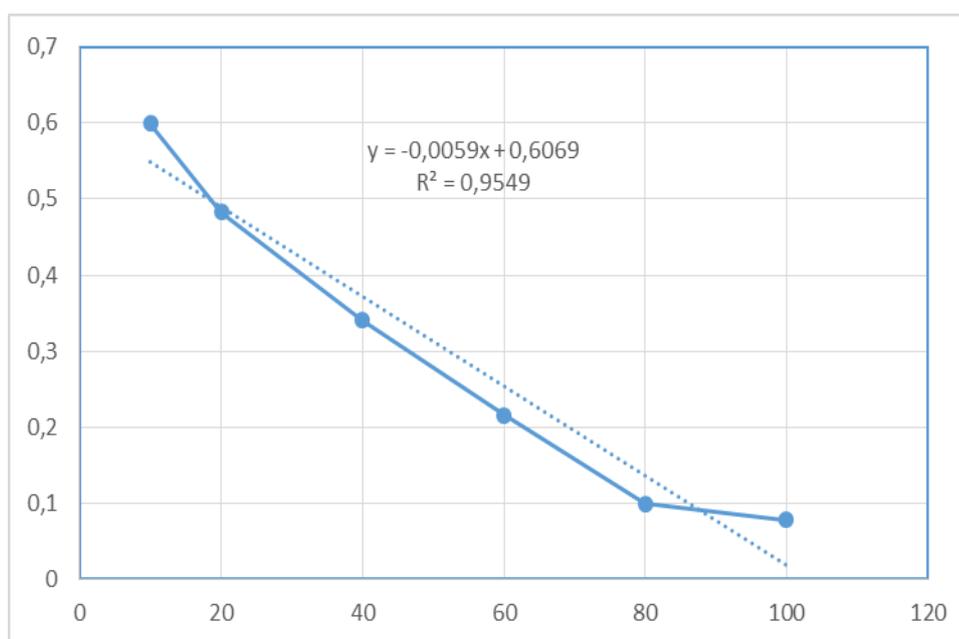
### **3.11 Capacidad captadora de radicales libres**

La capacidad antioxidante del extracto de las hojas de *Zea mays* se evaluó mediante el ensayo de radical estable DPPH\* (2,2- difenil-1-picrilhidrazil libre), para lo cual se realizó una curva de calibración del DPPH\* a concentraciones de 20, 40, 60, 80, 100 respectivamente con la finalidad de encontrar una absorbancia adecuada del extracto que se encuentre dentro de la curva de calibración de ácido gálico.

**Tabla 13-3.** Absorbancias de estándar de ácido gálico con DPPH\*

<b>Concentración de ácido gálico</b>	<b>Absorbancia</b>
<b>10</b>	0,599
<b>20</b>	0,483
<b>40</b>	0,340
<b>60</b>	0,216
<b>80</b>	0,099
<b>100</b>	0,078

Realizado por: BARRERA, Ana, 2017



**Gráfico 7-3.** Curva de calibración de estándar de ácido gálico

Realizado por: BARRERA, Ana, 2017

**Tabla 14-3** Resultado de Actividad Antioxidante IC<sub>50</sub> del extracto de *Zea mays*

Actividad Antioxidante IC <sub>50</sub> del extracto etanólico de <i>Zea mays</i>	VALORES DE REFERENCIA IC <sub>50</sub>
4.8±0.57 (µg mL <sup>-1</sup> )	Óptimo IC <sub>50</sub> <15 µg mL <sup>-1</sup> Bueno 15µg mL <sup>-1</sup> < IC <sub>50</sub> < 50 µg mL <sup>-1</sup> ) Promedio 50 µg mL <sup>-1</sup> µg mL <sup>-1</sup> IC <sub>50</sub> < 100 µg mL <sup>-1</sup> ) Débil IC <sub>50</sub> ≥100 µg mL <sup>-1</sup> )

Realizado por: BARRERA, Ana, 2017

Se evaluó la actividad antioxidante del extracto etanólico de la hojas de *Zea mays* a través del cálculo de porcentaje de radicales DPPH\* capturados. El porcentaje de inhibición de los radicales libres fue de 29.4%. Posteriormente se reemplazó el valor del porcentaje de inhibición en la ecuación de la recta y se obtuvo un valor de 4.8±0.57 (µg mL<sup>-1</sup>) lo cual nos muestra que está en un valor óptimo según la clasificación de Francislene J, M.y Caneschi, C.2016. El resultado pueden justificarse con el contenido de flavonoides presentes en el extracto etanólico.

## CONCLUSIONES

1. El extracto hidroalcoholico liofilizado de las hojas de *Zea mays* presentó actividad fotoprotectora *in vitro* frente a la radiación UVB, la capacidad fotoprotectora del extracto hidroalcoholico liofilizado depende de su concentración, es decir a mayor concentración mayor actividad fotoprotectora. El extracto de *Zea mays* a una concentración de 2000 ppm exhibió un carácter fotoprotector mayor sobre *Escherichia coli* con respecto a los controles positivos etilhexil metoxicinamato (OMC) y octildimetil-PABA (pamidato O) ensayados a la misma concentración, hecho que se verifica por la presencia de UFC en el caso del extracto hasta los 150 min y en los controles hasta los 120 min.
2. El tamizaje Fitoquímico permitió identificar cualitativamente la presencia de varios compuestos presentes en las hojas de *Zea mays* destacándose entre estos: aceites, grasas, triterpenos, esteroides, catequina, compuestos fenólicos, flavonoides, antocianidina. La actividad fotoprotectora se atribuye a la presencia de compuestos fenólicos, flavonoides y antocianidinas. A través de la cromatografía en capa fina (TLC) se pudo separar e identificar la posible presencia de compuestos flavónicos como: Quercetina-3-galactosil-7-O-ramnósido o Kaempferol-3-O-gentiobiósido, Quercetin-3-O-rhamnoside, Quercetina-3-O-glucorónido, Quercetina-3-O-glucósido mediante la comparación de los Rf consultados en bibliografía.
3. La determinación del factor de protección solar (FPS) *in vitro* se realizó mediante espectrofotometría aplicando la ecuación de Mansur: todas las muestra se analizaron a una concentración de 20 ppm tanto el extracto de las hojas de *Zea mays* como los controles positivos obteniendo un factor de protección solar del extracto de  $6.8 (\pm 0.09)$  este valor es menor que el control etilhexil metoxicinamato (OMC) que obtuvo un factor de protección solar de  $16.88 (\pm 0.34)$  de igual manera es menor que el control octildimetil-PABA (pamidato O) con un factor de protección de  $14.59 (\pm 0.57)$  , encontrándose el factor de protección solar del extracto de las hojas de *Zea mays* en un rango medio según la clasificación COLIPA

## RECOMENDACIONES

- Durante el ensayo es recomendable tomar todas las medidas de Bioseguridad en el Laboratorio para evitar tanto errores en los resultados como contaminación personal.
- En el ensayo de Fotoprotección por muerte celular inducida con *Escherichia coli* se recomienda realizar las diluciones de suspensión bacteriana necesarias, especialmente en el tiempo 0 y 1 con el objetivo de obtener un UFC sobrevivientes que sea de fácil contabilidad.
- Durante el ensayo de muerte celular inducida con *Escherichia coli* se recomienda realizar una homogenización y pipeteo adecuado de las suspensiones bacterias que permitan tomar la muestra para la siembra con una probabilidad de tomar la misma cantidad de bacterias muertas como de bacterias vivas y de esta manera obtener datos confiables.
- Es recomendable para la preparación de las suspensiones bacterianas de *E. coli* tomar las colonias en la fase exponencial de crecimiento, ya que en esta fase las bacterias consumen los nutrientes del medio a velocidad máxima, lo que permitiría obtener colonias de gran tamaño después de realizar la siembra nuevamente.
- Se recomienda realizar estudios toxicológicos de las hojas de *Zea mays* para que puedan ser aplicados en la industria cosmética ya que según estudios realizados posee compuestos antioxidantes que le confiere algunos beneficios.
- Impulsar el estudio farmacognóstico y fitoquímico de especies vegetales del Ecuador especialmente de la zona Andina con potencial actividad fotoprotectora, pues muchas de ellas contiene cantidades significativas de antioxidantes que necesitan determinarse, fomentando de esta manera el conocimiento ancestral y contribuyendo a la investigación científica.

## BIBLIOGRAFÍA

**AGENCIA ESPAÑOLA DE MEDICAMENTOS Y PRODUCTOS SANITARIOS.** *Real farmacopea Española.* ESPAÑA : s.n., 2012, págs. 3337- 3934.

**AUQUILLA GUZMÁN, Renato Bolívar ;& QUIZHPE TELLO , Richard Andersson .** *Asociación entre el nivel de radiación solar ultravioleta y la incidencia de lesiones dermatológicas actínicas agudas en el hospital vicente corral moscoso durante 2011 y 2014.[en línea]* (Tesis pregrado) Universidad de Cuenca, Facultad De Ciencias Médicas Escuela De Medicina Cuenca-Ecuador.pp.1-75. [Consulta: 12 diciembre 2016]. Disponible en:<http://dspace.ucuenca.edu.ec/bitstream/123456789/25575/1/PROYECTO%20DE%20INVESTIGACION.pdf>

**AVILA ACEVEDO, et. al.**"Photoprotective activity of Buddleja scordioides". *Fitoterapia* [en línea], 2005, vol.76, pp.301-309. [Consulta: 18 febrero 2017]. ISSN 0367-326X. Disponible en: <http://doi.org/10.1016/j.fitote.2005.03.009>

**BALASUBRAMANIA, Kiruthika ; & PADMA Palghat Raghunathan."** Screening of Antioxidant Properties of *Zea mays* Leaves at Different Time Periods of Growth." *Journal of acupuncture and meridian studies*, [en línea], 2013, Vol. 6, pp. 149-58. [Consulta: 12 diciembre 2016]. ISSN 2093-8152 Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2005290113000162>

**BALASUBRAMANIAN, Kiruthika ;& PADMA, Palghat Raghunathan."** Anticancer Activity of *Zea mays* Leaf Extracts on Oxidative Stress-induced Hep2 Cells." *Journal of Acupuncture and Meridian Studies* [en línea], 2013, Vol. 6, pp. 149-158. [Consulta: 19 febrero 2017]. ISSN 2901. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jams.2013.01.015>

**BALASUBRAMANIA, Kiruthika ; & PADMA, Palghat Raghunathan."** *Zea mays* leaf extracts protect *Saccharomyces cerevisiae* cell against oxidative stress-induced cell death". *Journal of Acute Medicine*, [en línea], 2013, India. Vol. 3, pp. 83-92. [Consulta: 14 enero 2017]. ISSN 2211-5587. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jacme.2013.06.005>

**BALASUBRAMANIA, Kiruthika; et.al."** *Zea mays* leaf extracts protects primary chick embryo fibroblast cells from apoptosis induced by hydrogen peroxide in vitro". *Journal of*

*Pharmacy Research* [en línea], 2013, India, Vol. 6, pp. 638-646. [Consulta: 22 febrero 2017]. ISSN/0974-6943. Disponible en: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0974694313002466>

**BENNET DEVASIER, Kang; SE Chan ;GANG, Jongback.** “Photoprotective effects of apple peel nanoparticles.” *International Journal of Nanomedicine* [en línea], 2014, Vol. 9, pp. 93–108. [Consulta: 29 noviembre 2016]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3872249/pdf/ijn-9-093.pdf>

**BOUKHRIS, Maher; SIMMONDS, Monique ; SAY, Sami.**” Chemical composition and biological activities of polar extracts and essential oil of rose-scented geranium , *Pelargonium graveolens.*” *PHYTOTHERAPY RESEARCH* [en línea] ,2012 Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23027699>

**BOUAZIZ, M.;et.al.**” Flavonoids from *Hyparrhenia hirta* Stapf (Poaceae) growing in Tunisia” *Biochemical Systematics and Ecology* [en línea], 2001, Vol.29, pp. 849-851. [Consulta: 11 enero 2017]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11412957>

**CEFALI, L.; et. al.**” Plant-based active photoprotectants for sunscreens.” *International Journal of Cosmetic Science.* [En línea], 2016 Vol. 38, pp. 346-353. . [Consulta: 12 febrero 2017.]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26919163>

**CEMELI, Eduardo, BAUMGARTNER, Adolf ; ANDERSON, Diana.** “Antioxidants and the Comet assay.” *Mutation Research/Reviews in Mutation Research* [en línea], 2009, Vol. 681. pp. 51-67. [Consulta: 11 enero 2017]. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.mrrev.2008.05.002>

**CHAVEZ, Belen.** “Evaluacion De Las Actividades Antiinflamatoria “*In Vivo*” Y Antioxidante De Tinturas Elaboradas A Base De Guarango (*Caesalpinia Spinosa*) Y Sangre De Drago (*Croton lechleri*)” [En línea]. (Tesis pregrado). Escuela Superior Politecnica de Chimborazo, Ecuador facultad de Ciencias escuela de Bioquímica y Farmacia 2016. [Consulta: 14 de diciembre de 2017.] Disponible en: <http://dspace.espoch.edu.ec/bitstream/123456789/5727/1/56T00656.pdf>.

**COLE, CURTIS** “Sunscreen protection in the ultraviolet A region: how to measure the effectiveness.” *Photodermatol Photoimmunol Photomed* [en línea], 2001, USA, Vol. 17.

[Consulta: 21 enero 2017]. ISSN 0905-4383. Disponible en:  
<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1034/j.1600-0781.2001.017001002.x/epdf>

**CIMPOIU , Claudia.**” Analysis of some natural antioxidants by thin-layer chromatography and high performance thin-layer chromatography.” *Journal of Liquid Chromatography and Related Technologies* [en línea], 2013, Romania, Vol. 29, pp. 1125-1142. [Consulta: 15 febrero 2017]. ISSN 1082-6076 print/1520-572X online. Disponible en:  
<http://www.scopus.com/inward/record.url?eid=2-s2.0-33645652116&partnerID=40>.

**D’ORAZIO , John ; & AMA, Alexandra** .“UV radiation and the skin.” *International Journal of Molecular Sciences*. [En línea], 2013,14,pp. 12222-12248. [Consulta:21 diciembre 2016]. Disponible en: [http://www.japsonline.com/admin/php/uploads/770\\_pdf.pdf](http://www.japsonline.com/admin/php/uploads/770_pdf.pdf)

**D’ORAZIO J, Jarrett S.;et. al.**” UV Radiation and the Skin.” *International Journal of Molecular Sciences* [en línea], 2013, pp. 12222–12248. [Consulta: 22 enero 2017]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3709783/>

**DEBACQ, Florence;et. al.**” UV, stress and aging”. *Dermato-Endocrinology* [en línea], 2012, USA, Vol. 87, pp. 965–977. . [Consulta: 1 enero 2017]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3583883/>

**DIAS DA SILVA CABRAL, Lorena ; OLIVEIRA, Samara ; KELSEI PARTATA, Anette** *Filtros Solares Y Fotoprotectores* [en línea]. 12 de julio de 2011. [Consulta: 10 marzo 2017]. Disponible en: <http://www.itpac.br/arquivos/Revista/43/4.pdf>

**EVANS WILLIAM CHARLES.** *Trease and Evans' pharmacognosy*. Elsevier Health Sciences, 2009. [en línea].16 th edición. [Consulta: 12 enero 2017]. Disponible en: [https://books.google.com.ec/books?redir\\_esc=y&hl=es&id=l7pkTFyY428C&q=Total+ashes#v=snippet&q=ash&f=false](https://books.google.com.ec/books?redir_esc=y&hl=es&id=l7pkTFyY428C&q=Total+ashes#v=snippet&q=ash&f=false)

**FDA.** *Preparación del estandar McFarland*. [en línea] 8 de marzo de 2015. [Consulta: 11 de febrero de 2017.] Disponible en: <http://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/LaboratoryMethods/ucm062247.htm>.

**FIOLETOV, Vitali; KERR, Angus ; FERGUSON, Angus.**”The UV index: Definition, Distribution and Factors Affecting it.” *Canadian Journal of Public Health* [en línea], 2016, Vol.101, pp. 15-19. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21033538>

**FURGIUELE, A. R. ; & FARNSWORTH, N. R.**” False-Positive Alkaloid Reactions Obtained with Extracts of Piper methysticum.” *Journal of Pharmaceutical Sciences* [en línea] ,2000 Vol. 51, pp. 1156-1162. [Consulta: 9 enero 2017]. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0022354915337928>

**GARCIA BORES, Ana María;et. al.**” *Lippia graveolens* Photochemopreventive Effect Against UVB Radiation- Induced Skin Carcinogenesis.” *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology* [en línea], 2010, Vol.167 , pp. 72-81 [Consulta: 13 febrero 2017]. ISSN 10111344. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2016.12.014>

**GONCALVES , Raimundo ;et. al.**” In vitro antioxidant and photoprotective activities of dried extracts from *Neoglaziovia variegata* ( Bromeliaceae )” *Journal of Applied Pharmaceutical Science* [en línea], 2013, Vol. 3, pp. 122-127. [Consulta: 3 febrero 2017]. ISSN 2231-3354. Disponible en: [http://www.japsonline.com/admin/php/uploads/770\\_pdf.pdf](http://www.japsonline.com/admin/php/uploads/770_pdf.pdf)

**GONÇALVES, Raimundo ; ROCH, Grasielly ; LEITE GUIMARÃES, Amanda.**” Dried extracts of *Encholirium spectabile* (Bromeliaceae) present antioxidant and photoprotective activities in vitro.” *Journal of Young Pharmacists* [en línea], 2013, Vol. 5, pp. 102–105. . [Consulta: 8 enero 2017]. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S097514831300040X>

**GUPTA, Alka;et. al.** “Quercetin: A wonder bioflavonoid with therapeutic potential in disease management” *Asian Pacific Journal of Tropical Disease* [en línea], 2016 Vol. 6, pp. 248-252. [Consulta: 26 febrero 2017]. ISSN 22221808. Disponible en: [http://dx.doi.org/10.1016/S2222-1808\(15\)61024-6](http://dx.doi.org/10.1016/S2222-1808(15)61024-6)

**HAN, A.; CHIEN, A. L. ; KANG, S.,**” Photoaging”. *Dermatologic Clinics* [en línea], 2014,USA. Vol. 32, pp. 291–299. . [Consulta: 2 marzo 2017]. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.det.2014.03.015>

**HIRAKU, Yusuke;et. al.**””Photosensitized DNA damage and its protection via a novel mechanism.” *Photochemistry and photobiology* [en línea], 2007, Japón, Vol. 83, pp. 205–

212. [Consulta: 25 febrero 2017]. Disponible en: <http://doi.wiley.com/10.1562/2006-03-09-IR-840>

**HUANG, Hao Hua; & TEIK, Lean.**” Quantification of polyphenolic content and bioactive constituents of some commercial rice varieties in Taiwan.” *Journal of Food Composition and Analysis* [en línea], 2013, Vol. 26, pp. 122-127. [Consulta: 21 febrero 2017]. ISSN/0889-1575. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jfca.2012.03.009>

**HUPEL, Mélanie;POUPART, Nathalie ;AR, Gall. Erwan.**” Development of a new in vitro method to evaluate the photoprotective sunscreen activity of plant extracts against high UV-B radiation.” *Talanta* [en línea],2011, Francia Vol. 86, pp. 362-371. [Consulta: 2 febrero 2017]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Development+of+a+new+in+vitro+method+to+evaluate+the+photoprotective+sunscreen+activity+of+plant+extracts+ag>

**IANNITTI, T; & PALMIERI, B.**” *Antioxidant Therapy effectiveness.*” *Medical and Pharmacological Sciences* [en línea],2011,Italia,vol.13. pp. 1-34. [Consulta: 27 enero 2017 ] Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19694341>

**JAMES, J ; & NORDLUND, MD.**” The Melanocyte and the Epidermal Melanin Unit: An Expanded Concept.” *Dermatologic Clinics* [en línea],2007, Vol. 25, pp. 271-281. [Consulta : 25 enero 2017]. ISBN 0733-8635/ISSN 07338635. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=The+Melanocyte+and+the+Epidermal+Melanin+Unit:+An+Expanded+Concept>.

**KINUTHIA· Dennis; MURIITHI, Anne; MWANGI, Peter** “Freeze dried extracts of *Bidens biternata* (Lour.) Merr. and Sheriff. show significant antidiarrheal activity in in-vivo models of diarrhea” *Journal of Ethnopharmacology. Sciences* [en línea],2016, Vol. 193, págs. 416–422. [Consulta: 12 febrero 2017]. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jep.2016.09.041>

**LEEGOOD, Richard.**” C4 Plants” *Encyclopedia of Applied Plant Sciences* [en línea],2016, Vol.1, págs. 680–688. [Consulta: 2 febrero 2017]. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780123948076000915>

**LEÓN GONZALES, Zacarías.** *Percutaneous Absorption of UV Filters Contained in Sunscreen Cosmetic Products.* Valencia-España : s.n., 2014. [Consulta: 27 febrero 2017]. Disponible en: <http://www.springer.com/series/8790>

**LOPES, Douglas M ; & MCMAHON, Stephen B.** "Ultraviolet Radiation on the Skin: A Painful Experience?". *CNS Neuroscience & Therapeutics* [en línea], 2016, Vol. 22, pp. 118–126. [Consulta: 29 diciembre 2016] Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4833175/>.

**LOWE, N.J.** "An Overview of Ultraviolet Radiation, Sunscreens, and Photo-Induced Dermatoses." *Dermatologic Clinics* [en línea], 2006, Vol. 24, pp.9-17. [Consulta: 5 enero 2017]. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0733863505000999>

**LOZANO, Luis; LLACZA Alan; SANCHÉZ Odón.** *Radiación Solar Ultravioleta Pronóstico con cobertura nacional del índice de radiación solar ultravioleta.* SENAMHI. [en línea] 12 de octubre de 2016. [Consulta: 1 de febrero de 2017.]. Disponible en: <https://www.cancer.org/es/cancer/cancer-de-piel/prevencion-y-deteccion-temprana/que-es-la-radiacion-de-luz-ultravioleta.html>.

**MCGILL GAE, L.; & MARTIN Horstmann** "Bcl2 Regulation by the Melanocyte Master Regulator Mitf Modulates Lineage Survival and Melanoma Cell Viability." *Cell* [en línea], 2013, Alemania ,Vol. 109, pp. 707–718. . [Consulta: 4 enero 2017]. Disponible en: [http://www.cell.com/cell/pdf/S0092-8674\(02\)00762-6.pdf](http://www.cell.com/cell/pdf/S0092-8674(02)00762-6.pdf)

**MÉNDEZ FLORES, Avilio.** *Ciencias Medicas. Rayos Ultravioleta UV .* [En línea] Digital nature, 21 de junio de 2011. [Citado el: 10 de enero de 2017.] <http://blog.ciencias-medicas.com/archives/1423>.

**MIRANDA MARTINEZ, Migdalia; & CUELLAR, Armando .** *Farmacognosia y Productos Naturales.* Cuba : Félix Varela, 2010. págs. 141,207,291-292.

**MOLLINEDA, Adrián Fagundo.** "Actividad fotoprotectora y fotorreparadora de los extractos de las angiospermas marinas, *Thalassia testudinum* Banks ex König (Hydrocharitacea) y *Syringodium filiforme* Kützing (Cymodoceaceae)". *REVMAR.* [En línea], 2016, pp. 51-62

[Consulta: 4 de febrero de 2017.]. ISSN 1659-455X. Disponible en:  
<http://www.revistas.una.ac.cr/index.php/revmar/article/view/7554/7938>.

**MORA, Moraima; OLIVARES, Alvis ; GONZALES, Tania.** "The sun: enemy of our skin?".  
*Scielo* [en línea], 2012, Cuba pp. 825-837. [Consulta: 12 enero 2017]. ISSN 1029-3019.  
Disponible en: [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1029-30192010000600014](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1029-30192010000600014)

**MORENO, María Isabel ; & MORENO, Luis Hernando.** "Fotoprotección" *Revista Asociación Colombiana de Dermatología* [en línea], 2015, Colombia, Vol. 18, pp. 31-39.  
[Consulta: 18 enero 2017]. Disponible en:  
<http://revistasocolderma.org/files/Fotoproteccion.pdf>

**NARAYANAN, Deevya L.; & SALADI, Rao N.** "Ultraviolet radiation and skin cancer"  
*International Journal Dermatology* [en línea], 2010, Vol. 49, pp. 978–986. [Consulta: 19 enero 2017]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20883261>

**NORVAL, Mary.** "The Consequences of UV-Induced Immunosuppression for Human Health."  
*Photochemistry and Photobiology* [en línea], 2011, Vol. 87, pp. 965–977. [Consulta: 12 febrero 2017]. Disponible en: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1751-1097.2011.00969.x/epdf>

**OKOKON, Jude ; KOOFREH Davies; BASSEY S Antia.** "Analgesic and anti-inflammatory activities of *Zea mays* leaves." *Journal of Herbal Drug* [en línea], 2016, 7, pp. 73-82.  
[Consulta: 26 febrero 2017]. Disponible en:  
[https://www.researchgate.net/publication/305403399\\_Analgesic\\_and\\_anti-inflammatory\\_activities\\_of\\_Zea\\_mays\\_leaves](https://www.researchgate.net/publication/305403399_Analgesic_and_anti-inflammatory_activities_of_Zea_mays_leaves)

**OMS; OMM; UNEP; NIRP.** *Índice UV solar mundial. Efectos de la exposición a la radiación UV sobre la salud.* [En línea] 2003. [Consulta: 27 de enero de 2017.]. Disponible en:  
<http://www.who.int/uv/publications/globalindex/es/>. ISBN 92 4 359007 3.

**ORTEGA, Ivan.** *Maiz (Zea mays).* [en línea] 19 de enero de 2015. [Consulta: 25 de enero de 2017.]  
Disponible en:  
<http://revistareduca.es/index.php/biologia/article/viewFile/1739/1776>. ISSN: 1989-3620.

- PARK, Seok Beom ; & YOUN, Jai-II .”** Time course of ultraviolet-induced skin reactions evaluated by two different reflectance spectrophotometers.” *Photodermatology, Photoimmunology & Photomedicine* [en línea], 2011, pp. 23-28. [Consulta: 14 enero 2017]. Disponible en: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1034/j.16000781.2002.180104.x/abstract>
- PATWARDHAN , Juilee ; & BHATT, Purvi.”** Flavonoids Derived from *Abelmoschus esculentus* Attenuates UV-B Induced Cell Damage in Human Dermal Fibroblasts Through Nrf2-ARE Pathway.” *Pharmacognosy Magazine* [en línea], 2016, Vol. 12, pp.. 129–138. . [Consulta: 11 enero 2017]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4883069/>
- POLEFKA, Thomas; MEYER, Thomas ; AGIN, Patricia.”** Effects of Solar Radiation on the Skin”. *Journal of Cosmetic Dermatology*, [en línea], 2012, Vol. 11, pp. 134–143. [Consulta: 26 diciembre 2016]. Número ISSN. Disponible en: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1473-2165.2012.00614.x/abstract>
- RADICE, Matteo; & MANFREDINI, Stefano** “Herbal extracts, lichens and biomolecules as natural photo-protection alternatives to synthetic UV filters.” *Fitoterapia* [en línea], 2016, Ecuador, Vol. 114, pp. 144-162. [Consulta: 10 septiembre 2016].ISSN 18736971. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.fitote.2016.09.003>
- RAVNBAK,M.H.** *Objective determination of Fitzpatrick skin type.*[en línea]. 12 agosto de 2010 [Consulta: 10 enero 2017]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20682135/>
- REENA, Rai ; & SEKAR, Shanmuga”** Photoprotection.” *Indian Journal of Dermatology* [en línea], 2012, Vol. 57, pp. 335–342. . [Consulta: 22 febrero 2017]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3482794/>
- ROMANHOLE, R. C;et. al.”** “Update on ultraviolet A and B radiation generated by the sun and artificial lamps and their effects on skin.” *International Journal of Cosmetic Science*. [En línea], 2015, Brasil, Vol. 37, pp. 366–370. [Consulta: 11 enero 2017.]. Disponible en: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/ics.12219/full>

**SCHALKA, Sergio; STEINER, Denise; RAVELLI, Flávia** “Brazilian Consensus on Photoprotection”. *PUBLISHED BIMONTHLY* [en línea], 2014 Brasil, 89 , pp. 1-79. ISSN 0365-0596. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4365470/>

**SCHERER, Dominique ; & RAJIV, Kumar.** “Genetics of Pigmentation in Skin Cancer”. *Mutation Research/Reviews in Mutation Research* [en línea], 2010, Vol. 705, pp. 141–153. [Consulta: 27 diciembre 2016]. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1383574210000815>

**SKLAR, Lindsay, ALMUTAWA, Fahad ; W. L, Henry .** “Effects of ultraviolet radiation, visible light, and infrared radiation on erythema and pigmentation.” *Photochemical & Photobiological Sciences* [en línea],2013, pp. 54-64. [Consulta: 11 enero 2017]. Disponible en: <http://pubs.rsc.org/en/Content/ArticleLanding/2013/PP/C2PP25152C#!divCitation>

**SKOBOWIAT C,;et. al.”** Ultraviolet radiation regulates cortisol activity in a waveband dependent manner in human skin ex-vivo”. *The British journal of Dermatology*, [en línea],2013, pp. 595-601. [Consulta: 1 enero 2017]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3586986/>

**SLOMINSKI, Andrzej;et. al.”**Melanin pigmentation in mammalian skin and its hormonal regulation.” *Physiological reviews* [en línea],2010, Vol. 84, pp. 1155-1228 [Consulta: 12 enero 2017]. ISBN 0031-9333/ISSN 0031-9333. Disponible en: <http://physrev.physiology.org/content/physrev/84/4/1155.full.pdf>

**SLOMINSKI AT;et. al.** “Sensing the environment: Regulation of local and global homeostasis by the skin neuroendocrine system.” *Publications National Center for Biotechnology Information* [en línea],2013, Vol. 115. . [Consulta:2 enero 20017] Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3422784/>

**SVOBODOVÁ, Alena;PSOTOVÁ, Jitka ; WALTEROVÁ, Daniela.** ” Natural Phenolics In The Prevention Of UV-Induced Skin Damage.” *BIOMEDICAL PAPERS* [en línea], 2013, Vol. 147, pp. 137-145.[Consulta:12 enero 2017]. Disponible en: [http://biomed.papers.upol.cz/artkey/bio-200302-0003\\_natural\\_phenolics\\_in\\_the\\_prevention\\_of\\_uv-induced\\_skin\\_damage\\_a\\_review.php](http://biomed.papers.upol.cz/artkey/bio-200302-0003_natural_phenolics_in_the_prevention_of_uv-induced_skin_damage_a_review.php)

**TOHIDI, B.;RAHIMMALEK, M. ;ARZANI, A.,**” Essential oil composition, total phenolic, flavonoid contents,and antioxidant activity of *Thymus* species collected from different regions of Iran”. *Food Chemistry*, [en línea],2016, pp. 153–161. . [Consulta: 28 febrero 2017]. ISSN 18737072. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.09.203>

**VALACHOVIC, Edward ; ZURBENKO, Igor.**” Skin Cancer, Irradiation, and Sunspots: The Solar Cycle Effect.” *BioMed Research International* [en línea],2014. [Consulta: 15 febrero 2017]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4122154/>

**WANG, Alice; MARINO, Anthony R.; GASZYNA ZBIGNIE, W.**” Photoprotection by Porcine Eumelanin Against Singlet Oxygen Production.” *Photochemistry and Photobiology* [en línea], 2008, USA, Vol. 84, pP. 679-682. [Consulta: 22 febrero 2017].ISBN 0031-8655/ISSN 00318655. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Photoprotection+by+porcine+eumelanin+against+singlet+oxygen+production>

**WAGNER , Hildebert ;BLADT, Sabine.** *Plant Drug Analysis. A Thin Layer Chromatography Atlas* [en línea] Segunda. Berlin : Springer, 1996. [Consulta: 2 febrero 2017]. Disponible en: <http://sci-hub.bz/10.1007/978-3-662-02398-3>

**WIJewardana , Chathurika ;W. BRIEN Henry.**” Interactive effects on CO<sub>2</sub>, drought, and ultraviolet-B radiation on maize.” *Journal of Photochemistry & Photobiology, B: Biology* [en línea], 2016, Vol. 160, pp. 198–209. [Consulta: 20 enero 2017]. ISSN/18732682. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2016.04.004>

**WILLIAMS, Brand; CUVELIER , M.E. ;BERSET, C.** *Use of a Free Radical Method to Evaluate Antioxidant Activity.* [en línea]. [Consulta: 10 febrero 2017]. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0023643895800085>

**YAGURA, Teiti; et. al.**” *Biological Sensors for Solar Ultraviolet Radiation.* [en línea] 12 de abril de 2012. [Consulta: 15 de enero de 2017.]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3231322/>.

**YÁNEZ, C;ZAMBRANO, J ;CAICEDO, M** *Guía de Producción de maíz para pequeños agricultores y agricultoras. Guía de Producción de maíz para pequeños agricultores y agricultoras.* Quito, Vol. 96,201. Disponible en:  
<http://repositorio.iniap.gob.ec/jspui/bitstream/41000/394/4/iniapscbds.n.m.pdf>

## ANEXOS

### ANEXO A: Análisis estadístico del efecto fotoprotector

**Tabla 1-A.** Resultados de las áreas bajo la curva de las sustancias fotoprotectoras a 20 ppm de supervivencia bacteriana de *Escherichia coli*

<b>BLANCO</b>	<b>OMC 20</b>	<b>PAMIDATO 20</b>	<b>Zea mays 20</b>
1020000000 ±91651513,9	1464078000 ±124289462	1185036000 ±115112805,9	1251114000 ±34121314,35
900000000 ±91651513,9	1239054000 ±124289462	1146018000 ±115112805,9	1317117000 ±34121314,35
1080000000 ±91651513,9	1260096000 ±124289462	1362024000 ±115112805,9	1299132000 ±34121314,35
960000000 ±120000000	1272114000 ±28927229	1353030000 ±36035649,52	1317132000 ±41606478,19
1080000000 ±120000000	1227090000 ±28927229	1425018000 ±36035649,52	1260123000 ±41606478,19
1200000000 ±120000000	1281066000 ±28927229	1392024000 ±36035649,52	1236132000 ±41606478,19
1320000000 ±216333077	1269078000 ±72001253,1	1362024000 ±141013744,3	1335147000 ±41617294,13
1200000000 ±216333077	1389054000 ±72001253,1	1224036000 ±141013744,3	1254126000 ±41617294,13
900000000 ±216333077	1260096000 ±72001253,1	1080018000 ±141013744,3	1311150000 ±41617294,13

**Tabla 2-A.** Resultados de las áreas bajo la curva de las sustancias fotoprotectoras a 200 ppm de supervivencia bacteriana de *Escherichia coli*

<b>BLANCO</b>	<b>OMC 200</b>	<b>PAMIDATO 200</b>	<b><i>Zea mays</i> 200</b>
1020000000 ±91651513,9	1524192000 ±133810403,3	1275132000 ±146079978,8	1374181500 ±82973534,78
900000000 ±91651513,9	1320180000 ±133810403,3	1443156000 ±146079978,8	1401219000 ±82973534,78
1080000000 ±91651513,9	1272186000 ±133810403,3	1566132000 ±146079978,8	1245906200 ±82973534,78
960000000 ±120000000	1188156000 ±191698279,5	1191132000 ±64496884,48	1380187500 ±83917218,49
1080000000 ±120000000	1530186000 ±191698279,5	1254114000 ±64496884,48	1254183000 ±83917218,49
1200000000 ±120000000	1209150000 ±191698279,5	1125132000 ±64496884,48	1221172500 ±83917218,49
1320000000 ±216333077	1239174000 ±86763817,83	1380132000 ±126015000,3	1257207000 ±51003859,24
1200000000 ±216333077	1275162000 ±86763817,83	1506162000 ±126015000,3	1353160500 ±51003859,24
900000000 ±216333077	1110156000 ±86763817,83	1632162000 ±126015000,3	1335165000 ±51003859,24

ANEXO A Resultados de las áreas bajo la curva de las sustancias fotoprotectoras a 2000 ppm de supervivencia bacteriana de Escherichia coli

<b>BLANCO</b>	<b>OMC 2000</b>	<b>PAMIDATO 2000</b>	<b>Zea mays 2000</b>
1020000000 ±91651513,9	1335297000 ±129841268,8	1569240000 ±119398393,3	1326226500 ±72714734,86
900000000 ±91651513,9	1530315000 ±129841268,8	1800222000 ±119398393,3	1410219000 ±72714734,86
1080000000 ±91651513,9	1284306000 ±129841268,8	1737204000 ±119398393,3	1265406200 ±72714734,86
960000000 ±120000000	1986294000 ±259665201,9	1461231000 ±110005845,8	1380246000 ±12141866,75
1080000000 ±120000000	1485312000 ±259665201,9	1272213000 ±110005845,8	1365207000 ±12141866,75
1200000000 ±120000000	1854297000 ±259665201,9	1269213000 ±110005845,8	1356214500 ±12141866,75
1320000000 ±216333077	1107309000 ±141013744,3	1518156000 ±93753821,79	1383231000 ±11346195,96
1200000000 ±216333077	1461264000 ±141013744,3	1446183000 ±93753821,79	1401219000 ±11346195,96
900000000 ±216333077	1356285000 ±141013744,3	1332222000 ±93753821,79	1380244500 ±11346195,96

ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LOS DATOS POR REALIZÓ MEDIANTE EL PROGRAMA ESTADÍSTICO SPSS STATICS

Descriptivos

Indice\_fotoprotección

	N	Media	Desviación típica	Error típico	Intervalo de confianza para la media al 95%		Mínimo	Máximo
					Límite inferior	Límite superior		
Blanco	9	1073333333	145258390,5	48419463,49	961677850,3	1184988816	900000000	1E+009
Pamidato 20	9	1281025333	123720196,6	41240065,54	1185925572	1376125095	1E+009	1E+009
OMC 20	9	1295747333	78259724,09	26086574,70	1235591584	1355903082	1E+009	1E+009
Zea mays 20	9	1286797000	36300091,58	12100030,53	1258894280	1314699720	1E+009	1E+009
Pamidato 200	9	1374806000	175131003,2	58377001,06	1240188394	1509423606	1E+009	2E+009
OMC 200	9	1296504667	143804910,4	47934970,12	1185966427	1407042906	1E+009	2E+009
Zea mays 200	9	1313598022	68599406,40	22866468,80	1260867851	1366328194	1E+009	1E+009
Pamidato 2000	9	1489536667	189814164,7	63271388,22	1343632584	1635440750	1E+009	2E+009
OMC 2000	9	1488950667	276599384,0	92199794,66	1276337559	1701563774	1E+009	2E+009
Zea mays 2000	9	1363134856	44189940,69	14729980,23	1329167460	1397102251	1E+009	1E+009
Total	90	1326343388	179033739,6	18871813,17	1288845497	1363841279	900000000	2E+009

Prueba de homogeneidad de varianzas			
Indice_fotoprotección			
Estadístico de Levene	gl1	gl2	Sig.
3,956	9	80	,000

**Pruebas de normalidad**

Indice_fotoprotección	Fotoprotector a diferente concentración	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
		Estadístico	gl	Sig.	Estadístico	gl	Sig.
	Blanco	,148	9	,200*	,937	9	,555
	Pamidato 20	,275	9	,048	,895	9	,225
	OMC 20	,352	9	,002	,764	9	,008
	Zea mays 20	,213	9	,200*	,893	9	,215
	Pamidato 200	,160	9	,200*	,963	9	,826
	OMC 200	,226	9	,200*	,880	9	,159
	Zea mays 200	,239	9	,147	,884	9	,173
	Pamidato 2000	,130	9	,200*	,928	9	,462
	OMC 2000	,218	9	,200*	,927	9	,452
	Zea mays 2000	,216	9	,200*	,867	9	,113

**ANOVA de un factor**

Indice\_fotoprotección

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	1,138E+18	9	1,264E+17	5,895	,000
Intra-grupos	1,715E+18	80	2,144E+16		
Total	2,853E+18	89			

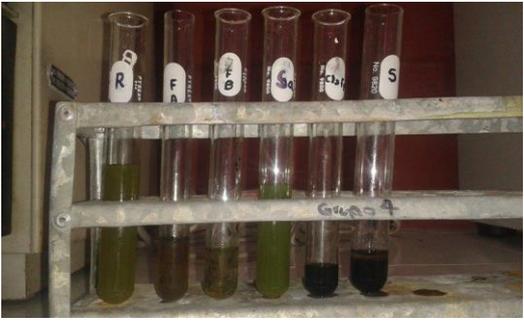
Subconjuntos homogéneos

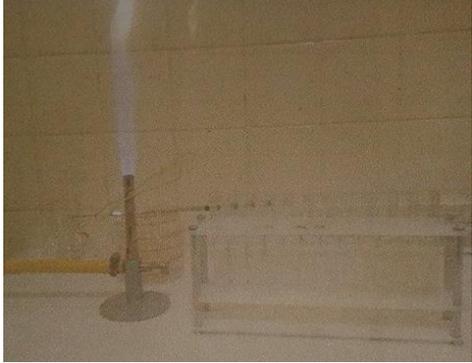
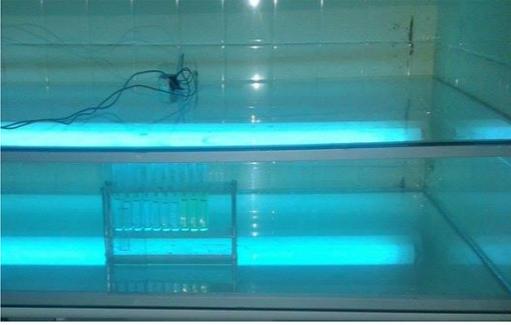
**Indice\_fotoprotección**

HSD de Tukey<sup>a</sup>

Fotoprotector a diferente concentración	N	Subconjunto para alfa = 0.05	
		1	2
Blanco	9	1073333333	
Pamidato 20	9	1281025333	1281025333
Zea mays 20	9	1286797000	1286797000
OMC 20	9	1295747333	1295747333
OMC 200	9	1296504667	1296504667
Zea mays 200	9		1313598022
Zea mays 2000	9		1363134856
Pamidato 200	9		1374806000
OMC 2000	9		1488950667
Pamidato 2000	9		1489536667
Sig.		,053	,092

ANEXO B: Evidencias fotográficas de la investigación

Secado del material vegetal	Control de calidad del material vegetal
	
Tamizaje Fitoquímico extracto etéreo	Tamizaje Fitoquímico extracto alcohólico
	
Tamizaje Fitoquímico extracto acuoso	Concentración del Extracto Hidroalcohólico
	

<p><b>Obtención del extracto seco por liofilización</b></p>	<p><b>Preparación de las Unidades Experimentales</b></p>
	
<p><b>Exposición de Bacterias E.coli a Radiación UV-B</b></p>	<p><b>UFC en el tiempo 0 (0 min)</b></p>
	
<p><b>UFC sobrevivientes en el tiempo 5 (120 min)</b></p>	<p><b>UFC sobrevivientes en el tiempo 6 (150 min)</b></p>
