



PERÚ

Ministerio
de la Producción

Programa Nacional de
Innovación para la
Competitividad y Productividad

Innóvate
Perú

DESARROLLO DE INSUMOS BIOACTIVOS PARA LA INDUSTRIA COSMETICA CON ALGAS NATIVAS PERUANAS EN PSW SA

CONTRATO 058-INNOVATEPERU-PITEI-2016

Iliana Chang Avila¹, Jessenia Ortiz Aguilar¹, Angel Rodriguez Huamán^{1,2}, Jorge Chavez Perez ²

1.PSW SA , 2 . UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA LA MOLINA

Elaborado por: Iliana Chang Avila

Email: iliana.chang@pswsa.com

RESUMEN

El presente proyecto tuvo por finalidad desarrollar insumos para la industria cosmeceútica, para ello se buscó evidenciar la presencia de compuestos bioactivos y evaluar mediante ensayos *in vitro* el potencial cosmeceútico de 10 diferentes especies de algas, entre clorophytas, phaeophytas, rodophytas y cianobacterias, sometidas a 4 diferentes procesos de extracción (P1, P2, P3, P4) empleados a nivel piloto en PSW SA. Debido a los entornos adversos que deben tolerar las especies de algas en zonas intermareales, se prevee que tengan mecanismos que les permitan disminuir el daño recibido. Los compuestos bioactivos que les brindan esta capacidad pueden ser utilizados para prevenir el daño causado por la radiación, en particular la radiación UV-B, la cual es causante del fotodaño y el fotoenvejecimiento. Las muestras fueron sometidas a análisis de capacidad antioxidante por ABTS y fenoles totales por el método de Folin Ciocalteu. Así mismo, se realizaron estudios de inhibición enzimática, hallando el IC50 de las muestras frente a las enzimas colagenasa y elastasa mediante técnicas espectrofotométricas. Finalmente, se seleccionó 10 muestras en función a su aplicabilidad industrial para realizar análisis de fotoprotección y MTT. Dentro de los diferentes procesos, el P3 muestra los valores más altos de capacidad antioxidante y cuantificación de fenoles totales, llegando a valores de 23.9 mmol TEAC/100g y 3828 mg AGE/100g. En los ensayos enzimáticos no se observaron diferencias significativas entre los procesos y especies evaluados; sin embargo, todos los extractos presentaron inhibición de las enzimas evaluadas frente al tratamiento control. Finalmente los resultados de fotoprotección y MTT permitieron establecer las muestras AR2P3, AR2P4 y AV1P1 como aquellas con mayor viabilidad celular luego de una preincubación con los extractos y una posterior exposición frente a rayos UVB. Los resultados obtenidos permiten afirmar que las muestras AR2P3, AR2P4 y AV1P1 presentan un potencial cosmeceútico y pueden ser aplicados como insumos en la industria.

Palabras clave: anti-elastasa, anti-colagenasa, cosmeceútica, algas

INTRODUCCION

El envejecimiento cutáneo es un proceso biológico complejo, progresivo e irreversible, que incluye dos procesos: envejecimiento intrínseco y fotoenvejecimiento. Este último

se puede definir como un conjunto de cambios macroscópicos, microscópicos, celulares y moleculares de la piel, productos de irradiación solar crónica y acumulativa. Dentro del espectro de la radiación, los rayos UVB son la principal causa del fotodaño. Este



daño se produce, en parte, por la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS) que generan la oxidación de los componentes celulares. Además, los rayos UV estimulan indirectamente la transcripción de genes de metaloproteínas, que degradan el colágeno y otras proteínas de la matriz extracelular dérmica. En este sentido, la industria cosmecéutica busca prevenir o reducir el fotoenvejecimiento al inhibir los mecanismos de acción de los rayos UV.

OBJETIVO

El objetivo principal del proyecto fue desarrollar insumos bioactivos para la industria cosmeceutica a partir de algas nativas peruanas que sean escalables a nivel industrial. Como objetivos específicos, se busco evidenciar el efecto in vitro de los diferentes extractos mediante la medición de compuestos fenólicos totales; capacidad antioxidante; efecto inhibitorio de las enzimas colagenasa y elastasa; y prueba de fotoprotección con MTT.

METODOLOGIA

Los procesos de extracción se llevaron a cabo en las instalaciones de la empresa PSW SA. Estos fueron catalogados como P1, P2, P3 y P4. Se emplearon solventes glicolicos, alcoholicos y enzimáticos. Las condiciones de tiempo, proporción y temperatura fueron controladas para cada proceso.



Para la determinación del contenido de los compuestos fenólicos, se empleó la metodología descrita por Pinto Vitorino et al. (2004). Para el ensayo se tomaron de cada extracto alícuotas de 500µl, a las cuales se adicionó 250 µl del reactivo de Folin Ciocalteu (1N), 8.25 ml de agua destilada y 1000 µl de carbonato de sodio (1N), los tubos fueron agitados en un vortex, se mantuvieron en incubación por 90 minutos a temperatura ambiente con agitación. Las absorbancias fueron medidas a 755 nm en un espectrofotómetro y el contenido de compuestos fenólicos totales fue expresado en mg de ácido gálico/100 g de muestra seca. Para los ensayos de capacidad antioxidante se tomaron 150 µL de la muestra, la solución estándar y metanol como blanco, y se adicionó 2850 µL del radical ABTS. La reacción se dejó transcurrir a temperatura ambiente por un tiempo 30 minutos, al cabo del cual se midió la absorbancia a 734 nm y la capacidad antioxidante fue expresada en uM TEAC /100 g de muestra seca.

Para la determinación de la actividad inhibitoria de la enzima elastasa se empleó el método reportado por Thing, et al. (2009). La enzima elastasa pancreática porcina (PE – E.C. 3.4.21.36), fue disuelta a una concentración de 7.5 ug/mL en una solución de buffer Tris-HCL 100mM (pH 8.0). El sustrato N-Succinyl-

Ala-AlaAla-p-nitroanilide (AAPVN) fue disuelto en buffer a una concentración de 2.2 mM. Para los ensayos se incubaron 40 uL de los extractos y el control positivo con 50 uL de la enzima durante 5 minutos. Luego de ello se adicionó 60 uL de sustrato para iniciar la reacción. La absorbancia fue medida a 405 nm en un lector de microplacas ELx808™ BioTek y procesados con el Software Gen5 Microplate Reader and Imager.



Para la determinación de la actividad inhibitoria de la enzima colagenasa se empleó el método reportado por Thing, et al. (2009) con algunas modificaciones realizadas por el equipo técnico de la UNALM. La enzima colagenasa de Clostridium, fue disuelta a una concentración de 2 u/mL en buffer Tricine 50mM (pH 7.5), con NaCl 400 mM y CaCl₂ 10 mM. El sustrato FALGPA fue disuelto en buffer a una concentración de 4 mM. Para los ensayos se incubaron 33 uL de los extractos y el control positivo con 65 uL de la enzima y 62 uL de Buffer durante 5 minutos. Luego de ello se adicionó 40 uL de sustrato para iniciar la reacción. La absorbancia se midió desde el

tiempo cero hasta transcurridos 5 minutos, considerándose el tiempo cero como blanco. La absorbancia se midió a 340 nm en un lector de microplacas. El epigalocatequina galato (EGCG) fue empleado como control positivo en ambos casos.

RESULTADOS

Dentro de los diferentes procesos, el P3 muestra los valores más altos de capacidad antioxidante y fenoles totales, obteniendo valores de 23.9 mmol TEAC / 100g y 3828 mg AGE / 100g. Esta tendencia nos permite afirmar que, si bien, todas las especies analizadas presentan capacidad antioxidante en mayor o menor medida, el proceso P3 es el que permite obtener un mayor rendimiento en cuanto a extracción de compuestos bioactivos con capacidad antioxidante.

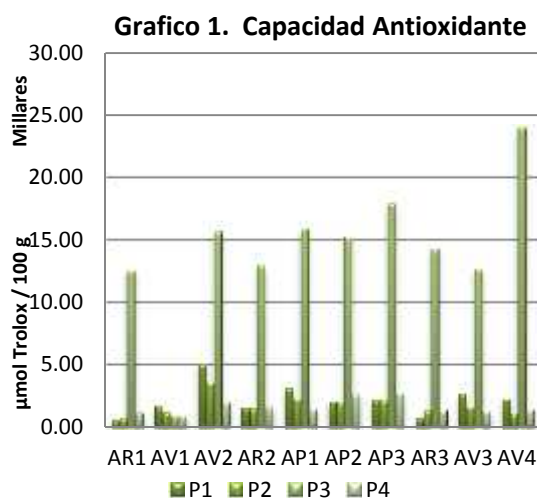
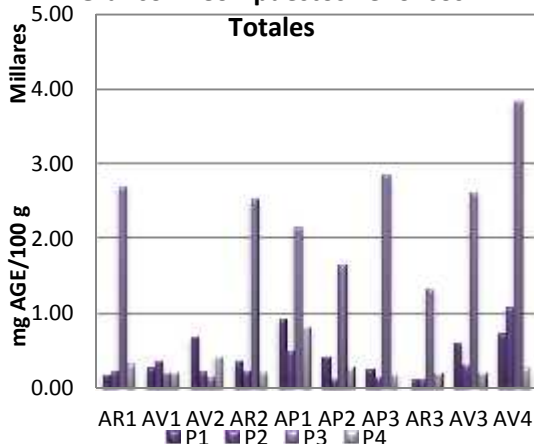




Gráfico 2. Compuestos Fenólicos



En los ensayos enzimáticos, no se observaron diferencias significativas entre los procesos y las especies evaluadas. No obstante, todos los extractos analizados presentan un efecto inhibitorio frente a las enzimas evaluadas.

Gráfico 3. Actividad Anti-colagenasa

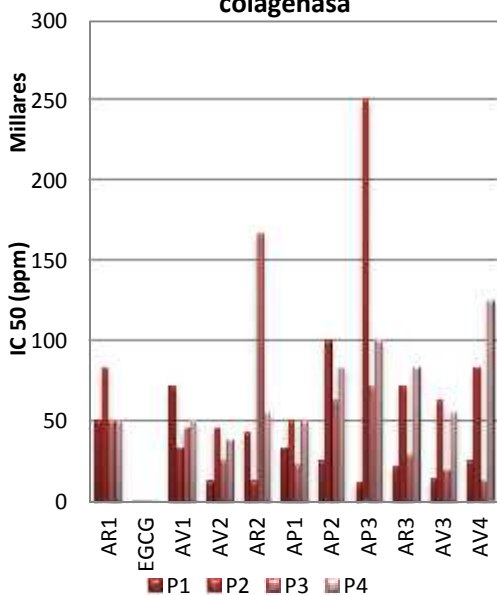
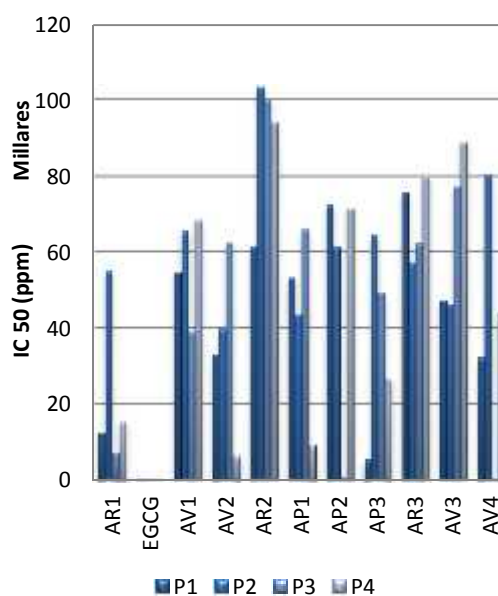
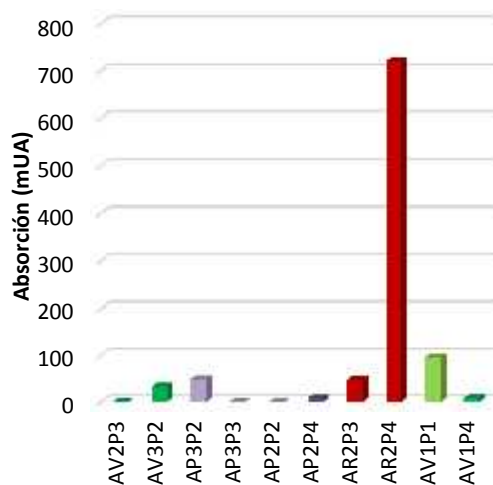


Gráfico 4. Actividad Anti-elastasa



Finalmente, los resultados de fotoprotección y MTT permitieron el establecimiento de muestras AR2P3, AR2P4 y AV1P1 como aquellas con mayores valores de viabilidad celular.

Gráfico 5. Viabilidad Celular



CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos permiten afirmar que las muestras son ricas en compuestos



fenólicos. Esto podría estar relacionado con la capacidad antioxidante que se encontró. Además, las muestras analizadas tienen un efecto inhibitorio sobre las enzimas elastasa y colagenasa que son responsables de la degradación de la matriz extracelular. Además, los resultados de las células de viabilidad indican que los extractos de AR2P4, AR2P3, AV1P1, AP3P2 y AV3P2 tienen un efecto protector de nuevo la irradiación de UVB sobre los fibroblastos. Concluimos que las muestras AR2P3, AR2P4 y AV1P1 presentan un potencial cosmeceútico y se pueden aplicar como insumos en la industria.

PRODUCTOS

03 extractos algales validados como insumo bioactivo para su uso en la industria cosmética.

Eficacia cosmética y Tolerancia dermatológica del extracto algal comprobada con ensayos clínicos

04 procesos de extracción de metabolitos secundarios escalables a nivel industrial.

FINANCIAMIENTO DEL PROYECTO

El proyecto tuvo una duración programada de 29 meses con un presupuesto total de S/. 400,000.00 nuevos soles financiado con recursos del estado peruano y de la empresa ejecutora según el cuadro siguiente:

	Aporte No Monetario	Aporte Monetario	Aporte Total	Porcentaje
Entidad	S/.	S/.	S/.	%
Entidad ejecutora	65,865.20	42,884.98	108,750.18	27.19
Entidad Asociada "UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA LA MOLINA"	22,000.00	0	22,000.00	5.5
RNR – "INNOVATE PERÚ"	-----	269,249.82	269,249.82	67.31
Monto total de aportes	87,865.20	312,134.80	400,000.00	100