Universidad Nacional Mayor de San Marcos
Universidad del Perú. Decana de América
Facultad de Farmacia y Bioquímica
Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica

Caracterización fisicoquímica, actividad antioxidante e irritabilidad ocular *in vitro* (HET-CAM) del aceite de *Oenocarpus bataua* "ungurahui" de Iquitos con potencial cosmético

TESIS

Para optar el Título Profesional de Químico Farmacéuticas

AUTORES

Yamile Maribel AGUILAR LÓPEZ

Mabel Edith Laura MAUCAILLE ROJAS

ASESORES

Mg. Mónica Guadalupe RETUERTO FIGUEROA

Eva Ramos Llica (Coasesor)

Lima, Perú

2026



Reconocimiento - No Comercial - Compartir Igual - Sin restricciones adicionales

https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/

Usted puede distribuir, remezclar, retocar, y crear a partir del documento original de modo no comercial, siempre y cuando se dé crédito al autor del documento y se licencien las nuevas creaciones bajo las mismas condiciones. No se permite aplicar términos legales o medidas tecnológicas que restrinjan legalmente a otros a hacer cualquier cosa que permita esta licencia.

Referencia bibliográfica

Aguilar Y, Maucaille M. Caracterización fisicoquímica, actividad antioxidante e irritabilidad ocular *in vitro* (HET-CAM) del aceite de *Oenocarpus bataua* "ungurahui" de Iquitos con potencial cosmético [Tesis de pregrado]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica; 2026.

Metadatos complementarios

Datos de autor 1	
Nombres y apellidos	Yamile Maribel Aguilar López,
Tipo de documento de identidad	DNI
Número de documento de identidad	47795214
URL de ORCID	https://orcid.org/0009-0008-2522-1973
Datos de autor 2	
Nombres y apellidos	Mabel Edith Laura Maucaille Rojas
Tipo de documento de identidad	DNI
Número de documento de identidad	45730603
URL de ORCID	https://orcid.org/0009-0002-2335-8622
Datos de asesor	
Nombres y apellidos	Mónica Guadalupe Retuerto Figueroa
Tipo de documento de identidad	DNI
Número de documento de identidad	09481617
URL de ORCID	https://orcid.org/0000-0001-8706-2789
Datos de coasesor	
Nombres y apellidos	Eva Ramos Llica
Tipo de documento de identidad	DNI
Número de documento de identidad	29735069
URL de ORCID	https://orcid.org/0000-0001-8594-5537
Datos del jurado	
Presidente del jurado	
Nombres y apellidos	Dr. Julio Luis Diaz Uribe
Tipo de documento	DNI
Número de documento de identidad	07247790

Miembro del jurado 1	
Nombres y apellidos	Mg. Margarita Eva Lobatón Erazo
Tipo de documento	DNI
Número de documento de identidad	06225936
Miembro del jurado 2	
Nombres y apellidos	Mg. Bertrán Santiago Trujillo
Tipo de documento	DNI
Número de documento de identidad	07186287
Datos de investigación	
Línea de investigación	Recursos y productos naturales con potencial farmacéutico, alimentario, cosmético y terapéutico.
Grupo de investigación	Farmacognosia y Medicina Tradicional
Agencia de financiamiento	PCONFIGI - A22040221 - VRIP.
Ubicación geográfica de la investigación	Edificio: Facultad de Farmacia y Bioquímica, Laboratorio de Farmacognosia y Medicina Tradicional País: Perú Departamento: Lima Provincia: Lima Distrito: Cercado de Lima Calle: Jr. Puno Nº 1002 Latitud: -12.05572 Longitud: -77.02324
Año o rango de años en que se realizó la investigación	Abril 2024 – junio 2025
URL de disciplinas OCDE	Toxicología https://purl.org/pe-repo/ocde/ford#3.01.07

Universidad Nacional Mayor de San Marcos
Universidad del Perú. Decana de América
Facultad de Farmacia y Bioquímica
Decanato

ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS

Los miembros del Jurado Examinador y Calificador de la Tesis titulada:

Caracterización fisicoquímica, actividad antioxidante e irritabilidad ocular *in vitro* (HET-CAM) del aceite de *Oenocarpus bataua* "ungurahui" de Iquitos con potencial cosmético

Que presentan las Bachilleres en Farmacia y Bioquímica:

YAMILE MARIBEL AGUILAR LÓPEZ Y
MABEL EDITH LAURA MAUCAILLE ROJAS

Que reunidos en la fecha se llevó a cabo la **SUSTENTACIÓN** de la **TESIS**, y después de las respuestas satisfactorias a las preguntas y objeciones formuladas por el Jurado, ha obtenido la siguiente calificación final:

Diecisiete (17) - Aprobado con mención honrosa

de conformidad con el Art. 14.° del Reglamento General de Grados y Títulos de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos para la obtención del Título Profesional de Químico Farmacéutico (a) de la Facultad de Farmacia y Bioquímica.

Lima, 29 de abril de 2026.

Dr. Julio Luis Diaz Uribe
Presidente

Mg. Margarita Eva Lobaton Erazo
Miembro

Mg. Bertran Santiago Trujillo
Miembro

UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS
Universidad del Perú, Decana de América

Anexo 1
CERTIFICADO DE SIMILITUD

Yo, **Mg. Q.F. Mónica Guadalupe Retuerto Figueroa**, en mi condición de asesora acreditada con el Dictamen N° 020-FFB-EPFB-2026 UNMSM de la tesis cuyo título es **"*Caracterización fisicoquímica, actividad antioxidante e irritabilidad ocular in vitro* (HET-CAM) *del aceite de Oenocarpus bataua "*ungurahui*" de Iquitos con potencial cosmético"*,** presentado por las bachilleres: Aguilar López, Yamile Maribel y Maucaille Rojas, Mabel Edith Laura para optar el título profesional de Químico Farmacéuticas, CERTIFICO que se ha cumplido con lo establecido en la Directiva de Originalidad y de Similitud de Trabajos Académicos, de Investigación y Producción Intelectual. Según la revisión, análisis y evaluación mediante la plataforma PIDS, el documento evaluado cuenta con el **18%** de similitud, nivel PERMITIDO para continuar con los trámites correspondientes y para su **publicación en el repositorio institucional.**

Se emite el presente certificado en cumplimiento de lo establecido en las normas vigentes, como uno de los requisitos para la obtención del título profesional de Químico Farmacéuticas.

Lima, 14 de abril de 2026

Firma del Asesor: UNMSM Firmado digitalmente por RETUERTO FIGUEROA Monica Guadalupe FAU 20148092282 soft
Motivo: Soy el autor del documento
Fecha: 14.04.2026 01:48:51 -05:00

Nombres y Apellidos de la asesora: Mónica Guadalupe Retuerto Figueroa
DNI: 09481617

* Según corresponda: bachiller, magíster, doctor; título profesional o título de segunda especialidad

La vigencia del presente certificado corresponde a un período de noventa (90) días desde la fecha de su emisión; siempre que no haya observaciones en el texto durante el proceso de revisión por el jurado informante o surja alguna contingencia.

Dedicatoria

A Dios, por brindarnos salud a mi familia y a mí.

A mis queridos padres, Martha y Roger, por su amor incondicional, su apoyo constante y por enseñarme que con esfuerzo y perseverancia todo es posible.

A mi hermana Yorela, que es fuente de inspiración y que con cada palabra a logrado apoyarme y sostenerme cuando más lo he necesitado, a mis sobrinos Kaled y Vasco, que llenan mi vida de alegría y me motivan a seguir adelante.

A quienes ya no están físicamente, pero viven en mi corazón y en cada uno de mis logros.

A todas las personas que caminaron a mi lado en los momentos difíciles, y aun así no soltaron mi mano. Su compañía fue clave para alcanzar esta meta.

Yamile Maribel Aguilar López

Dedicatoria

A mi familia, por ser el motor de cada uno de mis logros.

A mis padres, Mabel y Lorenzo, por su amor incondicional, sus sacrificios y por enseñarme el valor del esfuerzo y la perseverancia.

A mis hermanas, Daniela, Malory y Blanca, por su apoyo constante, por creer en mí y por acompañarme con amor, alegría y palabras de aliento en cada etapa de este camino.

A mi madrina, Gloria, por sostenerme siempre con su ejemplo y su cariño.

Y a todas las personas que, de una u otra forma, contribuyeron a que este logro fuera posible.

Gracias, de corazón.

Mabel Edith Laura Maucaille Rojas

Agradecimientos

Expresamos nuestro más sincero agradecimiento a nuestras asesoras, Mg. Q.F. Mónica Guadalupe Retuerto Figueroa y Mg. Q.F. Eva Ramos Llica, por su dedicación, orientación y constante apoyo durante el desarrollo de esta tesis. Su acompañamiento ha sido esencial para llevar este trabajo a buen término.

Agradecemos también al Bachiller Jossimar Huamani Tarazona por su valiosa colaboración en la parte experimental de esta investigación. Su disposición y compromiso fueron de gran ayuda en esta etapa del estudio.

Finalmente, extendemos nuestro reconocimiento a la Facultad y a todos los docentes que formaron parte de nuestra formación profesional. A través de sus enseñanzas y ejemplo, han contribuido significativamente a nuestro crecimiento académico y personal.

ÍNDICE

I. INTRODUCCIÓN 1

I.1. Planteamiento del problema 1

I.2. Objetivos 2

I.2.1. Objetivo general 2

I.2.2. Objetivos específicos 2

I.3. Importancia y alcance de la investigación 2

I.4. Limitaciones de la investigación 3

II. REVISIÓN DE LA LITERATURA 4

II.1. Marco teórico 4

II.2. Antecedentes del estudio 4

II.3. Bases teóricas 9

II.3.1 Oenocarpus bataua *9*

II.3.2 Caracterización botánica 10

II.3.3 Usos tradicionales 11

II.3.4 Aceite de “ungurahui” 11

II.3.5 Aceites vegetales: Propiedades fisicoquímicas relevantes 13

II.3.6 Actividad antioxidante de aceites fijos naturales 13

II.3.7 Aplicaciones cosméticas de los aceites naturales 14

II.3.8 Uso de animales en pruebas cosméticas: avances y compromisos éticos. 14

II.3.9 Evaluación de la seguridad en productos cosméticos 15

II.3.10 Marco regulatorio 16

II.3.11 El método HET-CAM: Fundamentos y aplicación 17
II.4. Glosario de términos 20
III. HIPÓTESIS Y VARIABLES 22
III.1. Hipótesis 22
III.2. Variables 22
III.2.1 Variable independiente (V.I.) 22
III.2.2 Variables dependientes (V.D.) 22
III.3. Operacionalización de variables 23
IV. MATERIALES Y MÉTODOS 24
IV.1. Área de estudio 24
IV.2. Diseño de investigación 24
IV.3. Población y muestra 24
IV.4. Procedimientos, técnicas e instrumentos de recolección de datos 25
IV.4.1 Materiales, equipos y reactivos 25
IV.4.2 Extracción del aceite de *Oenocarpus bataua* “ungurahui” 26
IV.4.3 Análisis fisicoquímico 28
IV.4.4 Análisis fitoquímico 28
IV.4.4.1 Prueba Molish. 29
IV.4.4.2 Prueba Antrona. 29
IV.4.4.3 Prueba Fehling. 29
IV.4.4.4 Prueba $FeCl_3$. 29
IV.4.4.5 Prueba Shinoda. 29
IV.4.4.6 Prueba de Rosenheim. 30
IV.4.4.7 Prueba de Bontrager. 30

IV.4.4.8 Prueba de Gelatina. 30
IV.4.4.9 Prueba de Lieberman-Burchard. 30
IV.4.4.10 Prueba de Ninhidrina. 30
IV.4.4.11 Prueba de Dragendorff. 31
IV.4.4.12 Prueba de Mayer. 31
IV.4.4.13 Prueba de Bertrand. 31
IV.4.4.14 Prueba de Sonnenschein. 31
IV.4.4.15 Prueba de Saponinas. 31
IV.4.4.16 Prueba de Vainillín-sulfúrico. 31
IV.4.5 Actividad antioxidante 32
IV.4.6 Evaluación de la irritabilidad ocular in vitro 33
IV.7. Análisis estadístico 35
V. RESULTADOS 36
V.1. Análisis fisicoquímicos 36
V.2 Análisis fitoquímicos 38
V.2.1 Prueba Molish. 39
V.2.2 Prueba Antrona. 40
V.2.3 Prueba Fehling. 40
V.2.4 Prueba $FeCl_3$. 41
V.2.5 Prueba Shinoda. 41
V.2.6 Prueba de Rosenheim. 42
V.2.7 Prueba de Bontrager. 42
V.2.8 Prueba de Gelatina. 43
V.2.9 Prueba de Lieberman-Burchard. 43

V.2.10 Prueba de Ninhidrina. 44
V.2.11 Prueba de Dragendorff. 44
V.2.12 Prueba de Mayer. 45
V.2.13 Prueba de Bertrand. 45
V.2.14 Prueba de Sonnenschein. 46
V.2.15 Prueba de Saponinas. 46
V.2.16 Prueba de Vainillín-sulfúrico. 47
V.3 Actividad antioxidante del aceite de "ungurahui" *Oenocarpus bataua*. ..47
V.3.1 Método DPPH. 47
V.3.2 Método ABTS. 52
V.3.3 Análisis estadísticos método DPPH 58
V.3.4 Análisis estadístico método ABTS 60
V.4 Análisis de irritabilidad 62
V.4.1 HET-CAM Cualitativo 63
V.4.2 HET-CAM Cuantitativos 64
VI. DISCUSIÓN 66
VII. CONCLUSIONES 71
VIII. RECOMENDACIONES 72
IX. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS 73
X. ANEXOS 80

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Clasificación taxonómica de *Oenocarpus bataua*. 10

Tabla 2. Regulación Internacional y Nacional de la seguridad de productos cosméticos. 17

Tabla 3. Clasificación del índice de irritabilidad mediante el método HET-CAM.....18

Tabla 4. Clasificación de la irritabilidad mediante el método CAM-TBS. 19

Tabla 5. Descripción de la operacionalización de las Variables. 23

Tabla 6. Clasificación del grado de irritación en la prueba HET-CAM. 34

Tabla 7. Clasificación del potencial irritante por el método CAM-TBS. 35

Tabla 8. Resultados de los análisis fisicoquímicos del aceite de “ungurahui”. 37

Tabla 9. Resultados del tamizaje fitoquímico del aceite de “ungurahui”. 38

Tabla 10. Resultados de Trolox DPPH de aceite de “ungurahui”. 48

Tabla 11. Resultados por el método DPPH del aceite de “ungurahui”. 50

Tabla 12. Resultados de Trolox ABTS de aceite de “ungurahui”. 53

Tabla 13. Resultados por el método ABTS de aceite de un “ungurahui”. 55

Tabla 14. Comparación de resultados por DPPH y ABTS de la especie *Oenocarpus bataua* “ungurahui”. 57

Tabla 15. Resultados del análisis estadístico por concentración (CRL) método DPPH. 58

Tabla 16. Homogeneidad de varianzas método DPPH**.** 59

Tabla 17. ANOVA método DPPH 59

Tabla 18. Resultados del Análisis Estadístico por Concentración (CRL) método ABTS. 60

Tabla 19. Homogeneidad de varianzas método ABTS. 60

Tabla 20. ANOVA método DPPH. 61

Tabla 21. Grupos formados para la determinación de irritabilidad.....62

Tabla 22. Resultados por el método HET-CAM Cualitativo del aceite de “ungurahui”. 63

Tabla 23. Resultados por el método HET-CAM Cuantitativo (CAM-TBS) del aceite de “ungurahui”.....64

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Fruto de *Oenocarpus bataua*. 11

Figura 2. Flujograma del proceso de extracción del aceite de “ungurahui”. 27

Figura 3. Extracción del aceite de “ungurahui” por la técnica de prensado. 28

Figura 4. Prueba de Molish. 39

Figura 5. Prueba de Antrona. 40

Figura 6. Prueba de Fehling. 40

Figura 7. Prueba $FeCl_3$. 41

Figura 8. Prueba Shinoda. 41

Figura 9. Prueba Rosenheim. 42

Figura 10. Prueba de Bontrager. 42

Figura 11. Prueba de Gelatina. 43

Figura 12. Prueba Lieberman-Burchard. 43

Figura 13. Prueba de Ninhidrina. 44

Figura 14. Prueba de Dragendorff. 44

Figura 15. Prueba de Mayer. 45

Figura 16. Prueba de Bertrand. 45

Figura 17. Prueba de Sonnenschein. 46

Figura 18. Prueba de Saponinas. 46

Figura 19. Prueba de Vainillín-sulfúrica. 47

Figura 20. Incubación de los huevos. 82

Figura 21. Aplicación de muestra en la CAM de cada huevo. 82

Figura 22. Evaluación del Grupo Nº1: Suero Fisiológico. 82

Figura 23. Evaluación del Grupo Nº2: Hidróxido de sodio.....83

Figura 24. Evaluación del Grupo Nº3: Lauril sulfato de sodio. 83

Figura 25. Evaluación del Grupo Nº4: DMSO (dimetilsulfóxido).....84

Figura 26. Evaluación del Grupo Nº5: Muestra al 1.5 %. 84

Figura 27. Evaluación del Grupo Nº6: Muestra al 3% 85

Figura 28. Evaluación del Grupo Nº7: Muestra al 5% 85

Figura 29. Evaluación del Grupo Nº8: Muestra pura. 86

Figura 30. Tinción de la Membrana corioalantoidea con Azul de tripán. 86

Figura 31. Extracción de la Membrana corioalantoidea. 87

Figura 32. Preparación de muestras para la metodología CAM-TBS. Tubos con la CAM teñida con azul de tripán en formamida. 87

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico 1. Curva Trolox DPPH (%CRL vs Concentración) de aceite de “ungurahui”. 49

Gráfico 2. Curva Trolox DPPH (Absorbancia vs Concentración) de aceite de “ungurahui”.....49

Gráfico 3. Curva DPPH (%CRL vs Concentración) de aceite de “ungurahui”. 51

Gráfico 4. Curva DPPH (Absorbancia vs Concentración) de aceite de “ungurahui”..51

Gráfico 5. Curva Trolox ABTS (%CRL vs Concentración) de aceite de un “ungurahui”. 54

Gráfico 6. Curva Trolox ABTS (Absorbancia vs Concentración) de aceite de un “ungurahui”.....54

Gráfico 7. Curva ABTS (%CRL vs Concentración) aceite de un “ungurahui”.....56

Gráfico 8. Curva ABTS (Absorbancia vs Concentración) de aceite de “ungurahui”. .56

Gráfico 9. Curva DPPH (Media de CRL vs Concentración). 59

Gráfico 10. Curva (Media de CRL vs Concentración). 61

Gráfico 11. Curva de calibración del colorante Azul de Tripán en formamida (Absorbancia vs Concentración del colorante Azul de Tripán).....65

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1. Certificado de clasificación taxonómica de la especie *Oenocarpus bataua* "ungurahui".....80

Anexo 2. Matriz de Consistencia.....81

Anexo 3. Registro fotográfico del método HET-CAM y HET-CAM TBS. 82

Resumen

El presente estudio aborda la caracterización fisicoquímica, tamizaje fitoquímico, la evaluación de la actividad antioxidante y la determinación de la irritabilidad ocular *in vitro* del aceite de *Oenocarpus bataua*, conocido como "ungurahui" proveniente de la zona de Iquitos. Esta investigación es relevante para potenciar el uso de este aceite en la industria cosmética y farmacéutica, promoviendo el aprovechamiento sostenible de recursos naturales amazónicos. La extracción del aceite se realizó mediante prensado mecánico. La caracterización fisicoquímica se realizó siguiendo los lineamientos de la AOAC, obteniendo: densidad 0.8434 ± 0.002451 g/mL, pH 4.5, índice de acidez 14.74055 ± 0.083211 mg NaOH/g, índice de saponificación 192.50316 ± 4.203497 mg KOH/g, índice de yodo 8.04749 ± 0.011488 cg I2/g, índice de peróxido 18.85117 ± 0.307052 meq O2/kg, índice de refracción 1.4635. El tamizaje fitoquímico evidenció la predominancia de compuestos esteroidales, así como de triterpenoides y esteroles. La capacidad antioxidante se realizó mediante los métodos DPPH y ABTS, determinando que este aceite sí cuenta con actividad antioxidante. La irritabilidad ocular *in vitro* se evaluó mediante el método HET-CAM y HET-CAM TBS, análisis cualitativo y cuantitativo respectivamente, los resultados no evidenciaron daños en la CAM del huevo obteniéndose un índice de irritación igual a 0, lo cual clasifica al aceite de “ungurahui” de Iquitos como no irritante. Por lo tanto, se concluye que el aceite de *Oenocarpus bataua* “ungurahui” obtenido de frutos provenientes de Iquitos, puede ser incorporado como ingrediente en productos cosméticos.

Palabras clave: *Oenocarpus bataua*, ungurahui, caracterización fisicoquímica, antioxidante, tamizaje fitoquímico, irritabilidad ocular.

Abstract

This study addresses the physicochemical characterization, phytochemical screening, antioxidant activity evaluation, and *in vitro* determination of ocular irritancy of *Oenocarpus bataua* oil, known as "ungurahui," from the Iquitos region. This research is relevant for promoting the use of this oil in the cosmetic and pharmaceutical industries, fostering the sustainable use of Amazonian natural resources. The oil was extracted by mechanical pressing. The physicochemical characterization was performed following AOAC guidelines, obtaining: density 0.8434 ± 0.002451 g/mL, pH 4.5, acid value 14.74055 ± 0.083211 mg NaOH/g, saponification value 192.50316 ± 4.203497 mg KOH/g, iodine value 8.04749 ± 0.011488 cg I2/g, peroxide value 18.85117 ± 0.307052 meq O2/kg, refractive index 1.4635. The phytochemical screening showed a predominance of steroidal compounds, as well as triterpenoids and sterols. The antioxidant capacity was assessed using the DPPH and ABTS methods, confirming that this oil possesses antioxidant activity. In vitro ocular irritation was evaluated using the HET-CAM and HET-CAM TBS methods, qualitative and quantitative analyses respectively. The results showed no damage to the egg's CAM, yielding an irritation index of 0, which classifies the "ungurahui" oil from Iquitos as non-irritating. Therefore, it is concluded that the *Oenocarpus bataua* "ungurahui" oil obtained from fruits originating in Iquitos can be incorporated as an ingredient in cosmetic products.

Keywords: *Oenocarpus bataua*, ungurahui, physicochemical characterization, antioxidant, phytochemical screening, eye irritation.

I. INTRODUCCIÓN

I.1. Planteamiento del problema

La Amazonía peruana alberga una enorme diversidad de especies vegetales más que cualquier otro bosque tropical del planeta, y en los últimos años ha aumentado la incorporación de estas especies vegetales en la industria alimentaria, cosmética y textil. Sin embargo, aún hay escasa información en algunas especies que nos permita incluirlas por completo en los productos industriales, por lo que es necesario evaluar la composición y calidad de ellas (1).

Una de estas especies es *Oenocarpus bataua* "ungurahui" que, por su alto contenido en ácido oleico, el aceite tiene propiedades hidratantes y se utiliza para el cuidado de la piel y el cabello, en forma de jabones y cremas hidratantes. Se utiliza para formular productos anticaspa y revitalizantes para el cuidado del cabello. Tradicionalmente, las comunidades amazónicas lo utilizan como tónico y para tratar la caída del cabello (1).

Se ha revisado que el aceite de "ungurahui" es rico en aceites insaturados, por ello se tiene un alto potencial para la industria cosmética por lo que es necesario realizar estudios que comprueben la composición química y la actividad antioxidante. Por este potencial cosmético y el uso que hacen los pobladores de la zona donde crece esta palmera, es necesario también realizar un estudio de toxicidad a través del método HET-CAM (*hen's egg test on chorioallantonic membrane*), el cual es un método aprobado dentro de los estándares internacionales como estudio de toxicidad alternativo, es decir, sin el uso de animales, de esta manera se podrá determinar si causa daños o no a las personas que lo utilizan (2).

Para atender a estas premisas planteadas, se formula la siguiente interrogante: ¿Cuáles son las características fisicoquímicas, la actividad antioxidante del aceite de *Oenocarpus bataua* "ungurahui" de Iquitos y cuál es el grado de irritabilidad ocular *in vitro* utilizando el método HET-CAM?.

I.2. Objetivos

I.2.1. Objetivo general

Analizar las características fisicoquímicas, actividad antioxidante y la irritabilidad ocular *in vitro* del aceite de *Oenocarpus bataua* “ungurahui” de Iquitos mediante el método HET-CAM.

I.2.2. Objetivos específicos

1. Realizar la caracterización fisicoquímica del aceite de *Oenocarpus bataua* “ungurahui” de Iquitos.
2. Evaluar la actividad antioxidante del aceite de *Oenocarpus bataua* “ungurahui” de Iquitos.
3. Evaluar el efecto irritante del aceite de *Oenocarpus bataua* “ungurahui” de Iquitos utilizando el método HET-CAM.

I.3. Importancia y alcance de la investigación

En este contexto, las palmas son uno de los grupos de plantas económicamente más importantes en el mundo y la zona de Iquitos en el Perú es una de las más ricas en palmas de la Amazonía el género *Oenocarpus*, y la especie *Oenocarpus bataua* “ungurahui”, se ha descrito como una palma prometedora para la región amazónica debido al contenido de aceite de sus frutos. Es muy útil para las comunidades indígenas en la Amazonía ya que es usado con fines medicinales, cosméticos y culinarios (1,3).

Es por ello que en esta investigación se extrajo aceite de “ungurahui” de manera amigable con el medio ambiente por el método de prensado mecánico, así mismo se evaluó la calidad, analizando las características fisicoquímicas, fitoquímicas, actividad antioxidante y evaluando su toxicidad mediante un análisis de irritabilidad ocular *in vitro* utilizando la metodología HET-CAM, este método es muy utilizado por la industria cosmética ya que en la actualidad, y principalmente en Europa, se viene prohibiendo el uso de animales en los ensayos de seguridad de productos cosméticos, y según normatividad mundial se exige que cualquier sustancia que fuese utilizada como ingrediente o producto cosmético, sea evaluado toxicológicamente (4). Para el 2018 el

pleno del Parlamento Europeo adoptó una resolución en la que se pide una supresión a escala mundial de los ensayos con animales en la industria cosmética. También establece que se impida la venta de cosméticos que hayan sido objeto de dicha experimentación antes de 2023 (4).

Por ello, se buscaron ensayos toxicológicos alternativos basados en análisis *in vitro*, con el fin de desarrollar métodos que contribuyan a disminuir la utilización de animales en las pruebas y control de sustancias. Uno de estos ensayos es el método HET-CAM, este estudio aportará información sobre la irritabilidad del aceite de "ungurahui" proveniente de Iquitos, y contribuirá a la incorporación de esta a los productos alimenticios y cosméticos que se puedan generar en las industrias nacionales e internacionales.

I.4. Limitaciones de la investigación

Entre las principales limitaciones de la presente investigación se expone la variabilidad natural de la materia prima, ya que los frutos de *Oenocarpus bataua* aunque provienen todos de la zona de Iquitos, pueden presentar diferencias en la composición del aceite debido a factores ambientales y estacionales; el método de extracción mediante prensado mecánico es otra limitación, aun cuando este es ecológico y libre de solventes, puede presentar un rendimiento limitado y afectar la concentración de algunos compuestos bioactivos sensibles a la temperatura; a nivel fisicoquímico se restringe a parámetros básicos establecidos por la AOAC (Asociación de Químicos Analíticos Oficiales), sin incluir técnicas instrumentales avanzadas que permitan identificar y cuantificar compuestos secundarios de interés cosmético como escualeno, esteroles o carotenoides.

II. REVISIÓN DE LA LITERATURA

II.1. Marco teórico

En el presente estudio, se propone caracterizar las propiedades fisicoquímicas, tamizaje fitoquímico, la actividad antioxidante y la posible irritabilidad ocular del aceite de *Oenocarpus bataua* “ungurahui” proveniente de la zona de Iquitos a través de métodos de análisis químicos y pruebas de toxicidad *in vitro*, lo que supone a la investigación sobre la línea de aprovechamiento de recursos naturales amazónicos con potencial cosmético y farmacéutico, respondiendo a la necesidad global de desarrollar productos seguros, eficaces y ambientalmente sostenibles.

II.2. Antecedentes del estudio

Rendón W. et al. Presentan en su investigación “Evaluación química del aceite de *Oenocarpus bataua* (aceite de majo)” una descripción de algunos aspectos sobre el origen, uso y aplicaciones, así como la composición química de lípidos en el “aceite de majo". Todo de acuerdo con el análisis por cromatografía de gases, y en comparación con el aceite de oliva. Se encontró similitud en el porcentaje de los lípidos más abundantes (esteárico, palmítico y oleico) y un mayor porcentaje entre los lípidos conocidos como omega 3, 6 y 7, en el aceite de majo con respecto al aceite de oliva (5).

Montúfar R., et al. Analizaron en su artículo “*Oenocarpus bataua* Mart. (*Arecaceae*): *Rediscovering a Source of High Oleic Vegetable Oil from Amazonia*” la composición de ácidos grasos (FA) del aceite de *Oenocarpus bataua* de 38 muestras recolectadas en un amplio rango geográfico (la Guayana Francesa y Perú). Se obtuvo quince ácidos grasos del mesocarpio de esta especie de palma. Los ácidos oleicos (72,7%) y palmítico (18,1%) fueron los FA predominantes. Los FA menores fueron ácido cis-vaccénico (2.3%), ácido linoleico (1.9%), ácido esteárico (1.7%), palmitoleico (0.9%) y ácido alfa-linolénico (0.8%). El contenido medio de lípidos del mesocarpio seco fue del 51,6%. Las muestras de aceite de *Oenocarpus bataua* analizadas fueron notablemente ricas en α-tocoferol. El porcentaje particularmente alto en delta 5-avenasterol de aceite de *Oenocarpus bataua* podría servir como marcador para su

autenticación. Los resultados se discuten en términos del valor nutricional potencial del aceite de *Oenocarpus bataua (6)*.

En cuanto a la optimización del proceso de extracción de aceites, la investigación realizada por Pilco G. “Optimización del proceso de extracción de aceite de “ungurahui” (*Oenocarpus bataua*) en función del rendimiento” tuvo como objetivo optimizar el proceso de extracción de *Oenocarpus bataua* “ungurahui” utilizando hexano como principal solvente, teniendo un rendimiento de aceite extraído de 90.54% usándose para el mejor tratamiento un fruto entero a 50°C con una relación solvente:“ungurahui” de 8:1, en comparación con un rendimiento de 82.45% en un fruto entero a 25°C, relación solvente:”ungurahui” de 8:1; en promedio utilizando el fruto entero se obtuvo mayor extracción que utilizando únicamente la pulpa sola; en cuanto a la relación temperatura-solvente, mientras mayores sean estos mejor será la extracción. En la determinación de ácidos grasos se obtuvo 79,03% de ácido oleico y 11,74% de ácido palmítico, 2,04% de ácido linoleico y 1,62% de linolénico y los ácidos graso-saturados e insaturados 0,18%. Por lo tanto, el aceite de “ungurahui” al igual que el aceite de oliva, alto en ácidos grasos monoinsaturados, puede ser comercializado a nivel industrial ya que se encuentra en estado silvestre en la Amazonía Ecuatoriana (7).

Darnet S. et al. En su artículo titulado “*Composição centesimal, en ácidos grasos e tocoferóis das polpas amazônicas de “buriti”* (M*auritia flexuosa)* e de “patauá” (*Oenocarpus bataua*)” estudian los frutos de “buriti” y “patawa”, dos palmeras endémicas de la región amazónica. Sus pulpas son tradicionalmente consumidas por la población local, pero están infrautilizadas y son menos conocidas en todo el mundo. La composición nutricional, los contenidos de ácido graso y tocoferol de las dos pulpas de palma se determinaron mediante métodos analíticos modernos: cromatografía de gases (CG) y cromatografía líquida de alto rendimiento (HPLC), según los estándares de AOCS (2002) y AOAC (1997), respectivamente. Las pulpas de fruta de “buriti” y “patawa” son altamente nutritivas, con un alto contenido de grasa (38.4% y 29.1%) respectivamente, contenido de proteínas (7.6% y 7.4%) y fibras dietéticas (46% y 44.7%). La pulpa de “buriti” puede considerarse alimento saludable debido a su alto

contenido de vitamina E (1169 $\mu g.g^{-1}$ DM) y 72 $\mu g.g^{-1}$ DM para la pulpa de “patawa”, además esta última es altamente oleaginosa y su composición de ácidos grasos es muy similar a la de los aceites saludables, como el aceite de oliva (8).

González Y. et al. En su artículo titulado “Evaluación de la irritabilidad oftálmica de cremas cosméticas mediante un método *in vitro* en sustitución de la prueba en conejos”, evaluó la irritabilidad oftálmica de tres cremas cosméticas desarrolladas en el Laboratorio Provincial de Cosméticos de Villa Clara (Cuba). El ensayo se realizó mediante la técnica alternativa *in vitro* en membrana corioalantoidea de embriones de pollo (HET-CAM, hen´s egg test chorioallantoic membrane) en sustitución de la técnica habitual de irritabilidad oftálmica en conejos (Draize) y en correspondencia con el Protocolo 47 de INVITOX (*in vitro* Toxicology). En las condiciones del ensayo los cosméticos evaluados se clasificaron como no irritantes (9).

Del Castillo S. y Pinedo V. Presentaron la tesis titulada “Bromatología de las pulpas integrales de *Oenocarpus bataua* “ungurahui” y *Oenocarpus mapora* “cinamillo”: Caracterización, compuestos fenólicos, capacidad antioxidante y minerales”. Se realizó el estudio bromatológico de las pulpas de estos frutos, mediante un análisis centesimal determinando humedad, ceniza, proteína, lípidos, carbohidratos y energía; un análisis fisicoquímico (pH y acidez); determinación de compuestos fenólicos (flavonoides y antocianinas); capacidad antioxidante (ABTS y DPPH) y contenido de minerales (Calcio, potasio, manganeso y zinc). Del estudio se observó que la pulpa integral de *Oenocarpus mapora* “cinamillo” destaca en proteína y carbohidratos por otra parte la pulpa integral de *Oenocarpus bataua* “ungurahui” muestra alto contenido de lípidos. En cuanto a los compuestos fenólicos ambos frutos contienen cantidades elevadas que superan los valores de ingesta recomendados de 1g/día y, por ende, poseen capacidad antioxidante, teniendo el “ungurahui” valores de ABTS 4106.57 (µmol TE/100g MS) y en DPPH 210.57 (µmol TE/100 g MS) (10).

Capillo N, Navarro K. estudiaron el “Efecto de la adición del extracto hidroetanólico de semilla de “ungurahui” *Oenocarpus bataua* Mart. en forma libre y microencapsulado sobre la calidad de la galleta”. El fruto fue adquirido en la ciudad de Pucallpa. Se realizaron pruebas de pH, marcha fitoquímica y solubilidad al extracto; la

extracción fue optimizada por medio de la Metodología de Superficie de Respuesta (MSR) usando el Diseño Central Compuesto Ortogonal (DCCO). Las condiciones óptimas de la extracción se dieron a 48,44% de etanol y 13.83 minutos; se obtuvo un pH casi neutro y dentro de los compuestos fenólicos presentó mayor cantidad de flavonoides y taninos, responsables de la capacidad antioxidante (11).

La actividad antioxidante de los aceites vegetales es muy estudiada ya que resulta cada vez más importante la incorporación de estos en la industria cosmética. Según Camacho S. en su estudio "Evaluación de la actividad antioxidante e irritabilidad dérmica del aceite de "ungurahui" O*enocarpus bataua* para uso cosmético" realizó la evaluación de la actividad antioxidante al aceite de *Oenocarpus bataua* "ungurahui" empleando el método del radical estable 2,2-difenil-1-picril hidrazilo (DPPH), el cual fue comparado con un patrón de referencia como la vitamina E, ante el estudio el aceite de "ungurahui" tuvo una actividad antioxidante de 68,42%; 91,38%; 87,88% y 85,12% a concentraciones de 6, 8, 10 y 12%, respectivamente y la vitamina E presentó 77,51%; 93,42% y 92,73% a concentraciones de 6,8 y 10%; demostrándose que el aceite de "ungurahui" presenta actividad antioxidante en el modelo utilizado (DPPH) esto debido a los compuestos que posee, especialmente los polifenoles. Este estudio también evaluó la irritación dérmica de este aceite utilizando la prueba de toxicidad dérmica N°404 de la Organización para la Cooperación Económica y Desarrollo (OECD). Esta técnica implica la utilización de animales de ensayo, conejos, a los cuales se les depiló una región de la columna, se le aplicó el aceite en la piel y se le cubrió con una gasa estéril por 4 horas; para el registro de las reacciones dérmicas se utilizó la tabla descrita en la guía de la OECD 404, obteniéndose como resultado un aceite no irritante, de acuerdo a este modelo de estudio se puede sugerir el uso del aceite de *Oenocarpus bataua* "ungurahui" en la industria cosmética (12).

La utilización de técnicas alternativas para determinar actividades terapéuticas cada día va tomando más interés por la comunidad científica, por lo tanto, demostrar la efectividad de estos métodos abre una ventana a nuevas investigaciones. Rivera M. en su tesis titulada "Actividad irritante ocular *in vitro* por el método del HET-CAM del extracto etanólico de la raíz, tallo y hojas de *Rumex crispus* L. (cuturrumas)" tuvo como

objetivo determinar la actividad irritante, el extracto etanólico de raíz, tallo y hojas de *Rumex crispus* L. “cuturrumasa” mediante el método de HET CAM. Se identificó los metabolitos presentes en el extracto etanólico, obteniendose: carbohidratos, compuestos fenólicos, taninos, flavonoides, aminoácidos y quinonas. Se prepararon 4 diluciones al 5%, 2%, 1% y 0.5% para las muestras de raíz, tallo y hojas, se trabajó con grupos control de hidróxido de sodio al 0.1N, lauril sulfato de sodio al 1% y suero fisiológico. Se evaluó la actividad del solvente en las membranas corioalantoidea de huevos fértiles de gallina (*Gallus gallus domesticus*), con 9 días de incubación artificial. Se comprobó que la dilución al 0.5% del extracto etanólico de hojas, no produce rompimiento de la membrana corioalantoidea, demostrado por la determinación del índice de irritabilidad (I.I.) menor a 0.9. La raíz y el tallo si producen I.I. mayor a 1.0 en todas sus concentraciones. Se concluyó, que los índices de irritación obtenidos al 0.5% del extracto etanólico de hojas, de *Rumex crispus* L. “cuturrumasa”, es clasificada como no irritante y constituye un soporte de seguridad para continuar con pruebas de eficacia clínica (2).

Taype E. en su estudio “Estandarización y validación del método HET-CAM para medir la irritabilidad ocular *in vitro* de los extractos de cinco frutos nativos del Perú utilizados en la industria cosmética” provee datos científicos sobre los métodos HETCAM cualitativo y HET-CAM cuantitativo (CAM-TBS), evaluado en frutos nativos, lo cual puede ser desarrollado profundamente como un método alternativo a la prueba de Draize. El objetivo es estandarizar y validar el método HET-CAM cuantitativo (CAM-TBS) en cinco extractos de frutos nativos del Perú. Los frutos evaluados fueron *Physalis peruviana* L. “aguaymanto”, *Myrciaria dubia* L. “camu camu”, *Mauritia flexuosa* L. “aguaje”, *Solanum sessiliflorum* D. “cocona” y *Passiflora mollisima* HBK “tumbo serrano”. Estas frutas son comúnmente utilizadas en formulaciones cosméticas. Se prepararon extractos acuosos, hidroalcohólicos y glicólicos. La implementación de la técnica, estandarización y validación se realizó en el laboratorio de Centro de Investigación de Bioquímica y Nutrición de la Facultad de Medicina Humana de la Universidad de San Martín de Porres (USMP) y en las instalaciones de la empresa privada Ingenioidea SAC, ambas instituciones están localizadas en Lima, Perú. Para

la validación del método HET-CAM cuantitativo (CAM-TBS) se evaluaron los parámetros: linealidad, precisión, exactitud y robustez. Los resultados de estos parámetros se sometieron a pruebas estadísticas demostrando que el método HET-CAM cuantitativo (CAM-TBS) propuesto para la medición de la irritabilidad ocular *in vitro* es lineal, exacto y preciso, pero no robusto (13).

Inocente M. et al. en su artículo "Efecto irritante *in vitro* de formulaciones cosméticas con extracto de camu camu, mediante el método HET CAM" tuvo por objetivo evaluar el efecto irritante de formulaciones cosméticas con extractos de camu camu. El estudio se realizó con formulaciones cosméticas de extractos de "camu camu", proporcionadas por el Laboratorio de AYRU COSMETIC; se utilizó la técnica alternativa *in vitro*, en membrana corioalantoidea en huevos fértiles de gallina *(HET CAM, hen´s egg test chorioallantonic membrane).* Ninguno de los cosméticos con extracto de "camu camu", produjo ruptura de la membrana corioalantoidea, evidenciado por ausencia del colorante absorbido, azul de tripán, detectable a 595 nm. Concluyeron que los índices de irritación obtenidos en todas las formulaciones cosméticas permiten clasificarlas como NO IRRITANTES (14).

II.3. Bases teóricas

II.3.1 *Oenocarpus bataua*

El *Oenocarpus bataua*, es comúnmente conocido como "ungurahui" en Perú, "patauá" en Brasil y "milpeso" en Colombia (16), es una palma que pertenece a la familia *Arecaceae* (ver anexo 1); su hábitat se extiende por las selvas tropicales de América del Sur, siendo nativa de regiones de Perú, Ecuador, Colombia, Bolivia, Venezuela, Brasil y Guayana Francesa. En Perú se encuentra en los departamentos de Ucayali, Loreto, San Martín y Madre de Dios; esta especie prospera en zonas húmedas, con suelos ricos y bien drenados, y es considerada una de las palmas más importantes de la Amazonía por su valor ecológico y económico (15). En la tabla 1 se muestra la clasificación taxonómica del fruto.

Tabla 1. Clasificación taxonómica de *Oenocarpus bataua.*

Orden	Familia	Género y especie	Nombre vernacular
Arecales	**Arecaceae**	***Oenocarpus bataua***	**“ungurahui”**

II.3.2 Caracterización botánica

En muchas partes de América del Sur y Central, la biología tradicional considera a *Oenocarpus bataua* como importante, la palma alcanza alturas de 14-18 metros, las hojas son palmeadas y de hasta 4 metros de largo; se desarrollan en un clima tropical húmedo con menos de 952 metros de altitud, durante la temporada de fructificación, los agentes polinizadores gregarios, como los escarabajos, se sienten atraídos por las flores de *Oenocarpus bataua*, que, junto con un parasitoide en las flores femeninas y masculinas, se informa que son endémicas de *Oenocarpus bataua* (16,17).

El fruto de *Oenocarpus bataua* es una drupa de 2 a 4 cm de largo y 1 a 3 cm de diámetro, ovoide y de color violeta oscuro, generalmente agrupados en racimos, presenta una pulpa fina y contiene una única semilla dura y cubierta de fibras. La siembra se puede dar de enero a diciembre, siendo de preferencia en épocas de lluvia. La primera fructificación se da entre 5 a 6 años después de la siembra y la cosecha de frutos se puede realizar a lo largo de todo año, siendo mayor en los meses de junio a noviembre (12).

Además, la palma aceitera y la palma del corazón se aplican como aceites oleoquímicos, cosméticos, aceite para ensaladas, margarina, mantequilla y aceites en aerosol industriales.



Figura 1. Fruto de *Oenocarpus bataua*.

II.3.3 Usos tradicionales

Entre sus usos, los frutos de *Oenocarpus bataua* han sido aprovechados desde tiempos ancestrales por comunidades amazónicas para diversos fines; en el ámbito alimentario, su pulpa se consume fresca o fermentada en bebidas; en la medicina tradicional se le atribuyen propiedades revitalizantes, antianémicas y fortalecedoras del cabello, Mientras que en la cosmética tradicional, el aceite extraído se utiliza como hidratante natural para piel y cuero cabelludo, así como para el tratamiento de la caspa y la caída del cabello (17,18).

II.3.4 Aceite de *"ungurahui"*

El aceite se caracteriza por ser de color naranja amarillento o amarillento en formas semisólidas con un sabor y aroma suaves característicos del aceite de palma que desaparece cuando se calienta y no crea ningún regusto (10); está compuesto por lípidos (97,73%), proteínas (0,91%), cenizas (0,53%), humedad (0,02%) y carbohidratos (0,81%).

El aceite posee excelentes propiedades antioxidantes, que se pone de manifiesto a través de los efectos protectores del ácido linoleico en la peroxidación lipídica, así como mediante la capacidad del ácido linoleico para desactivar varios

radicales libres, en particular el radical DPPH, el radical anión superóxido, el radical hidroxilo, el peroxinitrito y el óxido nítrico;

El aceite está compuesto por altos niveles de ácidos grasos esenciales y nutricionales, considerando que un alto consumo de estos, puede reducir el colesterol y la incidencia de enfermedades coronarias, así como la hipertensión (17,18).

Numerosos estudios han identificado que este aceite contiene una alta concentración de ácidos grasos insaturados, particularmente ácido oleico (omega-9), el cual representa más del 70% de su composición, también contiene ácido palmítico, linoleico, esteárico, así como compuestos antioxidantes como α-tocoferol (vitamina E), flavonoides, y esteroles vegetales (principalmente avenasterol); esta composición le confiere un perfil lipídico comparable con el aceite de oliva, con beneficios potenciales para la salud y la cosmética y expresada en porcentaje (% v/v), permite observar cómo varían los indicadores de calidad (fisicoquímica), funcionalidad (antioxidante) y seguridad (irritabilidad ocular) en función de la dosis aplicada (8).

En cuanto a la extracción de los aceites, el prensado mecánico es un método físico que permite obtener aceite de frutos oleaginosos sin la utilización de disolventes orgánicos, su principio se basa en la aplicación de presión a través de prensas hidráulicas o de tornillo lo que permite la liberación del aceite contenido en las células del mesocarpio del fruto, este método se considera ambientalmente amigable ya que no emplea solventes tóxicos, conserva la integridad de los compuestos bioactivos (como tocoferoles y ácidos grasos esenciales) y es apto para aplicaciones en alimentos, cosméticos y productos terapéuticos (7).

Cuando se realiza extracción por prensado se deben tener en cuenta factores como el tamaño de partícula, el contenido de humedad, la temperatura y la fuerza aplicada influyen directamente en el rendimiento del aceite, en el caso del “ungurahui”, esta técnica permite mantener una mayor cantidad de compuestos fenólicos, responsables de la actividad antioxidante siendo esto clave en la investigación por su proyección cosmética y terapéutica (7,11).

II.3.5 Aceites vegetales: Propiedades fisicoquímicas relevantes

Los aceites vegetales se consideran mezclas complejas de triglicéridos formados por ácidos grasos saturados e insaturados; sus propiedades fisicoquímicas determinan su estabilidad, funcionalidad y aplicabilidad en distintas industrias, para fines cosméticos, es crucial evaluar su acidez, estabilidad a la oxidación, capacidad de saponificación y grado de insaturación (19, 20). Entre las propiedades fisicoquímicas de los aceites vegetales se mencionan las siguientes:

- **Índice de acidez (IA):** Representa la cantidad de ácidos grasos libres presentes, por lo que un valor elevado puede indicar rancidez o degradación del aceite (mg KOH/g).
- **Índice de yodo (IY):** Mide el grado de insaturación; cuanto mayor sea el valor, mayor es la susceptibilidad del aceite a la oxidación (g I2/100 g).
- **Índice de peróxido (IP):** Determina el nivel de oxidación primaria, cuando se presentan valores altos se asocian con inestabilidad oxidativa (meq O2/kg).
- **Índice de saponificación (IS):** Este refleja la masa molar promedio de los ácidos grasos es útil para predecir el comportamiento del aceite en la fabricación de jabones (mg KOH/g).
- **Densidad y pH:** Elementos importantes para estandarizar formulaciones cosméticas.
- **Índice de refracción:** Está relacionado con la pureza del aceite y su grado de insaturación.

II.3.6 Actividad antioxidante de aceites fijos naturales

Los antioxidantes previenen o ralentizan la oxidación de moléculas en el organismo, proceso relacionado con el envejecimiento cutáneo, enfermedades degenerativas y daño celular, en la industria cosmética, los antioxidantes naturales se utilizan para proteger la piel frente al estrés oxidativo inducido por radiación ultravioleta, contaminación y radicales libres. Estudios han evidenciado que el aceite de *Oenocarpus bataua* posee una notable capacidad antioxidante atribuida a su

contenido de compuestos fenólicos, flavonoides, vitamina E (α-tocoferol) y carotenoides, estos compuestos neutralizan radicales libres, previenen la oxidación lipídica y contribuyen a la conservación de productos cosméticos (19,20).

Para evaluar la actividad oxidante de los aceites naturales se emplean métodos que permiten expresar los resultados en equivalentes de ácido ascórbico (AAE) o Trolox, dependiendo del patrón de referencia utilizado, entre ellos:

- **DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazilo):** Con este método se evalúa la capacidad de los antioxidantes para donar un electrón al radical libre DPPH, lo cual reduce su absorbancia a 517 nm.
- **ABTS (ácido 2,2′-azino-bis(3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico):** Este es un método complementario al DPPH, más sensible a antioxidantes hidrosolubles y liposolubles, y se mide la decoloración del radical ABTS en presencia del antioxidante.

II.3.7 Aplicaciones cosméticas de los aceites naturales

Los lípidos equilibrados pueden definirse como mezclas inmiscibles de una fase polar y otra no polar, formando tres fases de desequilibrio cuando se dispersan (nanoemulsión, microemulsión y gel laminar) y, en consecuencia, pueden tener aplicaciones cosméticas, especialmente en productos de cremas para la piel (19,20). El ingrediente principal de estas formulaciones es el plomo activo, en el aceite de *Oenocarpus bataua* se encuentran diferentes compuestos con acción bioactiva, como carotenoides, tocoferoles, escualeno, esteroles y ácidos grasos. Como resultado, el aceite de *Oenocarpus bataua* presenta interesantes perspectivas biotecnológicas, bioproductos de interés para la industria cosmética, farmacéutica y nutracéutica, entre otras, sin embargo, tanto las propiedades fisicoquímicas como las biológicas del aceite de *Oenocarpus bataua* pueden cambiar después de un proceso industrial.

II.3.8 Uso de animales en pruebas cosméticas: avances y compromisos éticos.

La prohibición de la experimentación con animales en productos cosméticos ha sido uno de los avances más significativos en bioética regulatoria, a partir del 2013, la

Unión Europea prohibió completamente las pruebas en animales para productos cosméticos terminados, ingredientes y la venta de productos testados en animales (4,21).

En el caso del Perú, si bien no existe aún una prohibición legal integral sobre el testeo cosmético en animales, el país cuenta con la Ley de Protección y Bienestar Animal y con iniciativas legislativas recientes orientadas a restringir estas prácticas. Asimismo, se observa un creciente impulso institucional y técnico hacia la adopción de métodos alternativos validados, en línea con las tendencias regulatorias internacionales (22).

II.3.9 Evaluación de la seguridad en productos cosméticos

En la última década las regulaciones internacionales han prohibido o restringido el uso de animales en ensayos de seguridad para productos cosméticos, en este contexto la Unión Europea ha liderado esta iniciativa con la adopción del Reglamento CE Nº 1223/2009, que prohíbe la comercialización de cosméticos probados en animales lo que ha impulsado el desarrollo de métodos alternativos, éticos y reproducibles de evaluación toxicológica (21). La evaluación de la irritación ocular y dérmica es una etapa clave en la evaluación de la seguridad de ingredientes cosméticos, los métodos *in vitro* proporcionan información valiosa sobre la biocompatibilidad de una sustancia sin recurrir al sacrificio animal.

Los productos cosméticos deben ser seguros para los consumidores cuando se aplican de acuerdo con las condiciones de uso previstas, los fabricantes e importadores son responsables de garantizar la seguridad de sus productos antes de su comercialización, sin embargo, el marco regulatorio existente para los cosméticos en los Estados Unidos es fundamentalmente defectuoso, las directrices federales exigen un producto seguro, pero que no puede estar respaldado por ningún medio significativo de cumplimiento. Por lo tanto, se debe reformar la regulación de la industria cosmética para garantizar que no haya ningún producto en el mercado que no haya sido sometido a pruebas de seguridad adecuadas.

Para abordar esta preocupación la FDA (*Food and Drug Administration*) debe adoptar la recientemente propuesta Ley de Mejora de la Seguridad Cosmética (CSEA, por sus siglas en inglés), que se basa en una legislación exitosa similar aprobada para alimentos y medicamentos. Con ese fin, la CSEA enmendaría la FDCA (*Federal Food, Drug, and Cosmetic* Act) para que se requiera que los cosméticos sean seguros para la salud humana bajo la FDCA antes de ser comercializados, y proporcionaría la autoridad de la FSRA para establecer requisitos de etiquetado y pruebas de seguridad y para hacer cumplir estos requisitos, incluidos los retiros de productos cosméticos peligrosos. Este esquema regulatorio más completo sería una reforma muy necesaria de la industria del maquillaje y garantizaría que ningún producto cosmético comercializado suponga ningún daño (23).

II.3.10 Marco regulatorio

La fabricación, comercialización y evaluación de la seguridad de productos cosméticos están reguladas por un marco normativo que busca proteger la salud del consumidor, garantizar la calidad del producto y fomentar prácticas éticas y sostenibles. Estas normativas establecen requisitos obligatorios en cuanto a composición, etiquetado, eficacia, estabilidad, seguridad toxicológica y métodos de evaluación. A nivel internacional, algunas de las principales regulaciones son:

Tabla 2. Regulación Internacional y Nacional de la seguridad de productos cosméticos.

NORMATIVA	DESCRIPCIÓN
Reglamento (CE) N.º 1223/2009 del Parlamento Europeo y del Consejo sobre productos cosméticos.	Esta norma rige en toda la Unión Europea (UE) y es una de las más estrictas del mundo, exige pruebas rigurosas de seguridad, la prohibición de sustancias peligrosas, y un enfoque ético hacia la evaluación toxicológica (21).
Food and Drug Administration (FDA) – Estados Unidos.	Aunque no aprueba cosméticos antes de su comercialización, exige que los productos no sean adulterados ni mal etiquetados. La FDA también recomienda el uso de métodos alternativos a la experimentación animal (23).
CAN – Decisión 833.	Establece disposiciones técnicas para el registro y control, elaboración y vigilancia de cosméticos (24)
MERCOSUR - Resolución GMC N.º 18/2023. Reglamento Técnico MERCOSUR sobre clasificación de productos de higiene personal, cosméticos y perfume	Establece criterios armonizados para la clasificación sanitaria de los productos de higiene personal, cosméticos y perfumes en los Estados Parte, definiendo categorías según su nivel de riesgo y los requisitos regulatorios aplicables. (43).

II.3.11 El método HET-CAM: Fundamentos y aplicación

II.3.11.1 Método de la membrana corioalantoidea en huevos de gallina (HET-CAM).

El ensayo HET-CAM *(Hen's Egg Test - Chorioallantoic Membrane)* es un método cualitativo que consiste en aplicar la sustancia de ensayo sobre la membrana corioalantoidea de un embrión de gallina incubado alrededor de 9-10 días, esta membrana es altamente vascularizada y reacciona de forma similar a la conjuntiva

humana frente a sustancias que sean irritantes (25,26). El procedimiento a seguir de acuerdo con el protocolo INVITTOX Nº47 indica que luego de aplicar la muestra sobre la CAM (Membrana corioalantoidea) y tras una espera de 5 minutos se deben observar las siguientes reacciones de hemorragia, lisis de vasos y coagulación, los tiempos en que se presentan estas reacciones se registran en segundos y se utilizan para calcular el Índice de Irritación (II) según la ecuación (25):

$$\text{Índice de Irritabilidad (I.I.)} = \left(\frac{(301-TH)\ x\ 5+(301-TL)x\ 7+(301-TC)x\ 9}{300}\right)$$

Donde:

TH: Tiempo de aparición de hemorragia.

TL: Tiempo de aparición de lisis.

TC: Tiempo de aparición de coagulación.

De acuerdo con los tiempos arrojados, el nivel de irritación se puede medir de acuerdo con:

Tabla 3. Clasificación del índice de irritabilidad mediante el método HET-CAM.

Índice de Irritación (I.I.)	Clasificación
I.I. < 0.9	No irritante
0.9 ≤ I.I. < 5.0	Irritante leve
5.0 ≤ I.I. < 9.0	Irritante moderado
I.I. ≥ 9.0	Irritante severo

II.3.11.2 Método de la membrana corioalantoidea en huevos de gallina mediante tinción con azul de tripán (CAM-TBS).

En cuanto al ensayo CAM-TBS, este es una versión cuantitativa del HET-CAM en el que se emplea el colorante vital azul de tripán para cuantificar que tanto será el daño celular en la CAM, por medio de este método se puede evaluar de forma precisa la permeabilidad y muerte celular a través de la absorción del colorante por la membrana dañada. El procedimiento, en sí, consiste en aplicar la sustancia con la que se pueda evaluar la CAM durante un lapso controlado al tiempo que se aplica una tinción con azul de tripán, la membrana se extrae, se incuba en formamida y se centrifuga para liberar el colorante absorbido, la absorbancia del sobrenadante se mide a 595 nm (13,14).

Empleando una curva de calibración, absorbancia vs concentración de colorante absorbido, se obtiene la cantidad de azul de tripán absorbido y se determina el potencial irritante dependiendo de la cantidad de nanomoles del colorante por mg de membrana, para ello se sigue la siguiente clasificación:

Tabla 4. Clasificación de la irritabilidad mediante el método CAM-TBS.

Cantidad de colorante absorbido	Clasificación
≤ 0,100 nmoles/mg	No irritante
0,101 – 0,150 nmoles/mg	Moderadamente irritante
≥ 0,151 nmoles/mg	Irritante

II.4. Glosario de términos

a. **Ácido oleico:** Es un ácido graso monoinsaturado (omega-9) presente en muchos aceites vegetales que contribuye a la estabilidad oxidativa del aceite y es apreciado en cosmética por sus propiedades emolientes.
b. **Actividad antioxidante:** Es la capacidad de una sustancia para neutralizar radicales libres o especies reactivas de oxígeno, protegiendo estructuras biológicas del daño oxidativo.
c. **Azul de tripán:** Es el colorante vital utilizado en biología celular para evaluar permeabilidad de membranas. En el método CAM-TBS, permite cuantificar el daño en la membrana corioalantoidea.
d. **CAM (*Chorioallantoic Membrane*):** Se refiere a la membrana vascular del huevo embrionado de gallina utilizada en ensayos *in vitro* para evaluar la irritabilidad ocular y otros efectos toxicológicos.
e. **Cosmético:** Todo producto destinado a ser aplicado sobre la piel, cabello o mucosas externas con fines de limpieza, embellecimiento o protección, sin alterar funciones fisiológicas.
f. **DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazilo):** Método que se emplea para medir la actividad antioxidante de compuestos mediante el cambio de color en presencia de radicales libres.
g. **Extracto vegetal:** Solución concentrada de los principios activos de una planta, obtenida mediante procesos físicos o químicos (como prensado o maceración).
h. **Fitosteroles:** Son los compuestos de origen vegetal estructuralmente similares al colesterol. Presentes en aceites naturales, tienen propiedades antiinflamatorias y antioxidantes.
i. **Radical libre:** Molécula inestable con uno o más electrones desapareados, altamente reactiva y capaz de dañar células, lípidos y ADN.
j. **Regusto:** Sensación o sabor residual que permanece en la boca después de ingerir un alimento o sustancia; este puede ser agradable, neutra o desagradable, e informa sobre la calidad organoléptica del producto.

k. **Pistón:** Componente mecánico cilíndrico que se desplaza de forma alternante dentro de un cilindro, transforma la energía generada en un movimiento mecánico lineal o viceversa.
l. **AOAC:** De las siglas en inglés "*Association of Official Analytical Chemists*", es la Asociación de Químicos Analíticos Oficiales. Es una organización que plantea un conjunto de estándares y métodos de análisis internacionales.
m. **Plomo activo:** Son los iones de plomo libres (Pb^{+2}) químicamente reactivos y capaces de causar daño oxidativo o ser absorbidos por la piel.

III. HIPÓTESIS Y VARIABLES

III.1. Hipótesis

La caracterización fisicoquímica, la actividad antioxidante y el grado de irritabilidad ocular *in vitro* (HET-CAM) del aceite de *Oenocarpus bataua* "ungurahui" de Iquitos, cumplen con los parámetros analizados en aceites similares para la evaluación de la calidad del aceite.

III.2. Variables

III.2.1 Variable independiente (V.I.)

Concentraciones del aceite de *Oenocarpus bataua* "ungurahui".

III.2.2 Variables dependientes (V.D.)

1. Características fisicoquímicas.
2. Actividad antioxidante.
3. Grado de irritabilidad *in vitro* por el método HET-CAM.

III.3. Operacionalización de variables

Tabla 5. Descripción de la operacionalización de las Variables.

VARIABLES		DIMENSIONES	INDICADORES
INDEPENDIENTE	Concentraciones del aceite de *Oenocarpus bataua* "ungurahui"	No aplica	Porcentaje del aceite de *Oenocarpus bataua* "ungurahui"
DEPENDIENTES	Características fisicoquímicas	Calidad del aceite	- Índice de acidez. - Índice de yodo. - Índice de saponificación. - Índice de peróxido. - Densidad y pH - Índice de refracción
	Actividad antioxidante	Capacidad antioxidante del aceite por Método: - DPPH - ABTS	Radicales libres
	Grado de irritabilidad *in vitro* por el método HET-CAM	Daño en la membrana corioalantoidea	- Hemorragia - Lisis - Coagulación

IV. MATERIALES Y MÉTODOS

IV.1. Área de estudio

La extracción, preparación y análisis del aceite de “ungurahui” se realizó en el laboratorio de Farmacognosia y Medicina Tradicional – “Q. F. Bertha Jurado Teixeira”, perteneciente a la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lugar donde se realizó la investigación: Facultad de Farmacia y Bioquímica UNMSM, Jirón Puno Nº1002, Lima, Perú (-12.05572, -77,02324).

Los huevos de gallina para la realización de la investigación fueron obtenidos del Criadero de aves “Gallinas Gigantes” ubicado en el distrito de San Antonio en la provincia de Huarochirí, departamento de Lima (11°54'25.78"S; 76°57'31.14"O).

IV.2. Diseño de investigación

La presente investigación es de tipo experimental prospectiva; donde tuvimos acceso a la variable independiente y manipulamos para analizar y observar sus efectos sobre las variables dependientes, estas investigaciones proyectan resultados a futuro, es decir que se puede establecer una planificación anticipada con el fin de ejecutar después un seguimiento en el que se evaluaron los cambios más significativos de las metodologías aplicadas (27).

IV.3. Población y muestra

La población para esta investigación estuvo conformada por los frutos enteros tipo drupa de la especie vegetal *Oenocarpus bataua* “ungurahui” provenientes de la ciudad de Iquitos y por huevos fértiles de gallina (*Gallus gallus domesticus*) obtenidos del criadero de aves “Gallinas Gigantes” ubicado en el distrito de San Antonio provincia Huarochirí departamento de Lima.

Para el estudio se utilizaron 500 mL de aceite de *Oenocarpus bataua* “ungurahui” y 100 huevos de gallina fértiles (*Gallus gallus domesticus*). En cuanto a las unidades de análisis, estas estuvieron constituidas por frutos de *Oenocarpus bataua* “ungurahui” que se encontraban en buenas condiciones, sin daños físicos ni

signos de descomposición; utilizando tanto la cáscara como la pulpa y la semilla de esta especie.

IV.4. Procedimientos, técnicas e instrumentos de recolección de datos

IV.4.1 Materiales, equipos y reactivos

a) Materiales

- Fiolas de vidrio con tapa de 10, 25, 50 mL
- Tubos de ensayo de vidrio
- Tubos de centrifuga con tapa rosca de plástico
- Placas Petri de vidrio
- Picnómetro LMS marca Germany
- Micropipetas de 1000 uL y 5000 uL
- Pinzas de metal
- Frascos ámbar de 100 mL y 200 mL
- Embudo de vidrio
- Vaso de precipitado de vidrio de 100 mL y 250 mL
- Papel toalla
- Guantes de látex
- Mascarillas

b) Equipos

- Balanza analítica marca Ohaus
- Incubadora eléctrica marca Pro Vida
- Estufa marca Memmert GMBH
- Espectrofotómetro UV-visible marca Thermo Scientific Genesys 150
- Agitador Vórtex marca Scilogex
- Centrífuga
- Prensa hidráulica

c) Reactivos

- Agua destilada
- Suero fisiológico
- Etanol 96%

- Azul de tripán
- Dimetilsulfóxido
- Lauril sulfato de sodio
- Hidróxido de sodio
- Formamida
- Reactivo Molish
- Reactivo Antrona
- Reactivo Fehling “A”
- Reactivo Fehling “B”
- Reactivo $FeCl_3$.
- Magnesio metálico
- Ácido clorhídrico
- Reactivo Rosenheim
- Reactivo de Bontrager
- Reactivo de gelatina
- Lieberman-Burchard “A”
- Reactivo de Lieberman-Burchard “B” (anhidrido acético)
- Reactivo de Lieberman-Burchard “C” (H_2SO_4)
- Reactivo de Ninhidrina.
- Ácido sulfúrico (H_2SO_4 concentrado)
- Reactivo de Dragendorff
- Reactivo de Mayer
- Reactivo de Bertrand
- Reactivo de Sonnenschein
- Reactivo de vainillín-sulfúrico “A” (vainillina alcohólica 10%)
- Reactivo de vainillín-sulfúrico “B” (H_2SO_4 concentrado)

IV.4.2 Extracción del aceite de *Oenocarpus bataua* “ungurahui”

La extracción del aceite de “ungurahui” se realizó por el método de prensado, donde primero se limpiaron y seleccionaron los frutos en buenas condiciones y se

pesaron para luego ser llevadas a una pulpeadora, en donde se trituraron los frutos enteros, la materia obtenida se extendió en una fuente y se llevó a una estufa para eliminar cualquier remanente de agua. Después de esto el fruto ya triturado se colocó en una prensa hidráulica con un cilindro de superficie lisa y con agujeros, en donde se colocó la muestra envuelta en una tela que filtró el aceite extraído, y un pistón sobre el cual se aplicó una fuerza de compresión. El aceite extraído se almacenó en un frasco ámbar hasta su uso.

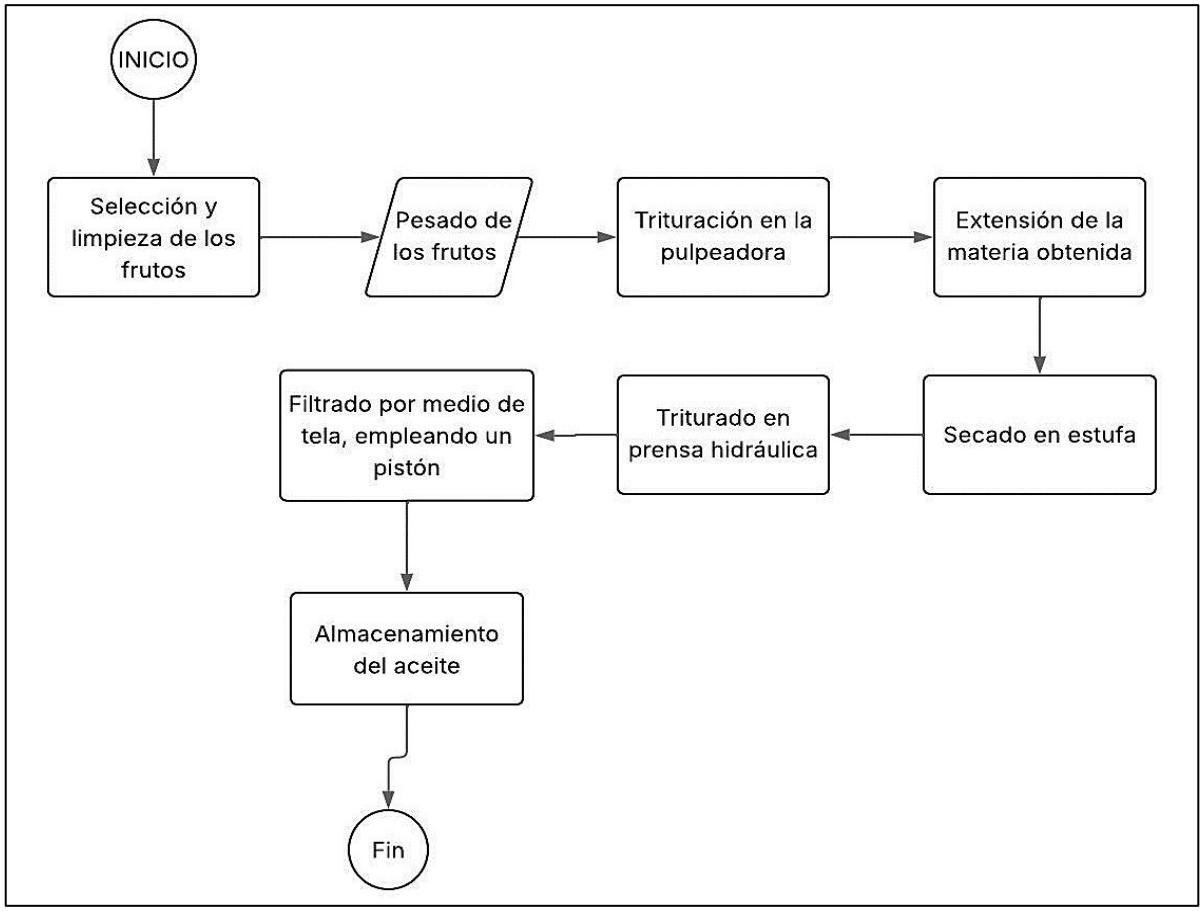


Figura 2. Flujograma del proceso de extracción del aceite de “ungurahui”.



A. Prensa hidráulica.



B. Extracción del aceite. Se observa el pistón ejerciendo presión dentro del cilindro que contiene la muestra.

Figura 3.

Figura 3. Extracción del aceite de “ungurahui” por la técnica de prensado.

IV.4.3 Análisis fisicoquímico

Los análisis fisicoquímicos determinados fueron densidad, pH, índice de acidez, índice de yodo, índice de saponificación, índice de peróxido e índice de refracción siguiendo los métodos dados por la AOAC (28).

IV.4.4 Análisis fitoquímico

El análisis fitoquímico cualitativo se realizó con el objetivo de identificar los principales grupos de constituyentes químicos y metabolitos presentes en el aceite de “ungurahui”. Para ello, se emplearon ensayos colorimétricos y de precipitación. Se aplicaron las siguientes pruebas específicas para la detección de compuestos bioactivos (33):

IV.4.4.1 Prueba Molish.

Esta prueba se realizó en 0.5 mL de M.P. (muestra pura) + V gotas de reactivo de Molish, se agregó H_2SO_4 lento y con el tubo inclinado y sin agitar. Reacción positiva: Formación de anillo violeta en la interfase entre la muestra y el reactivo, lo cual indica presencia de carbohidratos.

IV.4.4.2 Prueba Antrona.

Se realizó en 0.5 mL de M.P. (muestra pura) + X gotas de reactivo Antrona, con el tubo inclinado y sin agitar. Reacción positiva: Formación de anillo verde o verde azulado en la interfase, lo cual indica presencia de carbohidratos.

IV.4.4.3 Prueba Fehling.

Se realizó en 0.5 mL de M.P. (muestra pura) + V gotas de reactivo Fehling "A" + V gotas de Fehling "B" se mezcló y colocó en baño maría por 10 min. Reacción positiva: Formación de precipitado rojo ladrillo, lo cual indica presencia de azúcares reductores.

IV.4.4.4 Prueba $FeCl_3$.

Se realizó en 0.5 mL de M.P. (muestra pura) + III gotas de reactivo $FeCl_3$. Reacción positiva: Si la coloración es verde predominan flavonoides; coloración azul predominan taninos; coloración negra puede ser ambos. Por lo tanto, indica presencia de compuestos fenólicos.

IV.4.4.5 Prueba Shinoda.

Se realizó en 0.5 mL de M.P. (muestra pura) + miligramos de magnesio metálico, se mezcló y agregó III gotas de HCl, con el tubo de ensayo inclinado. Reacción positiva: Coloración roja, rojo salmón, rosa salmón o naranja, lo cual indica presencia de flavonoides.

IV.4.4.6 Prueba de Rosenheim.

Se realizó en 0.5 mL de M.P. (muestra pura) + III gotas de reactivo Rosenheim. se mezclaron. Reacción positiva: Rojo pardo, indica presencia de catequinas y/o procianidinas.

IV.4.4.7 Prueba de Bontrager.

Se realizó en 0.5 mL de M.P. (muestra pura) + III gotas de reactivo de Bontrager. Reacción positiva: Precipitado rojizo, indica presencia de antraquinonas.

IV.4.4.8 Prueba de Gelatina.

Se realizó en 0.5 mL de M.P. (muestra pura) + III gotas de reactivo de gelatina. Reacción positiva: Precipitado u opalescencia (blanco lechoso), indica presencia de taninos.

IV.4.4.9 Prueba de Lieberman-Burchard.

Se realizó en 0.5 mL de M.P. (muestra pura) + X gotas de reactivo de Lieberman-Burchard “A” (cloroformo) y se mezcla + X gotas de reactivo de Lieberman-Burchard “B” (anhidrido acético) y se mezcla + X gotas de reactivo de Lieberman-Burchard “C” (H_2SO_4) manteniendo el tubo inclinado y sin agitar. Reacción positiva: Formación de un anillo verde o azul indica presencia de compuestos esteroidales, coloración parda, pardo naranja o rojo es indicativo de predominio de triterpenoides.

IV.4.4.10 Prueba de Ninhidrina.

Se realizó en 0.5 mL de M.P. (muestra pura) + III gotas de reactivo de Ninhidrina. Reacción positiva: Coloración violeta, indica presencia de aminas primarias, secundarias y aminoácidos libres. Si cambia a amarillo, indica presencia de prolina o hidroxiprolina; si en 10 min no hay reacción dejar el tubo en baño maría 10 min y luego observar el resultado.

IV.4.4.11 Prueba de Dragendorff.

Se realizó en 0.5 mL de M.P. (muestra pura) + II gotas de H_2SO_4 concentrado, agregar III gotas de reactivo de Dragendorff. Reacción positiva: Precipitado naranja, lo cual indica presencia de alcaloides.

IV.4.4.12 Prueba de Mayer.

En 0.5 mL de M.P. + II gotas de H_2SO_4 manteniendo el tubo inclinado se agregó III gotas de reactivo de Mayer. Reacción positiva: Precipitado blanco, indica presencia de alcaloides.

IV.4.4.13 Prueba de Bertrand.

En 0.5 mL de M.P. (muestra pura) + II gotas de H_2SO_4 manteniendo el tubo inclinado + III gotas de reactivo de Bertrand. Reacción positiva: Coloración blanco lechoso, indica presencia de alcaloides.

IV.4.4.14 Prueba de Sonnenschein.

En 0.5 mL de M.P. (muestra pura) + II gotas de H_2SO_4 manteniendo el tubo inclinado + III gotas de reactivo de Sonnenschein. Reacción positiva: Formación de un precipitado amarillo, lo cual indica presencia de alcaloides.

IV.4.4.15 Prueba de Saponinas.

En 1 mL de M.P. (muestra pura) + 2 ml de agua destilada se agitó por 60 segundos y se dejó en reposo 5 minutos. Reacción positiva: Formación persistente de espuma mayor a 1 cm, que indica presencia de saponinas.

IV.4.4.16 Prueba de Vainillín-sulfúrico.

En 0.5 mL de M.P. (muestra pura) + V gotas de reactivo de vainillín-sulfúrico “A” (vainillina alcohólica 10%) se agitó + X gotas de reactivo de vainillín-sulfúrico “B” (H_2SO_4 cc agregado en tubo inclinado gota a gota con mucho cuidado y sin agitar). Reacción positiva: Formación de un anillo rojo pardo en la interfase, lo que indica presencia de triterpenoides y esteroles.

IV.4.5 Actividad antioxidante

Esta fue determinada mediante dos métodos:

IV.4.5.1 Método DPPH

El ensayo DPPH se preparó el reactivo 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH) diluido en etanol al 96º; para las muestras, primero se realizó una solución madre con 1.8 g de aceite puro en cantidad suficiente para 10 mL de cloroformo (180 mg/mL), de esta solución se hicieron diluciones sucesivas a la mitad de concentración cada una (concentración 1), se agitaron en un vórtex por un minuto y de aquí se prepararon las muestras de análisis y los blancos; en cada caso se trabajó en una proporción 1:2, muestra:DPPH (para las muestras de análisis) y muestra:etanol (para los blancos), y se incubó durante 30 min en la oscuridad a temperatura ambiente. La absorbancia se estimó a 517 nm con un espectrofotómetro UV-VIS. Para preparar la curva de calibración del patrón externo, se utilizaron soluciones patrón de ácido áscorbico (A.A.). Los resultados están expresados en µmol de ácido ascórbico equivalente (A.A.E.) por 100 g de fruto en peso seco (A.A.E. 100 g-1 p.m.) (29,30).

IV.4.5.2 Método ABTS

El método ABTS fue aplicado con el objetivo de evaluar la capacidad antioxidante del aceite de *Oenocarpus bataua* “ungurahui” frente al radical catiónico $ABTS^{\bullet+}$; para ello, se preparó una solución patrón de ABTS activada la cual se dejó en reposo durante 16 horas para asegurar la formación del radical estable; la muestra se trabajó pesando aproximadamente 1.8 g de aceite puro en cantidad suficiente para 10 mL de cloroformo (180 mg/mL), de esta solución se preparó 5 diluciones sucesivas a la mitad de concentración cada una (concentración 1), y a partir de esta se realizó las muestras de análisis y los blancos para cada una de ellas; en cada caso se trabajó en una proporción 1:3, muestra:ABTS (muestras de análisis) y muestra:etanol (blancos). Se leyó en el espectrofotómetro UV-VIS a una longitud de onda de 734 nm. Los resultados obtenidos se expresaron como porcentaje de inhibición de radicales libres (%CRL) y fueron comparados con un estándar de referencia (Trolox) (31).

IV.4.6 Evaluación de la irritabilidad ocular *in vitro*

Esta fue determinada mediante dos métodos:

IV.4.6.1 Método HET-CAM. Protocolo Nº47

En este método se utilizó la membrana corioalantoidea (CAM) del huevo de gallina. Las lesiones provocadas en la membrana se pueden correlacionar con las lesiones en la conjuntiva y en la córnea del ojo (14,32). Se seleccionaron huevos de entre 50 a 60 gramos y se les incubaron a 37.5°C y 62% de humedad relativa, estos se rotaban regularmente por 9 días para que el embrión no se adhiera a un lado del huevo.

El día 10 se colocaron los huevos con la cámara de aire hacia arriba y se prepararon para los ensayos. Para ello se realizó un orificio en la zona de la cámara de aire y se humectó la membrana blanca con 2 mL de suero fisiológico durante 5 minutos, luego se retiró con cuidado la membrana blanca del huevo evitando dañar la CAM expuesta y se agregó 0.3 mL de la muestra a analizar sobre la CAM y se observó las reacciones de hemorragia, lisis y coagulación durante un periodo de 5 minutos. El tiempo se registró en segundos y se reemplazó en la siguiente ecuación (14,32):

$$\boldsymbol{I.I.} = \left(\frac{\boldsymbol{301 - TH}}{\boldsymbol{300}}\right)\boldsymbol{x\ 5} + \left(\frac{\boldsymbol{301 - TL}}{\boldsymbol{300}}\right)\boldsymbol{x\ 7} + \left(\frac{\boldsymbol{301 - TC}}{\boldsymbol{300}}\right)\boldsymbol{x\ 9}$$

En donde:

I.I.: índice de irritación.

TH: Tiempo de aparición de la hemorragia.

TL: Tiempo de aparición de lisis de vasos.

TC: Tiempo de aparición de coagulación.

Después de obtenidos los índices de irritación según la ecuación anterior, estos se clasificaron según la siguiente tabla:

Tabla 6. Clasificación del grado de irritación en la prueba HET-CAM.

ÍNDICE DE IRRITACIÓN	GRADO DE IRRITACIÓN
0,0 – 0,9	No irritante
1,0 – 4,9	Irritante leve
5,0 – 8,9	Irritante moderado
9,0 – más	Irritante severo

IV.4.6.2 Ensayo del CAM-TBS. Protocolo Nº108

Se utilizaron 3 huevos por sustancia o grupo de ensayo, se lavó la CAM con agua destilada para eliminar las sustancias agregadas en el ensayo anterior, se aplicaron 0.5 mL de azul de tripán al 1% por 1 minuto, luego se lavó el exceso de colorante con agua destilada por 20 segundos. Posteriormente se cortó con tijeras finas, la CAM, se pesó y se colocó en un tubo de ensayo con 5 mL de formamida, se agitó y se centrifugó a 1500 rpm. Al sobrenadante obtenido se le midió la absorbancia a 595 nm, igual que al control negativo que es una membrana no tratada y cuyo valor de absorbancia se le resta al de las tratadas (39,42).

Se confecciona la curva de calibración de la absorbancia versus la concentración de azul de tripán, para lo cual se determinó la absorbancia a 595 nm de distintas concentraciones del colorante en formamida. Esta curva de calibración fue usada para hallar la concentración molar del colorante en cada muestra, lo que permitió determinar la cantidad de nanomoles del mismo, absorbida por la membrana. La determinación del potencial irritante de la sustancia de ensayo se realizó según la ecuación:

$$\boldsymbol{C.A.} = \boldsymbol{b\ x}\left(\frac{\mathbf{5}}{\mathbf{1000}}\right)\boldsymbol{x10^{9}\ nmoles}$$

Dónde:

- C.A: Cantidad de colorante absorbido
- b: Concentración de colorante (obtenido por ploteo de la curva patrón) /mg de membrana.

Tabla 7. Clasificación del potencial irritante por el método CAM-TBS.

CANTIDAD DE COLORANTE ABSORBIDO	CATEGORÍA
≤ 0,100 nmoles/mg	No irritante
0,100 – 0,150 nmoles/mg	Moderadamente irritante
≥0,150 nmoles/mg	Irritante

IV.7. Análisis estadístico

Los resultados se procesaron con el programa SPSS Statistics y Stata, para poder evaluar y analizar los datos obtenidos experimentalmente.

V. RESULTADOS

V.1. Análisis fisicoquímicos

Constituyeron un primer paso esencial para establecer calidad, estabilidad y viabilidad en formulaciones dermatológicas y cosméticas; la determinación de parámetros como el índice de acidez, índice de yodo, índice de saponificación, índice de peróxidos, así como propiedades como densidad, pH e índice de refracción, permitió evaluar el estado de oxidación, la presencia de ácidos grasos libres, el grado de insaturación, y la capacidad del aceite para reaccionar con soluciones alcalinas, lo cual es especialmente relevante en la formulación de productos de uso cosmético.

Los resultados obtenidos se contrastaron con estándares establecidos por la AOAC y con datos reportados en investigaciones previas, lo cual permitió identificar posibles variaciones atribuibles al origen geográfico del fruto, el método de extracción y las condiciones de almacenamiento, por tanto, esta sección busca sustentar con evidencia empírica la calidad fisicoquímica del aceite de *Oenocarpus bataua*, como fundamento para su potencial incorporación en la industria cosmética natural.

Los resultados de los análisis fisicoquímicos realizados por triplicado al aceite de *Oenocarpus bataua* “ungurahui” proveniente de Iquitos, se muestran en la siguiente tabla:

Tabla 8. Resultados de los análisis fisicoquímicos del aceite de “ungurahui”.

ENSAYO	UNIDADES	MUESTRAS	RESULTADO	PROMEDIO	DESVIACIÓN ESTÁNDAR
Densidad	(g/mL)	M1	0.8433	0.8434	0.002451
		M2	0.8459		
		M3	0.8410		
pH	-	M1	4.5	4.5	0
		M2	4.5		
		M3	4.5		
Índice de acidez	% ácido oleico	M1	14.67085	14.74055	0.083211
		M2	14.83267		
		M3	14.71812		
Índice de saponificación	mg KOH/ g aceite	M1	189.17011	192.50316	4.203497
		M2	197.22541		
		M3	191.11396		
Índice de yodo	cg yodo/ g aceite	M1	8.03524	8.04749	0.011488
		M2	8.04921		
		M3	8.05802		
Índice de peróxido	meq O_2/kg	M1	18.68696	18.85117	0.307052
		M2	19.20541		
		M3	18.66113		
Índice de refracción	**UNIDADES**	**MUESTRAS**	**RESULTADO**		
	-	M1	1.463 < x < 1.464		
		M2	1.463 < x < 1.464		
		M3	1.463 < x < 1.464		

Se determinó la densidad del aceite, este se considera un indicador básico de su pureza y estructura fisicoquímica. Se midió el pH para conocer el nivel de acidez o alcalinidad del aceite en su estado natural. La medición del índice de refracción se realizó para establecer la transparencia y grado de insaturación del aceite. En cuanto al índice de acidez, este indicador permite cuantificar la presencia de ácidos grasos

libres en la muestra. Por medio del índice de saponificación se estimó el peso molecular promedio de los ácidos grasos presentes. El índice de yodo permitió determinar el grado de insaturación del aceite extraído. Mientras que el índice de peróxido permite apreciar el nivel de oxidación primaria del aceite.

V.2 Análisis fitoquímicos

Tabla 9. Resultados del tamizaje fitoquímico del aceite de "ungurahui".

Nro.	PRUEBAS	ACEITE "UNGURAHUI"	INTERPRETACIÓN
1	Molish	-	Ausencia de carbohidratos
2	Antrona	-	Ausencia de carbohidratos
3	Fehling	-	Ausencia de carbohidratos reductores
4	$FeCl_3$	-	Ausencia de compuestos fenólicos
5	Shinoda	-	Ausencia de Flavonoides sensibles a esta prueba
6	Rosenheim	-	Ausencia de catequinas y/o procianidinas
7	Bontrager	-	Ausencia de antraquinonas
8	Gelatina	+ (Precipitado u opalescencia/ blanco lechoso)	Presencia de taninos
9	Lieberman-Buchard	+++ (Anillo verde azul)	Presencia de compuestos esteroidales
10	Ninhidrina	-	Ausencia de compuestos aminos
11	Dragendorff	-	Ausencia de alcaloides
12	Mayer	+ (Precipitado blanco)	Presencia de alcaloides
13	Bertrand	+ (Coloración blanco lechoso)	Presencia de alcaloides
14	Sonnenschen	-	Ausencia de alcaloides
15	Saponinas	-	Ausencia de saponinas
16	Vainillin-sulfúrico	+++ (Anillo rojo pardo)	Presencia de triterpenoides y esteroles

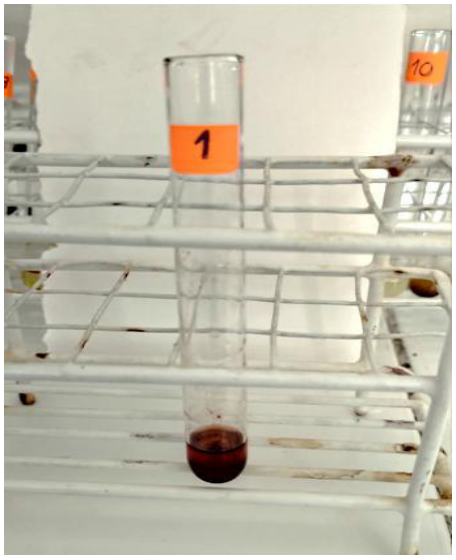
Leyenda:
- \- Ausencia de reacción / compuesto no detectado
- \+ Presencia leve del metabolito o reacción débil
- ++ Presencia moderada del metabolito
- +++ Presencia abundante o reacción intensamente positiva

La caracterización fitoquímica forma parte de una etapa fundamental en la evaluación integral de ingredientes naturales con potencial cosmético, permitiendo identificar la presencia de metabolitos responsables de diversas actividades biológicas (33). En el caso del aceite de “ungurahui”, se reconoce su valor tradicional y etnobotánico como emoliente y revitalizante pero la validación científica de sus propiedades requiere de un análisis sistemático de sus componentes bioactivos.

Los compuestos fitoquímicos presentes en matrices oleosas, tales como tocoferoles, carotenoides, esteroles, ácidos fenólicos y triterpenos, han demostrado poseer efectos antioxidantes, antiinflamatorios, fotoprotectores y regeneradores celulares, esto es altamente pertinente cuando se desea usarlos en productos de cuidado personal y formulaciones dermatológicas.

En ese sentido, los análisis fitoquímicos se realizaron con el fin de demostrar la presencia cualitativa de dichos metabolitos mediante pruebas colorimétricas y reacciones específicas adaptadas a la naturaleza lipofílica del aceite.

V.2.1 Prueba Molish.



A. Reacción negativa: No hay formación de anillo violeta.



B. Acercamiento para una mejor observación.

Figura 4. Prueba de Molish.

V.2.2 Prueba Antrona.



A. Reacción negativa: No hay formación de anillo verde.



B. Acercamiento para una mejor observación.

Figura 5. Prueba de Antrona.

V.2.3 Prueba Fehling.



A. Reacción negativa: No hay formación de precipitado rojo ladrillo.



B. Acercamiento para una mejor observación.

Figura 6. Prueba de Fehling.

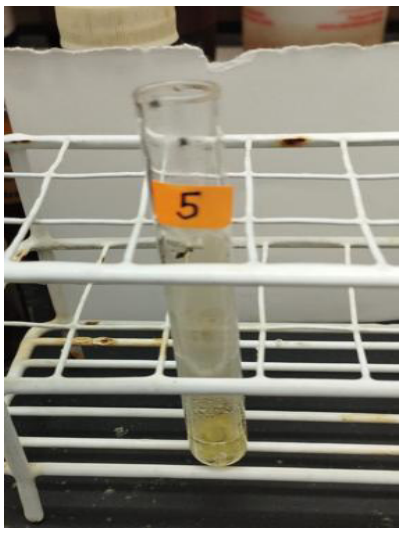
V.2.4 Prueba $FeCl_3$.



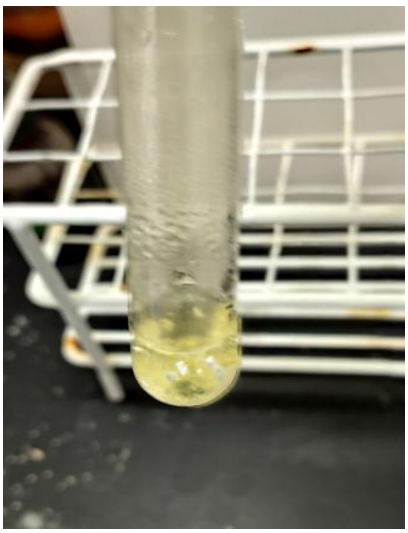
A. Reacción negativa: No hay coloración verde ni azul.

Figura 7. Prueba $FeCl_3$.

V.2.5 Prueba Shinoda.



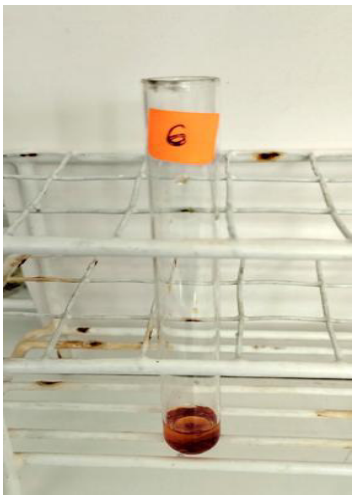
A. Reacción negativa: No hay formación de color rojo salmón.



B. Acercamiento para una mejor observación.

Figura 8. Prueba Shinoda.

V.2.6 Prueba de Rosenheim.



A. Reacción negativa: No hay coloración rojo pardo.



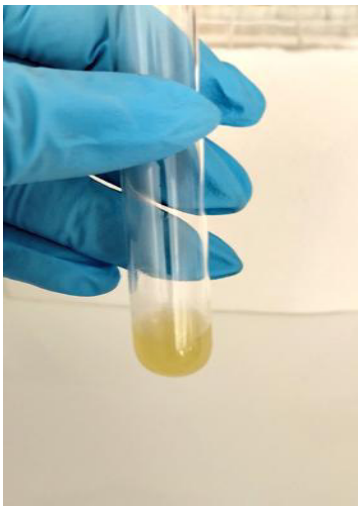
B. Acercamiento para una mejor observación.

Figura 9. Prueba Rosenheim.

V.2.7 Prueba de Bontrager.



A. Reacción negativa: No hay precipitado rojizo.



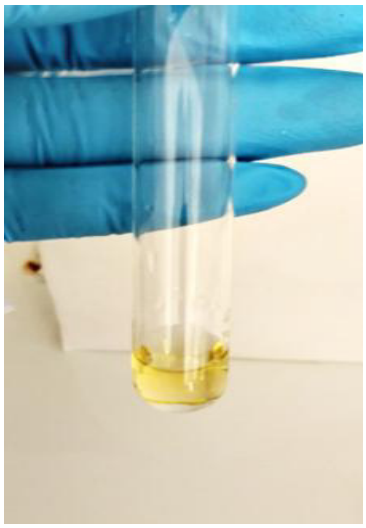
B. Acercamiento para una mejor observación.

Figura 10. Prueba de Bontrager.

V.2.8 Prueba de Gelatina.



A. Reacción positiva: Se observa la formación de precipitado.



B. Acercamiento para una mejor observación.

Figura 11. Prueba de Gelatina.

V.2.9 Prueba de Lieberman-Burchard.



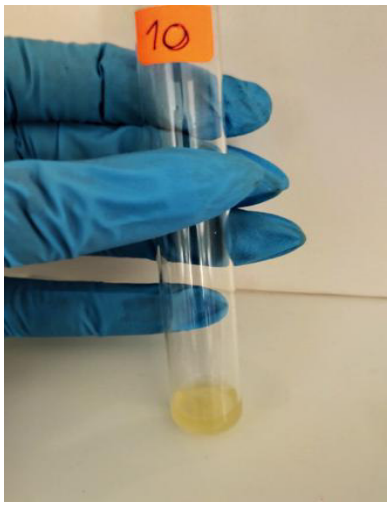
A. Reacción positiva: Presencia de anillo verdoso.



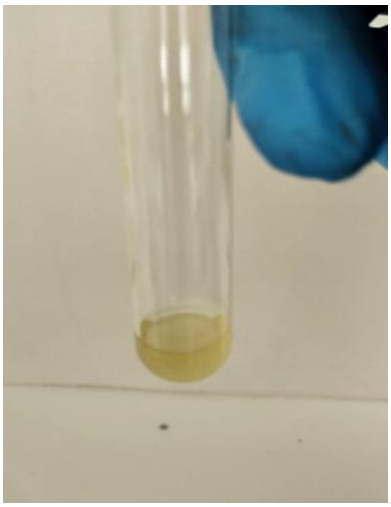
B. Acercamiento para una mejor observación.

Figura 12. Prueba Lieberman-Burchard.

V.2.10 Prueba de Ninhidrina.



A. Reacción negativa: No hay formación de coloración violeta.



B. Acercamiento para una mejor observación.

Figura 13. Prueba de Ninhidrina.

V.2.11 Prueba de Dragendorff.



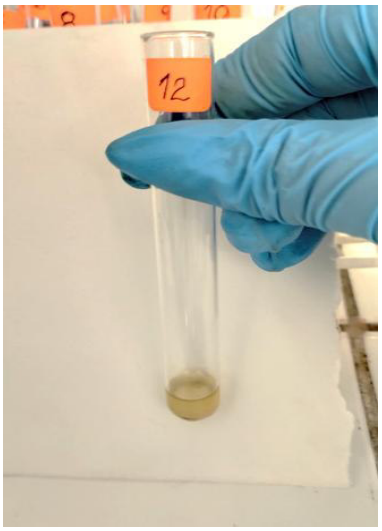
A. Reacción negativa: No hay precipitación naranja.



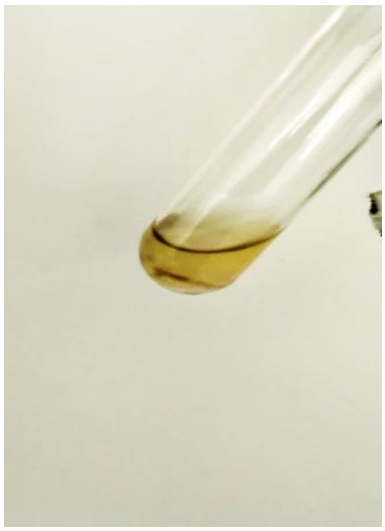
B. Acercamiento para una mejor observación.

Figura 14. Prueba de Dragendorff.

V.2.12 Prueba de Mayer.



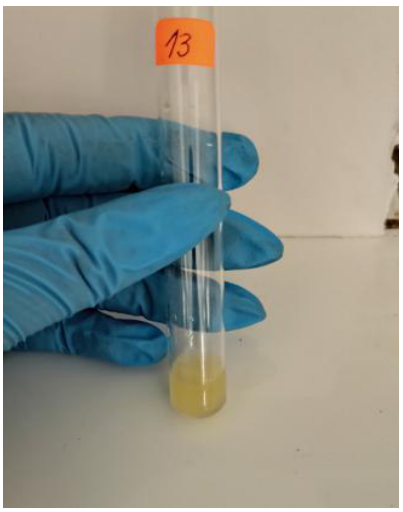
A. Reacción positiva: Formación de precipitado blanco.



B. Acercamiento para una mejor observación.

Figura 15. Prueba de Mayer.

V.2.13 Prueba de Bertrand.



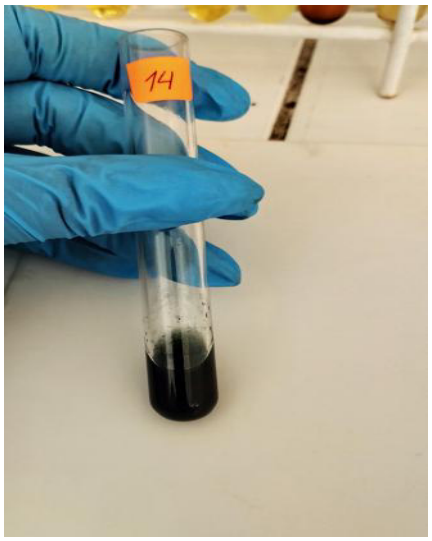
A. Reacción positiva: Coloración blanco lechoso.



B. Acercamiento para una mejor observación.

Figura 16. Prueba de Bertrand.

V.2.14 Prueba de Sonnenschein.



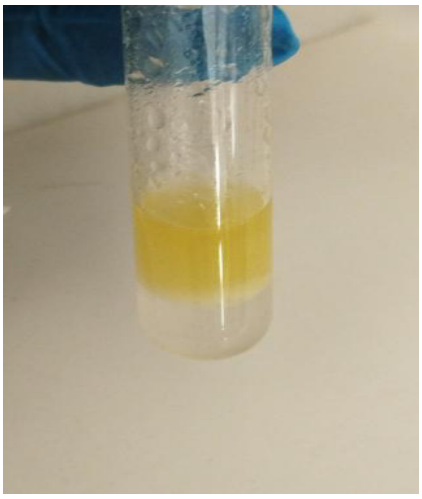
A. Reacción negativa: No hay coloración blanco lechoso.

Figura 17. Prueba de Sonnenschein.

V.2.15 Prueba de Saponinas.



A. Reacción negativa: No hay formación de espuma.



B. Acercamiento para una mejor observación.

Figura 18. Prueba de Saponinas.

V.2.16 Prueba de Vainillín-sulfúrico.



A. Reacción positiva: Formación de anillo rojo pardo.



B. Acercamiento para una mejor observación.

Figura 19. Prueba de Vainillín-sulfúrica.

V.3 Actividad antioxidante del aceite de "ungurahui" *Oenocarpus bataua.*

V.3.1 Método DPPH.

El método de DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazilo) permitió cuantificar la capacidad de los compuestos presentes en el aceite para neutralizar radicales libres, responsables del daño oxidativo celular y del deterioro en formulaciones cosméticas.

La actividad antioxidante fue determinada empleando la ecuación:

$$\%\ \boldsymbol{de\ Captación\ de\ radicales\ libres}\ (\%\ \boldsymbol{CRL}) = \left(1 - \frac{\boldsymbol{Abs\ Neta}}{\boldsymbol{Abs\ DPPH}}\right) \boldsymbol{x100}$$

La actividad antioxidante fue evaluada mediante el método DPPH demostrando una clara relación dosis-dependiente, aumentando el porcentaje de captación de radicales libres (%CRL) a medida que incrementó la concentración del aceite;

adicional, se confirman la presencia de compuestos bioactivos con potencial antirradicalario, esto valido su eficacia como antioxidante natural lipofílico.

Tabla 10. Resultados de Trolox DPPH de aceite de “ungurahui”.

TROLOX DPPH (ACEITE DE UNGURAHUI)									
Concentración vial (ug/mL)	Concentración final (ug/mL)	Abs 1	Abs 2	Abs 3	Abs Promedio	Abs Blanco	Abs Neta	%CRL	IC 50
18.750	6.250	0.028	0.030	0.025	0.028	0.000	0.028	95.241	3.432
15.000	5.000	0.190	0.185	0.180	0.185	0.000	0.185	68.177	
11.250	3.750	0.260	0.267	0.262	0.263	0.000	0.263	54.759	
7.500	2.500	0.407	0.387	0.383	0.392	0.000	0.392	32.511	
3.750	1.250	0.506	0.491	0.495	0.497	0.000	0.497	14.450	
DPPH	0.000	0.610	0.535	0.599	0.581	0.000	0.581	0.000	

Este ensayo demuestra una disminución progresiva de la absorbancia a medida que aumenta la concentración del antioxidante estándar; lo que refleja una alta eficiencia de neutralización del radical DPPH.

En el gráfico 1, de la curva Trolox evidencia la relación lineal directa entre la concentración del estándar antioxidante y el porcentaje de captación de radicales libres (DPPH), con una ecuación de la línea $y = 15.077x – 2.927$ y un coeficiente de determinación $R^2 = 0.9919$; esto confirma la precisión y sensibilidad del método DPPH para cuantificar la actividad antioxidante del aceite de *Oenocarpus bataua.*

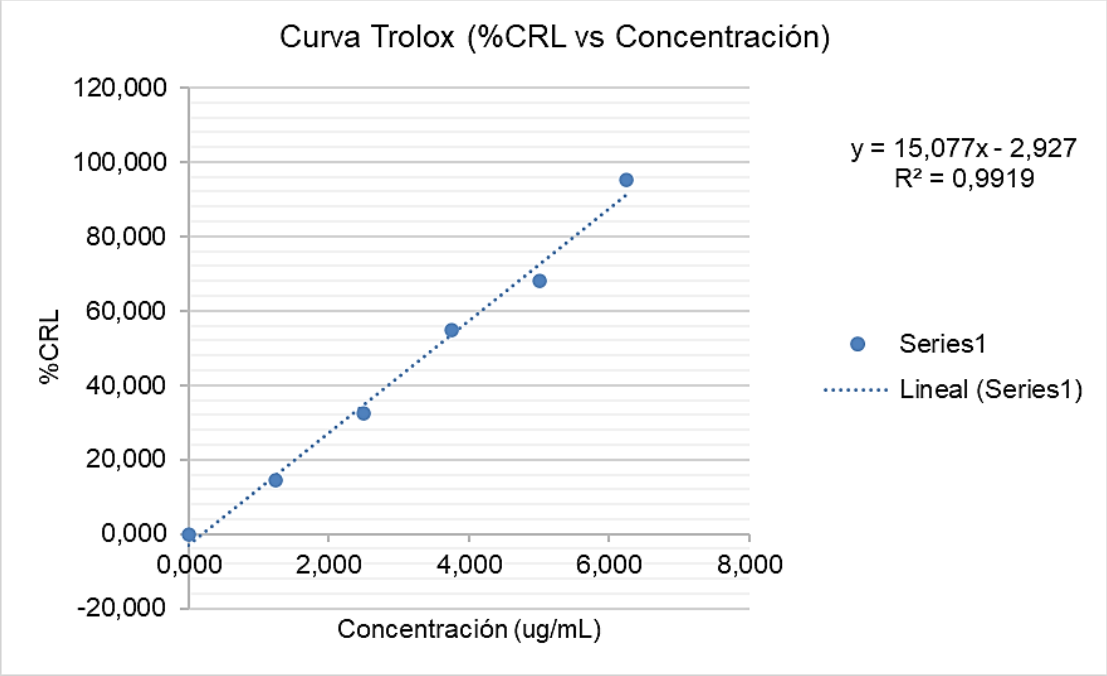


Gráfico 1. Curva Trolox DPPH (%CRL vs Concentración) de aceite de “ungurahui”.

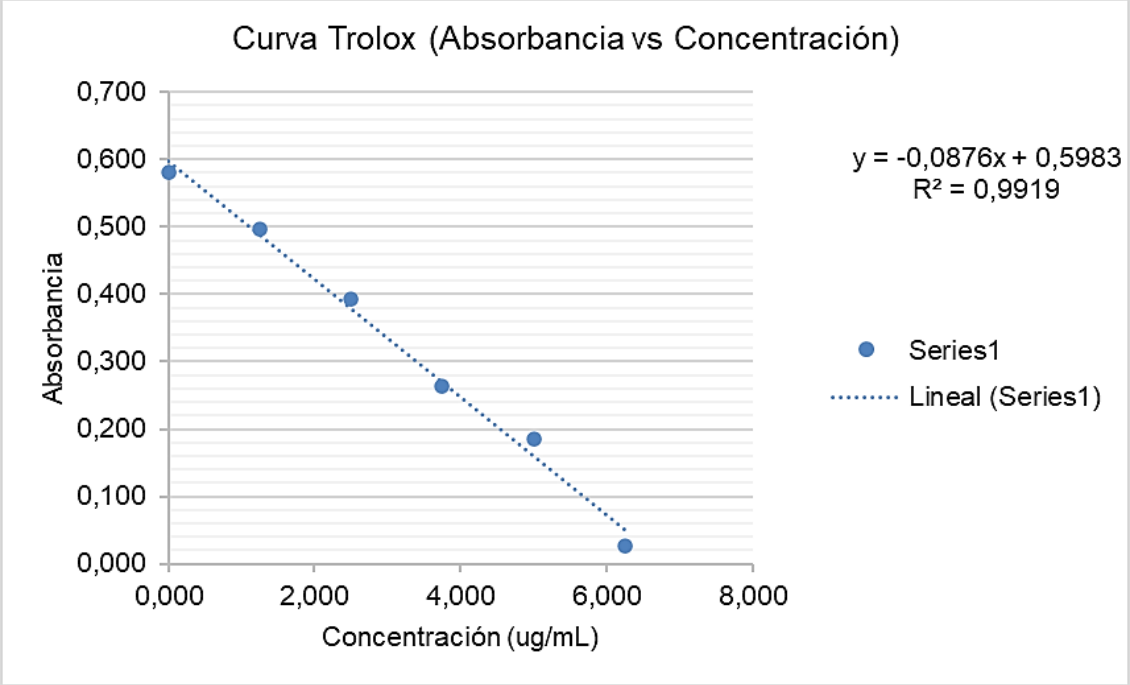


Gráfico 2. Curva Trolox DPPH (Absorbancia vs Concentración) de aceite de “ungurahui”.

La curva (Gráfico 2) muestra una relación lineal inversa entre ambas variables, descrita por la ecuación y = -0.0876x + 0.5983 con un coeficiente de determinación R^2 = 0.9919; lo que indica una alta precisión experimental; la absorbancia disminuye de forma proporcional al aumento de la concentración de Trolox, así se demuestra la neutralización del radical DPPH.

Tabla 11. Resultados por el método DPPH del aceite de "ungurahui".

DPPH EN ACEITE DE UNGURAHUI											
Preparación (Solución madre):						**1802.7 mg de aceite/ 10 mL**					
Concentración Vial (mg/mL)		Concentración Final (mg/mL)	Abs 1	Abs 2	Abs 3	Promedio Abs	Abs Blanco	Abs Neta	%CRL	IC 50	Abs IC 50
A	52.356	17.452	0.177	0.176	0.168	0.174	0	0.174	71.623	11.580 ± 2.52	0.306
B	45.068	15.023	0.261	0.251	0.255	0.256	0	0.256	58.224		
C	22.534	7.511	0.350	0.353	0.350	0.351	0	0.351	42.647		
D	11.267	3.756	0.460	0.462	0.458	0.460	0	0.460	24.837		
E	5.633	1.878	0.528	0.530	0.525	0.528	0	0.528	13.780		
DPPH (PATRÓN)		0.000	0.613	0.613	0.610	0.612	0	0.612	0.000		

Los resultados del ensayo DPPH (Tabla 11) arrojan una tendencia decreciente de la absorbancia a medida que aumenta la concentración del extracto, teniendo así mayor capacidad de reducción del radical libre DPPH, de esta forma se confirma que el aceite posee una potencia antioxidante moderadamente menor que el estándar Trolox. Se determinó con la siguiente ecuación:

$$IC\ 50 = \frac{(50 - 6.8626)}{3.7251}$$

En la gráfica de %CRL vs. Concentración (Gráfico 3), indica una relación lineal positiva entre concentración del aceite y capacidad de captura de radicales libres, deja entrever una gran relación de dependencia entre las variables, lo que corrobora que el aceite va incrementando aproximada y proporcionalmente su actividad antioxidante con la dosis aplicada.

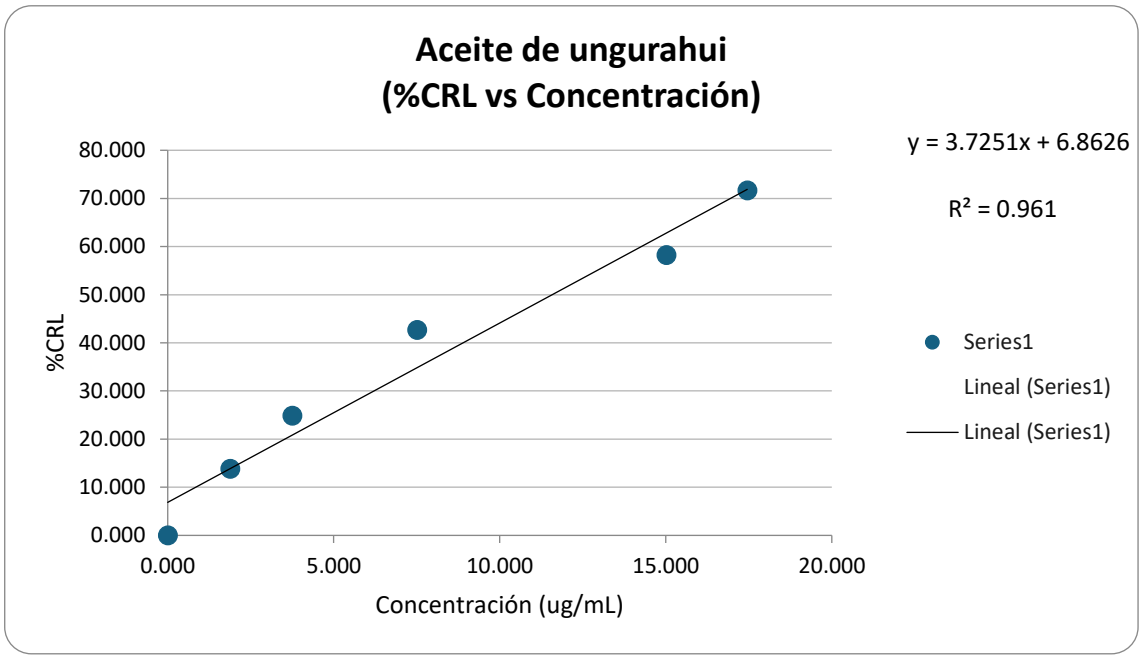


Gráfico 3. Curva DPPH (%CRL vs Concentración) de aceite de “ungurahui”.

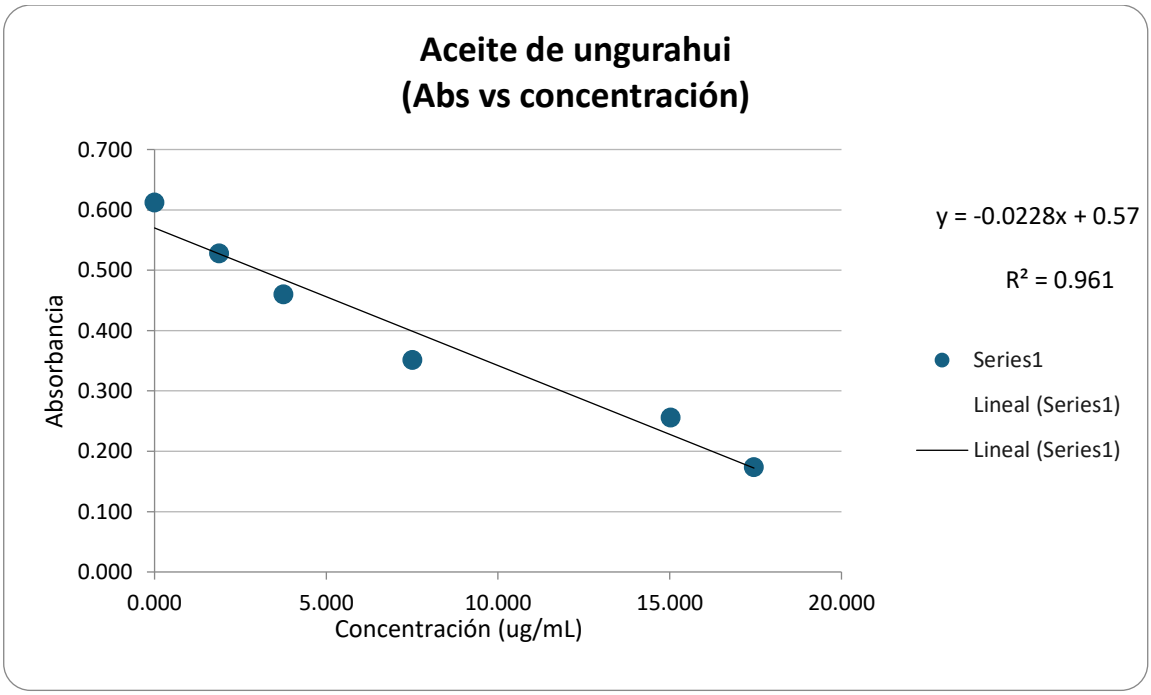


Gráfico 4. Curva DPPH (Absorbancia vs Concentración) de aceite de “ungurahui”.

Se sabe que:

Abs IC 50	Equivalentes Trolox (µg/mL)
0.306	3.337

Aceite (mg) (IC 50)	Hay en 1 mL y en ese mL equivale a:	Trolox (ug)
11.580	---------->	3.337

Quiere decir que:

Aceite (mg)		Trolox (ug)
11.580	---------->	3.337
1000.000	---------->	**288.172**

La curva de absorbancia vs. concentración (Gráfico 4) muestra una relación lineal inversa que indica una excelente correlación entre el incremento de la concentración del aceite y la disminución de la absorbancia del radical DPPH, es decir, que hay una eficiente captación de radicales libres, en la que el aceite reduce progresivamente la absorbancia del DPPH.

V.3.2 Método ABTS.

La actividad antioxidante se determinó según la siguiente fórmula:

$$\%\ \boldsymbol{de\ Captación\ de\ radicales\ libres}\ (\%\ \boldsymbol{CRL}) = \left(\mathbf{1} - \frac{\boldsymbol{Abs\ Neta}}{\boldsymbol{Abs\ ABTS}}\right)\boldsymbol{x100}$$

Tabla 12. Resultados de Trolox ABTS de aceite de “ungurahui”.

TROLOX ABTS (ACEITE DE UNGURAHUI)									
Concentración vial (µg/mL)	Concentración final (µg/mL)	Abs 1	Abs 2	Abs 3	Abs promedio	Abs blanco	Abs neta	%CRL	IC 50
20	5	0.077	0.075	0.072	0.075	0.000	0.075	89.359	2.763
15	3.75	0.221	0.221	0.217	0.220	0.000	0.220	68.694	
10	2.5	0.385	0.388	0.383	0.385	0.000	0.385	45.083	
5	1.25	0.540	0.540	0.541	0.540	0.000	0.540	22.993	
2.5	0.625	0.615	0.615	0.621	0.617	0.000	0.617	12.067	
ABTS	0	0.703	0.704	0.698	0.702	0.000	0.702	0.000	

En la gráfica 5, de la curva Trolox (%CRL vs. concentración) para el método ABTS denota una relación lineal positiva para una excelente correlación entre la concentración del estándar y su capacidad antioxidante; lo que confirma que la sensibilidad y precisión del método ABTS para la cuantificación de la actividad antioxidante.

Para la curva patrón de Trolox en el método ABTS (Gráfico 6), se observa una disminución progresiva en la absorbancia mientras que aumenta la concentración del estándar, acompañada por un aumento significativo en el porcentaje de captación de radicales libres (%CRL), demostrando la alta eficiencia del Trolox como antioxidante de referencia.

A continuación, se presentan las gráficas:

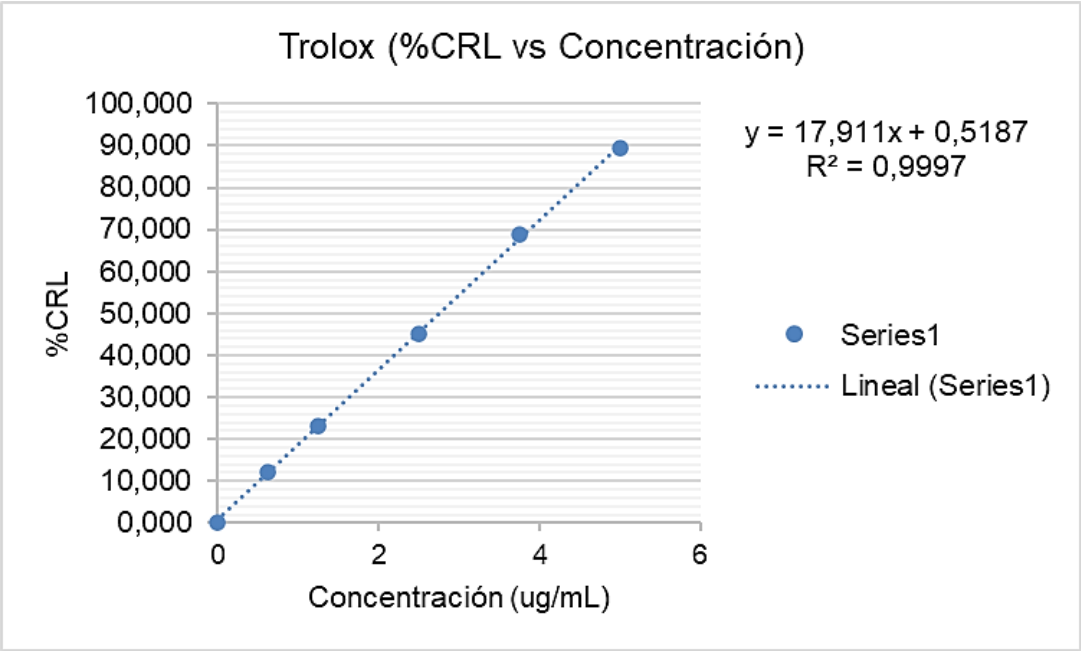


Gráfico 5. Curva Trolox ABTS (%CRL vs Concentración) de aceite de un "ungurahui".

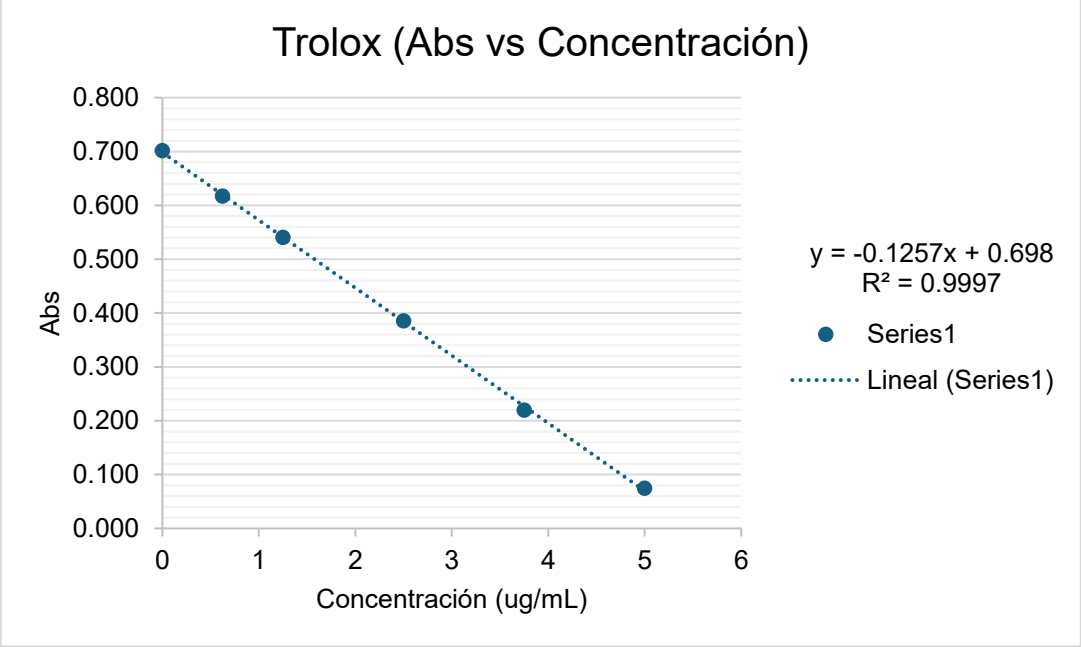


Gráfico 6. Curva Trolox ABTS (Absorbancia vs Concentración) de aceite de un "ungurahui".

Tabla 13. Resultados por el método ABTS de aceite de un “ungurahui”.

ABTS EN ACEITE DE UNGURAHUI										
Preparación (Solución madre):					**1802.0 g de aceite/ 10 mL**					
Concentración (mg/mL)		Abs 1	Abs 2	Abs 3	Abs Promedio	Abs Blanco	Abs Neta	%CRL	IC 50	Abs IC 50
A	22.5	0.175	0.157	0.170	0.167	0	0.167	75.368	14.499 ± 2.639	0.340
B	11.25	0.407	0.402	0.405	0.405	0	0.405	40.432		
C	5.625	0.522	0.536	0.525	0.528	0	0.528	22.326		
D	2.8125	0.599	0.599	0.593	0.597	0	0.597	12.120		
E	1.40625	0.631	0.639	0.637	0.636	0	0.636	6.428		
ABTS (PATRÓN)		0.681	0.674	0.683	0.679	0	0.679	0.000		

En esta tabla se puede observar cómo a medida que la concentración del aceite de “ungurahui” va aumentando se da una reducción de la absorbancia, lo que corresponde a una mayor capacidad antioxidante por neutralización del radical $ABTS^{+}$, el comportamiento del %CRL demuestra una relación dosis-dependiente, cuando mayor es la concentración del aceite de “ungurahui”, mayor es la inhibición que experimenta el radical y, por lo tanto, mayor es el %CRL. Se determino mediante la siguiente ecuación:

$$IC\ 50 = \frac{(50 - 2.1169)}{3.3026}$$

La curva %CRL vs. Concentración (Gráfico 7), muestra una relación lineal positiva entre la concentración del aceite y la capacidad de captación del radical $ABTS^{+}$; el incremento del %CRL con la concentración confirma una dependencia directa dosis-respuesta, de este modo la linealidad obtenida valida la confiabilidad del método ABTS para cuantificar la actividad antioxidante de este aceite amazónico.

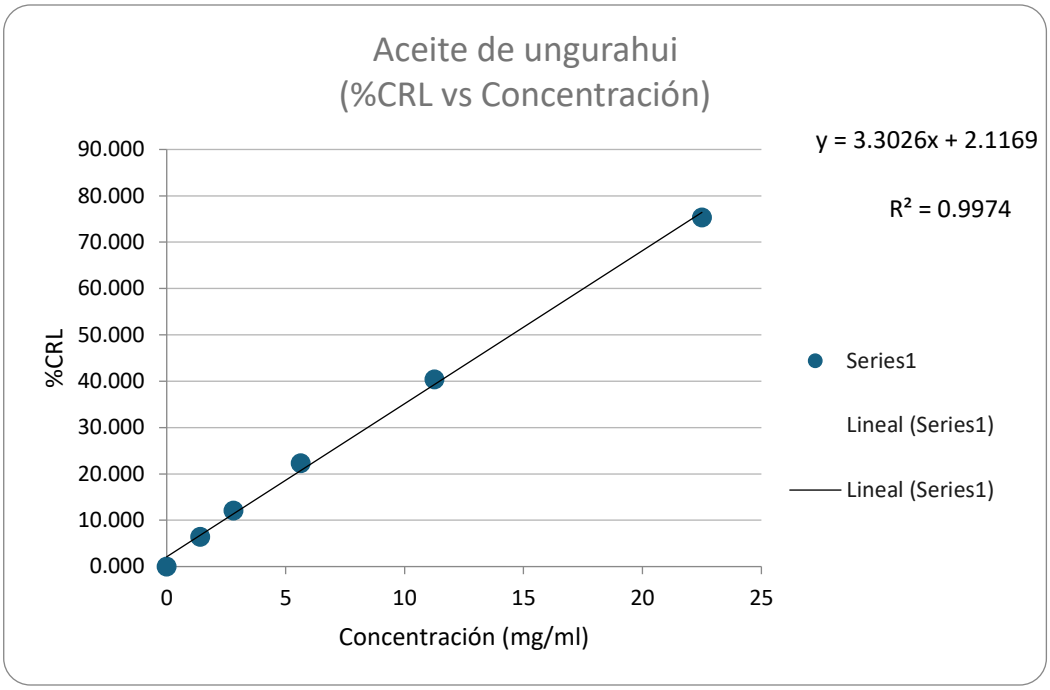


Gráfico 7. Curva ABTS (%CRL vs Concentración) aceite de un “ungurahui”.

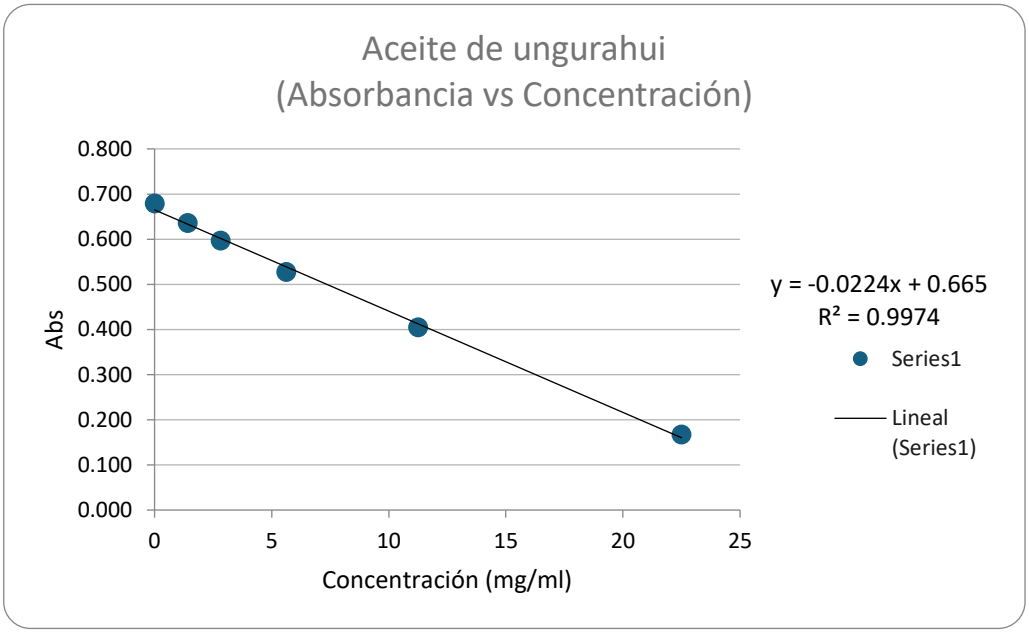


Gráfico 8. Curva ABTS (Absorbancia vs Concentración) de aceite de “ungurahui”.

Se sabe que:

Abs IC 50	Equivalentes trolox (µg/mL)
0.340	2.846

Aceite (mg) (IC 50)	Hay en 1 mL y en ese mL equivale a:	Trolox (ug)
14.499	---------->	2.846

Quiere decir que:

Aceite (mg)		Trolox (ug)
14.499	---------->	2.846
1000.000	---------->	**196.309**

La curva de absorbancia vs. concentración (Gráfico 8), confirma la capacidad del aceite para donar electrones o átomos de hidrógeno, neutralizando los radicales libres presentes; ante una elevada linealidad del modelo se sugiere una respuesta analítica precisa y reproducible, respaldando la confiabilidad del método ABTS en la determinación cuantitativa de la actividad antioxidante del aceite de ungurahui.

Tabla 14. Comparación de resultados por DPPH y ABTS de la especie *Oenocarpus bataua* "ungurahui".

Método DPPH				Método ABTS			
IC 50 Trolox	IC 50 (mg/mL)	Abs IC 50	Equivalentes Trolox (µg/g aceite)	IC 50 Trolox	IC 50 (mg/mL)	Abs IC 50	Equivalentes Trolox (µg/g aceite)
3.432	11.580	0.306	288.172	2.763	14.499	0.340	196.309

Estos resultados demuestran que el aceite de *Oenocarpus bataua* tiene una efectiva capacidad antirradicalaria, siendo un potencial candidato para aplicaciones cosméticas y farmacéuticas naturales.

V.3.3 Análisis estadísticos método DPPH

De acuerdo con la prueba de Levene, p = 0.647, por lo que se cumple la homogeneidad de varianzas; para ANOVA se obtuvo F = 19017.615 p < 0.001; en este caso se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre las medias de %CRL de acuerdo con la concentración; mientras que la prueba de Tukey confirmó diferencias significativas en todos los grupos (p < 0.05), consolidando una clara relación dosis-dependiente. El aumento progresivo de las medias de %CRL confirman el comportamiento lineal .

Tabla 15. Resultados del análisis estadístico por concentración (CRL) método DPPH.

Descriptivos

CRL

	N	Media	Desv. Desviación	Desv. Error	95% del intervalo de confianza para la media		Mínimo	Máximo
					Límite inferior	Límite superior		
1,878	3	12,78033	,174506	,100751	12,34684	13,21383	12,605	12,954
3,756	3	23,97400	,237577	,137165	23,38383	24,56417	23,740	24,215
7,511	3	41,99133	,235611	,136030	41,40604	42,57662	41,760	42,231
15,023	3	57,78533	,397359	,229415	56,79824	58,77243	57,412	58,203
17,452	3	71,24967	,386997	,223433	70,28831	72,21102	70,842	71,612
Total	15	41,55613	22,117028	5,710592	29,30813	53,80414	12,605	71,612

Tabla 16. Homogeneidad de varianzas método DPPH**.**

Prueba de homogeneidad de varianzas

		Estadístico de Levene	gl1	gl2	Sig.
CRL	Se basa en la media	,638	4	10	,647
	Se basa en la mediana	,412	4	10	,796
	Se basa en la mediana y con gl ajustado	,412	4	7,236	,796
	Se basa en la media recortada	,623	4	10	,656

Tabla 17. ANOVA método DPPH

ANOVA

CRL

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	6847,381	4	1711,845	19017,615	,000
Dentro de grupos	,900	10	,090		
Total	6848,281	14			

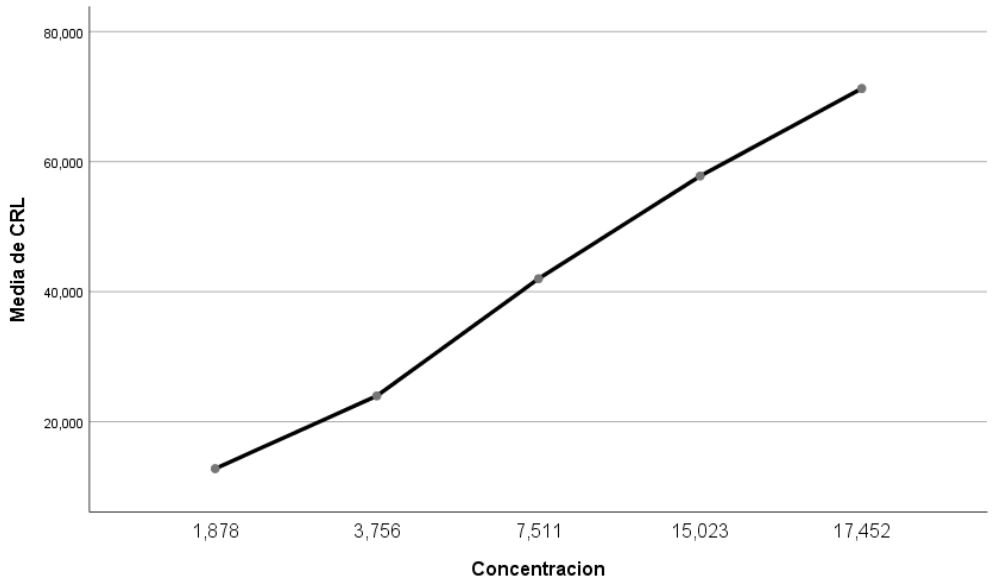


Gráfico 9. Curva DPPH (Media de CRL vs Concentración).

V.3.4 Análisis estadístico método ABTS

En el método ABTS, la prueba de Levene arrojó un valor de p = 0.282, confirmando la homogeneidad de varianzas entre los grupos. El análisis de varianza (ANOVA) mostró un valor de F = 2373.556 con p < 0.001**,** evidenciando diferencias estadísticamente significativas en el %CRL entre las distintas concentraciones evaluadas. Asimismo, las comparaciones múltiples indicaron diferencias significativas entre todos los grupos (p < 0.05), lo que confirma una relación dosis-dependiente. Las medias de %CRL oscilaron entre 6.43% y 75.37%, mostrando una tendencia creciente con la concentración.

Tabla 18. Resultados del Análisis Estadístico por Concentración (CRL) método ABTS.

Descriptivos

CRL

	N	Media	Desv. Desviación	Desv. Error	95% del intervalo de confianza para la media		Mínimo	Máximo
					Límite inferior	Límite superior		
1,40625	3	1,25300	,065871	,038031	1,08937	1,41663	1,198	1,326
2,81250	3	3,12600	,093215	,053818	2,89444	3,35756	3,021	3,199
5,62500	3	6,42867	,115140	,066476	6,14264	6,71469	6,324	6,552
11,25000	3	10,12367	,244222	,141002	9,51699	10,73035	9,891	10,378
22,50000	3	14,51567	,308338	,178019	13,74971	15,28162	14,216	14,832
Total	15	7,08940	4,957366	1,279986	4,34410	9,83470	1,198	14,832

Tabla 19. Homogeneidad de varianzas método ABTS.

Prueba de homogeneidad de varianzas

		Estadístico de Levene	gl1	gl2	Sig.
CRL	Se basa en la media	1,471	4	10	,282
	Se basa en la mediana	1,155	4	10	,386
	Se basa en la mediana y con gl ajustado	1,155	4	5,567	,421
	Se basa en la media recortada	1,453	4	10	,287

Tabla 20. ANOVA método DPPH.

ANOVA

CRL

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	343,695	4	85,924	2373,556	,000
Dentro de grupos	,362	10	,036		
Total	344,057	14			

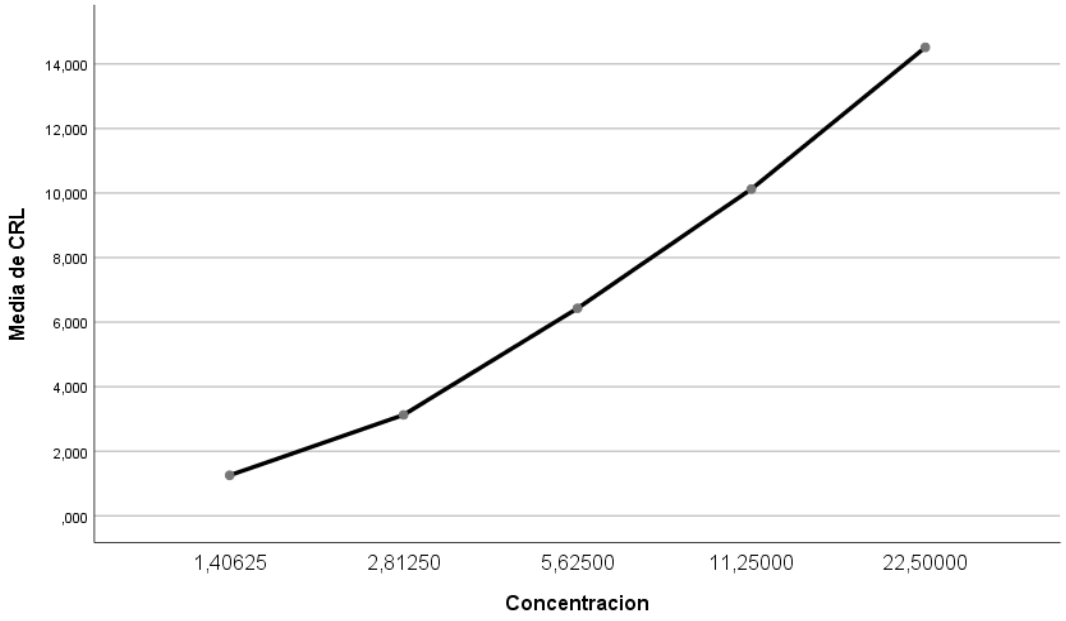


Gráfico 10. Curva (Media de CRL vs Concentración).

V.4 Análisis de irritabilidad

En la aplicación del método HET-CAM se siguieron los siguientes pasos:

1. Se colocó a contraluz cada huevo y se marcó un círculo en la parte de la cámara de aire de cada huevo, perforando la cascara en ese espacio.
2. Se hidrataron los huevos con suero fisiológico, aproximadamente 2 mL durante 5 minutos.
3. Se retiró la película hidratada de cada huevo.
4. Se formaron 8 grupos por cuatriplicado y se procedió a colocar las soluciones.

De esta forma se obtuvo los siguientes resultados:

Tabla 21. Grupos formados para la determinación de irritabilidad.

Nº GRUPO	MUESTRA	SUSTANCIA	Nº DE HUEVOS
1	Blanco	Suero fisiológico	4
2	Control positivo 1	NaOH 0.1 N	4
3	Control positivo 2	Lauril sulfato de sodio 0,01 N	4
4	Control negativo	Dimetilsulfóxido (DMSO)	4
5	Muestra Nº 1	Aceite de ungurahui al 1.5 %	4
6	Muestra Nº 2	Aceite de ungurahui al 3%	4
7	Muestra Nº 3	Aceite de ungurahui al 5%	4
8	Muestra Nº 4	Aceite de ungurahui Puro	4

V.4.1 HET-CAM Cualitativo

Tabla 22. Resultados por el método HET-CAM Cualitativo del aceite de “ungurahui”.

GRUPO	Nº Huevo	TIEMPO (segundos)			Índice de irritación	Categoría irritante
		H	L	C		
Grupo 1: Blanco: Suero fisiológico	1	0	0	0	0	No irritante
	2	0	0	0	0	No irritante
	3	0	0	0	0	No irritante
	4	0	0	0	0	No irritante
GRUPO 2: Control positivo 1: NaOH 0,1 N	1	20	20	160	15,5	Muy irritante
	2	20	20	123	16,6	Muy irritante
	3	25	25	126	16,3	Muy irritante
	4	22	22	77	17,9	Muy irritante
GRUPO 3: Control positivo 2: Lauril sulfato de sodio 0,01 N	1	25	25	80	17,7	Muy irritante
	2	17	17	110	17,1	Muy irritante
	3	25	22	116	16,7	Muy irritante
	4	30	30	100	16,9	Muy irritante
GRUPO 4: Control negativo: Dimetilsulfóxido (DMSO)	1	0	0	0	0	No irritante
	2	0	0	0	0	No irritante
	3	0	0	0	0	No irritante
	4	0	0	0	0	No irritante
GRUPO 5: Muestra Nº 1: Muestra al 1.5 %	1	0	0	0	0	No irritante
	2	0	0	0	0	No irritante
	3	0	0	0	0	No irritante
	4	0	0	0	0	No irritante
GRUPO 6: Muestra Nº 2: Muestra al 3%	1	0	0	0	0	No irritante
	2	0	0	0	0	No irritante
	3	0	0	0	0	No irritante
	4	0	0	0	0	No irritante
GRUPO 7: Muestra Nº 3: Muestra al 5%	1	0	0	0	0	No irritante
	2	0	0	0	0	No irritante
	3	0	0	0	0	No irritante
	4	0	0	0	0	No irritante
GRUPO 8: Muestra Nº 4: Muestra Pura	1	0	0	0	0	No irritante
	2	0	0	0	0	No irritante
	3	0	0	0	0	No irritante
	4	0	0	0	0	No irritante

V.4.2 HET-CAM Cuantitativos

Tabla 23. Resultados por el método HET-CAM Cuantitativo (CAM-TBS) del aceite de "ungurahui".

GRUPO	Nº HUEVO	PESO (Mg)	ABSORBANCIA	CONCENTRACIÓN DEL COLORANTE	CANTIDAD DEL COLORANTE (nmoles/Mg)	CLASIFICACIÓN
Grupo 1: Blanco: Suero fisiológico	1	476,9	0,095	0,00000713	0,0747	No irritante
	2	346,0	0,065	0,00000483	0,0698	No irritante
	3	704,3	0,171	0,00001294	0,0919	No irritante
GRUPO 2: Control positivo 1: NaOH 0,1 N	1	766,5	0,371	0,00002823	0,1842	Irritante
	2	205,5	0,151	0,00001141	0,2776	Irritante
	3	924,0	0,607	0,00004628	0,2504	Irritante
GRUPO 3: Control positivo 2: Lauril sulfato de sodio 0,01 N	1	481,5	0,168	0,00001271	0,1320	Moderadamente irritante
	2	779,2	0,544	0,00004146	0,2661	Irritante
	3	885,2	0,466	0,00003550	0,2005	Irritante
GRUPO 4: Control negativo: DMSO (dimetilsulfóxido)	1	949,6	0,221	0,00001676	0,0883	No irritante
	2	993,9	0,237	0,00001799	0,0905	No irritante
	3	1085,7	0,256	0,00001944	0,0895	No irritante
GRUPO 5: Muestra Nº 1: Muestra al 1.5 %	1	1758,7	0,457	0,00003481	0,0990	No irritante
	2	979,8	0,095	0,00000713	0,0364	No irritante
	3	1012,4	0,091	0,00000682	0,0337	No irritante
GRUPO 6: Muestra N.º 2: Muestra al 3%	1	1758,2	0,286	0,00002173	0,0618	No irritante
	2	1719,1	0,358	0,00002724	0,0792	No irritante
	3	1898,7	0,480	0,00003657	0,0963	No irritante
GRUPO 7: Muestra N.º 3: Muestra al 5%	1	710,8	0,118	0,00000889	0,0625	No irritante
	2	834,2	0,176	0,00001332	0,0798	No irritante
	3	1264,7	0,287	0,00002181	0,0862	No irritante
GRUPO 8: Muestra N.º 4: Muestra pura	1	480,5	0,050	0,00000369	0,0384	No irritante
	2	648,1	0,153	0,00001156	0,0892	No irritante
	3	835,3	0,169	0,00001279	0,0765	No irritante

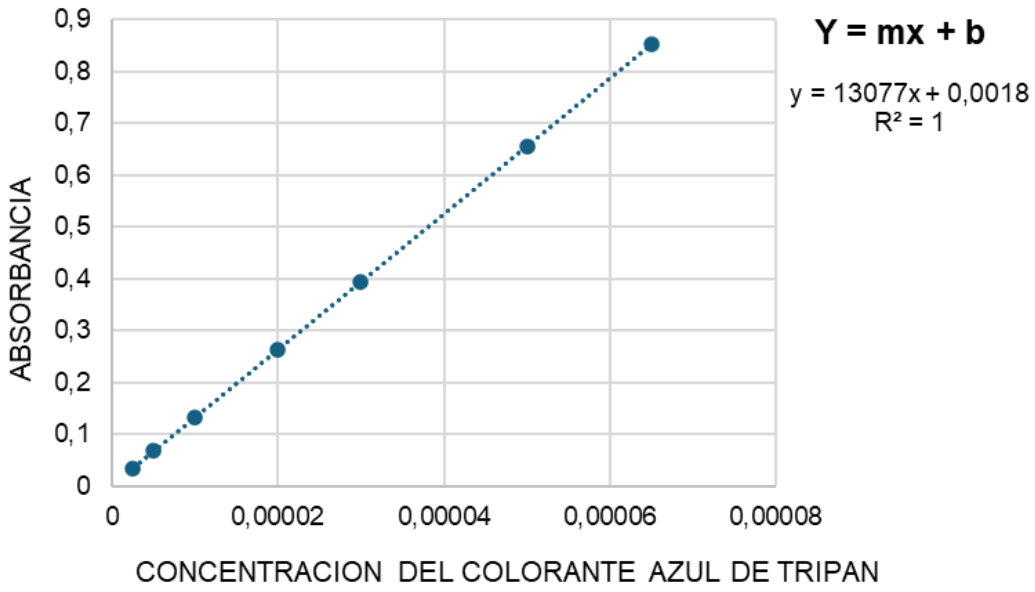


Gráfico 11. Curva de calibración del colorante Azul de Tripán en formamida (Absorbancia vs Concentración del colorante Azul de Tripán).

Se realizó la curva absorbancia vs concentración del colorante azul de tripán, para obtener una ecuación que nos ayudó a determinar la clasificación de la irritabilidad.

VI. DISCUSIÓN

El análisis fisicoquímico del aceite de *Oenocarpus bataua* “ungurahui” de Iquitos, evidencio un perfil compatible con aplicaciones cosméticas, destacando una densidad promedio de 0.8434 g/mL (Tabla 7), la cual es consistente con lo reportado para aceites vegetales ricos en ácidos grasos monoinsaturados, como el ácido oleico, que presenta una densidad entre 0.840 y 0.915 g/mL a 20 °C (8), lo que sugiere una alta proporción de ácidos grasos insaturados de cadena larga, lo cual es coherente con estudios previos que reportan hasta un 70% de ácido oleico en este tipo de aceite; en aplicaciones cosméticas, una densidad adecuada garantiza buena extensibilidad sobre la piel y estabilidad en emulsiones, respaldando así la viabilidad del aceite de “ungurahui” como ingrediente cosmético natural con propiedades funcionales y sensoriales adecuadas (34).

El pH promedio fue de 4.5, sin variación entre muestras, indicando estabilidad y homogeneidad del aceite, este pH es característico de aceites vegetales sin procesos de refinado pudiéndose atribuir a la presencia de ácidos grasos libres y compuestos fenólicos. Siendo así, los aceites vegetales con pH entre 4.0 y 5.5 suelen conservar mejor sus propiedades antioxidantes y antimicrobianas (35). Un pH ligeramente ácido es compatible con el pH fisiológico de la piel (4.5–5.5) y esto minimiza el riesgo de irritación, favoreciendo el mantenimiento de la barrera cutánea.

El índice de refracción fue determinado para evaluar la pureza y grado de insaturación del aceite, los resultados entre 1.463 y 1.464 lo sitúan dentro del rango esperado para aceites vegetales ricos en ácidos grasos insaturados, como el ácido oleico (1.460 y 1.470 a 40°C) (5).

El índice de acidez fue de 14.74 % de ácido oleico, según el Codex Alimentarius (36), los aceites vírgenes deberían tener índices de acidez menores al 4%, lo que sugiere una hidrólisis parcial de los triglicéridos, posiblemente por acción enzimática durante la postcosecha o almacenamiento (35), pese a que el resultado es superior al límite recomendado para uso alimentario, puede ser viable para aplicaciones cosméticas ya

que los ácidos grasos tienen efectos positivos en cuanto a su función emoliente y permeabilidad cutánea (23).

El índice de saponificación fue de 192.50 mg KOH/g, consistente con aceites de ácidos grasos de cadena media a larga, los índices de saponificación entre 180 y 200 mg KOH/g son ideales para la producción de jabones y emulsiones cosméticas (12,37), respaldando su potencial como fase oleosa para aplicaciones cosméticas (7).

El índice de yodo fue de 8.047 cg I_2/g, siendo un valor bajo en comparación con otros aceites altamente insaturados, como el aceite de linaza (>170) o girasol (>120) (5), ante ello el aceite de “ungurahui” aunque posee un alto contenido de ácido oleico, su índice de yodo puede ser bajo debido a la estructura específica de los triglicéridos presentes, por lo que una menor insaturación puede conferirle mayor estabilidad oxidativa, lo cual es beneficioso para aplicaciones cosméticas que requieren conservación prolongada sin antioxidantes sintéticos (8); el bajo índice también lo hace adecuado para formulaciones que no deben amarillear u oxidarse fácilmente con la exposición a la luz o al aire.

En cuanto al índice de peróxidos, este mide el nivel de oxidación primaria del aceite, con la formación de hidroperóxidos, primeros productos de la rancidez lipídica, el aceite de “ungurahui” tuvo un resultado de 18.85 meq O_2/kg, esto excede el límite recomendado por el Codex Alimentarius para aceites vírgenes (<15 meq O_2/kg), siendo así se estaría en presencia de inicio de oxidación lipídica por exposición al oxígeno, calor o luz durante el proceso de extracción o almacenamiento (36). En el ámbito de la cosmética, este valor se considera aceptable si el aceite se estabiliza por medio de la adición de antioxidantes naturales como tocoferoles, en este caso, el aceite de “ungurahui” contiene α-tocoferol y esto puede contribuir a retardar la formación de productos secundarios de oxidación (6), esto sería clave para determinar la vida útil y las condiciones óptimas de conservación del aceite como ingrediente cosmético.

El perfil fitoquímico del aceite de *Oenocarpus bataua* “ungurahui” evidencia una clara diferenciación entre la composición de la pulpa fresca y su fracción lipídica extraída. Si bien estudios en pulpa reportan concentraciones relevantes de compuestos fenólicos totales, incluyendo procianidinas, antocianinas y otros polifenoles con potencial nutracéutico (30), en el presente estudio dichos metabolitos no fueron detectados mediante ensayos clásicos como $FeCl_3$, Shinoda o Rosenheim, lo cual puede atribuirse a su carácter predominantemente hidrosoluble y a su limitada transferencia hacia la fase oleosa durante la extracción. Esta diferencia resalta la importancia de considerar la naturaleza química de la matriz evaluada al interpretar resultados fitoquímicos. En contraste, el tamizaje mostró presencia marcada de compuestos esteroidales y triterpenoides, así como taninos y leves indicios de alcaloides, metabolitos asociados a actividad biológica tópica, estabilidad estructural y posible acción antioxidante complementaria. Estos hallazgos se alinean con reportes que describen para patawa un alto contenido de ácido oleico (≈76%) y una relación saturados/insaturados favorable (18.5%:81.5%), similar al aceite de oliva (8), lo que sugiere una matriz lipídica predominantemente monoinsaturada con buena estabilidad oxidativa. Además, la literatura señala la presencia significativa de α-tocoferol como componente mayoritario de la fracción insaponificable (8), antioxidante lipofílico que actúa interrumpiendo la cadena de peroxidación lipídica. En este sentido, la actividad antioxidante del aceite no dependería de polifenoles hidrosolubles, sino principalmente de su fracción insaponificable rica en tocoferoles, esteroles y triterpenos, lo que refuerza su potencial como ingrediente cosmético funcional. Así, los resultados no solo confirman la naturaleza lipídica del aceite, sino que permiten reinterpretar su bioactividad desde una perspectiva estructural y no meramente fenólica.

La actividad antioxidante del aceite de *Oenocarpus bataua* mostró un comportamiento dosis-dependiente tanto en el método DPPH como en ABTS, evidenciándose un incremento progresivo del % de captación de radicales libres (%CRL) conforme aumentó la concentración. En el ensayo DPPH, el aceite presentó un IC_{50} de 11.580 µg/mL, mientras que en ABTS fue de 14.499 mg/mL, lo que indica mayor afinidad frente al radical DPPH, coherente con la naturaleza lipofílica del aceite y la presencia

de compuestos como α-tocoferol, carotenoides y fitoesteroles reportados para esta especie (8,10,12). Los valores obtenidos (288.172 µg Trolox/g para DPPH y 196.309 µg Trolox/g para ABTS) confirman una capacidad antioxidante moderada pero relevante en matrices oleosas. La comparación con el estándar Trolox (IC_{50} de 3.432 µg/mL en DPPH y 2.763 µg/mL en ABTS) valida el modelo experimental y permite expresar los resultados en unidades equivalentes reconocidas (31,40,41). Las diferencias observadas entre ambos métodos pueden atribuirse a la distinta sensibilidad espectrofotométrica y al carácter lipofílico o acuoso de cada sistema radicalario (30), manteniéndose en ambos casos una respuesta estadísticamente dependiente de la concentración. En conjunto, los resultados respaldan el potencial antioxidante del aceite de “ungurahui” para aplicaciones cosméticas, particularmente en formulaciones con predominio de fase oleosa, donde puede contribuir a la protección frente al estrés oxidativo y a la estabilidad del producto (8,12).

En el ensayo HET-CAM los resultados de la Tabla 17 exponen que las muestras del aceite de “ungurahui” de Iquitos en concentraciones de 1.5%, 3%, 5% y pura no provocaron hemorragia, lisis ni coagulación en la membrana corioalantoidea, clasificándose como un producto “no irritante” (26), al igual que los controles negativos (DMSO y suero fisiológico); por otro lado, los controles positivos (NaOH 0.1 N y lauril sulfato de sodio 0.01 N) generaron un índice de irritación entre 15.5 y 17.9, considerados “muy irritantes”, validando de esta manera la sensibilidad y especificidad del modelo. Estos resultados concuerdan con reportes que describen a los aceites vegetales de perfil insaponificable alto y ricos en esteroles, como Oenocarpus bataua, como dermocompatibles y poco agresivos para tejidos epiteliales, atribuyendo su bajo perfil irritante a compuestos con propiedades antiinflamatorias como fitoesteroles y triterpenos (8,25); asimismo, el análisis cuantitativo mediante captación de azul de tripán evidenció valores de absorbancia entre 0.050 y 0.480 y niveles de 0.0337 a 0.0990 nmoles/mg, ubicándose en la categoría “no irritante” según la curva de calibración (Gráfico 9), a diferencia de los controles positivos que alcanzaron hasta 0.607 de absorbancia y 0.2776 nmoles/mg, clasificándose como “irritantes” o “moderadamente irritantes”, reafirmando la ausencia de alteración de la membrana

CAM incluso a altas concentraciones y destacando la sensibilidad del método ante lesiones leves que podrían pasar desapercibidas en observación macroscópica (13,42). De esta manera se puede sugerir que el aceite de “ungurahui” de Iquitos puede ser utilizado para preparaciones cosméticas, ya que no es potencialmente irritante para los seres humanos.

VII. CONCLUSIONES

1. El aceite de *Oenocarpus bataua* “ungurahui” proveniente de Iquitos presentó características fisicoquímicas similares a las reportadas para aceites de la misma especie. Los ensayos DPPH y ABTS evidenciaron una actividad antioxidante significativa, mientras que la evaluación del potencial irritante ocular mediante el método HET-CAM no mostró efectos irritantes. En conjunto, estos resultados respaldan el potencial del aceite de ungurahui de Iquitos como ingrediente funcional para aplicaciones cosméticas.
2. La caracterización fisicoquímica del aceite de *Oenocarpus bataua* “ungurahui” procedente de Iquitos presentó valores comparables a los aceites de la región sudamericana, particularmente de Brasil; los parámetros de densidad, índice de refracción, acidez, saponificación y yodo se encuentran dentro de rangos similares.
3. La actividad antioxidante del aceite de *Oenocarpus bataua* “ungurahui” proveniente de Iquitos fue evaluada mediante los métodos DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazilo) y ABTS (ácido 2,2′-azino-bis (3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico)), obteniéndose valores de 288,186 µg/g y 196,309 µg/g, respectivamente.
4. De acuerdo a las pruebas de irritabilidad ocular *in vitro* realizado por el método HET-CAM y HET-CAM TBS, se determinó que el aceite de “ungurahui” proveniente de la zona de Iquitos, no evidenció daños en la membrana corioalantoidea del huevo, clasificándose como no irritante.

VIII. RECOMENDACIONES

Se plantean las siguientes recomendaciones para fortalecer el aprovechamiento científico, tecnológico y cosmético del aceite de *Oenocarpus bataua* "ungurahui" de Iquitos:

- Realizar análisis de estabilidad físico-químico y microbiológica, con los que se pueda determinar su comportamiento bajo condiciones reales de almacenamiento y formulación.
- Desarrollar estudios complementarios *in vitro* e *in vivo* de biocompatibilidad cutánea, como ensayos de citotoxicidad sobre líneas celulares epidérmicas y pruebas de parche dérmico.
- Estudiar la composición fitoquímica con técnicas cromatográficas, como Cromatografía de gases-espectrometría de masas (GC-MS) y Cromatografía de alta resolución (HPLC) que permitirá estandarizar el aceite como insumo cosmético.
- Analizar su efecto sinérgico con otros ingredientes activos, especialmente antioxidantes hidrofílicos, para el desarrollo de formulaciones con actividad antioxidante potenciada.

IX. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Vargas-Arana G, Merino-Zegarra C, Maytahuari-Aricari G, Ochoa-Ipushima M. Valor nutricional y capacidad antioxidante de cuatro frutos de palmeras nativas de la Amazonía Peruana. Folia Amazónica [Internet]. 2022 [cited 2025 May 12];31(1):17–29. Available from: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S2410-11842022000100017&lng=es&nrm=iso&tlng=es

2. Rivera M del P. ACTIVIDAD IRRITANTE OCULAR IN VITRO POR EL METODO DEL HET – CAM DEL EXTRACTO ETANOLICO DE LA RAIZ, TALLO Y HOJAS DE Rumex crispus L. “CUTURRUMASA” [Internet]. [Lima, Perù]: UNIVERSIDAD INCA GARCILASO DE LA VEGA; 2017 [cited 2025 May 12]. Available from: https://es.scribd.com/document/478613737/TESIS-MERCEDES-DEL-PILAR-RIVERA-HUAYTALLA-convertido

3. Carbonero S, Cardenas A, Cier S, Fernández E, Quinto E, Yaurw A. La Amazonía: Un Tesoro de Biodiversidad para la Creación de Empresas Sostenibles - Revista Digital USMP FCARRHH. Revista Digital Facultad de Ciencias Administrativas y Recursos Humanos [Internet]. [cited 2026 Jan 21];(8). Available from: https://www.administracion.usmp.edu.pe/revista-digital-usmp/entrada_8/un-tesoro-de-biodiversidad-para-la-creacion-de-empresas-sostenibles/

4. EURL ECVAM – European Union Reference Laboratory for Alternatives to Animal Testing. Validated alternative methods for toxicological testing. European Commission Joint Research Centre [Internet]. 2020 [cited 2025 May 16]. Available from: https://ec.europa.eu/jrc/en/eurl/ecvam

5. Rendón W, Chavez G, Torrico D. EVALUACIÓN QUÍMICA DEL ACEITE DE OENOCARPUS BATAUA “ACEITE DE MAJO.” Revista Boliviana de Química [Internet]. 2013 [cited 2025 May 12];30(1):70–3. Available from: http://www.scielo.org.bo/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0250-54602013000100009&lng=es&nrm=iso&tlng=es

6. Montúfar R, Laffargue A, Pintaud JC, Hamon S, Avallone S, Dussert S. Oenocarpus bataua Mart. (Arecaceae): Rediscovering a Source of High Oleic Vegetable Oil from Amazonia. J Am Oil Chem Soc [Internet]. 2010 Feb 1 [cited 2025 May 12];87(2):167–72. Available from: https://aocs.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1007/s11746-009-1490-4

7. Pilco GE. Optimización del proceso de extracción de aceite de ungurahua (Oenocarpus bataua) en función del rendimiento [Internet]. Universidad Técnica de Ambato; 2015 [cited 2025 May 12]. Available from: http://repositorio.uta.edu.ec/handle/123456789/9366

8. Darnet SH, Meller-Da Silva LH, Da Cruz-Rodrigues AM, Telles-Lins R. Nutritional composition, fatty acid and tocopherol contents of buriti (Mauritia flexuosa) and patawa (Oenocarpus bataua) fruit pulp from the amazon region. Food Science and Technology [Internet]. 2011 Apr [cited 2025 May 12];31(2):488–91. Available from: https://www.scielo.br/j/cta/a/fxrrdyVJpZHxq67t9RVsB7P/

9. González-Madariaga Y. Evaluación de la irritabilidad oftálmica de cremas cosméticas mediante un método in vitro en sustitución de la prueba en conejos (Ophthalmic irritability evaluation of cosmetic creams by in vitro method in substitution of the test in rabbits). Redvet Revista Electronica De Veterinaria [Internet]. 2006 Jan 1 [cited 2025 May 12];2. Available from: https://www.academia.edu/87501712/Evaluaci%C3%B3n_de_la_irritabilidad_oft%C3%A1lmica_de_cremas_cosm%C3%A9ticas_mediante_un_m%C3%A9todo_in_vitro_en_sustituci%C3%B3n_de_la_prueba_en_conejos_Ophthalmic_irritability_evaluation_of_cosmetic_creams_by_in_vitro_method_in_substitution_of_the_test_in_rabbits_?uc-sb-sw=64646047

10. Del Castillo SI, Pinedo-Huaycama VL. Bromatología de las pulpas integrales de Oenocarpus bataua (ungurahui) y Oenocarpus mapora (cinamillo): caracterización, compuestos fenólicos, capacidad antioxidante y minerales [Internet]. Universidad Nacional de la Amazonía Peruana. Universidad Nacional De La Amazonia Peruana;

2019 [cited 2025 May 12]. Available from: https://repositorio.unapiquitos.edu.pe/handle/20.500.12737/6376

11. Capillo N, Navarro K. Efecto de la adición del extracto hidroetanólico de semilla de ungurahui (Oenocarpus bataua Mart.) en forma libre y microencapsulado sobre la calidad de la galleta [Internet]. [Lima, Perù]: Universidad Nacional Mayor de San Marcos ; 2019 [cited 2025 May 12]. Available from: https://core.ac.uk/download/323343148.pdf

12. Camacho RM. Evaluación de la actividad antioxidante e irritabilidad dérmica del aceite de ungurahui Oenocarpus bataua para uso cosmético [Internet]. [Lima, Perù]: Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2015 [cited 2025 May 12]. Available from: https://hdl.handle.net/20.500.12672/4351

13. Taype E del R. Estandarización y validación del método HET-CAM para medir la irritabilidad ocular in vitro de los extractos de cinco frutos nativos del Perú utilizados en la industria cosmética [Internet]. [Lima, Perù]: Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2015 [cited 2025 May 12]. Available from: https://hdl.handle.net/20.500.12672/4474

14. Inocente MÀ, Toscano EM, Castañeda B. Efecto irritante in vitro de formulaciones cosméticas con extracto de camu camu, mediante el método Het Cam. Horizonte Médico (Lima) [Internet]. 2013 Jun 24 [cited 2025 May 12];13(2):12–8. Available from: https://www.horizontemedico.usmp.edu.pe/index.php/horizontemed/article/view/69

15. Balslev H, Grandez C, Paniagua NY, Møller AL, Hansen SL. Palmas (Arecaceae) útiles en los alrededores de Iquitos, Amazonía Peruana. Rev Peru Biol [Internet]. 2008 [cited 2025 May 12];15:121–32. Available from: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S1727-99332008000000014&lng=es&nrm=iso&tlng=es

16. Miranda J, Moraes M, Peralta C. Oenocarpus bataua: Una palmera aprovechada a nivel regional. In: Plural editores, editor. Palmeras y usos: Especies de Bolivia y la región [Internet]. La Paz: Herbario Nacional de Bolivia, Instituto de Ecología, Universidad Mayor de San Andrés; 2020 [cited 2026 Jan 21]. Available from:

https://www.researchgate.net/publication/342150637_Palmeras_y_usos_Especies_de_Bolivia_y_la_region?fbclid=IwAR3oBQtV_xqKHCsTGv8aX5ftXvDMKfHPzRQlM7-UKtwKMfhLzdm3B-ky-Ys

17. Castro S. Caracterización de la especie Oenocarpus bataua Mart palma seje : caracterización de especies vegetales priorizadas empleadas en el sector artesanal. Artesanías de Colombia, 2021 [Internet]. 2021 [cited 2026 Jan 21]; Available from: https://repositorio.artesaniasdecolombia.com.co/handle/001/15637

18. Rodríguez EH, Sánchez MF, Huaranca RJ, Chujutalli MC, Salazar ÁA, Vargas G, et al. Caracterización de frutos y semillas de Oenocarpus bataua (Arecaceae, Arecoideae, Euterpeae) procedentes de poblaciones naturales en la Amazonia peruana. Lilloa [Internet]. 2025 Jun 23 [cited 2026 Jan 21];62(1):341–67. Available from: https://www.lillo.org.ar/journals/index.php/lilloa/article/view/2102

19. Tian M, Bai Y, Tian H, Zhao X. The Chemical Composition and Health-Promoting Benefits of Vegetable Oils—A Review. Molecules 2023 [Internet]. 2023 Aug 31 [cited 2026 Jan 21];28(17). Available from: https://www.mdpi.com/1420-3049/28/17/6393

20. Konuskan DB, Arslan M, Oksuz A. Physicochemical properties of cold pressed sunflower, peanut, rapeseed, mustard and olive oils grown in the Eastern Mediterranean region. Saudi J Biol Sci [Internet]. 2018 Feb 1 [cited 2026 Jan 21];26(2):340. Available from: https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC6717124/

21. Parlamento Europeo y Consejo de la Unión Europea. Reglamento (CE) N.º 1223/2009 del Parlamento Europeo y del Consejo de 30 de noviembre de 2009 sobre los productos cosméticos. Diario Oficial de la Unión Europea, L342/59 [Internet]. 2009 [cited 2025 May 16]. Available from: https://eur-lex.europa.eu/legal-content/ES/TXT/?uri=CELEX:32009R1223

22. Ministerio de Salud del Perú. El Peruano. 2009 [cited 2025 May 16]. Decreto Supremo N.º 001-2009-SA. Reglamento sobre Vigilancia Sanitaria de los Productos Cosméticos. Available from: https://www.digemid.minsa.gob.pe

23. FDA – U.S. Food and Drug Administration. Cosmetics Laws & Regulations. U.S. Department of Health & Human Services [Internet]. 2022 [cited 2025 May 16]. Available from: https://www.fda.gov/cosmetics/cosmetics-laws-regulations

24. Comunidad Andina (CAN). Secretaría General de la Comunidad Andina. 2002 [cited 2025 May 16]. Decisión 516: Normas para productos de higiene personal, cosméticos y perfumes. Available from: https://www.comunidadandina.org/

25. Spielmann H. HET-CAM test. Methods Mol Biol [Internet]. 1995 [cited 2025 May 12];43:199–204. Available from: https://www.researchgate.net/publication/15647765_HET-CAM_test

26. Luepke NP, Kemper FH. The HET-CAM test: An alternative to the draize eye test. Food and Chemical Toxicology [Internet]. 1986 Jun 1 [cited 2025 May 12];24(6–7):495–6. Available from: https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/0278691586900992

27. Hernández R, Fernández C, Baptista P. Metodología de la investigación. 6 th. McGRAW HILL, editor. Metodología de la investigación. México; 2014. 1–634 p.

28. AOAC. Official Methods of Analysis, 22nd Edition. 2023 [cited 2026 Jan 21]. Official Methods of Analysis. Available from: https://www.aoac.org/official-methods-of-analysis/

29. Kedare SB, Singh RP. Genesis and development of DPPH method of antioxidant assay. J Food Sci Technol [Internet]. 2011 Aug [cited 2026 Jan 21];48(4):412. Available from: https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC3551182/

30. Quispe-Herrera R, Belizario-Ferrel JC, Quispe-Solís H, Paredes-Valverde Y, Cahuan-Mamani P, Valles-Coral MÁ, et al. Antioxidant capacity of Ungurahui nectar (Oenocarpus bataua). Nutricion Clinica y Dietetica Hospitalaria [Internet]. 2022 [cited 2025 May 12];42(1):80–6. Available from: https://www.cabidigitallibrary.org/doi/full/10.5555/20220274075

31. Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang M, Rice-Evans C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. Free Radic Biol

Med [Internet]. 1999 May 1 [cited 2025 Jun 4];26(9–10):1231–7. Available from: https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0891584998003153

32. Murillo G, Pérez U, Tur E, Vinardell MP, García G, Pascual JR. Estudio comparativo de tres variantes del ensayo de la membrana corioalantoidea del huevo de la gallina para la evaluación de la irritación ocular. Revista de toxicología, ISSN 0212-7113, Vol 20, Nº 3, 2003, págs 187-192 [Internet]. 2003 [cited 2025 May 12];20(3):187–92. Available from: https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=4081533

33. Lock Sing de Ugaz O. Investigación fitoquímica: métodos en el estudio de productos naturales. Pontificia Universidad Católica del Perú; 2022.

34. Gonzales-Horna CD, Lama-Guembes ET, Leandro-Ramirez G, Lujan-Oyola JR, Quispe-Vasquez XA. Producción y comercialización de shampoo y acondicionador natural a base de aceites de ungurahui, menta y romero “Amazon Hair” [Internet]. [Lima, Perú]: Universidad San Ignacio de Loyola; 2022 [cited 2025 May 12]. Available from: https://hdl.handle.net/20.500.14005/12742

35. Herrera DA. Composición química y perfil aminoacídico en una bebida elaborada en base a ungurahua [Internet]. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo; 2022 [cited 2025 May 12]. Available from: http://dspace.espoch.edu.ec/handle/123456789/18078

36. Codex Alimentarius. FAO/OMS. 2019 [cited 2025 Jun 3]. Standard for named vegetable oils (CXS 210-1999). Available from: https://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/sh-proxy/en/?lnk=1&url=https%253A%252F%252Fworkspace.fao.org%252Fsites%252Fcodex%252FStandards%252FCXS%2B210-1999%252FCXS_210e.pdf

37. Santos G. Produção não-madeireira e desenvolvimento Sustentável na Amazônia" Manual de Cosméticos [Internet]. [Brasilia]: Universidade de Brasília - UnB; 2005 [cited 2025 May 12]. Available from: https://www.academia.edu/39373220/_Produ%C3%A7%C3%A3o_n%C3%A3o_madeireira_e_desenvolvimento_Sustent%C3%A1vel_na_Amaz%C3%B4nia_Manual_de_Cosm%C3%A9ticos

38. Bustamante-Caballero RA. Evaluación de la toxicidad dérmica del aceite esencial de Schinus molle L. (MOLLE), elaboración de una forma cosmética y determinación del efecto repelente [Internet]. [Cusco]: Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco; 2023 [cited 2025 May 12]. Available from: http://hdl.handle.net/20.500.12918/7203

39. Cárdenas-Orihuela RA. Evaluación del perfil de seguridad de irritación dérmica in vitro mediante el método Het Cam. y actividad cicatrizante de formulaciones magistrales elaboradas con el extracto hidroalcohólico de las hojas de chupa sangre (Oenothera rosea Ait.) [Internet]. Universidad Privada Norbert Wiener; 2021 [cited 2025 May 12]. Available from: https://hdl.handle.net/20.500.13053/6015

40. Méndez-Durazno C, Cisneros-Perez PA, Loja-Ojeda BA, Monge-Sevilla R, Romero-Estévez D, Fernández L, et al. Antioxidant Capacity through Electrochemical Methods and Chemical Composition of Oenocarpus bataua and Gustavia macarenensis from the Ecuadorian Amazon. Antioxidants [Internet]. 2023 Feb 1 [cited 2025 May 12];12(2). Available from: https://www.dspace.uce.edu.ec/entities/publication/8ea48ad1-203d-41bc-8853-a39f3a13da55

41. Brand-Williams W, Cuvelier ME, Berset C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. LWT - Food Science and Technology [Internet]. 1995 Jan 1 [cited 2025 Jun 4];28(1):25–30. Available from: https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0023643895800085

42. Pimentel EF, Portes DB, Endringer DC. HET-CAM METHOD AS AN ALTERNATIVE MODEL TO OCULAR IRRITATION TEST FOR NATURAL PRODUCT. InterSciencePlace [Internet]. 2023 Nov 5 [cited 2025 May 12];18(3). Available from: https://www.interscienceplace.org/index.php/isp/article/view/615

43. MERCOSUR. Reglamento técnico MERCOSUR sobre clasificación de productos de higiene personal, cosméticos y perfumes (derogación de la Resolución GMC N° 07/05). MERCOSUR/GMC/RES. N° 18/23; 2023.

X. ANEXOS

Anexo 1. Certificado de clasificación taxonómica de la especie *Oenocarpus bataua* "ungurahui".

EL Blgo. **CESAR A. GRANDEZ RIOS** Msc. Con número de colegiatura 3052 del colegio de Biólogos del Perú, Profesor asociado de la Universidad Nacional de la Amazonia Peruana, adscrito al Departamento de Botánica, con domicilio legal en la calle 16 de julio 173 Belén – Iquitos

CERTIFICA

Que, la especie vegetal presentada a la vista, por la Mg. Q.F. Mónica Guadalupe Retuerto Figueroa pertenecen a las siguiente orden, familia y especie botánica.

Orden	Familia	Género y especie	Nombre vernacular
Arecales	**Arecaceae**	***Oenocarpus bataua***	**ungurahui**

Se expide el presente certificado a solicitud del interesado para fines conveniente

Iquitos, 01 de julio del 2021

BLGO. CESAR A. GRANDEZ RIOS
PROF. ASOSIADO FACULTAD DE CIENCIAS BIOLOGICAS
UNAP-IQUITOS
DNI. 05295541

Anexo 2. Matriz de Consistencia

PROBLEMA	OBJETIVOS	HIPÓTESIS	VARIABLES	METODOLOGÍA
¿Cuáles son las características fisicoquímicas, la actividad antioxidante del aceite de *Oenocarpus bataua* "ungurahui" de Iquitos y cuál es el grado de irritabilidad *ocular in vitro* utilizando el método HET-CAM?	**OBJETIVO GENERAL:** Analizar las características fisicoquímicas, actividad antioxidante y la irritabilidad ocular *in vitro* del aceite de *Oenocarpus bataua* "ungurahui" de Iquitos mediante el método HET-CAM. **OBJETIVOS ESPECÍFICOS:** 1. Realizar la caracterización fisicoquímica del aceite de *Oenocarpus bataua* "ungurahui" de Iquitos. 2. Evaluar la actividad antioxidante del aceite de *Oenocarpus bataua* "ungurahui" de Iquitos. 3. Evaluar el efecto irritante del aceite de *Oenocarpus bataua* "ungurahui" de Iquitos utilizando el método HET-CAM.	La caracterización fisicoquímica, la actividad antioxidante y el grado de irritabilidad ocular *in vitro* (HET-CAM) del aceite de *Oenocarpus bataua* "ungurahui" de Iquitos, cumplen con los parámetros analizados en aceites similares para la evaluación de la calidad del aceite.	**VARIABLE INDEPENDIENTE** Concentraciones del aceite de *Oenocarpus bataua* "ungurahui". **VARIABLES DEPENDIENTES** 1. Características fisicoquímicas. 2. Actividad antioxidante del aceite por método: - DPPH - ABTS 3. Grado de irritabilidad in vitro método HET-CAM.	**TIPO Y DISEÑO DE INVESTIGACIÓN** - Experimental prospectiva. **UNIDAD DE ANÁLISIS** - Frutos de *Oenocarpus bataua* "ungurahui" de Iquitos sin daños físicos ni signos de descomposición; se utilizará la cáscara, la pulpa y la semilla. **POBLACIÓN** - Frutos enteros de *Oenocarpus bataua* "ungurahui" obtenidos de la ciudad de Iquitos y huevos fértiles de gallina (*Gallus gallus domesticus*) obtenidos del criadero de aves "Gallinas Gigantes" ubicado en el distrito de San Antonio, Huarochirí - Lima. **TAMAÑO DE MUESTRA** - Se utilizarán 500 mL de aceite del fruto de *Oenocarpus bataua* "ungurahui" y 100 huevos de gallina fértiles (*Gallus gallus domesticus*). **MÉTODOS** Extracción mecánica del aceite. Análisis fisicoquímicos. Análisis fitoquímicos. Método HET-CAM.

Anexo 3. Registro fotográfico del método HET-CAM y HET-CAM TBS.



Figura 20. Incubación de los huevos.

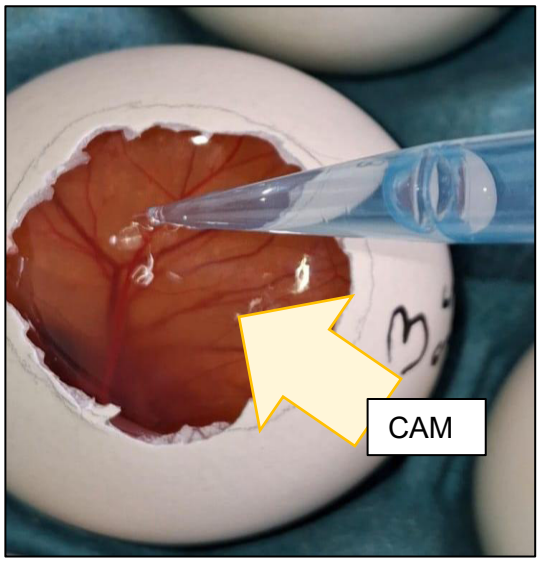


Figura 21. Aplicación de muestra en la CAM de cada huevo.



A. Antes de aplicar el suero fisiológico.

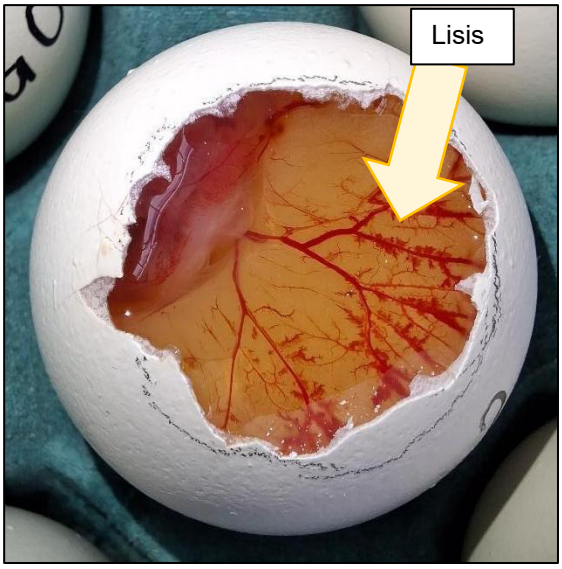


B. Después de aplicar el suero, no evidencia cambios.

Figura 22. Evaluación del Grupo Nº1: Suero Fisiológico.

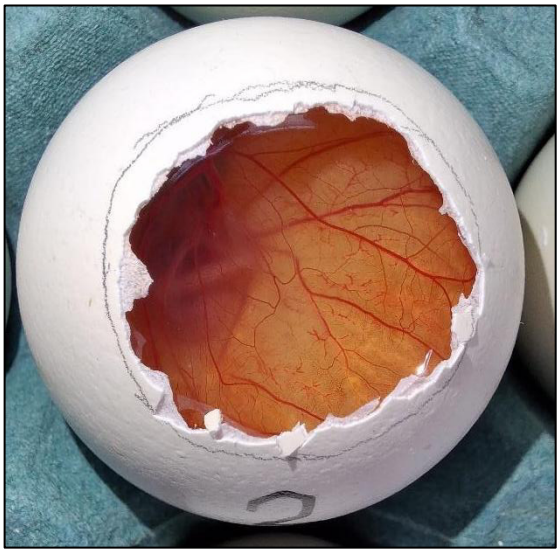


A. Antes de aplicar el NaOH.

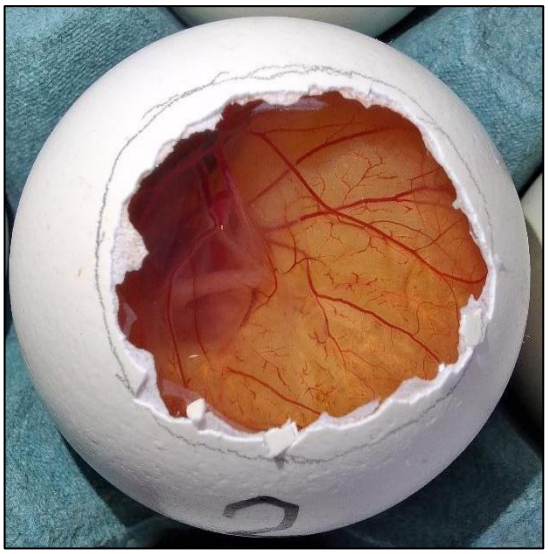


B. Después de aplicar el NaOH, se observa lisis en los vasos sanguíneos.

Figura 23. Evaluación del Grupo Nº2: Hidróxido de sodio.

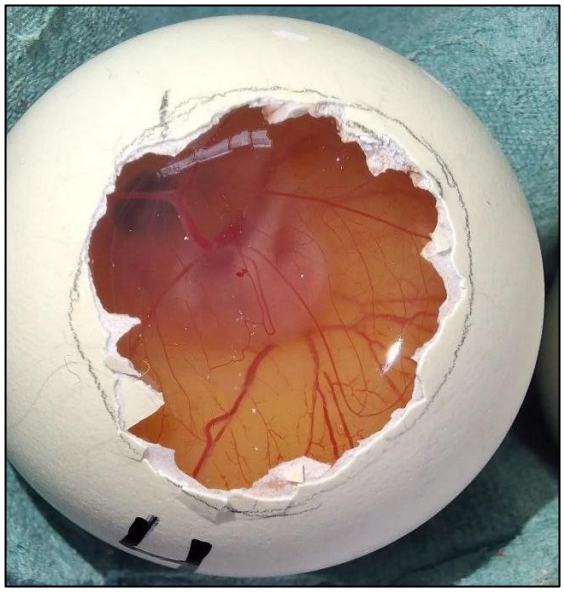


A. Aplicar Lauril Sulfato de sodio



B. Después de aplicar Lauril sulfato de sodio, no evidencia cambios en los vasos sanguíneos.

Figura 24. Evaluación del Grupo Nº3: Lauril sulfato de sodio.



A. Antes de aplicar el Dimetilsulfóxido.



B. Después de aplicar el Dimetilsulfóxido, no hubo cambios en los vasos sanguíneos.

Figura 25. Evaluación del Grupo Nº4: DMSO (dimetilsulfóxido).

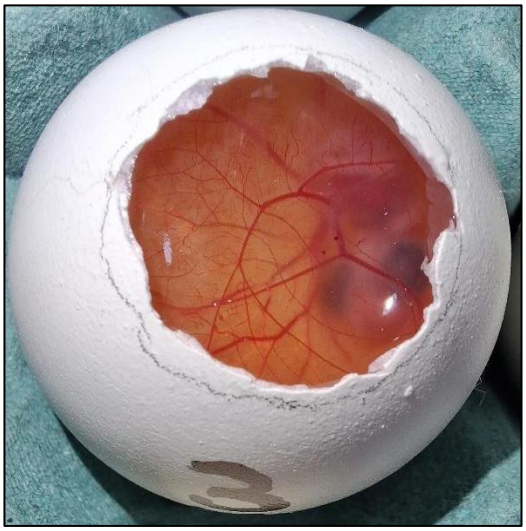


A. Antes de aplicar la muestra de aceite.

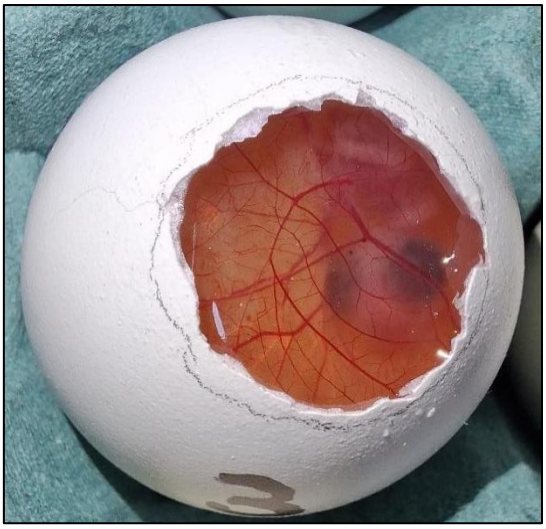


B. Después de aplicar la muestra de aceite, no hubo cambios en los vasos sanguíneos.

Figura 26. Evaluación del Grupo Nº5: Muestra al 1.5 %.



A. Antes de aplicar la muestra de aceite.



B. Después de aplicar la muestra de aceite, no hubo cambios en los vasos sanguíneos.

Figura 27. Evaluación del Grupo Nº6: Muestra al 3%

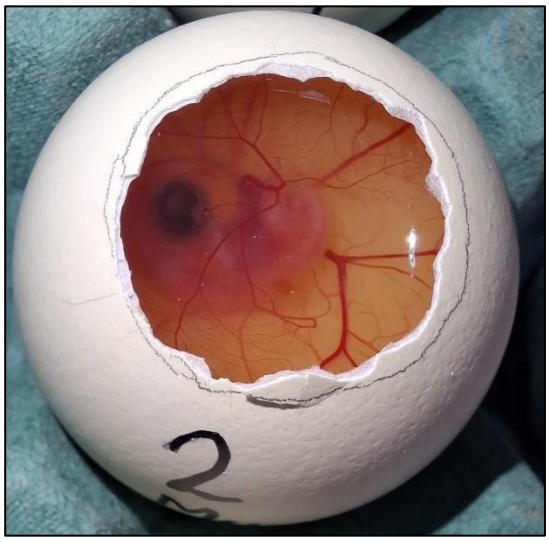


A. Antes de aplicar la muestra de aceite.

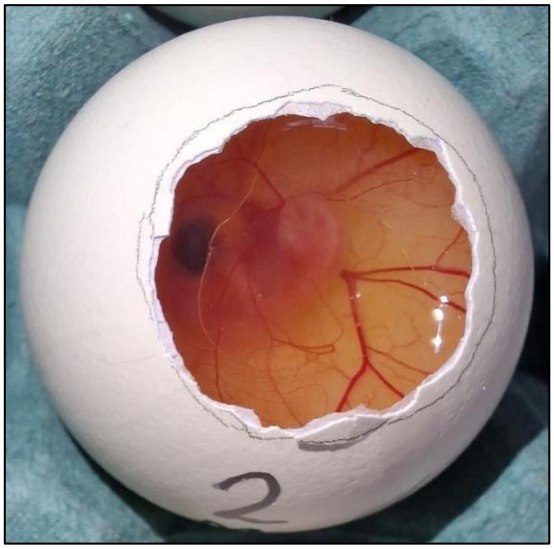


B. Después de aplicar la muestra de aceite, no hubo cambios en los vasos sanguíneos.

Figura 28. Evaluación del Grupo Nº7: Muestra al 5%



A. Antes de aplicar la muestra de aceite.



B. Después de aplicar la muestra de aceite, no hubo cambios en los vasos sanguíneos.

Figura 29. Evaluación del Grupo Nº8: Muestra pura.



Figura 30. Tinción de la Membrana corioalantoidea con Azul de tripán.

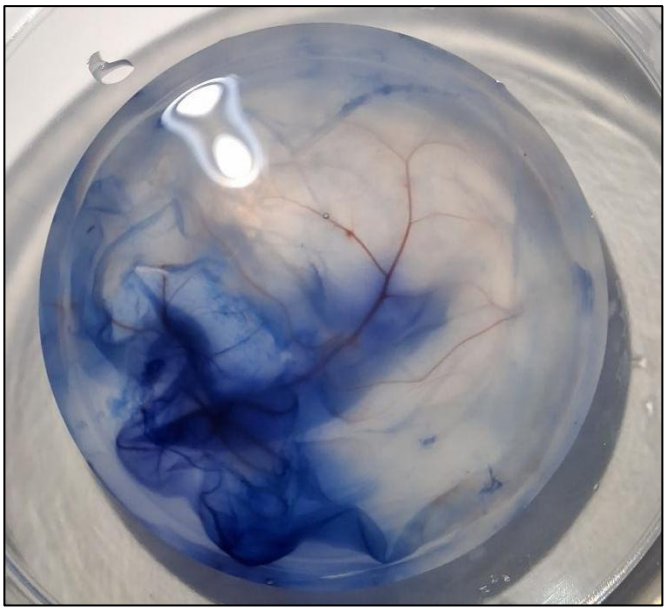
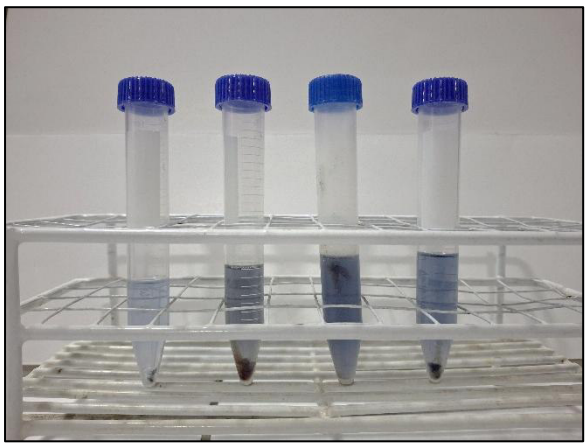
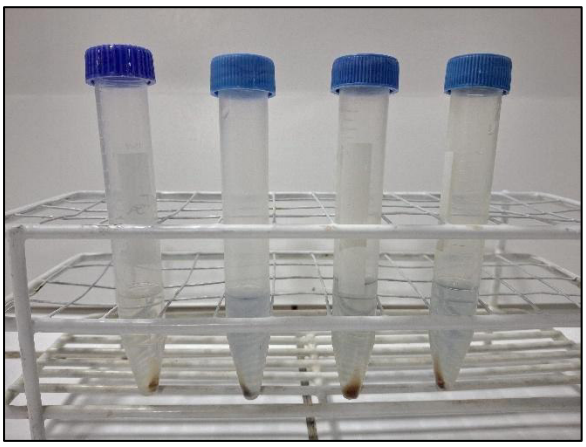


Figura 31. Extracción de la Membrana corioalantoidea.



A. Tubos con muestras del grupo Nº2: NaOH.



B. Tubos con muestras del grupo Nº8: Muestra pura.

Figura 32. Preparación de muestras para la metodología CAM-TBS. Tubos con la CAM teñida con azul de tripán en formamida.