

UNIVERSIDAD POLITÉCNICA SALESIANA

SEDE QUITO

UNIDAD DE POSTGRADO

**MAESTRÍA EN CIENCIAS Y TECNOLOGÍAS
COSMÉTICAS**

**Tesis previa a la obtención del título de: MAGISTER EN
CIENCIAS Y TECNOLOGÍAS COSMÉTICAS**

TEMA:

**ESTUDIO DE ESTABILIDAD DE UNA LOCIÓN FACIAL
ACTIACNÉ A BASE DE ACEITE ESENCIAL DE HIERBA
LUISA *Cymbopogon citratus* (DC) STAPF, POACEAE.**

AUTORA:

WILMA DE LAS MERCEDES GALLEGOS MEDINA

DIRECTORA:

MOSQUERA TAYUPANTA TATIANA DE LOS ÁNGELES

Quito, febrero de 2015

DECLARATORIA DE RESPONSABILIDAD Y AUTORIZACIÓN DE USO DEL TRABAJO DE GRADO

Yo Wilma de las Mercedes Gallegos Medina, autorizo a la Universidad Politécnica Salesiana la publicación total o parcial de este trabajo de grado y su reproducción sin fines de lucro.

Además declaro que los conceptos desarrollados, análisis realizados y las conclusiones del presente trabajo, son de exclusiva responsabilidad de la autora.

Wilma de las Mercedes Gallegos Medina
CI.1802044550

DEDICATORIA

A mi padre que me ha inculcado que el saber es la cuna del conocimiento, y que desde el cielo estará orgulloso de verme alcanzar otro objetivo más, en este maravilloso mundo.

AGRADECIMIENTOS

La cultura de los pueblos depende de las personas que de una u otra manera llegan a cultivar las ciencias.

Agradezco al personal del CIVABI, en donde pude realizar todas las pruebas para el desarrollo de este trabajo.

Mi reconocimiento a la Ing. Tatiana Mosquera MSc. quien con su sabiduría y experiencia supo darme un apoyo solidario para encausarme por una senda de superación en la meta propuesta.

A mi familia y mis amigos que con sus estímulos de aliento supieron crear en mi persona el afán de culminar un objetivo más de mi vida.

INDICE GENERAL

PORTADA	i
DECLARATORIA DE RESPONSABILIDAD Y AUTORIZACIÓN DE USO DEL TRABAJO DE GRADO.....	ii
DEDICATORIA.....	iii
AGRADECIMIENTOS	iv
INDICE GENERAL.....	v
INDICE DE GRÁFICOS.....	x
INDICE DE ANEXOS	xi
SIGLAS Y ACRÓNIMOS	xii
GLOSARIO	xiv
RESUMEN.....	1
ABSTRACT	3
CAPITULO I - INTRODUCCIÓN	5
1.1 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	5
1.2 ANTECEDENTES TEÓRICOS REFRENTES AL PROBLEMA	6
1.3 JUSTIFICACIÓN	8
1.4 OBJETIVOS	9
1.4.1 OBJETIVO GENERAL.....	9
1.4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	9
1.5 HIPÓTESIS.....	10
CAPITULO II - MARCO TEÓRICO	11
2.1 ESTADO DEL ARTE.....	11
2.2 ENFOQUE TEÓRICO.....	12
2.2.1 Acné	12
2.2.2 Etiopatología.....	13
2.2.2.1 Factores patogénicos.	13
2.2.2.2 <i>Propionibacterium acnes</i>	14

2.2.3 Tipos de lesión	14
2.2.4 Productos cosméticos para el acné.....	16
2.2.5 Loción	17
2.2.5.1 Clasificación de las lociones	17
2.2.6 Formulación de la loción anti-acné.....	18
2.2.7 Componentes de la formulación	18
2.2.7.1 Activo cosmético:.....	18
2.2.7.2 Excipientes	20
2.2.8 Selección de material de envase idóneo	21
2.2.8.1 Envase primario loción de la loción antiacné de Hierba luisa.	21
2.2.9 Estabilidad de los cosméticos	22
2.2.9.1 Factores que influyen sobre la estabilidad	24
2.2.9.2 Estabilidad acelerada para el cosmético.	25
2.2.9.3 Métodos de Estabilidad	26
CAPÍTULO III – ÁREA DE ESTUDIO Y METODOLOGÍA.....	33
3.1 FORMULACIÓN	33
3.1.1 Ingredientes cosméticos para la formulación de la loción antiacné.....	33
3.1.1.1 Aceite Esencial de Hierba Luisa <i>Cymbopogon citratus</i>	34
3.1.1.2 Isopropyl Mirystate	35
3.1.1.3 Alcohol denat.	36
3.1.1.4 PPG-15 Stearyl ether	37
3.1.1.5 Polysorbate 80	37
3.2 METODOLOGÍA.....	38
3.2.1 Diseño Experimental	38
3.2.2 Proceso de manufactura de la formulación.....	40
3.2.2.1 Procedimiento	40
3.2.2.2 Envase primario.....	42
3.2.3 Ensayo estabilidad preliminar.....	42
3.2.3.1 Selección formulación idónea	43
3.2.4 Control de Calidad.....	43
3.2.4.1 Especificaciones Físicas-organolépticas	43
3.2.4.2 Especificaciones Químicas.....	45
3.2.4.3 Especificaciones Microbiológicas.....	47
3.2.4.4 Actividad antibacteriana- antiacné frente a <i>P. acnes</i> . Determinación <i>in vitro</i> de la CMI.....	52

3.2.5 Estudio de Estabilidad.....	55
CAPÍTULO IV- RESULTADOS Y DISCUSIÓN	56
4.1 RESULTADOS ESTABILIDAD PRELIMINAR EN LAS 19 FORMULACIONES.....	56
4.2 RESULTADOS DE CALIDAD DE LAS MUESTRAS	57
4.2.1 Control de Calidad en la Muestra B.....	57
4.2.2 Control de calidad en la Muestra 5	62
4.2.3 Control de calidad en la Muestra 9	67
4.3 FICHA TÉCNICA PRODUCTO FINAL.....	71
CAPITULO V – CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	76
5.1 CONCLUSIONES	76
5.2 RECOMENDACIONES	78
BIBLIOGRAFÍA	80
ANEXOS	84

ÍNDICE DE TABLAS

TABLA N°1: TIPOS DE LESIONES ACNÉICAS	15
TABLA N°2: PARÁMETROS DE REFERENCIA.	24
TABLA N°3: FACTORES EXTRÍNSECOS E INTRÍNSECOS	24
TABLA N°4: VALORES DE CONSTANTES PARA DIFERENTES TEMPERATURAS Y ENERGÍAS DE ACTIVACIÓN DE POPPE:.....	31
TABLA N°5: INGREDIENTES COSMÉTICOS.	33
TABLA N° 6: COMPOSICIÓN QUÍMICA DEL ACEITE ESENCIAL DE HIERBA LUISA	35
TABLA N° 7: DISEÑO EXPERIMENTAL FUNCIÓN VS TIPO DE FACTOR	39
TABLA N° 8: FACTORES CONTROLABLES	39
TABLA N° 9: PRIMERA CORRIDA DE FORMULACIÓN.....	40
TABLA N° 10: SEGUNDA CORRIDA DE FORMULACIÓN	40
TABLA N° 11: EQUIPOS Y MATERIALES PARA LA ELABORACIÓN DE LA LOCIÓN ANTIACNÉ.....	41
TABLA N° 12: ESPECIFICACIÓN ENVASE PRIMARIO LOCIÓN ANTIACNÉ.	42
TABLA N° 13: CONDICIONES ESTABILIDAD PRELIMINAR	42
TABLA N° 14: ESPECIFICACIONES FÍSICO-ORGANOLÉPTICAS DE LA LOCIÓN ANTIACNÉ.....	44
TABLA N° 16: EQUIPOS Y MATERIALES PARA LA DETERMINACIÓN DE DENSIDAD.....	44
TABLA N° 15: EQUIPOS Y MATERIALES PARA LA DETERMINACIÓN DEL PH.	45
TABLA N° 17: EQUIPOS Y MATERIALES PARA LA DETERMINACIÓN DE CITRAL.	46
TABLA N° 18: LÍMITE DE CONTENIDO MICROBIOLÓGICO DE PRODUCTOS COSMÉTICOS.....	47
TABLA N° 19: MÉTODOS PARA LA DETERMINACIÓN MICROBIOLÓGICOS	48
TABLA N° 20: EQUIPOS Y MATERIALES PARA LA DETERMINACIÓN MICROBIOLÓGICA	48
TABLA N° 21: EQUIPOS, MATERIALES Y REACTIVOS EN LA DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN MÍNIMA INHIBITORIA CMI.....	53
TABLA N° 22: EQUIPOS Y CONDICIONES ESTABILIDAD ACELERADA.....	55
TABLA N°23: ESTABILIDAD PRELIMINAR DE LAS 19 FORMULACIONES	56
TABLA N° 24: RESULTADOS DE LOS PARÁMETROS DE CALIDAD EN LA MUESTRA B.	57
TABLA N° 25: HALOS DE INHIBICIÓN DE LA LOCIÓN ANTIACNÉ B FRENTE A LA <i>P.acnes</i>	58
TABLA N°26: DATOS PARA GRÁFICO LOG % DEGRADADO VS. 1/T X 10000 DE LA MUESTRA B.	59
TABLA N° 27: ESPECIFICACIONES DEL PRODUCTO TERMINADO MUESTRA B. ...	61

TABLA N°28: RESULTADOS DE LOS PARÁMETROS DE CALIDAD EN LA MUESTRA 5.	62
TABLA N° 29: HALOS DE INHIBICIÓN DE LA LOCIÓN ANTIACNÉ 5 FRENTE A LA <i>P.acnes</i>	63
TABLA N°30: DATOS PARA GRÁFICO LOG % DEGRADADO VS. 1/T X 10000 DE LA MUESTRA 5.	64
TABLA N° 31: ESPECIFICACIONES DEL PRODUCTO TERMINADO MUESTRA 5.	66
TABLA N° 32: RESULTADOS DE LOS PARÁMETROS DE CALIDAD EN LA MUESTRA 9	67
TABLA N° 33: HALOS DE INHIBICIÓN DE LA LOCIÓN ANTIACNÉ 9 FRENTE A LA <i>P.acnes</i>	68
TABLA N°34: DATOS PARA GRÁFICO LOG % DEGRADADO VS. 1/T X 10000 DE LA MUESTRA 9.	69
TABLA N° 35: ESPECIFICACIONES DEL PRODUCTO TERMINADO MUESTRA 9.	71

INDICE DE GRÁFICOS

GRÁFICO N° 1: ECUACIÓN DE ARRHENIUS	28
GRÁFICO N°2: ESTABILIDAD METODO DE POPPE	31
GRÁFICO N° 3: ANÁLISIS DE VARIANZA MUESTRA B.....	58
GRAFICO N° 4: LOG % DEGRADADO VS. 1/T X 10000 PARA LA MUESTRA B.....	60
GRAFICO N°5: ANÁLISIS DE VARIANZA MUESTRA 5	63
GRÁFICO N° 6: LOG % DEGRADADO VS. 1/T X 10000 PARA LA MUESTRA 5.	65
GRAFICO N°7: ANÁLISIS DE VARIANZA MUESTRA 9	68
GRAFICO N° 8: LOG % DEGRADADO VS. 1/T X 10000 PARA LA MUESTRA 9.	70

INDICE DE ANEXOS

ANEXO 1.- Fotografías de la investigación.....	84
ANEXO 2. Fichas técnicas de los ingrediente de la formulación de la loción antiacné según CosIng, Cosmetic Ingredients & Substances.....	88

SIGLAS Y ACRÓNIMOS

AE	Aceite Esencial.
ANVISA	Agencia Nacional de Vigilancia Sanitaria.
AOAC	Association of Analytical Communities.
BP99	British Pharmacopoeia 1999.
CAN	Comunidad Andina de Naciones.
CAS	Chemical Abstracts Service
COLIPA	Cosmetics Europe- The personal care association.
°C	Grados Celsius.
CMI	Concentración Mínima Inhibitoria.
CPS	Cantidad suficiente para.
D	Densidad.
DL₅₀	Dosis letal 50.
HR	Humedad Relativa.
ICH	Harmonisation for better health.
INCI	International Nomenclature of Cosmetic Ingredients
IPM	Isopropyl Myristate.
IRAM	Instituto Argentino de Normalización y Certificación.
INCI	Nomenclatura Internacional de Ingredientes Cosméticos.
Kcal	Kilocalorías.
mg/Kg	Miligramos/Kilogramos.
mm	Milímetros.
mL	Mililitros.

nm	Nanómetros.
OMS	Organización Mundial de la Salud.
PPG	Polipropileno glicol.
pH	Potencial Hidrógeno.
rpm	Revoluciones por minuto.
UFC	Unidad formadora de colonias.
UV	Ultravioleta.
TSA	Tryptic Soy Agar.
TSB	Tryptic Soy Broth.
UFC	Unidad formadora de colonias.
USP	United Stated Pharmacopeia.
μl	Microlitros.

GLOSARIO

A

Activo cosmético: Ingrediente cosmético que en la formulación es responsable al menos de una determinada acción del producto cosmético.

Aceite esencial: Esencia aromática procedente de una planta. Posee un olor agradable y volátil. Se puede inhalar, ingerir, aplicar sobre la piel mediante masajes o mezclar en el agua del baño. Se utiliza en cosmética como suavizante, regenerante o tonificante. Está compuesto por ésteres, acetonas, aldehídos y alcoholes.

C

Comedón: Cúmulo de sebo que obstruye las glándulas sebáceas

D

Dermatitis seborreica: Problema dermatológico caracterizado por el enrojecimiento, la irritación y la descamación de la piel del cuero cabelludo y las áreas seborreicas (cejas, surcos nasogenianos, región retroauricular, regiones centrales del pecho y espalda, conducto auditivo y párpados).

E

Etiopatología: Mecanismo de acción del agente patógeno.

F

Forma Cosmética: Es la presentación individualizada de un producto cosmético listo para su empleo.

Fotosensibilidad: Reacción cutánea producida como respuesta a la interacción de la radiación solar con sustancias fotosensibilizantes que se encuentran en la superficie cutánea tras la administración tópica o sistémica de las mismas.

G

Glándulas sebáceas: Estructuras lobuladas que, debido a la desintegración de sus células, producen una secreción oleosa, denominada sebo.

H

Halo de inhibición: Zona alrededor de un disco de antibiótico en un antibiograma en el que no se produce crecimiento bacteriano en una placa de agar inoculada con el germen. Es una medida de la potencia del antibiótico frente al germen.

I

In vitro: (latín: *dentro del vidrio*), se refiere a una técnica para realizar un determinado experimento en un tubo de ensayo, o generalmente en un ambiente controlado fuera de un organismo vivo.

P

Polimorfismo: Propiedad que tienen algunos cuerpos de poder cambiar de forma sin cambiar de naturaleza o composición.

Pápula: En el ámbito de la medicina una **pápula** es una lesión o tumor eruptivo que se produce en la piel, sin la aparición de pus ni serosidad.

Pústula: Abultamiento que aparece en la piel en forma de bolsa pequeña que contiene pus.

Q

Queloides: Hinchazón de la piel, fibrosa y alargada, que aparece sobre todo en las cicatrices.

R

Reología: Estudio de los principios físicos que regulan el movimiento de los fluidos.

S

Solubilidad: Capacidad de una sustancia o un cuerpo para disolverse al mezclarse con un líquido.

Surfactante: Son sustancias que influyen por medio de la tensión superficial en la superficie de contacto entre dos fases.

RESUMEN

La investigación desarrolla una loción antiacné con aceite esencial de hierba luisa *Cymbopogon citratus* (DC) STAPF, POACEA, bajo normativa nacional e internacional, que permite que el producto obtenido sea considerado como un producto estable y seguro.

La formulación se estableció mediante un diseño experimental factorial completo de dos factores y tres niveles, considerando como variables los siguientes ingredientes que afectan características organolépticas de la loción: emoliente al 60, 50, 35%, el tensoactivo al 15, 10, 5%, en dos corridas o repeticiones utilizando una variación en el vehículo que si no afecta la característica podría incidir en la acción antibacteriana del activo, la primera repetición se utiliza como vehículo alcohol desnaturalizado al 20% y en la segunda corrida alcohol desnaturalizado a una concentración del 10%. El ingrediente constante en todas las formulaciones es el aceite esencial de hierba luisa *Cymbopogon citratus*, al 5%, concentración demostrada eficiencia antiacnéica. A más de las 18 formulaciones resultantes del diseño experimental se realiza una formulación sin alcohol que constituiría el blanco (B) y permitiría relacionar la acción del agente bactericida con el ingrediente.

Las 19 formulaciones se sometieron a una estabilidad preliminar, centrifugando a 5000 rpm por 30 minutos, en 16 formulaciones se observó separación de fases y solo 3 formulaciones permanecieron estables.

Las 3 formulaciones denominadas 5, 9 y B, ingresaron a un estudio de estabilidad acelerada bajo las condiciones de 40°C y 75 % HR, ejecutando control de calidad en los períodos de inicio, 24 horas, 15 días, 30 días, 60 días, 90 días.

Se evaluó la actividad antibacteriana *in vitro*, mediante el método de Difusión en Medio Sólido evaluando la capacidad de inhibición en las 3 formulaciones sobre la *P. acnes*, con lecturas en la formulación B de 13,95 a 12,15 mm; formulación 5 de 15,05 a 13,40 mm y la formulación 9 de 14,05 a 12,55 mm; observándose que no existe diferencia significativa en los halos inhibitorios durante el estudio de estabilidad.

La evaluación de la estabilidad acelerada se calculó mediante la ecuación de Arrhenius y el método de Poppe, que relaciona el porcentaje de degradación a los 90 días del principio activo, se considera como activo el aceite esencial *Cymbopogon citratus*. Para esta

determinación se evaluó la concentración de Citral por el método de titulación, partiendo de una concentración inicial de 3,25% y la concentración final obtenida fue de 2,91% en la formulación B, y en las formulaciones 5 y 9 fue de 2.93%.

Las 3 formulaciones se posicionaron sobre la curva A, demostrando un período de vida útil de dos años.

PALABRAS CLAVES: loción, aceite esencial, *Cymbopogon citratus*, estabilidad, formulación.

ABSTRACT

The research develops an acne lotion with essential oil of lemongrass *Cymbopogon citratus* (DC) STAPF, POACEAE, under guidelines of the national and international law, which allows obtaining a product considered stable and safe.

The formulation is established based on a full factorial design with two factors and three levels, taking as variables the ingredients that affect the organoleptic of the lotion, in this case: : emollient to 60, 50, 35%, the surfactant to 15, 10, 5%, and in two runs or repetitions using a variation in the vehicle, which if it does not affect the characteristics of the lotion, could affect the antibacterial action of the active ingredient, the first repetition is used as a vehicle denatured alcohol at 20%, and in the second run denatured alcohol at a concentration of 10%. The constant ingredient in all formulations is the essential oil of lemongrass *Cymbopogon citratus* at concentration of 5%, which has demonstrated anti-acne efficiency. In addition to the 18 resulting formulations of experimental design, a nonalcoholic formulation was made that would be the Blank (B), and would permit to relate the bactericidal action performed with this ingredient.

The 19 formulations were subjected to preliminary stability by centrifugation at 5000 rpm for 30 minutes, as a result it was observed phase separation in 16 formulations and only three formulations remained stable.

The 3 formulations denominated 5, 9 and B entered to accelerated stability study under the conditions of 40 ° C and 75% RH, running quality control during periods of startup, 24 hours, 15 days , 30 days, 60 days and 90 days.

Antibacterial activity in vitro was evaluated by the method of Medium Solid Diffusion assessing the ability of inhibition in the 3 formulations of *P. acnes*, with results in the formulation B of 13.95 to 12.15 mm; formulation 5 of 15.05 to 13.40 mm and the formulation 9 from 14.05 to 12.55 mm. It was observed that there is no significant difference in the inhibitory halos during the stability study.

Accelerated stability evaluation was calculated using the Arrhenius equation and Poppe method, which relates the percentage of degradation after 90 days of the active ingredient. It is considered active *Cymbopogon citratus* essential oil. For this determination Citral

concentration was evaluated by titration method, with an initial concentration of 3.25% and the final concentration of 2.91% was obtained in the formulation B, for Formulations 5 and 9 was 2.93%.

The 3 formulations were positioned on the curve A, demonstrating a shelf life of two years.

KEYWORDS: lotion, essential oil, *Cymbopogon citratus*, stability, formulation.

CAPITULO I - INTRODUCCIÓN

1.1 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

“La salud es un estado de completo bienestar físico, mental y social, y no solamente la ausencia de afecciones o enfermedades”. (Organización Mundial de Salud, 2006)

Una piel bien cuidada es símbolo de buena salud. Razón por la cual a nivel global se invierten miles de millones de dólares en productos cosméticos para mantener la piel bella, siendo los cosméticos tan antiguos como la historia de la humanidad.

El acné es considerado una enfermedad más común de la piel, que afecta a casi el 80 por ciento de las personas en algún momento de su juventud, y que puede persistir durante años causando cicatrices permanentes, en algunos casos hasta problemas emocionales como depresión y baja autoestima.

Al ser considerado el acné vulgar como enfermedad inflamatoria de la piel, causada por *Propionibacterium acnes* (*P.acnes*), microorganismo causante de la reacción inflamatoria, producida mediante la conversión de aceites de sebo en ácidos grasos libres que estimulan el folículo piloso, forman comedones y luego inducen la inflamación. Se debe buscar alternativas de formulaciones que sean capaces de inhibir *P. acnes*, reducir los lípidos pro-inflamatorios y reducir la formación de cicatrices post-acné. (LERTSATITTHANAKORN, 2006)

Existen los antibacterianos tópicos y orales como eritromicina, tetraciclina y doxiciclina que pueden reducir la población de *P. acnes* y también ejercer acciones antiinflamatorias pero carecen de actividad antioxidante con efectos adversos tales como irritación de la piel, eritema, sequedad y descamación. (MUSIAL, 2003)

Hoy la tendencia en la cosmética es desarrollar formulaciones en las que se utilice principios activos naturales que actúen con actividad antibacteriana y también contribuyan a mejorar el aspecto de la piel, por su actividad antioxidante.

Investigadores de la Facultad de Ciencias Farmacéuticas de la Universidad Khon Kaen Thailand confirma el uso de siete aceites esenciales entre ellos el aceite esencial de hierba luisa (*Cymbopogon citratus* DC), con propiedades antibacterianas, antiinflamatorias y antioxidantes. Este aceite posee actividad pronunciada frente a *P. acnes*, tiene muy buena actividad de eliminación de radicales libres e inhibe la enzima 5-lipoxigenasa, (responsable de la actividad antiinflamatoria), también tiene actividad antioxidante, que ayudará a la cicatrización, evitando la formación de queloides mediante la supresión de la síntesis de colágeno de los fibroblastos. (LERTSATITTHANAKORN, 2006)

Aprovechando estas propiedades la presente investigación está orientada al desarrollo de una formulación (loción) estable a base de aceite esencial de hierba luisa *Cymbopogon citratus* (DC) STAFF, que podría considerarse una alternativa en el tratamiento del acné.

1.2 ANTECEDENTES TEÓRICOS REFRENTES AL PROBLEMA

Los aceites esenciales son mezclas naturales complejas que se obtiene por destilación por arrastre de vapor, siendo utilizados como agentes aromatizantes en perfumería, alimentos, medicina y bebidas.

El aceite esencial de hierba luisa *Cymbopogon citratus* (DC), tiene como principal constituyente al citral entre el 70 y el 85%, que se lo emplea como materia prima en la síntesis de las iononas, sustancias aromáticas con fuerte olor a violetas y en la síntesis de la vitamina A. (SOTO, 2002)

En las últimas décadas un gran número de investigaciones se han interesado en la búsqueda de los aceites esenciales de plantas medicinales que posean actividad antibacteriana.

En la investigación de Negrelle, el aceite obtenido de la hierba luisa (*Cymbopogon citratus*), químicamente presentó entre un 70-80 % contenido de citral, exhibió actividad antimicrobiana cuando se ensaya contra cuarenta y dos microorganismos (veinte bacterias, siete levaduras y quince hongos), las bacterias aisladas presentan una superior susceptibilidad en comparación con los hongos, y es muy eficaz contra los mosquitos *Anopheles culcifacies* y *Anopheles quinquefasciatus*. (NEGRELLE, 2007)

Así en la investigación de Luangnarumitchai, presenta que diecinueve aceites esenciales pueden inhibir el crecimiento de la P.acnes siendo el aceite esencial *Cymbogogon citratus* (DC), uno de mayor actividad antibacteriana con zona de inhibición de más de 20 mm, y que la concentración mínima inhibitoria MIC fue de 0,125 % v/v para este aceite. Que los aceites que contienen como componente principal el citral muestran actividad contra los microorganismos tales como *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Bacillus subtiles*, y *Candida albicans*. (LUANGNARUMITCHAI, 2007)

En la investigación de Alzamora donde se prueba la actividad antimicrobiana de cinco aceites esenciales de plantas usadas en la medicina tradicional en el Perú, por el método de aromagrama de Duraffourd, concluye que el aceite esencial que ejerce mayor efecto sobre las bacterias evaluadas es el de hierba luisa *Cymbogogon citratus* (DC), con el 88,8 %, con un CIM de 30 mm y el de menor efecto el de eucalipto frente a *St. aureus*, *Sh. flexneri*, *S. typhy*, *S. enteritidis*, *V.cholerae*, *P. aeruginosa*. (ALZAMORA, 2001)

Guerra en su investigación del Aceite esencial y Crema de *Cymbopogon citratus* (DC), utilizando el método de diluciones en medio líquido, frente a ocho bacterias: *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228, *Bacillus subtilis* ATCC 7001, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 10033, *Serratia sp*, y *Salmonella typhimurium*; cuatro hongos *Microsporium canis*, *Trichophyton mentagrophytes*, *Trichophyton rubrum* y *Epidermophyton floccosun* y una levadura: *Cándida albicans*, muestra el potencial antibacteriano del aceite y la crema con valores de CMI que oscilaron en un rango de 0,1 a 5,00 mg/mL. La acción bactericida excepto para *St. aureus* para la cual fue bacteriostática y los microorganismos más sensibles fueron los Gram positivos. La crema produjo daño letal sobre las especies bacterianas usadas y la especie más sensible fue *B. stubtilis* y *P. aeruginosa*. Para el caso de los hongos fue más sensible a las concentraciones del producto evaluado, particularmente *Trichophyton* y *Epidermophyton*. Los valores de CMI oscilaron entre 0,04 y 2,50 mg/mL. La acción resultó ser fungicida, salvo para la levadura *C. albicans*, para la cual fue fungistática. Aunque la crema mostró menor actividad, se mantuvo la acción que sobre la célula microbiana ejerció el aceite esencial. (GUERRA, 2004)

En cada uno de estas investigaciones se puede observar la actividad antimicrobiana que resulta el fundamento para la incorporación del aceite esencial de Hierba Luisa en una formulación que puede ser eficaz frente a *P. acnes* principal responsable de la patología dérmica acné.

1.3 JUSTIFICACIÓN

La ciencia cosmética es uno de los pilares fundamentales en las afecciones dermatológicas. Una correcta formulación permite contribuir con el restablecimiento de afecciones dermatológicas, siendo una de las más importantes el acné.

El acné es la dermatosis más frecuente, pues afecta al 80-85 % de la población mundial en algún momento de su vida. En la mayoría de los casos se inicia entre los 11 y 12 años.

Las estadísticas señalan que un 40% de las mujeres entre 14 y 17 años y un 35% de los hombres entre 16 y 19 años son afectados por el acné. (GOMEZ, 2003)

En el 10% de los casos el acné persiste después de los 25 años, después de los 35 años es del 3% pero en estos pacientes otros factores como el hiperandrogenismo, precipitan la patología dermatológica. En la adultez, en algunas personas continúa apareciendo erupciones menores en el periodo premenstrual o en situaciones estresantes. Es más severo en varones que en mujeres. (COELLO, 2012)

Esta patología cutánea se presenta en el rostro, frente, mejillas, espalda, y puede provocar baja autoestima, mayoritariamente en los adolescentes su bienestar e imagen corporal es crítica, por lo que debe tener un tratamiento adecuado para mejorar su aspecto, controlarlo y una mejor calidad de vida.

El acné es una patología cutánea, que puede beneficiarse con el correcto uso de las formulaciones tanto para tratarlo como para prevenirlo, disminuir y mejorar el estado físico y psíquico del paciente.

Una formulación debe tener características muy concretas para que sea inocua y eficaz, debe ser libre de grasa, no comedogénica, no acnegénica, no irritante, no fotosensibilizante (JALIMAN, 2014)

Utilizando como referencia de la presente investigación, el trabajo realizado por Meza y Vargas 2013, “Evaluación de la actividad antibacteriana *in vitro* del aceite esencial de hierba luisa (*Cymbopogon citratus* (DC) STAPF), poaceae.” En el cual se comprueba en el estudio *in vitro* como *in vivo*, que la concentración del 5% de aceite esencial de hierba luisa (*Cymbopogon citratus*), presenta la mayor eficacia antibacteriana, contra *Propionibacterium acnés*, principal bacteria causante del acné; esta investigación constituye la base del presente trabajo con la aclaración que el objetivo es realizar una formulación que pueda encajar en diferentes líneas cosmética, médica o productos naturales.

Con este fundamento, la presente investigación tiene como objetivo desarrollar una formulación estable, loción facial con aceite de hierba luisa (*Cimbopogon citratus*) con aplicación y beneficios para pieles acnéicas.

1.4 OBJETIVOS

1.4.1 OBJETIVO GENERAL

Desarrollar una formulación estable, loción facial con aceite de hierba luisa (*Cimbopogon citratus*) que cumpla la normativa ecuatoriana e internacional para ser considerada dentro de la línea Antiacné.

1.4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Realizar un diseño experimental que permita agrupar todas las variables, en las mejores alternativas de formulación.
- Desarrollar las formulaciones, considerando la legislación cosmética en parámetros organolépticos, físicos, químicos y microbiológicos.
- Evaluar la estabilidad de la formulación más idónea: química, física, microbiológica, y actividad antiacné *in vitro* de las formulación, mediante la capacidad de inhibición de las mismas sobre el *P.acnes*.
- Desarrollar la ficha de estabilidad de la formulación más idónea.
- Definir la ficha técnica del producto final.

1.5 HIPÓTESIS

El aceite esencial de hierba luisa (*Cymbopogon citratus*) utilizado en una concentración con probada eficiencia antiacnéica, genera por lo menos una formulación estable.

CAPITULO II - MARCO TEÓRICO

2.1 ESTADO DEL ARTE

La presente investigación emprende la búsqueda de formulaciones cosméticas para contribuir a las afecciones dermatológicas como es el acné, así se podrá prevenirlo y mejorar el estado físico y psíquico del individuo.

La cosmética natural está ganando adeptos de forma acelerada. Es una tendencia que va pisando fuerte, como lo demuestra un crecimiento en un 20% anual en Europa. La cosmética natural busca integrar componentes que tengan, la mayor afinidad posible con la composición bioquímica de la piel. Muchos de los componentes activos son de las plantas que han sido utilizadas de forma tradicional desde generaciones a través de remedios caseros, hoy se han puesto en práctica tecnificándolas e incorporando a formulaciones cosméticas con excelentes resultados. (NUÑEZ, 2012)

La fitocosmética, se puede definir como el uso de los principios activos de las plantas para el cuidado y estética de la piel y el cabello. El uso de unas u otras plantas viene determinado por su actividad fisiológica, que varía de unas plantas a otras, de modo que encontraremos para casi todas las necesidades estéticas. (ALVAREZ, 2012)

En la actualidad el retorno a lo natural ha permitido el desarrollo de la fitocosmética lo cual conduce a un mayor conocimiento de los componentes de las plantas, uno de ellos con gran uso son los aceites esenciales, utilizados no sólo para aromaterapia sino para formulaciones cosméticas, alimenticias y farmacéuticas por sus componentes activos con la finalidad de recuperar la salud, la belleza y el bienestar.

Los aceites esenciales o volátiles, como los solían llamar los griegos en la antigüedad, se producen en cantidades apreciable (0,5-6%) en las llamadas plantas aromáticas, aquellas que generalmente son hierbas o arbustos, poseen un fuerte y característico olor o fragancia.

Estos aceites esenciales en su mayoría están formados por hidrocarburos terpénicos o terpenos y derivados oxigenados como alcoholes, aldehídos, cetonas, juntos se llaman terpenoides. En numerosos estudios se confirmó la variada actividad biológica de terpenoides como agentes quimiopreventivos, principios activos y coadyuvantes en el tratamiento de arterosclerosis, trombosis, y como un vehículo para facilitar la penetración transdérmica de muchas drogas de aplicación tópica, poseen actividades antibacterianas, antifúngicas, antioxidantes que pueden ser aprovechadas en formulaciones de productos finales farmacéuticos, cosméticos y aseo personal. (STASHENKO, 2009)

Investigación como las de (GUERRA, 2004), (ONAWUNMI, 1984), (SOTO, 2002), (LUANGNARUMITTHAI, 2007), (NEGRELLE, 2007), (LERTSATITTHANAKORN, 2006), citan que el aceite esencial de hierba luisa *Cymbopogon citratus* (DC) STAPF, POACEAE, posee propiedades bactericidas y fungicidas, por su alto contenido en citral, investigaciones que se constituyen la base del presente trabajo.

Una alternativa de confiabilidad y seguridad en un producto cosmético son los estudios de estabilidad acelerada, o envejecimiento a corto plazo, cambios que se manifiestan en función del tiempo, se desarrollan a mayor velocidad para poder ver sus efectos en el tiempo más reducido. (PONCE, 2002)

Con los argumentos descritos anteriormente se desarrolla la investigación utilizando como activo el aceite esencial de Hierba Luisa *Cymbopogon citratus*, con el objetivo de conseguir por lo menos una formulación estable con propiedades antiacnéicas.

2.2 ENFOQUE TEÓRICO

2.2.1 Acné

El acné es una inflamación de las glándulas pilosebáceas de la piel que se produce por la obstrucción de los poros y la aparición de diferentes lesiones en la piel que afecta a un gran número de seres humanos en algún momento de su vida.

Las glándulas sebáceas están conectadas a un canal piloso llamado folículo que fabrica una sustancia oleosa llamada sebo que llega a la piel, a través de la abertura que el folículo posee

en la superficie de la piel. El sebo provoca que las células del revestimiento folicular secreten más rápidamente y se aglutinen formando un tapón en la abertura del folículo piloso. En esa mezcla de sebo y células presente en el folículo crecen las bacterias, que producen agentes químicos que estimulan la inflamación y causan una ruptura en la pared del folículo. El sebo, las bacterias y las células epidérmicas se vierten a la piel provocando enrojecimiento hinchazón y pus que son los signos característicos de la patología. (CHEN, 2006)

Se cree que el acné surge de la interacción de algunos pasos:

- El aumento de la producción de sebo en las glándulas sebáceas en respuesta a la estimulación androgénica
- La formación de comedones por obstrucción del folículo sebáceo, debido al exceso de producción de queratinocitos.
- La colonización de la bacteria *Propionibacterium acnes* que normalmente vive en el folículo sebáceo.
- La inflamación causada por la liberación de sebo en la piel que rodea la lesión. (GOMEZ, 2003)

2.2.2 Etiopatología

El acné es una enfermedad inflamatoria de etiología multifactorial que afecta la unidad pilosebácea con la intervención primaria del microorganismo *Propionibacterium acnes* y otras bacterias oportunistas.

2.2.2.1 Factores patogénicos.

La patogenia del acné parece ser multifactorial, con distinta implicación de los siguientes factores:

1. Aumento de la secreción sebácea.
2. Comedogénesis, que es una hiperqueratosis ductal, se visualiza clínicamente por la formación de comedones abiertos o cerrados, que son el resultado del taponamiento del folículo por la queratina. La hiperqueratosis folicular es probablemente resultado del efecto irritante de la hipersecreción sebácea y de la infección bacteriana.
3. Colonización y desarrollo bacteriano de *Propionibacterium acnes*.

4. Debilitamiento del sistema inmune en la zona de influencia.

5. Inflamación secundaria causada por bacterias oportunistas. (PASCUAL, 2012)

2.2.2.2 *Propionibacterium acnes*.

El *Propionibacterium acnés* es un microorganismo anaerobio gram positivo que forma parte de la flora normal, es un patógeno oportunista que coloniza el fondo del folículo pilosebáceo, desdobra el sebo en glicerol y ácidos grasos, que serían los responsables de la hiperqueratinización y del impedimento de la descamación del epitelio folicular. Este proceso lleva a la formación de tapones y a la inflamación, representados clínicamente por comedones y pápulas eritematosas.

El *Propionibacterium acnes* causa una respuesta inflamatoria que lleva a la formación de pústulas y, si se produce una respuesta exagerada por acción de otros microorganismos se presentan quistes y nódulos.

Durante el proceso de la enfermedad, los triglicéridos se ven disminuidos por la hidrólisis causada por las lipasas de esta bacteria y parte de estos ácidos grasos que se liberan causan la irritación de la pared folicular. El *Propionibacterium acnes* al hidrolizar el sebo produce factores quimiotácticos para neutrófilos y macrófagos que contribuyen con las manifestaciones inflamatorias (PERRY, 2006)

2.2.3 Tipos de lesión

El acné es un trastorno polimorfo, en el que pueden aparecer distintos tipos de lesiones al mismo tiempo o evolutivamente.

Se diferencian tres tipos de lesiones: inflamatorias, no inflamatorias y residuales.

TABLA N°1: TIPOS DE LESIONES ACNÉICAS

Lesiones no-inflamatorias <ol style="list-style-type: none">1. Comedones cerrados2. Comedones abiertos
Lesiones inflamatorias superficiales <ol style="list-style-type: none">1. Pápulas2. Pústulas
Lesiones inflamatorias profundas <ol style="list-style-type: none">1. Nódulos2. Quistes
Lesiones residuales <ol style="list-style-type: none">1. Máculas2. Cicatrices

Elaborado por: la autora.

Lesiones no-inflamatorias.

1. Comedones cerrados.- también llamado puntos blancos, es una lesión puntiforme, microquística, blanquecina o del color de la piel en la que no se aprecia el orificio folicular. Está producida por la dilatación del conducto pilosebáceo secundaria o una obstrucción del mismo. Son lesiones acnéicas más frecuentes durante la pubertad.
2. Comedones abiertos o puntos negros.- constituye una lesión plana o levemente elevada, de menos de 3mm de diámetro habitualmente y abierta al exterior, con un tapón corneo central marrón o negro. Su contenido es duro y seco. (ARROYO, 2008)

Lesiones inflamatorias superficiales

1. Pápulas.- se presentan como una lesión sobreelevada, eritematosa y sin acumulo de líquido visible. Su tamaño oscila entre 1-5 mm de diámetro y es levemente dolorosa a la palpación, al tratarse de una lesión inflamatoria, habitualmente se origina a partir de un comedón abierto y raramente de un comedón cerrado.

2. Pústulas.- es una lesión derivada de la pápula, pero más blanca y profunda, con un punto purulento central que se seca en pocos días. Puede evolucionar a máculas o cicatrices residuales. (PASCUAL, 2012)

Lesiones inflamatorias profundas

1. Nódulos.- son lesiones inflamatorias profundas, dolorosas, recubiertas de piel normal o eritematosa. Es una lesión infiltrativa profunda, que representa la inflamación de todo el folículo y la dermis circundante recubierta por piel normal, que evoluciona lentamente hacia la inflamación y la resolución, pero también puede dar lugar a abscesos, siendo responsable de la mayoría de cicatrices.
2. Quistes.- son de tamaño variable y contenido purulento, resultado de roturas foliculares previas, con inflamación y encapsamiento. Suelen evolucionar a la formación de cicatrices. (ARROYO, 2008)

Lesiones residuales

1. Máculas.- pigmentación residual de tono violáceo o pardo producido como consecuencia de la inflamación crónica de las lesiones.
2. Cicatrices.- pueden ser deprimidas o hipertróficas (queloides). Son típicas del acné nódulo-quístico. Habitualmente se localizan en pecho, espalda y en el ángulo mandibular. (PASCUAL, 2012)

2.2.4 Productos cosméticos para el acné

El acné afecta, casi fundamentalmente a la cara un 99%, también a la espalda un 60% y al pecho un 15%. (PASCUAL, 2012).

El acné en la mayoría de los casos afecta al individuo en el aspecto estético, y los recursos cosméticos cada vez se van haciendo más útiles constituyéndose excelentes complementos del tratamiento médico general e incluso, metódicamente aplicados, pueden llegar a constituirse algunos de ellos en solución de casos leves de acné. (CASTRO, 1987)

Pero es importante señalar que en el cutis con acné debe regularse el uso de cosméticos mientras exista afectación.

El propósito en el tratamiento con cosmético sería obtener asepsia, astringencia, absorción de grasas y un maquillaje estético.

A tal efecto tendríamos entonces cinco aspectos que considerar:

1. Limpieza de la piel
2. Uso de máscara descongestionantes opacantes, astringentes y absorbentes de grasas.
3. Uso de maquillaje para disimular cicatrices y proteger de manchas por las radiaciones UV.
4. Uso de cosméticos para realizar exfoliación suave.
5. Uso de cosméticos para utilizar como paliativos de la exfoliación. (CASTRO, A.1987).

Con estos aspectos a considerar la investigación busca considerar una formulación de forma cosmética loción cuya aplicación tópica pueda alcanzar a reducir la inflamación, disminución bacteriana, prevención de cicatrices contribuyendo también a evitar el estrés psicológico del paciente.

2.2.5 Loción

La palabra loción viene del latín “lotion”, que significa “lavadura”. Son preparaciones líquidas y suelen contener sustancias insolubles, finamente pulverizadas, suspendidas en medio de dispersión mediante el uso de agentes suspensores y/o dispersantes. Algunas lociones contienen líquidos inmiscibles con el vehículo acuoso y son dispersadas en éste mediante el uso de agentes tensioactivos u otros estabilizantes; destinados generalmente a ser aplicadas sobre la piel, con el objetivo de incidir directa o indirectamente en el funcionamiento y apariencia de la misma. (PORTERO, 2000)

2.2.5.1 Clasificación de las lociones

Las lociones pueden clasificarse desde diferentes puntos de vista:

- De acuerdo al lugar de aplicación: lociones faciales, lociones para el cuello y lociones para manos y cuerpo.

- Según su efecto: tónicas, astringentes, emolientes, estimulantes, blanqueadores y medicinales.
- De acuerdo a su forma de presentación: emulsiones, soluciones y suspensiones. (CASTRO, 1987)

2.2.6 Formulación de la loción anti-acné.

El desarrollo de la fórmula constituye el análisis previo de todos los estudios que permitan la combinación del principio activo y excipientes, para generar un producto que goce de características básicas de calidad como: estabilidad, eficacia, funcionabilidad y seguridad. (ICH, 2003)

Se ha realizado en primera instancia un estudio preliminar de las características físico-químicas del principio activo como: solubilidad, polimorfismo, impurezas, y la identificación de variables críticas de los componentes considerados en la formulación, sus posibles interacciones y toda esta información ha sido utilizada para la realización de diseños experimentales en la fase de pre-formulación.

En esta fase se identifican los atributos que son críticos para preservar la calidad del principio activo del producto, teniendo en cuenta el uso previsto. Se considera:

- Características de calidad de todos los componentes del producto cosmético tales como: principio activo, excipientes, envase.
- Proceso de fabricación.
- Los conocimientos adquiridos en el desarrollo de productos cosméticos similares. (ICH, 2003)

2.2.7 Componentes de la formulación

2.2.7.1 Activo cosmético:

Los principios activos o llamados para formulaciones cosméticas activos cosméticos son todos aquellos componentes del cosmético responsables directos de la función principal del cosmético. La variedad de los activos cosméticos es enorme, clasificados según su función podemos encontrar: abrasivos, acondicionadores, antioxidantes, desodorantes, detergentes,

decolorantes, emolientes, tónicos, tintes, suavizantes, pigmentos, perfumes, lubricantes, etc. (MARTINEZ, 2012)

En la década de los 90, la cosmética evoluciona con una cultura naturalista científica fundamentada, siendo los aceites esenciales extraídos de cada planta revalorizada por el uso y la producción con fines terapéuticos. De la composición química del aceite esencial residen las propiedades beneficiosas para la salud y es donde se concentra el aroma. (SOTO, 2002)

Se debe considerar algunas propiedades físico-químicas del activo cosmético, y sus posibles interacciones al combinarse con los excipientes, dentro de estas propiedades las más importantes son:

- Miscibilidad
- pH.
- Transparencia
- Color
- Olor.

Aceite esencial de hierba luisa *Cymbopongo citratus*

El activo cosmético en la formulación de la loción antiacné es el aceite esencia de hierba luisa *Cymbopongo citratus* al 5%.

El aceite esencial de hierba luisa *Cymbopongo citratus*, posee propiedades antibacteriales, actividad se muestra en dos de los tres componentes principales del aceite identificados a través de cromatografía y espectrofotometría de masas. Siendo el neral, α -citral (geranial) y β -citral provocan individualmente acción antibacteriana sobre los organismos gram-negativos y gram-positivos. El tercer componente mirceno, no mostró actividad antibacteriana observable, sin embargo, el mirceno proporcionó actividades mejoradas cuando se mezcla con cualquiera de los dos componentes identificados. (ONAWUNMI, 1984)

Estudios científicos demuestras que el aceite esencial de (*Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf), puede inhibir eficazmente el crecimiento de *P. acnes*; y por contener citral como componente principal de este aceite muestra actividad contra varios microorganismos tales como *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis* y *Candida albicans*. (LUANGNARUMITCHAI, 2007)

En la investigación de Guerra demuestra que el aceite esencial de *Cymbopogon citratus*, ejercen una gran influencia en la actividad antibacteriana, Esta acción se atribuye al citral, particularmente al geraniol (alfa citral) y al nerol (beta citral), incluso se plantea que el mirceno, aunque solo no muestra tal actividad, como la parte del aceite incrementa la acción cuando se mezcla con los anteriores. (GUERRA, 2004)

Usos

La decocción de las hojas es un buen carminativo, digestivo y eupéptico, especialmente en casos de dolor de estómago y flatulencias. También se utiliza como antihipertensivo, antitusígeno y antiasmático. Por su contenido de aceite esencial, tiene acción pectoral en caso de catarro, gripe y resfriado, y es eficaz en el tratamiento de la fiebre.

Por vía externa, se utiliza en gargarismos, para anginas o faringitis. Por su efecto antiinflamatorio se usa en cataplasmas. Se emplea contra el reumatismo, las neuralgias y otras afecciones dolorosas. Por el contenido de citral (aldehído) es antiinflamatorio. (SALDEÑA,J.2012).

TOXICIDAD

El aceite esencia de Hierba Luisa(*Cymbopongo citratus*), presenta baja toxicidad, por lo que lo que a sido catalogada como segura por el FDA. Como información adicional, su DL₅₀ del extracto fluido al 80% es de 440,58 mg/Kg. de peso corporal, esto equivale a que en un humano de 70 Kg. de peso a se le administre 30.8 g. dosis que se encuentra en 77 mL. de extracto. (MARTINEZ M. J., 2000)

2.2.7.2 Excipientes

El excipiente es la sustancia o grupo de sustancias que actúan como disolvente o soporte del resto de sustancias del cosmético. Es decir, todos los componentes del cosmético se encuentran disueltos o suspendidos, en mayor o menor medida, en el excipiente o alguno de los excipientes. El excipiente sirve como medio de transporte de las sustancia activa, se adapta y es el responsable de la forma cosmética. (MARTINEZ, 2012)

Los excipientes elegidos, su concentración y sus características pueden influir en el

rendimiento del producto por ejemplo en la estabilidad o proceso de manufactura y debe ser considerados en relación con la función respectiva de cada excipiente. (ICH, 2003)

El excipiente sirve como medio de transporte de la sustancia activa, se adapta y determina su forma cosmética como también el modo de aplicación del cosmético.

2.2.8 Selección de material de envase idóneo

Con la formulación establecida y la forma cosmética determinada se busca un material de envase adecuado para la formulación, el mismo que debe tener determinadas características, que ayuden a la conservación sin alterar sus características propias es decir, que aseguren su estabilidad a lo largo del tiempo, evitando cualquier alteración física, química o biológica. (PUERTO, 2009)

La elección de los materiales para el embalaje primario debe ser justificada. Se deben describir los estudios realizados para demostrar la integridad del envase y cierre. Se deben considerar las interacciones que pueden ocurrir entre el producto, envase o la etiqueta. (ICH,2003).

Con todo lo mencionado las consideraciones son las siguientes:

1. Elección de materiales que proporcionen protección contra la luz.
2. Compatibilidad de los materiales con el producto.
3. Seguridad de los materiales seleccionados.

2.2.8.1 Envase primario loción de la loción antiacné de Hierba luisa.

Existen algunas alternativas que cumplen los requisitos enunciados en el literal anterior, sin embargo para motivo de este estudio se escoge el envase ideal que podría ser financieramente más costoso, pero nos da la seguridad que el material del envase no entra a formar parte de las variables de estabilidad, variables que se contemplan únicamente para formulación

El envase seleccionado para la loción antiacné de hierba luisa es un frasco de vidrio de color ámbar de capacidad de 10 mL.

El vidrio es el material de acondicionamiento más antiguo que se conoce. Empleado para la fabricación de recipientes destinados a albergar todo tipo de productos, tanto cosméticos como medicamentos. Es un polímero rígido obtenido por enfriamiento de un líquido; su

estructura interna se encuentra formada por un retículo constituido por la unión del oxígeno (elemento constante en todos los vidrios) con otros elementos más o menos variables.

Las ventajas de este material es impermeable a líquidos y gases, inatacable por agentes físicos, químicos y biológicos, si es coloreado protege el contenido de la luz, no presenta fenómenos de absorción del producto. (PUERTO, 2009)

El polipropileno es un homopolímero o copolímero del propileno, contiene hasta un 20% de etileno o una mezcla de polipropileno con polietileno cuya proporción puede ser hasta un 20%. Puede contener estabilizantes y otros compuestos.

Ventajas:

- Puede esterilizarse por vapor fluyente y por óxido de etileno.
- Posee un alto punto de fusión, pudiendo llegar hasta los 150° sin ablandarse.
- Resiste a los ácidos y bases. (PASCUAL A. , 2012)

2.2.9 Estabilidad de los cosméticos

Según la Asociación Europea de Cosméticos (COLIPA) el propósito del estudio de estabilidad de los cosméticos es asegurar que un producto nuevo o modificado cumple con los estándares físicos, químicos y microbiológicos de calidad, así como también con sus características sensoriales bajo condiciones apropiadas de almacenamiento.

Ya sea en tiempo real o bajo condiciones aceleradas, las pruebas en el producto cosmético deben realizarse con el fin de asegurar:

- Estabilidad y la integridad física de los productos cosméticos en condiciones apropiadas de almacenamiento, transporte y uso.
- Estabilidad química.
- Estabilidad microbiológica.
- Compatibilidad entre el contenido y el contenedor. (Cosmetics Europe The personal care association, 2004)

El estudio de estabilidad de productos cosméticos contribuye para:

- a) Orientar el desarrollo de la formulación y del material de acondicionamiento adecuado.
- b) Optimizar las formulaciones.

- c) Estimar el período de validez y proporciona informaciones para su confirmación.
- d) Auxiliar en el monitoreo de la estabilidad organoléptica, físico-química y microbiológica, produciendo informaciones sobre la confiabilidad y seguridad de los productos. (Agencia Nacional de Vigilancia Sanitaria, 2005)

Conceptos básicos de estabilidad

T₉₀.- Es el tiempo necesario para que el principio activo llegue al 90% de su concentración.

Período de vida útil.- Es el intervalo de tiempo desde la elaboración del medicamento hasta que ya no cumpla con las especificaciones físicas, químicas y microbiológicas establecidas en farmacopeas oficiales.

Fecha de caducidad.- Es la fecha que precisa el momento límite supuesto, en que el producto aún se ajusta a sus especificaciones, siempre y cuando se haya almacenado correctamente.

La Estabilidad es la evaluación de la capacidad de un producto para mantener las características organolépticas, físico-químicas, microbiológicas y de seguridad y eficacia. Se dividen en estabilidad preliminar, estabilidad acelerada y estabilidad natural.

- **Estabilidad preliminar**. Evaluación que orienta en la elección de las formulaciones y se realiza a escala laboratorio.
- **Estabilidad acelerada**. Evaluación que proporciona datos para predecir, en el menor tiempo posible, el período de uso recomendado
- **Estabilidad natural**. Evaluación realizada durante el período de uso recomendado estimado en el estudio de estabilidad acelerada realizado previamente. Es utilizado para evaluar el comportamiento del producto en condiciones normales de almacenamiento y su objetivo es validar el período de uso recomendado. (Instituto Argentino de Normalización y Certificación, 2011)

TABLA N°2: PARÁMETROS DE REFERENCIA.

Tipo de Estudio	Temperatura (°C)	Humedad Relativa (%)
Natural	25 ± 2	60 ± 5
Acelerado	40 ± 2	75 ± 5

Fuente: Farmacopea Argentina 7° Ed.

Elaborado por: la autora.

2.2.9.1 Factores que influyen sobre la estabilidad

Cada componente, activo o no, puede afectar la estabilidad de un producto. Variables relacionadas a la formulación, al proceso de fabricación, al material de acondicionamiento y a las condiciones ambientales de transporte pueden influenciar en la estabilidad del producto. Conforme el origen, las alteraciones pueden ser clasificadas como extrínsecas e intrínsecas.

1. Extrínsecos.- cuando son determinadas por factores externos.
2. Intrínsecos.- cuando son determinadas por factores inherentes a la formulación.
(Agencia Nacional de Vigilancia Sanitaria, 2005)

En la Tabla N° 3, se resumen los factores extrínsecos e intrínsecos que influyen sobre la estabilidad de un producto cosmético.

TABLA N°3: FACTORES EXTRÍNSECOS E INTRÍNSECOS

FACTORES EXTRÍNSECOS	FACTORES INTRÍNSECOS
<ul style="list-style-type: none">• Tiempo• Temperatura• Luz y Oxígeno• Humedad• Material y tipo de envase• Microorganismos• Vibración• Presión	<ul style="list-style-type: none">• Incompatibilidad física• Incompatibilidad química• Reacciones de óxido-reducción• Reacciones de Hidrólisis• Interacción entre los ingredientes de la formulación• Interacción entre ingredientes de la formulación y el material de acondicionamiento

FUENTE: Guía de Estabilidad de Productos Cosméticos. ANVISA, 2005.

Elaborado por: la autora

Los factores extrínsecos son los factores externos que pueden afectar a la estabilidad del producto como: las temperaturas elevadas aceleran las reacciones físico-químicas, causando alteraciones en el desempeño de las materias primas, viscosidad, aspecto, color, olor del producto; en cambio las temperaturas bajas pueden producir cambios físicos como turbidez, precipitación, cristalización. La luz puede originar reacciones indeseables tales como: decoloraciones, enranciamientos, reacciones de óxido-reducción y las diferencias de presión a las cuales pueden ser sometido el producto cosmético puede producir alteraciones físicas y/ o físicoquímicas. (Instituto Argentino de Normalización y Certificación, 2011)

Los factores intrínsecos pueden llevar a alteraciones en el aspecto físico, separación de fases, precipitación, cristalización, formación de grietas, entre otras. Pueden ocurrir también alteraciones químicas tales como: cambios en el pH, reacciones de óxido-reducción, reacciones de hidrólisis, interacciones entre las materias primas o con el material de envase, entre otras. (Instituto Argentino de Normalización y Certificación, 2011)

2.2.9.2 Estabilidad acelerada para el cosmético.

Ensayos acelerados, en tiempos relativamente cortos como tres meses, permiten predecir la estabilidad.

Los cambios que se manifiestan en función del tiempo, se desarrolla a mayor velocidad para poder ver sus efectos en un tiempo reducido, dando lugar a los llamados estudios de envejecimiento acelerado o de corto plazo. (PONCE, 2002)

Los ensayo acelerados, son reconocidos internacionalmente, como una forma de predecir adecuadamente la vida útil del producto en muchas industrias. Generalmente, las pruebas se realizan a 37°C, 40°C, o 45°C, durante 1, 2, 3 meses. (Cosmetics Europe The personal care association, 2004)

En cada uno de los tiempos señalados se determinará:

Estabilidad química: propiedad que presentan los productos cosméticos de conservar dentro de ciertos límites predeterminados, el 10% de la concentración del ingrediente activo, el cual es considerado para la seguridad y eficacia de éste.

Estabilidad física: propiedad que presenta el producto de mantener en forma inalterada, las características físicas como: color, olor, textura, consistencia, sensación al tacto, el comportamiento reológico etc.

Estabilidad microbiológica: los productos cosméticos presentan la propiedad de conservar en forma inalterada sus características microbiológicas.

Estabilidad toxicológica: es la propiedad que presentan los productos cosméticos de no incrementar su potencial tóxico, más allá del que presentaba el producto en el momento de finalizar su elaboración o de lo aceptado como seguro y eficaz para éste.

Estabilidad de funcionalidad: algunos cosméticos presentan una función cosmética específica para lo cual comercializados. (PONCE, 2002)

2.2.9.3 Métodos de Estabilidad

Los métodos más usados son:

- a) Método de Arrhenius
- b) Método de Poppe

2.2.9.3.1 Método de Arrhenius

Este método tiene relación cuantitativa entre la velocidad de reacción y la temperatura dada por la ecuación de Arrhenius.

Svante Arrhenius (1859-1937), nativo de Suiza, premio Nobel de química en 1903, observó en 1889 que la variación debida a la temperatura de la constante de la velocidad de las reacciones químicas podrían expresarse por la ecuación:

$$K = Ae^{-E_a/RT}$$

Dónde:

K: Constante de velocidad de reacción

A: Constante llamada factor de frecuencia o factor pre-exponencial. Representa la frecuencia total de encuentros, entre dos moléculas que reaccionan, independientes de la energía que posean.

e: Base de los logaritmos neperianos ($e = 2.71828$)

E_a : Energía de activación o Entalpía de activación.

R: Constante de los gases ($R = 1.987 \text{ cal/}^\circ\text{K-mol}$)

T: Temperatura absoluta ($^\circ\text{K} = ^\circ\text{C} + 2.73,15$)

$e^{-E_a/RT}$: Factor de Boltzaman, representa la fracción de moléculas que poseen energía E_a .

En forma logarítmica la ecuación de Arrhenius puede tener las siguientes expresiones:

$$\text{a) } \ln k = \ln A - \left(\frac{E_a}{R}\right) \frac{1}{T}$$

$$\text{b) } \log k = \log A - \left[\frac{E_a}{2.303R}\right] \frac{1}{T}$$

Graficando \ln o $\log k$ versus $1/T$ obtenemos una línea recta con pendiente $-E_a/R$ o $E_a/2.303R$, respectivamente.

Al aplicar la expresión a y luego por integración entre los límites k_2 y k_1 a las temperaturas T_2 y T_1 , por diferencia obtendremos:

$$\ln \frac{k_2}{k_1} = -\left(\frac{E_a}{R}\right) \left(\frac{1}{T_2} - \frac{1}{T_1}\right)$$

Ecuación que permite calcular E_a para una reacción cuyas constantes de velocidad se conocen a dos temperaturas, o calcular la constante de velocidad a una temperatura si se conoce E_a y la constante de velocidad a otra temperatura. (PAREDES, 2003)

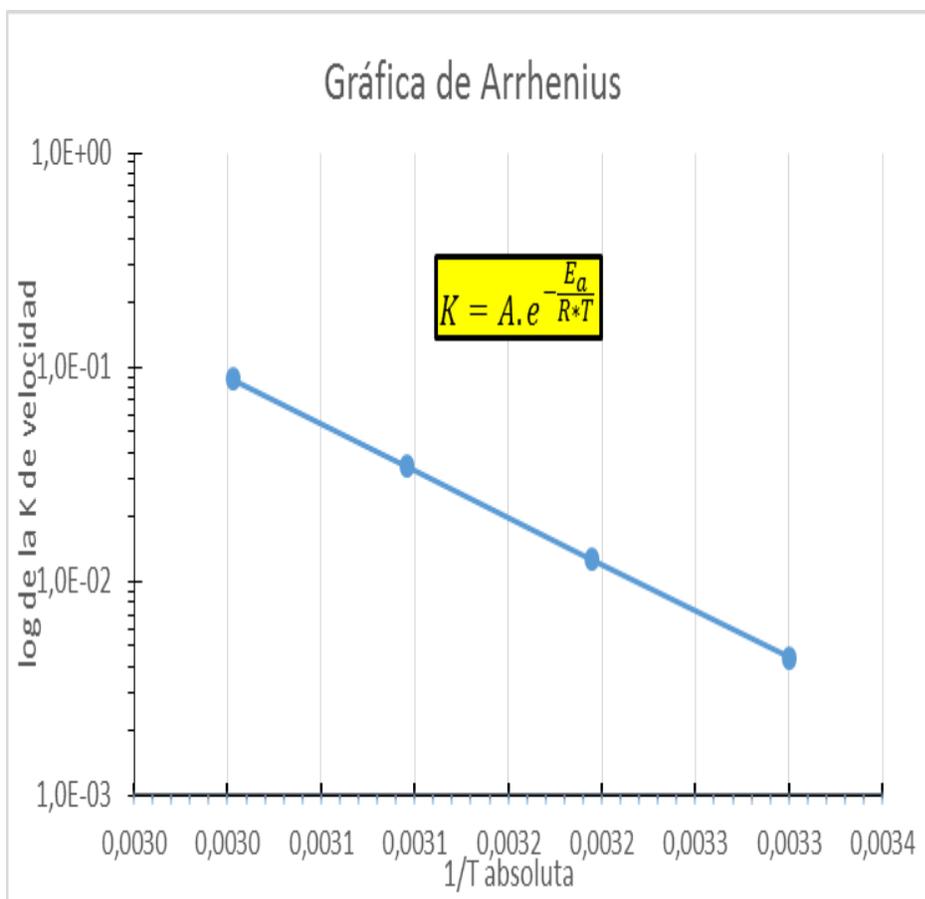


GRÁFICO N° 1: ECUACIÓN DE ARRHENIUS

Elaborado por: la autora

2.2.9.3.2 Método de Poppe

Es una variación del método de Arrhenius, no se necesita determinar el orden de reacción, ni el porcentaje alto de degradación del principio activo. Éste método se basa en establecer tablas de contingencia y gráficas del porcentaje de degradación vs tiempo, a las energías de activación usuales de la degradación del principio activo y se determina el tiempo que queremos que el producto dure y en base a esto realizamos los cálculos y se grafica los % de degradación vs el inverso del tiempo. Si el punto graficado se localiza en el área A con una energía de activación baja que es de 10 kcal/mol significa que el producto va a tener una vida útil mayor a dos años. Si el punto graficado se localiza en el área B limitada entre 10 - 25 kcal/mol significa que el producto va a tener una vida útil de dos años. Si el punto

graficado se localiza en el área C con una energía de activación de 25 kcal/mol significa que el producto va a tener una vida útil menor a dos años. (ORDÓNEZ, 2013)

Se procede a elaborar la tabla de contingencia basadas en las dos ecuaciones de Arrhenius:

$$K = (kT/n)e^{-E_a}$$

$$K = Ae^{-E/RT}$$

$$A = [(1,38 \times 10^{-16}) \text{erg} \cdot \text{k}(6,24 \times 10^{-27}) \text{erg} \cdot \text{seg}]T$$

$$A = [(2,0833 \times 10^{10}) \text{ } ^\circ\text{K}^{-1} \text{seg}^{-1}]T$$

Calculando A, a dos temperaturas extremas 0°C y 50° C tenemos:

$$A = [(2,0833 \times 10^{10}) \text{ } ^\circ\text{K}^{-1} \text{seg}^{-1}]273 \text{ } ^\circ\text{K} = 5,68741 \times 10^{12} \text{seg}^{-1}$$

$$A = [(2,0833 \times 10^{10}) \text{ } ^\circ\text{K}^{-1} \text{seg}^{-1}]323 \text{ } ^\circ\text{K} = 6,72906 \times 10^{12} \text{seg}^{-1}$$

Los datos de A se mantienen constantes a diferentes temperaturas, por lo cual tenemos:

$$K_1 = A_1 e^{-EA/RT_1}$$

$$K_2 = A_2 e^{-EA/RT_2}$$

Dividiendo y eliminando A tenemos:

$$\frac{K_1}{K_2} = e^{(Ea/R)(T_1 - T_2)/(T_1 - T_2)}$$

Aplicando logaritmos:

$$\ln \left(\frac{K_1}{K_2} \right) = \frac{(Ea/R)(T_1 - T_2)}{T_1 - T_2}$$

$$\ln K_2 = \frac{(Ea/R)(T_1 - T_2)}{T_1 - T_2} + \ln K_1$$

Posteriormente se calcula K_1 a una temperatura de 25°C , siguiendo una cinética de orden uno, y un tiempo de 24 meses.

$$\ln C = \ln C_0 - K_1 t$$

$$K = \frac{\ln C_0 - \ln C}{t}$$

$$K_1 = \frac{0,105}{t}$$

$$K_1 = \frac{0,105}{24} = 4,38 \times 10^{-3} \text{ (mes}^{-1}\text{)}$$

Siguiendo a esto podemos calcular K_2 a 30°C , 40°C , tomando en cuenta las energías de activación de 10 Kcal/mol y 25 Kcal/mol.

$$\ln K_2 = \frac{\left(\frac{10000}{1,987}\right) \text{ cal.mol}^{-1} / \text{Kcal.mol}^{-1} (303 - 298)^\circ\text{K}}{(303 \times 298)^\circ\text{K}} + \ln 4,38 \times 10^{-3} = 5,1499$$

$$\text{anti ln } -5,1499 = 5,8 \times 10^{-3} \text{ mes}^{-1}$$

Este mismo cálculo se realiza para una energía de activación de 25 Kcal/mol a 30°C , y similar para 40°C y 50°C .

De esta manera se obtienen los valores de la tabla. (CRUZ, 2009)

TABLA N°4: VALORES DE CONSTANTES PARA DIFERENTES TEMPERATURAS Y ENERGÍAS DE ACTIVACIÓN DE POPPE:

°C	°K	10000/T	E _a 10 Kcal/mol (mes ⁻¹)	E _a 10 Kcal/ml		E _a 25 Kcal/mol (mes ⁻¹)	E _a 25 Kcal/ml	
				% deg	(mes ⁻¹)		% deg	log %deg
25	298	33,557047	4,38 x 10 ⁻³	1,31	0,1172713	4,38 x 10 ⁻³	1,31	0,1172713
30	303	33,0033003	5, 80 x 10 ⁻³	1,72	0,2355284	8,81 x 10 ⁻³	2,61	0,4166405
40	313	31,9488818	9, 86 x 10 ⁻³	2,92	0,4653829	3,32 x 10 ⁻³	9,48	0,9768083
50	323	30,9597523	1, 62 x 10 ⁻³	4,74	0,6757783	1,15 x 10 ⁻³	29,18	1,4650853

Elaborador por: la autora

Con las ecuaciones anteriormente descritas se puede calcular cada uno de los valores para la energía de activación de 10 y 25 Kcal/mol. Así a partir de la curva log % degradados vs 1/T x 10000.

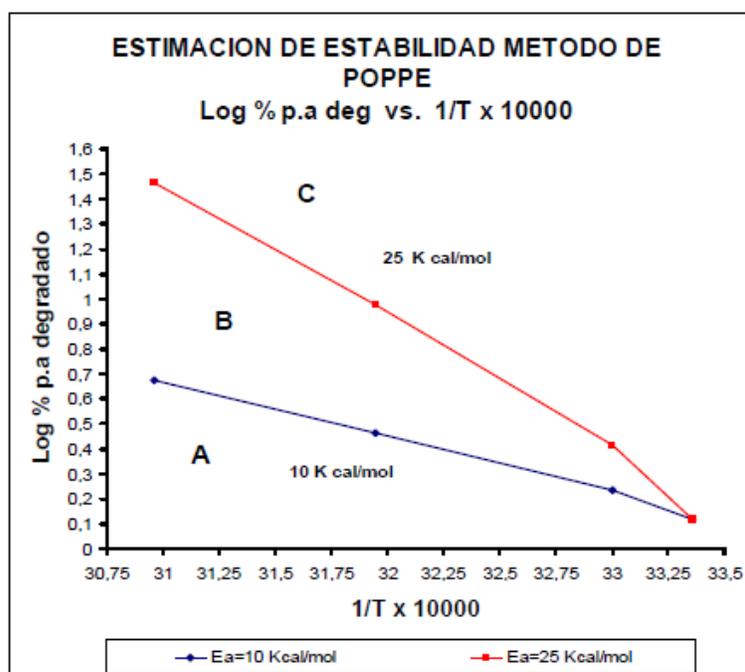


GRÁFICO N°2: ESTABILIDAD METODO DE POPPE

Elaborado por: la autora

En base a la gráfica se obtiene el período de vida útil del producto:

- Si se ubica en el área A, el producto tiene la probabilidad de tener un período de vida útil mayor a dos años.
- Si se ubica en el área B, el producto tiene buenas probabilidades de tener un período de vida útil de dos años.
- Si se ubica en el área C el período de vida útil del producto es muy probable que sea menor a dos años. (CRUZ, 2009)

CAPÍTULO III – ÁREA DE ESTUDIO Y METODOLOGÍA

3.1 FORMULACIÓN

Es el desarrollo de la fórmula es donde el técnico formulista realiza los estudios necesarios para que la combinación del principio activo y excipientes resulte un producto con las características requeridas, dentro de las cuales podemos citar la estabilidad, eficacia, funcionabilidad y seguridad.

3.1.1 Ingredientes cosméticos para la formulación de la loción antiacné

Los ingredientes cosméticos para la formulación fueron analizados previo a la lista que abarca la Decisión 96/335/CE; desde el punto de vista de identidad, función, restricción, aplicables a cosméticos.

TABLA N°5: INGREDIENTES COSMÉTICOS.

NOMENCLATURA INCI	CAS #	FUNCIÓN	ORIGEN
Isopropyl Myristate	110-27-0	Emoliente: humectante, fijador del AE.	Sintético
Alcohol denat.		Solvente, vehículo, astringente.	Sintético
PPG-15 Stearyl ether	25231-21-4	Emoliente: humectante.	Sintético
Polysorbate 80	9005-65-6	Emulsificante –Tensoactivo: disminuye la tensión superficial y favorece la distribución homogénea del AE.	Sintético
<i>Cymbopogon citratus</i> leaf oil	89998-14-1	Antibacteriano	Vegetal

Elaborado por: La autora.

3.1.1.1 Aceite Esencial de Hierba Luisa *Cymbopogon citratus*

El aceite esencial (AE) de hierba luisa (*Cymbopogon citratus*) es un producto obtenido de las hojas y el tallo por medio de una destilación por arrastre de vapor, y se trata de un aceite esencial totalmente natural sin aditivos químicos. De las plantaciones de la Región Amazónica del Ecuador y destilado en la ciudad de Macas. (FUNDACION CHANKUAP, 2009)

El proveedor del aceite esencial fue la Fundación Chankuap empresa comunitaria de Sacerdotes Salesianos que trabajan con Grupos Achuar y Shuar, con planes de manejo adecuado sin poner en riesgo la biodiversidad y apoyando a poblaciones con alternativas sostenibles.

Características:

Nomenclatura INCI: CYMBOPOGON CITRATUS LEAF OIL

Apariencia: líquido aceitoso transparente.

Color: ligeramente amarillento

Olor: Típico cítrica leve

Densidad: 0,9750 - 0,9850 g/mL.

Composición Química: la composición química del aceite esencial de hierba luisa *Cymbopogon citratus*, se describe en la Tabla N° 5, este aceite esencial se obtuvo en Macas y el análisis se realizó en la Universidad de Ferrara-Italia como lo indica la ficha técnica. Siendo el neral y geranial los compuestos de mayor concentración. (FUNDACION CHANKUAP, 2009)

TABLA N° 6: COMPOSICIÓN QUÍMICA DEL ACEITE ESENCIAL DE HIERBA LUISA

COMPUESTO	% Id
6 methyl 5 hepten-2-one	0,93
□- Myrcene	13,71
Cis – Ocimene	0,23
Trans – Ocimene	0,37
Linalool	1,21
Allo-Ocimene	0,47
Citronellal	0,21
α-Thujone	1,89
Neral *	31,89
Geraniol	2,98
Geranial *	40,25
2- Undecanone	0,8
Geranic acid	0,83
Cinnamic acid methyl ester	0,2
Geranial acetate	0,23
Caryophyllene	0,18
α-Bergamotene	0,11
2- Tridecanone	0,79
2- Tetradecanone.	0,09

Fuente: GM-MS Estudio de la Universidad de Ferrara (Italia).

Elaborado por: la autora

Estudios revelan que aunque la composición química del aceite esencial de *Cymbopogon citratus*, varía según el origen geográfico, los compuestos de hidrocarburos como los terpenos, alcoholes, cetonas, ésteres y principalmente aldehídos han sido constantemente registrados. Siendo la fracción volátil más destacada en este aceite esencial el citral (mezcla de los isómeros geranial y neral), la misma que es la responsable del olor a limón que lo caracteriza. (NEGRELLE, 2007).

3.1.1.2 Isopropyl Mirystate

Características:

Nomenclatura INCI: ISOPROPYL MYRISTATE

Apariencia: líquido oleoso

pH (Solución 10%): 6.5-7.5

Densidad: 0.851-0.856 g/mL.

El isopropyl mirystate (IPM), es un emoliente y emulsionante compatible con todo tipo de agente tensioactivos en un amplio rango de pH.

La baja viscosidad y excelente capacidad de extensión del Isopropyl myristate le confieren un intensivo efecto engrasante para la piel y cabello, sin resultar graso ni pegajoso.

El isopropyl mirystate (IPM) se lo utiliza en la industria cosmética y farmacéutica como un vehículo emoliente no graso; es ampliamente utilizado en aceites corporales, lociones, cremas de afeitar, desodorantes y maquillaje. IPM añade lubricidad y reduce la resistencia de ceras y aceites. (CIR., 2012)

3.1.1.3 Alcohol denat.

Características:

Nomenclatura INCI: ALCOHOL DENAT.

Apariencia: líquido incoloro volátil

Grado alcohólico a 15°C: 96°

Olor: característico y agradable.

Densidad: 0.7893 g/mL.

Los alcoholes desnaturalizados se designan por la denominación INCI “Alcohol denat.” Se trata de alcohol etílico desnaturalizado con uno o más agentes desnaturalizantes conforme a la legislación nacional de cada Estado miembro de la Comunidad. (DECISION 96, 2006)

En la mayoría de los cosméticos que lo contienen este ingrediente se usa como disolvente de los activos u otros componentes de la fórmula que por sus características químicas no son solubles en el agua. En otros productos se incluye por sus propiedades astringentes (para tratamiento de pieles grasas) o, en casos más esporádicos, para modificar la viscosidad de una fórmula o mejorar la absorción de cremas; también se usa mucho como conservante por su capacidad biocida. (ANDÚJAR, 2014)

3.1.1.4 PPG-15 Stearyl ether

Características:

Nomenclatura INCI: PPG-15 STEARYL ETHER.

Apariencia: líquido.

Olor: incoloro.

Densidad: 0.936 g/mL.

Polipropileno glicol (PPG)-15 estearil éter o Polyoxypropylene Stearyl ether como lo describe la Cosmetic Ingredients & Substance (CosIng, 2009) base de datos de la Comisión Europea con información sobre ingredientes y sustancias cosméticas, son éteres de glicol de polipropileno estearílico, se produce a partir de la reacción de óxido de propileno con alcohol estearílico.

El polipropileno glicol (PPG) estearil éteres son éteres de polipropileno de éter estearílico que funciona como agente acondicionador de la piel en formulaciones cosméticas.

El PPG-15 Stearyl Ether es un emoliente no oclusivo, que proporciona una sensación aterciopelada, hidratación y elasticidad a la piel. Actúa como agente de acoplamiento permitiendo la compatibilidad de aceites polares y no polares con el etanol y perfumes. Es químicamente estable en niveles extremos de pH, tiene propiedades deslizantes que mejoran el desempeño de las esferas de roll-on y presenta resistencia natural al rancio, aplicable en aceites de baño y masajes. (DOS SANTOS, 2010)

3.1.1.5 Polysorbate 80

Características:

Nomenclatura INCI: POLYSORBATE 80.

Apariencia: líquido aceitoso

Color: amarillento

Olor: graso leve.

pH: 5-7

Densidad: 1.06-1.10 g/mL.

Se lo describe como monooleato de sorbitán polioxietilénico 80, tensoactivo no- iónico, tiene

la función de ser un surfactante hidrofílico.

Es un éster de ácido oleico de sorbitol y sus mono y dianhídridos copolimerizados con aproximadamente 20 moles de óxido de etileno. Es bajo en toxicidad y no irritante para la piel.

Es un líquido viscoso con un olor a caramelo débil y es ampliamente usado en lociones para el cuerpo, cremas frías, desodorantes, antitranspirantes, lociones bronceadoras y productos de baño. (WINTER, 2009)

3.2 METODOLOGÍA

Como paso previo a la realización de las formulaciones se realiza un Diseño experimental que permite relacionar todas las variables de la composición de la fórmula y generar posibles formulaciones, todas están pasando por una estabilidad preliminar que permitirá definir las formulas estables que ingresarán al estudio de estabilidad acelerada.

3.2.1 Diseño Experimental

En las preparaciones antiacnéicas es importante la composición del ingrediente activo (antibacterial), y la base que los contiene., en base a ello se establece, un diseño experimental factorial completo de dos factores y tres niveles, considerando como variables los siguientes ingredientes que afectan características organolépticas de la loción: emoliente al 60, 50, 35%, el tensoactivo al 15, 10, 5%, en dos corridas o repeticiones utilizando una variación en el vehículo que si no afecta la característica podría incidir en la acción antibacteriana del activo, la primera repetición se utiliza como vehículo alcohol desnaturalizado al 20% y en la segunda corrida alcohol desnaturalizado a una concentración del 10%. El ingrediente constante en todas las formulaciones es el aceite esencial de hierba luisa *Cymbopogon citratus*, al 5%, concentración demostrada eficiencia antiacnéica.

TABLA N° 7: DISEÑO EXPERIMENTAL FUNCIÓN VS TIPO DE FACTOR

INGREDIENTES	FUNCIÓN	TIPO DE FACTOR
Isopropyl Myristate	EMOLIENTE	VARIABLE
Alcohol denat	SOLVENTE	FIJO (20% - 10 %)
PPG-15 Stearyl ether	EMOLIENTE	FIJO
AE <i>Cymbopogon citratus</i>	ANTIBACTERIAL	FIJO (5%)
Polysorbate 80	TENSOACTIVO	VARIABLE
Agua	SOLVENTE	CSP

Elaborado por: La autora.

Para la formulación se estableció un diseño factorial completo de dos factores y tres niveles con dos réplicas, bajo el siguiente esquema de formulación:

TABLA N° 8: FACTORES CONTROLABLES

	Factores controlables	Número de niveles	Especificaciones de niveles
1	Concentración de emoliente (Isopropyl myristate)	3	60, 50 y 35%
2	Concentración de tensoactivo (Polosorbate 80)	3	5, 10, 15%

Elaborado por: La autora

Las dos corridas se realizaron cambiando la concentración del vehículo, las primeras nueve formulaciones se utilizó alcohol desnaturalizado al 20%, y las otras nueve formulaciones con alcohol desnaturalizado al 10%.

Se realiza también una muestra considerada BLANCO, en la que se elimina la concentración del alcohol desnaturalizado para poder visualizar el comportamiento del efecto antibacterial que produce el aceite esencial de Hierba Luisa *Cymbopogon citratus*.

TABLA N° 9: PRIMERA CORRIDA DE FORMULACIÓN

INGREDIENTES (INCI)	1	2	3	4	5	6	7	8	9
ISOPROPYL MYRISTATE	50	50	50	60	60	60	35	35	35
ALCOHOL DENAT	20	20	20	20	20	20	20	20	20
PPG-15 STEARYL ETHER	5	5	5	5	5	5	5	5	5
POLYSORBATE 80	5	10	15	5	10	5	5	15	20
AE. <i>CYMBOPOGON CITRATUS</i>	5	5	5	5	5	5	5	5	5
AGUA CPS	15	10	5	5	0	5	30	20	15
% TOTAL	100	100	100	100	100	100	100	100	100

Elaborado por: La autora

TABLA N° 10: SEGUNDA CORRIDA DE FORMULACIÓN

INGREDIENTES (INCI)	1	2	3	4	5	6	7	8	9	B
ISOPROPYL MYRISTATE	35	35	35	50	50	50	60	60	60	60
ALCOHOL DENAT	10	10	10	10	10	10	10	10	10	
PPG-15 STEARYL ETHER	10	10	10	10	10	10	10	10	10	20
POLYSORBATE 80	5	10	15	5	10	15	5	10	15	15
AE. <i>CYMBOPOGON CITRATUS</i>	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
AGUA CPS	35	30	25	20	15	10	10	5	0	0
% TOTAL	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100

Elaborado por: La autora

3.2.2 Proceso de manufactura de la formulación

3.2.2.1 Procedimiento

Las 19 formulaciones se elaboraron a volumen piloto de 100 mL, por Método de Disolución Simple en frío y todas las muestras se sometieron a la prueba de estabilidad preliminar.

Luego de los resultados de la prueba preliminar, las tres formulaciones que pasaron la prueba se volvieron a elaborar a escala piloto pero a un volumen de 1000 mL. Los

materiales utilizados se describen en la siguiente tabla, y el procedimiento detallado se describe a continuación.

TABLA N° 11: EQUIPOS Y MATERIALES PARA LA ELABORACIÓN DE LA LOCIÓN ANTIACNÉ

EQUIPOS	MATERIALES
-Plancha de agitación. -Equipo de protección personal: Mandil, guantes, cofia.	-Vasos de precipitación -Probeta graduada. -Agitador magnético. -Materias Primas -Envases primario -Etiquetas

Elaborado por: La autora

1. Limpiar y sanitizar el área de fabricación.
2. Medir exactamente cada una de las materias primas.
3. En un recipiente con agitación magnética se adiciona la Fase A (Isopropyl myristate, PPG-15 stearyl ether, polysorbate 80).
4. Adicionar a la Fase A, el Alcohol denat.
5. Por último adicionar el AE *Cymbopogon citratus*.
6. Realizar control de calidad al producto terminado.
 Físicas-Organolépticas: Color, olor, aspecto, densidad.
 Químicas: pH, Determinación de citral.
 Microbiológicas: Recuento de microorganismo mesófilos aerobios totales;
 Patógenos (*P. aeruginosa*, *St. Aureus*, *E.coli*.)
7. Envasar en frascos de vidrio color ámbar con el dispensador.
8. Colocar la etiqueta con la identificación de cada una de las tres muestras 5, 9, B, para poder realizar en los períodos establecidos las pruebas de control de calidad.

3.2.2.2 Envase primario

La loción elaborada por contener un AE es un producto sensible a la acción de luz y debe ser acondicionada en lugares protegidos, en frascos opacos u oscuros. El envase escogido como envase primario tiene las siguientes especificaciones.

TABLA N° 12: ESPECIFICACIÓN ENVASE PRIMARIO LOCIÓN ANTIACNÉ.

ENVASE	Frasco de 10 mL.	Tapa con inserto gotero
MATERIAL	Vidrio	Polipropileno.
COLOR	Ámbar	Tapa: Negra Gotero: Blanco
PESO	Aprox. 32 g.	Aprox. 2,2 g.

Elaborado por: la autora.

3.2.3 Ensayo estabilidad preliminar.

El estudio de estabilidad preliminar se lo realizó como evaluación que oriente en la elección de las formulaciones que permitan proseguir con el estudio de estabilidad acelerada.

Procedimiento. En los casos en que el formulador considere necesario según las características sensoriales del producto, se recomienda centrifugar una muestra entre 3000 vueltas/min y 5000 vueltas/min durante un período de 5 min a 30 min. El producto debe permanecer estable conservando sus características sensoriales y cualquier señal de inestabilidad indica la necesidad de reformulación. (Instituto Argentino de Normalización y Certificación, 2011)

TABLA N° 13: CONDICIONES ESTABILIDAD PRELIMINAR

EQUIPOS	CONDICIONES
Centrífuga Marca: Selecta. Mod. Centro8/7001356. Tubos de ensayo 10 mL.	5 a 30 minutos entre 3000 y 5000 rpm.

Elaborador por: La autora.

3.2.3.1 Selección formulación idónea

Luego de realizar el estudio de estabilidad preliminar en las 19 formulaciones se pudo evidenciar que las 16 muestras que contenían agua hasta CSP, separaron sus fases claramente, demostrando inestabilidad de la formulación.

En cambio las 3 formulaciones que no contenían agua, se mantuvieron en una sólo fase, conservando sus características sensoriales de color amarillo claro, olor a cítrico y aspecto transparente, y determinándolas aprobadas en esta etapa preliminar.

Estas tres formulaciones al cumplieron con las especificaciones organolépticas de color, olor y transparencia fueron seleccionadas para continuar con el estudio de estabilidad acelerada en el tiempo de 3 meses. (Instituto Argentino de Normalización y Certificación, 2011)

3.2.4 Control de Calidad

El control de calidad de la loción antiacné, se realiza analizando los siguientes parámetros:

- Especificaciones Físicas-organolépticas
- Especificaciones Químicas
- Especificaciones Microbiológicas

3.2.4.1 Especificaciones Físicas-organolépticas

Las características organolépticas del producto cosmético son detectables con la utilización de los sentidos, un análisis sensorial que identifica: aspecto, sensación al tacto, color, olor. Estos parámetros son calificados en base a la especificación descrita en la tabla N° 14.

Para esta determinación organoléptica de la loción se toma unos 25 mL de la loción antiacné en un vaso de precipitación y se determina mediante análisis sensorial el: color, olor, y aspecto.

**TABLA N° 14: ESPECIFICACIONES FÍSICAS-ORGANOLÉPTICAS DE LA LOCIÓN
ANTIACNÉ**

PARÁMETRO	MÉTODO	ESPECIFICACIONES
Color	Sensorial	Amarillo pálido
Olor	Sensorial	Cítrico
Aspecto	Sensorial	Transparente

Elaborado por: la autora.

Determinación de la Densidad Relativa.

Se entiende por densidad relativa a la relación entre la masa de un volumen de la sustancia a ensayar a 25°C y la masa de un volumen igual de agua a la misma temperatura. Este término equivalente a peso específico.

TABLA N° 16: EQUIPOS Y MATERIALES PARA LA DETERMINACIÓN DE DENSIDAD.

EQUIPO	MATERIALES
-Balanza analítica Marca: Denier Scientific Mod. TR204. -Picnómetro tipo Gay-Lussac Marca: LMC Germany Mod.. 41325, capacidad 10 mL.	Vaso de precipitación 20 mL.

Elaborado por: la autora.

Se procedió según el método 816 establecido en la USP. En el que se utiliza un picnómetro, el cual se pesa vacío y seco a 25°C y se llena con la muestra. Posteriormente se pesa el picnómetro con la muestra y se repite la operación con el agua destilada.

Expresión del resultado:

La densidad relativa a 25°C se calcula por la siguiente ecuación:

$$D_{25} = \frac{M_1 - M}{M_2 - M}$$

Dónde:

M_1 = Peso del picnómetro con la loción

M_2 = Peso del picnómetro con agua.

M = Peso del picnómetro vacío.

Los resultados se aproximan hasta la tercera cifra.

3.2.4.2 Especificaciones Químicas

Determinación del pH.

La acidez o la alcalinidad de las soluciones se caracterizan por el valor del índice de hidrógeno, pH. El pH es por tanto un índice numérico que se utiliza para expresar la mayor o menor acidez de una solución en función de los iones hidrógenos. Se calcula teóricamente mediante la ecuación:

$$\text{pH} = -\log a [\text{H}^+]$$

$a [\text{H}^+]$ = actividad de los iones hidrógeno.

TABLA N° 15: EQUIPOS Y MATERIALES PARA LA DETERMINACIÓN DEL PH.

EQUIPO	MATERIALES
Potenciómetro Marca: Metter Toledo Mod.Seven Multi	Vaso de precipitación 20 mL.

Elaborado por: la autora.

En la práctica la medición del pH se realiza por medio de la lectura de pH en la escala de un instrumento medidor de pH, ya sea analógico o digital. Esta lectura está en función de la diferencia de potencial establecida entre un electrodo indicador y un electrodo de referencia.

Ajuste el equipo con la solución reguladora de pH, adecuada al rango en que se realizará la determinación. Posteriormente se determina el valor del pH, de la muestra.

Determinación de Aldehídos totales expresados como Citral.

Se procede según el método Determinación de aldehídos expresados como Citral encontrado en la British Pharmacopoeia, Appendix X-K.

Se basa en la reacción de la hidroxilamina con los aldehídos que libera iones hidrógenos, que luego son titulados por neutralización.

TABLA N° 17: EQUIPOS Y MATERIALES PARA LA DETERMINACIÓN DE CITRAL.

MATERIALES	REACTIVOS
Bureta graduada 50 mL. Erlenmeyer 50 mL. Pipeta volumétrica de 10 mL. Pipeta graduada de 5 mL. Soporte universal. Pinza para buretas.	-Sol. Alcohólica de Hidróxido de sodio 0,5 M. -Sol. Indicadora de Hidroxylamine alcohólica.

Elaborado por: la autora.

La determinación de aldehídos como citral en la loción se lo realiza por titulación.

Se transfiere con pipeta volumétrica 10 mL. a un erlenmeyer; se añade 4 mL. del indicador solución de hydroxylamine alcohólica, agitar y titular el ácido con la solución alcohólica de hidróxido de sodio 0,5 M hasta que el color amarillo permanezca inalterado durante dos minutos. Anotar el volumen de álcali utilizado.

Cada mililitro de 0,5 M de NaOH en etanol (60%) es equivalente a 76,73 mg de C₁₀H₁₆O. (British Pharmacopoeia, 1999)

Expresión de resultados mediante la siguiente ecuación:

$$(\% P/V)_{Citral} = \frac{C_{NaOH} \times V_{NaOH}}{V_{Muestra (10mL)}} \times 15,2$$

Dónde:

C_{NaOH} = Concentración del hidróxido de sodio etanólico

V_{NaOH} = Volumen consumido de NaOH.

15,2 = Factor equivalente

V = Volumen de muestra.

3.2.4.3 Especificaciones Microbiológicas.

Se realizaran de acuerdo a la Resolución 1482: Límites de contenido microbiológico de productos cosméticos, clasificación de acuerdo con el riesgo del producto cosmético.

TABLA N° 18: LÍMITE DE CONTENIDO MICROBIOLÓGICO DE PRODUCTOS COSMÉTICOS.

ÁREA DE APLICACIÓN Y FASE ETARIA	LÍMITES DE ACEPTABILIDAD
<ul style="list-style-type: none">Productos para uso en infantes (hasta 3 años)Productos para uso en área de ojos.Productos que entran en contacto con las membranas mucosas.	<ul style="list-style-type: none">a. Recuento de microorganismos mesófilos aerobios totales. Límite máximo 5×10^2 UFC/g ó ml.b. Ausencia de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> en 1 g ó ml.c. Ausencia de <i>Staphylococcus aureus</i> en 1 g ó ml.d. Ausencia de <i>Escherichia coli</i> en 1 g ó ml.
<ul style="list-style-type: none">Demás productos cosméticos susceptibles de contaminación microbiológica.	<ul style="list-style-type: none">a. Recuento de microorganismos mesófilos aerobios totales. Límite máximo 5×10^3 UFC/g ó ml.b. Ausencia de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> en 1 g ó ml.c. Ausencia de <i>Staphylococcus aureus</i> en 1 g ó ml.d. Ausencia de <i>Escherichia coli</i> en 1 g ó ml.
<ul style="list-style-type: none">Productos a ser utilizados en los órganos genitales externos	<ul style="list-style-type: none">a. Ausencia de <i>Candida albicans</i>.

FUENTE: Resolución 1482. CAN.

La metodología utilizada en la determinación de los parámetros microbiológicos para la loción antiacné fue bajo la AOAC, de acuerdo a la tabla siguiente:

TABLA N° 19: MÉTODOS PARA LA DETERMINACIÓN MICROBIOLÓGICOS

PARAMETRO	MÉTODO
Recuento de Bacterias Aerobios Mesófilos	AOAC 990.12
Recuento de Mohos y Levaduras	AOAC 997.02
Recuento de Coliformes y <i>Escherichia coli</i>	AOAC 991.14
<i>Pseudomona aeruginosa</i>	AOAC 2003.11
<i>Staphylococcus aureus</i>	AOAC 972,23

Elaborado por: la autora.

TABLA N° 20: EQUIPOS Y MATERIALES PARA LA DETERMINACIÓN MICROBIOLÓGICA

EQUIPOS	MATERIALES
-Cabina flujos Horizontal Marca: ESCO . Mod. ABC- 4A2.	-Placas Petrifilm™ Recuento de bacterias aerobia. Lote: 2015-05TF.
-Incubadora Marca: Shel lab. Mod. 1525. (T°: 37°C ± 2°C).	-Placas Petrifilm Recuento de Levaduras y Monos Lote: 2014-08KB.
-Micropipeta Marca: Droptex Mod.1000 µl.	-Placas Petrifilm™EC. Recuento de E. coli y coliformes Lote: 2015-07KD.
	-Placas Petrifilm Staph Express. Lote: 2014-142KB /2015-03KA.
	-Caldo TSB y cajas petri con centrífida.

Elaborado por: la autora.

Recuento de Microorganismos Mesófilos Aerobios Totales

El recuento de aerobios por el sistema petrifilm (AOAC 990.12), son un medio de cultivo listo para ser empleado, que contiene nutrientes de Agar Standard Methods, un agente gelificante soluble en agua fría y un tinte indicador de color rojo que facilita el recuento de las colonias.

Procedimiento:

Coloqué la placa petrifilm en la superficie plana del flujo laminar. Levanté la lámina semitransparente superior.

Con la pipeta perpendicular a la placa petrifilm, se coloca 1 mL de la muestra en el centro de la película cuadrículada inferior.

Se liberó la película superior dejando que caiga la dilución. Con el lado rugoso hacia abajo, se colocó el dispersor sobre la película superior y se cubrió totalmente la muestra.

Se presionó suavemente el dispersor para distribuir la muestra sobre el área circular.

Se levantó el dispersor y se esperó por lo menos un minuto a que se solidifique el gel, para luego proceder a la incubación a $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ por 48 H.

Recuento de Mohos y Levaduras

El recuento con placas Petrifilm para la determinación de Mohos y levaduras (AOAC 997.02); consiste en un medio de cultivo listo para usar que contiene un agente gelificante en agua fría, nutrientes suplementados con dos antibióticos (clorotetraciclina y cloranfenicol) y un indicador de fosfato (BCIP) que facilita el recuento.

Procedimiento:

Se coloca la placa petrifilm en la superficie plana del flujo laminar.

Levanté la lámina semitransparente superior.

Con la pipeta perpendicular a la placa petrifilm, coloqué 1 mL de la muestra en el centro de la película cuadrículada inferior.

Liberé la película superior dejando que caiga la dilución. Con el lado rugoso hacia abajo coloco el dispersor sobre la película superior y cubro totalmente la muestra.

Presioné suavemente el dispersor para distribuir la muestra sobre el área circular.

Levanté el dispersor y espero por lo menos un minuto a que se solidifique el gel y se procede a la incubación a $25^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ de 3 a 5 días.

Patógenos:

Recuento de *E. coli* y Coliformes Totales.

El recuento de *E. coli*, y coliformes por el sistema petrifilm (AOAC 991.14), se fundamenta ya que estas placas contienen como los nutrientes del Violeta Rojo Bilis (VRB) modificado, un agente gelificante soluble en agua fría y un indicador glucoronidasa, forma un precipitado azul alrededor de las colonias de *E. coli* que facilita la enumeración de colonias. El film superior atrapa el gas producido por la fermentación de la lactosa por los coliformes. Las colonias confirmadas de coliformes son rojas y se encuentran asociadas a burbuja de gas. Las colonias de *E. coli* son rojo azuladas y/o azules asociadas a burbuja de gas.

Procedimiento:

Se coloca la placa petrifilm en la superficie plana del flujo laminar.

Levanté la lámina semitransparente superior.

Con la pipeta perpendicular a la placa petrifilm, se colocó 1 mL de la muestra en el centro de la película cuadrículada inferior.

Se liberó la película superior dejando que caiga la dilución. Con el lado rugoso hacia abajo coloco el dispersor sobre la película superior y cubro totalmente la muestra.

Presioné suavemente el dispersor para distribuir la muestra sobre el área circular.

Se levantó el dispersor y espero por lo menos un minuto a que se solidifique el gel y se procede a la incubación a $35^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ por 24 horas para Coliformes totales y 24 a 48 horas para *E. coli*.

Staphylococcus aureus

El sistema de recuento Petrifilm Staph Express consiste en una placa de recuento y un disco petrifilm staph express, este sistema contiene un medio de cultivo preparado. El medio cromogénico de Baird-Parker modificado de la placa siendo selectivo y diferencial para *Staphylococcus aureus*. Apareciendo de color rojo-violeta.

Esta validado con la AOAC 2003.07, el disco Staph Express Petrifilm 3M ha sido diseñado para la detección de las reacciones de desoxirribonucleasa (DNasa) específicas de *S. aureus*, aislado en la placa de recuento Petrifilm staph express, contiene azul-O tuldina que facilita la visualización de las reacciones de DNasa.

Este disco contiene un colorante y ácido desoxirribonucleico (ADN), el *S. aureus* produce desoxirribonucleasa (ADNasa) y la ADNasa reacciona con el tinte para formar zonas de color rosa. Cuando se inserta el disco en la placa, el *S. aureus*, producen una zona rosa.

Procedimiento:

Con la pipeta perpendicular a la placa petrifilm, se colocó 1 mL de la muestra en el centro de la película cuadrículada inferior.

Se liberó la película superior dejando que caiga la dilución. Con el lado rugoso hacia abajo se colocó el dispersor sobre la película superior y cubrió totalmente la muestra.

Se presiona suavemente el dispersor para distribuir la muestra sobre el área circular.

Levanté el dispersor y espero por lo menos un minuto a que se solidifique el gel y se procedió a la incubación las placas cara arriba a $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ por 24 H.

Si no aparecen colonias después de 24 horas de incubación, el recuento es 0 y el ensayo se da por concluido.

Si aparecieran otras colonias de color utilice el disco Petrifilm Stpah Express.

Pseudomona aeruginosa

La determinación de *P.aeruginosa*, se realizó por el método oficial AOAC 972.23, se desarrolló de la forma de enriquecimiento, aislamiento e identificación.

La formulación del medio de cetrimina selectivo para *P. aeruginosa*, estimulando la formación de pigmentos. En este medio en el cual la peptona de gelatina aporta los nutrientes para el desarrollo microbiano, el cloruro de magnesio y el sulfato de potasio promueven la formación de plocianina, pioverdina, piomelaniana y fluoresceína de *P. aeruginosa*. La cetrimida es un detergente catiónico que actúa como agente inhibidor, libera el nitrógeno y el fósforo de las células de casi toda la flora acompañante, aunque inhibe también algunas especies de *pseudomonas*.

Procedimiento

El enriquecimiento se realiza con 10 mL de la loción, en un frasco que contiene 90 mL, de caldo TSB, agité suavemente, e incubé a 35°C, durante 24 a 48 horas.

Aislamiento, con una asa de cultivo en Caldo de TSB, sembré haciendo extensión por agotamiento en superficie, placas con agar cetrimida, siendo este el medio selectivo para la *P. aeruginosa*. Como no tuve contaje en placa no se procedió a la identificación.

Identificación, seleccionar tres colonias sospechosas y realizar a cada una coloración Gram, si observa bastones Gram negativos, realizar la prueba de oxidasa, si salió positiva esta prueba, realizar la prueba de piocianina, el resultado se reportará como presencia o ausencia de *Pseudomona aeruginosa*.

3.2.4.4 Actividad antibacteriana- antiacné frente a *P. acnes*. Determinación *in vitro* de la CMI.

Metodología de Difusión en disco

El fundamento de esta determinación es establecer, en forma cuantitativa, el efecto de un conjunto de sustancias, ensayadas individualmente, sobre cepas bacterianas que tiene una cantidad específica de antimicrobiano. El disco es aplicado a una superficie de agar inoculado con un microorganismo, el antimicrobiano difunde desde el disco al medio de cultivo produciendo una zona de inhibición en la cual una concentración crítica de antimicrobiano inhibe el crecimiento bacteriano. La zona de inhibición es medida y se relaciona con la CMI (RAMIREZ, 2009).

La evaluación de la actividad antibacteriana *in vitro* de la CMI de la loción se realiza por el método de difusión en medio sólido, con la loción antiacné frente a *P. acnés*.

TABLA N° 21: EQUIPOS, MATERIALES Y REACTIVOS EN LA DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN MÍNIMA INHIBITORIA CMI.

EQUIPOS
<ul style="list-style-type: none"> -Autoclave Vertical M. Phoenix Mod. AV50. -Balanza semianalítica Marca: Fuzion Mod. TX 2000. -Cabina flujo Horizontal Marca: ESCO . Mod. ABC-4 A 2. -Centrífuga Marca: Selecta. Mod. Centro8/7001356. -Incubadora de CO2 Marca: Brinder Mod. CB53-UL. -Micropipeta Marca: Droptex Mod. 100-1000 µl. Plancha Calefactora Marca: Thermo Mod. SP131015. -Purificador de Agua Marca: Milipore Mod. Direct-Q. -Espectrofotómetro UV. Marca: Shimadzu. Mod. UVmini 1240. -Vortex Mixer Marca: Gemmy Mod. Vm-300.
MATERIALES
<ul style="list-style-type: none"> -Tubos de Ensayo. - Pinzas. -Asa de platino. -Asa de disgralsky. -Puntas de 100 µl . -Puntas de 1000 µl. -Espátula. -Celdas plásticas. -Cajas Petri. -Discos de antibiograma blancos. -Discos de tetraciclina 18mg/mL.
REACTIVOS
<ul style="list-style-type: none"> -TSB. -TSA. -Solución fisiológica 0,9%. -Alcohol 90%. -<i>P. acnes</i> ATCC11827

Elaborado por: la autora.

Preparación del inóculo bacteriano

Este método de la preparación del inóculo bacteriano es un método de revisión y se realizó mediante el Método para la cuantificación del crecimiento de poblaciones microbianas en base a la masa celular por turbidimetría. Se utilizó la técnica de densidad óptica que relaciona la medida de absorbancia con el crecimiento bacteriano. Esta técnica se basa en el hecho de que las partículas pequeñas difractan la luz, dentro de ciertos límites, de manera proporcional a su concentración. Cuando un haz luminoso pasa a través de una suspensión bacteriana, la reducción en cantidad de luz transmitida a consecuencia de la difracción es pues una medida de masa bacteriana. Tales mediciones se hacen normalmente con un fotómetro o espectrofotómetro. (Stainer, Ingraham, Wheelis, & Painter, 1989).

Se preparó un cultivo over night de la cepa a utilizarse en 5 ml de medio TSB. Al día siguiente se centrifugó a 3500 rpm, durante 20 minutos en una Centrifugadora marca Pselecto y se eliminó el sobrenadante. Posteriormente se añadió 4 ml de solución fisiológica al 0,9% al pellet obtenido y se mezcló con ayuda de un Vortex marca K-gemmy. El inóculo obtenido fue colocado en un tubo con 3 ml de solución fisiológica. A continuación, se reguló la densidad óptica en un Espectrofotómetro Shimadzu hasta alcanzar una absorbancia de 0,201 a una longitud de onda de 655 nm para obtener un inóculo bacteriano equivalente a 1×10^8 UFC. (MEZA, 2013)

Siembra en cajas de agar e Incubación

Cinco minutos después de haber ajustado la densidad óptica del inóculo, se tomó con una micropipeta 100 μ l de inóculo y se procedió a sembrar en 3 placas con TSA preparado según las especificaciones del fabricante. A continuación, se dispersó el inóculo por toda la superficie del agar con la ayuda de un asa de digralsky. Luego aplicamos 3 discos con las tres formulaciones de la loción en cada caja con 10 μ l, presionándolos con suavidad sobre la superficie del agar con una pinza estéril. Se utilizó como control positivo discos de Tetracilina (18 mg/mL) y control negativo discos vacíos. Posteriormente, se llevó las cajas a un refrigerador por 10 minutos para facilitar la difusión del antibacteriano. Las cajas fueron colocadas en posición invertida dentro de estufa Brinder a 35 ± 2 °C, con CO₂ 5.0 por 72 horas. Finalmente, se midieron los halos de inhibición y se anotaron los resultados. Esta prueba se realizó por cuadruplicado para garantizar un error inferior al 10%. (MEZA, 2013)

3.2.5 Estudio de Estabilidad.

Procedimiento.-

Las muestras se acondicionan en el envase seleccionado para su comercialización y el número de unidades debe ser el suficiente para las evaluaciones necesarias. La periodicidad de la evaluación de las muestras puede variar por algunos factores como: la experiencia técnica, especificaciones del producto, características especiales de algún componente de la formulación o sistema conservante utilizado, sin embargo lo más usual en este estudio acelerado es que sean evaluadas inicialmente en tiempo cero, 24 h y a los 15, 30, 60 y 90 días. Si el estudio se prolonga por más tiempo, se recomiendan evaluaciones mensuales hasta su término. (Instituto Argentino de Normalización y Certificación, 2011)

TABLA N° 22: EQUIPOS Y CONDICIONES ESTABILIDAD ACELERADA.

EQUIPO	CONDICIONES
Cámara de Estabilidad	Temperatura: 40 ± 2 °C
Marca: Binder Mod. KBF240	Humedad Relativa: 75 ± 5 °C.

Elaborado por: la autora.

El plazo de validez caracterizado como el período de vida útil, definido como el tiempo durante el cual el producto mantiene sus características originales. La definición de este período antes de ser un requisito legal, es un requisito técnico de calidad, pues un producto inestable desde el punto de vista físico-químico, microbiológico o toxicológico, además de la pérdida de eficacia podrá también causar algún daño y comprometer la confiabilidad del consumidor. (Agencia Nacional de Vigilancia Sanitaria, 2005)

CAPÍTULO IV- RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 RESULTADOS ESTABILIDAD PRELIMINAR EN LAS 19 FORMULACIONES

En la siguiente tabla se puede visualizar los resultados de las 19 formulaciones sometidas a estabilidad preliminar

TABLA N°23: ESTABILIDAD PRELIMINAR DE LAS 19 FORMULACIONES

INGREDIENTES INCI	1ra. Corrida									2da. Corrida									B
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	1	2	3	4	5	6	7	8	9	
Isopropyl myristate	50	50	50	60	60	60	35	35	35	35	35	35	50	50	50	60	60	60	60
Alcohol denat	20	20	20	20	20	20	20	20	20	10	10	10	10	10	10	10	10	10	
PPG-15 stearyl ether	5	5	5	5	5	5	5	5	5	10	10	10	10	10	10	10	10	10	20
Polysorbate 80	5	10	15	5	10	5	5	15	20	5	10	15	5	10	15	5	10	15	15
<i>Cymbopogon citratus</i> leaf oil	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
Aqua CPS	15	10	5	5	0	5	30	20	15	35	30	25	20	15	10	10	5	0	0
% TOTAL	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
Estabilidad preliminar	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)	(+)

Elaborado por: la autora.

(+) = Solución homogénea (Una sola fase) = Formulación estable

(-) = Solución heterogénea (Separación de fases) = Formulación inestable

Al realizar la prueba de estabilidad preliminar se obtuvo que 16 formulaciones se separaron las fases como se puede ver en el Anexo 1.-Fotografías de la investigación. Figura 8.

Las tres formulaciones que se mantuvieron en una sola fase, apreciándose como una solución homogéneas y se consideraron estables fueron de la primera corrida la número 5 que tiene 20% de alcohol denat, de la segunda corrida la número 9 que tiene 10% de alcohol denat y la muestra B que no contiene alcohol denat.

4.2 RESULTADOS DE CALIDAD DE LAS MUESTRAS

Luego de la aplicación de la metodología para la estabilidad de la loción antiacné, los resultados de control de calidad obtenidos desde el tiempo cero hasta el día noventa de cada una de las tres formulaciones se describen en las siguientes tablas:

4.2.1 Control de Calidad en la Muestra B

En la siguiente tabla se describe cada uno de los valores obtenidos en las mediciones

TABLA N° 24: RESULTADOS DE LOS PARÁMETROS DE CALIDAD EN LA MUESTRA B.

TIEMPOS		0	24 H.	15 D	30 D.	60 D.	90 D.
ANÁLISIS		1	2	3	4	5	6
FÍSICOS	Color	Amarillo pálido					
	Olor	Cítrico	Cítrico	Cítrico	Cítrico	Cítrico	Cítrico
	Aspecto	Transparente	Transparente	Transparente	Transparente	Transparente	Transparente
	Densidad _{25°C} g/mL.	0,9091	0,9090	0,9048	0,9033	0,9026	0,8999
QUÍMICOS	pH.	6,21	6,16	6,11	5,81	5,68	5,51
	Cítral (%P/V)	3,25	3,25	3,17	3,04	2,93	2,91
MICROBIOLÓGICOS	Recuento de Bacterias Aerobios Mesófilos	<1 UFC/ mL.					
	Recuento de Mohos y Levaduras	<1 UFC/ mL.					
	<i>P. aeruginosa</i>	AUSENCIA	AUSENCIA	AUSENCIA	AUSENCIA	AUSENCIA	AUSENCIA
	<i>S. aureus</i>	AUSENCIA	AUSENCIA	AUSENCIA	AUSENCIA	AUSENCIA	AUSENCIA
	<i>E.coli</i> y Coliformes	<1 UFC/ mL.					
	<i>P. acnes</i> (mm)	13,95	13,8	13,75	13,6	12,25	12,15

Elaborado por: la autora

Evaluación Física-organoléptica:

En la muestra B, las características organolépticas se mantienen constantes durante el período de estudio de estabilidad, considerando como NORMAL SIN ALTERACION.

Con lo que se demuestra que no se producen degradaciones en la formulación.

Los valores de densidad varían en la tercera cifra decimal.

Evaluación Microbiológica:

No hay presencia de crecimiento microbiano, durante el tiempo de estabilidad.

Evaluación antibacteriana frente a la *P. acnes*:

El CMI por determinación in vitro se resume en la siguiente tabla:

TABLA N° 25: HALOS DE INHIBICIÓN DE LA LOCIÓN ANTIACNÉ B FRENTE A LA *P.acnes*.

TIEMPOS	0	24 H.	15 D	30 D.	60 D.	90 D.
ANÁLISIS	1	2	3	4	5	6
1ra. Med. (mm)	13,80	14,30	13,50	13,40	12,50	12,4
2da. Med. (mm)	14,10	13,30	14,00	13,80	12,90	11,9
Promedio (mm)	13,95	13,80	13,75	13,60	12,70	12,15

Elaborado por: la autora.

Análisis de varianza de un factor						
RESUMEN						
<i>Grupos</i>	<i>Cuenta</i>	<i>Suma</i>	<i>Promedio</i>	<i>Varianza</i>		
Tiempo (días)	12	392	32,67	1167,88		
Diámetro (mm)	12	159,9	13,33	0,57		
ANÁLISIS DE VARIANZA						
<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>F crítico</i>
Entre grupos	2244,60	1	2244,60	3,84	0,06	4,30
Dentro de los grupos	12852,91	22	584,22			

GRÁFICO N° 3: ANÁLISIS DE VARIANZA MUESTRA B.

Elaborado por: la autora.

$F < F_{crítico}$; por lo tanto no existe diferencia significativa entre la respuesta de los halos de inhibición en tiempo 0, 1, 15, 30, 60 y 90 días a un nivel de significancia de 0.05.

Con respecto a la tesis de Meza&Vargas el halo promedio de la loción al 5% de *Cymbopongo citratus* fue de 14.8 mm, y en la formulación N° B fue 13.95 mm, no existe mayor diferencia con respecto a la inhibición frente a la *P.acnes*.

Evaluación Química:

Los valores de pH se encuentran dentro de los límites 4,5 a 6 considerando para uso tópico, ya que los valores son similares a los de la piel.

Con respecto a la concentración de Citral como aldehídos:

Por medio de la ecuación, el % de citral se calcula de la siguiente manera:

$$(\% P/V)_{\text{Citral}} = \frac{C_{\text{NaOH}} \times V_{\text{NaOH}}}{V_{\text{Muestra (10mL)}}} \times 15,2$$

$$(\% P/V)_{\text{Citral}} = \frac{0,5341 \times 4,0}{10 \text{ ml}} \times 15,2 = 3,25 \%$$

El porcentaje de citral se lo describe en la tabla siguiente en cada uno de los períodos establecidos en la prueba para estabilidad acelerada y poder calcular mediante el gráfico log % degradado vs 1/TX 10000. Con la ayuda de las constantes de contingencia teóricas se desarrollan los datos inicial y final de la muestra para poder graficarla.

TABLA N°26: DATOS PARA GRÁFICO LOG % DEGRADADO VS. 1/T X 10000 DE LA MUESTRA B.

40 °C / 75% HR		B
TIEMPO (DIAS)	0	3,25
	1	3,25
	15	3,17
	30	3,04
	60	2,93
	90	2,91

T (°C)	°K	10000/T	Conc. Inicial	Conc. Final (3 meses)	% degradación	log % deg
40	313	31,9488818	3,25	2,91	10,46	1,01960

Elaborado por: la autora.

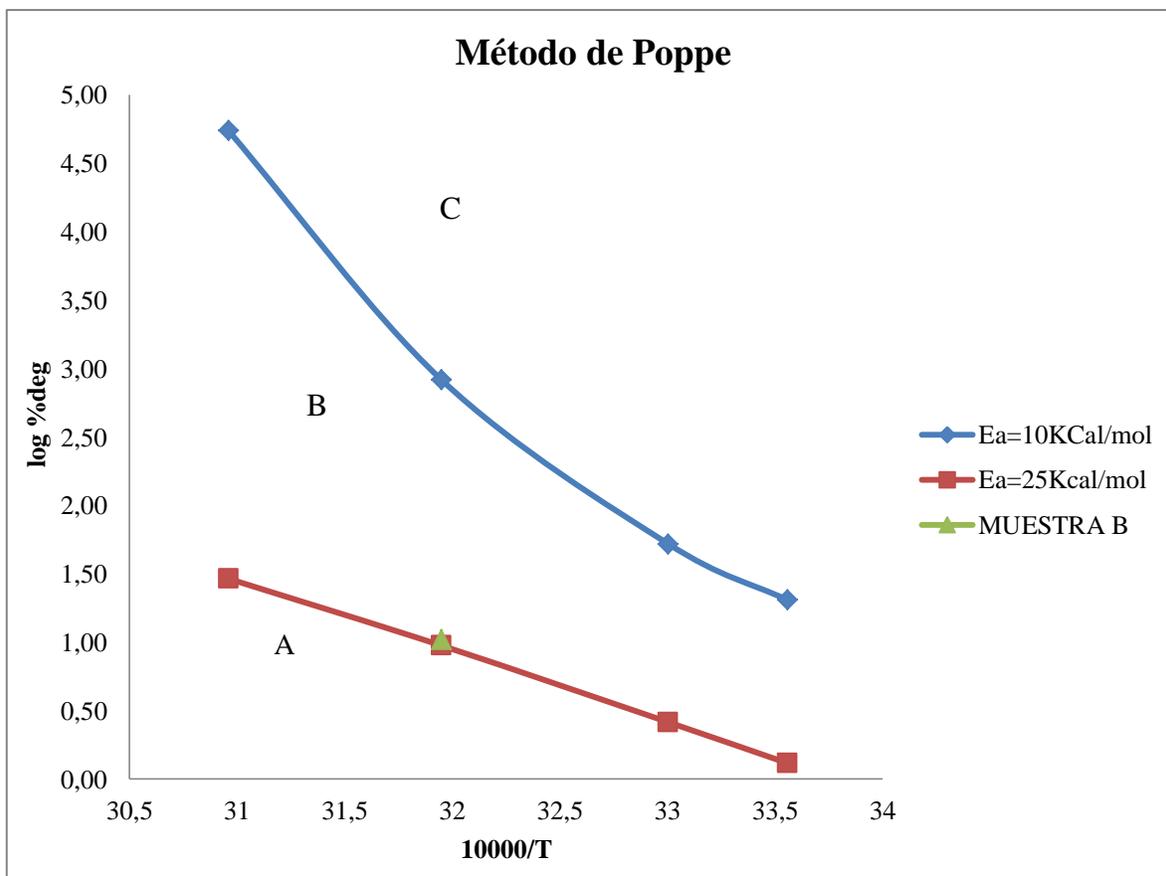


GRAFICO N° 4: LOG % DEGRADADO VS. 1/T X 10000 PARA LA MUESTRA B.

Elaborado por: la autora.

La muestra B se encuentra sobre la curva A, por lo tanto tiene un período de vida útil de 2 años.

En la muestra B, con los datos de control de calidad obtenidos en estos 90 días de estabilidad acelerada podemos apreciar los atributos de calidad y establecemos las especificaciones dentro de la normativa para cosméticos Decisión 516 de la Comunidad Andina en la siguiente tabla.

TABLA N° 27: ESPECIFICACIONES DEL PRODUCTO TERMINADO MUESTRA B.

Las especificaciones como producto terminado de la muestra B, se describen en la tabla siguiente:

	ANÁLISIS	MÉTODO	ESPECIFICACIONES
FÍSICAS	Color	Visual	Amarillo pálido
	Olor	Visual	Cítrico
	Aspecto	Visual	Transparente
	Densidad	USP Test 616	0,91-0,90
QUÍMICAS	pH.	USP Test 791	6,3 - 5,3
	Determinación de Aldehídos (Cital)	BP99. Aldehídos	3,25-2.90
MICROBIOLÓGICOS	Recuento de Bacterias Aerobios mesófilos	AOAC 990.12	< 100 UFC / mL.
	Recuento de Mohos y Levaduras	AOAC 997.02	< 10 UFC / mL.
	Recuento de Coliformes y <i>E. coli</i>	AOAC 991.14	< 1 UFC / mL.
	<i>P. aeruginosa</i>	AOAC 2003.11	Ausencia
	<i>S. aureus</i>	AOAC 972,23	Ausencia

Elaborado por: la autora

4.2.2 Control de calidad en la Muestra 5

TABLA N°28: RESULTADOS DE LOS PARÁMETROS DE CALIDAD EN LA MUESTRA 5.

TIEMPOS		INICIO 0	24 H.	15 D	30 D.	60 D.	90 D.
ANÁLISIS		1	2	3	4	5	6
FÍSICOS	Color	Amarillo pálido					
	Olor	Cítrico	Cítrico	Cítrico	Cítrico	Cítrico	Cítrico
	Aspecto	Transparente	Transparente	Transparente	Transparente	Transparente	Transparente
	Densidad _{25°C} g/mL.	0,868	0,8663	0,866	0,8666	0,8664	0,8662
QUÍMICOS	pH.	6,47	6,48	6,69	6,11	6,21	5,72
	Citral (%P/V)	3,25	3,25	3,17	3,04	2,97	2,93
MICROBIOLÓGICOS	Recuento de Bacterias Aerobios Mesófilos	<1 UFC/ mL.					
	Recuento de Mohos y Levaduras	<1 UFC/ mL.					
	<i>P. aeruginosa</i>	AUSENCIA	AUSENCIA	AUSENCIA	AUSENCIA	AUSENCIA	AUSENCIA
	<i>S. aureus</i>	AUSENCIA	AUSENCIA	AUSENCIA	AUSENCIA	AUSENCIA	AUSENCIA
	<i>E.coli</i> y Coliformes	<1 UFC/ mL.					
<i>P. acnes</i> (mm)	15,05	14,95	14,85	14,7	13,95	13,4	

Elaborado por: la autora.

Evaluación Física-organoléptica:

En la muestra 5, las características organolépticas se mantienen constantes durante el período de estudio de estabilidad, considerando como NORMAL SIN ALTERACION.

Con lo que se demuestra que no se producen degradaciones en la formulación

Los valores de densidad varían en la tercera cifra decimal.

Evaluación Microbiológica:

No hay presencia de crecimiento microbiano, durante el tiempo de estabilidad

Evaluación antibacteriana frente a la *P. acnes*:

El CMI por determinación *in vitro* se resume en la siguiente tabla:

TABLA N° 29: HALOS DE INHIBICIÓN DE LA LOCIÓN ANTIACNÉ 5 FRENTE A LA *P.acnes*.

TIEMPOS	INICIO 0	24 H.	15 D	30 D.	60 D.	90 D.
ANÁLISIS	1	2	3	4	5	6
1ra. Med. (mm)	14,90	14,70	15,00	14,90	13,80	13,90
2da. Med.(mm)	15,20	15,20	14,70	14,50	14,10	12,90
Promedio (mm)	15,05	14,95	14,85	14,70	13,95	13,40

Elaborado por: la autora.

Análisis de varianza de un factor							
RESUMEN							
Grupos	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza			
Tiempo (días)	12	392	32,67	1167,88			
Diámetro (mm)	12	173,8	14,48	0,47			
ANÁLISIS DE VARIANZA							
Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F	
Entre grupos	1983,80	1	1983,80	3,40	0,08	4,30	
Dentro de los grupos	12851,86	22	584,18				
Total	14835,67	23					

Elaborado por: la autora

$F < F_{crítico}$: por lo tanto no existe diferencia significativa entre la respuesta de los halos de inhibición en tiempo 0, 1, 15, 30, 60 y 90 días a un nivel de significancia de 0.05.

Con respecto a la tesis de Meza&Vargas el halo promedio de la loción al 5% de *Cymbopongo citratus* fue de 14.8 mm, y en la formulación N° 5 fue 15.05 mm, presenta una leve diferencia con esta formulación.

Evaluación Química:

Los valores de pH se encuentran dentro de los límites 4,5 a 6 considerando para uso tópico, ya que los valores son similares a los de la piel.

Con respecto a la concentración de Citral como aldehído resumo los valores obtenidos en cada uno de los períodos de tiempo determinado en los 90 días en la siguiente tabla.

TABLA N°30: DATOS PARA GRÁFICO LOG % DEGRADADO VS. 1/T X 10000 DE LA MUESTRA 5.

40 °C / 75% HR		5
TIEMPO (DIAS)	0	3,25
	1	3,25
	15	3,17
	30	3,04
	60	2,97
	90	2,93

T (°C)	°K	10000/T	Conc. Inicial	Conc. Final, 3 meses	% degradación	log % deg
40	313	31,94888179	3,25	2,93	9,85	0,99327

Elaborado por: la autora.

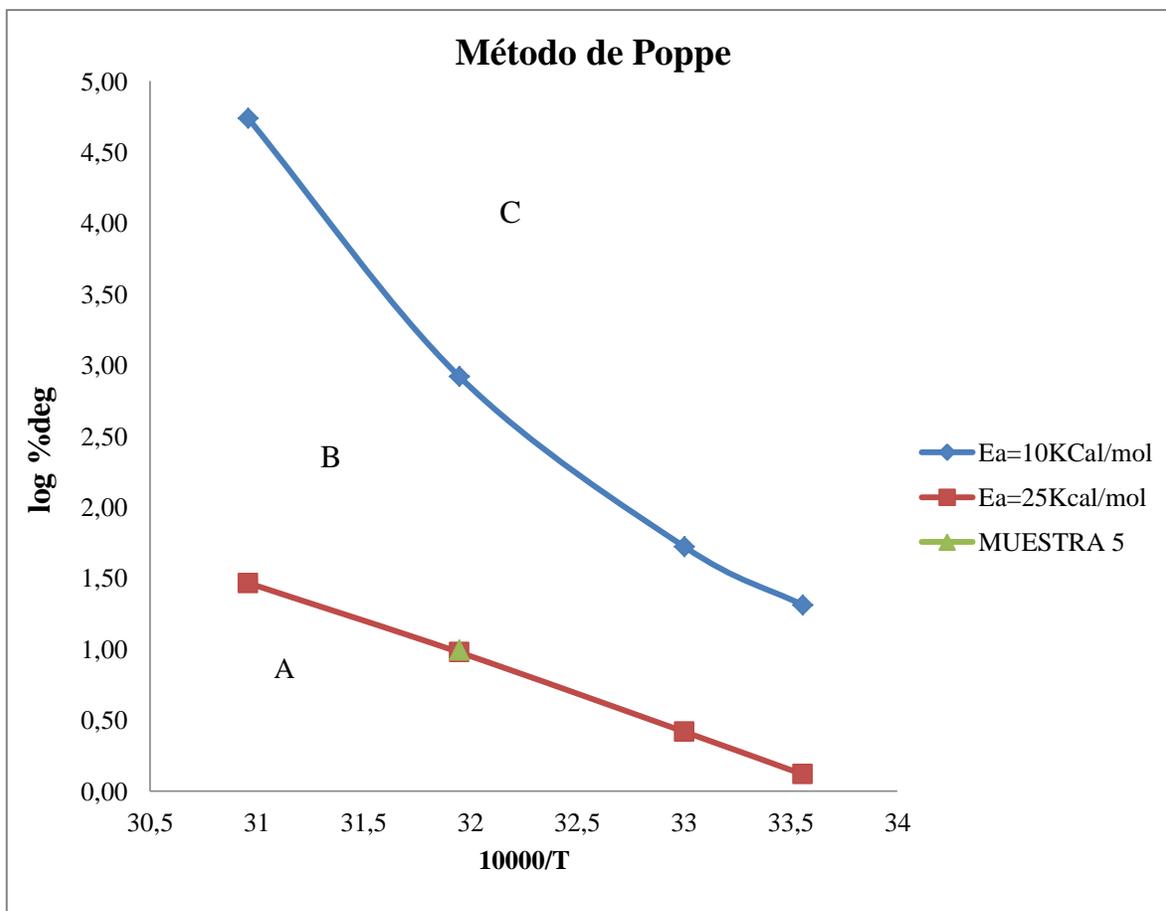


GRÁFICO N° 6: LOG % DEGRADADO VS. 1/T X 10000 PARA LA MUESTRA 5.
ELABORADO POR: la autora.

La muestra 5 se encuentra sobre la curva A, por lo tanto tiene un período de vida útil de 2 años.

En la muestra 5, luego de los 90 días de estabilidad acelerada podemos determinar las especificaciones bajo la normativa para cosméticos en la siguiente tabla:

TABLA N° 31: ESPECIFICACIONES DEL PRODUCTO TERMINADO MUESTRA 5.

	ANÁLISIS	MÉTODO	ESPECIFICACIONES
FÍSICOS	Color	Visual	Amarillo pálido
	Olor	Visual	Cítrico
	Aspecto	Visual	Transparente
	Densidad	USP Test 616	0,87-0,86
QUÍMICOS	pH.	USP Test 791	6,5 - 5,5
	Determinación de Aldehídos (Citral)	BP99. Aldehídos	3,25-2.90
MICROBIOLÓGICOS	Recuento de Bacterias Aerobios mesófilos	AOAC 990.12	< 100 UFC / mL.
	Recuento de Mohos y Levaduras	AOAC 997.02	< 10 UFC / mL.
	Recuento de Coliformes y <i>E. coli</i>	AOAC 991.14	< 1 UFC / mL.
	<i>P. aeruginosa</i>	AOAC 2003.11	Ausencia
	<i>S. aureus</i>	AOAC 972,23	Ausencia

Elaborado por: la autora.

4.2.3 Control de calidad en la Muestra 9

TABLA N° 32: RESULTADOS DE LOS PARÁMETROS DE CALIDAD EN LA MUESTRA 9

TIEMPOS		INICIO 0	24 H.	15 D	30 D.	60 D.	90 D.
ANÁLISIS		1	2	3	4	5	6
FÍSICOS	Color	Amarillo pálido					
	Olor	Cítrico	Cítrico	Cítrico	Cítrico	Cítrico	Cítrico
	Aspecto	Transparente	Transparente	Transparente	Transparente	Transparente	Transparente
	Densidad _{25°C} g/mL.	0,8892	0,8895	0,8897	0,889	0,8893	0,8881
QUÍMICOS	pH.	6,13	6,14	6,04	5,89	5,75	5,5
	Citral (%P/V)	3,25	3,25	3,17	3,04	2,97	2,93
MICROBIOLÓGICOS	Recuento de Bacterias Aerobios Mesófilos	<1 UFC/ mL.					
	Recuento de Mohos y Levaduras	<1 UFC/ mL.					
	<i>P. aeruginosa</i>	AUSENCIA	AUSENCIA	AUSENCIA	AUSENCIA	AUSENCIA	AUSENCIA
	<i>S. aureus</i>	AUSENCIA	AUSENCIA	AUSENCIA	AUSENCIA	AUSENCIA	AUSENCIA
	<i>E.coli</i> y Coliformes	<1 UFC/ mL.					
	<i>P. acnes</i> (mm)	14,05	13,95	13,9	13,7	13,6	12,55

Elaborado por: la autora.

Evaluación Física-organoléptica:

En la muestra 5, las características organolépticas se mantienen constantes durante el período de estudio de estabilidad, considerando como NORMAL SIN ALTERACION.

Con lo que se demuestra que no se producen degradaciones en la formulación.

Los valores de densidad varían en la tercera cifra decimal.

Evaluación Microbiológica:

No hay presencia de crecimiento microbiano, durante el tiempo de estabilidad.

Evaluación antibacteriana frente a la *P. acnes*:

TABLA N° 33: HALOS DE INHIBICIÓN DE LA LOCIÓN ANTIACNÉ 9 FRENTE A LA *P.acnes*.

TIEMPOS	INICIO 0	24 H.	15 D	30 D.	60 D.	90 D.
ANÁLISIS	1	2	3	4	5	6
1ra. Med. (mm)	14,20	14,20	13,90	14,10	13,70	12,80
2da. Med. (mm)	13,90	13,70	13,90	13,30	13,50	12,30
Promedio (mm)	14,05	13,95	13,90	13,70	13,60	12,55

Elaborado por: la autora.

RESUMEN						
Grupos	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza		
Día	12	392	32,6666667	1167,87879		
Halo de inhibición	12	163,5	13,625	0,33477273		

ANÁLISIS DE VARIANZA						
Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	2175,51	1	2175,51	3,72	0,07	4,30
Dentro de los grupos	12850,35	22	584,11			
Total	15025,86	23				

GRAFICO N°7: ANÁLISIS DE VARIANZA MUESTRA 9

Elaborado por: la autora.

$F < F_{crítico}$; por lo tanto no existe diferencia significativa entre la respuesta de los halos de inhibición en tiempo 0, 1, 15, 30, 60 y 90 días a un nivel de significancia de 0.05.

Con respecto a la tesis de Meza&Vargas el halo promedio de la loción al 5% de *Cymbopongo citratus* fue de 14.8 mm., y en la formulación N° 9 fue 14.05 mm no existe mayor diferenciación entre estas dos formulaciones

Evaluación Química:

Los valores de pH se encuentran dentro de los límites 4,5 a 6 considerando para uso tópico, ya que los valores son similares a los de la piel.

Con respecto a la concentración de Citral como aldehídos, los datos se resumen a continuación.

TABLA N°34: DATOS PARA GRÁFICO LOG % DEGRADADO VS. 1/T X 10000 DE LA MUESTRA 9.

40 °C / 75% HR		9
TIEMPO (DIAS)	0	3,25
	1	3,25
	15	3,17
	30	3,08
	60	2,97
	90	2,93

T (°C)	°K	10000/T	Conc. Inicial	Conc. Final, 3 meses	% degradación	log % deg
40	313	31,94888179	3,25	2,93	9,85	0,99327

Elaborado por: la autora.

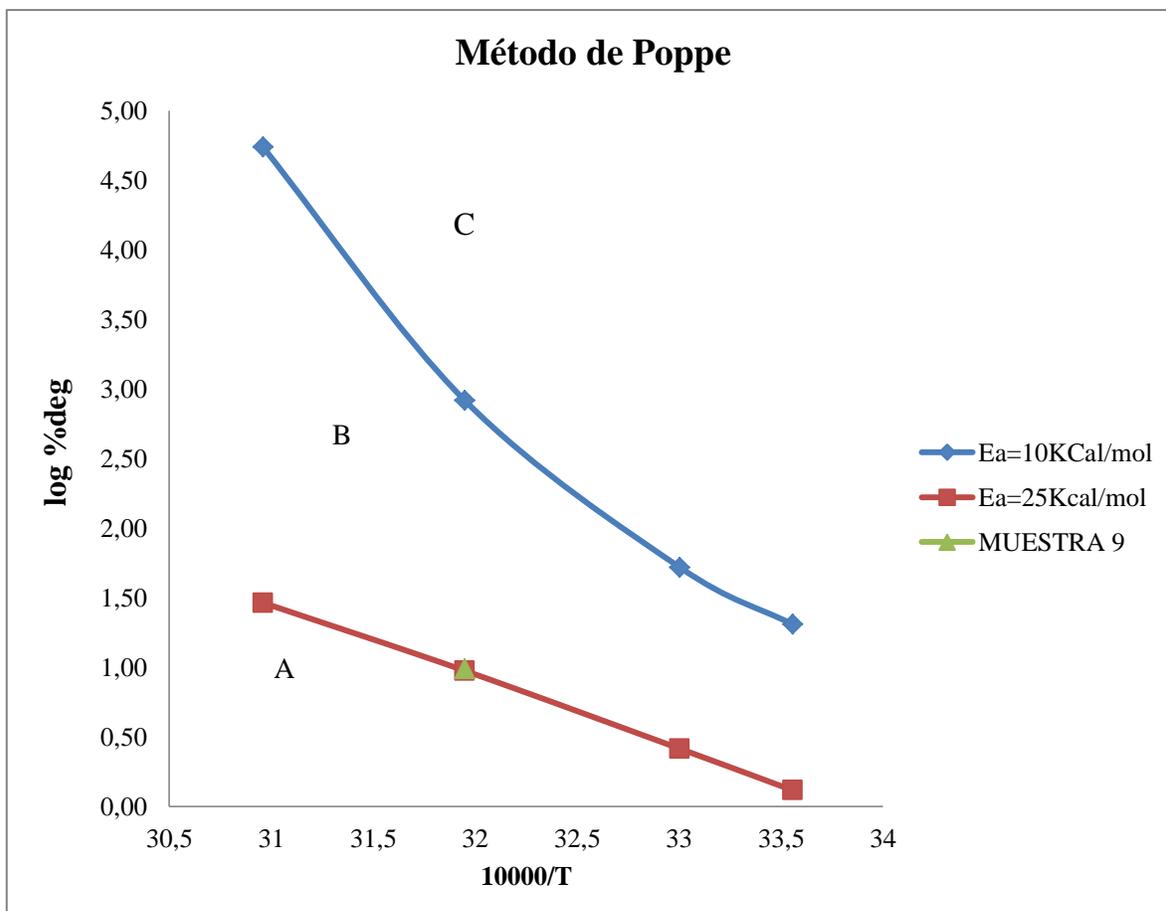


GRAFICO N° 8: LOG % DEGRADADO VS. 1/T X 10000 PARA LA MUESTRA 9.

Elaborado por: la autora

La muestra 9 se encuentra sobre la curva A, por lo tanto tiene un período de vida útil de 2 años.

En la muestra 9, con los datos de control de calidad obtenidos en estos 90 días de estabilidad acelerada podemos apreciar los atributos de calidad y establecemos las especificaciones dentro de la normativa para cosméticos Decisión 516 en la siguiente tabla.

TABLA N° 35: ESPECIFICACIONES DEL PRODUCTO TERMINADO MUESTRA 9.

	ANÁLISIS	MÉTODO	ESPECIFICACIONES
FÍSICOS	Color	Visual	Amarillo pálido
	Olor	Visual	Cítrico
	Aspecto	Visual	Transparente
	Densidad	USP Test 616	0,89-0,88
QUÍMICOS	pH.	USP Test 791	6,2 - 5,2
	Determinación de Aldehídos (Citral)	BP99. Aldehídos	3,25-2,90
MICROBIOLÓGICOS	Recuento de Bacterias Aerobios mesófilos	AOAC 990.12	< 100 UFC /mL.
	Recuento de Mohos y Levaduras	AOAC 997.02	< 10 UFC /mL.
	Recuento de Coliformes y <i>E. coli</i>	AOAC 991.14	< 1 UFC /mL.
	<i>P. aeruginosa</i>	AOAC 2003.11	Ausencia
	<i>S. aureus</i>	AOAC 972,23	Ausencia

Elaborado por: la autora.

4.3 FICHA TÉCNICA PRODUCTO FINAL

La documentación por la normativa de la (Comunidad Andina de Naciones, 2002), CAN Decisión 516 es la siguiente:

- Descripción producto, formulación cuali-cuantitativa, en nomenclatura INCI.
- Especificaciones organolépticas, fisicoquímicas, microbiológicas de acuerdo a la naturaleza del producto terminado.

- Justificaciones de las bondades y proclamas de carácter cosmético.
- Proyecto de arte de etiqueta.- en el que conste el nombre designado al producto, los ingredientes en INCI, forma de uso, NSO, lote, y dirección del fabricante.
- Instrucciones de uso del producto
- Material del envase primario.

Con estos resultados se genera una ficha técnica para la Notificación Sanitaria Obligatoria y poder comercializar el producto, las especificaciones técnicas están en el mismo rango para las tres formulaciones por lo que se visualizará una sola ficha técnica a manera de ejemplo

FICHA TÉCNICA DEL PRODUCTO

NOMBRE: **Loción Purificante de Hierba Luisa**

FORMA COSMÉTICA: Loción.

INFORMACION TÉCNICA

FORMULACIÓN CUALI-CUANTITATIVA				
LOCIÓN PURIFICANTE DE HIERBA LUISA				

INGREDIENTES INCI	FUNCIÓN	B	9	5
ISOPROPYL MYRISTATE	EMOLIENTE	60	60	60
ALCOHOL DENAT	SOLVENTE		10	20
PPG-15 STEARYL ETHER	EMOLIENTE	20	10	5
POLYSORBATE 80	TENSOACTIVO	15	15	10
<i>CYMBOPOGON CITRATUS</i> LEAF OIL	ANTIMICROBIANO	5	5	5
	% TOTAL:	100	100	100

NOTA: Declaramos que el producto está fabricado en estricta conformidad con los ingredientes anteriores y no contiene sustancias prohibidas en los cosméticos.

ESPECIFICACIONES PRODUCTO TERMINADO

	ANÁLISIS	MÉTODO	ESPECIFICACIONES
FÍSICOS	Color	Visual	Amarillo pálido
	Olor	Organoléptico	Cítrico
	Aspecto	Organoléptico	Transparente
	Densidad	USP Test 616	0,91-0,80
QUÍMICOS	pH.	USP Test 791	6,5 - 5,5
	Determinación de Aldehídos (Citral)	BP99. Aldehídos	3,25 – 2,90
MICROBIOLÓGICOS	Recuento de Bacterias Aerobios mesófilos	AOAC 990.12	< 100 UFC / mL.
	Recuento de Mohos y Levaduras	AOAC 997.02	< 10 UFC / mL.
	Recuento de Coliformes y E.coli	AOAC 991.14	< 1 UFC / mL.
	<i>P. aeruginosa</i>	AOAC 2003.11	Ausencia
	<i>S. aureus</i>	AOAC 972,23	Ausencia

INSTRUCCIONES DE USO DEL PRODUCTO

Loción Purificante de Hierba Luisa, contiene la concentración exacta para ayudar de manera natural a atenuar los granitos de la piel.

Limpie la piel con un jabón neutro y luego aplique en el rostro, pecho o espalda, ante la primera sensación de aparición de los granos. De preferencia en la mañana y en la noche. Evite el contacto con los ojos.

MATERIAL DE ENVASE PRIMARIO

ESPECIFICACIONES ENVASE PRIMARIO		
PRODUCTO: LOCIÓN PURIFICANTE HIERBA LUISA		
ENVASE	BOTELLA	TAPA CON INSERTO GOTERO
FABRICANTE	STOELZLE	
MATERIAL	Vidrio	Polipropileno
COLOR	Ámbar	Tapa: Negra Gotero: Blanco
PESO	Aprox. 32 g.	Aprox. 2,2 g.

PROYECTO DE ETIQUETA

LOCION PURIFICANTE

HIERBA LUISA



10ml 0.3 fl.oz.

Loción Purificante de Hierba Luisa, contiene la concentración exacta para ayudar de manera natural a atenuar los granitos de la piel. Limpie la piel con un jabón neutro y luego aplique en el rostro, pecho o espalda, ante la primera sensación de aparición de los granos. De preferencia en la mañana y en la noche. Evite el contacto con los ojos.

INGREDIENTE INCI: Isopropyl myristate;Alcohol denat; PPG-15 Stearyl ether; Polysorbate 80; Cymbopogon citratus leaf oil.

NSO:
Lote:

www.ups.edu.ec

HECHO EN ECUADOR






Responsable técnico:

CAPITULO V – CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1 CONCLUSIONES

- La incorporación del 5% del AE de hierba luisa *Cimbopogon citratus*, utilizado como principio activo, acorde a lo recomendado en trabajos de investigación anteriores, permite lograr mediante un diseño experimental específico, la creación de 19 formulaciones diferentes, utilizando ingredientes que aportaron emoliencia y astringencia a la fórmula, para extraer la grasa y dejar la piel suave y tersa; lo que, luego del estudio preliminar de estabilidad, permite hallar sólo tres formulaciones que permanecieron estables en sus características organolépticas, de color amarillo pálido, olor a cítrico y aspecto transparente.
- Se confirma la hipótesis planteada, el aceite esencial de hierba luisa (*Cimbopogon citratus*) utilizado en una concentración con probada eficiencia antiacnéica 5%, generó más de una formulación estable.
- De acuerdo al análisis estadístico de varianza, aplicado a las tres formulaciones estables evaluadas, se puede afirmar que no existe diferencia significativa, en el período de estudio (tiempo inicial: cero días – tiempo final: 90 días), por lo tanto es posible aseverar que no se ve afectada la actividad inhibitoria de las formulaciones B, 5, y 9 frente a la *Propionibacterium acnés* durante el período de vida útil de la loción antiacné evaluada.

- Considerando que el ingrediente activo de la formulación es el Citral, partiendo de una concentración inicial de 3,25%, transcurrido los 90 días del estudio de estabilidad acelerada (40°C y 75% HR), se obtuvo que la concentración final de Citral en la formulación B fue de 2,91% y en las dos formulaciones que contienen alcohol desnaturalizado fue de 2,93%, se pudo determinar gráficamente mediante la ecuación de Arrhenius y el método de Poppe, que relaciona el porcentaje de degradación a los 90 días del principio activo, que las tres formulaciones se ubicaron sobre la recta A concluyendo que el período de vida útil en las tres formulaciones es de dos años.
- Del estudio de estabilidad acelerada realizado en el envase de vidrio ámbar se concluye que el período de vida útil de las tres formulaciones es de 24 meses, Siendo este período de vida útil comparable a los productos cosméticos existentes en el mercado nacional e internacional, concluyendo de esta manera que la AE de hierba luisa *Cimbopogon citratus* al 5% es aplicable en formulaciones antiacné.

5.2 RECOMENDACIONES

- Se recomienda continuar con investigaciones en el desarrollo de formulaciones con aceites esenciales, en diferentes formas cosméticas ya que tienen potenciales aplicaciones en el área cosmética, destacándose en productos fitocosméticos, los cuales en la actualidad están teniendo mucha acogida del mercado, debido a las tendencias que muestran preferencia en el consumo de productos naturales.
- Proseguir con la investigación y desarrollo de formulaciones del aceite esencial de hierba luisa *Cymbopogon citratus* a la concentración del 5%, por sus propiedades antibacterianas, antioxidantes comprobadas en la loción antiacné, la cual servirá de base para completar la línea de productos antiacné.
- De acuerdo a las condiciones económicas y políticas de nuestro País, se debería incentivar a la investigación del uso de aceites esenciales no solo en aromaterapia y perfumería, sino también en el desarrollo de formulaciones fitocosméticas, esto generaría cambios positivos y contribuiría a la matriz productiva del Ecuador.
- Es recomendable hacer un estudio de mercado de estas tres formulaciones, evaluando: costeo, factibilidad, viabilidad comercial, ya que al tener como valor agregado producto antiacné natural se debe ubicarlo en el mercado como único por su diseño, imagen y beneficio directo al cliente.
- Se recomienda realizar el estudio de efectividad *in vivo*, comenzando con pruebas de toxicidad e irritabilidad cutánea y estudios de sensibilización para poder evidenciar si existe efecto alérgico, considerando que en el presente estudio se ha demostrado la estabilidad de las tres formulaciones y es necesario complementar el resto de estudios para que el producto pueda ser comercializado sin inconvenientes.

- En posteriores estudios, para manejar alternativas financieras, sería recomendable realizar estudios de estabilidad incluyendo como variable: el material del envase primario, o incluyendo el estudio de PAO que permitiría que el producto cumpla con requerimiento de mercado de exportación.

BIBLIOGRAFÍA

- Agencia Nacional de Vigilancia Sanitaria, A. (2005). Guía de Estabilidad de Productos Cosméticos. *Serie de Calidad en Cosméticos, 1*, 52. Brasilia, Brasil.
- ALVAREZ, N. y. (2012). *Fitocosméticos* (1ra ed.). Madrid, España.
- ALZAMORA, L. ., (2001). "Medicina Tradicional en el Perú Actividad Antimicrobiana in vitro de los Aceites Esenciales Extraídos de Algunas Plantas Aromáticas". *Anales de la Facultad de Medicina*, 62, 156-161.
- ANDÚJAR, S. (2014). Productos Cosméticos con Alcohol. *Sanex Institute. Sciencee for healthy skin*.
- ARROYO, E. y. (Noviembre de 2008). Evaluación de la eficacia y seguridad de un preparado a base de lúpulo, equinácea bardana y vitamina E en el tratamiento oral del acné leve a moderado. *Revista de Fitoterapia*, 8(2), 148-159.
- British Pharmacopoeia, B. (1999). Determination of aldehydes. *Appendix X-K*.
- CASTRO, A. (1987). *Principios básicos de formulaciones cosméticas* (2da. ed.). Caracas, Venezuela: García.
- CHEN, T. y. (2006). *Cosmetic Science and Technology Series* (Vol. 30). New York: Taylor & Francis.
- CIR., C. I. (5-6 de Marzo de 2012). Alkyl esters. *Supplement Book 1*, 43-44-45.
- COELLO, A. D. (2012). *Transtornos adaptativos en pacientes con acné en consulta externa de dermatología del Hospital Vicente Corral Moscoso Cuenca Año 2011*. Tesis. Universidad de Cuenca.Facultad de Medicina., Cuenca-Ecuador.
- COLIPA. (Marzo de 2004). The European Cosmetic Toiletry and Perfumery Association. *Guidelines of stability testing of cosmetic products.*, 1-8. Bruselas.
- Comunidad Andina de Naciones, C. (08 de Marzo de 2002). Regulación de Cosméticos en la Comunidad Andiana. *Decisión 516*, 1-23. Cartagena de Indias, Colombia.
- Cosing, C. I. (2009). REGULATION (EC) No 1223/2009 OF THE EUROPEAN PARLIAMENT AND OF THE COUNCIL Cosmetic Ingredients & Substances. En O. J. Union (Ed.), (pág. 151). Bruselas.
- Cosmetics Europe The personal care association, C. (Marzo de 2004). The European Cosmetic Toiletry and Perfumery Association. *Guidelines of stability testing of cosmetic products.*, 1-8. Bruselas.

- CRUZ, P. (2009). *Elaboración y control de calidad del gel antimicrobiano de Manzanilla (Matricaria chamomilla), Matico (Aristiguetia glutinosa) y Marco (Ambrosia arborescens) para Neo-Fármaco*. Tesis. ESPCH.Facultad de Ciencias Químicas, Riobamba-Ecuador.
- DECISION 96, /. (2006). Diario Oficial de la Unión Europea. Ingredientes Cosméticos., (págs. 1-528). Bruselas.
- DOS SANTOS, H. (Marzo-Abril de 2010). Emoliencia y Emolientes. *Cosméticos & Tecnología Latinoamericana.*, 1, 28-33.
- ELSNER, P. y. (2005). *Cosmetics and Active Cosmetics. Drugs Versus Cosmetics* (Vol. 27). New York: Taylor & Francis.
- FUNDACION CHANKUAP. (20 de Febrero de 2009). Ficha técnica Aceite esencial Hierba Luisa. 1-2. Macas, Ecuador.
- GOMEZ, C. (2003). *EL Acne y su Tratamiento*. Costa Rica: CIMED Centro de Información de Medicamentos.
- GUERRA, M. M. (2004). Actividad antimicrobiana del aceite esencial y crema de *Cymbopogon citratus* (DC). *Staph. REV CUBANA PLANT MED*, 9, 1-6.
- ICH, H. f. (2 de Febrero de 2003). Harmonised Tripartite Guideline Stability Testing of New Drugs Substances and Products Recommended for Adoption under step4 of the ICH Process.
- Instituto Argentino de Normalización y Certificación, I. (Diciembre de 2011). COSMETICOS. *Guía de aplicación de métodos para la evaluación de la estabilidad*.37028, 1-18. Buenos Aires, Argentina.
- JALIMAN, D. (2014). www.webmd.com/skin-problems-and-treatments/teem-acne-13/10-tips-for-preventing-pimples?page=2. Recuperado el 4 de Mayo de 2014
- LERTSATITTHANAKORN, P. S. (2006). "In vitro bioactivities of essential oils used for acne control". *The International Journal of Aromatherapy*, 16, 43-49.
- LUANGNARUMITTHAI, S. S. (2007). "Antimicrobial Activity of Essential Oils Against Five Strains of *Propionibacterium acnes*". *Mahidol University Journal of Pharmaceutical Sciences*, 34, 60-64.
- MARTINEZ, J. (Abril de 2012). Los Cosméticos:Características Generales. *Cosmetología*, 3, 1-23.

- MARTINEZ, M. J. (2000). Evaluación toxicológica aguada de los extractos fluidos al 30 y al 80% de *Cymbopogon citratus* (D.C.) STAPF (Caña Santa). *Rev. Cubana Plant Med.*, 5(3), 97-101.
- MEZA, K. y. (2013). *Evaluación de la actividad antibacteriana in vitro del aceite esencial de hierba luisa (Cymbopogon citratus (DC) STAPF), poaceae*. Tesis.U.P.S.Facultad de Ingeniería en Biotecnología de los Recursos Naturales.Quito-Ecuador.
- MUKHERJI, M. (2003). The Chemical biology of brached-chain Lipid metabolism. *Progress in Lipid Research*, 42, 359-376.
- MUSIAL, W. y. (2003). "Preliminary assessment of alginic acid as a factor buffering triethanolamine interacting with artificial skin sebum". *Eur. J. Pharm. Biopharm*, 55, 237-40.
- NEGRELLE, R. y. (2007). "Cymbopogon citratus (DC) Stapf: Chemical composition and biological activities". *REV. BRAS. PLIMED.*, 9, 80-92.
- NUÑEZ, M. N. (2012). *Cosmética Natural*. Barcelona, España: Nuevos Emprendimientos Editoriales S.L.
- Official Methods of Analysis of AOAC International, A. (2005). *Test 990.12;997.02;991.14;2003.11*, 18. Maryland, USA.
- ONAWUNMI, G. W. (Diciembre de 1984). Actibacterial constituents in the essential oil of *Cymbopogon citratus* (DC.)Stapf. *Journal of Ethnopharmacology*, 12, 279-286.
- ORDÓNEZ, P. (Febrero de 2013). *Reformulación y estudio de la estabilidad de una suspensión parenteral de uso veterinario que contiene una asociación de penicilinas y un aminoglicosido*. Tesis.UCE. Facultad de Ciencias Químicas, Quito-Ecuador.
- Organización Mundial de Salud, O. (2006). Constitución de la Organización Mundial de la Salud. 45 , 1-18. New York, USA.
- OSORIO, M. F. (2009). *Reconstrucción tridimensional de piezas con condiciones ópticas complejas*. Tesis.U.N.C. Facultad de Ingeniería, Bogota-Colombia.
- PAREDES, L. (2003). *Estudio Comparativo de los Métodos de envejecimiento para deteminar el tiempo de vida útil de un polvo para suspensión oral de ampicilina*. Tesis.Universidad de Guayaquil.Facultad de Ciencias Químicas., Guayaquil- Ecuador.
- PASCUAL, A. (Enero-Febrero de 2012). Investigación en envases para la Industria Farmacéutica. *AIMPLAS Instituto tecnológico del Plástico*, 54-57.
- PASCUAL, J. y. (2012). ACNE. *Pediatría Integral*, XVI(4), 275-285.

- PERRY, R. y. (2006). *Letters in Applied Microbiology, Propionibacterium acnes*, (Vol. 42). United King.
- PONCE, L. (Mayo-Agosto de 2002). Estudio de Estabilidad de Productos Cosméticos. *Global Cosmetic Industry, 1*, 24-30.
- PORTERO, M. T. (2000). CONOCIMIENTOS BASICOS DE FARMACOTECNIA. 35. Madrid, España: Sociedad Ecuatoriana.
- PUERTO, R. (1 de Abril de 2009). *Envasado en Cosméticos*. Recuperado el 15 de Junio de 2014, de Formulación Magistral del COFM: <http://www.farmaciapuerto.es/ensado-cosméticos/>
- RAMIREZ, L. y. (Agosto de 2009). Metodología para evaluar in vitro la actividad antibacteriana de los compuestos de origen vegetal. *Scientia et Technica, XV(42)*, 263-269.
- SOTO, R. G. (2002). "Instructivo Técnico para el Cultivo de *Cymbopogon citratus* (D.C.) Stapf". *REV CUBANA PLANT MED*, 7, 89-95.
- STASHENKO, E. (Octubre de 2009). Aceites Esenciales. *CENIVAN. Centro Nacional de Investigaciones pra la Agroindustrialización de Especies Vegetales Arompaticas y MedicinalesTropicales*, 1-125.
- WINTER, R. (2009). *Dictionary of Cosmetic Ingredients*. New York, United States of America: THREE RIVERS PRESS.

ANEXOS

ANEXO 1.- Fotografías de la investigación.



Figura 1.- Aceite esencia de Hierba luisa



Figura 2.- Isopropyl Myristate



Figura 3.- Polysorbate 80



Figura 4.- PPG-15 Stearyl Ether

Elaborado por: la autora.



Figura 5.- Alcohol denat

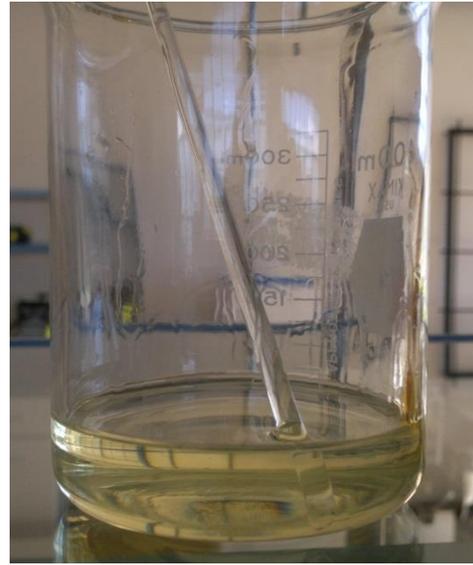


Figura 6.- Loción anti-acné



Figura 7.- Formulaciones preliminares.

Elaborado por: la autora.



Figura 8.- Estabilidad preliminar



Figura 8.- Preformulaciones seleccionadas

Elaborado por: la autora.



Figura 9.- Cámara de estabilidad acelera 40°C y 75% HR.

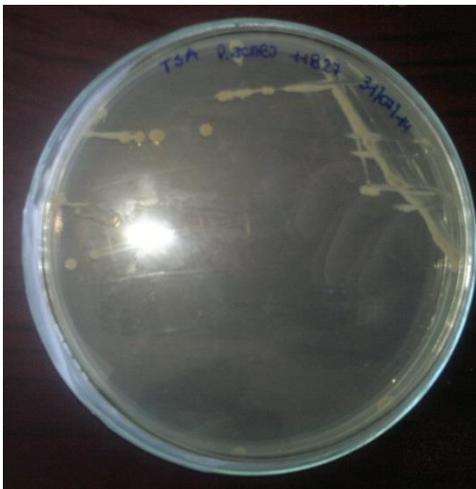


Figura 10.- Activación *P. acnes*.

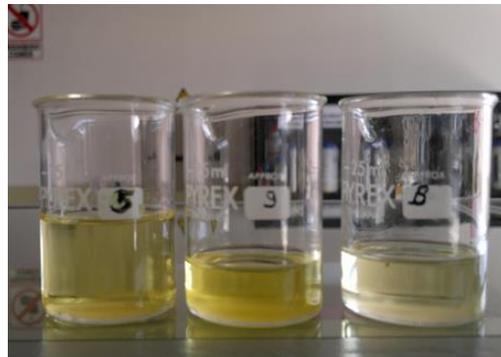


Figura 11.-Loción luego de los 90 días.

Elaborado por: la autora.

ANEXO 2. Fichas técnicas de los ingrediente de la formulación de la loción antiacné según CosIng, Cosmetic Ingredients & Substances

Ingredient: CYMBOPOGON CITRATUS LEAF OIL

INCI Name	CYMBOPOGON CITRATUS LEAF OIL
Description	"Lemon Grass Oil; Indian Verbena Oil; Indian Melissa Oil". Cymbopogon Citratus Leaf Oil is an essential oil obtained from the leaves of the Lemon Grass, Cymbopogon citratus, Poaceae. It contains citral (75-85%), methylheptenone, citronellal, geraniol, limonene
INN Name	
Ph. Eur. Name	
CAS #	89998-14-1
EINECS/ELINCS #	289-752-0
Chemical/IUPAC Name	
Cosmetic Restriction	
Other Restriction(s)	
Functions	MASKING PERFUMING
SCCS opinions	
Identified INGREDIENTS or substances e.g.	

Ingredient: PPG-15 STEARYL ETHER

INCI Name	PPG-15 STEARYL ETHER
Description	Poly[oxy(methyl-1,2-ethanediyl)], alpha.-octadecyl-.omega.-hydroxy-
INN Name	polyoxypropylene 15 stearyl ether
Ph. Eur. Name	
CAS #	25231-21-4
EINECS/ELINCS #	
Chemical/IUPAC Name	
Cosmetic Restriction	
Other Restriction(s)	
Functions	EMOLLIENT
SCCS opinions	
Identified INGREDIENTS or substances e.g.	

Ingredient: POLYSORBATE 80

INCI Name	POLYSORBATE 80
Description	Sorbitan, mono-9-octadecenoate, poly(oxy-1,2-ethanediyl) derivs., (Z)-
INN Name	polysorbate 80
Ph. Eur. Name	polysorbatum 80
CAS #	9005-65-6
EINECS/ELINCS #	500-019-9
Chemical/IUPAC Name	
Cosmetic Restriction	
Other Restriction(s)	
Functions	DENATURANT EMULSIFYING SURFACTANT
SCCS opinions	
Identified INGREDIENTS or substances e.g.	

Ingredient: ALCOHOL DENAT.

(**) Not officially an INCI Name but Perfuming Name

INCI Name	ALCOHOL DENAT.
Description	Ethanol denatured in accordance with Customs and Excise regulations
INN Name	
Ph. Eur. Name	
CAS #	-
EINECS/ELINCS #	-
Chemical/TUPAC Name	
Cosmetic Restriction	
Other Restriction(s)	
Functions	ANTIFOAMING ANTIMICROBIAL ASTRINGENT MASKING SOLVENT VISCOSITY CONTROLLING
SCCS opinions	
Identified INGREDIENTS or substances e.g.	(**) ALCOHOL DENAT. SD ALCOHOL 1 (**) ALCOHOL DENAT. SD ALCOHOL 23-A (**) ALCOHOL DENAT. SD ALCOHOL 23-F (**) ALCOHOL DENAT. SD ALCOHOL 23-H (**) ALCOHOL DENAT. SD ALCOHOL 27-B (**) ALCOHOL DENAT. SD ALCOHOL 3-A (**) ALCOHOL DENAT. SD ALCOHOL 3-B (**) ALCOHOL DENAT. SD ALCOHOL 30 (**) ALCOHOL DENAT. SD ALCOHOL 31-A (**) ALCOHOL DENAT. SD ALCOHOL 36 (**) ALCOHOL DENAT. SD ALCOHOL 37 (**) ALCOHOL DENAT. SD ALCOHOL 38-B (**) ALCOHOL DENAT. SD ALCOHOL 38-C (**) ALCOHOL DENAT. SD ALCOHOL 38-D (**) ALCOHOL DENAT. SD ALCOHOL 38-F (**) ALCOHOL DENAT. SD ALCOHOL 39 (**) ALCOHOL DENAT. SD ALCOHOL 39-A (**) ALCOHOL DENAT. SD ALCOHOL 39-B (**) ALCOHOL DENAT. SD ALCOHOL 39-C (**) ALCOHOL DENAT. SD ALCOHOL 39-D (**) ALCOHOL DENAT. SD ALCOHOL 40 (**) ALCOHOL DENAT. SD ALCOHOL 40-A (**) ALCOHOL DENAT. SD ALCOHOL 40-B (**) ALCOHOL DENAT. SD ALCOHOL 40-C (**) ALCOHOL DENAT. SD ALCOHOL 46