

**UNIVERSIDAD POLITÉCNICA SALESIANA**

**SEDE QUITO**

**UNIDAD DE POSGRADOS**

**MAESTRÍA EN CIENCIAS Y TECNOLOGÍAS  
COSMÉTICAS**

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

**TEMA:**

**“EVALUACIÓN DE LA EFICACIA DEL ACEITE  
ESENCIAL DE *Curcuma longa* L. COMO CONSERVANTE  
EN UNA FORMULACIÓN COSMÉTICA ORGÁNICA”**

**AUTORA:**

**MARÍA AUGUSTA VEGA PICÓN**

**DIRECTORA:**

**Ph.D. MARÍA ELENA MALDONADO RODRÍGUEZ**

**QUITO, Febrero del 2015**

## **DECLARATORIA DE RESPONSABILIDAD**

Yo, María Augusta Vega Picón, 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 y análisis desarrollados y las conclusiones del presente trabajo son de exclusiva responsabilidad de la autora.

---

María Augusta Vega Picón

CC: 0104555297

## DEDICATORIA

*"Nuestra recompensa se encuentra en el esfuerzo y no en el resultado. Un esfuerzo total es una victoria completa."*

Gandhi, Mahatma

A mis padres Rodrigo y Carmita, por su infinito amor, confianza y apoyo en cada momento de mi vida.

A mi amado esposo Edgar por su incondicional amor, paciencia y apoyo, por confiar y creer en mí, por ser un pilar fundamental en mi vida, por decidir compartir junto a mí la aventura de la vida y por la familia que formaremos juntos.

A mis abuelitas, hermano y Josefina, por ser parte importante de mi vida.

## **AGRADECIMIENTOS**

A la Universidad Politécnica Salesiana, a la Maestría en Ciencias y Tecnologías Cosméticas, y a los docentes internacionales y nacionales que participaron en la misma quienes transmitieron sus experiencias y conocimientos en favor de nuestro crecimiento profesional.

Un sincero y profundo agradecimiento a la Ph.D. María Elena Maldonado, tutora de esta tesis, por su dirección, tiempo, conocimientos, experiencia, ayuda y motivación ofrecida a lo largo de la investigación.

Al Centro de Investigación y Valoración de la Biodiversidad (CIVABI) por brindar sus instalaciones en la realización de la parte práctica del presente trabajo de tesis. De igual manera a los Ingenieros Erika Paredes, Edison Osorio, Carina Hidalgo, Marco Ibarra, asistentes de laboratorio, por su disposición y sugerencias brindadas.

A mis compañeras de trabajo: Sandritas y Dani, por su apoyo en aporte a mi trabajo de investigación, y, palabras de aliento, gracias por su compañerismo.

Un agradecimiento para todas las personas que apoyaron directa e indirectamente en la consecución de ésta meta, a mi familia política y amig@s de toda la vida por sus palabras de aliento.



## ÍNDICE GENERAL

<b>DECLARATORIA DE RESPONSABILIDAD .....</b>	<b>ii</b>
<b>DEDICATORIA .....</b>	<b>iii</b>
<b>AGRADECIMIENTOS .....</b>	<b>iv</b>
<b>ÍNDICE DE TABLAS .....</b>	<b>x</b>
<b>ÍNDICE DE ECUACIONES .....</b>	<b>xiv</b>
<b>ÍNDICE DE ANEXOS .....</b>	<b>xiv</b>
<b>SIGLAS Y ACRÓNIMOS .....</b>	<b>xv</b>
<b>GLOSARIO.....</b>	<b>xvi</b>
<b>RESUMEN .....</b>	<b>1</b>
<b>ABSTRACT .....</b>	<b>2</b>
<b>CAPITULO 1 - INTRODUCCIÓN .....</b>	<b>3</b>
1.1 PRESENTACIÓN Y PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA .....	3
1.2 ANTECEDENTE TEÓRICOS REFERENTES AL PROBLEMA .....	4
1.3 JUSTIFICACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN EFECTUADA.....	5
1.4. OBJETIVO GENERAL.....	8
1.5. OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	8
1.6. HIPÓTESIS .....	9
<b>CAPITULO 2 - MARCO TEÓRICO .....</b>	<b>10</b>
2.1 ESTADO DEL ARTE .....	10
2.2 ENFOQUE TEÓRICO .....	18
2.2.1 Cosmética natural y orgánica.....	18
2.2.1.1 Conceptos .....	19
2.2.1.2 Cosmética natural .....	20
2.2.1.3 Cosmética orgánica .....	21
2.2.1.4 Regulación de los cosméticos naturales y orgánicos.....	21
2.2.2 Cosméticos naturales y orgánicos según Ecocert.....	23
2.2.2.1 Categorías de productos Ecocert .....	25
2.2.2.2 Materias primas .....	26
2.2.3 Conservantes cosméticos.....	27
2.2.3.1 Selección del conservante.....	30

2.2.3.2 Tipos de conservantes.....	32
2.2.3.2.1 Conservantes tradicionales o sintéticos.....	33
2.2.3.2.2 Conservantes Alternativos .....	33
2.2.3.2.2.1 Conservantes Naturales.....	35
2.2.3.2.2.1.1 Aceites esenciales .....	35
<b>CAPITULO 3 - ÁREA DE ESTUDIO Y METODOLOGÍA .....</b>	<b>39</b>
3.1 ÁREA DE ESTUDIO .....	39
3.1.1 <i>Curcuma longa</i> L. ....	39
3.1.1.1 Taxonomía.....	39
3.1.1.2 Composición Química .....	40
3.1.1.2.1 Aceite esencial .....	40
3.1.1.2.1.1 Actividad antibacteriana y antifúngica.....	42
3.1.2 Formas Cosméticas .....	43
3.1.3 Emulsiones .....	45
3.1.3.1 Definición .....	45
3.1.3.2 Tipos de emulsiones .....	45
3.1.3.3 Componentes de las Emulsiones .....	47
3.1.3.4 Estabilidad de las emulsiones .....	49
3.1.3.5 Cremas cosméticas .....	50
3.2 METODOLOGÍA.....	53
3.2.1 Aceite esencial de <i>Curcuma longa</i> .....	53
3.2.1.1 Control de calidad del aceite esencial de <i>Curcuma longa</i> .....	53
3.2.1.1.1 Características organolépticas .....	54
3.2.1.1.2 Densidad Relativa.....	54
3.2.1.1.3 Índice de refracción .....	56
3.2.1.4 Caracterización química del aceite esencial de <i>Curcuma longa</i> ...	56
3.2.2 Elaboración de la fórmula cosmética de estudio.....	58
3.2.2.1 Selección de los ingredientes de la formulación .....	58

3.2.2.2 Método de fabricación .....	64
3.2.3 Control de Calidad de la emulsión O/W tipo crema.....	65
3.2.3.1 Características organolépticas .....	65
3.2.3.2 Características físico-químicas .....	66
3.2.3.2.1 Determinación del pH .....	66
3.2.3.2.2 Determinación de la Viscosidad.....	67
3.2.3.2.3 Separación de fases .....	67
3.2.4 Ensayo para la evaluación de la eficacia del aceite esencial de <i>Curcuma longa</i> .....	68
3.2.4.1 Objetivos del estándar internacional ISO 11930:2012.....	69
3.2.4.2 Procedimiento estándar internacional ISO 11930:2012.....	69
3.2.4.2.1 Preparación de los microorganismos para el inóculo.....	70
3.2.4.2.1.1 Viabilización de las cepas ATCC .....	70
3.2.4.2.2 Preparación de los inóculos.....	72
3.2.4.2.3 Inoculación de los microorganismos estandarizados en las muestras de análisis .....	74
3.2.4.2.4 Comprobación de la viabilidad de los microorganismos ATCC utilizados. ....	74
3.2.4.2.5 Interpretación de los resultados.....	76
3.2.5 Análisis estadístico.....	79
3.2.5.1 Modelo Anova de dos vías y Test de TUKEY (HSD) .....	79
<b>CAPITULO 4 – RESULTADOS Y DISCUSIONES.....</b>	<b>81</b>
4.1 Aceite esencial de <i>Curcuma longa</i> .....	81
4.1.1 Resultados del control de calidad del aceite esencial de <i>Curcuma longa</i> .....	81
4.1.2 Resultados de la caracterización química del aceite esencial de <i>Curcuma longa</i> .....	82
4.2 Elaboración de las fórmulas cosméticas de estudio.....	83
4.2.1 Resultado desarrollo fórmula unitaria 1 (CAECU 0,4%).....	85



4.2.2 Resultado desarrollo fórmula unitaria 2 (CAECU 1%).....	86
4.2.3 Resultado desarrollo fórmula unitaria 3 (CAECU 2.5%).....	87
4.2.4 Resultado desarrollo fórmula unitaria 4 (Crema sin conservante). ..	88
4.2.5 Resultado desarrollo fórmula unitaria 5 (Crema OLG 1%).....	89
4.3 Control de Calidad del Producto Terminado .....	90
4.3.1 Características organolépticas .....	90
4.3.2 Características físico-químicas .....	90
4.3.2.1 Determinación de pH y Viscosidad.....	90
4.3.2.2 Separación de fases.....	92
4.4 Resultados deL Challenge Test del aceite esencial de <i>Curcuma longa</i> . .....	92
4.4.1 Preparación de los inóculos. ....	93
4.4.2 Resultados prueba Challenge.....	96
4.5 Análisis estadístico .....	117
4.5.1 Determinación de la concentración como conservante del de aceite esencial de <i>Curcuma longa</i> .....	117
4.5.1.1 Análisis de varianza Anova de dos vías y Test de TUKEY (HSD) .....	117
<b>CAPITULO 5 – CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES .....</b>	<b>121</b>
5.1 CONCLUSIONES .....	121
5.2 RECOMENDACIONES.....	123
<b>BIBLIOGRAFÍA .....</b>	<b>124</b>
<b>ANEXOS .....</b>	<b>130</b>

## ÍNDICE DE TABLAS

TABLA 1. LÍMITES DE CONTENIDO MICROBIOLÓGICO DE PRODUCTOS COSMÉTICOS.....	31
TABLA 2. CONDICIONES DE EXCEPCIÓN PARA ASUMIR UN PRODUCTO COSMÉTICO LIBRE DE CONTAMINACIÓN MICROBIOLÓGICA.....	32
TABLA 3. PRINCIPALES CONSERVANTES UTILIZADOS EN FORMULACIONES COSMÉTICAS.....	33
TABLA 4. CLASIFICACIÓN DE LAS FORMAS COSMÉTICAS POR SU HIDROFILICIDAD .....	43
TABLA 5. COMPOSICIÓN GLOBAL PARA EMULSIONES DEL TIPO ACEITE/AGUA (O/W).....	46
Tabla 6. COMPOSICIÓN GLOBAL PARA EMULSIONES DEL TIPO AGUA/ACEITE (W/O).....	47
TABLA 7. CLASIFICACIÓN DE CREMAS SEGÚN FUNCIONALIDAD, CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS Y SUBJETIVIDAD.....	51
Tabla 8. INGREDIENTES PARA LA FORMULACIÓN DE UNA CREMA COSMÉTICA.....	52
TABLA 9. ANÁLISIS DE CALIDAD ORGANOLÉPTICOS Y FÍSICO-QUÍMICOS PARA EL ACEITE ESENCIAL DE <i>Curcuma longa</i> .....	53
TABLA 10. PARÁMETROS DEL GC-MS, MARCA VARIAN, PARA CARACTERIZACIÓN QUÍMICA ACEITE ESENCIAL DE <i>Curcuma longa</i> .....	57
TABLA 11. FÓRMULA GENERAL DE CREMA NATURAL Y ORGÁNICA, TIPO EMULSIÓN O/W PARA VALIDACIÓN DEL PODER CONSERVANTE DEL ACEITE ESENCIAL DE <i>Curcuma longa</i> . .....	59
TABLA 12. MICROORGANISMOS ATCC ESTANDARIZADOS PARA REALIZACIÓN DEL CHALLENGE TEST DE ACUERDO AL ESTÁNDAR ISO 11930:2012.....	69
TABLA 13. METODOLOGÍAS PARA ACTIVACIÓN DE CEPAS ATCC .....	70
TABLA 14. INTERVALOS DE COMPROBACIÓN DE SUPERVIVENCIA DE LOS MICROORGANISMOS ATCC, ESTÁNDAR ISO 11930:2012.....	76
TABLA 15. CRITERIO DE ACEPTACIÓN DE LA EFICACIA PRESERVANTE ESTÁNDAR INTERNACIONAL ISO 11930:2012.....	78

TABLA 16. EQUIVALENCIAS NUMÉRICAS PARA LOS CRITERIOS DE ACEPTACIÓN DE LA EFICACIA PRESERVANTE DEL ESTÁNDAR ISO 11930. ....	80
TABLA 17. EQUIVALENCIAS NUMÉRICAS PARA LOS MICROORGANISMOS ATCC ESTANDARIZADOS DEL ESTÁNDAR ISO 11930. ....	80
TABLA 18. RESULTADOS DE CONTROL DE CALIDAD DEL ACEITE ESENCIAL DE <i>Curcuma longa</i> . ....	81
TABLA 19. RESULTADOS DEL ANÁLISIS CROMATOGRÁFICO (GC-MS) DEL ACEITE ESENCIAL DE <i>Curcuma longa</i> .....	82
TABLA 20. FÓRMULA UNITARIA 1 (CAECU 0,4%) .....	85
TABLA 21. FÓRMULA UNITARIA 2 (CAECU 1%) .....	86
TABLA 22. FÓRMULA UNITARIA 3 (CAECU 2,5%) .....	87
TABLA 23. FÓRMULA UNITARIA 4 (Crema sin conservante).....	88
TABLA 24. FÓRMULA UNITARIA 5 (Crema OLG 1,0%) .....	89
TABLA 25. RESULTADOS DEL CONTROL DE CALIDAD DE LAS CARACTERÍSTICAS ORGANOLÉPTICAS DE LAS FORMULACIONES DESARROLLAS .....	90
TABLA 26. RESULTADOS DE PROMEDIO DE DETERMINACIÓN DE VALORES DE pH y VISCOSIDAD DE LAS FÓRMULAS UNITARIAS .....	91
TABLA 27. RESULTADOS PRUEBA DE SEPARACIÓN DE FASES DE LAS FORMULACIONES DESARROLLADAS.....	92
TABLA 28. RESULTADOS LECTURAS DE ABSORBANCIA PARA LOS MICROORGANISMOS ATCC ESTANDARIZADOS.....	93
Tabla 29. CÁLCULO DE UFC/ML DE LOS INÓCULOS DE MICROORGANISMOS ATCC A PARTIR DE LA LECTURAS DE ABSORBANCIA. ....	95
TABLA 30. VALORES DE UFC/ML DE LOS INÓCULOS A TIEMPO CERO (T0) DE LOS MICROORGANISMOS ATCC ESTANDARIZADOS .....	95
TABLA 31. CRONOGRAMA DE TRABAJO PARA LA COMPROBACIÓN DE CRECIMIENTO BACTERIANO .....	96
TABLA 32. PROMEDIO DE CONTAJE MICROBIANO FÓRMULA UNITARIA 1 (CAECU 0,4%).....	97

TABLA 33. REDUCCIÓN LOGARÍTMICA DE CRECIMIENTO MICROBIANO FÓRMULA UNITARIA 1 (CAECU 0,4%).....	98
Tabla 34. VARIACIÓN LOGARÍTMICA DE LA CARGA MICROBIANA EN LA FÓRMULA 1 (AECU 0,4%) .....	99
TABLA 35. PROMEDIO DE CONTAJE MICROBIANO FÓRMULA UNITARIA 2 (CAECU 1 %).....	101
TABLA 36. REDUCCIÓN LOGARÍTMICA DE CRECIMIENTO MICROBIANO FÓRMULA UNITARIA 2 (CAECU 1 %).....	102
Tabla 37. VARIACIÓN LOGARÍTMICA DE LA CARGA MICROBIANA EN LA FÓRMULA 2 (CAECU 1.0%).....	103
TABLA 38. PROMEDIO DE CONTAJE MICROBIANO FÓRMULA UNITARIA 3 (CAECU 2,5 %).....	105
TABLA 39. REDUCCIÓN LOGARÍTMICA DE CRECIMIENTO MICROBIANO FÓRMULA UNITARIA 3 (CAECU 2,5%).....	106
Tabla 40. VARIACIÓN LOGARÍTMICA DE LA CARGA MICROBIANA EN LA FÓRMULA 3 (CAECU 2.5%).....	107
TABLA 41. PROMEDIO DE CONTAJE MICROBIANO FÓRMULA UNITARIA 4 (Crema sin conservante).....	109
TABLA 42. REDUCCIÓN LOGARÍTMICA DE CRECIMIENTO MICROBIANO FÓRMULA UNITARIA 4 (Crema sin conservante) .....	110
Tabla 43. VARIACIÓN LOGARÍTMICA DE LA CARGA MICROBIANA EN LA FÓRMULA 4 (crema sin conservante) .....	111
TABLA 44. PROMEDIO DE CONTAJE MICROBIANO FÓRMULA UNITARIA 5 (Crema OLG 1%) .....	113
TABLA 45. REDUCCIÓN LOGARÍTMICA DE CRECIMIENTO MICROBIANO FÓRMULA UNITARIA 5 (Crema OLG 1%) .....	114
Tabla 46. VARIACIÓN LOGARÍTMICA DE LA CARGA MICROBIANA EN LA FÓRMULA 5 (Crema OLG 1%).....	115
Tabla 47. DATOS UTILIZADOS PARA EL ANÁLISIS ESTADÍSTICO .....	117

## ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA 1. RESUMEN DE LAS REGLAS SOBRE LA PROPORCIÓN DE INGREDIENTES EN EL PRODUCTO TERMINADO SEGÚN NORMA ECOCERT COSMÉTICOS NATURALES Y ORGÁNICOS.....	26
FIGURA 2. <i>Curcuma longa</i> L.....	39
Figura 3. INTERPOLACIÓN DE LECTURAS DE ABSORBANCIA Y VALORES DE UFC/ml DETERMINADOS DE LOS INÓCULOS DE LAS BACTERIAS ATCC ESTANDARIZADAS .....	94
FIGURA 4. INTERPOLACIÓN DE LECTURAS DE ABSORBANCIA Y VALORES DE UFC/ml DETERMINADOS DE LOS INÓCULOS DE HONGOS Y LEVADURAS ATCC ESTANDARIZADAS .....	94
FIGURA 5. VARIACIÓN LOGARÍTMICA DE LA CARGA MICROBIANA EN LA FÓRMULA 1 (CAECU 0,4%) .....	100
FIGURA 6. VARIACIÓN LOGARÍTMICA DE LA CARGA MICROBIANA EN LA FÓRMULA 2 (CAECU 1%) .....	104
FIGURA 7. VARIACIÓN LOGARÍTMICA DE LA CARGA MICROBIANA EN LA FÓRMULA 3 (CAECU 2,5%) .....	108
FIGURA 8. VARIACIÓN LOGARÍTMICA DE LA CARGA MICROBIANA EN LA FÓRMULA 4 (Crema sin conservante) .....	112
FIGURA 9. VARIACIÓN LOGARÍTMICA DE LA CARGA MICROBIANA EN LA FÓRMULA UNITARIA 5 (Crema OLG 1%) .....	116
FIGURA 10. RESULTADOS DEL ANÁLISIS DE VARIANZA ANOVA DE DOS VÍAS DE LOS CRITERIOS DE ACEPTACIÓN SEGÚN ESTANDAR ISO 11930:2012 DEL ACEITE ESENCIAL DE <i>Curcuma longa</i> FRENTE A LAS CONCENTRACIONES DE: 0,4%, 1% Y 2,5% Y A LOS MICROORGANISMOS ATCC UTILIZADOS. ....	118
Figura 11. RESULTADOS DEL TEST DE TUKEY DE LOS CRITERIOS DE ACEPTACIÓN DE EFICACIA MICROBIANA FRENTE A LAS CONCENTRACIONES DEL ACEITE ESENCIAL DE <i>Curcuma longa</i> AL 0,4%, 1% Y 2,5%. ....	119
Figura 12. RESULTADOS DEL TEST DE TUKEY DE LOS CRITERIOS DE ACEPTACIÓN DE EFICACIA MICROBIANA FRENTE A LOS MICROORGANISMOS ATCC UTILIZADOS. ....	119

## ÍNDICE DE ECUACIONES

Ecuación 1. Determinación de la densidad relativa.....	55
Ecuación 2. Cálculo de UFC/ml mediante Recuento en placa.....	75
Ecuación 3. Cálculo de reducción logarítmica.....	76

## ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1. Ficha técnica Aceite esencial de <i>Curcuma longa</i> .....	130
Anexo 2. Ficha técnica manteca de cacao .....	132
Anexo 3. Ficha tecnica crodamol GTCC.....	133
Anexo 4. Ficha tecnica MONTANOV 68.....	135
Anexo 5. Ficha tecnica goma xantana .....	146
Anexo 6. Ficha técnica del conservante con acción comprobada a base de aceite de naranja, hierba luisa y sésamo.....	147
Anexo 7. Análisis de costos de formulaciones planteadas con aceite esencial de <i>Curma longa</i> al 0.4%, 1.0% y 2.5% .....	156
Anexo 8. Procedimiento de fabricación de la emulsión O/W .....	159
Anexo 9. Inoculación de los microorganismos estandarizados en las muestras de análisis. ....	160
Anexo 10. Certificado de análisis <i>Pseudomona aeruginosa</i> ATCC 9027 .....	162
Anexo 11. Certificado de análisis <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538 .....	163
Anexo 12. Certificado de análisis <i>Escherichia coli</i> ATCC 8739.....	164
Anexo 13. Certificado de análisis <i>Candida albicans</i> ATCC 10231.....	165
Anexo 14. Certificado de Análisis <i>Aspergillus brasiliensis</i> ATCC 16404 .....	166
Anexo 15. Cromatograma: resultados del análisis cromatográfico (GC-MS) del aceite esencial de <i>Curcuma longa</i> .....	167

## SIGLAS Y ACRÓNIMOS

AE	Aceite Esencial
ANVISA	Agencia Nacional de Vigilancia Sanitaria
ATCC	American Type Culture Collection
Aw	Actividad de agua
BDIH	Bundesverband der Industrie- und Handelsunternehmen
c.s.p	Cantidad suficiente para
CAN	Comunidad Andina De Naciones
CAN	Comunidad Andina de Naciones
COLIPA	Cosmetics Europe – The Personal care Association.
EDTA	Ácido Etilendiaminotetraacético
EE.UU	Estados Unidos
FDA	Food and Drug Administration
GC-MS	Gas Chromatography Mass Spectroscopy
GMO	Genetically Modified Organism
ICEA	Instituto para la Certificación Ética y Ambiental
INCI	International Nomenclature of Cosmetic Ingredients
ISO	International Organization for Standardization
MIC	Minimum Inhibitory Concentration
ml	Mililitros
nm	Nanómetros
NOP	National Organic Program
NSF	National Science Foundation
PDA	Potato Dextrosa Agar
pH	Potencial hidrógeno
rpm	revoluciones por minute
SDA	Sabouraud Dextrosa Agar
TSA	Tryptic Soy Agar
TSB	Tryptic Soy Broth
USDA	United States Department of Agriculture

## GLOSARIO

### A

**Actividad de agua (aw):** Se entiende como actividad de agua (valor aw), la humedad en equilibrio de un producto, determinada por la presión parcial del vapor de agua en su superficie.

**Ayurveda:** es un antiguo sistema de medicina tradicional originado en la India. Esta medicina tradicional es un sistema curativo natural y el más antiguo del mundo. Enseña que el hombre es un microcosmos, un universo en sí mismo, Es el hijo de las fuerzas cósmicas externas, el macrocosmos. A través del estudio de esta ciencia, cualquier persona puede adquirir el conocimiento práctico de la autocuración. Equilibrando adecuadamente las energías del cuerpo, se pueden reducir los procesos de deterioro físico y las enfermedades.

### B

**Base seca:** es el cociente entre la masa de agua en el material vegetal y su masa seca.

### C

**Claim:** Un claim de un producto cosmético es definido como la información pública del contenido del producto, pudiendo ser la naturaleza de éste, sus propiedades y su eficacia. Un claim puede ser expresado tanto en palabras, como en imágenes, marcas o ilustraciones, ejemplos ampliamente usados de claims son “reduce arrugas”, “refresca el aliento”, “aporta suavidad en la piel”, entre otros muchos.

**Concentración mínima inhibitoria:** Mínima concentración de antibiótico capaz de inhibir el crecimiento "*in vitro*" de una población bacteriana previamente estandarizada (concentración conocida de gérmenes).



## **F**

**Fórmula unitaria:** Lista cuantitativa de los ingredientes de una formulación cosmética.

**Forma cosmética:** Presentación individualizada de un producto cosmético listo para su uso.

## **I**

**Inóculo:** Determinado número de microorganismos procedentes del mismo clon.

## **T**

**Tasa compuesta anual:** es un término utilizado particularmente en industrias en crecimiento o para comparar las tasas de crecimiento de dos inversiones. Se utiliza frecuentemente para describir el crecimiento sobre un periodo de tiempo de algunos elementos del negocio, por ejemplo, ingresos, unidades entregadas, usuarios registrados, etc.

**Terpenos:** son una vasta y diversa clase de compuestos orgánicos derivados del isopreno (o 2-metil-1,3-butadieno), un hidrocarburo de 5 átomos de carbono.

**Tricomas:** son excrecencias de origen epidérmico y de formas muy variables, y pueden ser glandulares o no. Pueden hallarse vivos o muertos a su madurez y tienen caracteres suficientemente constantes en distintas especies como para llegar a tener mucho valor en la identificación de plantas. Pueden ser uni o pluricelulares. A veces son poco pronunciados, y se parecen más bien a abultamientos en las células epidérmicas (células papilosas). Este hecho es frecuente en los pétalos, en muchas hojas carnosas, etcétera. Los tricomas son de dos tipos: glandulares (es decir, los que elaboran sustancias) y los no glandulares, que sólo secretan su propia pared.

## RESUMEN

La tendencia actual en cosmética es la de ofrecer cosméticos naturales y orgánicos, que sean amigables con el medio ambiente. La industria cosmética debe responder ante ésta demanda, mediante el desarrollo de materias primas que vayan acorde a esta nueva preferencia, dentro de éstas los conservantes, cuya función principal es la de evitar la contaminación microbiana de los productos durante su fabricación, almacenaje y uso.

El estudio evalúa la eficacia del aceite esencial de *Curcuma longa* como conservante en una formulación cosmética natural y orgánica. Se realizan cinco formulaciones, en las que se varía, fundamentalmente, la concentración del aceite esencial. Se comprueba la eficacia como conservante, mediante el ensayo para la evaluación de la conservación antimicrobiana en productos cosméticos (Challenge Test), de acuerdo con el estándar internacional ISO 11930:2012.

Los resultados concluyen que la formulación con concentración al 2,5% de aceite esencial de *Curcuma longa* es eficaz como conservante para un cosmético natural y orgánico, ya que cumple con el criterio de aceptación A del estándar internacional ISO 11930:2012. Resultado que se reconfirma mediante el uso de la prueba de Test de Tukey; el cual, además permite concluir que es un conservante de amplio espectro, frente a los microorganismos utilizados.

**Palabras clave:** *Curcuma longa*, aceite esencial, conservante natural, cosmético orgánico.

## ABSTRACT

The current trend in cosmetics is to offer natural and organic cosmetics that are friendly to the environment. The cosmetics industry should respond to this demand by developing raw materials to be accordance with this new preference, within these, the remarkable use of preservatives, whose main function is to prevent microbial contamination of products during manufacture, storage and use.

The study evaluates the effectiveness of essential oil of *Curcuma longa* as an organic preservative in cosmetic formulation. Five formulations are made, in which varies mainly the concentration of essential oil. Preservative efficacy is tested by testing for the evaluation of antimicrobial preservation in cosmetic products (Challenge Test), according to the international standard ISO 11930: 2012.

The results conclude that the formulation with 2.5% concentration of essential oil of *Curcuma longa* is effective as a preservative for organic and natural cosmetics, because it meets the acceptance criteria A of the international standar ISO 11930:2012. This result is reconfirmed by using the Tukey Test, which also leads to the conclusion that it is a broad spectrum preservative, against microorganisms used.

Key words: *Curcuma longa*, essential oil, natural preservative, organic cosmetic.

## **CAPITULO 1 - INTRODUCCIÓN**

### **1.1 PRESENTACIÓN Y PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

La tendencia actual en cosmética se centra en lo relacionado con lo natural y orgánico, existiendo una mayor demanda por éstos cosméticos, y que a su vez sean amigables con el medio ambiente. (Vivaness, 2013).

La industria cosmética debe responder ante esta necesidad con el desarrollo de materias primas que vayan acorde a esta nueva tendencia. Dentro de éstas, son de mucho interés las relacionadas con los conservantes, ya que, de éstos compuestos dependerá la calidad y vida útil del producto.

Se evidencia que son escasas las alternativas de conservantes para el uso en cosméticos naturales y orgánicos, ya que deben cumplir con ciertos requerimientos para poder ser utilizarlos en éste tipo de productos.

Los principales argumentos que motivan la realización del presente trabajo de investigación son: la falta de ingredientes de origen natural que puedan ser utilizados en el desarrollo de productos cosméticos que estén dentro de esta tendencia, y, también la utilización de una especie vegetal proveniente de la biodiversidad ecuatoriana en la cual se evaluará su utilización dentro de industria de los cosméticos naturales y orgánicos.

La especie vegetal seleccionada corresponde a *Curcuma longa* L, de la cual se evaluará la actividad conservante de su aceite esencial. Ésta es una especie introducida en la región amazónica de nuestro país y de la cual no se posee información de su uso como conservante para productos cosméticos naturales y orgánicos. La comprobación de su

acción como conservante permitiría considerarlo como una nueva opción de conservante para la fabricación de cosméticos naturales y orgánicos.

## **1.2 ANTECEDENTE TEÓRICOS REFERENTES AL PROBLEMA**

Las plantas aromáticas han sido reconocidas desde la antigüedad por sus propiedades antisépticas y de preservación, principalmente en la conservación de alimentos y su uso dentro de la medicina tradicional con fines terapéuticos. En la actualidad son importantes dentro de las industrias de alimentos, farmacéutica y cosmética. (Dorman & Deans, 2000), (Maguna, Romero, Garro, & Okulik, 2006), (Hammer, Carson, & Riley, 1999). La mayor parte de sus propiedades se deben a la presencia de sus aceites esenciales que son productos obtenidos del metabolismo secundario de las mismas. (Sartoratto, y otros, 2004). Éstos son mezclas variables, principalmente compuestos terpenoides, específicamente monoterpenos y sesquiterpenos en proporción mayoritaria, también pueden estar presentes diterpenos, y, una variedad de hidrocarburos alifáticos de bajo peso molecular, ácidos, alcoholes, aldehídos, ésteres y excepcionalmente compuestos que contienen nitrógeno y azufre. (Dorman & Deans, 2000).

Las propiedades antimicrobianas de los aceites esenciales de las plantas aromáticas han sido ampliamente estudiadas. A pesar del gran número de estudios sobre la evaluación de la acción antimicrobiana de los aceites esenciales, todavía es difícil obtener conclusiones acerca de esta acción, debido al uso de una amplia variedad de metodologías, que incluyen: la elección de la planta, composición del aceite esencial, los microorganismos seleccionados para la prueba y los métodos antimicrobianos de ensayo. (Janssen, Scheffer, & Svendsen, 1987)

En relación al tema de estudio de la presente investigación, el aceite esencial de *Curcuma longa*, ha sido objeto de algunas investigaciones en las que se resaltan sus propiedades antibacterianas y antifúngicas (Mesa, Ramirez-Tortosa, Aguilera, Ramirez-Boscá, & Gil, 2000), debido a que su aceite esencial contiene en más de su 50% compuestos del tipo sesquiterpenos, siendo entre sus principales componentes: la tumerona,  $\alpha$ -tumerona y la  $\beta$ -tumerona. (Coy & Acosta, 2013).

Desde 1974, se conoce la actividad antibacteriana *in vitro* del extracto alcohólico de cúrcuma, de la curcumina y de su aceite esencial. En 1978, Banerjee y Nigam demostraron su actividad antifúngica. Apisariyakal *et al.*, en 1995, observaron las propiedades antifúngicas del uso tópico del aceite de cúrcuma, en un experimento realizado en cobayos, y en condiciones *in vitro* sobre varios aislados patológicos. (Mesa, Ramirez-Tortosa, Aguilera, Ramirez-Boscá, & Gil, 2000). En el estudio denominado “Actividad antibacteriana y determinación de la composición química de los aceites esenciales de romero (*Rosmarinus officinalis*), tomillo (*Thymus vulgaris*) y cúrcuma (*Curcuma longa*) de Colombia” (Coy & Acosta, 2013), se menciona la actividad antibacteriana del aceite esencial de cúrcuma, indicando que posiblemente el aceite de cúrcuma es de los más activos, porque en sus componentes principales posee un porcentaje alto de sesquiterpenos oxigenados.

En otro estudio denominado “Actividad antibacteriana de variedades de *Curcuma longa*, frente a diferentes cepas de bacterias”, señala el poder antibacteriano del aceite de cúrcuma frente a cuatro variedades de bacterias: *Bacillus subtilis*, *Bacillus macerans*, *Bacillus licheniformis* y *Azotobacter*. (Shagufta, y otros, 2010).

El estudio denominado “Evaluación de la actividad antibacteriana del aceite esencial y curcuminoides totales extraídos de la cúrcuma” (Singh R & Jain D, 2011), señala la actividad antibacteriana del aceite de cúrcuma frente a *B.subtilis*, *E. coli*, *S. aureus*, y *P. mirabilis* y también actividad antifúngica sobre *A. brasiliensis* y *C. albicans*.

Las investigaciones citadas, constituye sólo algunas de un buen número de investigaciones realizadas sobre la actividad antimicrobiana del aceite de *Curcuma longa*, lo que deja claramente evidenciada la actividad antibacteriana y antifúngica del aceite, siendo éstas investigaciones la base científica de la presente investigación en cuanto a evaluar la eficacia como conservante del aceite esencial de *Curcuma longa*.

### **1.3 JUSTIFICACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN EFECTUADA**

A nivel mundial, la tendencia actual en cosmética es la de ofrecer cosméticos naturales y orgánicos, que sean amigables con el medio ambiente. La demanda por estos productos de belleza con materias primas de origen natural está en alza, debido a una mayor concientización ecológica por parte de los consumidores. De acuerdo con una previsión de Euromonitor, el mercado mundial de cosméticos orgánicos y naturales crecerá hasta el 2015 un promedio del 5% al año. (Vivaness, 2013)

Los consumidores de ésta clase de cosméticos se enfrentan principalmente con las siguientes dificultades: 1. Distinguir los auténticos productos naturales y/u orgánicos de los que no los son y que se publicitan como tales, y, 2. Conocer las diferencias entre las denominaciones natural y orgánico, y los requisitos de cada una de ellas en lo que respecta a la formulación, el etiquetado, etc.

Es importante indicar, que a pesar de que no exista una normativa oficial a nivel mundial para productos cosméticos orgánicos y naturales, los fabricantes de éstos productos se acogen a criterios establecidos por agentes privados de certificación sobre los cuales garantizan la calidad y origen tanto para las materias primas como para el producto terminado.

Estos agentes privados de certificación han establecido sus propios criterios de certificación para ésta clase de productos ofreciendo así dos sellos de distinción: 1. Cosmético Natural, y, 2. Cosmético Natural y Orgánico. De esta manera los consumidores pueden identificar a éstos productos mediante la observación de un sello en la etiqueta del producto, lo que asegura el origen del mismo y su normativa de cumplimiento.

La industria cosmética debe responder ante esta demanda de productos, mediante el desarrollo de materias primas o ingredientes que vayan acorde a ésta nueva preferencia, llamando la atención lo relacionado con los conservantes, los cuales tienen como función principal, evitar la contaminación microbiana de los productos durante su fabricación, almacenaje y uso por parte del consumidor, por lo que es importante evaluar su eficacia dentro de la formulación desarrollada, para lo cual se ha diseñado el denominado Test de Eficacia o *Challenge Test* cuyo protocolo experimental se lleva a cabo de conformidad con

el estándar internacional ISO 11930:2012, el cual proporciona dos criterios: A y B para la evaluación de la eficacia del conservante, los cuales serán descritos en el capítulo 3.

En la actualidad, se encuentra disponible una lista de conservantes aprobados por la Comunidad Europea para su uso en cosméticos, los cuales en su mayoría son de origen sintético y otros no han podido ser obtenidos mediante purificación natural (Roden, 2010), por lo que son escasas las alternativas de conservantes para el uso en cosméticos naturales y orgánicos.

Una alternativa interesante que está ganando importancia en los últimos años sobre todo con la tendencia actual por lo natural y orgánico, es el uso de aceites esenciales como conservantes, ya sean solos o combinados para su uso en cosméticos (Roden, 2010), como ejemplos se puede citar los siguientes estudios: a. Evaluación de la propiedad conservante del aceite esencial de *Thymus vulgaris* en formulaciones de aplicación tópica utilizando Challenge Test (Manou, Bouillard, Devleeschouwe, & Barel, 1998), y, b. Actividad antimicrobiana de los aceites de lavanda, tea tree y limón en sistemas conservantes cosméticos. (Kunicka-Styczyn´ska, Sikora, & Kalemba, 2009).

De acuerdo a una revisión bibliográfica realizada, en el mercado cosmético se pueden encontrar hasta el momento dos marcas que ofrecen conservantes a base de aceites esenciales para su uso en cosméticos naturales y orgánicos, denominados: Sabilize® –New, compuesto primordialmente a base de aceites esenciales como son: *Thymus vulgaris*, y *Magnolia officinalis* (Sabinsa, 2013); y, por otro lado la marca Salinaturals®, la cual fabrica conservantes naturales con certificación orgánica a base de aceites esenciales, entre los que se encuentran: aceite esencial de *Citrus aurantium*, *Cymbopogon citratus* y *Sesamun indicum*, por citar algunos. (Salinaturals, 2014).

En lo que respecta a la industria cosmética en nuestro país, todavía se encuentra en vías de desarrollo, se necesita de un mayor número de profesionales capacitados, así como de una mayor inversión en áreas de investigación y desarrollo sobre todo enfocada en la utilización responsable de los recursos naturales provenientes de la biodiversidad con la que cuenta nuestro país, la cual es la más diversa y compleja del planeta disponiendo cerca



de 3.000 especies de plantas útiles con potencial para desarrollo de medicamentos, cosméticos, entre otros. (Villacrés, 1995).

Para fines de la presente tesis, se utilizará una especie vegetal domesticada que crece en nuestra Amazonía, que forma parte de la biodiversidad de especies de plantas útiles con potencial para la industria cosmética, como es la *Curcuma longa* L, de la cual se utilizará el aceite esencial de su rizoma por sus comprobadas propiedades antibacterianas y antifúngicas.

De acuerdo a lo anteriormente descrito, todas estas bondades y propiedades relacionadas al aceite de *Curcuma longa*, constituyen el fundamento con el cual se plantea la presente investigación: evaluación de la eficacia como conservante en una formulación cosmética natural y orgánica.

Por lo tanto, el presente trabajo de investigación pretende ofrecer una nueva alternativa de conservante para uso en cosmética natural y orgánica, como respuesta a la creciente demanda de esta clase de cosméticos a nivel mundial.

#### **1.4. OBJETIVO GENERAL**

Evaluar la eficacia del aceite esencial de *Curcuma longa* L. como conservante en una formulación cosmética desarrollada bajo la Norma ECOCERT para Cosméticos Naturales y Orgánicos.

#### **1.5. OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- Desarrollar una formulación cosmética del tipo crema, formulada bajo la norma Ecocert para Cosméticos Naturales y Orgánicos, incorporando el aceite esencial de *Curcuma longa*, a tres concentraciones.

- Evaluar la eficacia como conservante del aceite esencial de *Curcuma longa* a tres concentraciones establecidas en la formulación cosmética desarrollada mediante la prueba de Challenge Test, de acuerdo al estándar internacional ISO 11930:2012.
- Determinar la mejor concentración del aceite esencial de *Curcuma longa* en la formulación desarrollada, a la cual es más eficaz como conservante.

## **1.6. HIPÓTESIS**

### **1.6.1 HIPÓTESIS ALTERNATIVA**

El aceite esencial de *Curcuma longa* es eficaz como conservante en una formulación cosmética elaborada bajo la norma Ecocert para cosméticos naturales y orgánicos, cuando ésta cumpla con uno de los dos criterios de aceptación A o B del estándar internacional ISO 11930:2012.

### **1.6.2 HIPÓTESIS NULA**

El aceite esencial de *Curcuma longa* no es eficaz como conservante en una formulación cosmética elaborada bajo la norma Ecocert para cosméticos orgánicos y naturales cuando ésta no cumpla con ninguno de los dos criterios de aceptación A o B del estándar internacional ISO 11930:2012.

## **CAPITULO 2 - MARCO TEÓRICO**

### **2.1 ESTADO DEL ARTE**

La presente investigación está enfocada dentro de la nueva tendencia en cosmética que es la denominada natural y orgánica. La demanda por estos productos de belleza está en alza debido a una mayor concientización ecológica “verde” por parte de los consumidores.

La palabra “verde” también se ha convertido en un concepto poderoso en cosméticos, pero ciertamente con una definición no muy clara. La realidad es que, no hay una definición exacta para lo que se debe considerar como un cosmético verde, sino que la misma está fundada más en un concepto intuitivo basado en su asociación al medio ambiente y el uso de componentes naturales y/u orgánicos; sin embargo, no existe un conjunto de límites en lo que constituye verdaderamente el concepto “verde” para un cosmético, por lo tanto surgen ciertas interrogantes: ¿Se han establecido límites de concentración del uso de componentes naturales y/u orgánicos?, ¿ Los productos verdes indican que hay envases específicos que sean más respetuosos con el medio ambiente?, ¿Cuántas de estas características respetuosas con el medio ambiente son necesarias para que un producto sea verde? Es por esto que en respuesta a estas múltiples inquietudes surgen las certificadoras, que son entes privados que han creado sus propias normas o estándares en pro de establecer los parámetros necesarios para catalogar a los productos cosméticos ya sean como naturales y/u orgánicos.

Este creciente interés por estar dentro de ésta nueva tendencia, se ha convertido en una oportunidad de negocio para muchas empresas, ya que la comercialización de ésta clase de productos, abren camino hacia una nueva base de usuarios, resultando más atractivos a consumidores con conciencia ambiental. (Pawel & Ross-Fichtner, 2014)

En cuanto a su impacto dentro del mercado mundial, éste segmento de la cosmética tendrá cifras importantes de crecimiento, es así que según un nuevo informe de mercado publicado por Transparency Market Research, titulado "Organic Personal Care Products Market for Skin Care, Hair Care, Oral Care and Cosmetics—Global Industry Analysis, Size, Share, Growth, Trends and Forecast, 2012–2018", la demanda mundial de productos orgánicos para cuidado personal fue de \$ 7600 millones en el 2012 y se espera llegar a 13,2 mil millones dólares en 2018, creciendo a una tasa compuesta anual del 9,6% desde 2012 hasta 2018. (Penning A. , 2013)

El mercado mundial de productos de cuidado personal natural y orgánico, fue testigo de un crecimiento constante en los últimos años debido a la creciente preocupación de los consumidores en materia de salud e higiene personal. Además, la ampliación de los canales de distribución y desarrollo de nuevos productos, son otros factores que contribuyen al crecimiento de éste segmento del mercado. Sin embargo, la vida útil limitada de los productos, dificultades con el abastecimiento de materias primas de origen orgánico y natural y un estricto escenario regulatorio, se espera que sean los retos clave para el crecimiento del mercado en los próximos años.

Los productos para el cuidado de la piel dominaron la demanda en el mercado mundial de productos personales de cuidado orgánico en el 2011, con una participación de 32,1% y se espera que crezcan a un ritmo del 9,9% entre 2012 y 2018, seguido por los productos para cuidado del cabello y los productos de higiene bucal.

La demanda de estos tres principales segmentos del mercado cosmético, aumentarán debido a la entrada de las grandes multinacionales en los productos de cuidado personal orgánico y natural, generando una importante visibilidad de estos productos en el mercado al aumentar su accesibilidad a los consumidores. También se espera que estos tres segmentos dominen el mercado mundial de cuidado personal orgánico en los próximos años.

América del Norte representó el 34,8% de la demanda mundial en el 2011 y se espera que crezca a una tasa compuesta anual del 9,8% entre 2012 y 2018. Europa y Asia siguen en términos de consumo de productos orgánicos para el cuidado personal. Se espera que sea Asia la región de más rápido crecimiento con una tasa compuesta anual prevista del 9,7% desde 2012 hasta 2018, debido a: aumento de los ingresos de los consumidores, el cambio de los estilos de vida, el aumento de la conciencia por el medio ambiente y la demanda de productos orgánicos y naturales para el cuidado personal. (Penning A. , 2013)

De acuerdo a estimaciones de Euromonitor International, empresa dedicada a estudios de mercado alrededor del mundo, Latinoamérica experimentará una dinámica de mercado marcada por un acelerado crecimiento hasta el 2013 con el 3,8% anual, debido al aumento en la demanda por productos de cuidado para el cabello, la piel y fragancias. (Proexport Colombia, 2008).

En cuanto a la realidad del mercado en nuestro país en el tema de cosméticos orgánicos, no se cuenta con datos exactos de ésta tendencia en nuestro mercado, aunque ya se cuenta con la presencia de algunas marcas internacionales de cosméticos orgánicos y naturales; por ejemplo: Oriflame con la línea Ecobeauty®, Zuii® con una línea de maquillaje 100% orgánico certificado, y, Plante System® Dermocosmética Orgánica by Arkopharma con una línea completa para el cuidado de la piel certificada.

Debido a estrategias gubernamentales en nuestro país por el cambio en la matriz productiva, mediante acuerdo entre el Ministerio de Industrias y Productividad y el sector de los Cosméticos, se comprometieron a incrementar su producción a USD 54 millones 605 mil durante el 2014 y para el año 2015 a USD 64 millones 902 mil, (Ministerio de Industrias y Productividad, 2014), con lo cual la producción de cosméticos aumentará en el país, lo que significa que empresas cosméticas internacionales y nacionales se vean atraídas también por la fabricación de cosméticos orgánicos y naturales auténticamente certificados como tales por organismos internacionales como se ha mencionado anteriormente.

Debido a estas oportunidades de desarrollo para la cosmética natural y orgánica, Euromonitor, advierte de los nuevos desafíos a los cuales se enfrentarán los formuladores cosméticos debido a la creciente variedad de activos que se está impulsando con la consecuente innovación en la industria cosmética. Tradicionalmente los activos denominados eran obtenidos a partir de las plantas; en la actualidad se está encontrando interés en activos a partir de ingredientes alimentarios y fuentes marinas, así como el uso de nuevos métodos de extracción y procesamientos sostenibles; y, de ésta manera permitir el desarrollo de nuevos activos con actividades específicas como activos anti-envejecimiento, hidratación para la piel, promoción del crecimiento del cabello, prevención de pérdida de cabello y la caspa, por citar algunos, y, que además, también estén certificados como naturales y/u orgánicos.

Con el desarrollo de estos nuevos activos, se enfrenta retos en la formulación de ésta clase de productos. La estabilidad del producto y la conservación son temas importantes. Las diferencias entre las normas de los distintos certificadores alrededor del mundo sobre fuentes de ingredientes aceptadas y prohibidas, métodos de síntesis y formulaciones también están creando obstáculos técnicos. (GCI Magazine, 2014)

El incluir un ingrediente orgánico o natural dentro de un producto cosmético, significa darle un valor que viene dado por una historia que está tras su comercialización la cual abarca aspectos como son: el trabajo de los productores, la recolección, una producción más amigable con el medio ambiente y la obtención de un sello a través de una certificación orgánica que garantiza el origen y el respeto con el medio ambiente.

Con la tendencia por lo natural en aumento continuo, más consumidores están buscando productos cosméticos que sean genuinamente orgánicos y naturales y amigables con el medio ambiente. Sin embargo, hay una serie de consideraciones cuando se habla de un producto cosmético orgánico y natural, no es tan fácil como simplemente la colocación de un logotipo de certificación o la adición de palabras como "orgánico" o "natural" en la etiqueta de un producto. (Penning A. , 2012)

La necesidad de diferenciar un producto cosmético orgánico y natural de otro que no lo es, está siendo de gran interés tanto para la industria cosmética como para los consumidores. A

pesar de que el camino hacia la certificación puede ser muy diferente por el tipo de reglamentación de los múltiples estándares, el objetivo final es el mismo: la solidificación de su marca como más natural que el resto. Los propietarios de marcas deben analizar cuidadosamente sus opciones para asegurarse de que la adhesión a cualquier norma de certificación estará dando a su marca las ventajas y posicionamiento que están buscando. Algunas de las marcas líderes en el mercado, incluyen ya dentro de sus líneas de productos para el cuidado personal, los de tipo orgánico entre las que se encuentran: Bare Escentuals, Aveda, Burt's Bee, Origins, Kiehls, The Body Shop. (Penning A. , 2013)

En EEUU, el estándar establecido por el gobierno para regular el tema de productos orgánicos es el Departamento de Agricultura de Estados Unidos (USDA, por sus siglas en inglés), a través del Programa Nacional Orgánico (NOP, por sus siglas en inglés). Su propósito es garantizar la integridad de los productos orgánicos proclamados en los EE.UU. y también a nivel mundial, para lo cual otorgan la certificación USDA Organic. También existen otros organismos de certificación como de la Fundación Nacional de Sanidad (NSF, por sus siglas en inglés), y, opciones europeas como Ecocert (marca registrada) o Cosmos (marca registrada), cada uno con sus propias reglas acerca de la certificación orgánica. (Penning A. , 2012)

Tener una certificación para un producto cosmético natural y orgánico, es útil, ya que las regulaciones gubernamentales son deficientes en este segmento de alto crecimiento; ya no es suficiente simplemente hacer algo natural o alguna otra proclamación de “verde” en una etiqueta. Los fabricantes de ésta clase de cosméticos, deben esforzarse por diferenciar y demostrar a los consumidores que los productos son exactamente lo que dicen que son. (Duber-Smith, 2013)

Entre las principales atracciones que tienen los cosméticos naturales y orgánicos están: obtención de sus ingredientes de la naturaleza y combinarlos en fórmulas sin conservantes químicos reduciendo así las posibilidades de irritaciones de la piel, y, están fabricados sin la experimentación con animales o productos químicos que puedan dañar el medio ambiente, proporcionando un alto valor añadido al producto cosmético. (Penning A. , 2012)

Sin embargo, desde el punto de vista técnico se conoce que ningún ingrediente por natural que sea es completamente inocuo debido a la complejidad de compuestos químicos que constituyen el mismo, por lo tanto es muy importante antes de utilizar un recurso natural para su utilización dentro de un producto cosmético, estudiarlo y conocer sus principales componentes. Son algunas las publicaciones en donde indican algunas reacciones adversas provocadas por productos naturales, por ejemplo reacciones de tipo leves y moderadas con afectación fundamental del sistema digestivo y la piel reportadas a partir del uso de medicamentos derivados del: Ajo (*Allium sativum L.*), Eucalipto (*Eucalyptus sp.*) y Naranja Agria (*Citrus aurantium L.*); en otro estudio también se mencionan haber encontrado reacciones moderadas principalmente con el uso de ajo (*Allium sativum L.*), orégano (*Plectranthus amboinicus (Lour.) Spreng.*), propóleos y fangos medicinales. De lo anteriormente expuesto, lo natural, no es garantía de inocuidad y que igualmente puede ser dañino lo totalmente natural, por lo que es importante elegir la dosis adecuada a emplear del recurso natural y conocer la naturaleza química del mismo. (Lifshitz, 2003)

Está llamando la atención la incorporación de ingredientes orgánicos exóticos provenientes de diferentes partes del planeta, pero sobre todo llaman la atención los provenientes de América del Sur con su oferta en aceites vegetales orgánicos y también la tendencia está en la utilización de extractos tradicionales como el aloe vera, extracto de té pero con certificación de su origen orgánico. (Penning A. , 2012).

Esta nueva tendencia no va a desaparecer, pero los consumidores se están volviendo más escépticos por las proclamaciones “verdes” que están apareciendo en los productos cosméticos, debido a reclamos por falsedades en éstas, ya que no permiten distinguir en realidad cuando un producto cosmético lo es realmente. Actualmente, el uso de términos o proclamas enmarcadas dentro del concepto de cosméticos “verdes”, no es un gran factor que marque en la decisión de los consumidores por comprar ésta clase de productos. Para garantizar que el uso de proclamas “verdes” en una marca de cosméticos orgánicos y naturales resulte significativas y confiables para el consumidor, éstas deben ser auténticas, claras y relevantes. Promesas vagas de ingredientes naturales ya no son suficientes y éstas deben ser desarrolladas en apoyo al principal beneficio para el que ha sido diseñado el



producto, por ejemplo: hidratante, acondicionante, limpiador, etc. (Sharma & Garrison, 2014)

La mayoría de los consumidores encuentra en los conceptos verdes un atractivo pero no en la medida para asegurar la compra del producto. Los productos que se publicitan como “verdes” en donde sus proclamas de marketing se centran únicamente en éste aspecto, son significativamente menos eficaces en la compra de los que además destacan los principales beneficios del producto. (Sharma & Garrison, 2014)

Una proclama es una declaración concisa que promete valor para el consumidor y está diseñada para conducir la elección de ese producto, no es sólo una fracción de segundos para convencer a los compradores para adquirir el producto promocionado. En relación a las proclamas de que algo es “verde” significa a los fabricantes la responsabilidad de convencer a los compradores de que una marca es amigable con el medio ambiente en la medida de que es capaz de entregar la promesa de que el producto que ofertan cumplirá con la función para la cual ha sido fabricado.

Lo atrayente de esta tendencia, es que a los consumidores les gusta sentir que al adquirir un producto con estas proclamas están haciendo su parte para contribuir con la conservación del medio ambiente, pero las marcas en general, hacen que sea poco claro cómo es esto posible. La falta de claridad puede llevar a la confusión, y la combinación de éste con el término “verde” puede dar lugar a la desconfianza. De hecho, menos de la mitad de los consumidores confía en las proclamas “verdes” de una empresa, sin embargo un número creciente de consumidores (que se espera llegar a 98% en 2019) están mostrando un fuerte interés en los estilos de vida sostenibles. (Sharma & Garrison, 2014)

Es más probable que un consumidor se decida por adquirir un producto “verde”, si se resalta más la promesa del beneficio que obtendrá al adquirir ese producto, y que al mismo tiempo estará apoyando a la conservación del medio ambiente. Por ejemplo una crema para el cuerpo, en lugar de proclamar como mensaje principal en su etiqueta: "Bueno para el planeta, hecho con aceites vegetales que ayudan a su piel", debe ser trabajado como un mensaje más relevante como "No irritante para su piel porque está hecho con aceites

vegetales". Esta última proclamación se entiende más claramente cómo el elemento natural (aceites vegetales) está contribuyendo a lograr el beneficio de ese producto cosmético al consumidor, resultando ser más eficaz aludir "ser amigable con el medio ambiente" mediante la descripción de cómo los ingredientes verdes de un producto están apoyando para conseguir los beneficios del producto. (Sharma & Garrison, 2014)

Por otro lado, es interesante conocer como los mercados de China y la India tienen marcas de cuidado de piel enmarcadas dentro del concepto natural, las cuales utilizan el patrimonio de su medicina a base de hierbas y el ayurveda (sistema de medicina tradicional autóctona de la India); las mismas que se están extendiendo a través de Asia y el mundo. (Tyrimou, 2014)

Esto es un claro ejemplo de que en nuestro país existe un enorme potencial al realizar una combinación utilizando responsablemente el conocimiento de la medicina ancestral a través de la utilización de plantas y hierbas nativas de nuestro país junto con la combinación de esta nueva tendencia en cosmética que es más respetuosa con el medio ambiente y aplica prácticas sostenibles para la extracción de los recursos vegetales.

Cuando un cliente adquiere un producto cosmético influyen algunos aspectos como son: las bondades que le ofrecerá el mismo, también escoge un producto por sus características organolépticas, el tipo de envase, su costo y lo que espera es que el mismo cumpla con su función y que esté en óptimas condiciones, es decir que es seguro para su salud y que no se deteriorará con el tiempo.

Para mantener ésta última característica, unos de los ingredientes que merecen especial atención son los denominados conservantes o preservantes, los cuales tienen la función de proteger al producto de la contaminación microbiana. Si el consumidor percibe cambios visibles de alteración en el producto, reaccionará rechazándolo y con una mala percepción de la marca de la empresa fabricante. (Leranoz, 2002)

Con ésta nueva tendencia por los cosméticos naturales y orgánicos, amigables con el medio ambiente, el tema de la conservación de la formulación resulta de importante atención ya

que el formulador debe formular un cosmético que sea seguro para el consumidor tanto toxicológica como microbiológicamente, enmarcado dentro del contexto natural y respetuoso con el medio ambiente. Es ahí cuando surgen los claims como: ‘libre de conservantes’, “sin parabenos” que es el mensaje que quiere ver ésta clase de consumidor con lo cual percibe al producto como más natural, seguro y libre de aditivos químicos que pudieran causarle algún tipo de inconveniente como por ejemplo alergias.

Generalmente los aceites esenciales y una serie de extractos derivados de plantas, han mostrado excelentes propiedades antimicrobianas y son utilizados para la conservación de formulaciones cosméticas sobre todo las enmarcadas dentro del concepto natural.

Estas propiedades de conservación que muestran algunos aceites esenciales y extractos de plantas naturales, son atribuidos a sus composiciones químicas, la presencia de aldehídos, alcoholes, terpenos y ácidos orgánicos están entre los compuestos más activos con actividad antimicrobiana. (Papageorgiou, Varvareseou, Tsirivas, & Demetzos, 2010).

Por lo tanto la importancia de investigar acciones microbiológicas de plantas es importante para la industria cosmética, debido a la acogida que está teniendo la tendencia por la cosmética natural.

## **2.2 ENFOQUE TEÓRICO**

### **2.2.1 COSMÉTICA NATURAL Y ORGÁNICA**

Los productos orgánicos y naturales en América Latina han tomado fuerza en los últimos años, debido a su nombre atrayente que sugiere un cuidado cosmético natural del individuo y, al mismo tiempo cuidando el medio ambiente.

La cosmética orgánica y natural representa todavía un segmento minoritario de consumo en comparación con la cosmética convencional. Sin embargo, los estudios de mercado confirman una gran tendencia de crecimiento en los próximos años: el 15% frente al 5% global de los restantes productos de cuidado personal convencional. (Vivaness, 2013)

### 2.2.1.1 CONCEPTOS

Es importante tener claro los siguientes conceptos utilizados en cosmética natural y orgánica:

#### **Ingrediente**

##### **natural o materia prima natural**

Cualquier producto vegetal, animal o mineral, directamente procedente de la producción agrícola, de la cosecha o de la unidad de producción, no procesado, o derivado exclusivamente mediante procedimientos físicos autorizados, y que cumplen con los criterios de calidad definidos para cosméticos orgánicos y naturales. (ECOCERT, 2012)

##### **Ingrediente de origen natural**

Cualquier ingrediente natural procesado conforme a procedimientos químicos autorizados, y que cumplen con criterios de calidad definido para éste tipo de cosméticos que son respetuosos con el medio ambiente. (ECOCERT, 2012)

##### **Orgánico, Ecológico o Biológico**

Término utilizado para denominar a una clase de productos que cumplen con requisitos especiales de acuerdo a la normativa que se aplique. El término se puede encontrar en diferentes formas de nombrarlo, y, dependerá de la normativa que utilice el país de origen, como ejemplo se puede citar: Estados Unidos y Latinoamérica el término utilizado es **orgánico**, en España **ecológico** y en Francia **biológico**. Pero todos se refieren a la misma característica. (ECOCERT, 2012)

##### **Ingrediente certificado Orgánico**

Se obtiene de plantas o animales, en ocasiones transformados que son certificados cuando siguen las reglas de producción de la agricultura orgánica. (ECOCERT, 2012)

### **Agricultura ecológica, orgánica o biológica**

Se basa en la utilización óptima de los recursos naturales sin emplear productos químicos de síntesis o genéticamente modificado (GMO, por sus siglas en inglés), obteniendo así productos orgánicos, mientras se conserva el equilibrio entre la tierra y el medio ambiente. (ECOCERT, 2012)

### **Contaminantes**

Sustancias naturalmente no presentes en los ingredientes, o en proporciones superiores a las naturalmente presentes y que generan una contaminación (persistencia, residuos), y eventualmente riesgos de toxicidad (metales pesados, hidrocarburos, pesticidas, dioxinas, radioactividad, GMO, micotoxinas, residuos medicamentosos, nitratos, nitrosaminas). (ECOCERT, 2012)

#### **2.2.1.2 COSMÉTICA NATURAL**

Es aquella que contiene ingredientes de origen vegetal: aceites y grasas vegetales procedentes de semillas, frutas, cortezas etc., cualquier parte del vegetal que pueda ser aprovechado y de los cuales sus bondades han sido comprobadas. Estos contienen principios funcionales de origen vegetal que permiten alcanzar la eficacia del producto enfocándose al uso de ingredientes naturales.

La cosmética natural no tiene por qué ser orgánica, mientras que la cosmética orgánica siempre será natural. Adicional, depende de la elección de conseguir o no un sello de certificación orgánica, según ello la diferencia se encuentra en la forma de obtener los ingredientes, ya que mientras en la cosmética orgánica una proporción de estos deben proceder de la agricultura ecológica, en la cosmética natural no sería necesario. (ECOCERT, 2012).

### **2.2.1.3 COSMÉTICA ORGÁNICA**

Reúne el cumplimiento de una serie de requisitos como son:

- Uso de ingredientes procedentes del cultivo orgánico, sin pesticidas, ni abonos químicos.
- No debe contener ingredientes modificados genéticamente.
- No permite el uso de conservantes, colorantes o perfumes sintéticos, siliconas, ni aceites minerales procedentes de la petroquímica.
- No debe contener componentes irradiados
- Sin ingredientes de origen animal.
- No probados en animales
- Uso de recipientes reciclados y reciclables. (ECOCERT, 2012)

### **2.2.1.4 REGULACIÓN DE LOS COSMÉTICOS NATURALES Y ORGÁNICOS**

A pesar de que no exista una normativa oficial para cosméticos orgánicos y naturales en cuanto a: sustancias permitidas, la relación entre los ingredientes de origen natural y orgánico dentro de una formulación cosmética, etc., existen organismos privados de certificación alrededor del mundo que han establecido sus propias normativas en pro de establecer parámetros para garantizar el origen de los mismos (Alcalde, 2008).

Los requerimientos que debe cumplir este tipo de cosméticos y los organismos que velan por su control varían según la región del mundo en la que se desee comercializar el producto, así:

#### **América del Norte**

En Estados Unidos, los cosméticos orgánicos están regulados por la normativa del Programa Orgánico Nacional (NOP) del Departamento de Agricultura (USDA) el cual regula el término orgánico. Su propósito es garantizar la integridad de los productos

orgánicos proclamados en los EE.UU. y también a nivel mundial, para lo cual otorga la certificación USDA Organic. (Penning A. , 2012)

El sello USDA Organic puede aparecer en ciertas condiciones en el etiquetado de un producto, en concreto, cuando el 95% como mínimo de sus ingredientes procedan de agricultura orgánica. Si el porcentaje es inferior, el logo no puede aparecer en el embalaje.

La Agencia de Alimentos y Medicamentos (FDA, por sus siglas en inglés) no regula ni define el término "orgánico" para productos cosméticos; tampoco se habla del término "natural" por lo que cosméticos que se publicitan como completamente "naturales" o "derivados de plantas" pueden contener otro tipo de ingredientes.

Otra certificadora importante en América del Norte es la Fundación Nacional de Ciencia (NSF), la cual expide certificaciones para los productos que tienen menos contenido de materia orgánica, o para las empresas que no desean certificar sus productos bajo el sello del USDA. Este sello es una introducción relativamente reciente, desarrollado para proporcionar una distinción para los productos que contienen niveles más bajos de ingredientes orgánicos. (Duber-Smith, 2013)

## **Unión Europea**

En la actualidad, no existe ninguna normativa europea oficial que detalle los requisitos que debe cumplir los cosméticos orgánicos y naturales en cuanto a las sustancias permitidas y prohibidas, la proporción de ingredientes de origen natural y orgánico, las normas del etiquetado, etc. Ante la ausencia de legislación, los fabricantes de cosméticos y materias primas, se someten a los criterios de empresas privadas de certificación, que garantizan el carácter natural y/u orgánico de los cosméticos y materias primas. Esto significa que los organismos certificadores sirven como aval o garantía al consumidor para diferenciar un producto supuestamente natural de un auténtico producto natural o de un producto auténtico orgánico.

Cada organismo certificador tiene establecidos sus propios criterios de exigencia para los productos cosméticos y en consecuencia, algunos organismos tienen criterios más estrictos que otros.

Un cosmético certificado muestra en su material de acondicionamiento el sello o logo del organismo certificador. Es posible obtener más de una certificación, y por tanto, varios sellos pueden aparecer en el mismo cosmético.

Los principales organismos certificadores europeos son: Ecocert (marca registrada) de Francia, Federación de Industria y Comercio (BDIH, por sus siglas en alemán) de Alemania, Asociación de la Tierra (Soil Association) del Reino Unido y el Instituto para la Certificación Ética y Ambiental (ICEA) de Italia.

Se ha realizado un avance importante en el tema de los cosméticos orgánicos y naturales en Europa, ya que se han armonizado los criterios de los diferentes entes certificadores en cuanto a la certificación de estos productos, con el fin de evitar la confusión entre los consumidores y en la propia industria cosmética. Para ello, representantes de los principales organismos certificadores europeos, han creado un estándar europeo llamado COSMOS (marca registrada) con el fin de definir los requisitos y definiciones comunes para los cosméticos orgánicos y / o naturales.

Con esta norma bien establecida, el mercado europeo tiene un medio para asegurar la legitimidad de los productos que se proclaman como orgánicos y naturales. A medida que más y más organismos de certificación están aplicando para convertirse en parte de la organización COSMOS, estas normas pueden ayudar a establecer una definición unificada y criterio para el etiquetado de productos cosméticos orgánicos y naturales. (Pawel & Ross-Fichtner, 2014)

### **2.2.2 COSMÉTICOS NATURALES Y ORGÁNICOS SEGÚN ECOCERT**

El sistema de referencia para los Cosméticos Naturales y Orgánicos de Ecocert, garantiza el respeto al medio ambiente en toda la cadena de fabricación del cosmético, incluida la distribución.



Ecocert es un organismo que desarrolla operaciones de control y certificación en 85 países del mundo. Ante la dificultad de los consumidores para diferenciar los verdaderos cosméticos naturales y orgánicos, ha elaborado un sistema de referencia propio con el que se han certificado más de 80.000 productos en todo el mundo.

El sistema de referencia para Cosméticos Naturales y Orgánicos de Ecocert, implica un nivel de exigencia superior al de la reglamentación convencional de los productos cosméticos porque garantiza un verdadero respeto al medio ambiente en toda la cadena de fabricación del cosmético, incluida la distribución. (ECOCERT, 2012)

Los elementos controlados por Ecocert son:

- El **producto terminado**: atendiendo a los ingredientes y procedimientos utilizados, el porcentaje mínimo de ingredientes de origen natural y orgánico, el compromiso de los proveedores sobre las materias primas entregadas, la verificación del embalaje utilizado y el control del etiquetado.
- El **fabricante**: se realiza seguimiento al fabricante del producto cosmético certificado puesto que hay un control del transporte y almacenamiento de las materias primas y de los productos terminados. Hay un estricto control a las Buenas Prácticas de Manufactura, y normativa ambiental así como la evaluación del sistema de calidad para garantizar la trazabilidad del producto y de los controles internos que realice el fabricante.

Ecocert comprueba que se respetan las exigencias de su sistema de referencia a través de un inspector el cual realiza dos auditorías al año al fabricante. Luego de la auditoría si el fabricante satisface los requerimientos del sistema de referencia de Ecocert, se le entrega una licencia relativa a la empresa autorizándolos a fabricar y/o distribuir los cosméticos certificados por Ecocert, así como un certificado para cada producto certificado.

El sistema de referencia de Ecocert va evolucionando en función de los avances científicos y de las modificaciones legislativas pero siempre se basa en la calidad, la legitimidad de los ingredientes, el respeto al medio ambiente y el respeto hacia el consumidor.

### **2.2.2.1 CATEGORÍAS DE PRODUCTOS ECOCERT**

Ecocert certifica dos categorías de productos cosméticos:

#### **1. Cosmético Natural**

Es el que reúne las siguientes condiciones:

- Un mínimo del 95% del total de los ingredientes (incluyendo el agua) es natural o de origen natural.
- Máximo el 5% restante pueden ser ingredientes de síntesis, que forman parte de una corta lista restrictiva que incluye algunos conservantes y sustancias auxiliares indispensables.
- Mínimo el 5% del total de los ingredientes procede de agricultura orgánica, que representa como mínimo el 50% de los ingredientes vegetales.

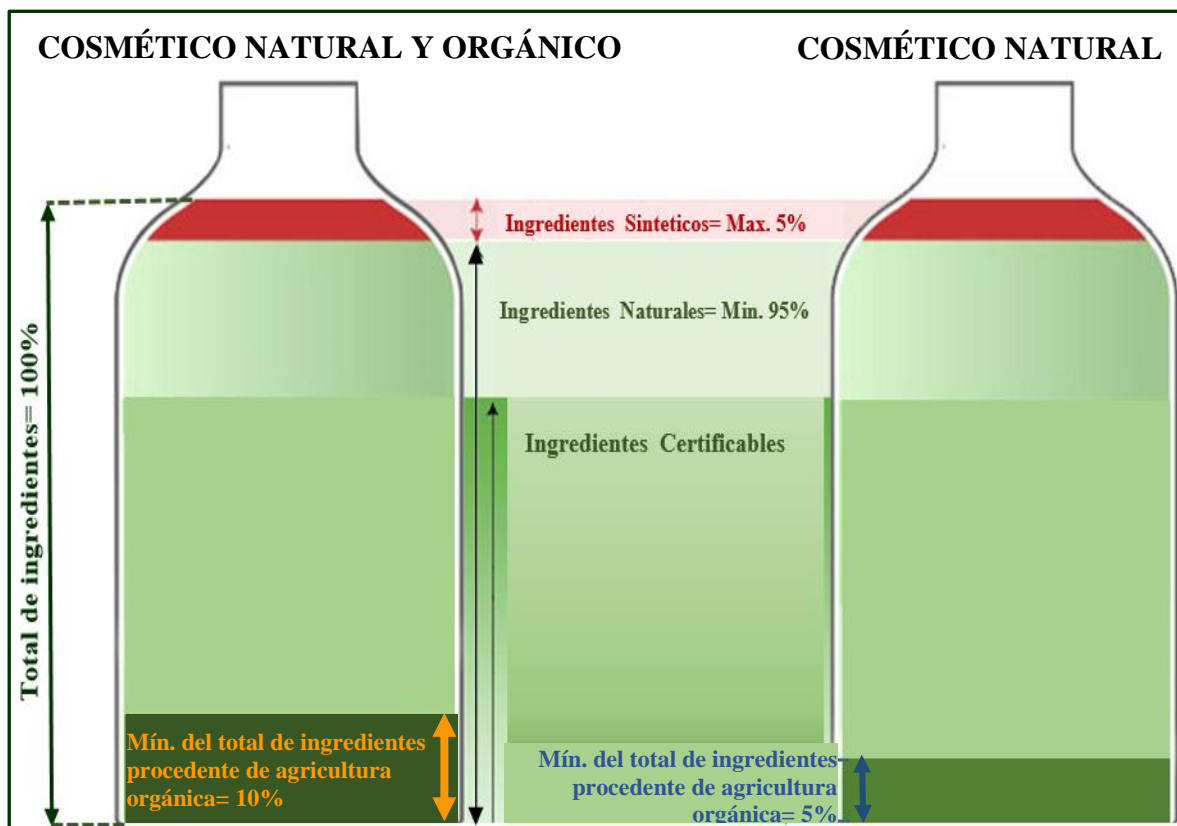
#### **2. Cosmético Natural y Orgánico**

Debe estar libre de moléculas que se definen “no permitidas” como por ejemplo siliconas, parabenos, colorantes y perfumes sintéticos. Su producción debe guardar total respeto por la naturaleza y el medio ambiente. Deben estar libres de la experimentación con animales para probar su eficacia.

Además debe cumplir las siguientes exigencias:

- A. Mínimo el 95% del total de los ingredientes es natural o de origen natural.
- B. Máximo el 5% restante pueden ser ingredientes de síntesis indispensables que forman parte de la lista restrictiva que consta en su norma de referencia.
- C. Mínimo del 10% del total de los ingredientes procede de agricultura orgánica, que representa como mínimo el 95% de los ingredientes vegetales.

En el siguiente grafico se indica un resumen de las reglas sobre la proporción de ingredientes para certificación de cosméticos orgánicos y naturales en el producto terminado:



**FIGURA 1. RESUMEN DE LAS REGLAS SOBRE LA PROPORCIÓN DE INGREDIENTES EN EL PRODUCTO TERMINADO SEGÚN NORMA ECOCERT COSMÉTICOS NATURALES Y ORGÁNICOS**

Elaborado por: la autora.

#### 2.2.2.2 MATERIAS PRIMAS

El uso de materias primas para la fabricación de cosméticos bajo la normativa Ecocert Cosméticos Naturales y Orgánicos, deben ser aquellas que han seguido los procedimientos autorizados por Ecocert, que están recogidos en una lista disponible como anexo en la mencionada norma, (ECOCERT, 2012), y no se podrán utilizar ingredientes elaborados siguiendo procedimientos no autorizados. Entre los procedimientos autorizados se encuentran, por ejemplo, la destilación, la desecación, la filtración y la hidrólisis, mientras que la etoxilación, la sulfonación o la irradiación son procesos que no están permitidos.

Respecto a las materias primas que provienen de la agricultura ecológica, se pueden utilizar extractos acuosos, extractos secos y alcohólicos; aceites esenciales, extractos para perfumes y macerados oleosos. (Alcalde, 2008)

En la norma Ecocert para cosméticos naturales y orgánicos, se indica las sustancias prohibidas en una formulación de los cosméticos naturales y orgánicos certificados.

Entre las sustancias prohibidas se incluyen: materias primas procedentes de animales sacrificados, sustancias derivadas de la petroquímica, siliconas, carbómeros, glicoles, compuestos de amonio cuaternario, perfumes de síntesis, colorantes de síntesis, y la mayoría de los conservantes: parabenos, fenoxietanol, etc.; únicamente están permitidos cinco clases de conservantes: ácidos benzoico, dehidroacético, salicílico, sórbico y sus diferentes sales, y, el alcohol bencílico.

Entre las sustancias aprobadas están colorantes minerales y una lista de ingredientes certificados por Ecocert, que pone a disposición de sus clientes para la formulación de ésta clase de cosméticos. También se autorizan algunos ingredientes de síntesis indispensables y aún no disponibles en origen natural.

En la actualidad ante el incremento en la demanda de formulaciones naturales, gran parte de las materias primas de origen natural (extractos, aceites esenciales, aceites fijos) que se están presentando en los últimos años ya poseen la certificación Ecocert, por lo que en la actualidad, el formulador cosmético tiene a su disposición una gran variedad de activos certificados, para desarrollar sus formulaciones. (Alcalde, 2008)

### **2.2.3 CONSERVANTES COSMÉTICOS**

Los conservantes se definen como sustancias que detienen o minimizan el deterioro causado por la presencia de diferentes tipos de microorganismos (bacterias y hongos). Su función es la de proteger a los productos frente a la contaminación microbiana durante la fabricación, almacenaje y uso cotidiano del consumidor. (Leranoz, 2002).

Cuando un producto cosmético sufre contaminación microbiológica, empieza su deterioro manifestado principalmente por la producción de olores, cambios de color y cambios en su consistencia. Además la presencia de los microorganismos puede ocasionar ruptura de la emulsión en el caso de las cremas y alteración en las propiedades reológicas como pérdida de su textura.

La parte de la cosmética que se encarga de la evaluación de la calidad microbiológica de los productos cosméticos, estudio de los factores que afectan el deterioro de las formulaciones, los métodos de control microbiológico y los principios de prevención y conservación, es la microbiología cosmética que es una parte de la microbiología especializada. (Wilkinson & Moore, 1990)

La contaminación microbiana de un producto cosmético puede tener diferentes orígenes: materias primas, medio ambiente, equipo de fabricación, equipo de envasado, mala manipulación por parte del personal de fabricación, e inadecuada utilización por parte del consumidor, las cuales se describen a continuación:

### **Materias primas**

Durante la fabricación de un producto cosmético, algunas de las materias primas utilizadas pueden contener un alto grado de contaminación, originando así un producto final contaminado, y por ende el sistema conservante no será útil.

El grado de contaminación de las materias primas depende del origen; así aquellas que son de origen sintético contienen relativamente pocos microorganismos al igual que otras con muy poca actividad acuosa como grasas, ceras, aceites; mientras que las sustancias naturales están frecuentemente muy contaminadas (gomas, extractos vegetales). El agua utilizada en la fabricación del producto es posiblemente el origen más frecuente de contaminación siendo en los tanques de almacenamiento los lugares donde se produce la mayor contaminación. (Wilkinson & Moore, 1990)

### **Medio ambiente**

El aire contiene principalmente microorganismos cutáneos, hongos y esporas bacterianas que pueden entrar en contacto con el producto. Para evitarlo, se deben reducir al máximo las corrientes de aire sobre el producto cosmético y monitorear la calidad del aire que circula en las diferentes áreas de preparación. (Wilkinson & Moore, 1990)

### **Equipos de fabricación y envasado**

En estas etapas, el producto se puede contaminar fácilmente por microorganismos que se acumulan como consecuencia de una limpieza deficiente o inadecuada de los equipos e instalaciones, por lo que es muy importante diseñar los mismos para ser de fácil limpieza y desinfección, evitando fisuras y puntos muertos inaccesibles. Es importante crear procedimientos estandarizados de limpieza para cada equipo así como un registro de limpieza y desinfección para cada uno de ellos, así como realizar análisis microbiológico sobre la superficie de los equipos antes y después de sanitización para cerciorarse de la eficacia de los procedimientos realizados durante la limpieza.

De igual manera merecen atención los envases en los cuales será envasado el producto final, los cuales deben estar limpios, libres de polvo y libres de contaminación microbiológica. De igual manera se debe asegurar un adecuado cierre del envase que garantice una correcta hermeticidad del envase con el medio para evitar contaminación microbiológica posterior. Finalmente los envases deben ser empacados en cajas en lugares limpios y secos. (Wilkinson & Moore, 1990)

### **Personal**

Muchos de los procesos realizados durante la fabricación y envasado requieren la intervención de operarios, lo que supone un riesgo microbiológico importante y en ocasiones difícilmente controlable. Los operarios deben ser debidamente formados en hábitos de higiene personal, así como en el seguimiento de las Buenas Prácticas de Manufactura y la dotación de vestimenta y equipo de protección personal. (Wilkinson & Moore, 1990)

### **Utilización por el consumidor**

Una vez el producto llega al consumidor, el microbiólogo desconoce si éste realizará un uso adecuado o no del cosmético (envase destapado, adición de agua, uso en deficientes condiciones higiénicas) y en qué condiciones será almacenado (elevadas temperaturas y humedad).

Por lo que el fabricante de cosméticos debe analizar todas estas posibles fuentes de contaminación para contrarrestarlas durante la manipulación por parte del consumidor. (Leranoz, 2002).

#### **2.2.3.1 SELECCIÓN DEL CONSERVANTE**

Es importante conocer el tipo de formulación que se está desarrollando para que se pueda escoger el tipo de conservante que se utilizará para proteger al producto cosmético de la proliferación microbiana.

No es posible establecer “reglas” que se puedan seguir para determinar el conservante ideal. Sin embargo un conservante debería reunir principalmente las siguientes características:

- a. Tener un amplio espectro de actividad antimicrobiana.
- b. No produzca ninguna reacción de sensibilización a la concentración utilizada.
- c. Que tenga una estructura química conocida.
- d. Permanezca estable en condiciones extremas de pH y temperatura.
- e. Compatible con todos los ingredientes de la formulación y envasado.
- f. No altere los caracteres organolépticos (color y olor) del cosmético al cual se ha incorporado.
- g. Que tenga un precio adecuado. (Leranoz, 2002), (Wilkinson & Moore, 1990).

Ningún agente conservante por si solo puede posiblemente satisfacer todos estos criterios. Consecuentemente, para crear un sistema conservante adecuado, que aporte protección durante las fases de elaboración del cosmético, y que ésta se prolongue durante toda la vida

del cosmético en manos del usuario, será necesario en la mayoría de las ocasiones la combinación de más de un conservante. La elección se la realizará en base a: la experiencia de formulaciones anteriores y considerando la naturaleza química de los ingredientes, método de fabricación, propiedades fisicoquímicas del producto, tipo de envase, condiciones de aplicación y coste, se escogerá el conservante o sistema conservante más adecuado para cada producto, considerando siempre los temas de eficacia, estabilidad y seguridad.

A pesar de que cuando un producto cosmético sale al mercado se le realizan todos los estudios necesarios que verifican que el producto es seguro desde un punto de vista microbiológico, desde la recepción de las materias primas hasta que el producto está listo para ponerse en el punto de venta pueden producirse errores que ponen de manifiesto la necesidad de controlar microbiológicamente todas las fabricaciones que salen al mercado, por lo que se han establecido las siguientes directrices indicadas por la Comunidad Andina de Naciones (CAN) de la cual forma parte Ecuador y que acoge como normas supranacionales lo que se determine como Decisiones o Resoluciones en éste organismo, se ha elaborado la Resolución 1482: Límites de contenido microbiológico de productos cosméticos (CAN, 2011) en donde se debe cumplir los siguiente parámetros de control microbiológico:

**TABLA 1. LÍMITES DE CONTENIDO MICROBIOLÓGICO DE PRODUCTOS COSMÉTICOS**

<b>ÁREA DE APLICACIÓN</b>	<b>LIMITES DE ACEPTABILIDAD</b>
Productos para uso infantil	a. Recuento de microorganismos mesófilos aerobios totales. Límite máximo $1 \times 10^2$ UFC/g o ml. b. Ausencia de <i>Pseudomona aeruginosa</i> en 1 g o ml. c. Ausencia de <i>Staphylococcus aureus</i> en 1 g o ml. d. Ausencia de <i>Coliformes totales</i> en 1 g o ml
Productos para el área de los ojos	
Productos que entran en contacto con las membranas mucosas	
Demás productos cosméticos susceptibles de contaminación microbiológica	a. Recuento de microorganismos mesófilos aerobios totales. Límite máximo $1 \times 10^3$ UFC/g o ml. b. Ausencia de <i>Pseudomona aeruginosa</i> en 1 g o ml. c. Ausencia de <i>Staphylococcus aureus</i> en 1 g o ml. d. Ausencia de <i>Coliformes totales</i> en 1 g o ml
Productos a ser utilizados en los órganos genitales externos	a. Ausencia total de <i>Candida albicans</i> .

**Fuente:** (CAN, 2011)



**Elaborado por:** la autora

Se indica también en la misma Resolución que los productos cosméticos que cumplan con alguna de las siguientes condiciones establecidas se presumirán que están libres de contaminación microbiológica.

**TABLA 2. CONDICIONES DE EXCEPCIÓN PARA ASUMIR UN PRODUCTO COSMÉTICO LIBRE DE CONTAMINACIÓN MICROBIOLÓGICA**

<b>CONDICIÓN</b>	<b>LÍMITE</b>
pH ácido	$\leq 3.0$
pH alcalino	$\geq 10.0$
Soluciones hidroalcohólicas	$\geq 20 \%$
Temperatura de llenado	$\geq 65,0^{\circ}\text{C}$
Actividad del agua ( $a_w$ )	$\leq 0.75$
Productos de base solvente	Sin límite
Productos oxidantes	Sin límite
Clorhidrato de aluminio y sales relacionadas	15% al 25%

**Fuente:** (CAN, 2011)

**Elaborado por:** la autora

### **2.2.3.2 TIPOS DE CONSERVANTES**

Como se indicó anteriormente los conservantes son sustancias químicas con actividad antimicrobiana que se incorporan en los cosméticos en bajas concentraciones durante el proceso de fabricación para que cumplan con su función que es la de prevenir la contaminación microbiana de los productos durante los procesos de: manufactura, almacenaje y uso cotidiano por el consumidor. Cuando se habla de los ingredientes cosméticos cuya función es la conservación de un producto cosmético, se hace referencia a aquellos que constan en el Anexo V del Reglamento Europeo No 1223/2009, y que por lo general se los conoce como conservantes tradicionales o sintéticos. Con la tendencia por una cosmética natural, se están optando por otros ingredientes que no están catalogados como conservantes propiamente dichos, como son el caso de los aceites esenciales, alcoholes, antioxidantes, que pueden ser utilizados luego de realizar un estudio que soporte su uso como tales, a estos se los está denominando como “conservantes naturales” o “conservantes alternativos” lo que permite promocionar a productos cosméticos naturales como “cosméticos libres de conservantes”. (Leranoz, 2002)

Es así que para fines del presente estudio se clasificarán a los conservantes como:

- a. **Conservantes tradicionales o sintéticos**, es decir los que constan en el Anexo V del Reglamento Europeo No 1223/2009.
- b. **Conservantes alternativos**, es decir los que no están catalogados como conservantes propiamente dichos pero que pueden ser utilizados luego de realizar un estudio que soporte su uso como tales.

### 2.2.3.2.1 CONSERVANTES TRADICIONALES O SINTÉTICOS

A continuación se indican los principales agentes antimicrobianos utilizados actualmente en las formulaciones cosméticas como conservantes. De todos ellos, los parabenos son los conservantes más utilizados, mayoritariamente combinados con fenoxietanol y donadores de formaldehído.

**TABLA 3. PRINCIPALES CONSERVANTES UTILIZADOS EN FORMULACIONES COSMÉTICAS**

FAMILIA	CONSERVANTE
Ácidos	Acido benzoico y sus sales
	Ácido dehidroacético y sus sales
	Acido p-hidroxibenzoico sus sales y ésteres (parabenos)
	Ácido sórbico y sus sales
Alcoholes	Alcohol bencílico
	Alcohol 2,4-diclorobencílico
Derivados fenólicos	Fenoxietanol
	Triclosán
Donadores de formaldehído	Diazolidinil urea
	Imidazolinil urea
	DMDM hidantoína
Otros	Yodopropinilbutilcarbamato
	Clorometilisotiazolinona+metilisotiazolinona

**Fuente:** (Leranoz, 2002)

**Elaborado por:** la autora

### 2.2.3.2.2 CONSERVANTES ALTERNATIVOS

En los últimos años, ha habido un creciente interés en el desarrollo de formulaciones cosméticas libres de los conservantes tradicionales. Se pueden fabricar productos cosméticos sin conservantes y seguros microbiológicamente cuando sus condiciones de producción sean estériles y generalmente empacados bajo la modalidad de monodosis. Sin embargo, bajo éste enfoque, no pueden ser elaborados la mayoría de cosméticos, ya que son envasados en envases para ser utilizados varias veces.

En las formulaciones libres de conservantes tradicionales, éstos han sido sustituidos por otros ingredientes cosméticos con propiedades antimicrobianas como son:

- **Compuestos polares de cadena media:** entre los que tenemos a: caprylyl glicol, ácidos grasos y sus monoésteres (ácido heptanoico, cáprico, caprílico y láurico y sus diferentes esteres con glicerina y propilenglicol), alcohol fenilético, etilhexilglicerina.
- **Agentes quelantes:** entre los que se encuentran el EDTA, ácido láctico y ácido cítrico.
- **Antioxidantes fenólicos:** La función primaria de antioxidantes fenólicos es retrasar la auto-oxidación de los aceites insaturados que podría influir en el color y el olor del producto, entre los que se encuentran: galato de propilo, y los ácidos cafeico, coumarinico y ferúlico.
- **Aceites esenciales y extractos derivados de plantas:** la mayoría de los aceites esenciales y algunos extractos derivados de plantas poseen excelentes actividades antimicrobianas a los cuales se los ha utilizado solos o en combinación para la conservación de los productos cosméticos. Más adelante se hablará ampliamente de ésta opción de conservantes alternativos que se los conoce en la actualidad como “conservantes naturales” ya que provienen de la naturaleza. (Varvaresou, et al., 2009)

Se puede también hablar de cosméticos auto-conservados cuando el formulador aprovecha las propiedades antimicrobianas que pueden tener algunos de los ingredientes cosméticos (alcoholes, detergentes, fragancias, antioxidantes), trabajar a pH extremos o con baja actividad de agua, controlar la carga microbiana mediante la aplicación de la normas de Buenas Prácticas de Manufactura para cosméticos, y, cuando se utilizan envases de un solo uso o que no permitan el contacto del producto con la piel del usuario o con el ambiente.

Sólo si se cumplen estas condiciones se puede hablar de productos auto-conservados. (Leranoz, 2002)

#### **2.2.3.2.2.1 CONSERVANTES NATURALES**

Los conservantes naturales son sustancias derivadas de plantas, animales, microbios y sus metabolitos, los cuales impiden la descomposición de productos por cualquier medio.

El modo de acción de estos conservantes naturales es la inhibición del crecimiento microbiano, la oxidación y ciertas reacciones enzimáticas. Dentro de éste grupo de conservantes se encuentran: aceites esenciales, flavonoides, compuesto fenólicos, metabolitos microbianos, los cuales poseen la acción preservante (Singh *et al*, 2010).

Estos conservantes han ganado importancia en los últimos años sobre todo con la tendencia actual por lo natural y por su escaso efecto adverso (Roden, 2010). Aunque el origen natural de un compuesto no garantiza una completa seguridad toxicológica y dermatológica, por lo que se debe realizar el estudio denominado Patch Test (examen para detectar hipersensibilidad a sustancias) en el producto final antes de lanzarlo al mercado, para determinar si éste pudiera causar algún tipo de reacción al consumidor.

A continuación se hablará más ampliamente sobre el uso de los aceites esenciales como alternativa de conservantes por ser el presente trabajo investigativo basado en la propiedad del aceite esencial de *Curcuma longa* L. como una propuesta de conservante alternativo.

##### **2.2.3.2.2.1.1 ACEITES ESENCIALES**

Se almacenan en las células vegetales especializadas, generalmente células de reserva de aceite, conductos de resina, glándulas o tricomas. Los aceites esenciales representan sólo una pequeña proporción del peso del material vegetal fresco, por lo general aproximadamente 1% o menos.

Generalmente los métodos más utilizados para su extracción son: hidrodestilación, destilación por arrastre de vapor, destilación asistida por la radiación de microondas, y expresión con fluidos supercríticos.

Algunas familias de plantas están particularmente bien conocidas por sus especies oleaginosas es decir de las cuales se pueden extraer sus aceites vegetales. Estas incluyen: Apiaceae, Asteraceae (también conocido como Compositae), Cupressaceae, Hypericaceae, Lamiaceae, Lauraceae, Fabaceae (también conocido como Leguminosae), Liliaceae, Myrtaceae, Pinaceae, Piperaceae, rosáceas, Rutaceae, Santalaceae, Zingiberaceae y Zygophyllaceae.

Los aceites esenciales se describen a menudo como metabolitos secundarios de las plantas. Tradicionalmente, los metabolitos secundarios de las plantas son los compuestos sintetizados por la planta que no son esenciales para el crecimiento y desarrollo de la planta, por lo que no se sintetizan universalmente en todas las plantas. (Thormar, 2011)

#### **2.2.3.2.2.1.1 QUÍMICA DE ACEITES ESENCIALES**

Los aceites esenciales no son compuestos simples sino mezcla de varios compuestos individuales, pudiendo contener alrededor de 100 componentes, aunque muchos de ellos contienen alrededor de 20 a 60.

Los compuestos que se encuentran en los aceites esenciales son de una variedad de clases químicas, por lo general son compuestos de bajo peso molecular con solubilidad limitada en agua. El término "aceite esencial" engloba a una amplia gama de compuestos químicos, generalmente son mezclas principalmente de terpenoides, concretamente monoterpenos y sesquiterpenos, aunque diterpenos también pueden estar presentes y una variedad de hidrocarburos alifáticos de bajo peso molecular (lineales, ramificados, saturados e insaturados), ácidos, alcoholes, aldehídos, ésteres acíclicos o lactonas, excepcionalmente pueden contener nitrógeno y compuestos con azufre, cumarinas y homólogos de los fenilpropanoides. Los terpenos se encuentran entre las sustancias químicas responsables de las principales actividades farmacológicas atribuidas. (Dorman & Deans, 2000)

#### **2.2.3.2.2.1.1.2 ACTIVIDAD BIOLÓGICA DE LOS ACEITES ESENCIALES**

A pesar de ser considerados como metabolitos secundarios de las plantas, es claro que los aceites esenciales y sus componentes tienen funciones biológicas específicas y muchos de ellos son explotados comercialmente. Dada la variedad y complejidad de los compuestos presentes en los aceites esenciales no es de extrañar que tengan la capacidad de afectar muchos sistemas biológicos. Las actividades biológicas de mayor interés son en torno a las aplicaciones en la salud, la agricultura y las industrias cosméticas y alimentarias.

En el ámbito de la salud y la medicina la gran variedad de propiedades biológicas que incluyen los aceites esenciales son: antimicrobiana, anticancerígena, analgésico, antioxidante, antiinflamatorio, inmunomodulador y otros antiagregantes, y actividades antitrombóticas.

##### **2.2.3.2.2.1.1.2.1 ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA**

En la actualidad se cuenta con cientos de informes científicos y literatura médica sobre la actividad antimicrobiana *in vitro* de aceites esenciales. Esta actividad antimicrobiana incluye la actividad contra bacterias, hongos, virus y protozoos. Los informes científicos actualmente se presentan más caracterizados en cuanto a la utilización de métodos normalizados, caracterización de los componentes del aceite y el estudio antimicrobiano contra una gama más amplia de géneros microbianos sobre los cuales pueden ofrecer esta actividad.

La acción antimicrobiana de los aceites esenciales se debe al carácter lipofílico de su esqueleto y principalmente al carácter hidrofílico de sus grupos funcionales. La actividad de los componentes de los aceites esenciales en orden decreciente va desde los fenoles > aldehídos > cetonas > alcoholes > éteres > hidrocarburos. (Kalemba, 2010)

##### **2.2.3.2.2.1.1.2.2 ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA Y ANTIFÚNGICA**

Los aceites esenciales tienen eficacia *in vitro* frente a los dos grupos principales de bacterias: Gram-positivas y Gram-negativas. Los métodos utilizados son generalmente métodos difusión en disco o métodos agar o dilución en caldo. El método de difusión de disco es el más utilizado y generalizado, consiste en impregnar un disco de papel con concentraciones seriadas del aceite esencial a estudiar y se coloca sobre un medio de agar al cual se le inocula una concentración conocida del microorganismo a ensayar, luego se procede con la incubación para finalmente medir el diámetro de la zona que rodea el disco en el cual las bacterias fueron incapaces de crecer, esto permite definir la concentración mínima inhibitoria (MIC, por sus siglas en inglés) del aceite frente al microorganismo ensayado. La MIC es generalmente definida como la menor concentración de aceite esencial que inhibe el crecimiento del organismo de ensayo.

La mayoría de los aceites esenciales poseen algún grado de actividad antibacteriana. Sin embargo, aquellos que atraen más la atención son los que inhiben o eliminan a las bacterias *in vitro* a concentraciones por debajo de 1% vol/vol. (Thormar, 2011)

Se ha demostrado que los aceites esenciales también presentan actividad contra los hongos. Se ha demostrado la actividad de inhibición y/o muerte de los mismos frente a una amplia gama de hongos patógenos presentes en las áreas agrícolas, humana y animal aumentando el interés en su aplicación terapéutica o industrial.

En contraste con el patrón que se observa con las bacterias, en la que las concentraciones inhibitorias y bactericidas mínimas de los aceites esenciales son con frecuencia el mismo o solamente una o dos diluciones diferentes en serie frente a diferentes microorganismos, las concentraciones de aceite necesario para eliminar a los hongos son a menudo mucho mayores que los requeridos para simplemente inhibir su crecimiento. (Thormar, 2011)

## CAPITULO 3 - ÁREA DE ESTUDIO Y METODOLOGÍA

### 3.1 ÁREA DE ESTUDIO

#### 3.1.1 *Curcuma longa* L.

##### 3.1.1.1 TAXONOMÍA

La cúrcuma es una planta herbácea, con hojas perennes, que pertenece a la familia de las zingiberáceas, originaria del sur de Asia, genero *Curcuma* y especie *longa*.



**FIGURA 2.** *Curcuma longa* L.  
Fuente: Wikipedia, 2014.  
Autor: Franz Eugen Köhler

La cúrcuma tiene tallos aéreos que pueden alcanzar una altura de 60 a 90 cm, las hojas son largas, anchas, largamente pecioladas, lanceoladas, opuestas de color verde intenso y con



nervaduras casi paralelas. Las flores crecen en inflorescencias (espiga) lateralmente a los tallos y cerca del suelo, su color varia de amarillo a purpurino según la variedad.

La cúrcuma es una planta caracterizada por rizomas de color anaranjado utilizados en el campo alimenticio y medicinal.

La recolección se realiza entre los 8 a 10 meses de haberse plantado. Se desarrolla bien en zonas de selva alta y selva baja. La temperatura media óptima está en el orden de 24 a 28 °C (Montaño, 2004).

### **3.1.1.2 COMPOSICIÓN QUÍMICA**

La cúrcuma está constituida por: proteínas (6,3%), grasa (5,1%), minerales (3,5%), hidratos de carbono (69,4%), humedad (13,1%), aceite esencial (1.5-5%). Los rizomas contienen curcuminoides (2,5-6%) que son los responsables del color amarillo de la misma. (Parthasarathy, Chempakam, & Zachariah, 2008)

Se han descrito algunas propiedades para los extractos de *Curcuma longa*, entre las que se incluyen: actividad antibacteriana, antioxidante, antifúngica, antiinflamatoria y antiparasitaria, y recientemente se ha demostrado su capacidad para inhibir la integración del HIV. También se han demostrado efectos específicos en otros tejidos y órganos, como la piel, el sistema gastrointestinal y respiratorio y en el hígado. (Mesa, Ramirez-Tortosa, Aguilera, Ramirez-Boscá, & Gil, 2000) (Bele, Jadhav, Nikam, & Kadam, 2009).

#### **3.1.1.2.1 ACEITE ESENCIAL**

Industrialmente se puede obtener el aceite esencial de cúrcuma tanto de los rizomas como de sus hojas. Los rizomas contienen entre 5-6% de aceite esencial en base seca y las hojas entre un 1.0-1.5% de aceite en base seca. Generalmente, el aceite se extrae por destilación al vapor. El aroma peculiar del aceite de cúrcuma es impartido por la ar-tumerona la cual se encuentra mayoritariamente en el mismo. (Parthasarathy, Chempakam, & Zachariah, 2008)

El aceite esencial de los rizomas de *Curcuma longa*, contiene en más de su 50% compuestos del tipo sesquiterpeno oxigenados siendo sus dos principales componentes la tumerona y la  $\alpha$ -tumerona (Coy & Acosta, 2013), y, a las cuales se les atribuye sus propiedades antibacterianas y antifúngicas. (Mesa, Ramirez-Tortosa, Aguilera, Ramirez-Boscá, & Gil, 2000)

Existen diversos estudios en donde se indican la composición química del aceite esencial de *Curcuma longa*, en los mismos se observa que existen una apreciable variabilidad cualitativa y cuantitativa de la composición de sus componentes atribuidos por algunos aspectos externos que inciden directamente en el material vegetal, entre algunos de estos aspectos se puede citar: tipo de condiciones geobotánicas: clima, altitud, tipo de suelo, precipitaciones; método de cultivo; época de recolección; parte de la planta recolectada; tipo de almacenamiento y manejo del material vegetal (fresco, seco, tratamiento post-cosecha); método de obtención del aceite. (Sánchez, y otros, 2011)

Entre los estudios sobre la composición del aceite esencial de cúrcuma se puede citar los siguientes:

1. Aceite esencial del rizoma de cúrcuma fresca de la Polinesia Francesa muestra 20 componentes, entre los compuestos mayoritarios están zingibereno (16,7%), ar-tumerona (15,5%) y  $\alpha$ -felandreno (10,6%). (Vabirua-Lechat, Menut, Lamaty, & Bessiere, 1996)
2. Aceite esencial del rizoma de cúrcuma cultivado en Butan (país cercano a la India), muestra que sus componentes mayoritarios son ar-tumerona (16,7-25,7%),  $\alpha$ -tumerona (30,1-32,0%) y  $\beta$ -tumerona (14,7-18,4%). (Sharma, et al., 1997)
3. Aceite esencial del rizoma de cúrcuma de Bangladesh (país cercano a la India) se identificaron entre sus componentes mayoritarios a: ar-tumerona (27.78%), tumerona (17.16%) y curlone (13.82%). (Uddin Chowdhury, Chandra Nandi, Islam Bhuiyan, & Hosnay Mobarok, 2008)
4. Reporte de componentes del aceite esencial de cúrcuma en el estudio “Evaluation of Antioxidant Activities and Antimutagenicity of Turmeric Oil: A Byproduct from Curcumin Production” indican la composición del mismo en las siguientes

proporciones: ar-tumerona (31.32%), tumerona (15.08%) y curlone (9.7%). (Jayaprakasha, Jena, Negi, & Sakariah, 2002)

5. En el estudio denominado “Antifungal Activity of Turmeric Oil” se indican que los principales componentes del aceite esencial de cúrcuma son: ar-tumerona (21.4%), a-zingibereno (15%), farneseno (13.96%), ar- curcumeno (10.3%), tumerona (6.2%) y curlone (5.1%). (Jayaprakasha, Negi, Anandharamakrishnan, & Sakariah, 2001)

### **3.1.1.2.1.1 ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA Y ANTIFÚNGICA**

Desde 1974, a través del estudio de Lutomski se conoce la actividad antibacteriana *in vitro* del extracto alcohólico de cúrcuma, de la curcumina y de su aceite esencial. En 1978, Banerjee y Nigam demostraron su actividad antifúngica. A-pisariyakal et al., en 1995, también observaron las propiedades antifúngicas del uso tópico del aceite de cúrcuma, en un experimento realizado en cobayas, y en condiciones *in vitro* sobre varios aislados patológicos (Mesa, Ramirez-Tortosa, Aguilera, Ramirez-Boscá, & Gil, 2000).

Varios son los estudios que se han realizado para demostrar la actividad antibacteriana del esencial de *Curcuma longa*, demostrándose ser efectivo frente a bacterias gram positivas como: *S.aureus*, *E. faecalis*, *B. subtilis* tal como se reporta en los estudios de Rambir, Rames, Mridula, & Pratibha, 2002; Coy & Acosta, 2013, y, Shagufta *et al*, 2010 respectivamente; y, de igual manera presenta actividad frente a bacterias gram negativas como son: *E.coli*, *P. mirabilis* y *P. aeruginosa*, como se reporta en los estudios de Singh y Jain, 2011, y Rambir, Rames, Mridula, & Pratibha, 2002 respectivamente.

También existen estudios en donde se demuestra la actividad antifúngica, frente a levaduras como *C. albicans*, y hongos como *A. brasiliensis*, tal cual se ha reportado en el estudio de Singh R y Jain D, 2011.

De acuerdo a la revisión bibliográfica realizada, el aceite esencial de *Curcuma longa* presenta actividad antibacteriana y antifúngica para *E.coli*, *P.aeruginosa*, *S.aureus*, *C.albicans* y *A.brasiliensis* a partir de los 2000 µg/ml (2%) tal como lo indican los estudios de: Singh y Jain, 2011, y, Rambir, Rames, Mridula, & Pratibha, 2002.

### 3.1.2 FORMAS COSMÉTICAS

Los productos cosméticos en los últimos años han sido objeto de un desarrollo continuo e importante, avanzando tanto en ciencia como en tecnología en función de los requerimientos que demanda el mercado. En la formulación de un cosmético, están asociados varios ingredientes químicamente muy diferentes entre ellos que se combinan en ciertas proporciones para cumplir con una función específica en el producto terminado y de ésta manera contribuyen a obtener un producto según las características para las que fue diseñado y que satisfaga las necesidades del consumidor. La forma física del producto afecta también el uso final del cosmético y ha sido diseñado para facilitar su aplicación, absorción y por lo tanto lograr una mejor eficiencia del mismo en el consumidor.

Hoy en día el número de formas físico-químicas de los productos cosméticos es variado y pueden ser divididos desde el punto de vista de su consistencia, hidrofiliación o teniendo en cuenta el número de fases que sin duda es el criterio más conocido. (Aa. Vv., 2007).

En la siguiente tabla se indican las principales formas cosméticas según su número de fases:

**TABLA 4. CLASIFICACIÓN DE LAS FORMAS COSMÉTICAS POR SU HIDROFILICIDAD**

Sistema/Fase	Aspecto	Forma cosmética	Ejemplo de producto cosmético
Monofásico	líquido	Soluciones	Lociones, perfumes, splash,
Monofásico	sólido coloidal	Geles	Geles capilares, adelgazantes.
Bifásico	líquido fluido	Suspensiones	Leche corporal.
Bifásico/Polifásico	líquido semi-viscoso a viscoso	Emulsiones	Cremas corporales, faciales.
Monofásico	sólido	Polvos	Maquillaje
Polifásico	Semi-sólido	Pastas	Pasta dental, mascarillas.
Monofásico/Bifásico	líquido/gas	Presurizada	Aerosoles: laca capilar,

			deocolonias.
--	--	--	--------------

**Elaborado por:** la autora

**Fuente:** (Aa. Vv., 2007)

**Soluciones:** Son sistemas homogéneos, monofásicos, líquidos, que resultan por dispersión de uno o más componentes en otro, llamándose al o los primeros soluto/s y al último solvente, para lo cual se requiere de una cierta afinidad entre ellos. Las soluciones cosméticas suelen ser: acuosas a base de agua, hidroalcohólicas a base de alcohol y oleosas a base de aceites, esteres grasos o hidrocarburos.

**Geles:** Son soluciones monofásicas sólidas que se distinguen de los sólidos y de los líquidos por su permanente rigidez elástica y su alto contenido de líquidos, hidrófilos o lipófilos, que les confiere un carácter blando, fácilmente deformable, pero que no se derraman y generalmente transparentes.

**Suspensiones:** Son sistemas heterogéneos, bifásicos, en los que una fase monofásica líquida o semilíquida, externa, dispersa una fase interna, sólida, insoluble, cuyo reducido tamaño de partículas condiciona la eficacia cosmética.

**Emulsiones:** Son sistemas heterogéneos bifásico o polifásicos, en la cual dos o más líquidos inmiscibles entre sí, se dispersa uno en el otro en forma de pequeñas gotas. A éste grupo cosmético, pertenecen las cremas las cuales se describirán más adelante.

**Polvos:** Son los sólidos, orgánicos o inorgánicos, reducidos a partículas minúsculas. Cuando los polvos se someten a presión pueden hacerse compactos, permitiendo una estructura permanente que facilita la utilización en localizaciones precisas y en cantidades determinadas. (Olmos, 2002).

**Pastas:** Son formas semisólidas, polifásicas, de aspecto consistente. Contienen una gran proporción de alrededor del 30 al 40% de sustancias pulverulentas absorbentes dispersadas en vehículos lipófilos o hidrófilos. (Viscasillas & A. del Pozo, 2007)

### **3.1.3 EMULSIONES**

#### **3.1.3.1 DEFINICIÓN**

Son sistemas heterogéneos de dos (simples) o más fases líquidas (múltiples) las cuales son inmiscibles entre sí y se dispersa uno en el otro en forma de pequeñas gotas que se oponen y se rechazan entre sí, sin mezclarse en reposo, separándose por una intercapa lo más pequeña posible. Están formadas por una fase dispersa o también llamada interna o discontinua, y, por una fase dispersante o también conocida como externa o continúa a aquella que se encuentra alrededor de las gotas de la fase interna, dispersa o discontinua. Se habla generalmente de una fase grasa u oleosa y de una fase acuosa para designar a la fase externa.

Son termodinámicamente inestables y necesitan de un aporte importante de energía para obtenerlas, generalmente el tipo de energía que se utiliza es la mecánica. Para aumentar la estabilidad de las emulsiones, se precisa rebajar la tensión interfacial entre las fases mediante el uso de **emulsificantes o tensoactivos**, que tienen afinidad para todas las fases, éstos se disponen en la interfase y adaptan sus propiedades según sus afinidades. (Olmos, 2002), (Wilkinson & Moore, 1990)

#### **3.1.3.2 TIPOS DE EMULSIONES**

Las emulsiones pueden ser de los siguientes tipos:

##### **3.1.3.2.1 Emulsiones Simples**

Se las denominan así porque están formadas por una fase acuosa y otra oleosa, y, se subclasifican a su vez de acuerdo con el componente que forma la fase dispersante:

##### **Emulsiones aceite en agua**

Son aquellas en las que la fase externa está constituida por el agua o por componentes hidrosolubles y se encuentran en forma de gotas rodeadas por la fase oleosa. Se las denomina también como O/W por sus siglas en inglés como oil in water.

En éste tipo de emulsiones, cuando el contenido de la fase grasa oscila entre el 8 al 20% y el o los emulgentes están alrededor del 3 al 5%, se obtiene una emulsión fluida a la cual se la conoce con el nombre de leches o lociones en la cual la viscosidad es baja y fluctúa entre los 1500 a 3000 cPs. Por otro lado, cuando el contenido de la fase grasa varía entre el 15 al 30% y el o los emulgentes están alrededor del 5%, la emulsión es del tipo consistente a la cual se la denomina crema, en la cual su viscosidad fluctúa entre los 10 000 a 30 000 cPs. (Martini, 2005), (Aa. Vv., 2007).

En la siguiente tabla se puede apreciar lo anteriormente indicando como composición global para emulsiones del tipo aceite/agua (O/W):

**TABLA 5. COMPOSICIÓN GLOBAL PARA EMULSIONES DEL TIPO ACEITE/AGUA (O/W)**

<b>Emulsiones fluidas (Leches)</b>	
Fase grasa	8 - 20 %
Emulgente (s)	3 - 5 %
Fase acuosa	75 - 89%
<b>Emulsiones consistentes (cremas)</b>	
Fase grasa	15 - 30 %
Emulgente (s)	5%
Fase acuosa	65 - 80%

**Fuente:** (Martini, 2005)

**Elaborado por:** la autora

### **Emulsiones agua en aceite**

En este tipo de emulsión, el agua y componentes hidrosolubles son dispersados y los componentes oleosos son la fase externa o continua. Se las denomina también como W/O por sus siglas en inglés como water in oil (W/O).

En éste tipo de emulsiones, cuando el contenido de la fase grasa oscila entre el 30 al 40% y el o los emulgentes están alrededor del 8 al 10%, se obtiene una emulsión a la cual se la conoce con el nombre de crema fluida en la cual la viscosidad fluctúa entre los 3000 a 5000 cPs. Por otro lado, cuando el contenido de la fase grasa varía entre el 25 al 30% y el o los emulgentes están alrededor del 8 al 10%, se obtiene una emulsión a la cual se la conoce

con el nombre de crema grasosa, en la cual su viscosidad fluctúa entre los 25 000 a 50 000 cPs. (Martini, 2005), (Aa. Vv., 2007).

En la siguiente tabla se puede apreciar lo anteriormente indicando como composición global para emulsiones del tipo agua/aceite (W/O):

**Tabla 6. COMPOSICIÓN GLOBAL PARA EMULSIONES DEL TIPO AGUA/ACEITE (W/O)**

<b>Emulsiones fluidas (crema fluida)</b>	
Fase grasa	30 - 40 %
Emulgente (s)	8 - 10 %
Fase acuosa	50 - 62%
<b>Emulsiones consistentes (cremas grasosas)</b>	
Fase grasa	25 - 30 %
Emulgente (s)	8 - 10%
Fase acuosa	60 - 67%

**Fuente:** (Martini, 2005)

**Elaborado por:** la autora

### 3.1.3.2.1 Emulsiones Múltiples

Una emulsión simple W/O dispersada en una fase acuosa da una emulsión múltiple W/O/W y una O/W dispersada en una fase oleosa da una O/W/O. El interés en este tipo de emulsión reside en su capacidad de encapsular, esto es, de proteger ingredientes activos sensibles, y para formular productos con liberación prolongada. Estas emulsiones proporcionan hidratación prolongada. (Olmos, 2002), (Hamilton dos Santos, 2010)

### 3.1.3.3 COMPONENTES DE LAS EMULSIONES

Como se indicó, las emulsiones son sistemas inestables, ya que se trata de dispersiones de ingredientes físicamente incompatibles entre sí. Por lo tanto, las emulsiones cosméticas deben ser formuladas para permanecer estables durante el tiempo de vida útil del producto.

Los ingredientes básicos que componen una emulsión son:

- Ingredientes de la fase oleosa



- Ingredientes de la fase acuosa
- Emulsificante/s

A continuación se describe cada una de ellas:

#### **3.1.3.3.1 Fase oleosa**

Formada por ingredientes no polares, generalmente no es compatible con el agua. En esta clase de ingredientes están las materias primas grasas, aceites y ceras, y todos sus derivados, incluyendo el alcohol y los ácidos grasos, los esterés, los hidrocarburos, los glicéridos y las siliconas. Se elige sus componentes tomando en cuenta los siguientes criterios:

- Cualitativos: la elección está condicionada por la viscosidad que se desea en el producto final, por las características de extensión y penetración cutánea deseada.
- Cuantitativos: el porcentaje de los componentes grasos estará también condicionada para la viscosidad que se requiera en el producto final y por el carácter graso que se desee. (Hamilton dos Santos, 2010), (Martini, 2005)

#### **3.1.3.3.2 Fase acuosa**

Es la parte de la emulsión constituida por el agua y por los demás materiales hidrofílicos del sistema. Puede ser formada por ingredientes humectantes, como la glicerina o el propilenglicol; los polímeros hidrosolubles, que aumentan la viscosidad o proporcionan acondicionamiento; y preservantes, colorantes, o ingredientes activos como: extractos botánicos o proteínas hidrolizadas.

#### **3.1.3.3.3 Emulsificantes**

Están presentes en las emulsiones para aumentar la estabilidad de las mismas y reducen la tensión interfacial entre las fases acuosa y oleosa. Químicamente pertenecen al grupo de los tensoactivos pero éstos al tener propiedades emulsionantes se los conoce como emulsificantes, los cuales son fundamentales para la formulación de las emulsiones. Permiten, aisladamente o en mezclas, obtener la dispersión homogénea y estable de aceites

o sustancias grasas en agua, y viceversa, formando las emulsiones O/W o W/O, respectivamente. Existe una disponibilidad muy variada en el mercado cosmético y su elección es compleja.

El emulsificante es el componente que condiciona el sentido de la emulsión. Se elegirá en función del tipo de emulsión que se desee obtener, teniendo en cuenta que el emulsificante debe ser soluble en la fase externa. Tienen estructura anfifílica, esto es, tienen en la misma molécula una parte polar, soluble en agua (hidrofílica), y una parte no polar, insoluble en agua (hidrofóbica).

Los emulsificantes más utilizados son:

- **Emulsificantes no iónicos:** se han utilizado durante mucho tiempo en asociación de emulsificantes lipófilos y emulsificantes hidrofílicos.
- **Emulsificantes iónicos:** su carácter está determinado por la naturaleza del radical hidrófobo, y, pueden ser:
  - Aniónico: cuando el radical hidrófobo es un anión.
  - Cationico: cuando es un catión.
  - Anfotérico: cuando se comportan como aniónico o cationico en función del pH de la solución. (Hamilton dos Santos, 2010), (Wilkinson & Moore, 1990)

#### **3.1.3.4 ESTABILIDAD DE LAS EMULSIONES**

Como se indicó anteriormente, las emulsiones son sistemas inestables. La preservación del sistema emulsionante y de las características físico-químicas, son los factores que garantizan la estabilidad temporaria y prolonga la vida de las emulsiones.

La temperatura elevada de almacenaje es un factor de desestabilización, mientras las temperaturas bajas retardan la desestabilización. Las contaminaciones microbiológicas y las reacciones químicas indeseadas pueden acelerar la inestabilidad.

Cuando ocurre la desestabilización de las emulsiones, sus características químicas y físicas pueden variar. Diferentes métodos pueden ser utilizados para determinar estas consecuencias, sin embargo, los más sencillos son la observación visual directa, la medida del pH y la medida de la viscosidad.

Las principales alteraciones que pueden sufrir las emulsiones están relacionadas a sus características físicas, tales como:

- **Cremado:** se produce cuando las partículas de menor densidad tienden a subir hacia la superficie de la emulsión. El resultado es un sistema de dos porciones, una con mayor concentración de la fase interna y otra con mayor concentración de la fase externa. Es un fenómeno reversible por medio de simple agitación.
- **Sedimentación:** es un fenómeno semejante al del cremado, pero, se diferencia ya que se produce la unión de las partículas más pesadas las mismas que se depositan en el fondo de la emulsión. Igualmente es un fenómeno reversible por medio de simple agitación.
- **Floculación:** ocurre debido al desbalanceamiento de la carga eléctrica en las micelas, lo que reduce la fuerza repulsiva entre las mismas. Las gotas de la fase interna se asocian entre sí de forma reversible y con fuerza de baja intensidad. De igual manera es un fenómeno reversible por medio de simple agitación.
- **Coalescencia:** es un fenómeno en donde las partículas de la fase interna se combinan y forman partículas mayores. Si un número muy grande de partículas se unen, el resultado será la separación completa de las dos fases. El fenómeno representa un problema de estabilidad de la emulsión, con la consecuencia de ser irreversible. Se puede recuperar el producto con la adición de un nuevo emulsificante para formar la emulsión original. (Hamilton dos Santos, 2010)

### 3.1.3.5 CREMAS COSMÉTICAS

Es el tipo de formulación que se ha escogido para realizar la investigación propuesta y corresponde a la forma cosmética de las emulsiones. Se justifica la elección de ésta forma cosmética por dos razones: a). Tiene amplia participación en el mercado cosmético, sobre

todo en el mercado Europeo en donde ocupa el primer puesto representando la quinta parte de éste (Lopez, 2013), y, b). Debido a que es un producto susceptible de contaminarse ya que posee una actividad acuosa ( $a_w$ ) de 0.86. (Steinberg, 2011).

En el contexto del ámbito cosmético, el término “crema” hace relación a la forma cosmética de las emulsiones del tipo sólidas o semisólidas y su término también está ligado por la descripción de su textura o apariencia “cremosa”. (Wilkinson & Moore, 1990)

Existe una disponibilidad bastante amplia de materias primas disponibles para la formulación de una crema que no es posible enumerar a todas, además constantemente los fabricantes de las mismas están ofreciendo a la industria cosmética nuevas moléculas. Por lo tanto dependerá del concepto que se quiera dar al producto final para que el formulador cosmético seleccione las materias primas adecuadas en la formulación de la misma. Resulta complejo poder establecer un único parámetro sobre el cual realizar una clasificación de las cremas, por lo que ha resultado útil clasificarlas tomando en cuenta tres características: su funcionalidad, sus características físico-químicas y la subjetividad. (Wilkinson & Moore, 1990).

En el siguiente cuadro se indica la clasificación de las cremas tomando en cuenta estas tres características:

**TABLA 7. CLASIFICACIÓN DE CREMAS COSMÉTICAS SEGÚN FUNCIONALIDAD, CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS Y SUBJETIVIDAD**

<b>FUNCIONALIDAD</b>	<b>CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS</b>	<b>SUBJETIVIDAD</b>
Crema limpiadoras	Contenido oleoso de medio a elevado	Sensación Oleosa
<i>Cold-cream</i>	Tanto del tipo aceite-agua como agua-aceite	Difícil de absorber por frotamiento.
Crema de masaje	Fase oleosa de baja temperatura de deslizamiento	Espesa
Crema de noche	pH neutro, pueden contener tensoactivos que mejoren la penetración y suspensión de los ingredientes.	ligeras y fluidas

Cremas hidratantes	Bajo contenido en aceite Usualmente son del tipo aceite-agua. Pueden contener emolientes y componentes hidratantes especiales	Fáciles de extender y se absorben rápidamente por frotamiento.
Cremas evanescentes	Fase oleosa de baja temperatura de deslizamiento. Neutras a pH ligeramente ácido. Pueden contener emolientes y componentes hidratantes especiales.	Tanto como cremas semi-sólidas y fluidas.
Cremas protectoras de manos y cuerpo	Contenido oleosa de bajo a medio. Usualmente son del tipo aceite-agua pH ligeramente alcalino a ácido. Contienen factores de protección especialmente siliconas y lanolina.	Fáciles de extender pero no se absorben tan fácilmente por frotamiento.
Cremas de todo uso	Contenido oleoso medio. Tanto del tipo aceite-agua como agua-aceite	Ligeramente oleosas y fáciles de extender en la piel.

Fuente: (Wilkinson & Moore, 1990)

**Elaborado por:** la autora

En la actualidad existen una gran cantidad de ingredientes o materias primas que pueden ser incorporadas dentro de la formulación de una crema. En la siguiente tabla se resumen los componentes que se podrían incorporar en una formulación de una crema cosmética:

**Tabla 8. INGREDIENTES PARA LA FORMULACIÓN DE UNA CREMA COSMÉTICA.**

	<b>COMPONENTES</b>	<b>EJEMPLO</b>
<b>Fase grasa</b>	Hidrocarburos	Aceite de parafina
	Siliconas	Dimeticona, Ciclotmeticona
	Triglicéridos	Aceites vegetales, aceites animales, mantecas.
	Ceras	Carnauba, cera de abeja.
	Derivados de la lanolina	Lanolina líquida, alcoholes de lanolina, ácidos de lanolina.
	Ácidos grasos y alcoholes grasos	Acido esteárico, ácido palmítico, alcohol cetílico, estearílico.
	Esteres grasos sintéticos	Isopropil miristato, isopropil palmitato.
<b>Fase acuosa</b>	Agua	
	Humectantes	Glicerina, propilenglicol.
	Espesantes y gelificantes	polisacáridos, polímeros acrílicos, polietilenglicoles
<b>Emulsificantes</b>	Iónicos	Aniónicos, Catiónicos, Anfóteros

	No iónicos	lipófilos e hidrófilos
<b>Aditivos</b>	Conservantes	
	Antioxidantes	BHT, Tocoferol.
	Colorantes	
	Perfumes	
	Activos	

**Fuente:** (Wilkinson & Moore, 1990)

**Elaborado por:** la autora

## 3.2 METODOLOGÍA

### 3.2.1 ACEITE ESENCIAL DE *Curcuma longa*

El aceite esencial de rizomas de *Curcuma longa*, fue adquirido en la Fundación Chankuap' Recursos para el Futuro, ubicada en la Provincia de Morona Santiago, Cantón Macas, debido a que éste es un aceite orgánico que cuenta con certificación, debe ser extraído en las instalaciones de la Fundación para el correcto cumplimiento de la normativa orgánica garantizando la trazabilidad del mismo. Además, el material vegetal es proveniente de comunidades amazónicas shuar, cuyos terrenos en donde se cultiva la cúrcuma, también se encuentran certificados orgánicamente.

#### 3.2.1.1 CONTROL DE CALIDAD DEL ACEITE ESENCIAL DE *Curcuma longa*.

A fin de validar la pureza del aceite esencial adquirido, se realizarán los siguientes ensayos recomendados por la Farmacopea Española 2002, y, que serán comparados con los parámetros disponibles en la ficha técnica entregados por el fabricante (Anexo 1):

**TABLA 9. ANÁLISIS DE CALIDAD ORGANOLÉPTICOS Y FÍSICO-QUÍMICOS PARA EL ACEITE ESENCIAL DE *Curcuma longa***

<b>Características Organolépticas</b>	<b>PARÁMETROS</b>
	· Olor
	· Apariencia
<b>Determinaciones Físico-químicas</b>	· Color
	<b>PARÁMETROS</b>
	· Densidad
<b>Características Cromatográficas</b>	· Índice de refracción
	Perfil cromatográfico

### **3.2.1.1.1 CARACTERÍSTICAS ORGANOLÉPTICAS**

Para determinar las características de: color, olor y apariencia, se realizan pruebas del tipo sensorial, en las que se utiliza los órganos de los sentidos como la vista para determinar el color y la apariencia y el sentido del olfato para el olor.

#### **Procedimiento:**

Se tomó una alícuota de 1 ml y se colocó en vial transparente de 4 ml de capacidad, para determinar el análisis sensorial.

### **3.2.1.1.2 DENSIDAD RELATIVA**

La densidad relativa  $d_{25}$  de una sustancia es la relación entre la masa de un determinado volumen de la sustancia a 25 °C y la masa de un volumen igual de agua a la misma temperatura.

La determinación está basada en la metodología definida por la Farmacopea Española para aceites esenciales.

#### **EQUIPO UTILIZADO**

- Picnómetro tipo Gay-Lussac marca LMC Germany, con capacidad de 25 cm<sup>3</sup>.
- Baño maría marca Shel Lab, modelo W14M-2, con regulador de temperatura, ajustado a  $25 \pm 0,2$  °C.
- Termómetro, con divisiones de 0,1° o 0,2 °C.
- Balanza analítica marca Mettler Toledo modelo ML204/01.

#### **PROCEDIMIENTO**

##### **A. CALIBRACIÓN DEL PICNÓMETRO**

- Lavar el picnómetro y llenarlo completamente con agua destilada hervida y enfriada hasta 20°C, y tapanlo cuidadosamente evitando la inclusión de burbujas de aire. A continuación, sumergirlo en el baño de agua a  $25^{\circ} \pm 0,2^{\circ}\text{C}$  y mantenerlo inmerso durante 30 min.
- Remover cuidadosamente cualquier porción de agua que haya exudado el capilar; sacar el picnómetro del baño y secarlo con algún papel absorbente adecuado (si el capilar tiene cubierta, se la coloca después de esta operación). Enfriarlo a temperatura ambiente durante 30 min y pesarlo con aproximación a 0,1 mg; registrar el resultado como **m1**.
- Vaciar el picnómetro y enjuagarlo varias veces con alcohol etílico y luego con éter etílico; dejarlo secar completamente y, junto con todas sus partes, pesarlo con aproximación a 0,1 mg; registrar el resultado como **m**.

## B. DETERMINACIÓN DE LA DENSIDAD

- Llenar completamente el picnómetro (limpio y seco) con la muestra preparada, tapanlo cuidadosamente evitando la inclusión de burbujas de aire. A continuación, sumergirlo en el baño maría a  $25^{\circ} \pm 0,2^{\circ}\text{C}$  y mantenerlo inmerso durante 30 min.
- Remover cuidadosamente cualquier porción de agua que haya exudado el capilar; sacar el picnómetro del baño y secarlo con papel absorbente adecuado (si el capilar tiene cubierta, se la coloca después de esta operación). Enfriarlo a temperatura ambiente durante 30 min y pesarlo con aproximación a 0,1 mg; registrar el resultado como **m2**.

## C. CÁLCULOS

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

### Ecuación 1. Determinación de la densidad relativa

$$d_{25} = \frac{m_2 - m}{m_1 - m}$$

Siendo:

$d_{25}$  = densidad relativa a 25°C.

m = masa del picnómetro vacío, en g.



$m_1$  = masa del picnómetro con agua destilada, en g.

$m_2$  = masa del picnómetro con muestra, en g.

### **3.2.1.1.3 ÍNDICE DE REFRACCIÓN**

El índice de refracción de un aceite esencial es la relación del seno de ángulo de incidencia al seno del ángulo de refracción de un rayo luminoso de longitud de onda determinada, que pasa del aire al aceite esencial mantenido a una temperatura constante (Norma Técnica Nacional de Perú, 1974).

### **EQUIPOS UTILIZADOS**

- Refractómetro Abbé ATAGO modelo NAR-1T
- Termómetro digital adaptado al refractómetro.

### **PROCEDIMIENTO**

- Realizar la calibración con agua destilada para esto se coloca en el prisma de medición una gota de agua destilada con gotero a 25 °C, previamente calentada mediante baño de agua.
- Limpiar los prismas con papel absorbente humedecido con etanol, dejar secar.
- Colocar la muestra 2 o 3 gotas de aceite esencial de cúrcuma a 25 °C con un gotero sin tocar los prismas.
- Observar el ocular y mover el botón de dispersión hasta que aparezca una parte sombreada y una iluminada.
- Realizar tres lecturas que no difirieran en más de 0,002.
- Anotar los resultados obtenidos.
- Reportar la media de las lecturas.

### **3.2.1.4 CARACTERIZACIÓN QUÍMICA DEL ACEITE ESENCIAL DE CÚRCUMA (*Curcuma longa*).**

La metodología que se utilizó en la presente investigación para la caracterización del aceite de cúrcuma, es la cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC-MS), las cuales son técnicas que constituyen una herramienta potente para separar, identificar y cuantificar los componentes volátiles y semivolátiles de mezclas complejas, en este caso del aceite esencial de cúrcuma. En GC-MS se utilizan como criterios de identificación la información de los tiempos e índices de retención junto con la información estructural obtenidos a partir de los espectros de masas de los analitos que eluyen de la columna cromatográfica e ingresan al sistema de detección (espectrómetro de masas). Es útil en el control de calidad de aceites esenciales, ya que permite conocer la composición química del mismo, la cual está influenciada por: tipo de condiciones geobotánicas: clima, altitud, tipo de suelo, precipitaciones; método de cultivo; época de recolección; parte de la planta recolectada; tipo de almacenamiento y manejo del material vegetal (fresco, seco, tratamiento post-cosecha); método de obtención del aceite. (Sánchez, y otros, 2011).

#### EQUIPO

- GC-MS, Marca Varian, modelo 3900, serie 100568

**TABLA 10. PARÁMETROS DEL GC-MS, MARCA VARIAN, PARA CARACTERIZACIÓN QUÍMICA ACEITE ESENCIAL DE CURCUMA (*Curcuma longa*)**

<b>Parámetros del Equipo GC/MS</b>	
Flujo de gas Helio	1 m x min
Pureza del Gas Helio	99,999%
Temperatura del inyector	280°C
Relación de Split Ratio	1:50
Columna Capilar	factor four VF-5ms poly-5% phenyl-95%-dimethyl-siloxane. (i.d., 0.25 mm; largo, 30 m; film, 0.15 lm).
Temperatura Inicial	55°C
Programación de Temperatura del Horno	55° C – 100° C Rate 1 °C x min  100° C – 250° C Rate 5° C x min

Colum flow (ml/min)	1
Energía de Ionización	70 Ev
Corriente de emisión	10 $\mu$ A
Rango de masa	35-400 m/z
Tiempo de espera a 250 °C	45 minutos
Tiempo total de análisis	90 minutos

**Elaborado por: la autora**

## PROCEDIMIENTO

- Tomar 10  $\mu$ l de aceite esencial de cúrcuma (*Curcuma longa*)
- Diluir en 1 ml de diclorometano
- Inyectar 2  $\mu$ l de la muestra en el equipo GC-MS, Marca Varian, modelo 3900, serie 100568, bajo las condiciones especificadas, en la Tabla N° 8.
- Leer el cromatograma a los 90 minutos, para la respectiva interpretación. (Adams, 2009).

### 3.2.2 ELABORACIÓN DE LA FÓRMULA COSMÉTICA DE ESTUDIO.

La forma cosmética que se ha escogido para realizar la investigación es una emulsión en crema del tipo aceite en agua (O/W). Por sus características de formulación es hidratante para ser aplicada sobre manos y cuerpo. Se justifica la elección de ésta forma cosmética por dos razones principales: la primera debido a que su participación en el mercado es una de las mayores, sobre todo en el mercado Europeo en donde ocupa el primer puesto representando la quinta parte de éste (López, 2013), y, la segunda debido a que es un producto susceptible de contaminarse ya que posee una actividad acuosa ( $a_w$ ) de 0.86 (Steinberg, 2011).

#### 3.2.2.1 SELECCIÓN DE LOS INGREDIENTES DE LA FORMULACIÓN

Los componentes que se seleccionan para la formulación objeto de estudio deben cumplir con lo exigido en la norma Ecocert para Cosméticos Naturales y Orgánicos tal cual se ha explicado en los puntos 2.2.2.1 y 2.2.2.2.

Con el objetivo de evaluar la eficacia del aceite esencial de *Curcuma longa* como conservante, se considera una formulación básica para una crema del tipo emulsión O/W,

la cual debe tener como composición global: ingredientes de la fase oleosa, ingredientes para la fase acuosa, emulgente/s y aditivo/s de ser el caso que aplique.

Se plantean 5 formulaciones, en las que varía exclusivamente el ingrediente conservante, así: una primera formulación con mezcla de aceites esenciales con comprobada acción conservante (blanco positivo), las tres siguientes formulaciones utilizando el aceite esencial de *Curcuma longa* a tres diferentes concentraciones y la quinta formulación sin conservante (blanco negativo).

La formulación básica que se plantea para el estudio, se indica en la siguiente tabla:

**TABLA 11. FÓRMULA GENERAL DE CREMA NATURAL Y ORGÁNICA, TIPO EMULSIÓN O/W PARA VALIDACIÓN DEL PODER CONSERVANTE DEL ACEITE ESENCIAL DE CURCUMA LONGA.**

INGREDIENTES INCI	FUNCIÓN/ COMPONENTE	Porcentaje
<b>FASE GRASA</b>		
<i>Theobroma cacao</i> seed butter.	Emoliente/ Triglicérido-Manteca Vegetal	12,0 %
Caprylic-Capric triglycerides	Emoliente/ Triglicérido	3,00 %
<b>EMULSIFICANTE</b>		
Cetearyl alcohol and Cetearyl glucoside	Emulsificante/ No iónico	3,00 %
Cetyl Alcohol	Emulsificante/ No iónico	2,00 %
<b>FASE ACUOSA</b>		
Xanthan Gum	Espesante, Controlador de viscosidad	0,10 %
Aqua	Solvente	c.s.p 100
<b>ADITIVOS</b>		
<b>Conservante</b>		<b>X1*</b>

**Elaborado por:** la autora.

**\*X1:** porcentaje de conservante a utilizar según aplique en la formulación a desarrollar.

La justificación del uso de los ingredientes que forman parte de la formulación de la crema objeto de estudio, se describen a continuación:

### **Ingredientes de la fase grasa**

- a) ***Theobroma cacao seed butter***, denominación INCI, nombre común: Manteca de cacao. Es obtenida por expresión en caliente de las semillas tostadas y peladas de *Theobroma cacao* L. Se la ha seleccionado como ingrediente de la formulación debido a que es un triglicérido que aporta emoliencia a la piel. La manteca de cacao utilizada en la formulación posee certificación orgánica y es de producción nacional (Ver anexo 2). En general las mantecas, dentro de una formulación cosmética de productos tópicos cutáneos, como es en éste caso, pueden ser utilizadas en un porcentaje que varíe entre el 2 al 20%. (Martini, 2005). El porcentaje de utilización determinado en la formulación planteada para el desarrollo de la crema natural y orgánica, es del 12%, valor que está dentro de lo referenciado bibliográficamente, además éste es un ingrediente vegetal que cuenta con certificación orgánica, y, de acuerdo a lo indicado en el punto 2.2.2.1, un cosmético natural y orgánico, debe tener como mínimo el 10% del total de los ingredientes procedentes de agricultura orgánica, que representan como mínimo el 95% de los ingredientes vegetales.
- b) **Caprylic-Capric triglycerides**, denominación INCI, nombre común: Triglicérido caprílico-cáprico de origen natural, conocido comercialmente como Crodamol GTCC. Es un éster mixto de triglicéridos de cadena media que consta principalmente de ésteres provenientes de dos ácidos: cáprico y caprílico, derivados del aceite de coco. Es utilizado como emoliente lipofílico de baja viscosidad, tiene una emoliencia especialmente buena, que lo convierte en alternativa a los aceites minerales y vegetales. Al igual que todos los triglicéridos de cadena media, es muy compatible con la piel, dota a ésta de lubricidad y otorga una sensación emoliente no grasosa. El uso según ficha técnica del fabricante es en concentración del 2 al 15% (Ver anexo 3). El porcentaje de utilización determinado en la formulación planteada para el desarrollo de la crema natural y orgánica, es del 3%, debido a que se encuentra dentro del rango sugerido.

## **Emulgentes**

- c) **Cetearyl alcohol and Cetearyl glucoside**, denominación INCI, nombre común: alcohol cetearílico y cetearil glucósido, comercialmente conocido como Montanov 68. Es un

emulgente glucolipídico de origen vegetal, libre de transgénicos. La glucosa se extrae de la yuca y la parte grasa del aceite de coco. Todo el proceso de fabricación está exento del uso de reactivos químicos y disolventes. Es un sólido blanco-amarillento, en forma de lentejas o escamas, y de olor característico. La originalidad de este producto radica en la sustitución del grupo etoxilado de los emulgentes no-iónicos tradicionales por un holósido. De esta forma la molécula presenta un grupo glucolipídico hidrofílico y los ácidos grasos del coco como grupos lipofílicos. Es muy estable a pH extremadamente ácidos y alcalinos, dado su enlace de tipo éter. Da un tacto muy suave a las emulsiones, y además se ha visto que previene la deshidratación de la epidermis. Tiene muy buena tolerancia cutánea. Es muy útil para formular con grasas difíciles de emulsificar y en proporciones elevadas, como aceites vegetales (jojoba, almendras dulces, soja, cacahuete) y aceites silicónicos (dimeticona, Ciclometicona), así como otras grasas (vaselina líquida, escualeno, ésteres grasos). Es ideal para emulsificar cremas solares, que suelen llevar aceites silicónicos. Además la consistencia de las fórmulas preparadas varía muy poco con la temperatura, ventaja adicional para este tipo de productos. El rango de uso recomendado por el fabricante es del 1 al 3% (ver anexo 4). El porcentaje de utilización determinado en la formulación planteada para el desarrollo de la crema natural y orgánica, es del 3%, debido a que se encuentra dentro del rango sugerido.

**d) Cetyl Alcohol**, denominación INCI, nombre común: Alcohol cetílico. Es un emulgente de origen natural, su naturaleza química pertenece a los alcoholes grasos de cadena larga saturada, los cuales son factores de consistencia para la fase grasa de las emulsiones, la concentración de utilización varía del 0.5 al 10%. (Martini, 2005). Se lo obtiene por hidrogenación catalítica de los triglicéridos del aceite de coco. Se presenta en forma de polvo, masa untuosa, copos o gránulos, blancos o casi blancos. Prácticamente insoluble en agua, fácilmente soluble o bastante soluble en etanol al 96%, fundido es miscible con aceites, parafina líquida o lanolina fundida. Punto de fusión: 45-52°. Se usa como constituyente de cremas y pomadas, especialmente en aquellas en las que se desea incorporar agua o una solución acuosa, teniendo la ventaja sobre la lanolina de no poseer olor desagradable. También se usa para aumentar la viscosidad de las cremas. El porcentaje de utilización determinado en la formulación planteada para el desarrollo de

la crema natural y orgánica, es del 2%, debido a que se encuentra dentro del rango sugerido.

### **Fase acuosa**

e) **Xanthan Gum**, denominación INCI, nombre común: Goma Xantana. La Goma Xantana es un polisacárido de origen natural de alto peso molecular. Es industrialmente producido por la fermentación de cultivos puros del microorganismo *Xantomonas campestris*, el cultivo de es rigurosamente controlado en sus diferentes etapas de fermentación, el caldo se esteriliza para prevenir la contaminación bacteriana, y la goma xanthan se recupera mediante precipitación con alcohol, secado y su posterior molienda hasta convertirla en polvo fino. Es fácilmente soluble en agua caliente o fría. Sus soluciones son neutras. Su función es la de actuar como coloide hidrofílico para espesar, suspender, y estabilizar emulsiones y otros sistemas basados en agua. Las propiedades de goma xanthan la hacen sumamente útil en las formulaciones en el área de alimentos, farmacéuticos y cosméticos, entre las que se encuentran: proporciona una alta viscosidad en solución a concentraciones bajas, viscosidad estable de las soluciones en amplios rangos de temperatura, Viscosidad de las soluciones no es afectado por el pH, resistente a degradación enzimática, los sistemas estabilizados con goma xanthan son muy estables a variaciones de agitación. Su dosificación varía del 0.1 al 1%, según ficha técnica del proveedor (ver anexo 5). El porcentaje de uso en la formulación planteada es del 0.1% ya que está dentro de la dosificación recomendada.

f) **Aqua**, denominación INCI, nombre común agua. El agua se considera un ingrediente mineral de origen natural. El agua debe considerarse no contaminada por agentes microbiológicos y fisicoquímicos y puede ser: agua potable (de conformidad con las normas vigentes), agua obtenida por ósmosis, agua destilada, agua de mar, agua de manantial. El agua obtenida debe ser de calidad definida. En general, para una emulsión del tipo aceite/agua O/W, el porcentaje de participación de la misma está en un rango del 65 al 89% dependiendo si la misma será de una consistencia fluida o consistente. (Martini, 2005). Por lo tanto el porcentaje de agua que se ocupará en la formulación estará dentro de los rangos indicados anteriormente.

## ADITIVOS

g) **Conservante:** la presencia de conservantes es indispensable en todas las preparaciones para aplicación tópica sobre todo las que contienen proporciones de agua. (Martini, 2005).

En la formulación del blanco positivo a desarrollar, se utilizará un conservante de comprobada acción, a base de una mezcla de aceites, el cual se indica a continuación:

- *Citrus aurantium*, *Cymbopogon citratus*, *Sesamum indicum*, denominación INCI, nombres comunes: aceite de naranja, aceite de hierba luisa y aceite de sésamo. Es un preservante natural, conocido comercialmente como Salinatural OLG, que cuenta con certificación orgánica. Es un conservante natural utilizado para productos de cuidado e higiene personal, como una alternativa a los conservantes sintéticos. Es efectivo frente a bacterias gram positivas, gram negativas, mohos y levaduras. La recomendación de uso del mismo según recomendación del fabricante es del 1 al 2 % (ver anexo 6). Proporciona excelente protección a pH 6 y puede también ser utilizado ampliamente en rangos de pH de 3 a 7. Puede ser añadido en cualquier fase del proceso de manufactura y tolera temperaturas mayores a 50 °C. El porcentaje que se utilizará para ésta formulación será del 1%, ya que está dentro de los valores recomendados.

En las formulaciones para evaluar la eficacia conservante, se utiliza:

- *Curcuma longa root oil*, denominación INCI, nombre común: aceite esencial de *Cúrcuma longa*. Es un producto obtenido de los rizomas por medio de una destilación por arrastre de vapor. Se trata de un aceite esencial totalmente natural sin aditivos químicos, además está certificado orgánicamente. De acuerdo a lo indicado en el punto 3.1.1.2.1.1, según la revisión bibliográfica realizada, el aceite esencial de *Curcuma longa* presenta actividad antibacteriana y antifúngica a partir de los 2000 µg/ml (2%) frente a *E. coli*, *P. aeruginosa*, *S. aureus*, *C.albicans* y *A.brasiliensis* (Rambir, Rames, Mridula, & Pratibha, 2002) y (Singh R & Jain D, 2011), ésta concentración se



considera como base para establecer las tres concentraciones a ensayar, probándose así dos concentraciones por debajo del 2% y una sobre la misma; de ésta manera las tres concentraciones que se utilizarán de aceite esencial de *Curcuma longa*, son: 0,4%, 1,0% y 2,5%.

La justificación de utilizar al 0,4% de aceite esencial de *Curcuma longa*, obedece a un planteamiento en el cual resultaría su formulación rentable económicamente para la industria, aunque con muy pocas posibilidades de que sea eficaz como conservante para la formulación cosmética desarrollada, de acuerdo al análisis de costo de su formulación indicado en el anexo 7. La utilización del aceite esencial de *Curcuma longa* al 1.0%, también obedece a un planteamiento en el cual resultaría su formulación rentable económicamente para la industria, aunque con pocas posibilidades de que sea eficaz como conservante para la formulación cosmética desarrollada, de acuerdo al análisis de costo de su formulación indicado en el anexo 7. La utilización del aceite esencial de *Curcuma longa* al 2.5%, se justifica de acuerdo a la revisión bibliográfica realizada como se indicó anteriormente, por lo tanto a ésta concentración se tendrá la seguridad de que sea eficaz como conservante aunque se vea comprometida su factibilidad económica como se indica en el anexo 7, por esta razón no se ensayan concentraciones superiores del aceite esencial de cúrcuma, ya que afectarían directamente la factibilidad económica de la fórmula.

Las concentraciones indicadas anteriormente tienen un rango de variación de 2,5 veces entre cada una de ellas. Se escogieron estas concentraciones, además porque permiten que las formulaciones que se desarrollarán, conserven las características organolépticas del producto; concentraciones mayores al 3%, generan problemas organolépticos especialmente en lo que respecta a la apariencia del producto. (Miñana, M., & Goncalves, E., 2011).

### **3.2.2.2 MÉTODO DE FABRICACIÓN**

#### **PROCEDIMIENTO**

1. Pesar los ingredientes para la elaboración de la crema en la balanza semianalítica marca O-Haus Adventurer Pro modelo AV2101, conforme a la fórmula unitaria calculada para una cantidad de 750 gramos.
2. Pesar y colocar en un vaso de precipitación los ingredientes de la fase grasa y los emulgentes y calentarlos a 70 ° C en la plancha calefactora marca Thermo modelo SP 131015.
3. Pesar y colocar en otro vaso de precipitación los componentes de la fase acuosa, agitarlos hasta lograr la completa disolución de la Xanthan Gum y calentar a 70 ° C en la plancha calefactora marca Thermo modelo SP 131015. (Anexo 8 A-B)
4. Formación de la emulsión: Incorporar la fase grasa sobre la fase acuosa con agitación utilizando el Turboemulsor marca Silverson modelo L5 con una agitación entre 5000 a 8000 rpm por aproximadamente 3 minutos. (Anexo 8 C-D)
5. Suspender la agitación vigorosa para seguir con una agitación lenta entre 2500 a 3500 rpm durante 5 minutos más y finalmente apagar la agitación..
6. Iniciar el proceso de enfriamiento, hasta llegar a los 30<sup>0</sup> C, manteniendo una agitación lenta de manera manual.
7. Comprobar con el termómetro que se ha llegado a los 30 ° C para proceder con la adición del conservante de acuerdo a los porcentajes determinados para el estudio.
8. Homogenizar el preservante con la emulsión formada con agitación lenta durante 5 minutos más.
9. Dejar en reposo por 24 horas y realizar las pruebas de control de calidad del producto terminado.

### **3.2.3 CONTROL DE CALIDAD DE LA EMULSIÓN O/W TIPO CREMA**

Los parámetros a ser evaluados para éste tipo de producto están en función de las características y de los componentes utilizados en la formulación. Por ésta razón se evaluarán las siguientes características:

#### **3.2.3.1 CARACTERÍSTICAS ORGANOLÉPTICAS**

Proporcionan parámetros que permiten evaluar inmediatamente el estado en que se encuentra la muestra en estudio por medio de análisis comparativos, con el objetivo de verificar alteraciones como: separación de fases, precipitación y turbiedad permitiendo el reconocimiento primario del producto. Se debe utilizar una muestra de referencia, recientemente elaborada, o una muestra del producto, almacenada a temperatura adecuada, para evitar modificaciones en las propiedades organolépticas.

Los parámetros a analizar son:

- a) **Aspecto:** Se observa visualmente las características del producto terminado, las cuales deben cumplir de acuerdo a la forma cosmética desarrollada.
- b) **Color:** Se observa visualmente las características del producto terminado.
- c) **Olor:** Se utiliza el sentido del olfato para describir el olor de la misma.

### **3.2.3.2 CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS**

Las evaluaciones físico-químicas permiten detectar futuros problemas que pueden afectar la estabilidad y la calidad del producto.

Los parámetros a analizar son:

#### **3.2.3.2.1 DETERMINACIÓN DEL PH**

##### **PROCEDIMIENTO**

- a. Lavar el electrodo del Potenciómetro marca Mettler Toledo modelo Seven Multi con agua destilada y calibrar con soluciones estándar de pH 4 y pH 7.
- b. En un vaso de precipitación de 100 ml colocar el producto cosmético, e introducir el electrodo, cuidando que el electrodo no toque las paredes ni el fondo del recipiente. Efectuar la lectura de pH en forma inmediata.

- c. La determinación debe efectuarse por triplicado sobre la muestra convenientemente homogenizada.
- d. La diferencia entre los resultados no debe exceder de 0,1 unidades de pH; en caso contrario, debe repetirse la determinación.
- e. Como resultado final, debe reportarse la media aritmética de los resultados de la determinación.

### **3.2.3.2.2 DETERMINACIÓN DE LA VISCOSIDAD**

#### **PROCEDIMIENTO**

- a. La determinación se realiza utilizando el Viscosímetro marca Brookfield modelo LVDVE
- b. Determinar el número de rotor (aguja) a utilizarse en función de la naturaleza de la muestra a ensayarse.
- c. Colocar 250 ml de la muestra en un vaso de precipitación e introducir la aguja del viscosímetro en el mismo.
- d. Controlar con la perilla poligonal del equipo la velocidad de la aguja, en relación al porcentaje del torque, tratando de llegar al 100%, que corresponde al valor de la lectura de viscosidad de la muestra.

### **3.2.3.2.3 SEPARACIÓN DE FASES**

Se determina esta característica con la finalidad de evaluar la estabilidad de manera preliminar del producto desarrollado, mediante una observación visual del mismo luego de un proceso de centrifugación, en la cual se observa si el producto presenta alguna señal de separación o no. (ANVISA, 2005)

#### **PROCEDIMIENTO**

- a. Colocar en un tubo de ensayo, 10 ml de cada crema formulada.
- b. Centrifugar la muestra en la centrífuga marca Selecta, modelo Centro 8/7001356, a 3.500 rpm durante 15 minutos.
- c. Anotar los resultados obtenidos.

**INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS:** los resultados se reportarán como positivos o negativos.

El resultado será positivo cuando, luego del proceso de centrifugación se observe que el mismo presenta señal de separación entre su fase acuosa y oleosa.

El resultado será negativo cuando, luego del proceso de centrifugación no se observe señal de separación de las fases apreciándose el producto homogéneo.

### **3.2.4 ENSAYO PARA LA EVALUACIÓN DE LA EFICACIA DEL ACEITE ESENCIAL DE *Curcuma longa*.**

A fin de evaluar que un conservante es eficaz y que un producto cosmético será estable microbiológicamente durante su vida útil, se ha diseñado el denominado Test de Eficacia o Challenge Test. Éste ensayo por muchos años se llevó a cabo de acuerdo a la metodología indicada por las Farmacopeas.

En el 2012, el método ha sido modificado para que sea aplicado en cosméticos para lo cual se ha redactado un estándar internacional preparada por el Comité Técnico Cosmético de la Organización Internacional de Normalización (ISO, por sus siglas en inglés) , dando así origen al estándar internacional ISO 11930:2012: Evaluación de la conservación antimicrobiana en productos cosméticos.

El estándar internacional ISO 11930, es utilizado en la evaluación global de la protección antimicrobiana de un producto cosmético, que comprende:

- al conservante o sistema conservante utilizado,
- las características inherentes de la formulación,
- al diseño del envase, y,
- al proceso de fabricación.

### 3.2.4.1 OBJETIVOS DEL ESTÁNDAR INTERNACIONAL ISO 11930:2012.

- Comprobar la estabilidad microbiológica del producto cosmético (almacenamiento y uso) con el tiempo.
- Determinar la eficacia del conservante utilizado en una determinada formulación cosmética, contra el ataque microbiano provocado mediante la verificación de la disminución de los microorganismos inoculados dentro de un período determinado de tiempo.

### 3.2.4.2 PROCEDIMIENTO DEL ESTÁNDAR INTERNACIONAL ISO 11930:2012.

La prueba se lleva a cabo por la contaminación del producto con los microorganismos determinador por en el estándar internacional ISO 11930:2012, indicados en la tabla 12, todos estos microorganismos son certificados ATCC y poseen su respectivo certificado de análisis.

Posteriormente se evalúa la variación de la carga microbiana determinada mediante el método de “recuento en placa”, y se cuenta el número de organismos vivos después de los períodos de tiempo predeterminados.

**TABLA 12. MICROORGANISMOS ATCC ESTANDARIZADOS PARA REALIZACIÓN DEL CHALLENGE TEST DEL ESTÁNDAR INTERNACIONAL ISO 11930:2012**

<i>Staphylococcus aureus</i> (Bacteria Gram positiva) (Anexo 11)	ATCC	6538
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (Bacteria Gram negativa) (Anexo 10)	ATCC	9027
<i>Escherichia coli</i> (Bacteria Gram negativa) (Anexo 12)	ATCC	8739
<i>Candida albicans</i> (Levadura) (Anexo 13)	ATCC	10231
<i>Aspergillus brasiliensis</i> (Moho) (Anexo 14)	ATCC	16404

**Elaborado por:** la autora

La capacidad de la formulación cosmética de conservarse frente al ataque microbiano se verifica sobre la base de la observación de la reducción en el recuento del número total de organismos viables (para la prueba de cada cepa microbiana) dentro de un período de tiempo determinado, de acuerdo con los criterios de aceptabilidad indicados en el estándar internacional ISO 11930:2012.

El procedimiento de la prueba se puede resumir en:

- a) Preparación de microorganismos para el inóculo.
- b) Preparación de los inóculos de cada microorganismo.
- c) Inoculación de las muestras con los microorganismos.
- d) Comprobación de la supervivencia de microorganismos a intervalos predeterminados.
- e) Evaluación de los resultados

### 3.2.4.2.1 PREPARACIÓN DE LOS MICROORGANISMOS PARA EL INÓCULO.

#### 3.2.4.2.1.1 VIABILIZACIÓN DE LAS CEPAS ATCC

Para la activación de las cepas ATCC, se siguieron diferentes métodos de activación de acuerdo a la disponibilidad de las mismas, las cuales se indican en la siguiente tabla:

**TABLA 13. METODOLOGÍAS PARA ACTIVACIÓN DE CEPAS ATCC**

<b>Microorganismo</b>	<b>Cepa ATCC</b>	<b>Método de activación</b>	<b>Medio selectivo</b>
<i>Pseudoma aeruginosa</i>	9027	Microbiologics KWIK-STIK™.	TSA
<i>Staphylococcus aureus</i>	6538	CryoBank™	TSA
<i>Escherichia coli</i>	8739	CryoBank™	TSA
<i>Candida albicans</i>	10231	CryoBank™	SDA
<i>Aspergillus brasiliensis</i>	16404	CryoBank™	PDA

**Elaborado por:** la autora

A continuación se describe el procedimiento de activación mediante CryoBank para los microorganismos a los que aplique:

- **Método CryoBank**

Cryobank es un sistema de fácil manipulación diseñado para almacenar en forma congelada a -80 °C, muestras de cepas o cultivos bacterianos con rápida y eficiente recuperación. Se basa en un sistema de un criovial que contiene perlas químicamente tratadas suspendidas en una solución preservante criogénica especial compuesta por Trytone Soy Broth.

## **Procedimiento**

1. Remover el tubo de CRYOBANK™ del congelador.
2. Remover la tapa de cada tubo de CRYOBANK™ que contiene los microorganismos.
3. Remover una perla de cada tubo correspondiente a un microorganismo específico con un asa de aguja para la inoculación.
4. Pasar cada perla sobre una caja Petri que contiene el medio de cultivo específico para el crecimiento de cada microorganismo, realizar este procedimiento por duplicado.
5. Tapar el tubo de CRYOBANK™ y regresarlo al congelador inmediatamente.
6. Incubar las cajas a 35 °C en una atmosfera aerobia de 24 a 48 horas para las bacterias *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*, y, para *Candida albicans* y *Aspergillus brasiliensis*, incubarlos a 25°C en una atmósfera aerobia de 5 a 7 días.
7. Luego de éste tiempo sacar las cajas de la incubadora y mantenerlas en refrigeración hasta su utilización.

## **Equipos utilizados**

- Cámara de Flujo laminar FORMA SCIENTIFIC modelo 1845
- Incubadora MEMMERT modelo BE-400

Para *Pseudomona aeruginosa* se sigue el procedimiento Microbiologics KWIK-STIK™, el cual se indica a continuación:

### **• Método Microbiologics KWIK-STIK**

1. Oprimir la ampolla para liberar el líquido de hidratación (Tryptic Soy Broth) que se encuentra en el dispositivo y facilitar la bajada del mismo hasta el pellet (hisopo) que contiene al microorganismo ATCC liofilizado.
2. Agitar la ampolla de tal manera que se mezcle el líquido con el pellet.
3. Abrir la ampolla y extraer el hisopo KWIK-STIK™.
4. Realizar el hisopado con la bacteria viabilizada en dos cajas que contienen el medio de cultivo TSA para el crecimiento de la bacteria, realizar este procedimiento por duplicado.



5. Incubar las cajas a 35°C en una atmósfera aerobia de 24 a 48 horas.
6. Luego de éste tiempo sacar las cajas de la incubadora y mantenerlas en refrigeración hasta su utilización.

### **Equipos utilizados**

- Cámara de Flujo laminar FORMA SCIENTIFIC modelo 1845
- Incubadora MEMMERT modelo BE-400

### **3.2.4.2.2 PREPARACIÓN DE LOS INÓCULOS.**

Los inóculos de los microorganismos *ATCC* estandarizados para el Challenge Test, se preparan utilizando el método espectrofotométrico mediante la técnica de densidad óptica, según recomendaciones del National Committee for Clinical Laboratory Standards Subcommittee on Antifungal Susceptibility Testing (NCCLS) es el método que ofrece menor variabilidad y mejor reproducibilidad de resultados. Esta técnica relaciona la medida de absorbancia con el crecimiento bacteriano y 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 resultado de la medida de su masa bacteriana. (Cermeño & Torres, 1998)

Las condiciones referenciadas bibliográficamente determinan que a una longitud de onda de 625 nm y un valor de absorbancia de 0,08 a 0,11 es equivalente a  $1-2 \times 10^8$  UFC/ml respectivamente para bacterias, y a una longitud de onda de 530 nm y un valor de absorbancia de 0,13 a 0,16 es equivalente a  $1-5 \times 10^6$  células respectivamente para hongos y levaduras. (Carlone & Pompei, 2013).

### **Equipos utilizados**

- Centrífuga SELECTA modelo Centro 8/7001356.

- Vortex Mixer GEMMY modelo VM-300
- Espectrofotómetro UV SHIMADZU modelo mini 1240
- Autoclave vertical PHOENIX modelo AV50

### Procedimiento

- Cultivo overnight: Tomar de cada caja Petri una porción de colonias morfológicamente similares de cada una cepas de los microorganismos ATCC activados, e inocularlos en un tubo de ensayo con 5 ml de caldo Tryptic Soy Broth (TSB) e incubarlos a 37°C por 18 horas.
- Separar el pellet de cepas del medio, mediante centrifugación por 20 minutos a 3000 rpm en la centrífuga.
- Descartar el caldo sobrante y resuspender el pellet celular mediante agitación utilizando el Vortex Mixer, utilizando la cantidad necesaria de suero fisiológico estéril que permita lograr la densidad óptica establecida por lectura espectrofotométrica.
- Anotar los resultados obtenidos por espectrofotometría.
- Realizar la interpolación de los resultados obtenidos para determinación de las UFC/ml.
- Antes de realizar la inoculación de los microorganismos, realizar unas diluciones adicionales a los inóculos ya que en el estándar ISO 11930:2012, se establece que el inóculo al tiempo cero ( $T_0$ ) para bacterias debe tener una carga bacteriana de  $10^6$  ufc/ml y para hongos  $10^5$  ufc/ml, utilizando como diluyente suero fisiológico estéril, quedando así:

$10^6$  ufc/ml *Escherichia coli* ATCC 8739

$10^6$  ufc/ml *Staphylococcus aureus* ATCC 6538

$10^6$  ufc/ml *Pseudomona aeruginosa* ATCC 9015

$10^5$  ufc/ml *Aspergillus brasiliensis* ATCC 16404 y

$10^5$  ufc/ml *Candida albicans* ATCC 10231.

### **3.2.4.2.3 INOCULACIÓN DE LOS MICROORGANISMOS ESTANDARIZADOS EN LAS MUESTRAS DE ANÁLISIS**

- a) Se prepara el número adecuado de frascos de acuerdo a las muestras realizadas y al número de microorganismos a testear, los cuales deben estar previamente esterilizados.
- b) Dispensar en cada frasco con 50 ml de cada una de las 5 formulaciones a ensayar.
- c) En cada frasco se dispensa 0,5 ml de inóculo de cada uno de los microorganismos ATCC estandarizados que equivale al 1% del tamaño de la muestra dispensada, y rotular los mismos. (Anexo 9)
- d) Homogeniza cada frasco por espacio de 15 minutos en el Agitador Shaker marca Thermo Scientific modelo M65825, para asegurar una distribución homogénea de inóculo.
- e) Mantener los frascos inoculados entre 20 °C y 25 °C, protegidos de la luz durante los 28 días que dura la prueba.

### **3.2.4.2.4 COMPROBACIÓN DE LA VIABILIDAD DE LOS MICROORGANISMOS ATCC UTILIZADOS.**

Se determina el número de microorganismos viables de las muestras inoculadas por Recuento en Placa, empleando el medio de cultivo especificado para cada microorganismo indicado en el estándar ISO 11930:2012.

Los medios de cultivo recomendados para la prueba son:

- Tryptic Soy Broth (TSB) para activación de cepas ATCC
- Tryptic Soy Agar (TSA) para el crecimiento de bacterias.
- Sabouraud Dextrosa Agar (SDA) para *Candida albicans*.
- Potato Dextrosa Agar (PDA) para *Aspergillus brasiliensis*

El método de recuento en placa, se basa en la formación de una colonia a partir de cada célula viable, utilizando como soporte, medios agarizados en placas de Petri. No puede asegurarse indubitablemente que toda colonia derive de un solo microorganismo, por eso la forma correcta de expresar los resultados es como unidades formadoras de colonias (UFC). El recuento se puede realizar por “plaqueo” en medios agarizados o por retención en una membrana filtrante. Las técnicas de recuento de viables en placas son sensibles, relativamente sencillas y se usan ampliamente para el recuento de bacterias y otros microorganismos en muestras de alimentos, medicamentos, cosméticos, agua, etc. La forma corriente de realizar un recuento de unidades formadoras de colonias es la siguiente: realizar diluciones seriadas 1/10 de una suspensión bacteriana o de una muestra en ensayo y sembrar volúmenes medidos de varias de ellas, de modo de obtener colonias separadas. (Cerra, y otros, 2013)

Las siembras se pueden hacer: a) por disseminación: sobre la superficie del medio ya gelificado y secado, contenido en la placa, de volúmenes de 0,1 – 0,2 ml de las diluciones correspondientes, o b) en profundidad: incorporando el inóculo en un volumen de medio fundido, mantenido a temperaturas compatibles con la viabilidad microbiana (aproximadamente 45° C), que luego se vuelca en una placa de Petri y se deja gelificar. (Cerra, et al., 2013)

Luego de la incubación en las condiciones apropiadas para cada microorganismo, la concentración de UFCs presentes en una suspensión se calcula multiplicando el número de colonias por placa, promedio de varias placas, por la inversa de la dilución de la suspensión, y dividiendo por el volumen sembrado:

#### **Ecuación 2. Cálculo de UFC/ml mediante Recuento en placa**

$$\frac{\text{UFC}}{\text{ml}} = \frac{\text{Promedio de número de colonias contadas por placa}}{\text{volumen sembrado x dilución}}$$

Los intervalos de comprobación de supervivencia, se realizan inmediatamente después de la inoculación en los siguientes tiempos:

**TABLA 14. INTERVALOS DE COMPROBACIÓN DE SUPERVIVENCIA DE LOS MICROORGANISMOS ATCC, ESTÁNDAR INTERNACIONAL ISO 11930:2012.**

<b>Código intervalo de Tiempo</b>	<b>Intervalo de tiempo</b>
T0	Inmediatamente después de la inoculación
T2	Después de 48 horas, desde la inoculación
T7	A los 7 días, desde la inoculación
T14	A los 14 días, desde la inoculación
T28	A los 28 días, desde la inoculación

**Elaborado por:** la autora.

### **PROCEDIMIENTO**

- a) Tomar una muestra de crema de cada envase inoculado (0.1 ml).
- b) Distribuir uniformemente en las cajas Petri que contienen los medios de cultivo recomendados para cada microorganismo, mediante la técnica de escobillado con un asa de Digrafski.
- c) Repetir los procedimientos a y b por triplicado.
- d) Incubar las cajas Petri según corresponda el microorganismo.
- e) Luego del tiempo establecido sacar las cajas de la incubadora y realizar las lecturas.
- f) Reportar los resultados de los microorganismos viables obtenidos en los intervalos de tiempo predeterminados, expresándolos en: unidades formadoras de colonias/ml (UFC/ml).

#### **3.2.4.2.5 INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS.**

La evaluación de los resultados se realiza en función de la reducción logarítmica del número de microorganismos viables determinados en los tiempos específicos, en relación con los valores correspondientes al inóculo inicial sembrado.

El cálculo de la reducción logarítmica se realiza utilizando la siguiente fórmula:

#### **Ecuación 3. Cálculo de reducción logarítmica**

$$\text{Red Log} = \text{Log } [N_0] - \text{Log } [N_x]$$

Siendo:

$N_0$ : número de microorganismos inoculados al  $T_0$ .

$N_x$ : número de microorganismos supervivientes en cada tiempo de muestreo establecido.

Además, el estándar internacional ISO 11930:2012, proporciona los siguientes criterios para la evaluación de la eficacia del sistema de preservación:

**CRITERIO A.** se asigna si los resultados obtenidos satisfacen al mismo tiempo todas las condiciones que se indican a continuación:

**Después de 7 días:** la reducción de al menos 3 logaritmos para las bacterias y al menos 1 logaritmo de *Candida albicans*;

**Después de 14 días:** reducción de al menos 3 logaritmos para las bacterias (sin ningún aumento con respecto al resultado de los 7 días), al menos 1 logaritmo para *Candida albicans* (sin ningún aumento con respecto al resultado de los 7 días) y ningún aumento con respecto al tiempo cero para *Aspergillus brasiliensis*;

**Después de 28 días:** reducción de al menos 3 logaritmos para las bacterias (sin ningún aumento con respecto al resultado de los 14 días), al menos 1 logaritmo para *Candida albicans* (sin ningún aumento con respecto al resultado de los 14 días) y al menos 1 logaritmo para *Aspergillus brasiliensis*.

**CRITERIO B.** se asigna si los resultados obtenidos satisfacen al mismo tiempo todas las condiciones que se indica a continuación:

**Después de 14 días:** reducción de al menos 3 logaritmos para las bacterias, por lo menos 1 logaritmo para *Candida albicans* y ningún aumento con respecto al tiempo cero para *Aspergillus brasiliensis*.

**Después de 28 días:** la reducción de al menos 3 logaritmos para las bacterias (sin ningún incremento con respecto a la vez anterior), de al menos 1 logaritmo de *Candida albicans* (un aumento con respecto a la vez anterior) y ningún aumento de *Aspergillus brasiliensis*.

Si al final de la prueba la muestra es de conformidad con el:

**Criterio A:** el riesgo microbiológico es aceptable. El producto cosmético se considera protegido contra la proliferación microbiana y no es necesario considerar otros factores que sean independientes de la formulación.

**Criterio B:** el riesgo microbiológico es aceptable, por lo que el nivel de protección es aceptable, si el análisis de riesgos demuestra la existencia de factores de control no relacionados con la formulación, tales como las características del embalaje, para reducir el riesgo microbiológico.

En la siguiente tabla se resume lo anteriormente descrito:

**TABLA 15. CRITERIO DE ACEPTACIÓN DE LA EFICACIA PRESERVANTE ESTÁNDAR INTERNACIONAL ISO 11930:2012**

CRITERIO	MICROORGANISMO	REDUCCIÓN LOGARÍTMICA ( $R_x = \log N_0 - \log N_x$ ) requerida <sup>a</sup>		
		7 días	14 días	28 días
A	Bacterias	$\geq 3$	$\geq 3$ y NI <sup>b</sup>	$\geq 3$ y NI <sup>b</sup>
	<i>Candida albicans</i>	$\geq 1$	$\geq 1$ y NI <sup>b</sup>	$\geq 1$ y NI <sup>b</sup>
	<i>Aspergillus brasiliensis</i>	NI <sup>a</sup>	NI <sup>a</sup>	$\geq 1$ y NI <sup>b</sup>
B	Bacterias	No aplica	$> 3$	$\geq 3$ y NI <sup>b</sup>
	<i>Candida albicans</i>	No aplica	$\geq 1$	NI <sup>b</sup>
	<i>Aspergillus brasiliensis</i>	No aplica	NI <sup>a</sup>	NI <sup>a</sup>

**Elaborado por:** la autora

**R<sub>x</sub>:** Reducción logarítmica.

**a:** No se produce incremento en el recuento microbiano desde el momento de la inoculación al T<sub>0</sub>.

**b:** No se produce incremento en el recuento microbiano con respecto al resultado anterior.

Si al final del estudio, la muestra no cumple ni el Criterio A ni el Criterio B, es indicativo de que el nivel de protección es no aceptable y el riesgo microbiológico es alto, por lo que, la evaluación microbiana se toma en cuenta considerando exclusivamente la estimación del riesgo microbiológico, por ejemplo si el producto será de una sola dosis y controlando de manera especial que la calidad microbiológica del producto esté garantizado mediante una adecuada producción con estricto cumplimiento de las Buenas Prácticas de Manufactura. A este caso particular cuando no cumplan ninguno de los dos criterios, se lo denominará exclusivamente para fines del análisis estadístico como criterio C.

### **3.2.5 ANÁLISIS ESTADÍSTICO**

El análisis estadístico llevado a cabo, tiene como finalidad, confirmar estadísticamente la mejor concentración de aceite esencial de *Curcuma longa*, en la que es más eficaz como conservante frente a los microorganismos ATCC indicados en el estándar internacional ISO 11930:2012, para lo cual se aplicará la herramienta estadística Anova de dos vías seguido del Test Tukey Honestly Significant Difference (HSD).

Las herramientas estadísticas indicadas anteriormente, se indican a continuación.

#### **3.2.5.1 MODELO ANOVA DE DOS VÍAS Y TEST DE TUKEY (HSD)**

Estas pruebas buscan determinar diferencias entre medias de dos o más grupos (bloques), pero al mismo tiempo detectar si existen diferencias entre los datos debidas a algún tipo o tipos de factores que afecten interiormente a cada grupo (tratamientos) Estos valores son corroborados mediante un test *a posteriori* para la discriminación de cual o cuales grupos de datos son diferentes entre sí. El Test de Tukey (HSD) es el más utilizado para este análisis (Yáñez, 2010).



Para el análisis estadístico se importaron los resultados de los criterios de aceptación de la eficacia preservante del estándar internacional ISO 11930:2012, obtenidos de cada una de las concentraciones de aceite esencial de *Curcuma longa* frente a los microorganismos ATCC utilizados.

Adicionalmente se realizó una equivalencia de los criterios de aceptación de la eficacia preservante de una denominación alfabética a códigos numéricos, y de igual manera a los microorganismos ATCC utilizados se les asignó una denominación numérica, ya que es necesario para realizar el análisis estadístico en el programa estadístico valores del tipo numérico.

En las siguientes tablas se indica las equivalencias numéricas asignadas tanto para los criterios de aceptación de la eficacia preservante como para los microorganismos ATCC.

**TABLA 16. EQUIVALENCIAS NUMÉRICAS PARA LOS CRITERIOS DE ACEPTACIÓN DE LA EFICACIA PRESERVANTE DEL ESTÁNDAR ISO 11930.**

<b>Criterio de aceptación de la eficacia preservante</b>	<b>Equivalencia numérica</b>
<b>A</b>	1000
<b>B</b>	100
<b>C</b>	10

**Elaborado por:** la autora

**TABLA 17. EQUIVALENCIAS NUMÉRICAS PARA LOS MICROORGANISMOS ATCC ESTANDARIZADOS DEL ESTÁNDAR ISO 11930.**

<b>Microorganismo ATCC</b>	<b>Equivalencias Numéricas</b>
<i>Pseudomona aeruginosa</i> ATCC 9027	1
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	2

<i>Escherichia coli</i> ATCC 8739	3
<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	4
<i>Aspergillus brasiliensis</i> ATCC 16404	5

**Elaborado por:** la autora

Software utilizado

- Programa Statistix 10.0 General AOV/ AOCV
- Programa Statistix 10.0 Tukey HSD All- Pairwise Comparisons Test.

## CAPITULO 4 – RESULTADOS Y DISCUSIONES

### 4.1 ACEITE ESENCIAL DE *Curcuma longa*

#### 4.1.1 CONTROL DE CALIDAD DEL ACEITE ESENCIAL DE *CURCUMA LONGA*.

Los resultados de las pruebas de control de calidad realizadas al AE de Cúrcuma, *Curcuma longa*, se resumen en la siguiente tabla:

**TABLA 18. RESULTADOS DEL CONTROL DE CALIDAD DEL AE CURCUMA, *Curcuma longa*.**

CARACTERÍSTICAS ORGANOLÉPTICAS		
PARÁMETRO	RESULTADO	ESPECIFICACIÓN (Ficha técnica Fundación Chankuap)

Color	cumple	Ligeramente Amarillo.
Olor	cumple	Típica nota a especia.
Apariencia	cumple	Líquido aceitoso transparente.
<b>PROPIEDADES FISICOQUÍMICAS</b>		
Densidad relativa (25°C)	0,9129 g/ml	0,9100 a 0,9200 g/ml
Índice de refracción ( 25°C)	1,498	1,48 a 1,500

**Elaborado por:** la autora

Las características organolépticas y fisicoquímicas reportadas se encuentran dentro de los rangos indicados por el proveedor del aceite esencial de *Curcuma longa*.

#### **4.1.2 CARACTERIZACIÓN QUÍMICA DEL ACEITE ESENCIAL DE CÚRCUMA (*Curcuma longa*).**

Los compuestos fueron identificados por comparación con la base de datos NIST/02, y verificación en la mayoría de los compuestos de su índice de retención teórico. (Adams, 2009). (Ver anexo 15)

**TABLA 19. RESULTADOS DEL ANÁLISIS CROMATOGRÁFICO (GC-MS) AE CURCUMA, *Curcuma longa***

N°	Tiempo de retención (min )	Nombre del Compuesto	Porcentaje
1	12,293	$\alpha$ - pineno	5,034
2	12,423	$\alpha$ - felandreno	7,488
3	14,207	Eucaliptol	4,063
4	18,712	Terpinolene	3,715
5	51,319	Cayophyllene	0,692
6	54,252	$\alpha$ - Curcumeno	1,888

7	54,774	Zingibereno	2,744
8	59,740	<b>Tumerona</b>	16,891
9	60,032	<b>Ar-Tumerona</b>	29,100
10	60,832	<b>Curlone</b>	12,367

**Elaborado por:** la autora

Los resultados obtenidos concuerdan con lo indicado en la bibliografía en la cual los principales compuestos del aceite esencial de *Curcuma longa* L. son la tumerona y la ar-tumerona. De igual manera los resultados obtenidos concuerdan en gran medida con lo reportado en el estudio del 2008 de Uddin, en el cual analizó el aceite esencial de rizomas de *Curcuma longa* de Bangladesh entre los componentes mayoritarios que se identificaron fueron: ar-tumerona (27.78%), tumerona (17.16%), curlone (13.82%); estas coincidencias están relacionadas en gran medida por el tipo de situación geográfica, ya que sus cultivos provienen de zonas que se caracterizan por ser del tipo tropical y húmedo.

#### 4.2 ELABORACIÓN DE LAS FÓRMULAS COSMÉTICAS DE ESTUDIO

Se prepararon 5 formulas unitarias, cada una de 750 ml. Las 5 formulaciones corresponden a:

- **Fórmula No.1:** Crema con AE *Curcuma longa* al 0,4% (CAECU 0,4%)
- **Fórmula No.2:** Crema con AE *Curcuma longa* al 1% (CAECU 1%)
- **Fórmula No.3:** Crema con AE *Curcuma longa* al 2,5% (CAECU 2,5%)
- **Fórmula No.4:** Crema sin conservante, esta fórmula corresponde el **blanco negativo** del estudio, la únicamente tiene los ingredientes de la formulación general indicada en la tabla 11.

- **Fórmula No.5:** Crema OLG 1% , esta fórmula corresponde al **blanco positivo** del estudio en la cual se utiliza un preservante con comprobado efecto conservante y que cumple con la normativa ECOCERT para su uso en Cosméticos Naturales y Orgánicos el cual está compuesto de aceite esencial de naranja, hierba luisa y sésamo.

En las siguientes tablas, se indica cada una de las formulas unitarias de las cinco formulaciones:

**TABLA 20. FÓRMULA UNITARIA 1 (CAECU 0,4%)**

INGREDIENTES INCI	PORCENTAJE	CANTIDAD para 750 ml	FUNCION/ COMPONENTE	ORIGEN DEL INGREDIENTE
	(%)			
<b>FASE GRASA</b>				
<i>Theobroma cacao</i> seed butter	12	90	Emoliente/ Triglicerido- Manteca Vegetal	Natural, procedencia <b>vegetal, con certificación orgánica.</b>
Caprylic/Capric triglycerides	3	22,5	Emoliente/ Triglicerido	De origen natural.
<b>EMULSIFICANTES</b>				
Cetearyl alcohol and Cetearyl glucoside	3	22,5	Emulsificante/ No iónico	De origen natural.
Cetyl Alcohol	2	15	Emulsificante/ No iónico	De origen natural.
<b>FASE ACUOSA</b>				
Xanthan Gum	0,1	0,75	Espesante, Controlador de viscosidad	De origen natural.
Aqua	79,5	596,25	Solvente	Origen natural
<b>ADITIVOS</b>				
<i>Curcuma longa</i> root oil	0,4	3	Preservante	Origen natural, categoria <b>vegetal, con certificación orgánica.</b>
<b>TOTAL</b>	<b>100</b>	750		

**Elaborado por:** la autora

#### **4.2.1 RESULTADO DESARROLLO FÓRMULA UNITARIA 1 (CAECU 0,4%).**

**1) % de ingredientes naturales en el total de ingredientes utilizados:**

Resultado: **100%**

**2) % de ingredientes vegetales orgánicos certificados en el total de ingredientes vegetales utilizados:**

Resultado:  $(12.0+0.4)/(12.0+0.4)*100 =$  **100.0% (Cosmético orgánico)**

**3) % de ingredientes orgánicos certificados en el total de ingredientes utilizados:**

Resultado:

$(12.0+0.4)/(79.5+0.1+2+3+3+12+0.4)*100 =$  **12.4% (Cosmético orgánico)**

La fórmula unitaria 1 (CAECU 0,4%), cumple con las reglas de la Norma Ecocert Cosméticos Naturales y Orgánicos sobre la proporción de ingredientes en el producto terminado por lo que la formulación cumple con lo exigido para catalogar a la misma como una formulación cosmética natural y orgánica.

**TABLA 21. FÓRMULA UNITARIA 2 (CAECU 1%)**

INGREDIENTES INCI	PORCENTAJE	CANTIDAD para 750 ml	FUNCION/ COMPONENTE	ORIGEN DEL INGREDIENTE
	(%)			
<b>FASE GRASA</b>				
<i>Theobroma cacao</i> seed butter	12	90	Emoliente/ Triglicerido- Manteca Vegetal	Natural, procedencia <b>vegetal, con certificación orgánica.</b>
Caprylic/Capric triglycerides	3	22,5	Emoliente/ Triglicerido	De origen natural.
<b>EMULSIFICANTES</b>				
Cetearyl alcohol and Cetearyl glucoside	3	22,5	Emulsificante/ No iónico	De origen natural.
Cetyl Alcohol	2	15	Emulsificante/ No iónico	De origen natural.
<b>FASE ACUOSA</b>				
Xanthan Gum	0,1	0,75	Espesante, Controlador de viscosidad	De origen natural.
Aqua	78,9	591,75	Solvente	Origen natural
<b>ADITIVOS</b>				
<i>Curcuma longa</i> root oil	1	7,5	Preservante	Origen natural, categoria <b>vegetal, con certificación orgánica.</b>
<b>TOTAL</b>	<b>100</b>	<b>750</b>		

**Elaborado por:** la autora

#### **4.2.2 RESULTADO DESARROLLO FÓRMULA UNITARIA 2 (CAECU 1%).**

**1) % de ingredientes naturales en el total de ingredientes utilizados:**

Resultado: **100%**

**2) % de ingredientes vegetales orgánicos certificados en el total de ingredientes vegetales utilizados:**

Resultado:  $(12.0+1.0)/(12.0+1.0)*100 = \mathbf{100.0 \%}$  (Cosmético orgánico)

**3) % de ingredientes orgánicos certificados en el total de ingredientes utilizados:**

Resultado:

$(12.0+1.0)/(78.9+0.1+2+3+3+12+1.0)*100 = \mathbf{13.0\%}$  (Cosmético orgánico)

La fórmula unitaria 2 (CAECU 1%), cumple con las reglas de la Norma Ecocert Cosméticos Naturales y Orgánicos sobre la proporción de ingredientes en el producto terminado por lo que la formulación cumple con lo exigido para catalogar a la misma como una formulación cosmética natural y orgánica.

**TABLA 22. FÓRMULA UNITARIA 3 (CAECU 2,5%)**

INGREDIENTES INCI	PORCENTAJE	CANTIDAD para 750 ml	FUNCION/ COMPONENTE	ORIGEN DEL INGREDIENTE
	(%)			
<b>FASE GRASA</b>				
<i>Theobroma cacao</i> seed butter	12	90	Emoliente/ Triglicerido- Manteca Vegetal	Natural, procedencia <b>vegetal, con certificación orgánica.</b>
Caprylic/Capric triglycerides	3	22,5	Emoliente/ Triglicerido	De origen natural.
<b>EMULSIFICANTES</b>				
Cetearyl alcohol and Cetearyl glucoside	3	22,5	Emulsificante/ No iónico	De origen natural.
Cetyl Alcohol	2	15	Emulsificante/ No iónico	De origen natural.
<b>FASE ACUOSA</b>				
Xanthan Gum	0,1	0,75	Espesante, Controlador de viscosidad	De origen natural.
Aqua	77,4	580,5	Solvente	Origen natural
<b>ADITIVOS</b>				
<i>Curcuma longa</i> root oil	2,5	18,75	Preservante	Origen natural, categoría <b>vegetal, con certificación orgánica.</b>

**Elaborado por:** la autora

#### **4.2.3 RESULTADO DESARROLLO FÓRMULA UNITARIA 3 (CAECU 2.5%).**

**1) % de ingredientes naturales en el total de ingredientes utilizados:**

Resultado: **100%**

**2) % de ingredientes vegetales orgánicos certificados en el total de ingredientes vegetales utilizados:**

Resultado:  $(12.0+2.5)/(12.0+2.5)*100 = 100.0 \% \text{ (Cosmético orgánico)}$

**3) % de ingredientes orgánicos certificados en el total de ingredientes utilizados:**

Resultado:  $(12.0+2.5)/(77.4+0.1+2+3+3+12+2.5)*100 = 14.5\% \text{ (Cosmético orgánico)}$

La fórmula unitaria 3 (CAECU 2,5%), cumple con las reglas de la Norma Ecocert Cosméticos Naturales y Orgánicos sobre la proporción de ingredientes en el producto terminado por lo que la formulación cumple con lo exigido para catalogar a la misma como una formulación cosmética natural y orgánica.



**TABLA 23. FÓRMULA UNITARIA 4 (Crema sin conservante)**

INGREDIENTES INCI	PORCENTAJE	CANTIDAD para 750 ml	FUNCION/ COMPONENTE	ORIGEN DEL INGREDIENTE
	(%)			
<b>FASE GRASA</b>				
<i>Theobroma cacao</i> seed butter	12	90	Emoliente/ Triglicerido- Manteca Vegetal	Natural, procedencia <b>vegetal</b> , <b>con certificación orgánica.</b>
Caprylic/Capric triglycerides	3	22,5	Emoliente/ Triglicerido	De origen natural.
<b>EMULSIFICANTES</b>				
Cetearyl alcohol and Cetearyl glucoside	3	22,5	Emulsificante/ No iónico	De origen natural.
Cetyl Alcohol	2	15	Emulsificante/ No iónico	De origen natural.
<b>FASE ACUOSA</b>				
Xanthan Gum	0,1	0,75	Espesante, Controlador de viscosidad	De origen natural.
Aqua	79,9	599,25	Solvente	Origen natural
<b>TOTAL</b>	<b>100</b>	<b>750</b>		

**Elaborado por:** la autora

#### **4.2.4 RESULTADO DESARROLLO FÓRMULA UNITARIA 4 (CREMA SIN CONSERVANTE).**

**1) % de ingredientes naturales en el total de ingredientes utilizados:**

Resultado: **100%**

**2) % de ingredientes vegetales orgánicos certificados en el total de ingredientes vegetales utilizados:**

Resultado:  $(12.0)/(12.0) * 100 = 100 \% \text{ (Cosmético orgánico)}$

**3) % de ingredientes orgánicos certificados en el total de ingredientes utilizados:**

Resultado:  $(12.0)/(79.5+0.1+2+3+3+12)*100 = 12.0\% \text{ (Cosmético orgánico)}$

La fórmula unitaria 4 (Crema sin conservante), cumple con las reglas de la Norma Ecocert Cosméticos Naturales y Orgánicos sobre la proporción de ingredientes en el producto terminado por lo que la formulación cumple con lo exigido para catalogar a la misma como una formulación cosmética natural y orgánica.

**TABLA 24. FÓRMULA UNITARIA 5 (Crema OLG 1,0%)**

INGREDIENTES INCI	PORCENTAJE	CANTIDAD para 750 ml	FUNCION/ COMPONENTE	ORIGEN DEL INGREDIENTE
	(%)			
<b>FASE GRASA</b>				
<i>Theobroma cacao</i> seed butter	12	90	Emoliente/ Triglicerido- Manteca Vegetal	Natural, procedencia <b>vegetal, con certificación orgánica.</b>
Caprylic/Capric triglycerides	3	22,5	Emoliente/ Triglicerido	De origen natural.
<b>EMULSIFICANTES</b>				
Cetearyl alcohol and Cetearyl glucoside	3	22,5	Emulsificante/ No iónico	De origen natural.
Cetyl Alcohol	2	15	Emulsificante/ No iónico	De origen natural.
<b>FASE ACUOSA</b>				
Xanthan Gum	0,1	0,75	Espesante, Controlador de viscosidad	De origen natural.
Aqua	78,9	591,75	Solvente	Origen natural
<b>ADITIVOS</b>				
<i>Citrus aurantium, Cymbopogon citratus, Sesamum indicum.</i>	1	7,5	Preservante	Origen natural, categoría <b>vegetal, con certificación orgánica.</b>
<b>TOTAL</b>	<b>100</b>	<b>750</b>		

**Elaborado por:** la autora

#### **4.2.5 RESULTADO DESARROLLO FÓRMULA UNITARIA 5 (CREMA OLG 1%).**

**1) % de ingredientes naturales en el total de ingredientes utilizados:**

Resultado: **100%**

**2) % de ingredientes vegetales orgánicos certificados en el total de ingredientes vegetales utilizados:**

Resultado:  $(12.0+1.0)/(12.0+1.0)*100 = 96,97\%$  (Cosmético orgánico)

**3) % de ingredientes orgánicos certificados en el total de ingredientes utilizados:**

Resultado:  $(12.0+1.0)/(78.9+0.1+2+3+3+12+1.0)*100 = 13.0\%$  (Cosmético orgánico)

La fórmula unitaria 5 (Crema OLG 1%), cumple con las reglas de la Norma Ecocert Cosméticos Naturales y Orgánicos sobre la proporción de ingredientes en el producto terminado por lo que la formulación cumple con lo exigido para catalogar a la misma como una formulación cosmética natural y orgánica.

### 4.3 CONTROL DE CALIDAD DEL PRODUCTO TERMINADO

#### 4.3.1 CARACTERÍSTICAS ORGANOLÉPTICAS

Para la evaluación de las formulas desarrolladas, se evaluaron sus características organolépticas como son: aspecto, color y olor cuando estas se encontraban a temperatura ambiente es decir las lecturas se realizaron a la temperatura de 22 °C.

**TABLA 25. RESULTADOS CONTROL DE CALIDAD DE CARACTERÍSTICAS ORGANOLÉPTICAS DE LAS FORMULACIONES DESARROLLAS**

<b>FÓRMULA UNITARIA N°</b>	<b>ASPECTO</b>	<b>COLOR</b>	<b>OLOR</b>
1	Emulsión consistente	Blanco amarillento	Tenue a especia.
2	Emulsión consistente	Blanco amarillento	Ligeramente a especia.
3	Emulsión consistente	Blanco amarillento	Fuertemente a especia.
4	Emulsión consistente	Blanco amarillento	Característico olor de las materias primas
5	Emulsión consistente	Blanco amarillento	Característico a hierba luisa y naranja.

**Elaborado por:** la autora

Las características organolépticas reportadas, están dentro de lo esperado para la formula desarrollada. En cuanto al aspecto, de acuerdo a la cantidad de ingredientes utilizados tanto en la fase grasa, fase acuosa y emulgentes, la crema tiene un aspecto consistente, característica que se confirmará al realizar la determinación de la viscosidad. En cuanto al color, al haber desarrollado la formulación sin adición de colorantes, es de esperarse que sea de color blanco, el tono amarillento lo otorga el aceite de cúrcuma y la manteca de cacao. En cuanto al olor es de esperarse que a medida que se aumenta la concentración de aceite esencial de *Curcuma longa* éste sea más fuertemente apreciado en la formulación.

#### 4.3.2 CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS

##### 4.3.2.1 DETERMINACIÓN DE PH Y VISCOSIDAD

Se reporta los valores promedio de las mediciones realizadas.

**TABLA 26. RESULTADOS DE PROMEDIO DE DETERMINACIÓN DE VALORES DE pH y VISCOSIDAD DE LAS FÓRMULAS UNITARIAS**

<b>FÓRMULA UNITARIA N°</b>	<b>Viscosidad cP</b>	<b>pH</b>
1	23120	6,24
2	22610	5,96
3	21240	5,82
4	25420	6,32
5	22560	6,81

**Elaborado por:** la autora

Los valores reportados tanto de viscosidad como de pH, poseen diferencias mínimas entre ellos. No existe un reglamentación en el país en donde se definan rangos para especificaciones que deba cumplir ésta forma cosmética en cuanto a los parámetros de viscosidad y pH, sino que más bien se debe acoger a lo dispuesto en normativas supranacionales como se indica en la Decisión 516 de la Comisión de la Comunidad Andina de Naciones (CAN) que corresponde a la Armonización de Legalizaciones en Materia de Productos Cosméticos, se considera que cada fabricante tiene la libertad para determinar las especificaciones de su producto, con la única condicionante de cumplir con lo estipulado en el Artículo 2, en donde se indica que: “Los productos cosméticos que se comercialicen dentro de la Subregión no deberán perjudicar la salud humana cuando se apliquen en las condiciones normales o razonablemente previsibles de uso, teniendo presente particularmente, la presentación del producto, su etiquetado y las eventuales instrucciones de uso y eliminación, así como cualquier otra indicación o información que proceda del fabricante o del responsable de comercialización del producto” (CAN, Comunidad Andina de Naciones, 2002), bajo ésta premisa se determinarán los parámetros que deberá cumplir el producto, por lo tanto en el caso de las formulaciones desarrolladas que estarán en contacto con la piel.

El requerimiento en cuanto al pH que deben tener las cremas, es que este esté dentro de los rangos en donde se considera la eudermia de la piel, es decir debe estar en un pH entre 4 y 7, con una media de 5,5 (Martini, 2005), por lo tanto de acuerdo a los resultados obtenidos las cinco formulaciones cumplen con lo indicado en el artículo 2 de la Decisión 516.

En cuanto al parámetro de la viscosidad, los resultados obtenidos se encuentran dentro del límite indicado para cremas consistentes cuyos rangos son de 10.000 a 30.000 cPs (Aa. Vv., 2007), lo que permite ofrecer facilidad de uso al usuario al momento de su aplicación.

#### 4.3.2.2 SEPARACIÓN DE FASES

Se evalúan los resultados obtenidos para cada una de las formulaciones desarrolladas, luego de haber seguido el procedimiento indicado en el punto 3.2.6.2.3, los cuales son indicados en la siguiente tabla:

**TABLA 27. RESULTADOS PRUEBA DE SEPARACIÓN DE FASES DE LAS FORMULACIONES DESARROLLADAS**

<b>FÓRMULA UNITARIA N°</b>	<b>RESULTADO</b>
1	Negativo
2	Negativo
3	Negativo
4	Negativo
5	Negativo

**Elaborado por:** la autora

Los resultados obtenidos, permiten afirmar que las emulsiones desarrolladas son estables y no presentan señales de separación de fases que den indicios de que requieran una reformulación.

#### 4.4 RESULTADOS DEL CHALLENGE TEST DEL ACEITE ESENCIAL DE *Curcuma longa*.

#### 4.4.1 PREPARACIÓN DE LOS INÓCULOS.

De acuerdo a las condiciones bibliográficas enunciadas en el punto 3.2.7.2.2 en donde se indica que: a una longitud de onda de 625 nm y un valor de absorbancia comprendido entre 0,08 a 0,11 es equivalente a  $1-2 \times 10^8$  UFC/ml respectivamente para bacterias, y a una longitud de onda de 530 nm a un valor de absorbancia entre 0,13 a 0,16 es equivalente a  $1-5 \times 10^6$  UFC/ml respectivamente para hongos y levaduras, se realizaron la determinación de las lecturas de absorbancia, cuyos resultados obtenidos de las lecturas de los microorganismos ATCC estandarizados se indican a continuación en la siguiente tabla:

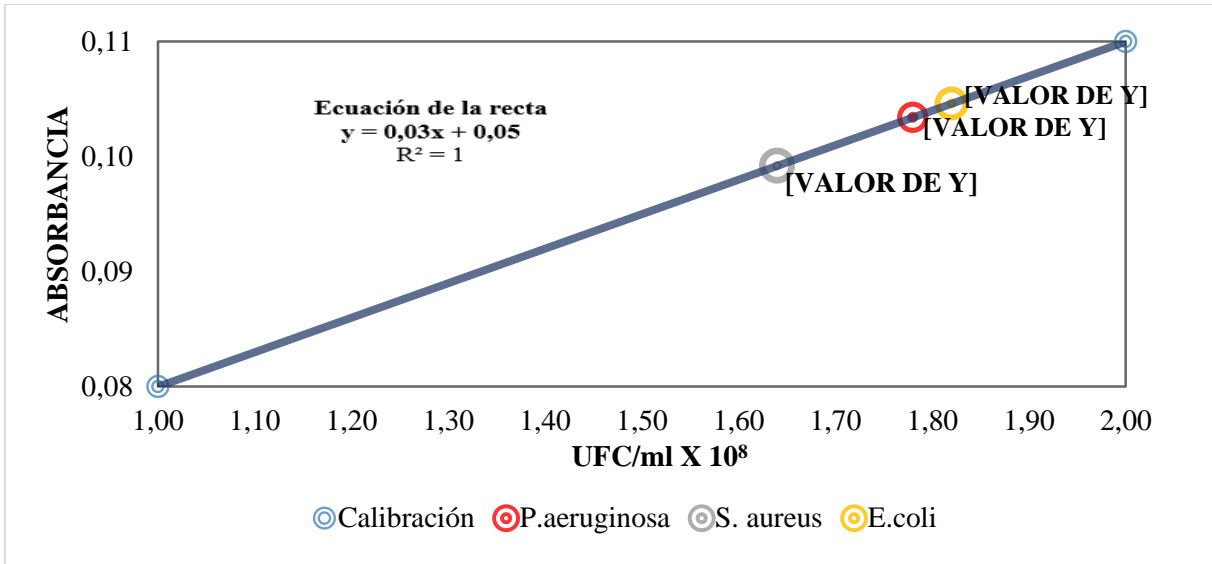
**TABLA 28. RESULTADOS LECTURAS DE ABSORBANCIA PARA LOS MICROORGANISMOS ATCC ESTANDARIZADOS**

<b>CONDICIONES</b>	<b>MICROORGANISMO ATCC</b>	<b>Resultado lectura de absorbancia</b>
longitud de onda: 625 nm	Pseudomona aeruginosa ATCC 9027	0,1034
	Staphylococcus aureus ATCC 6538	0,0992
	Escherichia coli ATCC 8739	0,1046
longitud de onda: 530 nm	Candida albicans ATCC 10231	0,1556
	Aspergillus brasiliensis ATCC 16404	0,1317

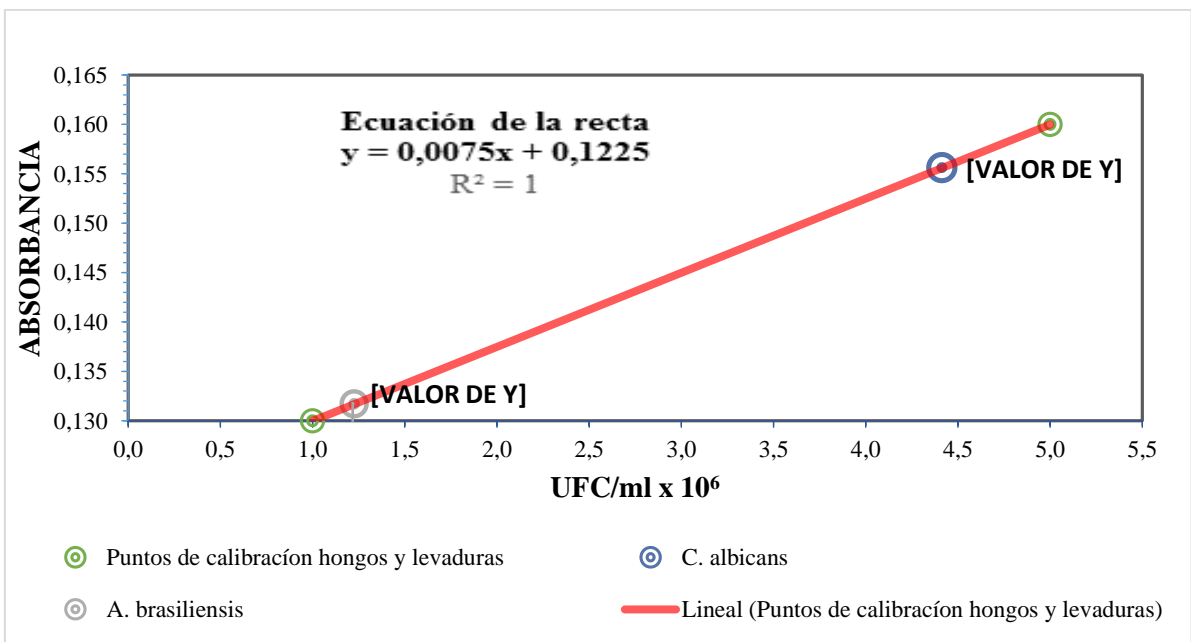
**Elaborado por:** la autora

Con los resultados de lecturas de absorbancia para cada uno de los microorganismos ATCC y de acuerdo a las condiciones bibliográficas enunciadas en el punto 3.2.7.2.2, se realiza una extrapolación de datos, en donde se determina la ecuación de la recta y se calcula las UFC/ml presentes en los inóculos de cada microorganismo.

En las siguientes figuras, se indica la interpolación de las lecturas de absorbancia y valores de ufc/ml determinados de los inóculos tanto de las bacterias como de la levadura y hongo ATCC utilizados.



**Figura 3. INTERPOLACIÓN DE LECTURAS DE ABSORBANCIA Y VALORES DE UFC/ml DETERMINADOS DE LOS INÓCULOS DE LAS BACTERIAS ATCC ESTANDARIZADAS**  
 Elaborado por: la autora



**FIGURA 4. INTERPOLACIÓN DE LECTURAS DE ABSORBANCIA Y VALORES DE UFC/ml DETERMINADOS DE LOS INÓCULOS DE HONGOS Y LEVADURAS ATCC ESTANDARIZADAS**  
 Elaborado por: la autora

Con los datos obtenidos de: ecuación de la recta tanto para bacterias como para hongos y levaduras, y, resultados de lecturas de absorbancia para cada uno de los microorganismos ATCC, se calcula las UFC/ml presentes en los inóculos de cada microorganismo. Los resultados se indican en la siguiente tabla:

**Tabla 29. CÁLCULO DE UFC/ML DE LOS INÓCULOS DE MICROORGANISMOS ATCC A PARTIR DE LA LECTURAS DE ABSORBANCIA.**

<b>BACTERIAS</b>				
<b>Microorganismos</b>	<b>Resultados lecturas absorbancia</b>	<b>Ecuación de la recta</b>	<b>Fórmula para determinación de UFC/ml</b>	<b>Resultado UFC/ml x 10<sup>8</sup></b>
Pseudomona aeruginosa ATCC 9027	0,1034	$y = 0,03x + 0,05$	$x = (y - 0,05) / 0,03$	1,78
Staphylococcus aureus ATCC 6538	0,0992			1,64
Escherichia coli ATCC 8739	0,1046			1,82
<b>HONGOS Y LEVADURAS</b>				
<b>Microorganismos</b>	<b>Resultados lecturas absorbancia</b>	<b>Ecuación de la recta</b>	<b>Fórmula para determinación de UFC/ml</b>	<b>Resultado UFC/ml x 10<sup>6</sup></b>
Candida albicans ATCC 10231	0,1556	$y = 0,0075x + 0,1225$	$x = (y - 0,1225) / 0,0075$	4,41
Aspergillus brasiliensis ATCC 16404	0,1317			1,23

**Elaborado por:** la autora

Donde:

y= valores de absorbancia

x= valores de UFC/ml

Una vez que se obtuvieron las lecturas de absorbancia de los inóculos, se realizaron de manera inmediata las diluciones adecuadas para obtener las concentraciones tanto de bacterias como de hongos y levaduras que indica el estándar internacional ISO 11930:2012, por lo tanto los valores de UFC/ml de los inóculos de los microorganismos ATCC a tiempo cero (T<sub>0</sub>) se indica en la siguiente tabla:

**TABLA 30. VALORES DE UFC/ML DE LOS INÓCULOS A TIEMPO CERO (T<sub>0</sub>) DE LOS MICROORGANISMOS ATCC ESTANDARIZADOS**

<b>MICROORGANISMO ATCC</b>	<b>UFC/ml de inóculo a T<sub>0</sub></b>
<i>Pseudomona aeruginosa</i> ATCC 9027	1,78 x 10 <sup>6</sup>
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	1,64 x 10 <sup>6</sup>



<i>Escherichia coli</i> ATCC 8739	1,82 x 10 <sup>6</sup>
<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	4,41 x 10 <sup>5</sup>
<i>Aspergillus brasiliensis</i> ATCC 16404	1,23 x 10 <sup>5</sup>

**Elaborado por:** la autora

#### 4.4.2 RESULTADOS PRUEBA CHALLENGE

Todas las fórmulas tuvieron el siguiente período de análisis:

Fecha de Inicio de la Prueba: 05 de septiembre del 2014

Fecha Final de la Prueba: 03 de Octubre del 2014.

La comprobación de crecimiento microbiano en los productos inoculados se realizó con el siguiente cronograma.

**TABLA 31. CRONOGRAMA DE TRABAJO PARA LA COMPROBACIÓN DE CRECIMIENTO BACTERIANO**

Tiempo 0 horas	04 de Septiembre del 2014
Tiempo 48 horas	06 de Septiembre del 2014
7 días	11 de Septiembre del 2014
14 días	18 de Septiembre del 2014
28 días	02 de Octubre del 2014

**Elaborado por:** la autora

En las siguientes tablas, se resumen los promedios de los contajes realizados en placa de la carga microbiana en el producto inoculado de acuerdo a lo indicado en la ecuación 3, los cuales se realizaron por triplicado cuyo límite de desviación está entre el 95%:

**FÓRMULA UNITARIA 1:** Fórmula de Crema, emulsión tipo O/W, que utiliza como ingrediente con función conservante aceite esencial de rizomas de *Curcuma longa* al 0,4%

**TABLA 32. PROMEDIO DE CONTAJE MICROBIANO FÓRMULA UNITARIA 1  
(CAECU 0,4%)**

<b>Microorganismo Testeado</b>	<b>T<sub>0</sub> UFC/ml</b>	<b>T<sub>2</sub> UFC/ml</b>	<b>T<sub>7</sub> UFC/ml</b>	<b>T<sub>14</sub> UFC/ml</b>	<b>T<sub>28</sub> UFC/ml</b>
<i>Pseudomona aeruginosa</i> ATCC 9027	1,78 x 10 <sup>6</sup>	Incontable: ≥1,78 x 10 <sup>6</sup>	Incontable: ≥1,78 x 10 <sup>6</sup>	Incontable: ≥1,78 x 10 <sup>6</sup>	Incontable: ≥1,78 x 10 <sup>6</sup>
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	1,64 x 10 <sup>6</sup>	Incontable: ≥1,64x10 <sup>6</sup>	Incontable: ≥1,64x10 <sup>6</sup>	Incontable: ≥1,64x10 <sup>6</sup>	Incontable: ≥1,64x10 <sup>6</sup>
<i>Escherichia coli</i> ATCC 8739	1,82 x 10 <sup>6</sup>	Incontable: ≥1,82 x 10 <sup>6</sup>	Incontable: ≥1,82 x 10 <sup>6</sup>	Incontable: ≥1,82 x 10 <sup>6</sup>	Incontable: ≥1,82 x 10 <sup>6</sup>
<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	4,41 x 10 <sup>5</sup>	Incontable: ≥4,41 x 10 <sup>5</sup>	Incontable: ≥4,41 x 10 <sup>5</sup>	Incontable: ≥4,41 x 10 <sup>5</sup>	Incontable: ≥4,41 x 10 <sup>5</sup>
<i>Aspergillus brasiliensis</i> ATCC 16404	1,23 x 10 <sup>5</sup>	Incontable: ≥1,23 x 10 <sup>5</sup>	Incontable: ≥1,23 x 10 <sup>5</sup>	Incontable: ≥1,23 x 10 <sup>5</sup>	Incontable: ≥1,23 x 10 <sup>5</sup>

**Elaborado por:** la autora

Para la determinación de la reducción logarítmica del crecimiento microbiano de los microorganismos inoculados en cada intervalo de tiempo establecido, se utiliza la ecuación 3 indicada en el punto 3.2.7.2.5. Los resultados se presentan en la siguiente tabla:

**TABLA 33. REDUCCIÓN LOGARÍTMICA DE CRECIMIENTO MICROBIANO  
FÓRMULA UNITARIA 1 (CAECU 0,4%)**

Microorganismo Testeado	REDUCCIÓN LOGARÍTMICA DE CRECIMIENTO MICROBIANO			
	T <sub>2</sub>	T <sub>7</sub>	T <sub>14</sub>	T <sub>28</sub>
<i>Pseudomona aeruginosa</i> ATCC 9027	0 log	0 log	0 log	0 log
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	0 log	0 log	0 log	0 log
<i>Escherichia coli</i> ATCC 8739	0 log	0 log	0 log	0 log
<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	0 log	0 log	0 log	0 log
<i>Aspergillus brasiliensis</i> ATCC 16404	0 log	0 log	0 log	0 log

**Elaborado por:** la autora

El comportamiento del aceite esencial de *Curcuma longa* al 0,4% utilizado como preservante es el siguiente:

- Bacteria Gram + (*Staphylococcus aureus*): No existe reducción del inóculo en al menos 3 logaritmos ni a los 7 días (Criterio A) como a los 14 días (Criterio B).
- Bacterias Gram – (*Escherichia coli* y *Pseudomona aeruginosa*): No existe reducción del inóculo en al menos 3 logaritmos ni a los 7 días (Criterio A) como a los 14 días (Criterio B).
- *Candida albicans*: No existe reducción del inóculo en al menos 1 logaritmo ni a los 7 días (Criterio A) como a los 14 días (Criterio B).
- *Aspergillus brasiliensis*: No existe reducción del inóculo en al menos 1 logaritmo ni a los 28 días (Criterio A) como ninguna variación en relación al T<sub>0</sub> los 28 días (Criterio B).

En la siguiente tabla, se indica la variación logarítmica de la carga microbiana en logaritmo a los diferentes tiempos de análisis:

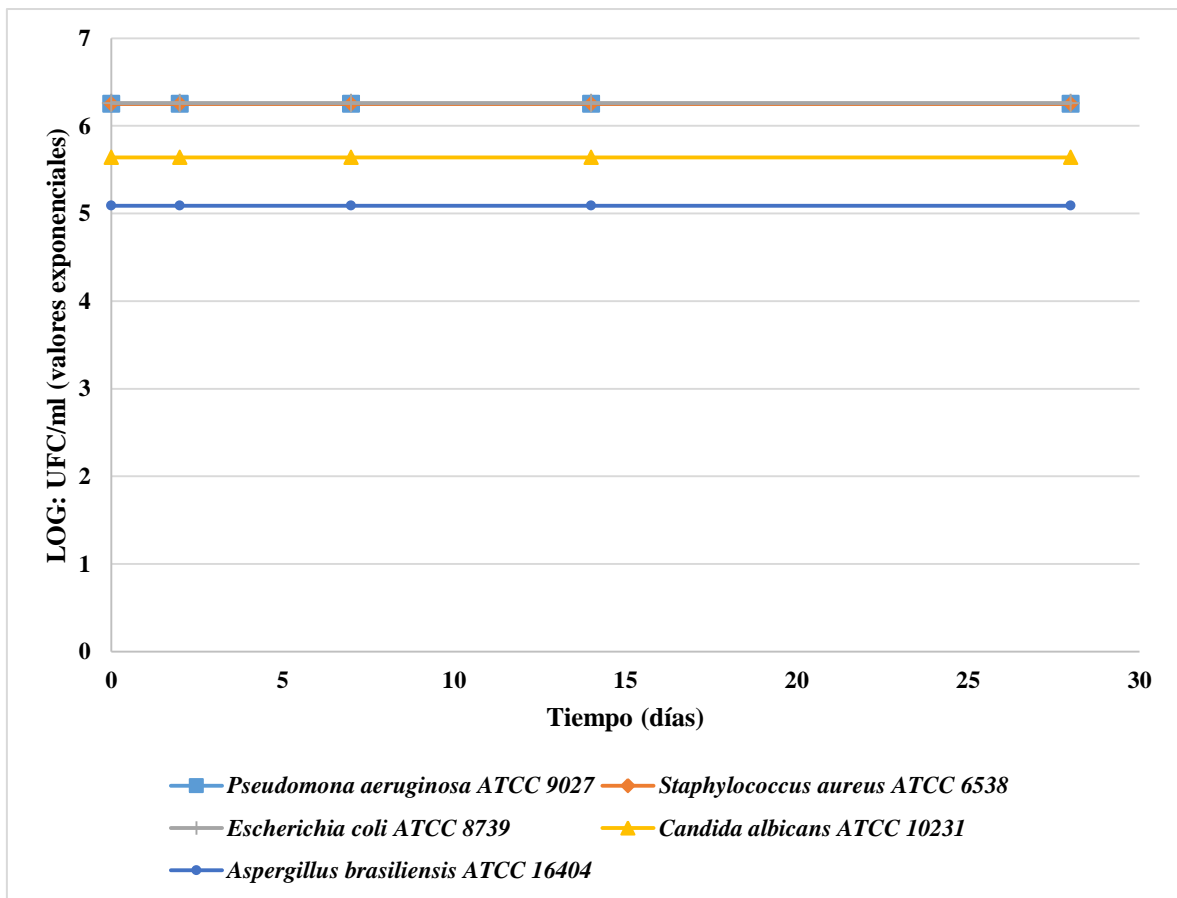
**Tabla 34. VARIACIÓN LOGARÍTMICA DE LA CARGA MICROBIANA EN LA FÓRMULA 1 (CAECU 0,4%)**

<b>Microorganismo Testeado</b>	<b>T<sub>0</sub></b>	<b>T<sub>2</sub></b>	<b>T<sub>7</sub></b>	<b>T<sub>14</sub></b>	<b>T<sub>28</sub></b>
<i>Pseudomona aeruginosa</i> ATCC 9027	6.25 log	6.25 log	6.25 log	6.25 log	6.25 log
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	6.22 log	6.22 log	6.22 log	6.22 log	6.22 log
<i>Escherichia coli</i> ATCC 8739	6.26 log	6.26 log	6.26 log	6.26 log	6.26 log
<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	5.64 log	5.64 log	5.64 log	5.64 log	5.64 log
<i>Aspergillus brasiliensis</i> ATCC 16404	5.09 log	5.09 log	5.09 log	5.09 log	5.09 log

**Elaborado por:** la autora

A continuación se realiza el gráfico de la variación logarítmica de la carga microbiana en la fórmula 1 (CAECU 0,4%):

**FIGURA 5. VARIACIÓN LOGARÍTMICA DE LA CARGA MICROBIANA EN LA FÓRMULA 1 (CAECU 0,4%)**



**Elaborado por:** la autora

De acuerdo con los resultados obtenidos la FÓRMULA 1 (CAECU 0,4%), no cumple con ninguno de los criterios (A o B) establecidos en el estándar internacional ISO 11930:2012, y, que para fines estadísticos se le asignará a ésta condición el nombre de criterio C. Por lo tanto el riesgo microbiológico para ésta formulación no es aceptable.

Por lo tanto, el aceite esencial de *Curcuma longa* al 0,4% utilizado como preservante de la fórmula cosmética, no protege al producto contra la proliferación microbiana por lo que es necesario tomar en cuenta otros factores inherentes a la formulación, y otros relacionados con el diseño del envase.

**FÓRMULA UNITARIA 2:** Fórmula de Crema, emulsión tipo O/W, que utiliza como ingrediente con función conservante el aceite esencial de rizomas de *Curcuma longa* al 1%.

**TABLA 35. PROMEDIO DE CONTAJE MICROBIANO FÓRMULA UNITARIA 2 (CAECU 1 %)**

<b>Microorganismo</b>	<b>T0</b>	<b>T2</b>	<b>T7</b>	<b>T14</b>	<b>T28</b>
<b>Testeado</b>	<b>UFC/ml</b>	<b>UFC/ml</b>	<b>UFC/ml</b>	<b>UFC/ml</b>	<b>UFC/ml</b>
<i>Pseudomona aeruginosa</i> ATCC 9027	$1,78 \times 10^6$	Incontable: $>1,78 \times 10^6$	Incontable: $>1,78 \times 10^6$	Incontable: $>1,78 \times 10^6$	Incontable: $>1,78 \times 10^6$
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	$1,64 \times 10^6$	Incontable: $>1,64 \times 10^6$	Incontable: $>1,64 \times 10^6$	$1,160 \times 10^3$	$4,22 \times 10^2$
<i>Escherichia coli</i> ATCC 8739	$1,82 \times 10^6$	Incontable: $>1,82 \times 10^6$	Incontable: $>1,82 \times 10^6$	$2,46 \times 10^2$	$< 10$
<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	$4,41 \times 10^5$	Incontable: $>4,41 \times 10^5$	Incontable: $>4,41 \times 10^5$	Incontable: $>4,41 \times 10^5$	Incontable: $>4,41 \times 10^5$
<i>Aspergillus brasiliensis</i> ATCC 16404	$1,23 \times 10^5$	Incontable: $>1,23 \times 10^5$	Incontable: $>1,23 \times 10^5$	Incontable: $>1,23 \times 10^5$	Incontable: $>1,23 \times 10^5$

**Elaborado por:** la autora

Para la determinación de la reducción logarítmica del crecimiento microbiano de los microorganismos inoculados en cada intervalo de tiempo establecido, se utiliza la ecuación 3 indicada en el punto 3.2.7.2.5. Los resultados se presentan en la siguiente tabla:

**TABLA 36. REDUCCIÓN LOGARÍTMICA DE CRECIMIENTO MICROBIANO  
FÓRMULA UNITARIA 2 (CAECU 1 %)**

Microorganismo Probado	REDUCCIÓN LOGARÍTMICA DE CRECIMIENTO MICROBIANO			
	T <sub>2</sub>	T <sub>7</sub>	T <sub>14</sub>	T <sub>28</sub>
<i>Pseudomona aeruginosa</i> ATCC 9027	0 log	0 log	0 log	0 log
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	0 log	0 log	≥ 3 log	NI
<i>Escherichia coli</i> ATCC 8739	0 log	0 log	≥ 3 log	≥ 6 log
<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	0 log	0 log	0 log	0 log
<i>Aspergillus brasiliensis</i> ATCC 16404	0 log	0 log	0 log	0 log

NI: no se produce incremento.

**Elaborado por:** la autora

El comportamiento del aceite esencial de *Curcuma longa* al 1% utilizado como preservante es el siguiente:

- *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*: Existe reducción del inóculo en al menos 3 logaritmos a los 14 días, sin producirse incremento posterior de las UFC/ml, cumpliendo así lo indicado para el criterio B.
- *Pseudomona aeruginosa*: No existe reducción del inóculo en al menos 3 logaritmos ni a los 7 días (Criterio A) como a los 14 días (Criterio B).
- *Candida albicans*: No existe reducción del inóculo en al menos 1 logaritmo ni a los 7 días (Criterio A) como a los 14 días (Criterio B).
- *Aspergillus brasiliensis*: No existe reducción del inóculo en al menos 1 logaritmo ni a los 28 días (Criterio A) como ninguna variación en relación al T<sub>0</sub> los 28 días (Criterio B).

En la siguiente tabla, se indica la variación logarítmica de la carga microbiana en logaritmo a los diferentes tiempos de análisis:

**Tabla 37. VARIACIÓN LOGARÍTMICA DE LA CARGA MICROBIANA EN LA FÓRMULA 2 (CAECU 1.0%)**

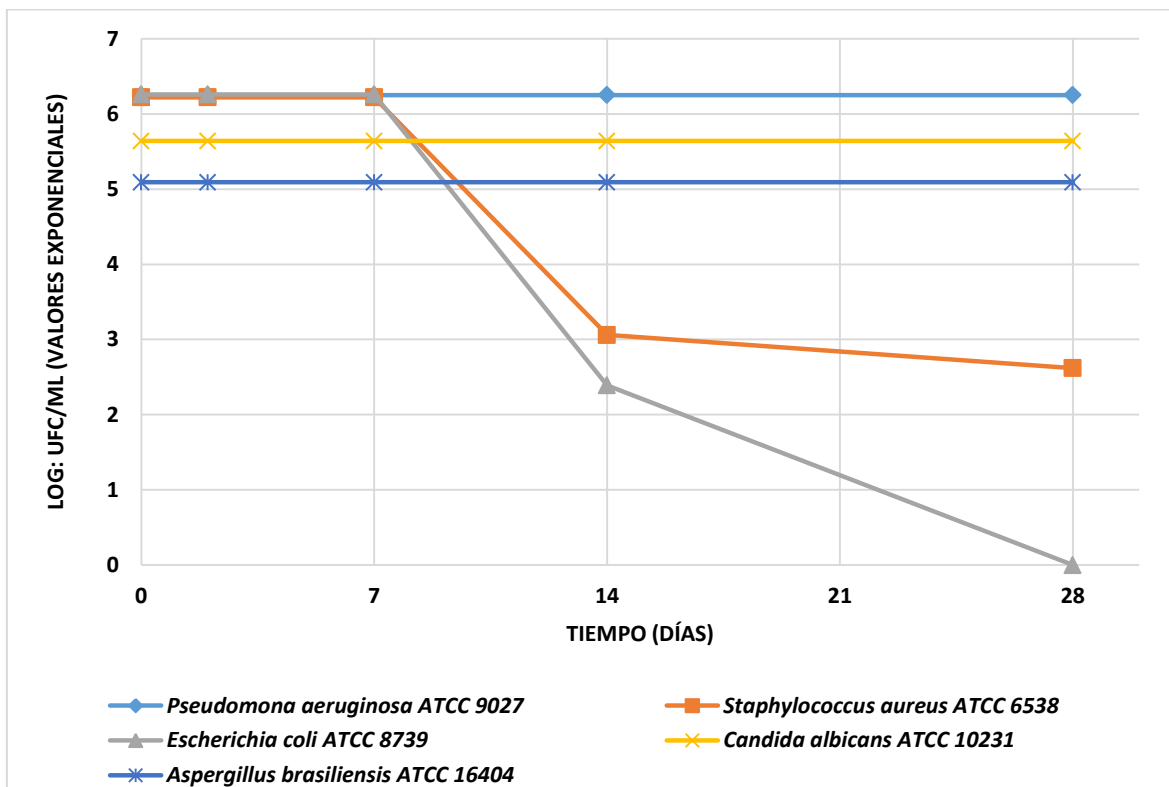
<b>Microorganismo Testeado</b>	<b>T<sub>0</sub></b>	<b>T<sub>2</sub></b>	<b>T<sub>7</sub></b>	<b>T<sub>14</sub></b>	<b>T<sub>28</sub></b>
<i>Pseudomona aeruginosa</i> ATCC 9027	6.25 log	6.25 log	6.25 log	6.25 log	6.25 log
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	6.22 log	6.22 log	6.22 log	3,06 log	2.62 log
<i>Escherichia coli</i> ATCC 8739	6.26 log	6.26 log	6.26 log	2.39 log	0 log
<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	5.64 log	5.64 log	5.64 log	5.64 log	5.64 log
<i>Aspergillus brasiliensis</i> ATCC 16404	5.09 log	5.09 log	5.09 log	5.09 log	5.09 log

**Elaborado por:** la autora

A continuación se realiza el gráfico de la variación logarítmica de la carga microbiana en la fórmula 2 (AECU 1.0%):



**FIGURA 6. VARIACIÓN LOGARÍTMICA DE LA CARGA MICROBIANA EN LA FÓRMULA 2 (CAECU 1%)**



**Elaborado por:** la autora

De acuerdo con los resultados obtenidos la FÓRMULA 2 (CAECU 1%), presenta comportamientos especiales frente a cada uno de los microorganismos testeados así:

***Pseudomona aeruginosa* ATCC 9027:** no cumple con los criterios A ni B establecidos en el estándar internacional ISO 11930, por lo que se le asigna el código de criterio C.

***Staphylococcus aureus* ATCC 6538 y *Escherichia coli* ATCC 8739:** Cumplen con los criterios establecidos para el criterio B del estándar internacional ISO 11930:2012.

***Candida albicans* ATCC 10231:** no cumple con los criterios A ni B establecidos en el estándar internacional ISO 11930, por lo que se le asigna el código de criterio C.

***Aspergillus brasiliensis* ATCC 16404:** no cumple con los criterios A ni B establecidos en el estándar internacional ISO 11930, por lo que se le asigna el código de criterio C.

De acuerdo con los criterios de evaluación indicados en el estándar ISO 11930:2012, el aceite esencial de *Curcuma longa* al 1% utilizado como preservante de la fórmula cosmética, no protege al producto totalmente a la formulación contra la proliferación microbiana por lo que es necesario tomar en cuenta otros factores inherentes a la formulación, y otros relacionados con el diseño del envase.

**FÓRMULA UNITARIA 3:** Fórmula de Crema, emulsión tipo O/W, que utiliza como ingrediente con función conservante el aceite esencial de rizomas de *Curcuma longa* al 2,5%

**TABLA 38. PROMEDIO DE CONTAJE MICROBIANO FÓRMULA UNITARIA 3 (CAECU 2,5 %)**

<b>Microorganismo</b>	<b>T<sub>0</sub></b>	<b>T<sub>2</sub></b>	<b>T<sub>7</sub></b>	<b>T<sub>14</sub></b>	<b>T<sub>28</sub></b>
<b>Testeado</b>	<b>UFC/ml</b>	<b>UFC/ml</b>	<b>UFC/ml</b>	<b>UFC/ml</b>	<b>UFC/ml</b>
<i>Pseudomona aeruginosa</i> ATCC 9027	1,78 x 10 <sup>6</sup>	9,78x10 <sup>2</sup>	< 10	< 10	< 10
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	1,64 x 10 <sup>6</sup>	< 10	< 10	< 10	< 10
<i>Escherichia coli</i> ATCC 8739	1,82 x 10 <sup>6</sup>	< 10	< 10	< 10	< 10
<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	4,41 x 10 <sup>5</sup>	< 10	< 10	< 10	< 10
<i>Aspergillus brasiliensis</i> ATCC 16404	1,23 x 10 <sup>5</sup>	< 10	< 10	< 10	< 10

**Elaborado por:** la autora

Para la determinación de la reducción logarítmica del crecimiento microbiano de los microorganismos inoculados en cada intervalo de tiempo establecido, se utiliza la ecuación 3 indicada en el punto 3.2.7.2.5. Los resultados se presentan en la siguiente tabla:

**TABLA 39. REDUCCIÓN LOGARÍTMICA DE CRECIMIENTO MICROBIANO  
FÓRMULA UNITARIA 3 (CAECU 2,5%)**

Microorganismo Probado	REDUCCIÓN LOGARÍTMICA DE CRECIMIENTO MICROBIANO			
	T <sub>2</sub>	T <sub>7</sub>	T <sub>14</sub>	T <sub>28</sub>
<i>Pseudomona aeruginosa</i> ATCC 9027	≥ 3 log	≥ 6 log	NI	NI
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	≥ 6 log	NI	NI	NI
<i>Escherichia coli</i> ATCC 8739	≥ 6 log	NI	NI	NI
<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	≥ 5 log	NI	NI	NI
<i>Aspergillus brasiliensis</i> ATCC 16404	≥ 5 log	NI	NI	NI

NI: no se produce incremento.

**Elaborado por:** la autora

El comportamiento del aceite esencial de *Curcuma longa* al 2,5% utilizado como preservante es el siguiente:

- *Staphylococcus aureus*: Existe reducción del inóculo en más de 3 logaritmos a los 7 días, sin producirse incremento posterior de las UFC/ml hasta los 28 días de la prueba.
- *Escherichia coli*: Existe reducción del inóculo en más de 3 logaritmos a los 7 días, sin producirse incremento posterior de las UFC/ml hasta el día 28.
- *Pseudomona aeruginosa*: Existe reducción del inóculo en más de 3 logaritmos a los 7 días, sin producirse incremento posterior de las UFC/ml hasta el día 28.
- *Candida albicans*: Existe reducción del inóculo en más de 1 logaritmo a los 7 días, sin producirse incremento posterior de las UFC/ml hasta el día 28.
- *Aspergillus brasiliensis*: Existe reducción del inóculo en más de 1 logaritmo a los 7 días, sin producirse incremento posterior de las UFC/ml hasta el día 28.

En la siguiente tabla, se indica la variación logarítmica de la carga microbiana en logaritmo a los diferentes tiempos de análisis:

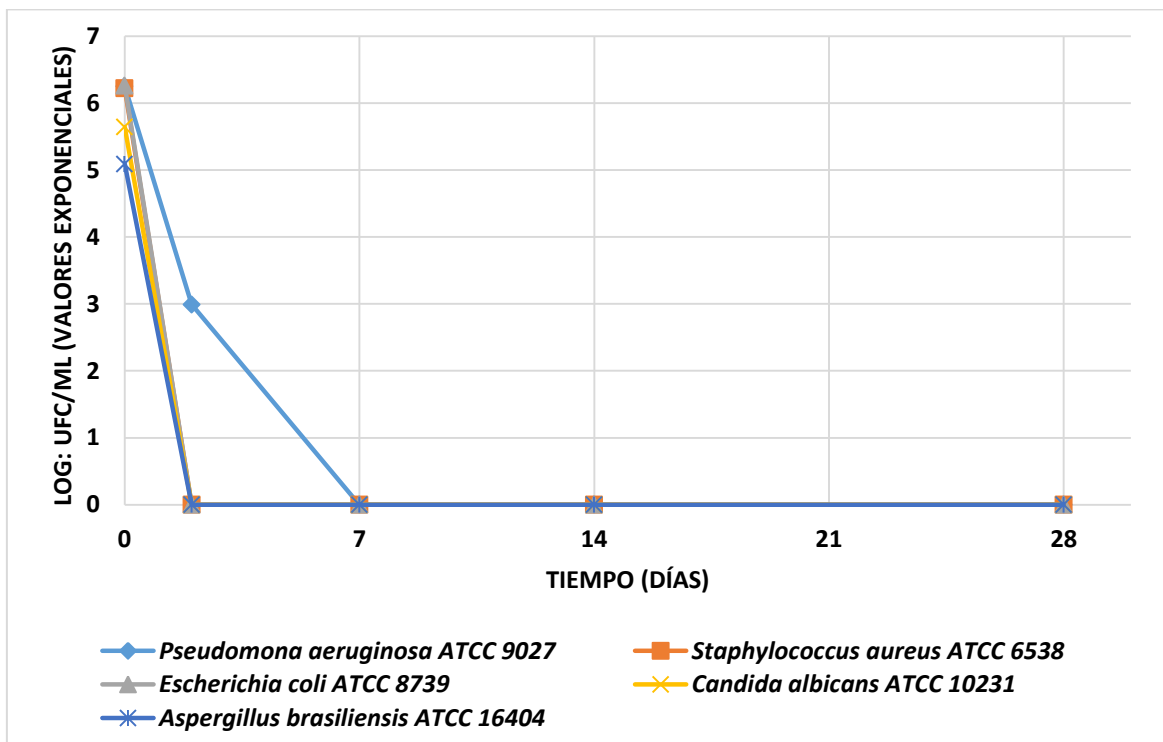
**Tabla 40. VARIACIÓN LOGARÍTMICA DE LA CARGA MICROBIANA EN LA FÓRMULA 3 (CAECU 2.5%)**

<b>Microorganismo Testeado</b>	<b>T<sub>0</sub></b>	<b>T<sub>2</sub></b>	<b>T<sub>7</sub></b>	<b>T<sub>14</sub></b>	<b>T<sub>28</sub></b>
<i>Pseudomona aeruginosa</i> ATCC 9027	6.25 log	2.99 log	0 log	0 log	0 log
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	6.22 log	0 log	0 log	0 log	0 log
<i>Escherichia coli</i> ATCC 8739	6.26 log	0 log	0 log	0 log	0 log
<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	5.64 log	0 log	0 log	0 log	0 log
<i>Aspergillus brasiliensis</i> ATCC 16404	5.09 log	0 log	0 log	0 log	0 log

**Elaborado por:** la autora

A continuación se realiza el gráfico de la variación logarítmica de la carga microbiana en la fórmula 3 (CAECU 2.5%):

**FIGURA 7. VARIACIÓN LOGARÍTMICA DE LA CARGA MICROBIANA EN LA FÓRMULA 3 (CAECU 2,5%)**



Elaborado por: la autora

De acuerdo con los resultados obtenidos la FÓRMULA 3 (CAECU 2.5%), el comportamiento del sistema preservante es el siguiente:

***Pseudomona aeruginosa* ATCC 9027, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 y *Escherichia coli* ATCC 8739:** cumplen con el criterio A para bacterias, establecido en el estándar internacional ISO 11930:2012.

***Candida albicans* ATCC 10231:** cumple con el criterio A establecido en el estándar internacional ISO 11930.

***Aspergillus brasiliensis* ATCC 16404:** cumple con el criterio A establecido en el estándar internacional ISO 11930.

Por lo tanto la fórmula cosmética 3, con 2.5% de aceite esencial de *Curcuma longa*, cumple con el criterio A para todos los microorganismos utilizados en el ensayo, protegiendo al producto contra la proliferación microbiana y no es necesario tener en cuenta otros factores que son independientes de la formulación.

**FÓRMULA UNITARIA 4:** Fórmula de Crema sin ingrediente con función conservante.

**TABLA 41. PROMEDIO DE CONTAJE MICROBIANO FÓRMULA UNITARIA 4  
(Crema sin conservante)**

<b>Microorganismo</b>	<b>T<sub>0</sub></b>	<b>T<sub>2</sub></b>	<b>T<sub>7</sub></b>	<b>T<sub>14</sub></b>	<b>T<sub>28</sub></b>
<b>Testeado</b>	<b>UFC/ml</b>	<b>UFC/ml</b>	<b>UFC/ml</b>	<b>UFC/ml</b>	<b>UFC/ml</b>
<i>Pseudomona aeruginosa</i> ATCC 9027	1,78 x 10 <sup>6</sup>	Incontable: >1,78 x 10 <sup>6</sup>	Incontable: >1,78 x 10 <sup>6</sup>	Incontable: >1,78 x 10 <sup>6</sup>	Incontable: >1,78 x 10 <sup>6</sup>
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	1,64 x 10 <sup>6</sup>	Incontable: >1,64x10 <sup>6</sup>	Incontable: >1,64x10 <sup>6</sup>	Incontable: >1,64x10 <sup>6</sup>	Incontable: >1,64x10 <sup>6</sup>
<i>Escherichia coli</i> ATCC 8739	1,82 x 10 <sup>6</sup>	Incontable: >1,82 x 10 <sup>6</sup>	Incontable: >1,82 x 10 <sup>6</sup>	Incontable: >1,82 x 10 <sup>6</sup>	Incontable: >1,82 x 10 <sup>6</sup>
<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	4,41 x 10 <sup>5</sup>	Incontable: >4,41 x 10 <sup>5</sup>	Incontable: >4,41 x 10 <sup>5</sup>	Incontable: >4,41 x 10 <sup>5</sup>	Incontable: >4,41 x 10 <sup>5</sup>
<i>Aspergillus brasiliensis</i> ATCC 16404	1,23 x 10 <sup>5</sup>	Incontable: >1,23 x 10 <sup>5</sup>	Incontable: >1,23 x 10 <sup>5</sup>	Incontable: >1,23 x 10 <sup>5</sup>	Incontable: >1,23 x 10 <sup>5</sup>

**Elaborado por:** la autora

Para la determinación de la reducción logarítmica del crecimiento microbiano de los microorganismos inoculados en cada intervalo de tiempo establecido, se utiliza la ecuación 3 indicada en el punto 3.2.7.2.5. Los resultados se presentan en la siguiente tabla:

**TABLA 42. REDUCCIÓN LOGARÍTMICA DE CRECIMIENTO MICROBIANO  
FÓRMULA UNITARIA 4 (Crema sin conservante)**

Microorganismo Probado	REDUCCIÓN LOGARÍTMICA DE CRECIMIENTO MICROBIANO			
	T <sub>2</sub>	T <sub>7</sub>	T <sub>14</sub>	T <sub>28</sub>
<i>Pseudomona aeruginosa</i> ATCC 9027	0 log	0 log	0 log	0 log
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	0 log	0 log	0 log	0 log
<i>Escherichia coli</i> ATCC 8739	0 log	0 log	0 log	0 log
<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	0 log	0 log	0 log	0 log
<i>Aspergillus brasiliensis</i> ATCC 16404	0 log	0 log	0 log	0 log

**Elaborado por:** la autora

El comportamiento de la crema formulada sin ingrediente con función conservante, es el siguiente:

- Bacteria Gram + (*Staphylococcus aureus*): No existe reducción del inóculo en al menos 3 logaritmos ni a los 7 días (Criterio A) como a los 14 días (Criterio B).
- Bacterias Gram – (*Escherichia coli* y *Pseudomona aeruginosa*): No existe reducción del inóculo en al menos 3 logaritmos ni a los 7 días (Criterio A) como a los 14 días (Criterio B).
- *Candida albicans*: No existe reducción del inóculo en al menos 1 logaritmo ni a los 7 días (Criterio A) como a los 14 días (Criterio B).
- *Aspergillus brasiliensis*: No existe reducción del inóculo en al menos 1 logaritmo ni a los 28 días (Criterio A) como ninguna variación en relación al T<sub>0</sub> los 28 días (Criterio B).

En la siguiente tabla, se indica la variación logarítmica de la carga microbiana en logaritmo a los diferentes tiempos de análisis:

**Tabla 43. VARIACIÓN LOGARÍTMICA DE LA CARGA MICROBIANA EN LA FÓRMULA 4 (crema sin conservante)**

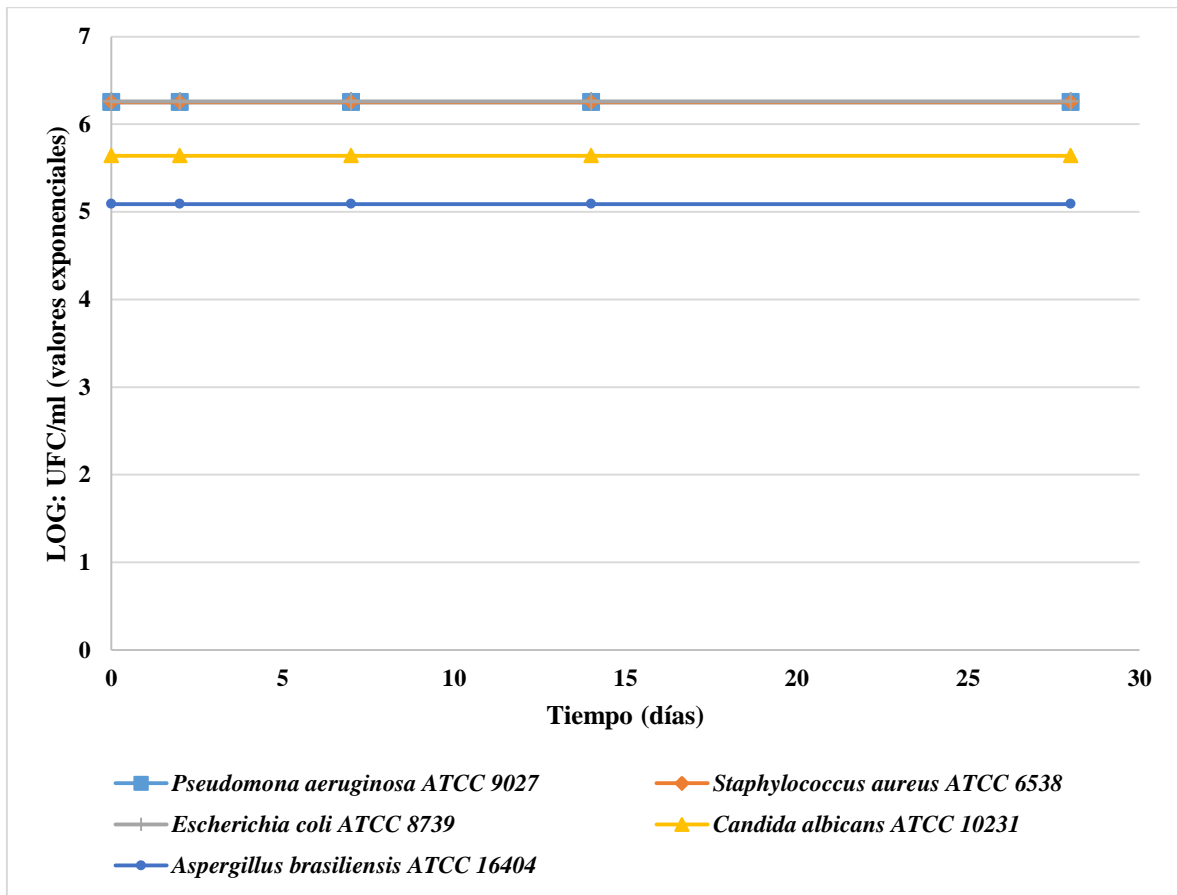
<b>Microorganismo Testeado</b>	<b>T<sub>0</sub></b>	<b>T<sub>2</sub></b>	<b>T<sub>7</sub></b>	<b>T<sub>14</sub></b>	<b>T<sub>28</sub></b>
<i>Pseudomona aeruginosa</i> ATCC 9027	6.25 log	6.25 log	6.25 log	6.25 log	6.25 log
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	6.22 log	6.22 log	6.22 log	6.22 log	6.22 log
<i>Escherichia coli</i> ATCC 8739	6.26 log	6.26 log	6.26 log	6.26 log	6.26 log
<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	5.64 log	5.64 log	5.64 log	5.64 log	5.64 log
<i>Aspergillus brasiliensis</i> ATCC 16404	5.09 log	5.09 log	5.09 log	5.09 log	5.09 log

**Elaborado por:** la autora

A continuación se realiza el gráfico de la variación logarítmica de la carga microbiana en la fórmula 4 (crema sin conservante):



**FIGURA 8. VARIACIÓN LOGARÍTMICA DE LA CARGA MICROBIANA EN LA FÓRMULA 4 (Crema sin conservante)**



**Elaborado por:** la autora

De acuerdo con los resultados obtenidos la FÓRMULA 4 (Crema sin conservante), no cumple con ninguno de los criterios (A o B) establecidos en el estándar internacional ISO 11930:2012, por lo tanto el riesgo microbiológico para ésta formulación no es aceptable.

Por lo tanto, la crema sin ingrediente con acción preservante, no protege por si sola al producto contra la proliferación microbiana por lo que es necesario tomar en cuenta otros factores inherentes a su formulación.

**FÓRMULA UNITARIA 5:** Fórmula de Crema, emulsión tipo O/W, que utiliza como ingrediente con función comprobada conservante, un preservante disponible en el mercado al 1% compuesto por aceite esencial de naranja, hierba luisa y sésamo. (Crema OLG 1%).

**TABLA 44. PROMEDIO DE CONTAJE MICROBIANO FÓRMULA UNITARIA 5 (Crema OLG 1%)**

<b>Microorganismo</b>	<b>T<sub>0</sub></b>	<b>T<sub>2</sub></b>	<b>T<sub>7</sub></b>	<b>T<sub>14</sub></b>	<b>T<sub>28</sub></b>
<b>Testeado</b>	<b>UFC/ml</b>	<b>UFC/ml</b>	<b>UFC/ml</b>	<b>UFC/ml</b>	<b>UFC/ml</b>
<i>Pseudomona aeruginosa</i> ATCC 9027	1,78 x 10 <sup>6</sup>	8,46x10 <sup>3</sup>	2,74x10 <sup>3</sup>	3,16x10 <sup>2</sup>	3,08x10 <sup>2</sup>
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	1,64 x 10 <sup>6</sup>	5,78x10 <sup>3</sup>	1,45x10 <sup>3</sup>	4,92x10 <sup>2</sup>	2,42x10 <sup>2</sup>
<i>Escherichia coli</i> ATCC 8739	1,82 x 10 <sup>6</sup>	8,46x10 <sup>3</sup>	2,48x10 <sup>3</sup>	2,16x10 <sup>2</sup>	5,8x10 <sup>1</sup>
<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	4,41 x 10 <sup>5</sup>	Incontable: >4,41 x 10 <sup>5</sup>	Incontable: >4,41 x 10 <sup>5</sup>	8,22x10 <sup>3</sup>	3,74x10 <sup>2</sup>
<i>Aspergillus brasiliensis</i> ATCC 16404	1,23 x 10 <sup>5</sup>	Incontable: >1,23 x 10 <sup>5</sup>	Incontable: >1,23 x 10 <sup>5</sup>	Incontable: >1,23 x 10 <sup>5</sup>	1,06x10 <sup>5</sup>

**Elaborado por:** la autora

Para la determinación de la reducción logarítmica del crecimiento microbiano de los microorganismos inoculados en cada intervalo de tiempo establecido, se utiliza la ecuación 3 indicada en el punto 3.2.7.2.5. Los resultados se presentan en la siguiente tabla:

**TABLA 45. REDUCCIÓN LOGARÍTMICA DE CRECIMIENTO MICROBIANO  
FÓRMULA UNITARIA 5 (Crema OLG 1%)**

Microorganismo Probado	REDUCCIÓN LOGARÍTMICA DE CRECIMIENTO MICROBIANO			
	T <sub>2</sub>	T <sub>7</sub>	T <sub>14</sub>	T <sub>28</sub>
<i>Pseudomona aeruginosa</i> ATCC 9027	2,32 log	2,81 log	≥ 3 log	NI
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	2,46 log	≥ 3 log	NI	NI
<i>Escherichia coli</i> ATCC 8739	2,33 log	2,87 log	≥ 3 log	NI
<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	0 log	0 log	≥ 1 log	NI
<i>Aspergillus brasiliensis</i> ATCC 16404	0 log	0 log	≥ 0 log	≥ 1 log

**Elaborado por:** la autora

El comportamiento de la Crema con OLG 1% en la cual se utiliza un preservante con comprobado efecto conservante el cual está compuesto de aceite esencial de naranja, hierba luisa y sésamo, es el siguiente:

- *Staphylococcus aureus*: Existe reducción del inóculo en más de 3 logaritmos a los 7 días, sin producirse incremento posterior de las UFC/ml hasta los 28 días que duró la prueba.
- *Escherichia coli* y *Pseudomona aeruginosa*: Existe reducción del inóculo en más de 3 logaritmos a los 14 días respectivamente, sin producirse incremento posterior de las UFC/ml hasta los 28 días que duró la prueba.
- *Candida albicans*: Existe reducción del inóculo en más 1 logaritmo a los 14 días, sin producirse incremento posterior de las UFC/ml hasta el día 28.
- *Aspergillus brasiliensis*: Existe reducción del inóculo en más de 1 logaritmo a los 28 días de la prueba.

En la siguiente tabla, se indica la variación logarítmica de la carga microbiana en logaritmo a los diferentes tiempos de análisis:

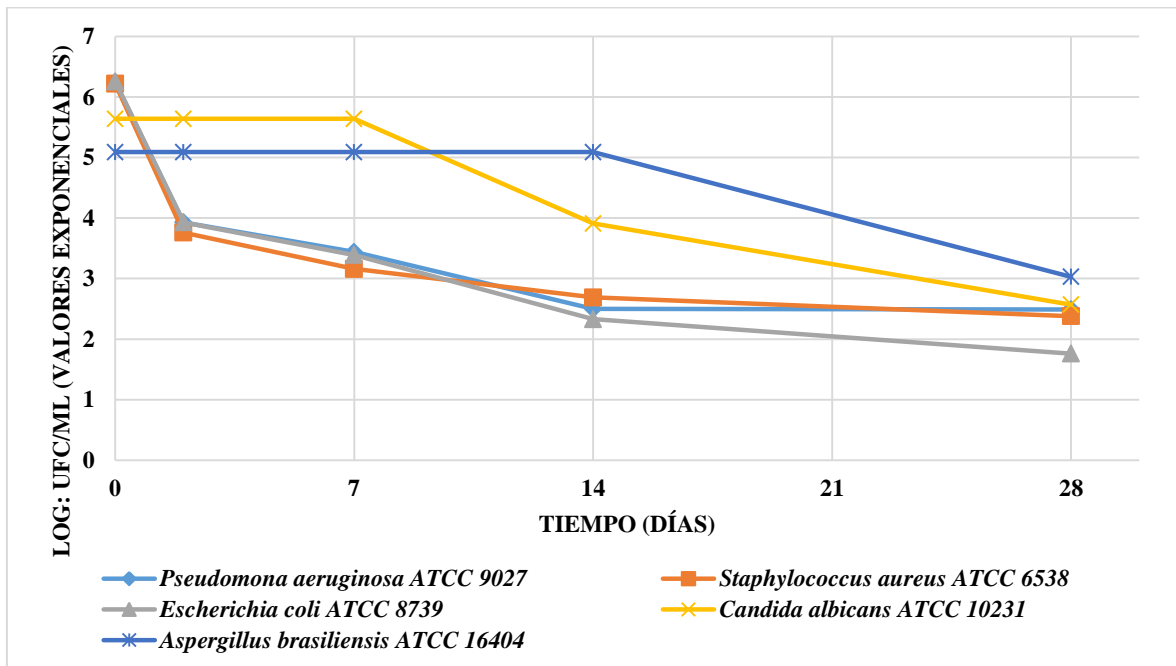
**Tabla 46. VARIACIÓN LOGARÍTMICA DE LA CARGA MICROBIANA EN LA FÓRMULA 5 (Crema OLG 1%)**

<b>Microorganismo Testeado</b>	<b>T<sub>0</sub></b>	<b>T<sub>2</sub></b>	<b>T<sub>7</sub></b>	<b>T<sub>14</sub></b>	<b>T<sub>28</sub></b>
<i>Pseudomona aeruginosa</i> ATCC 9027	6.25 log	3,93 log	3,44 log	2,5 log	2,49 log
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	6.22 log	3,76 log	3,16 log	2,69 log	2,38 log
<i>Escherichia coli</i> ATCC 8739	6.26 log	3,93 log	3,39 log	2,33 log	1,76 log
<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	5.64 log	5.64 log	5.64 log	3,91 log	2,57 log
<i>Aspergillus brasiliensis</i> ATCC 16404	5.09 log	5.09 log	5.09 log	5.09 log	3,03 log

**Elaborado por:** la autora

A continuación se realiza el gráfico de la variación logarítmica de la carga microbiana en la fórmula 5 (Crema OLG 1%):

**FIGURA 9. VARIACIÓN LOGARÍTMICA DE LA CARGA MICROBIANA EN LA FÓRMULA UNITARIA 5 (Crema OLG 1%)**



Elaborado por: la autora

De acuerdo con los resultados obtenidos la **FÓRMULA UNITARIA 5 (Crema OLG 1%)**, el comportamiento del sistema preservante es el siguiente:

***Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027 y *Escherichia coli* ATCC 8739:** cumplen con el criterio B para bacterias establecido en el estándar internacional ISO 11930.

***Staphylococcus aureus* ATCC 6538:** cumple con el criterio A para bacterias establecido en el estándar internacional ISO 11930.

***Candida albicans* ATCC 10231:** cumple con el criterio B establecido en el estándar internacional ISO 11930.

***Aspergillus brasiliensis* ATCC 16404:** cumple con el criterio A establecido en el estándar internacional ISO 11930.

De acuerdo con los criterios de evaluación indicados en la ISO 11930:2012, el conservante de la fórmula cosmética 5, protege al producto contra la proliferación microbiana SOLO si el análisis de riesgos demuestra la existencia de factores de control que no se relacionan con la formulación, como por ejemplo definir características de envases que puedan reducir el riesgo microbiológico.

## 4.5 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

### 4.5.1 DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN COMO CONSERVANTE DEL DE ACEITE ESENCIAL DE *Curcuma longa*.

#### 4.5.1.1 ANÁLISIS DE VARIANZA ANOVA DE DOS VÍAS Y TEST DE TUKEY (HSD)

Los datos utilizados para el análisis estadístico mediante análisis de varianza ANOVA de dos vías y test de Tukey (HSD), se indican a continuación, al igual que las equivalencias numéricas indicadas tanto para los criterios de aceptación de la eficacia conservante (tabla 16), como para los microorganismos ATCC utilizados (tabla 17):

**Tabla 47. DATOS UTILIZADOS PARA EL ANÁLISIS ESTADÍSTICO**

CEPAS ATCC	EQUIVALENCIA NUMÉRICA DE CEPAS ATCC UTILIZADAS	CONCENTRACIÓN DE ACEITE ESENCIAL DE <i>Curcuma longa</i> (%)	CRITERIO	EQUIVALENCIA NUMÉRICA DE CRITERIO DE ACEPTACIÓN SEGÚN ESTÁNDAR ISO 11930:2012
<i>Pseudomona aeruginosa</i> ATCC 9027	1	0.4	C	10
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	2	0.4	C	10
<i>Escherichia coli</i> ATCC 8739	3	0.4	C	10
<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	4	0.4	C	10
<i>Aspergillus brasiliensis</i> ATCC 16404	5	0.4	C	10
<i>Pseudomona aeruginosa</i> ATCC 9027	1	1	C	10
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	2	1	B	100
<i>Escherichia coli</i> ATCC 8739	3	1	B	100
<i>Candida albicans</i>	4	1	C	10

ATCC 10231				
<i>Aspergillus brasiliensis</i> ATCC 16404	5	1	C	10
<i>Pseudomona aeruginosa</i> ATCC 9027	1	2.5	A	1000
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	2	2.5	A	1000
<i>Escherichia coli</i> ATCC 8739	3	2.5	A	1000
<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	4	2.5	A	1000
<i>Aspergillus brasiliensis</i> ATCC 16404	5	2.5	A	1000

**Elaborado por:** la autora

Los resultados presentados en las siguientes figuras se obtienen de la aplicación de las pruebas estadísticas, establecidas en el apartado 3.2.8.1.

**FIGURA 10. RESULTADOS DEL ANÁLISIS DE VARIANZA ANOVA DE DOS VÍAS DE LOS CRITERIOS DE ACEPTACIÓN SEGÚN ESTÁNDAR ISO 11930:2012 DEL ACEITE ESENCIAL DE *Curcuma longa* FRENTE A LAS CONCENTRACIONES DE: 0,4%, 1% Y 2,5% Y A LOS MICROORGANISMOS ATCC UTILIZADOS.**

Source		DF	SS	MS	F	P
CONCENTRA		2	3152520	1576260	1946,00	0,0328
CEPA		4	3240	810	1,00	0,0439
Error		8	6480	810		
Total		14	3162240			

**Elaborado por:** la autora

El análisis estadístico ANOVA de dos vías, proporcionó como resultado que existe diferencia entre las concentraciones de aceite de *Curcuma longas* ensayadas y los microorganismos utilizados frente a los criterios establecidos en estándar ISO 11930:2012. Para poder discriminar cuál es la diferencia entre las concentraciones utilizadas de aceite esencial de *Curcuma longa*, a fin de determinar cuál es más efectiva como conservante

frente a los criterios establecidos en el estándar internacional ISO 11930:2012, se realizó el Test de Tukey, el cual se indica a continuación:

**Figura 11. RESULTADOS DEL TEST DE TUKEY DE LOS CRITERIOS DE ACEPTACIÓN DE EFICACIA MICROBIANA FRENTE A LAS CONCENTRACIONES DEL ACEITE ESENCIAL DE *Curcuma longa* AL 0,4%, 1% Y 2,5%.**

```

Statistix 10,0 (30-day Trial)

Tukey HSD All-Pairwise Comparisons Test of CRITERIO for CONCENTRA

CONCENTRA      Mean  Homogeneous Groups
    2,5         1000,0  A
    1,0          46,0  B
    0,4          10,0  B

Alpha    0,05  Standard Error for Comparison  18,000
Critical Q Value      4,034  Critical Value for Comparison  51,346
There are 2 groups (A and B) in which the means
are not significantly different from one another.

```

**Elaborado por:** la autora

El test evidenció la existencia de dos grupos (A y B), en donde el grupo A corresponde a la concentración de 2,5% de aceite esencial de cúrcuma como el grupo más homogéneo y, el grupo B conformado por las concentraciones del 1% y 0.4% de aceite esencial de cúrcuma, en los cuales no hay diferencia significativa. Por lo tanto la concentración al 2.5% de aceite esencial de cúrcuma es la concentración más efectiva como conservante para todos los microorganismos ATCC utilizados, teniendo en consideración que a la concentración del 1% de aceite de cúrcuma es efectivo para los microorganismos *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*.

Adicional, se compara los criterios establecidos en estándar internacional ISO 11930:2012 para cada una de las cepas mediante el Test de Tukey, indicados en la siguiente figura:

**Figura 12. RESULTADOS DEL TEST DE TUKEY DE LOS CRITERIOS DE ACEPTACIÓN DE EFICACIA MICROBIANA FRENTE A LOS MICROORGANISMOS ATCC UTILIZADOS.**



Tukey HSD All-Pairwise Comparisons Test of CRITERIO for CEPA			
CEPA	Mean	Homogeneous Groups	
2	370,00	A	
3	370,00	A	
1	340,00	A	
4	340,00	A	
5	340,00	A	
Alpha	0,05	Standard Error for Comparison	23,238
Critical Q Value		4,877	Critical Value for Comparison 80,138
There are no significant pairwise differences among the means.			

**Elaborado por:** la autora

Se evidencia la existencia de un solo grupo (A) que corresponde a la concentración del 2,5%. Por lo tanto, a la concentración del 2,5% el aceite esencial de *Curcuma longa*, es la que tiene mayor eficacia conservante frente a cada una de las cinco cepas utilizadas del estándar internacional ISO 11930:2012, como son: *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Escherichia coli* ATCC 8739, *Candida albicans* ATCC 10231 y *Aspergillus brasiliensis* ATCC 16404, sobresaliendo por encima de la concentración de aceite al 1%, el cual es efectivo solo frente *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*.

## CAPITULO 5 – CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

### 5.1 CONCLUSIONES

1. Se comprueba la hipótesis planteada, en la cual el aceite esencial de *Curcuma longa* incorporado en una formulación cosmética orgánica y natural, es eficaz como conservante a una concentración del 2,5%, ya que cumple con el criterio de aceptación A del estándar internacional ISO 11930:2012.
2. Se elaboraron cinco formulaciones cosméticas de cremas del tipo emulsión aceite en agua, las cuales cumplen con la proporción de ingredientes orgánicos indicados en la norma Ecocert para Cosméticos Naturales y Orgánicos en el producto terminado, con lo cual se comprueba que es posible desarrollar una formulación para éste tipo de producto.
3. Se evidencia que a medida que aumenta la concentración de aceite esencial de *Curcuma longa*, el costo de la formulación cosmética, aumenta de manera importante, siendo así que a la concentración del 2.5% en la cual es eficaz como conservante, el costo por kilo de la misma, aumenta 189.94% en relación a la base de crema sin adición de aceite esencial.
4. Las fórmulas cosméticas elaboradas, cumplen con las especificaciones generales de pH para productos cosméticos estando sus valores dentro del rango de 4 a 7 que garantizan la eudermia de la piel, en cuanto a la viscosidad de las mismas sus resultados indican que las formulaciones elaboradas corresponden a la categoría de cremas consistentes del tipo emulsión agua en aceite de acuerdo a los parámetros indicados.

5. La fórmula 1 con aceite esencial de *Curcuma longa* al 0,4%, no cumple con ninguno de los criterios (A o B) establecidos en el estándar internacional ISO 11930:2012 ya que no existieron las disminuciones de carga bacteriana que se establece para cada criterio, por lo tanto a ésta concentración no es aconsejable utilizar el aceite esencial de cúrcuma como único preservante en la fórmula cosmética ya que no protege al producto contra la proliferación microbiana por lo que es necesario tomar en cuenta otros factores inherentes a la formulación, y otros relacionados con el diseño del envase.
6. La fórmula 2 con aceite esencial de *Curcuma longa* al 1%, tiene efectividad conservante únicamente frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 y *Escherichia coli* ATCC 8739, ya que cumplen con los criterios establecidos para el criterio B, por lo tanto al tener eficacia solo frente a dos microorganismos a ésta concentración, no es aconsejable utilizarlo como único preservante de una la formulación cosmética ya que no protege de manera amplia contra todos los microorganismos utilizados en la prueba.
7. La fórmula 3 con aceite esencial de *Curcuma longa* al 2.5%, cumple con el criterio A establecido en el estándar internacional ISO 11930 frente a las cinco cepas establecidas para el ensayo. El comportamiento preservante frente a cada uno de los microorganismos ensayados fue el siguiente: *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Escherichia coli* ATCC 8739, *Candida albicans* ATCC 10231 y *Aspergillus brasiliensis* ATCC 16404, hubo reducción total del inóculo a los 2 días de haber iniciado la prueba, y para *Pseudomona aeruginosa* ATCC 9027, la reducción total de inóculo fue a los 7 días de haber iniciado la prueba. Por lo tanto el aceite esencial de cúrcuma utilizado al 2,5% como conservante de una formulación cosmética, protege al producto contra la proliferación microbiana y no es necesario tener en cuenta otros factores que sean dependientes de la formulación.
8. En el análisis estadístico, mediante el test de Tukey, se reconfirma que la concentración al 2.5% de aceite esencial de cúrcuma es la más efectiva como conservante para todos los microorganismos ATCC utilizados, teniendo en consideración que a la concentración del 1% de aceite de cúrcuma es también efectivo para dos

microorganismos: *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*, y, que al comparar los criterios establecidos en el estándar internacional ISO 11930:2012 para cada una de las cepas ATCC utilizadas, es un conservante de amplio espectro.

## **5.2 RECOMENDACIONES**

- La presente investigación constituye una base para continuar con el estudio de recursos naturales de nuestro país para su utilización dentro de la industria cosmética, ya que, de acuerdo a estrategias gubernamentales éste sector está adquiriendo avances importantes.
- Se recomienda seguir con investigaciones relacionadas con el ámbito orgánico y natural dentro de la cosmética, sustentando las formulaciones desarrolladas en base a normativas que garanticen el origen de sus materias primas, de tal manera que se cumplan con los parámetros de calidad.
- Continuar con el estudio de estabilidad de la formulación desarrollada.
- Complementar el desarrollo de la fórmula desarrollada, mediante estudios toxicológicos y de hipersensibilidad cutánea antes de realizar su producción para consumo humano.

## BIBLIOGRAFÍA

- Aa. Vv. (2007). *Manuale del cosmetologo. Tecnica farmaceutica e cosmetica*. Milano: Tecniche Nuove.
- Adams, R. (2009). *Identification of Essential Oil Componentes by Gas Chromatography/Mass Spectrometry*. Illinois: AlluredBooks.
- Alcalde, M. (2008). Cosmética Natural y Ecológica regulación y clasificación. *Ambito Farmaceutico*, 27(9), 96-103.
- Andrews, M. (2001). Determination of Minimum Inhibitory Concentration. *Journal Antimicrobial Chemotherapy*, 48(31), 5-16.
- ANVISA. (2005). *Guía de Estabilidad de Productos Cosméticos*. Brasilia, Brasil: Agencia Nacional de Vigilancia Sanitaria.
- Bastidas, O. (2012). Conteo de la cámara de Neubauer. *Technical Note*, 1-5.
- Bauer, A., Kirby, W., Sherris, J., & Turck, M. (1966). Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. *American Journal of Clinical Pathology*, 45(4).
- Bele, A., Jadhav, V., Nikam, S., & Kadam, V. (2009). Antibacterial Potential of Herb Formulation. *Research Journal of Microbiology*, 164-17.
- Brooks, G., Butel, J., & Morse, S. (2005). *Microbiología médica de Jawetz, Melnick y Adelberg* (Décimo octava ed.). México: Manual Moderno.
- CAN, C. A. (2011). Resolución 1418: Límites de contenido microbiológico de productos cosméticos. (1953). Lima, Peru.
- CAN, Comunidad Andina de Naciones. (2002). *DECISIÓN 516: Armonización de Legislaciones en materia de Productos Cosméticos*. Lima.
- Carlone, N., & Pompei, R. (2013). *Microbiología farmaceutica*. Napoles: Edises.
- Centro de Investigaciones Hidráulicas. (2006). Procedimiento para la Medición de Sólidos Totales. En *Laboratorio de Sistemas Ambientales* (págs. 1-5). Panamá: Universidad Tecnológica de Panamá.
- Cermeño, J., & Torres, J. (1998). Método espectrofotométrico en la preparación del inóculo de hongos dematiáceos. *Rev Iberoam Micol*, 155-157.
- Cerra, H., Fernández, M., Horak, C., Lagomarsino, M., Torno, G., & Zarankin, E. (2013). *MANUAL DE MICROBIOLOGÍA APLICADA A LAS INDUSTRIAS FARMACÉUTICA, COSMÉTICA Y DE PRODUCTOS MÉDICOS*. Buenos Aires: Asociación Argentina de Microbiología.

- Coy, C., & Acosta, E. (2013). Actividad antibacteriana y determinación de la composición química de los aceites esenciales de romero (*Rosmarinus officinalis*), tomillo (*Thymus vulgaris*) y cúrcuma (*Curcuma longa*) de Colombia. *Rev Cubana Plant Med*, 237-246.
- Dorman, H., & Deans, S. (2000). Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. *Journal of Applied Microbiology*, 88, 308–316.
- Duber-Smith, D. (2013). *Labeling for Legitimacy: Certifications for Natural and Organic Personal Care*. Obtenido de Cosmetics & Toiletries.
- ECOCERT. (Mayo de 2012). NORMA ECOCERT COSMETICOS NATURALES Y ECOLOGICOS. Versión 2. Obtenido de <http://www.ecocert.com/sites/default/files/u3/Norma-Ecocert.pdf>
- Escuela Politécnica de Ingeniería de Minas y Energía. (2006). Práctica N°4: Cálculo de la densidad. En *Física I* (págs. 39-40). Torrelavega: Universidad de Cantabria.
- GCI Magazine. (2014). Organic Monitor Addressing the Challenges That Come with Green Active Opportunities.
- Hamilton dos Santos. (2010). Emulsiones Cosméticas. *Cosmeticos & Tecnología Latinoamericana*, 31-35.
- Hammer, K., Carson, C., & Riley, T. (1999). Antimicrobial activity of essential oils and other plant extracts. *Journal of Applied Microbiology*(86), 985–990.
- Jain, S., & Kar, A. (1971). The antibacterial activity of some essential oils and their combinations. *Planta Medica*, 20, 118–123.
- Janssen, M., Scheffer, J., & Svendsen, A. (1987). Antimicrobial activities of essential oils: a 1976–86 literature review on possible applications. *Pharmaceutische Weekblad (Scientific Edition)*, 9, 193–197.
- Jayaprakasha, G. K., Jena, B., Negi, P., & Sakariah, K. (2002). Evaluation of Antioxidant Activities and Antimutagenicity of Turmeric Oil: A Byproduct from Curcumin Production. *Z. Naturforsch.*, 828-835.
- Jayaprakasha, G., Negi, P., Anandharamakrishnan, C., & Sakariah, K. (2001). Antifungal Activity of Turmeric Oil. *Z. Naturforschung*, 40-44.
- Kalemba. (2010). Antibacterial and Antifungal Properties of Essential Oils. *Current Medicinal Chemistry*, 813-829.
- Kunicka-Styczyn´ska, A., Sikora, M., & Kalemba, D. (2009). Antimicrobial activity of lavender, tea tree and lemon oils in cosmetic preservative systems. *Journal of Applied Microbiology*, 1903–1911.

- Lass-Flörl, C., Perkhofer, S., & Mayr, A. (11 de January de 2010). In vitro susceptibility testing in fungi: a global perspective on a variety of methods. *Mycoses: Diagnosis, Therapy and Prophylaxis of Fungal Diseases*, 53(1), 1-11.
- Lenette, E. (1989). *Manual de Microbiología Clínica* (Cuarta ed.). Buenos Aires: Médica Panamericana.
- León, A. (2001). *Métodos clásicos de análisis microbiológicos*. Recuperado el 05 de Abril de 2014, de [www.uva.es/guia\\_docente.pdf](http://www.uva.es/guia_docente.pdf)
- Leranz. (2002). Conservantes Cosméticos. *OFFARM*, 21(7), 74-78.
- Lifshitz, A. (2003). La pretendida supremacía de lo natural. *Gaceta Médica Mexico*, 294-298.
- Lis-Balchin, M., & Deans, S. (1997). Bioactivity of selected plant essential oils against *Listeria monocytogenes*. *Journal of Applied Microbiology*, 82, 759–762.
- Lopez, K. (2013). *Oportunidades para cosméticos y productos de cuidado personal en la Unión Europea*. San Jose, Costa Rica: PROCOMER.
- Maguna, F., Romero, A., Garro, O., & Okulik, N. (2006). *Actividad Antimicrobiana de un grupo de Terpenoides*. Obtenido de Universidad Nacional del Nordeste: <http://www.unne.edu.ar/unnevieja/Web/cyt/cyt2006/08-Exactas/2006-E-057.pdf>
- Manou, I., Bouillard, L., Devleeschouwe, M., & Barel, A. (1998). Evaluation of the preservative properties of *Thymus vulgaris* essential oil in topically applied formulations under a challenge test. *Journal of Applied Microbiology*, 84, 368–376.
- Marienfeld Laboratory Glassware. (2011). *Cámara de recuento*. Lauda-Königshofen: Marienfeld Laboratory Glassware.
- Martini, M. (2005). *Introducción a la Dermofarmacia y a la Cosmetología*. Zaragoza-España: Acribia S.A.
- Maturin, L; Peeler, J. (2001). *Bacteriological Analytical Manual: Aerobic Plate Count*. U.S. Food and Drug Administration.
- Mesa, Ramirez-Tortosa, Aguilera, Ramirez-Boscá, & Gil. (2000). Efectos farmacológicos y nutricionales de los extractos de *Curcuma longa* L. y de los cucuminoides. *Ars Pharmaceutica*, 307-321.
- Microbiología! Outside. (2010). *Bacteriología: Fisiología bacteriana, Medida del crecimiento*. Recuperado el 23 de Junio de 2014, de [www.microbiologia.com.ar](http://www.microbiologia.com.ar)
- MicroBioLogics. (2011). *Kwik-Stik*. Saint Cloud: Microbiologics Retail Catalog.
- MicroBioLogics. (2011). *Kwik-Stik*. Saint Cloud: Microbiologics Retail Catalog.

- Ministerio de Industrias y Productividad. (2014). Sector cosméticos se comprometió a incrementar su producción durante este año. Obtenido de <http://www.industrias.gob.ec/bp005-sector-cosmeticos-se-comprometio-a-incrementar-su-produccion-durante-este-ano/>
- Miñana, M., & Goncalves, E. (2011). Aplicaciones cosméticas y farmacéuticas de los surfactantes. Mérida - Venezuela.
- Montaño, C. (2004). Evaluación sistémica de las potencialidades empresariales a partir de la Curcuma longa en el Departamento de Caldas. Tesis de Especialista en Gestión de Proyectos de Desarrollo Agroindustrial. Universidad Nacional de Colombia. Manizales, Colombia.
- Mosquera, T., & Veloz, T. (2011). Eficacia in vitro de un colutorio elaborado con aceite esencial de la hoja de ishpingo Ocotea quixos (Lam.) Kostern. ex. O.C.Schmidt y clavo de olor Syzygium aromaticum (L.) Merr.& L.M. Perry. *La Granja*, XIII(1), 31-41.
- Naranjo, M., Dávalos, M., Batallas, B., Granja, J., Velarde, E., Rosales, O., . . . Portilla, K. (2013). *Proyecto análisis de vulnerabilidades a nivel municipal: perfil territorial cantón San Miguel de Ibarra*. Cotopaxi: Universidad Técnica del Norte.
- Norma Técnica Nacional de Perú. (1974). *Aceites esenciales*. Lima: ITINTEC.
- Olmos, L. (2002). Acciones y Formas cosméticas. *Dermocosmos*.
- Papageorgiou, S., Varvareseou, A., Tsirivas, E., & Demetzos, C. (2010). New Alternatives to cosmetic preservation. *Journal of Cosmetic Science*, 61, 107-123.
- Parthasarathy, V., Chempakam, B., & Zachariah, T. (2008). *Chemistry of Spices*. Londres: CABI.
- Pawel, L., & Ross-Fichtner, R. (2014). What Green Means For Cosmetics. *Cosmetics & Toiletries*.
- Penning, A. (Octubre de 2012). The Lure of Organic Ingredients. 42-45.
- Penning, A. (26 de Junio de 2013). Demand for Organic Beauty to Grow to Over \$13 Billion by 2018. *Cosmetics & Toiletries*.
- Proexport Colombia. (2008). *SECTOR COSMETICOS*. Bogotá: Fiducoldex – Fideicomiso Proexport Colombia.
- Rambir, S., Rames, C., Mridula, B., & Pratibha, M. (2002). Antibacterial activity of Curcuma longa rhizome extract on. *Current science*, 737-740.



- Ramirez, L., & Marin, D. (2009). Metodología para evaluar in vitro la actividad antibacteriana de compuestos de origen vegetal. *Red de Revistas Científicas de América Latina, el Caribe, España y Portugal*, 15(42), 263-268.
- Roden, K. (2010). Preservatives in personal care products. *Microbiology australia*.
- Romero, I. (2012). Medición de pH y Dureza. En *Procedimientos Complementarios* (págs. 363-365). México: Instituto Nacional de Ecología y Cambio Climático.
- Roussos, S., Aquiahuatl, M., Brizuela, M., Olmos, A., Rodríguez, W., & Viniegra, G. (1989). Producción, Conservación y Viabilidad de Inóculo de hongos filamentosos para las fermentaciones sólidas. *Micologia neotropical aplicada*, 3-17.
- Sabinsa. (2013). *Sabilize – New. Natural Preservative from Sabinsa*. Obtenido de <http://www.sabinsa.com/products/functional-cosmetic-blends/sabilize-new/sabilizenew-presentation.pdf>
- Salinaturals. (2014). *Salinaturals Naturals Preservatives*. Obtenido de <http://www.salinaturals.com>
- Sánchez, Y., Correa, T., Abreu, Y., Martínez, B., Duarte, Y., & Pino, O. (2011). CARACTERIZACIÓN QUÍMICA Y ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DEL ACEITE ESENCIAL DE *Piper marginatum* Jacq. *Rev. Protección Vegetal*, 170-176.
- Sartoratto, A., Machado, A., Delarmelina, C., Figueira, G., Duarte, M., & Rehder, V. (2004). COMPOSITION AND ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF ESSENTIAL OILS FROM AROMATIC PLANTS USED IN BRAZIL. *Brazilian Journal of Microbiology*(35), 275-280.
- Shagufta, SAFIA, SAIQA, FARKHANDA, FARAH, & AAMIR. (2010). ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF CURCUMA LONGA VARIETIES AGAINST DIFFERENT STRAINS OF BACTERIA. *Pak. J. Bot*, 455-462.
- Sharma, R., Misra, B., Sarma, T., Bordoloi, A., Pathak, M., & Leclercq, P. (1997). Essential oils of *Curcuma longa* L. from Bhutan. *Journal of Essential Oil*, 589–592.
- Sharma, S., & Garrison, S. (2014). Make Your Green Claims Mean Something. *GCI Magazine*, 46-49.
- Singh R, & Jain D. (2011). Evaluation of Antimicrobial activity of Volatile Oil and total. *International Journal of ChemTech Research*, 1172-1178.
- Steinberg, D. (2011). Effective vs. Ineffective Preservation Using Water Activity. *Cosmetics & Toiletries*, 1-7.
- Thormar, H. (2011). *Lipids and Essential Oils as Antimicrobial Agents*. Wiley .

- Tyrimou, N. (2014). The Different Faces of Natural Skin Care. *GCI Magazine*, 54-55.
- Uddin Chowdhury, J., Chandra Nandi, N., Islam Bhuiyan, M., & Hosnay Mobarok, M. (2008). Essential Oil Constituents of The Rhizomes of Two Types of *Curcuma longa* of Bangladesh. *Bangladesh Journal of Scientific and Industrial Research*, 259-266.
- Vabirua-Lechat, I., Menut, C., Lamaty, G., & Bessiere, J. (1996). Etudes chimiques des huiles essentielles de quelques labiees de Polynesie francaise. *Rivista Italiana Eppos*, 627-638.
- Varvaresou, A., Papageorgiou, S., Tsirivas, E., Protopapa, E., Kintziou, H., Kefala, V., & Demetzos, C. (2009). Self-preserving cosmetics. *International Journal of Cosmetic Science*(31), 163-175.
- Villacrés, V. (1995). *Bioactividad de Plantas Amazónicas*. Quito: Universidad Central del Ecuador, Instituto de Ciencias Naturales.
- Viscasillas, A., & A. del Pozo, J. (2007). Pastas en cosméticos: conceptos generales y elementos para sus formulación. *Aula de la Farmacia*, 68-73.
- Vivaness. (2013). *La cosmética natural continúa en pleno crecimiento*. Obtenido de <http://www.vivaness.de/de/presse/presseinformationen/?focus=es&focus2=nxps%3A%2>
- Wilkinson, J., & Moore, R. (1990). *Cosmetología de Harri*. Madrid: Diaz de Santos S.A.
- Yáñez, P. (2010). *Biometría y Bioestadística Fundamentales* (Primera ed.). Quito, Ecuador.

## ANEXOS

### Anexo 1. Ficha Técnica Aceite esencial de Cúrcuma (*Curcuma longa*)

# FICHA TÉCNICA



Fundación Chankuap<sup>1</sup>, Dirección: Vidal Rivadeneira y Hernando de Benavente, Macas – Ecuador EC140150; Telf.: (593)7-2701703, e-mail: chankuap@fma.pro.ec. Para mayor información contactar: Área de Transformación de productos

## ACEITE ESENCIAL CÚRCUMA

(TURMERIC ESSENTIAL OIL)

### 1. Descripción

El aceite esencial de Cúrcuma (*Curcuma longa*) es un producto obtenido de las rizomas por medio de una destilación por arrastre de vapor.

Se trata de un aceite esencial totalmente natural sin aditivos químicos.

### 2. Aplicaciones

Ingrediente natural para cosméticos (Aroma)

### 3. Especificaciones

INCI name (sugerido): *Curcuma longa*  
CAS No.: No disponible  
EINECS No.: No disponible

COMPUESTO	% Id	COMPUESTO	% Id
<i>α</i> -pineno	1,1	<i>α</i> -Humulene	0,23
Myrcene	0,69	<i>β</i> -Farnesene cis	0,36
<i>α</i> -Phellandrene	20,42	<i>α</i> -Curcumene	2,9
3-Carene	0,35	Zingiberene	6,9
<i>α</i> -Terpinene	1,26	<i>β</i> -Bisabolene	1,23
Cimene	3,61	<i>β</i> -Sesquiphellandrene	5,45
1,8-Cineolo	10,3	Ar-Tumerolo	0,93
<i>δ</i> -Terpinene	1,01	Ar-Tumerone	1,08
Terpinolene	6,19	<i>α</i> -Tumerone	19,79
<i>α</i> , cis Z Bergamotene	0,19	<i>β</i> -Tumerone	7,35
<i>β</i> -Caryophyllene	1,49		

GC-MS Estudio de la Universidad de Ferrara (Italia)

DATO DE ANÁLISIS	RANGO	MÉTODO
Apariencia Visual	Líquido aceitoso transparente	Visual
Color	Ligeramente amarillo	Visual
Olor	Típica nota a especia	Olor
Densidad (g/ml)	0.9100 – 0.9200	<841>USP
Índice de Refracción	1.4800 – 1.500	<831>USP
Índice de Acidez (%)	1.3 – 1.5	Método Interno
Solubilidad en alcohol	Completamente soluble en alcohol 96°	Método Interno

Fecha de emisión: 20/02/09

Fecha de revisión: 20/02/09

1 | Página

MTDS ACEITE ESENCIAL DE CÚRCUMA

# FICHA TÉCNICA



Fundación Chankuap', Dirección: Vidal Rivadeneira y Hernando de Benavente, Macas – Ecuador EC140150; Telf.: (593)7-2701703, e-mail: chankuap@mo.pro.ec. Para mayor información contactar: Área de Transformación de productos

## 4. Parte de la planta utilizada

Rizomas

## 5. Vida Útil

24 meses a partir de la fecha de producción. Al final del periodo de caducidad es aconsejable reanalizar el lote, si el lote cumple con los parámetros de calidad se puede seguir utilizando el producto.

## 6. Descripción de la Planta

La cúrcuma es una planta herbácea perenne monocotiledónea perteneciente a la familia de las Zingiberaceae, género *Curcuma* y especie *longa*.

La cúrcuma esta compuesto por un rizoma primario o madre (5-10 cm.) y varios rizomas secundarios (1-2 cm.) de color anaranjado. La parte aérea es delgada y mide entre 60 y 90 cm., con hojas largas y anchas, largamente pecioladas, opuestas de color verde intenso y con nervaduras casi paralelas que se departen de la nervadura mediana.

## 7. Condiciones de Almacenamiento

Asegure buena ventilación, protéjase de la exposición directa a la luz.

Manténgase alejado de las Fuentes de ignición. No fumar.

Manténgase en contenedores estrechamente sellados.

## 8. Estándares de Empaque

El producto es empacado en botellas de vidrio ámbar (el volumen: de acuerdo con el pedido)

## 9. Uso Tradicional de la Planta

En el pensamiento tradicional de la Nacionalidad Achuar las madres de familia creen que al pintar las muñecas y los tobillos de sus bebés con cúrcuma les permitirá crecer y robustecerse, esto se manifiesta cuando el niño empieza a caminar pronto.

Este producto es utilizado por algunas empresas en la elaboración de ciertos condimentos.

## 10. ASPECTOS SOCIALES Y MISIÓN DE FUNDACIÓN CHANKUAP'

La Fundación Chankuap' es una ONG (Organización No Gubernamental) sin fines de lucro. El centro de acopio de Chankuap' se encarga de la recolección de la materia prima vegetal y de la producción de la especia.

Cada producto es el fruto del trabajo de las comunidades amazónicas Shuar,

Achuar y Colono mestiza de Morona Santiago al Sur del Ecuador y se inserta en una clara voluntad de valorización de los recursos locales.

Fecha de emisión: 20/02/09

Fecha de revisión: 20/02/09

2 | Página



MTDS ACEITE ESENCIAL DE CÚRCUMA

Fuente: Fundación Chankuap', 2009.



## Anexo 2. FICHA TÉCNICA MANTECA DE CACAO

[LOGIN](#)

INICIO
EMPRESA
PRODUCTOS
DISTRIBUIDORES
CONTACTO
NOTICIAS

[Portugués](#) | [English](#)

---

Especificaciones

Empaque


Producto	MANTECA DE CACAO
Referencia	NATURAL
Presentación	Caja de cartón de 20 ó 25 Kg
Vida útil	12 meses
<b>Características organolépticas</b>	
Aspecto	Masa sólida, homogénea, compacta
Color	Amarillo pálido
Olor	Característico, libre de olores extraños
Sabor	Característico, libre de sabores extraños
<b>Características Físico-Químicas</b>	
Acidez (FFA %)	Máx. 1.5
Punto de fusión (°C)	31± 2
<b>Características Microbiológicas</b>	
Aeróbios mesófilos (ufc/g)	Máx. 5000
E. coli	Ausencia
Levaduras y mohos (ufc/g)	Máx. 50
<b>Almacenamiento</b>	
Almacenar en bodegas limpias, libres de insectos, roedores y otras plagas en ambiente fresco y ventilado. Evitar la exposición del producto a la luz directa del sol.	


You are here: [Home](#) / [Productos](#) / [Productos orgánicos](#) / [Manteca de Cacao](#)

AAA

### MANTECA DE CACAO ORGANICO

Esta manteca es virgen, no es desodorizada, mantiene el delicado aroma de chocolate con sus características naturales. Es ampliamente usada en la rama de cosméticos y jabones. Se cree que es muy buena en usos externos como cicatrices. En la Industria doméstica es usada para hacer chocolate blanco. Es normalmente duro a temperatura ambiente, pero se derrite a temperatura corporal. Para ablandarlo se necesita un corto periodo en microondas.





CERTIFICATE OF ORGANIC OPERATION

Fuente: Cafiesa, 2014

# Crodamol GTCC

INCI Name: Caprylic/Capric Triglyceride

Crodamol GTCC es un éster mixto de triglicéridos de cadena media que consta principalmente de ésteres dos ácidos cápricos e caprílicos, derivados del aceite de coco. Crodamol GTCC es indicado como un emoliente cosmético y como excipiente farmacéutico.

Estos triglicéridos de cadena media constan exclusiva o completamente de ácidos grasos saturados, son aceites con viscosidad baja. Por su carácter saturado, estos aceites fuidos adquieren notables propiedades de difusión y excelente solubilidad en alcohol. Como emoliente lipofílico de baja viscosidad, tienen una emolencial especialmente buena, que los convierte en alternativas a los aceites minerales e vegetales. Al igual que todos los triglicéridos de cadena media, Crodamol GTCC es un emoliente excelente. Muy compatible con la piel, dota a ésta de lubricidad y le deja una sensación emoliente no grasosa. Crodamol GTCC puede utilizarse también para favorecer la dispersión de pigmentos y para modificar la viscosidad de la formulación acabada.

### Aplicaciones

- Cremas e lociones
- Maquillaje para los ojos
- Productos para tratamiento facial
- Acondicionadores para los cabellos
- Bases para maquillaje
- Aceites para los niños
- Rubores
- Productos solares
- Lápices, brillos e protectores labiales

### Beneficios:

- Buenas propiedades de difusión
- Soluble em alcohol
- Emoliente
- Sensorial agradable no grasoso
- Facilita la dispersión de los pigmentos

Se considera a los triglicéridos de cadena media como compuestos inócuos desde el punto de vista toxicológico y dermatológico, son clasificados como GRAS (*Generally Recognized As Safe*) por el FDA. El aspecto casi incolor, la falta de olor y la insipidez de estos aceites lo hace más deseables como emolientes, vehículos y disolventes en formulaciones cosméticas y farmacéuticas.

Las informaciones contenidas en esta literatura son dadas de buena fe. Recomendamos que nuestros productos sean probados para verificar la conveniencia de su uso antes de adoptarlos en escala industrial. Estas informaciones no deben ser entendidas como concesión o permiso para la utilización de métodos o composiciones registradas por cualquier patente.

## Product details

### Crodamol™ GTCC

**Description:**

Fully saturated emollient triester, recommended as an alternative for mineral or vegetable oils in a wide variety of personal care and pharmaceutical applications. Fully saturated triglyceride. Light emollient with good lubricity. Excellent solvent for chemical sunscreens and wetting agent for physical sunscreens. Approved natural by Ecocert. Part of Croda's Blue Technology: Suitable for Cold Processing.

Croda considers the RSPO's Mass Balance system to be an important progressive step in supporting the palm oil physical supply chain and creating momentum towards segregated sustainable Palm Oil and Palm Kernel Oil material. To that end, sampling will be of the sustainable palm variant, SP Crodamol GTCC MBAL.

**Old tradename:**

Estasan GT8-60 3575

**INCI:**

Caprylic/Capric Triglyceride

**Suggested use levels:**

2-15%

 [Login to download literature](#)

 [Login to download formulations](#)

 [Login to access e-seminar](#)

 [Login to order sample](#)

Applications:	Functions:
<ul style="list-style-type: none"> <li><input type="checkbox"/> Antiperspirants &amp; deodorants</li> <li><input type="checkbox"/> Baby care</li> <li><input type="checkbox"/> Bath oils</li> <li><input type="checkbox"/> Cleaners &amp; toners</li> <li><input type="checkbox"/> Cleansing creams</li> <li><input type="checkbox"/> Color cosmetics</li> <li><input type="checkbox"/> Creams &amp; lotions</li> <li><input type="checkbox"/> Depilatories</li> <li><input type="checkbox"/> Eye care</li> <li><input type="checkbox"/> Facial wash</li> <li><input type="checkbox"/> Feet, hands &amp; nails</li> <li><input type="checkbox"/> Hair oils &amp; pomades</li> <li><input type="checkbox"/> Lip care</li> <li><input type="checkbox"/> Liquid soap</li> <li><input type="checkbox"/> Male grooming</li> <li><input type="checkbox"/> Specific skin care treatments</li> <li><input type="checkbox"/> Sprayable emulsions</li> <li><input type="checkbox"/> Sun protection</li> <li><input type="checkbox"/> Wipes</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li><input type="checkbox"/> Emollient</li> <li><input type="checkbox"/> Lubricant</li> <li><input type="checkbox"/> Solvent</li> </ul>

Fuente: Croda, 2014.



# MONTANOV™ 68

*An emulsifier in harmony with nature*

- 
- **Glucolipid emulsifier of vegetable origin**
  - **Unique performance**
  - **Perfect biocompatibility**





## 1 - DEFINITION

- The emulsifier, MONTANOV 68, is **derived from matter of vegetable origin (GMO-free)**:
  - glucose extracted from manioc
  - fat extracted from coconut oil.

The originality of MONTANOV 68 lies in the substitution of the ethoxylated group that is a characteristic of traditional non-ionic emulsifiers, by a natural holeside. In this way, a product composed of a hydrophilic glucolipid and a lipophilic fatty coco chain is obtained.

- The vegetable origin of MONTANOV 68 is preserved throughout its synthesis. It is obtained without using **either a chemical reagent or even an organic solvent**.

Because of its original glucolipid structure, MONTANOV 68, which is free of chemical impurities, solvents, ethylene oxide and dioxane, opens the way for a new generation of ecoproducts.

## 2 - PROPERTIES

### 2.1 - Emulsifying properties

- ***In relation to the nature of the fatty phase***  
MONTANOV 68, because of its special glucolipid structure, shows remarkable emulsifying properties with a wide range of fatty phase.  
Oils that are said to be difficult to emulsify, such as vegetable oils and **silicon oils** do not pose any problems with MONTANOV 68.  
Quite the contrary, **exceptional stability** is obtained as is shown in table 1.



Table 1

Examples of emulsions			
Formula type (Griffin): MONTANOV 68: 5% - Fatty phase 20% - Water qs 100%			
Nature of the fatty phase	Viscosity in mPa.s BROOKFIELD M4V6	Size of particles in $\mu$	Stability ● At 50 °C ● Thermal cycles (5 °C, 40 °C)
Sweet almond oil	44 000	1 to 25	> 1 year
Jojoba oil	40 000	1 to 12	> 1 year
Soja oil	35 000	1 to 25	> 1 year
Peanut oil	40 000	1 to 25	> 1 year
Sunflower oil	38 000	1 to 25	> 1 year
Vegetable squalane	35 000	1 to 25	> 1 year
Squalene	30 000	1 to 25	> 1 year
Paraffin oil	40 000	1 to 50	> 1 year
Vaseline	50 000	1 to 25	> 1 year
Isopropyl stearate	30 000	1 to 12	> 1 year
Isononyl isononanoate (LANOL 99)	28 000	1 to 25	> 1 year
Cetearyl octanoate (LANOL 1688)	40 000	1 to 12	> 1 year
Heptanoic triglyceride (LANOL 37 T)	36 000	1 to 25	> 1 year
Dimethicone	10 000	1 to 25	> 1 year
Cyclomethicone	30 000	1 to 25	> 1 year

These results demonstrate an important point, namely that MONTANOV 68 can be used to produce perfectly stable creams without using thickening agents or specific additives.

With MONTANOV 68 it is possible to formulate stable creams with a 100% vegetable origin and a pleasant feel.



Moreover, MONTANOV 68 has proved to be the ideal emulsifier for sun creams, which often contain silicon oils. As you can see in the figure 2, the emulsifying power of MONTANOV 68 is not affected by the presence of liposoluble filters.

Table 2

The emulsifying capacity of MONTANOV 68 with lipophilic UV filters	
Formula type: MONTANOV 68: 5% - LANOL 37 T: 20%	
Liposoluble UV filter: 5% - Water: qs 100%	
Nature of filter tested	Results (stability at 50 °C)
Benzophenone-3	> 3 months
Octyl methoxycinnamate	> 3 months
Butyl methoxydibenzooylmethane	> 3 months
4-methylbenzilidene camphor	> 3 months
Octyl dimethyl PABA	> 3 months

- ***In relation to the fatty phase concentration***

Whatever the fatty phase concentration the stability of the emulsion remains unchanged and is in all cases of a very good level.

Table 3

Influence of the fatty phase concentration			
Formula type: MONTANOV 68: 5% - LANOL 1688: x% - Water: qs 100%			
LANOL 1688 concentration	Viscosity in mPa.S	Emulsion appearance	Stability ● Thermal cycles (5 °C, 40 °C)
5%	11 000	cream	> 1 year
10%	20 000	cream	> 1 year
15%	30 000	cream	> 1 year
20%	40 000	cream	> 1 year
25%	50 000	cream	> 1 year
30%	60 000	cream	> 1 year

LANOL 1688: Cetearyl Octanoate



- **Without an additional fatty phase**

The results obtained with emulsions produced from MONTANOV 68 alone (Table 4), without additional substances, show the capacity of this complex to produce intrinsically stable emulsions - a quality which can be used advantageously for the development of special dermatological excipients.

Table 4

Influence of the MONTANOV 68 concentration			
Formula type: MONTANOV 68: x% - Water: qs 100%			
MONTANOV 68 concentration	Viscosity in mPa.s	Emulsion appearance	Stability ● Thermal cycles (5 °C, 40 °C)
5%	15 000	cream	> 1 year
10%	25 000	cream	> 1 year
15%	37 000	cream	> 1 year
20%	77 000	cream	> 1 year

The emulsion stability produced by MONTANOV 68 when used as an emulsifier, seems therefore to be unrelated to the nature of the fatty phase and to its concentration.

- **In the presence of cationic surfactants**

Emulsions which are surfactant supports (e.g. untangling balm) produced from MONTANOV 68 show not only an exceptional stability but also viscosity which stabilises rapidly contrary to traditional, ethoxylated, self-emulsifying bases (table 5).

Table 5

Behaviour with cationics				
Formula type: MONTANOV 68: 2,5% - Cationic agent: 2% - Water qs 100%				
Cationic Surfactant	Viscosity at D1 in mPa.S	Viscosity at D7 in mPa.S	Viscosity at 1 year in mPa.S	Stability ● at 50 °C ● Thermal cycles (5 °C, 40 °C)
DMDSAC	9 100	9 300	9 200	> 1 year
CTAC	6 700	7 300	7 500	> 1 year
AMONYL DM	6 600	7 000	6 800	> 1 year

DMDSAC: Dimethyldistearylammonium chloride/CTAC: Cetyltrimethylammonium chloride/AMONYL DM: Quaternium-82





## 2.4 – Cosmetic and dermatological properties

Besides having wide ranging emulsification capacities, MONTANOV 68 gives emulsions a remarkable cosmetic action as regards its ease of application, its soft feel and its smooth appearance.

Moreover, it has been observed that MONTANOV 68 **promotes skin moisturisation by limiting transepidermal water loss.**

This has been verified *in vitro* using a method specifically developed by HANDJANI-VILA (Measurement of the moisturising effect. Cosmet. Toiletries, 1976, 91, 25-30).

This technique relies on the use of a gelatine gel through which water is diffused according to a steam pressure gradient, in a manner similar to the transepidermal water loss through the stratum corneum.

In these conditions an emulsion containing MONTANOV 68 is tested in comparison to a traditional emulsion (see table 7).

Table 7

Limitation of water loss in %			
MONTANOV 68	5%	Traditional emulsifiers	5%
LANOL 1688	20%	LANOL 1688	20%
water	qs 100%	water	qs 100%
+ 44%		+ 9%	

These results show that emulsions made with MONTANOV 68 are real active excipients, thus likely to prevent dehydration of the epidermidis. This property is related to the presence within MONTANOV 68 emulsions of lyotropic liquid crystals (Glucolipids: liquid crystal promoters. 17th IFSCC congress, YOKOHAMA, p 36, 261-270, 1992).

In the same way, *in vivo* in the human (10 subjects) a marked improvement in skin moisturising is observed by monitoring the impedance with a corneometre.



### 3 – RECOMMANDATIONS FOR USE

To produce emulsions with MONTANOV 68, in optimal conditions the following is advised:

- melt MONTANOV 68 in the oily phase (at around 75°C)
- use the **ONE POT process**: i.e. start the agitation system **after** mixing the two phases.

### 4 - TOXICOLOGICAL DATA

#### 4.1 - Tolerance

So as to ensure a good level of innocuity MONTANOV 68 was tested *in vitro* as follows:

- HET-CAM test  
When tested on the chorio-allantoic membrane of an egg in a 5% active aqueous solution, MONTANOV 68 is classified as **non-irritant** (SEPPIC expert report 330).
- RBCA  
Test impossible to perform: lack of hydrosolubility of the product and not enough sedimentation after centrifugation (SEPPIC expert report 215).
- Sensitization  
MONTANOV 68 is tested at a concentration of 5% in water on an occlusive patch in 50 healthy volunteers according to the MARZULLI and MAIBACH protocol.
  - induction phase  
9 consecutive applications by the occlusive epicutaneous route for 48 hours on the same zone
  - rest phase  
15 days with no applications
  - challenge phase  
Single application by the occlusive epicutaneous route for 48 hours.

Under these conditions, MONTANOV 68 is considered to be **Hypoallergenic** (IEC expert report R41129D).



- Patch test

When patch tests were carried out at increasing concentrations (0.5%, 1.1%, 2.2%, 4.7% and 10%) on 10 subjects, MONTANOV 68 did not show any significant irritation reactions. ***Its tolerance is satisfactory*** (BIOGIR expert report 89-1577).

#### **4.2 - Comedogenesis**

MONTANOV 68, tested at a concentration of 10% in water, is applied to the face twice daily, morning and evening, for 28 consecutive days, to totally clean skin. MONTANOV 68 is considered to be ***non-comedogenic*** (EVIC-CEBA expert report I6026459).

Because of its good level of innocuity, MONTANOV 68 has proved to be a first class emulsifier for very many formulae where tolerance is imperative (dermatological cream, anti-acne cream, baby cream, face cream, etc.).

#### **4.3 - Biodegradability**

The ultime aerobic biodegradability of MONTANOV 68 is measured according to STURM test (OCDE 301 B, guideline EEC 84/449, Annex V, method C5).

Under these conditions a level of ***biodegradability of MONTANOV 68 is*** 100%, in 28 days, at 20 mg/l. The level of biodegradability of MONTANOV 68 is ***considered to be excellent.***



## 5 – ANALYTICAL DATA

	Type values	Methods
Appearance	White flakes	visual
Color (VCS)	1 max	S52 150B
Water	1% max	S52 006B
Melting point	61-65°C	S52 009B
pH 5% (at 60 °C)	5.5-7.5	NF T 73-206
Acid value	0,5 max	NF T 60-204
Hydroxide value	270 – 290	S52 080A
Peroxide value	0,5 max	S52 013A
0.1% test	complies	S57 CO 017B
Heavy metals	complies	EUR. PH. Ed3 2.4.8.C

### Note

*These values are given as indications, the only analytical specifications guaranteed are those appearing in the analysis certificate accompanying each delivery.*

## 6 – IDENTIFICATION DATA

- IR Spectrophotometry
- Complementary information
  - CAS n°: 67762-27-0, 54549-27-8, 27836-65-3
  - EINECS n°: 2670086, 2592202, 2486862
- INCI name: Cetearyl Alcohol and Cetearyl Glucoside
- Regulations:
  - For cosmetic use: no restriction in Europe, United States, Japan
  - For quasi-medical use, authorised in Japan: JCIC 523 151
  - Authorised in Australia 07762-27-0/8029-43-4





## 7 - APPLICATIONS

Because it is based on a modern concept which anticipates the needs of users and consumers, e.g.

- raw materials of a purely vegetable origin,
- purity, absence of toxic chemical reagent traces,
- innocuity.

MONTANOV 68 opens for the cosmetic and dermopharmacy industry a new path in the field of ecoproducts.

Moreover, it is similar to galactolipids, substances present in a natural state in the vegetable kingdom.

The range of the field of application is a reflection of its remarkable intrinsic qualities:

- a particularly wide ranging emulsifying power,
- very pleasant cosmetic qualities,
- a very good level of tolerance,
- insensibility to hydrolysis.



## O/W Emulsifiers range



	MONTANOV™ 68	MONTANOV™ 82	MONTANOV™ 202	MONTANOV™ L	SENSANOV™ WR
INCI Name	Cetearyl Alcohol & Cetearyl Glucoside	Cetearyl Alcohol & Coco-glucoside	Arachidyl Alcohol & Behenyl Alcohol & Arachidyl Glucoside	C14-22 Alcohols & C12-20 Alkyl Glucoside	C20-22 Alkyl Phosphate & C20-22 Alcohols
Approved label	Ecocert & Cosmos & NaTrue	Ecocert & Cosmos & NaTrue	Ecocert & Cosmos & NaTrue	Ecocert & Cosmos & NaTrue	Ecocert & Cosmos & NaTrue & 100% Bio-based
Emulsion textures	Creams to thick creams	Versatile: sprayable to thick creams	Fluid to creams Waxes/sticks	Versatile: sprayable to butter creams	Fluid to creams
Sensory profile	Rich skin feel	Rich skin feel	Light / matte finish	Light skin feel	Light / Nude skin sensation / Ubiquitous soft afterfeel
Use level	1 to 3%	1 to 3%	1 to 3%	0.5 to 3%	2 to 3%
Benefits		Moisturizing effect (liquid crystals & lamellar network)			Moisturizing effect (liquid crystals & lamellar network)
pH of use		3 - 10			3 - 10
Specific features	<ul style="list-style-type: none"> <li>Able to achieve stable emulsions without stabilizing agent (if no electrolytes)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Stable emulsions at -18°C</li> <li>Good compatibility with mineral sunscreens</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Ultra-white emulsion</li> <li>Good compatibility with pigments &amp; mineral fillers used in make-up</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Ultra-White emulsion</li> <li>Good compatibility with pigments &amp; mineral fillers used in make-up</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Non soaping effect in difficult cases such as green formulas rich in vegetable oils</li> <li>Improved resistance to electrolytes and stress inducing actives</li> </ul>
Specific applications	<ul style="list-style-type: none"> <li>SKIN CARE</li> <li>HAIR CARE</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>SKIN CARE</li> <li>SUN CARE</li> <li>PERSONAL HYGIENE</li> <li>HAIR CARE</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>SKIN CARE (Oily skin &amp; Men's Line)</li> <li>HAIR CARE</li> <li>MAKE-UP</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>SKIN CARE (Oily skin &amp; Men's Line)</li> <li>HAIR CARE</li> <li>MAKE-UP</li> <li>WIPES</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>SKIN CARE</li> <li>HAIR CARE</li> <li>SUN CARE (as an additive)</li> <li>MAKE-UP</li> </ul>
Approved in specific cosmetic regulation	<ul style="list-style-type: none"> <li>China*</li> <li>Quasi Drug in Japan</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>China*</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>China*</li> <li>Quasi Drug in Japan</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>China*</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>China*</li> </ul>
<b>O/W co-emulsifiers</b>					
INCI Name	MONTANOV™ S			MONTANOV™ 14	
Approved label	Coco-glucoside & Coconut Alcohol			Myristyl Alcohol & Myristyl Glucoside	
Specific features	Ecocert & Cosmos & NaTrue			Ecocert & Cosmos & NaTrue	
Approved in specific cosmetic regulation	<ul style="list-style-type: none"> <li>Dispersing effect of mineral sunscreens</li> <li>China*</li> </ul>			<ul style="list-style-type: none"> <li>Neutral skin feel – consistency factor</li> </ul>	

\*: listed in IECIC part 1, 2 or 3

Fuente: Seppic, 2014.

## Anexo 5. FICHA TECNICA GOMA XANTANA



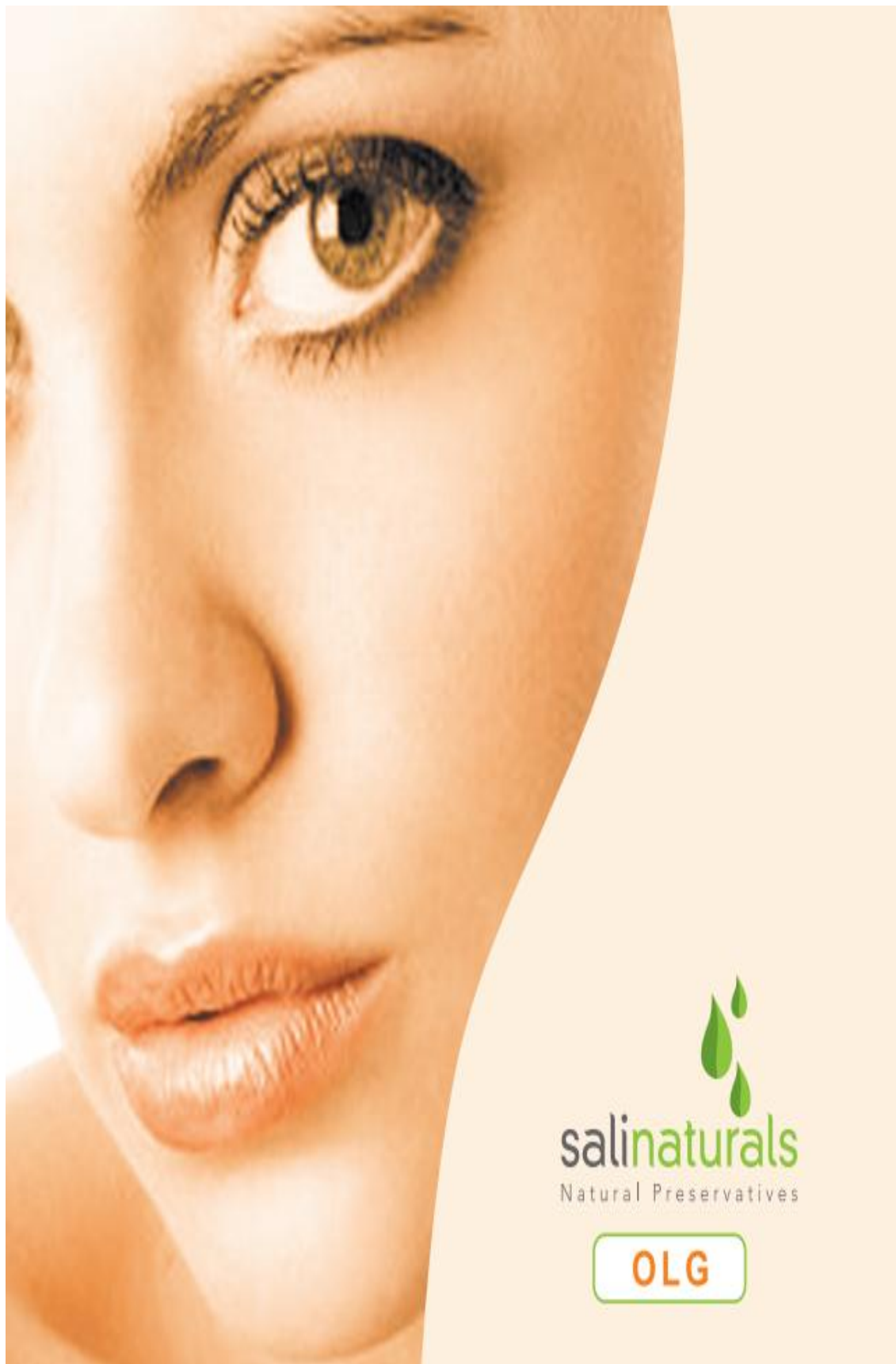
### FICHAS DE INFORMACIÓN TÉCNICA

#### GOMA XANTAN

<b>Sinónimos:</b>	Goma de xantano. E-415.
<b>INCI:</b>	Xanthan gum.
<b>Fórmula molecular:</b>	$(C_{35}H_{49}O_{29})_n$
<b>Peso molecular:</b>	> 1.000.000
<b>Descripción:</b>	Goma producida normalmente por fermentación y purificación de un carbohidrato en cultivo puro de <i>Xanthomonas campestris</i> y posterior purificación, que es la sal sódica, potásica, o cálcica de un polisacárido de alto peso molecular que contiene D-glucosa, D-manosa, ácido D-glucurónico, y ácido pirúvico.
<b>Datos Físico-Químicos:</b>	Polvo fluido, blanco o blanco-amarillento. Soluble en agua formando una disolución muy viscosa, prácticamente insoluble en disolventes orgánicos. Punto de fusión: carboniza a 270 °C.
<b>Propiedades y usos:</b>	<p>Es de naturaleza aniónica, con un pH de estabilidad de entre 4 y 11. Forma geles no transparentes, de color blanquecino y traslúcidos, de consistencia media, mayor o menor según la concentración de goma utilizada. La gelificación es instantánea y el aspecto del gel mejora al cabo de 24 horas. Los geles que forma son muy refrescantes y no adhesivos, soportan bastante bien los electrolitos, y admiten la incorporación de alcohol hasta un 30 %.</p> <p>La goma xantán se emplea en la industria farmacéutica como agente suspensor, estabilizante, espesante y emulsionante, así como para preparar la matriz de comprimidos de liberación sostenida, y para retrasar la absorción de los principios activos en colirios.</p> <p>También se utiliza en la industria alimentaria.</p>
<b>Dosificación:</b>	Al 0,1 – 1 %.
<b>Incompatibilidades:</b>	Tensioactivos, polímeros, conservantes, iones metálicos polivalentes (p. ej. el calcio), boratos, agentes oxidantes, algunos recubrimientos de comprimidos, carboximetilcelulosa sódica, gel desecado de hidróxido de aluminio, amitriptilina, tamoxifeno, y verapamilo.
<b>Observaciones:</b>	Apto uso Alimentario.
<b>Conservación:</b>	En envases bien cerrados. PROTEGER DE LA LUZ Y DE LA HUMEDAD.

**Fuente:** Acofarma, 2014

**Anexo 6. Ficha Técnica Conservante con acción comprobada a base de aceite de naranja, hierba luisa y sésamo**





# Introduction

---

SALICYLATES AND CHEMICALS is one of the largest manufacturers of preservatives for personal care and pharmaceutical applications. Considering the emerging need in the global market for natural preservatives, SALICYLATES introduces **Salinatural** - Natural preservatives for Personal and Health Care products, developed as an alternative to synthetic preservatives.

**Product Name** Salinatural OLG

**Description** Salinatural OLG preservative is based on Orange Oil, Lemon Grass Oil & Sesame Oil

**INCI Name** Orange Oil - Citrus Aurantium  
Lemon Grass Oil - Cymbopogon Citratus  
Sesame Oil - Sesamum Indicum

- The plants are cultivated on a farm spread over 100 acres and the extraction is carried out by Supercritical CO<sub>2</sub> process which allows most compounds to be extracted without altering the main properties of the oil. We grow many of our species & herbs on our own contracted certified organic farm.
- **Salinatural OLG** is a broad spectrum natural liquid preservative system, suitable for personal care and cosmetic applications.
- It has been designed specifically for formulations with a pH ≤ 6.0
- It is effective against Gram-positive & Gram-negative bacteria, yeast and mold.
- Being non-toxic, it is very safe to use.
- Cost effective

## Features & Benefits

- Good Aroma
- Antioxidant
- Long shelf life
- Broad spectrum activity
- Non-toxic
- Wide application
- Excellent bacterial and fungal control
- Ensured safety - no label required

## Physical Properties

Property	Specification
Appearance	Liquid
Color	Pale Yellow
Odor	Mild
Specific Gravity	0.93 ± 0.03

## Applications

- **Salinatural OLG** is water dispersible, pale in color with a mild lemony odor and compatible with a diverse range of products in formulations.

Rinse-off Products	Skin Care
Shampoos Shower Gels Body Washes Foam Baths	Creams Lotions Emulsions Gels

- **Salinatural OLG** is typically used at 1.00 - 2.00% in rinse-off and leave-on product formulations.
- **Salinatural OLG** provides excellent protection at pH 6 and can widely be used at pH 3-7.
- **Salinatural OLG** can be added into any phase of the manufacturing process including the water phase of emulsions; it can tolerate temperatures up to 50°C.
- **Salinatural OLG** requires intense mixing for uniform dispersal of the active ingredients when low amounts of emulsifiers are in the system.
- **Salinatural OLG** is fully compatible with a wide range of formulations as well as most types of herbal extracts, proteins and anionic systems.

### Broad Spectrum Activity

**Salinatural OLG** provides excellent protection against various types of common organisms in a typical Facial Cream, Hand Cream, Shower Gel and Moisturizing Lotion at pH 6. The broad spectrum activity of **Salinatural OLG** leads to greater efficacy. It provides protection against both types of contaminants.



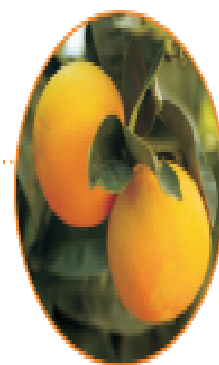
## Preserved by nature

In the on-going development of new preservatives, SALICYLATES AND CHEMICALS encountered many customers seeking natural preservatives. To satisfy this emerging global demand, SALICYLATES researched various naturally occurring essential oils commonly used in India.

**Salinatural OLG** is based on three key essential oils: Orange Oil (Citrus Aurantium) Lemon Grass Oil (Cymbopogon Citratus ) and Sesame Oil (Sesamum Indicum)

### Orange Oil

<b>Botanical Name</b>	Citrus Aurantium
<b>Part Used</b>	Glands / Orange Peels
<b>Extraction Method</b>	SCO <sub>2</sub> Extraction / Steam Distillation
<b>Origin</b>	India



### Description

Orange oil is an essential oil produced by glands inside the rind of an orange fruit. It is also extracted or steam distilled as a by-product of orange juice production. It gives citrus aroma and therefore used in perfume and household cleaner for its fragrance.

### Therapeutic Properties

The therapeutic properties of Orange Oil are anti-inflammatory, antispasmodic, aphrodisiac, anti-neuralgic, anti-infectious, disinfectant, insecticide, stimulant, stomachic, uterine and tonic. It helps with toothache and mouth sores. It is also of use for skin problems - especially for skin sores and leg ulcers. It is also an insect repellent.

### Aromatherapeutic Use

Commonly used in aroma therapy as the scent of Orange reduces anxiety and lowers high blood pressure. Orange oil is excellent body moisturizer having cheering and refreshing effect.

Disinfectants.

## Lemon Grass Oil

---

<b>Botanical Name</b>	Cymbopogon citratus
<b>Family</b>	Graminaceae
<b>Part Used</b>	Fresh or partially dried grass
<b>Extraction Method</b>	Steam distillation Method
<b>Origin</b>	India



### Botanical Description

Lemongrass oil is extracted from *Cymbopogon citratus* (also known as *Andropogon citratus*, *A. schoenathus* - of the Poaceae family. Lemon Grass is an aromatic herb, that has robust, lemon scented linear leaves. It is a perennial fast-growing aromatic grass, growing to about 1 meter (3 feet) high with long, thin leaves and originally was growing wild in India.

The quantity of oil depends upon the age of the grass and found to have refreshing fragrance and properties.

### Therapeutic Properties

The therapeutic properties of lemongrass oil are analgesic, anti-depressant, antimicrobial, antipyretic, antiseptic, astringent, bactericidal, carminative, deodorant, diuretic, febrifuge, fungicidal, galactagogue, insecticidal, nervine, nervous system sedative and tonic.

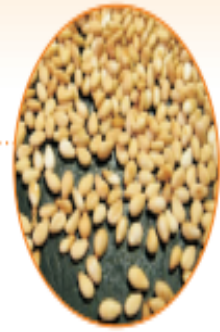
### Aromatherapeutic Use

It is a valuable ingredient in perfumes and citrus-type soaps and is also an insect deterrent. It is a fresh smelling oil that can be used with success for fighting jet lag, cellulite, revitalizing a tired body and mind. On the skin, it helps to balance oily conditions and to clear inflammation and fight fungal infections.



## Sesame Oil

---



<b>Botanical Name</b>	Sesamum indicum
<b>Family</b>	Pedaliaceae
<b>Part Used</b>	Seeds
<b>Extraction Method</b>	cold pressing Method
<b>Origin</b>	India

### Botanical Description

Sesame Seed is the seed of an annual herb, *Sesamum indicum*, which grows well in hot climates. Sesame Seed is the most commonly produced seed. Sesame is a herbaceous, annual and tropical plant which reaches heights of 1-2 meters. The leaves have varied shapes, they are either oval or lanceolate and fluffy on both sides.

The flowers are either violet or white, and at their end, one can find pods of 3 cm containing many seeds. Their color varies from yellowish-white to red, brown or black. It is naturally antibacterial for common skin pathogens, such as staphylococcus and streptococcus as well as common skin fungi, such as athlete's foot fungus. It is a natural anti-inflammatory agent. Sesame seed oil is a potent antioxidant. It keeps the skin supple and soft and protects against common skin pathogens.

### Therapeutic Properties

Sesame seeds contain fat substances, antioxidants, sesamol, proteinic substances, arginine and cellulose, mineral substances and calcium. This way, the sesame seeds have a very high nutritive and energetic value.

### Aromatherapeutic Use

Sesame massage oil has great moisturizing, soothing and emollient qualities which makes it a good choice to include when mixing a massage oil or preparing a carrier oil blend. Sesame oil has some sun screening properties but should not be used as a sun screen preparation, unless in an emergency. Since it is a good source of vitamins and minerals the sesame oil is used in cosmetics for making soap.

## Shampoo Preserved With 1.00% Salinatural OLG

Test Organism	Inoculum density / 0.1 ml	Weight of Sample	Expected count per gm of Sample
Staphylococcus aureus	$6.4 \times 10^8$ cfu/ml	20.03 g	$3.1 \times 10^7$ cfu/g
Escherichia coli	$2.3 \times 10^8$ cfu/ml	20.02 g	$1.1 \times 10^7$ cfu/g
Pseudomonas aeruginosa	$4.2 \times 10^8$ cfu/ml	20.01 g	$2 \times 10^7$ cfu/g
Aspergillus niger	$5.7 \times 10^7$ cfu/ml	20.00 g	$2.8 \times 10^6$ cfu/g
Candida albicans	$4.8 \times 10^7$ cfu/ml	20.12 g	$2.3 \times 10^6$ cfu/g

Test Organism	Count at Zero hour	Count at 7 <sup>th</sup> day	Count at 14 <sup>th</sup> day	Count at 21 <sup>st</sup> day	Count at 28 <sup>th</sup> day
Staphylococcus aureus	$9.2 \times 10^6$ cfu/g	< 10 cfu/g	< 10 cfu/g	< 10 cfu/g	< 10 cfu/g
Escherichia coli	$6.8 \times 10^6$ cfu/g	< 10 cfu/g	< 10 cfu/g	< 10 cfu/g	< 10 cfu/g
Pseudomonas aeruginosa	$5.6 \times 10^6$ cfu/g	< 10 cfu/g	< 10 cfu/g	< 10 cfu/g	< 10 cfu/g
Aspergillus niger	$6.0 \times 10^4$ cfu/g	< 10 cfu/g	< 10 cfu/g	< 10 cfu/g	< 10 cfu/g
Candida albicans	$2.9 \times 10^5$ cfu/g	< 10 cfu/g	< 10 cfu/g	< 10 cfu/g	< 10 cfu/g



### Stability

**Salinatural OLG** preservative is very stable and shows no change in composition over long periods of time. It is also freeze / thaw / heat stable without separation or crystal formation through several cycles.

### Face Wash Preserved With 1.00% Salinatural OLG

Test Organism	Inoculum density / 0.1 ml	Weight of Sample	Expected count per gm of Sample
Staphylococcus aureus	$6.4 \times 10^8$ cfu/ml	20.03 g	$3.1 \times 10^7$ cfu/g
Escherichia coli	$2.3 \times 10^8$ cfu/ml	20.02 g	$1.1 \times 10^7$ cfu/g
Pseudomonas aeruginosa	$4.2 \times 10^8$ cfu/ml	20.01 g	$2 \times 10^7$ cfu/g
Aspergillus niger	$5.7 \times 10^7$ cfu/ml	20.00 g	$2.8 \times 10^6$ cfu/g
Candida albicans	$4.8 \times 10^7$ cfu/ml	20.12 g	$2.3 \times 10^6$ cfu/g

Test Organism	Count at Zero hour	Count at 7 <sup>th</sup> day	Count at 14 <sup>th</sup> day	Count at 21 <sup>st</sup> day	Count at 28 <sup>th</sup> day
Staphylococcus aureus	$9.2 \times 10^6$ cfu/g	< 10 cfu/g	< 10 cfu/g	< 10 cfu/g	< 10 cfu/g
Escherichia coli	$6.8 \times 10^6$ cfu/g	< 10 cfu/g	< 10 cfu/g	< 10 cfu/g	< 10 cfu/g
Pseudomonas aeruginosa	$5.6 \times 10^6$ cfu/g	< 10 cfu/g	< 10 cfu/g	< 10 cfu/g	< 10 cfu/g
Aspergillus niger	$6.0 \times 10^4$ cfu/g	< 10 cfu/g	< 10 cfu/g	< 10 cfu/g	< 10 cfu/g
Candida albicans	$2.9 \times 10^5$ cfu/g	< 10 cfu/g	< 10 cfu/g	< 10 cfu/g	< 10 cfu/g



### Toxicity Information

Mainly due to impending legislation in Europe, which will soon impose various marketing restrictions, **Salinatural OLG** preservative has not been tested on animals. Therefore, toxicity testing information regarding the blended material will not be generated. However, each of the **Salinatural OLG** ingredients has been tested extensively over the years. Overall, the ingredients in **Salinatural OLG** have been carefully chosen due to their global acceptance as well as excellent toxicity profiles.

### Cream Base Preserved With 2.00% Salinatural OLG

Test Organism	Inoculum density / 0.1 ml	Weight of Sample	Expected count per gm of Sample
Staphylococcus aureus	$6.4 \times 10^8$ cfu/ml	20.03 g	$3.1 \times 10^7$ cfu/g
Escherichia coli	$2.3 \times 10^8$ cfu/ml	20.02 g	$1.1 \times 10^7$ cfu/g
Pseudomonas aeruginosa	$4.2 \times 10^8$ cfu/ml	20.21 g	$2.0 \times 10^7$ cfu/g
Aspergillus niger	$5.7 \times 10^7$ cfu/ml	20.17 g	$2.8 \times 10^6$ cfu/g
Candida albicans	$4.8 \times 10^7$ cfu/ml	20.04 g	$2.3 \times 10^6$ cfu/g

Test Organism	Count at Zero hour	Count at 7 <sup>th</sup> day	Count at 14 <sup>th</sup> day	Count at 21 <sup>st</sup> day	Count at 28 <sup>th</sup> day
Staphylococcus aureus	$2.1 \times 10^6$ cfu/g	< 10 cfu/g	< 10 cfu/g	< 10 cfu/g	< 10 cfu/g
Escherichia coli	$7.7 \times 10^6$ cfu/g	< 10 cfu/g	< 10 cfu/g	< 10 cfu/g	< 10 cfu/g
Pseudomonas aeruginosa	$8.2 \times 10^6$ cfu/g	< 10 cfu/g	< 10 cfu/g	< 10 cfu/g	< 10 cfu/g
Aspergillus niger	$5.0 \times 10^4$ cfu/g	< 10 cfu/g	< 10 cfu/g	< 10 cfu/g	< 10 cfu/g
Candida albicans	$4.7 \times 10^5$ cfu/g	< 10 cfu/g	< 10 cfu/g	< 10 cfu/g	< 10 cfu/g



#### Safety And Regulatory Profile

Salinatural OLG has an excellent safety and toxicological profile and is safe to use in a wide range of personal care applications.

(The information given in this booklet is based on our current knowledge and experience, and may be used at your discretion and risk. We do not assume any liability in connection with your product or its use. You must comply with all applicable laws and regulations, and observe all third party rights.)

**Fuente:** (Salinaturals, 2014)

**Anexo 7. Análisis de costos de formulaciones planteadas con aceite esencial de *Curcuma longa* al 0.4%, 1.0% y 2.5%**

De acuerdo a las concentraciones planteadas de utilización del aceite esencial de *Curcuma longa* Con el objetivo de evaluar la eficacia del aceite esencial de *Curcuma longa* como conservante, se plantean tres concentraciones a utilizar del aceite; 0.4%, 1.0% y 2.5%.

A continuación se presentan en las siguientes tablas, las formulaciones de cremas orgánicas en base a la formulación indicada en la tabla No. 11, con sus respectivos costos:

<b>COSTEO DE FORMULACIÓN DE UNA CREMA ORGÁNICA CON ACEITE ESENCIAL DE CURCUMA AL 0,4%</b>				
<b>INGREDIENTES</b>	<b>PROVEEDOR</b>	<b>PORCENTAJE (%)</b>	<b>COSTO/KG*</b>	<b>COSTO FÓRMULA/ 1 KG</b>
<i>Theobroma cacao seed butter (Manteca de cacao orgánica)</i>	Cafiesa	12	\$ 8,50	\$ 1,02
Caprylic-Capric triglycerides (Crodamol GTCC)	Química Comercial	3	\$ 15,00	\$ 0,45
Cetearyl alcohol and Ceteraryl glucoside. (Montanov 68)	Seppic Colombia	3	\$ 33,00	\$ 0,99
Cetyl Alcohol (Alcohol cetílico)	Casa de los Químicos	2	\$ 4,50	\$ 0,09
Xanthan Gum (Goma Xantana)	Casa de los Químicos	0,1	\$ 11,22	\$ 0,01
Aqua (Agua demineralizada)	Casa de los Químicos	79,5	\$ 0,90	\$ 0,72
<i>Curcuma longa root oil</i> (aceite esencial de cúrcuma)	Fundación Chankuap	0,4	\$ 250,00	\$ 1,00
<b>TOTAL</b>		<b>100</b>		<b>\$ 4,28</b>

\* Precio proveedor.

**Elaborado por:** la autora

<b>COSTEO DE FORMULACIÓN DE UNA CREMA ORGÁNICA CON ACEITE ESENCIAL DE CURCUMA AL 1,0 %</b>				
<b>INGREDIENTES</b>	<b>PROVEEDOR</b>	<b>PORCENTAJE (%)</b>	<b>COSTO/KG*</b>	<b>COSTO FÓRMULA/ 1 KG</b>
<i>Theobroma cacao seed butter (Manteca de cacao orgánica)</i>	Cafiesa	12	\$ 8,50	\$ 1,02
Caprylic-Capric triglicerides (Crodamol GTCC)	Química Comercial	3	\$ 15,00	\$ 0,45
Cetearyl alcohol and Ceteraryl glucoside. (Montanov 68)	Seppic Colombia	3	\$ 33,00	\$ 0,99
Cetyl Alcohol (Alcohol cetílico)	Casa de los Químicos	2	\$ 4,50	\$ 0,09
Xanthan Gum (Goma Xantana)	Casa de los Químicos	0,1	\$ 11,22	\$ 0,01
Aqua (Agua demineralizada)	Casa de los Químicos	78,9	\$ 0,90	\$ 0,71
<i>Curcuma longa root oil</i> (aceite esencial de cúrcuma)	Fundación Chankuap	1	\$ 250,00	\$ 2,50
<b>TOTAL</b>		<b>100</b>		<b>\$ 5,77</b>

\* Precio proveedor.

**Elaborado por:** la autora

<b>COSTEO DE FORMULACIÓN DE UNA CREMA ORGÁNICA CON ACEITE ESENCIAL DE CURCUMA AL 2,5%</b>				
<b>INGREDIENTES</b>	<b>PROVEEDOR</b>	<b>PORCENTAJE (%)</b>	<b>COSTO/KG*</b>	<b>COSTO FÓRMULA/ 1 KG</b>
<i>Theobroma cacao seed butter (Manteca de cacao orgánica)</i>	Cafiesa	12	\$ 8,50	\$ 1,02
Caprylic-Capric triglicerides (Crodamol GTCC)	Química Comercial	3	\$ 15,00	\$ 0,45
Cetearyl alcohol and Ceteraryl glucoside. (Montanov 68)	Seppic Colombia	3	\$ 33,00	\$ 0,99
Cetyl Alcohol (Alcohol cetílico)	Casa de los Químicos	2	\$ 4,50	\$ 0,09
Xanthan Gum (Goma Xantana)	Casa de los Químicos	0,1	\$ 11,22	\$ 0,01
Aqua (Agua demineralizada)	Casa de los Químicos	77,4	\$ 0,90	\$ 0,70
<i>Curcuma longa root oil</i> (aceite esencial de cúrcuma)	Fundación Chankuap	2,5	\$ 250,00	\$ 6,25
<b>TOTAL</b>		<b>100</b>		<b>\$ 9,51</b>

\* Precio proveedor.

**Elaborado por:** la autora

También, se incluye el costo de la fórmula cosmética orgánica, sin la utilización del aceite esencial de *Curcuma longa*, lo que permitirá apreciar el costo neto de la misma.

<b>COSTEO DE FORMULACIÓN DE UNA CREMA ORGÁNICA SIN ACEITE ESENCIAL DE CURCUMA</b>				
<b>INGREDIENTES</b>	<b>PROVEEDOR</b>	<b>PORCENTAJE (%)</b>	<b>COSTO/KG*</b>	<b>COSTO FÓRMULA/ 1 KG</b>
<i>Theobroma cacao seed butter (Manteca de cacao orgánica)</i>	Cafiesa	12	\$ 8,50	\$ 1,02
Caprylic-Capric triglicerides (Crodamol GTCC)	Química comercial	3	\$ 15,00	\$ 0,45
Cetearyl alcohol and Ceteraryl glucoside. (Montanov 68)	Seppic Colombia	3	\$ 33,00	\$ 0,99
Cetyl Alcohol (Alcohol cetílico)	Casa de los Químicos	2	\$ 4,50	\$ 0,09
Xanthan Gum (Goma Xantana)	Casa de los Químicos	0,1	\$ 11,22	\$ 0,01
Aqua (Agua demineralizada)	Casa de los Químicos	79,9	\$ 0,90	\$ 0,72
<b>TOTAL</b>		<b>100</b>		<b>\$ 3,28</b>

\* Precio proveedor.

**Elaborado por:** la autora

Según lo indicado en tablas anteriores, se puede analizar el impacto en el precio por kilo que tiene el aceite esencial de *Curcuma longa* al ser utilizado en una formulación, lo que se indica a continuación:

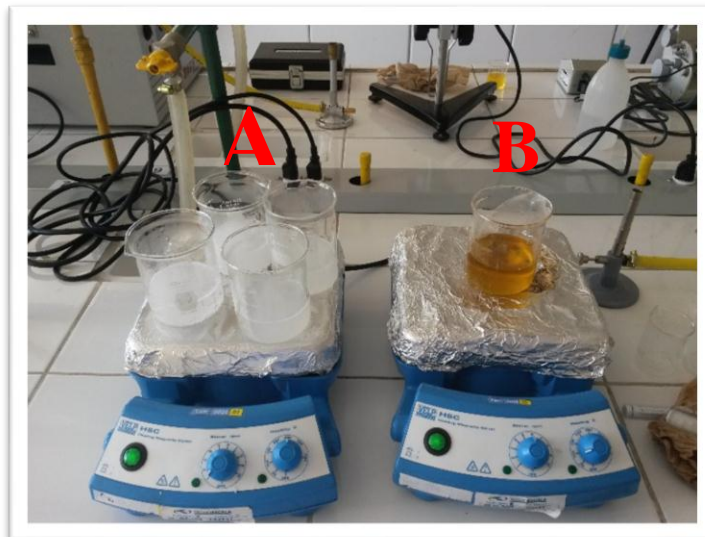
<b>VARIACIÓN DE INCREMENTO EN EL PRECIO POR KILO EN UNA CREMA ORGÁNICA CON ACEITE ESENCIAL DE CURCUMA</b>		
	<b>Precio/ 1 kg</b>	<b>Incremento (%)</b>
<b>Crema orgánica sin aceite esencial de <i>Curcuma longa</i></b>	3,28	0%
<b>Crema orgánica con aceite esencial de <i>Curcuma longa</i> al 0,4%</b>	4,28	30,49%
<b>Crema orgánica con aceite esencial de <i>Curcuma longa</i> al 1,0 %</b>	5,77	75,91%
<b>Crema orgánica con aceite esencial de <i>Curcuma longa</i> al 2,5%</b>	9,51	189,94%

**Elaborado por:** la autora

Como se puede apreciar, el impacto de la adición de aceite esencial de *Curcuma longa*, en las formulaciones planteadas varía desde el 30.49% al 189.94% teniendo un efecto importante en el costo por kilo de la misma.

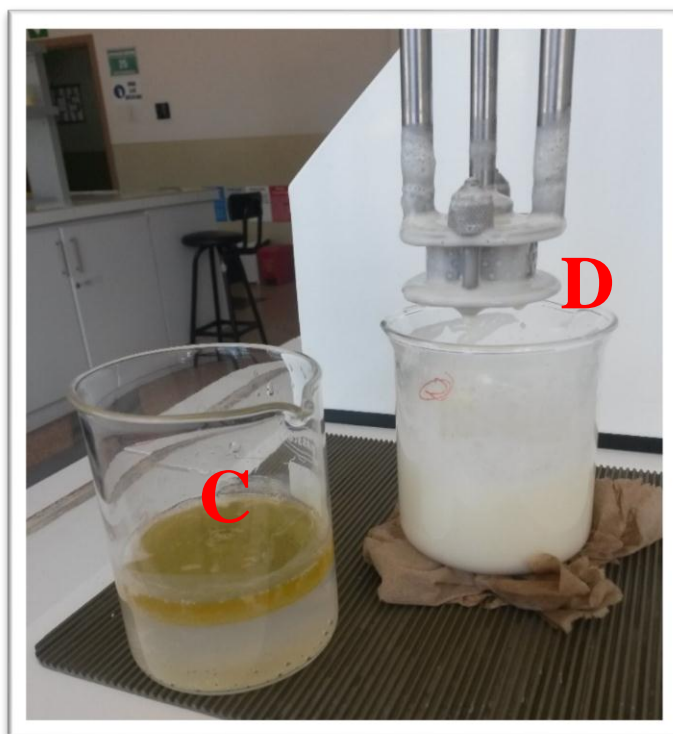
## Anexo 8. Procedimiento de Fabricación de la emulsión O/W

1. Calentamiento de los ingredientes de la fase acuosa (A) y fase oleosa (B) a 70 °C.



**Fuente:** la autora

2. Formación de la emulsión: A: Incorporar la fase grasa sobre la fase acuosa. B: agitación para formación de la emulsión utilizando el Turboemulsor marca Silverson.



**Fuente:** la autora



## Anexo 9. Inoculación de los microorganismos estandarizados en las muestras de análisis.

### a. Crema con aceite esencial de *Curcuma longa* al 0.4%



Fuente: la autora

### b. Crema con aceite esencial de *Curcuma longa* al 1 %



Fuente: la autora

### c. Crema con aceite esencial de *Curcuma longa* al 2.5%



Fuente: la autora

**d. Crema sin conservante**



**Fuente:** la autora

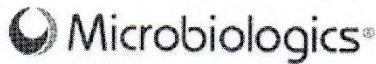
**e. Crema con OLG 1%**



**Fuente:** la autora



## Anexo 10. Certificado de análisis Pseudomona aeruginosa ATCC 9027



Certificate of Analysis: Lyophilized Microorganism Specification and Performance Upon Release



<b>Specifications</b> Microorganism Name: Pseudomonas aeruginosa Catalog Number: 0484 Lot Number: 484-381 Reference Number: ATCC® 9027™* Purity: < 0.1% Total Pellet CFU Recovery: > 1000 CFUs per Pellet Passage from Reference: 4		Expiration Date: 2015/06 Release Information: Quality Control Technologist: Carol J Stanoch Release Date: 2013/7/25																																																																																																
<b>Performance</b>																																																																																																		
<b>Macroscopic Features:</b> Large, flat, circular to irregular shaped, gray with silver sheen. A second colony type may also be present as small, round, shiny colonies.		<b>Medium:</b> SBAP																																																																																																
<b>Microscopic Features:</b> Straight or slightly curved gram negative rod.		<b>Method:</b> Gram Stain (1)																																																																																																
<b>Vitek GN (1)</b>	<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <thead> <tr> <th style="text-align: left; padding: 2px;">Phenotypic Features</th> <th style="text-align: center; padding: 2px;">Results</th> </tr> </thead> <tbody> <tr><td>Ala-Phe-Pro-ARYLAMIDASE</td><td style="text-align: center;">-</td></tr> <tr><td>ADONITOL</td><td style="text-align: center;">-</td></tr> <tr><td>L-Pyrrolydonyl-ARYLAMIDASE</td><td style="text-align: center;">-</td></tr> <tr><td>L-ARABITOL</td><td style="text-align: center;">-</td></tr> <tr><td>D-CELLOBIOSE</td><td style="text-align: center;">-</td></tr> <tr><td>BETA-GALACTOSIDASE</td><td style="text-align: center;">-</td></tr> <tr><td>H2S PRODUCTION</td><td style="text-align: center;">-</td></tr> <tr><td>BETA-N-ACETYL-GLUCOSAMINIDASE</td><td style="text-align: center;">-</td></tr> <tr><td>Glutamyl Arylamidase pNA</td><td style="text-align: center;">-</td></tr> <tr><td>D-GLUCOSE</td><td style="text-align: center;">+</td></tr> <tr><td>GAMMA-GLUTAMYL-TRANSFERASE</td><td style="text-align: center;">-</td></tr> <tr><td>FERMENTATION/GLUCOSE</td><td style="text-align: center;">-</td></tr> <tr><td>BETA-GLUCOSIDASE</td><td style="text-align: center;">-</td></tr> <tr><td>D-MALTOSE</td><td style="text-align: center;">-</td></tr> <tr><td>D-MANNITOL</td><td style="text-align: center;">-</td></tr> <tr><td>D-MANNOSE</td><td style="text-align: center;">+</td></tr> <tr><td>BETA-XYLOSIDASE</td><td style="text-align: center;">-</td></tr> <tr><td>BETA-Alanine arylamidase pNA</td><td style="text-align: center;">+</td></tr> <tr><td>L-Proline ARYLAMIDASE</td><td style="text-align: center;">+</td></tr> <tr><td>LIPASE</td><td style="text-align: center;">-</td></tr> <tr><td>PALATINOSE</td><td style="text-align: center;">-</td></tr> <tr><td>Tyrosine ARYLAMIDASE</td><td style="text-align: center;">+</td></tr> <tr><td>UREASE</td><td style="text-align: center;">-</td></tr> <tr><td>D-SORBITOL</td><td style="text-align: center;">-</td></tr> <tr><td>SACCHAROSE/SUCROSE</td><td style="text-align: center;">-</td></tr> <tr><td>D-TAGATOSE</td><td style="text-align: center;">-</td></tr> <tr><td>D-TREHALOSE</td><td style="text-align: center;">-</td></tr> <tr><td>CITRATE (SODIUM)</td><td style="text-align: center;">+</td></tr> <tr><td>MALONATE</td><td style="text-align: center;">+</td></tr> <tr><td>5-KETO-D-GLUCONATE</td><td style="text-align: center;">-</td></tr> <tr><td>L-LACTATE alkalization</td><td style="text-align: center;">+</td></tr> <tr><td>ALPHA-GLUCOSIDASE</td><td style="text-align: center;">-</td></tr> <tr><td>SUCCINATE alkalization</td><td style="text-align: center;">+</td></tr> <tr><td>BETA-N-ACETYL-GALACTOSAMINIDASE</td><td style="text-align: center;">-</td></tr> <tr><td>ALPHA-GALACTOSIDASE</td><td style="text-align: center;">-</td></tr> <tr><td>PHOSPHATASE</td><td style="text-align: center;">-</td></tr> <tr><td>Glycine ARYLAMIDASE</td><td style="text-align: center;">-</td></tr> <tr><td>ORNITHINE DECARBOXYLASE</td><td style="text-align: center;">-</td></tr> <tr><td>LYSINE DECARBOXYLASE</td><td style="text-align: center;">-</td></tr> <tr><td>L-HISTIDINE assimilation</td><td style="text-align: center;">-</td></tr> <tr><td>COURMARATE</td><td style="text-align: center;">+</td></tr> <tr><td>BETA-GLUCORONIDASE</td><td style="text-align: center;">-</td></tr> <tr><td>O/129 RESISTANCE (comp.vibrio.)</td><td style="text-align: center;">+</td></tr> <tr><td>Glu-Gly-Arg-ARYLAMIDASE</td><td style="text-align: center;">-</td></tr> <tr><td>L-MALATE assimilation</td><td style="text-align: center;">+</td></tr> <tr><td>ELLMAN</td><td style="text-align: center;">-</td></tr> <tr><td>L-LACTATE assimilation</td><td style="text-align: center;">+</td></tr> </tbody> </table>	Phenotypic Features	Results	Ala-Phe-Pro-ARYLAMIDASE	-	ADONITOL	-	L-Pyrrolydonyl-ARYLAMIDASE	-	L-ARABITOL	-	D-CELLOBIOSE	-	BETA-GALACTOSIDASE	-	H2S PRODUCTION	-	BETA-N-ACETYL-GLUCOSAMINIDASE	-	Glutamyl Arylamidase pNA	-	D-GLUCOSE	+	GAMMA-GLUTAMYL-TRANSFERASE	-	FERMENTATION/GLUCOSE	-	BETA-GLUCOSIDASE	-	D-MALTOSE	-	D-MANNITOL	-	D-MANNOSE	+	BETA-XYLOSIDASE	-	BETA-Alanine arylamidase pNA	+	L-Proline ARYLAMIDASE	+	LIPASE	-	PALATINOSE	-	Tyrosine ARYLAMIDASE	+	UREASE	-	D-SORBITOL	-	SACCHAROSE/SUCROSE	-	D-TAGATOSE	-	D-TREHALOSE	-	CITRATE (SODIUM)	+	MALONATE	+	5-KETO-D-GLUCONATE	-	L-LACTATE alkalization	+	ALPHA-GLUCOSIDASE	-	SUCCINATE alkalization	+	BETA-N-ACETYL-GALACTOSAMINIDASE	-	ALPHA-GALACTOSIDASE	-	PHOSPHATASE	-	Glycine ARYLAMIDASE	-	ORNITHINE DECARBOXYLASE	-	LYSINE DECARBOXYLASE	-	L-HISTIDINE assimilation	-	COURMARATE	+	BETA-GLUCORONIDASE	-	O/129 RESISTANCE (comp.vibrio.)	+	Glu-Gly-Arg-ARYLAMIDASE	-	L-MALATE assimilation	+	ELLMAN	-	L-LACTATE assimilation	+	<b>Other Features/ Challenges: Results</b> (1) Oxidase(Kovacs): positive (1) Motility B Medium: positive Pseudomonas P Agar: positive (blue-green color diffusing into the agar) Growth at 42 C: positive
Phenotypic Features	Results																																																																																																	
Ala-Phe-Pro-ARYLAMIDASE	-																																																																																																	
ADONITOL	-																																																																																																	
L-Pyrrolydonyl-ARYLAMIDASE	-																																																																																																	
L-ARABITOL	-																																																																																																	
D-CELLOBIOSE	-																																																																																																	
BETA-GALACTOSIDASE	-																																																																																																	
H2S PRODUCTION	-																																																																																																	
BETA-N-ACETYL-GLUCOSAMINIDASE	-																																																																																																	
Glutamyl Arylamidase pNA	-																																																																																																	
D-GLUCOSE	+																																																																																																	
GAMMA-GLUTAMYL-TRANSFERASE	-																																																																																																	
FERMENTATION/GLUCOSE	-																																																																																																	
BETA-GLUCOSIDASE	-																																																																																																	
D-MALTOSE	-																																																																																																	
D-MANNITOL	-																																																																																																	
D-MANNOSE	+																																																																																																	
BETA-XYLOSIDASE	-																																																																																																	
BETA-Alanine arylamidase pNA	+																																																																																																	
L-Proline ARYLAMIDASE	+																																																																																																	
LIPASE	-																																																																																																	
PALATINOSE	-																																																																																																	
Tyrosine ARYLAMIDASE	+																																																																																																	
UREASE	-																																																																																																	
D-SORBITOL	-																																																																																																	
SACCHAROSE/SUCROSE	-																																																																																																	
D-TAGATOSE	-																																																																																																	
D-TREHALOSE	-																																																																																																	
CITRATE (SODIUM)	+																																																																																																	
MALONATE	+																																																																																																	
5-KETO-D-GLUCONATE	-																																																																																																	
L-LACTATE alkalization	+																																																																																																	
ALPHA-GLUCOSIDASE	-																																																																																																	
SUCCINATE alkalization	+																																																																																																	
BETA-N-ACETYL-GALACTOSAMINIDASE	-																																																																																																	
ALPHA-GALACTOSIDASE	-																																																																																																	
PHOSPHATASE	-																																																																																																	
Glycine ARYLAMIDASE	-																																																																																																	
ORNITHINE DECARBOXYLASE	-																																																																																																	
LYSINE DECARBOXYLASE	-																																																																																																	
L-HISTIDINE assimilation	-																																																																																																	
COURMARATE	+																																																																																																	
BETA-GLUCORONIDASE	-																																																																																																	
O/129 RESISTANCE (comp.vibrio.)	+																																																																																																	
Glu-Gly-Arg-ARYLAMIDASE	-																																																																																																	
L-MALATE assimilation	+																																																																																																	
ELLMAN	-																																																																																																	
L-LACTATE assimilation	+																																																																																																	
		<div style="border: 2px solid black; padding: 5px; width: fit-content; margin: 0 auto;"> <p style="margin: 0;"><b>MEDIBIOLOGICS S.A.</b></p> <p style="margin: 0;">Distribuidor para el Ecuador de</p> <p style="margin: 0;">MICROBIOLOGIOS</p> <p style="margin: 0;">Registro Sanitario AD-541-04-13</p> </div>  <p style="text-align: center; margin: 0;">Brad Goskowicz, President AUTHORIZED SIGNATURE</p>																																																																																																

**Fuente: Microbiologics, 2012.**





## Anexo 13. Certificado de análisis Candida albicans ATCC 10231

																																																																																															
<b>Certificate of Analysis: Lyophilized Microorganism Specification and Performance Upon Release</b>																																																																																															
<b>Specifications</b> Microorganism Name: Candida albicans Catalog Number: 0443 Lot Number: 443-228 Reference Number: ATCC® 10231™* Purity: < 0.1% Total Pellet CFU Recovery: > 1000 CFUs per Pellet Passage from Reference: 4	Expiration Date: 2014/05 Release Information: Quality Control Technologist: Christine Condon Release Date: 2012/7/13																																																																																														
<b>Performance</b>																																																																																															
<b>Macroscopic Features:</b> Small to medium, white, circular, convex, dull colonies. <b>Microscopic Features:</b> Gram positive, ovoidal, budding yeast cells.	<b>Medium:</b> Nutrient <b>Method:</b> Gram Stain (1)																																																																																														
<b>Vitek YST (1)</b> <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <thead> <tr> <th style="width: 80%;">Phenotypic Features</th> <th style="width: 20%;">Results</th> </tr> </thead> <tbody> <tr><td>L-Lysine-ARYLAMIDASE</td><td>-</td></tr> <tr><td>L-MALATE assimilation</td><td>-</td></tr> <tr><td>Leucine ARYLAMIDASE</td><td>+</td></tr> <tr><td>ARGININE GP</td><td>+</td></tr> <tr><td>ERYTHRITOL assimilation</td><td>-</td></tr> <tr><td>GLYCEROL assimilation</td><td>+</td></tr> <tr><td>Tyrosine ARYLAMIDASE</td><td>+</td></tr> <tr><td>BETA-N-ACETYL-GLUCOSAMINIDASE</td><td>+</td></tr> <tr><td>ARbutine assimilation</td><td>-</td></tr> <tr><td>AMYGDALINE assimilation</td><td>-</td></tr> <tr><td>D-GALACTOSE assimilation</td><td>+</td></tr> <tr><td>GENTIOBIOSE assimilation</td><td>-</td></tr> <tr><td>D-GLUCOSE assimilation</td><td>+</td></tr> <tr><td>LACTOSE assimilation</td><td>-</td></tr> <tr><td>METHYL-A-D-GLUCOPYRANOSIDE assimilation</td><td>+</td></tr> <tr><td>D-CELLOBIOSE assimilation</td><td>-</td></tr> <tr><td>GAMMA-GLUTAMYL-TRANSFERASE</td><td>-</td></tr> <tr><td>D-MALTOSE assimilation</td><td>+</td></tr> <tr><td>D-RAFFINOSE assimilation</td><td>+</td></tr> <tr><td>PNP-N-acetyl-BD-galactosaminidase 1</td><td>+</td></tr> <tr><td>D-MANNOSE assimilation</td><td>+</td></tr> <tr><td>D-MELIBIOSE assimilation</td><td>-</td></tr> <tr><td>D-MELEZIOSE assimilation</td><td>-</td></tr> <tr><td>L-SORBOSE assimilation</td><td>-</td></tr> <tr><td>L-RHAMNOSE assimilation</td><td>-</td></tr> <tr><td>XYLITOL assimilation</td><td>+</td></tr> <tr><td>D-SORBITOL assimilation</td><td>+</td></tr> <tr><td>SACCHAROSE/SUCROSE assimilation</td><td>+</td></tr> <tr><td>UREASE</td><td>+</td></tr> <tr><td>ALPHA-GLUCOSIDASE</td><td>+</td></tr> <tr><td>D-TURANOSE assimilation</td><td>+</td></tr> <tr><td>D-TREHALOSE assimilation</td><td>+</td></tr> <tr><td>NITRATE assimilation</td><td>-</td></tr> <tr><td>L-ARABINOSE assimilation</td><td>-</td></tr> <tr><td>D-GALACTURONATE assimilation</td><td>+</td></tr> <tr><td>ESCULIN hydrolyse</td><td>-</td></tr> <tr><td>L-GLUTAMATE assimilation</td><td>+</td></tr> <tr><td>D-XYLOSE assimilation</td><td>+</td></tr> <tr><td>DL-LACTATE assimilation</td><td>+</td></tr> <tr><td>ACETATE assimilation</td><td>+</td></tr> <tr><td>CITRATE (SODIUM) assimilation</td><td>+</td></tr> <tr><td>GLUCURONATE assimilation</td><td>-</td></tr> <tr><td>L-PROLINE assimilation</td><td>+</td></tr> <tr><td>2-KETO-D-GLUCONATE assimilation</td><td>+</td></tr> <tr><td>N-ACETYL-GLUCOSAMINE assimilation</td><td>+</td></tr> <tr><td>D-GLUCONATE assimilation</td><td>+</td></tr> </tbody> </table>	Phenotypic Features	Results	L-Lysine-ARYLAMIDASE	-	L-MALATE assimilation	-	Leucine ARYLAMIDASE	+	ARGININE GP	+	ERYTHRITOL assimilation	-	GLYCEROL assimilation	+	Tyrosine ARYLAMIDASE	+	BETA-N-ACETYL-GLUCOSAMINIDASE	+	ARbutine assimilation	-	AMYGDALINE assimilation	-	D-GALACTOSE assimilation	+	GENTIOBIOSE assimilation	-	D-GLUCOSE assimilation	+	LACTOSE assimilation	-	METHYL-A-D-GLUCOPYRANOSIDE assimilation	+	D-CELLOBIOSE assimilation	-	GAMMA-GLUTAMYL-TRANSFERASE	-	D-MALTOSE assimilation	+	D-RAFFINOSE assimilation	+	PNP-N-acetyl-BD-galactosaminidase 1	+	D-MANNOSE assimilation	+	D-MELIBIOSE assimilation	-	D-MELEZIOSE assimilation	-	L-SORBOSE assimilation	-	L-RHAMNOSE assimilation	-	XYLITOL assimilation	+	D-SORBITOL assimilation	+	SACCHAROSE/SUCROSE assimilation	+	UREASE	+	ALPHA-GLUCOSIDASE	+	D-TURANOSE assimilation	+	D-TREHALOSE assimilation	+	NITRATE assimilation	-	L-ARABINOSE assimilation	-	D-GALACTURONATE assimilation	+	ESCULIN hydrolyse	-	L-GLUTAMATE assimilation	+	D-XYLOSE assimilation	+	DL-LACTATE assimilation	+	ACETATE assimilation	+	CITRATE (SODIUM) assimilation	+	GLUCURONATE assimilation	-	L-PROLINE assimilation	+	2-KETO-D-GLUCONATE assimilation	+	N-ACETYL-GLUCOSAMINE assimilation	+	D-GLUCONATE assimilation	+	<b>Other Features/ Challenges: Results</b> (1) Germ Tube Test: positive (1) Chlamydospore production: positive
Phenotypic Features	Results																																																																																														
L-Lysine-ARYLAMIDASE	-																																																																																														
L-MALATE assimilation	-																																																																																														
Leucine ARYLAMIDASE	+																																																																																														
ARGININE GP	+																																																																																														
ERYTHRITOL assimilation	-																																																																																														
GLYCEROL assimilation	+																																																																																														
Tyrosine ARYLAMIDASE	+																																																																																														
BETA-N-ACETYL-GLUCOSAMINIDASE	+																																																																																														
ARbutine assimilation	-																																																																																														
AMYGDALINE assimilation	-																																																																																														
D-GALACTOSE assimilation	+																																																																																														
GENTIOBIOSE assimilation	-																																																																																														
D-GLUCOSE assimilation	+																																																																																														
LACTOSE assimilation	-																																																																																														
METHYL-A-D-GLUCOPYRANOSIDE assimilation	+																																																																																														
D-CELLOBIOSE assimilation	-																																																																																														
GAMMA-GLUTAMYL-TRANSFERASE	-																																																																																														
D-MALTOSE assimilation	+																																																																																														
D-RAFFINOSE assimilation	+																																																																																														
PNP-N-acetyl-BD-galactosaminidase 1	+																																																																																														
D-MANNOSE assimilation	+																																																																																														
D-MELIBIOSE assimilation	-																																																																																														
D-MELEZIOSE assimilation	-																																																																																														
L-SORBOSE assimilation	-																																																																																														
L-RHAMNOSE assimilation	-																																																																																														
XYLITOL assimilation	+																																																																																														
D-SORBITOL assimilation	+																																																																																														
SACCHAROSE/SUCROSE assimilation	+																																																																																														
UREASE	+																																																																																														
ALPHA-GLUCOSIDASE	+																																																																																														
D-TURANOSE assimilation	+																																																																																														
D-TREHALOSE assimilation	+																																																																																														
NITRATE assimilation	-																																																																																														
L-ARABINOSE assimilation	-																																																																																														
D-GALACTURONATE assimilation	+																																																																																														
ESCULIN hydrolyse	-																																																																																														
L-GLUTAMATE assimilation	+																																																																																														
D-XYLOSE assimilation	+																																																																																														
DL-LACTATE assimilation	+																																																																																														
ACETATE assimilation	+																																																																																														
CITRATE (SODIUM) assimilation	+																																																																																														
GLUCURONATE assimilation	-																																																																																														
L-PROLINE assimilation	+																																																																																														
2-KETO-D-GLUCONATE assimilation	+																																																																																														
N-ACETYL-GLUCOSAMINE assimilation	+																																																																																														
D-GLUCONATE assimilation	+																																																																																														
<div style="border: 2px solid black; padding: 5px; width: fit-content; margin: 0 auto;"> <p style="margin: 0;"><b>MEDIBAC-INC S.A.</b>                      Distribuidor para el Ecuador de  <b>MICROBIOLOGICS</b>                      (Registro Sanitario AD-541.04-13)</p> </div> <div style="text-align: center; margin-top: 20px;">                   Brad Goskowicz, President                  AUTHORIZED SIGNATURE             </div>																																																																																															
© 2012 Microbiologics, Inc. All Rights Reserved. 200 Cooper Avenue North Saint Cloud, MN 56303 <span style="float: right;">Page 1 of 2</span> <span style="float: right;">DOC.286</span>																																																																																															

**Fuente:** Microbiologics, 2012.



## Anexo 14. Certificado de Análisis Aspergillus brasiliensis ATCC 16404

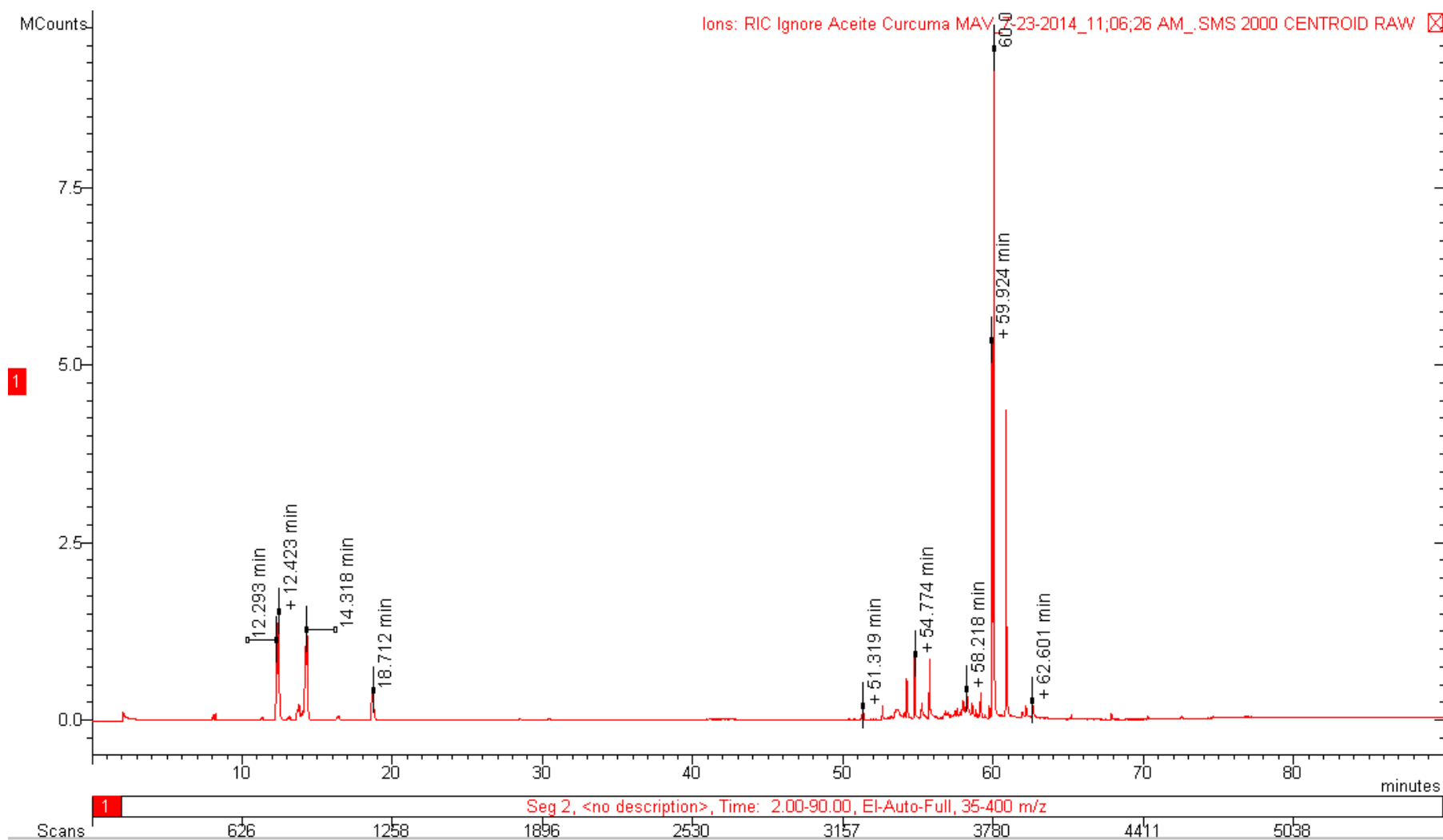


### Certificate of Analysis: Lyophilized Microorganism Specification and Performance Upon Release

<b>Specifications</b> Microorganism Name: Aspergillus brasiliensis Catalog Number: 0392 Lot Number: 392-157 Reference Number: ATCC® 16404™ Purity: < 0.1% Total Pellet CFU Recovery: > 100 CFUs per Pellet Passage from Reference: 4		Expiration Date: 2014/02 Release Information: Quality Control Technologist: Megan Murn Release Date: 2012/5/1
<b>Performance</b>		
<b>Macroscopic Features:</b> Rapidly growing colonies which are initially white or pale yellow, quickly become black with conidia (spore) production. Reverse is pale yellow.	<b>Medium:</b> PDA	
<b>Microscopic Features:</b> Chains of small conidia which arise from short sterigmata arranged radially over the surface of the vesicle	<b>Method:</b> Lactophenol Blue (1)	
Vitek None Phenotypic Features   Results		Other Features/ Challenges: Results   Brad Goskowitz, President AUTHORIZED SIGNATURE
Disclaimer: The last digit(s) of the lot number appearing on the packing slip is merely a packaging event number. The lot number displayed on this certificate is the actual base lot number.		
Note for Vitek®: Although the Vitek® panel uses many conventional tests, the unique environment of the card, combined with the short incubation period, may produce results that differ from published results obtained by other methods.		
Refer to the enclosed product insert for instructions, intended use and hazard/safety information.		
Individual products are traceable to a recognized culture collection.		
(1) These tests are accredited to ISO/IEC 17025:2005.		
 TESTING CERT #2655.01		

Fuente: Microbiologics, 2012.

**Anexo 15. Cromatograma: resultados del análisis cromatográfico (GC-MS) del aceite esencial de *Curcuma longa*.**



Fuente: la autora