

UNIVERSIDAD POLITÉCNICA SALESIANA
SEDE QUITO

CARRERA: INGENIERÍA EN BIOTECNOLOGÍA DE LOS RECURSOS
NATURALES

Trabajo de titulación previo a la obtención del título de:

INGENIEROS EN BIOTECNOLOGÍA DE LOS RECURSOS NATURALES

TEMA:

ESTUDIO DE ESTABILIDAD DE CREMAS FACIALES ELABORADAS CON
MATICO (*Aristeguietia glutinosa*) E ISHPINGO (*Ocotea quixos*).

AUTORES:

FRANCISCO JAVIER LÓPEZ TOBAR

KARLA DANIELA TITUAÑA ALTAMIRANO

TUTORA:

TATIANA DE LOS ÁNGELES MOSQUERA TAYUPANTA

Quito, junio 2017

Cesión de derechos de autor

Nosotros Francisco Javier López Tobar, con documento de identificación N° 040135473-3, y Karla Daniela Tituaña Altamirano, con documento de identificación N° 171455065-2, manifestamos nuestra voluntad y cedemos a la Universidad Politécnica Salesiana la titularidad sobre los derechos patrimoniales en virtud de que somos autores del trabajo de titulación intitulado: “ Estudio de estabilidad de cremas faciales elaboradas con Matico (*Aristeguietia glutinosa*) e Ishpingo (*Ocotea quixos*)”, mismo que ha sido desarrollado para optar por el título de: Ingeniero e Ingeniera en Biotecnología de los Recursos Naturales, en la Universidad Politécnica Salesiana, quedando la Universidad facultada para ejercer plenamente los derechos cedidos anteriormente.

En aplicación a lo determinado en la Ley de Propiedad Intelectual, en nuestra condición de autores nos reservamos los derechos morales de la obra antes citada. En concordancia, suscribimos este documento en el momento que hacemos la entrega del trabajo final en formato impreso y digital a la Biblioteca de la Universidad Politécnica Salesiana.


.....

Nombre: Francisco Javier López Tobar

Cédula: 040135473-3


.....

Nombre: Karla Daniela Tituaña Altamirano

Cédula: 171455065-2

Quito, junio de 2017

Declaratoria de coautoría del docente tutor/a

Yo declaro que bajo mi dirección y asesoría fue desarrollado el trabajo de titulación, “Estudio de estabilidad de cremas faciales elaboradas con Matico (*Aristeguietia glutinosa*) e Ishpingo (*Ocotea quixos*)” realizado por Francisco Javier López Tobar y Karla Daniela Tituaña Altamirano, obteniendo un producto que cumple con todos los requisitos estipulados por la Universidad Politécnica Salesiana, para ser considerados como trabajo final de titulación.

Quito, junio del 2017



.....
Tatiana de los Ángeles Mosquera Tayupanta

C.I: 171166801-0

Dedicatoria

A mis padres Mariana y Enrique,

Quienes me impulsaron y guiaron en todo momento para cumplir mi meta, sin dudar en ningún instante de ver realizados mis sueños, enseñándome con su ejemplo que la lucha y entrega constante tiene su recompensa.

A mis hermanos Verónica y Andrés,

Quienes estuvieron pendientes de mi formación personal y profesional, brindándome sus consejos, su experiencia y sobre todo su cariño.

A mis sobrinas Abi e Isa,

Regalándome su amor en los momentos difíciles.

A Karlita,

Por compartir su grandeza conmigo, siendo mi compañera inseparable en esta etapa de mi vida.

Francisco.

A Dios,

Por ser la luz que guió mi camino a lo largo de la carrera

A mis padres Patricio Tituaña y Martha Altamirano,

Por ser mi ejemplo de vida, mi pilar, por enseñarme a jamás rendirme y ser la motivación para crecer día a día

A mi hermana Melissa,

Por ser mi cómplice, apoyarme y siempre alentar mis sueños

A mi familia,

Inés y mami Rebe por darme su amor incondicional de madres y por estar en todos los momentos de mi vida.

A Francisco

Por ser mi compañero incondicional durante esta etapa.

Karlita.

Agradecimiento

A la Universidad Politécnica Salesiana, por permitir nuestra formación académica y ofrecernos las herramientas necesarias para alcanzar nuestra anhelada meta.

A nuestra querida Tutora Ing. Tatiana Mosquera, por permitirnos ser parte de su proyecto, por compartir su conocimiento con nosotros, por su cariño, paciencia, energía y predisposición diaria para la consecución de este trabajo.

A nuestro profesor, Ing. Janss Beltrán, por tener una voluntad inmensa de guiarnos durante la realización del proyecto.

A nuestros amigos y familiares que acudieron en nuestra ayuda no solo durante la realización de este trabajo, si no también durante toda nuestra trayectoria universitaria.

Índice

Introducción	1
1. Marco teórico	5
1.1. Cosmética Natural	5
1.1.1. Antioxidantes Naturales	6
1.1.2. Cosméticos Antioxidantes.....	8
1.2. Estudios de estabilidad	9
1.2.1. Factores que influyen en la estabilidad	10
1.2.2. Aspectos considerados en la estabilidad	12
1.2.3. Diseño de un estudio de estabilidad cosmética:.....	12
1.3. Certificaciones y Normas en Cosméticos Naturales	13
1.3.1. Certificaciones Internacionales de Cosmética Natural	13
1.4. Normativas para estudios de estabilidad	17
2. Marco Metodológico.....	19
2.1. Diseño experimental.....	19
2.2. Prueba de Preferencia Hedónica	20
2.3. Formulación.....	21
2.3.1. Ingredientes cosméticos para la formulación de cremas.....	21
2.3.2. Proceso de manufactura de la formulación	24
2.3.3. Envase primario	24
2.3.4. Desinfección de envases	25
2.3.5. Condiciones de almacenamiento.....	25
2.4. Estudio de Estabilidad	26

2.4.1.	Especificaciones Físicas.....	26
2.4.2.	Especificaciones Químicas.....	28
2.4.3.	Especificaciones Microbiológicas.....	30
2.4.4.	Método de Estabilidad.....	32
2.4.5.	Análisis Estadístico	37
3.	Resultados y Discusión	38
3.1.	Formulación.....	38
3.2.	Estudio de Estabilidad	40
3.2.1.	Determinación de viscosidad	41
3.2.2.	Especificaciones Organolépticas.....	42
3.2.3.	Determinación de pH	44
3.2.4.	Especificaciones Microbiológicas.....	45
3.2.5.	Determinación de fenoles totales	47
3.2.6.	Análisis Estadístico	49
3.2.7.	Determinación de la Vida Útil de las Formulaciones – Método de Poppe.....	54
4.	Conclusiones y recomendaciones.....	58
4.1	Conclusiones	58
4.2.	Recomendaciones	60
	Referencias.....	61
	Anexos	71

Índice de Tablas

Tabla 1. Arreglo factorial 4x2x2.....	19
Tabla 2. Puntos de valoración de la escala hedónica	20
Tabla 3. Diseño de panel sensorial.....	21
Tabla 4. Especificación del material de almacenamiento	24
Tabla 5. Requisitos microbiológicos para los productos cosméticos.....	31
Tabla 6. Valores de constantes del método de Poppe para diferentes temperaturas energías.....	35
Tabla 7. Resultado de cálculos de porcentaje de degradación	36
Tabla 8. Ingredientes para la elaboración de cremas	38
Tabla 9. Análisis de varianza en prueba de preferencia hedónica para activo natural.....	39
Tabla 10. Resultados de viscosidad	41
Tabla 11. Resultados de especificaciones organolépticas.....	43
Tabla 12. Resultados de pH	44
Tabla 13. Resultados tiempo cero recuento de microorganismos.....	46
Tabla 14. Curva patrón ácido gálico	47
Tabla 15. Resultados de la cantidad de fenoles totales	48
Tabla 16. Análisis de varianza factor: Formulación	49
Tabla 17. Análisis de varianza del factor: Envase	50
Tabla 18. Análisis de varianza del factor: Condición	51
Tabla 19. Análisis de varianza del factor: Tiempo	52
Tabla 20. Análisis de varianza de la concentración de fenoles en la interacción con todos los factores en estudio	53

Tabla 21. Concentración de fenoles de cada formulación durante el estudio de estabilidad en envase de vidrio	54
Tabla 22. Resultado de cálculos del porcentaje de degradación para las 4 formulaciones en envase de vidrio	55
Tabla 23. Concentración de fenoles de cada formulación durante el estudio de estabilidad en envase de plástico	56
Tabla 24. Resultado de cálculos del porcentaje de degradación para las 4 formulaciones en envase de plástico	57

Índice de Figuras

Figura 1. Certificación AIAB.....	14
Figura 2. Certificación BDHI.....	14
Figura 3. Certificación COSMEBIO.....	15
Figura 4. Certificación ECOCERT	16
Figura 5. Certificación Soil Association	16
Figura 6. Certificación NATRUE	17
Figura 7. Escala de percepciones olfativas	27
Figura 8. Escala de colores.....	28
Figura 9. Escala de tonalidades	28
Figura 10. Estimación de Estabilidad Método de Poppe	36
Figura 11. Curva Patrón de Ácido Gálico.....	47
Figura 12. Gráfica de Poppe de las formulaciones almacenadas en vidrio.....	55
Figura 13. Gráfica de Poppe de las formulaciones almacenadas en plástico.....	57

Resumen

Los productos realizados utilizando activos naturales han alcanzado un gran desarrollo en la modernidad del ser humano, ya que al sustituir sustancias químicas por extractos naturales generan un producto con características buscadas dentro de un nuevo mercado como es la cosmética natural. El presente trabajo determinó la estabilidad de cuatro formulaciones cosméticas elaboradas a partir de activos naturales de: Matico (*Aristeguietia glutinosa*) e Ishpingo (*Ocotea quixos*) utilizados a diferentes concentraciones. Se estudió el comportamiento de las formulaciones, envasadas en vidrio y plástico, almacenadas en dos condiciones (condiciones ambientales y condiciones controladas a 45°C - 75% de Humedad Relativa) de forma mensual durante tres meses se evalúa parámetros como: pH, viscosidad, características organolépticas, conteo microbiano y concentración de fenoles totales, característica química relacionada con el efecto cosmético otorgado a las formulaciones (actividad antioxidante), utilizada para determinar la vida útil de las cremas mediante el método de Poppe. Los resultados se analizaron a través de un ANOVA conjuntamente con el test de Duncan al 5%, el análisis demostró que las cremas almacenadas en condiciones ambientales mantienen características físicas y químicas, son estables mientras que, las que estuvieron a 45°C y 75% de HR no conservaron sus características en el tiempo. En la concentración de fenoles, las formulaciones con combinaciones de los aceites esenciales se mantuvieron por más tiempo, existiendo diferencia significativa en una de las cuatro formulaciones probadas. Mediante el método de Poppe se determina un tiempo de vida útil menor de dos años a todas las formulaciones.

Palabras Clave: Activos naturales, estabilidad, fenoles totales, método de Poppe, tiempo de vida útil

Abstract

The made products using natural actives have reached a great development in the modernity of the human being, besides having a great interest in the industry due to the replacement of chemical substances with natural extracts that makes a product with sought features inside a new market trend as natural cosmetics. The present work determined the stability of four cosmetic formulations made from natural actives of: Matico (*Aristeguietia glutinosa*) and Ishpingo (*Ocotea quixos*) used at different concentrations. The behavior of the formulations, packaged in glass and plastic, in two storage conditions (ambient conditions and controlled conditions at 45°C - 75% of Relative Humidity) were studied monthly for three months, allowing to evaluate parameters such as: pH, viscosity, organoleptic characteristics, microbial count and the total phenols concentration, chemical characteristic related to the cosmetic effect given to the formulations (antioxidant activity) concentration variation used to determine the useful life of the creams using the Poppe method. The results of the study were analyzed by ANOVA in conjunction with the Duncan test at 5%, the analysis showed that creams stored under environmental conditions maintained physical and chemical characteristics, while those at 45 ° C and 75% RH did not retain their characteristics in the time. In the phenol concentration, the formulations with combinations of the essential oils were kept for a longer time, showing a significant difference in one of the four formulations tested. Using the Poppe method, a useful life of less than two years is determined for all formulations.

Keywords: Natural actives, stability, total phenols, Poppe method, usefull lifetime

Introducción

Ecuador es un país que posee un elevado porcentaje de biodiversidad al tener un 6,4% del total de plantas del mundo (Estrella , Manosalvas, & Mariaca , 2005) de la cuales 4 173 especies son endémicas (Jørgensen & Yáñez, 1999). Parte de estas plantas son utilizadas para la extracción de aceites esenciales con una gran variedad de usos, empleados en la industria farmacéutica y fitosanitaria con propiedades: analgésicas, antibacterianas, antiinflamatorias, desinfectantes, desodorizantes y exterminadoras de plagas. Algunos ejemplos: caléndula, eucalipto, manzanilla, menta, estevia, entre otros; utilizados también como: saborizantes, colorantes, antioxidantes y conservantes naturales en la industria alimentaria y de licores (Montoya, 2010).

Una de las áreas en las que ha existido en los últimos tiempos un mayor reconocimiento de las plantas como ingrediente natural activo, es la industria cosmética. En la actualidad esta industria ha desarrollado productos que emplean aceites esenciales para la elaboración de jabones, perfumes, maquillaje, los más usados en este ámbito son: geranio, lavanda, rosas, jazmín, hierbabuena (Montoya, 2010).

Dentro del estudio de aceites esenciales de plantas utilizadas en nuestro país, existen investigaciones que avalan el potencial de estos ingredientes, como por ejemplo el Matico (*Aristeguietia glutinosa*) planta nativa de la sierra ecuatoriana perteneciente a la familia *Asteraceae*, crece entre 3000 a 3700 m.s.n.m. (Ubillos , Cerecetto, & González, 2011), la medicina natural le atribuye varias propiedades: cicatrizante, antiséptica, antiinflamatoria, expectorante, además es usada como emoliente y protector de la piel gracias a la presencia de taninos que se encuentra en una concentración de 5.7% (Buestan , Merchan , Guaraca T, & León, 2013), también contiene cumarinas, flavonoides, esteroides, alcaloides, triterpenos, saponinas y

fenoles (Valarezo & Vásquez, 2014); la presencia de fenoles en la especie también ha determinado el potencial efecto antioxidante la planta, como lo confirma la investigación realizada por (Guerrero & Pozo, 2016).

Otra especie endémica ampliamente estudiada en nuestro país con gran potencial biológico es el Ishpingo (*Ocotea quixos*) especie amazónica que se encuentra distribuida en Colombia y Ecuador, se desarrolla desde los 200 hasta los 1500 m.s.n.m con temperaturas de 18° a 30 ° C y precipitaciones desde los 1.500 hasta los 4.000 milímetros anuales (Chankuap, 2006), perteneciente a la familia Laurácea es un árbol perenne que mide aproximadamente entre 2 y 5 metros de altura. (Martínez M. , 2013). Los principales componentes identificados Cariofileno 19,029%, Humuleno 14,323% y Eremofileno 11, 407% (Noriega, 2008). Además otros compuestos como E- Metil cinamato (26,07%), α - Copaeno (3,90), E – Metil eugenol (3,56%), E – γ – Bisaboleno (2,99%), β - Selineno (2,75%), Bicyclogermacreno (2,13%), β – Pineno (1,74%), como también se destaca la presencia de fenoles (Rodríguez, 2014); los fenoles en la especie han determinado el potencial efecto antioxidante de la planta, como lo confirma la investigación realizada por (Chasipanta, Chicaiza, & Noriega, 2016).

El mercado cosmético en la categoría natural, tiene un crecimiento acelerado en los últimos años por la cantidad de consumidores que buscan la alta calidad y la riqueza de los activos naturales en las formulaciones. Los cosméticos con ingredientes naturales son una nueva opción en cuanto a la preservación del medio ambiente y su desarrollo sostenible (Alcalde, 2008).

La elaboración de cremas con actividad antioxidante responden al gran crecimiento en el mercado de productos con estas características orientados a disminuir la acción de radicales libres generando un efecto antienvjecimiento (Criado & Moya , 2009), en

este punto una crema con Matico (*Aristeguietia glutinosa*) e Ishpingo (*Ocotea quixos*) representaría una gran alternativa, efecto cosmético que necesita ser probado en estudios *in vivo* con personal capacitado en el área; no siendo la única actividad que debe ser probada, sino también la estabilidad de estas formulaciones en el tiempo, para garantizar al consumidor no sólo un producto eficaz sino también seguro.

Debido a la exigencia de los consumidores es necesario realizar análisis que aseguren la inocuidad, eficacia y estabilidad de los productos cosméticos naturales que se están introduciendo al mercado.

Aunque no existe una definición clara en el país de un cosmético natural, la adición de ingredientes naturales lo catalogan dentro de esta categoría, adición que puede representar un beneficio de actividad cosmética como a la vez un mayor riesgo en cuanto a estabilidad del producto, debido a que son ingredientes poco estudiados y sin mucha evidencia documentada en cuanto a la aplicación. La finalidad de la presente investigación es evidenciar la estabilidad de los componentes naturales considerados activos dentro de las formulaciones.

Según la Asociación Europea de Cosméticos (COLIPA, 2004) el propósito de un estudio de estabilidad de cosméticos es asegurar que un producto nuevo cumple con los estándares: físicos, químicos, sensoriales y microbiológicos de calidad, en condiciones apropiadas de almacenamiento.

En función de lo planteado el objetivo principal de la presente investigación es: Determinar la estabilidad de cremas faciales elaboradas con aceite esencial de especies vegetales: Matico (*Aristeguietia glutinosa*) e Ishpingo (*Ocotea quixos*). Para el cumplimiento de este objetivo es necesario: determinar condiciones de estudio y tipo de envase de almacenamiento, definir un diseño experimental que permita combinar

las variables del estudio, realizar controles organolépticos, físicos, químicos y microbiológicos por tres meses, con una periodicidad mensual en las muestras mantenidas bajo las condiciones definidas, y mediante análisis estadístico determinar la fórmula estable en el tiempo.

Las variables se encuentran descritas en el diseño experimental, mismas que serán analizadas a través de la determinación de pH, viscosidad, concentración de fenoles totales empleando el método de Folin Ciocalteu, análisis microbiológico, organoléptico y la determinación del tiempo de vida útil de las formulaciones mediante el método de Poppe. Los resultados obtenidos se analizaron a través de un ANOVA y la aplicación conjunta del test de Duncan al 5%.

La hipótesis de la presente investigación define que si una de las formulaciones con uno o dos ingredientes activos Matico (*Aristeguietia glutinosa*) e Ishpingo (*Ocotea quixos*), mantiene sus características en el tiempo entonces se considera una fórmula estable.

Capítulo 1

1. Marco teórico

1.1. Cosmética Natural

En la actualidad los seres humanos están tomando conciencia de la contaminación que existe en el planeta, por esto es necesario desarrollar la sostenibilidad de recursos a través de acciones, mismas que día a día están siendo utilizadas por la mayoría de industrias para el desarrollo de productos amigables con el ambiente y que a la vez cambia el comportamiento del consumidor mostrado más interés por formulaciones suaves y biodegradables en cuanto al cuidado personal y productos de belleza (Fonseca , Correa, & Chorili, 2015). La preocupación de los consumidores por el uso de productos químicos sintéticos en los cosméticos convencionales, ha permitido que la industria revolucione sus formulaciones con la adición de activos naturales como: extractos y aceites esenciales, siendo sus propiedades fitoterapéuticas y libres de químicos nocivos las más buscadas (Joshi & Pawar, 2015).

Según (Cosmos-standard AISBL, 2013), un cosmético natural es aquel que congrega las siguientes condiciones: un mínimo del 95% del total de los ingredientes sean de origen natural, el 5% restante pueden ser ingredientes de síntesis, que integran una corta lista restrictiva de conservantes o sustancias auxiliares y el 5% del total de los ingredientes procede de agricultura biológica.

Con respecto a las materias primas se pueden utilizar: extractos acuosos, extractos secos, hidroglicéricos y alcohólicos; aceites esenciales y macerados oleosos (Stashenko, 2009).

El mayor desafío que enfrenta la producción de cosméticos naturales, junto con la selección de materias primas es poder ofrecer a los consumidores productos de alta calidad, eficaces, seguros y atractivos. Sin embargo, este tipo de productos no siempre

se pueden fabricar exclusivamente a partir de ingredientes naturales puros. Todos los productos cosméticos naturales deben cumplir en primer lugar con los requisitos básicos de la Directiva 76/768 / CEE (Directiva de cosméticos de la Unión Europea) y la regulación (EG N ° 1223/2009), especialmente en lo que se refiere a su composición, seguridad y eficacia. Es por eso que cada ingrediente cumple un papel importante en una formulación cosmética (NaTrue, 2013).

Uno de los ingredientes activos naturales más utilizados para las formulaciones cosméticas naturales, tanto por su fragancia como sus efectos beneficiosos, son los aceites esenciales, que son fracciones líquidas volátiles, muy concentradas, liposolubles obtenidos a partir de materia prima vegetal (Martinez, 2003). Generalmente son mezclas complejas de hasta 100 componentes que pueden ser: compuestos alifáticos, monoterpenos, sesquiterpenos y fenilpropanos, con elevada efectividad en acciones terapéuticas (Escutia , Roldán , & Zarcos , 2012). Estas sustancias, están depositadas en tejidos específicos como: el pericarpio, pétalos, corteza, tallo, hojas, pelos glandulares, flores y raíces; constituyendo el 0,1 al 1% del peso seco de la planta (López , 2004).

1.1.1. Antioxidantes Naturales

Los antioxidantes son sustancias con la capacidad de disminuir los procesos destructivos de los radicales libres que son la causa de enfermedades y el envejecimiento, además de proteger los tejidos estabilizando moléculas de oxígeno (Hampton, 2014), estos se clasifican en: primarios que previenen la formación de radicales libres transformándolos en moléculas menos nocivas (Barahona, 2013); secundarios son los que capturan radicales libres haciéndolos compuestos menos reactivos como: vitamina E, ácido úrico, vitamina C; terciarios son los que reparan biomoléculas dañadas por radicales libres como por ejemplo: enzimas y metionina

sulfóxidoreductasa (Ferrer, Fonseca, & Arce, 1992); endógenos, producidos en la misma célula y exógenos que ingresan al organismo a través de suplementos alimenticios (Criado & Moya, 2009). Los antioxidantes técnicos destinados a estabilizar los ingredientes lábiles que contienen las fórmulas cosméticas, se utilizan desde hace muchos años, pero estos ingredientes no aportan significativamente a la calidad cutánea, siendo importante la incorporación en formulaciones de lo que se conoce como “antioxidantes biológicos” pues se está dando una gran importancia a las formulaciones cosméticas capaces de anular o reducir los procesos oxidativos que se desarrollan de forma incontrolada dentro del tejido cutáneo (Mosquera, Noriega, Tapia, & Pérez, 2012). En la actualidad hay un gran interés por los antioxidantes de fuentes naturales que son ricos en compuestos fenólicos (Fresneda, Sánchez, & Álvarez, 2001), dichos compuestos ayudan a frenar la sensibilidad de las personas al estrés oxidativo en la piel, causado principalmente por radiaciones ultravioletas, promoviendo la búsqueda de sustancias antioxidantes que actúen en contra de este daño cutáneo (Inocente, Tomas, & Huaman, 2014).

Existen varios compuestos dentro de los activos naturales que ayudan a mejorar el daño oxidativo de la piel por ejemplo las estructuras polifenólicas poseen en su estructura varios grupos fenólicos y una potente actividad antioxidante (Molina, 2012) como: las catequinas oligoméricas y flavonoides que han demostrado ser una fuente de protección antioxidante para la piel gracias al atrapamiento de radicales libres para formar estructuras menos reactivas, siendo una respuesta positiva al estudio de nuevas sustancias con características fisicoquímicas capaces de prevenir los trastornos cutáneos (Pouillot & et. al, 2011).

Cabe mencionar que en el estudio realizado por Chasipanta, Chicaiza y Noriega en el 2016, destacan al aceite esencial de Ishpingo (*Ocotea quixos*) como una especie con

alta capacidad antioxidante, presentando un IC50 de 0,428 µg/mL; de la misma manera la investigación realizada por Guerrero, Pozo y Noriega en 2016 concluye que el Matico (*Aristeguietia glutinosa*) tiene un alto desempeño en sus cualidades antioxidantes con un IC50 de 0,062 µg/mL en relación con la especie referente Tomillo (*Thymus vulgaris*) que posee un IC50 de 0,020 µg/mL. Estas dos especies son de mucho interés para la evaluación de actividad antioxidante.

1.1.2. Cosméticos Antioxidantes

El denominado mercado de la salud abarca consumidores que buscan productos antienvjecimiento. El envejecimiento es producido por una programación genética y por la presencia de radicales libres o el estrés oxidativo (Coronado, Vega, León, & Gutiérrez, 2015).

A nivel cutáneo el estrés oxidativo puede provocar lesiones oxidativas en el colágeno y la elastina, alteraciones en la matriz extracelular y fibrosis en los vasos dérmicos (Castellanos & Alcalá, 2010) que se refleja por la presencia de arrugas, sequedad cutánea, telangiectasias y trastornos dispigmentarios como la hiper e hipopigmentación (Pinnell, 2012).

Para mejorar estas alteraciones cutáneas existen los fitoantioxidantes que contienen grupos fenólicos que modulan la fosforilación de proteínas por su capacidad para inhibir la peroxidación de lípidos (Magliano, 2014), actuando principalmente en el estrato córneo, un estudio *in vitro* realizado por Pouillot y sus colaboradores en el 2011, ha demostrado la penetración de los ingredientes y sus efectos sobre la estructura y metabolismo de las células de la piel, sin embargo todavía no está claro si existe una penetración *in vivo* de compuestos de formulaciones cosméticas antioxidantes.

Los anteriores argumentos nos inclinan a suponer que los antioxidantes naturales son activos que deberían estar de forma obligada en productos cosméticos sea de forma única o en mezclas para obtener el mejor efecto posible, para prevenir el envejecimiento prematuro.

Dentro de las formulaciones cosméticas los antioxidantes están sujetos a deterioro por diferentes factores como: tipo de formulación (W/O, O/W, gel, entre otros), el pH final, condiciones de almacenamiento y la base cosmética; la presente investigación se sustentan en argumentos como los de (Sprada, Da Mota, & Arantes, 2014), que concluye que los activos funcionales evitan la degradación oxidativa, siendo necesario para ellos evaluar la capacidad antioxidante real de cada uno de los ingredientes en la formulación.

1.2. Estudios de estabilidad

El objetivo de la comprobación de la estabilidad de los productos cosméticos es garantizar que cumplan las normas de calidad: física, química y microbiológica, así como la funcionalidad y la estética cuando se almacena en condiciones apropiadas (COLIPA, 2004).

En productos cosméticos contribuyen para:

- Orientar el desarrollo de la formulación y del material de acondicionamiento
- Realizar reformulaciones.
- Estimar el tiempo de validez
- Monitorear la estabilidad organoléptica, físico-química y microbiológica, originando informaciones sobre la seguridad y confiabilidad de los productos (Agencia Nacional de Vigilancia Sanitaria, 2005).

1.2.1. Factores que influyen en la estabilidad

Cada componente, activo o no, puede afectar la estabilidad de un producto. Variables relacionadas a: la formulación, al proceso de fabricación, al material, entre otros, pueden influir en la estabilidad del producto (Agencia Nacional de Vigilancia Sanitaria, 2005). Estos factores pueden dividirse de forma general en extrínsecos e intrínsecos.

1.2.1.1. Factores Extrínsecos

Son factores que involucran las condiciones de almacenaje y condiciones ambientales con las formulaciones cosméticas, se los define previo al estudio de estabilidad. Entre estos factores tenemos: el tiempo, que se refiere al envejecimiento de la forma cosmética, como consecuencia puede llevar a alteraciones en las características organolépticas, físico-químicas, microbiológicas y toxicológicas; la temperatura que puede llegar a apresurar reacciones físico-químicas, produciendo alteraciones en la actividad de componentes, viscosidad, aspecto, color y olor del producto; la humedad puede desatar cambios en el aspecto físico del producto, volviéndolo blando, pegajoso, modificando su peso o volumen y a la vez existe una potencial contaminación microbiológica; el material de acondicionamiento es el envase utilizado para el almacenamiento de los productos cosméticos, estos pueden influir en la estabilidad, son elaborados a partir de: vidrio, papel, metal o plástico; el factor microbiológico se refiere a las formulaciones cosméticas que son propensas a la contaminación, son aquellas que presentan agua en su composición y estas son: emulsiones, geles, suspensiones entre otros. Por lo que es importante la utilización de conservantes adecuados para evitar contaminación ya que son productos que entran en contacto directo con la piel (Instituto Nacional de Vigilancia de Medicamentos y Alimentos, 2015).

1.2.1.2. Factores Intrínsecos

Tal como se describió anteriormente estos factores tienen influencia directa en la estabilidad de los productos, en este caso afecta las características físico-químicas del producto. Entre estas tenemos: la incompatibilidad física que se refiere a los factores afines a la naturaleza de las formulaciones y a la interacción de sus compuestos entre sí y/o con el material de acondicionamiento, estas interacciones de naturaleza física o química pueden ser o no detectadas por el consumidor. Dentro de la incompatibilidad química, la interacción entre los ingredientes puede generar reacciones químicas indeseables que pueden ocurrir entre ingredientes de la formulación anulando o alterando su actividad; la interacción entre ingredientes y el material de acondicionamiento determina si existe alteraciones químicas que pueden acarrear modificación a nivel físico o químico entre los componentes del material de acondicionamiento y los ingredientes de la formulación. (Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios, 2015)

Además, se deben tomar en cuenta los siguientes aspectos: los ensayos deben proceder bajo condiciones que permitan obtener información sobre la estabilidad del producto en el menor tiempo posible, buscando factores que lleven a conclusiones sobre estabilidad; así como también durante el acondicionamiento de las muestras, es recomendable que se sometan al ensayo de estabilidad sean envasadas en frascos con una tapa que garantice un buen cerrado, evitando así pérdida de gases o alteración por condiciones ajenas al ensayo. La cantidad de producto debe ser la suficiente para realizar todos los estudios que se establezcan en el desarrollo del ensayo de estabilidad (Agencia Nacional de Vigilancia Sanitaria, 2005).

1.2.2. Aspectos considerados en la estabilidad

Físicos: se espera conservar las propiedades físicas iniciales como aspecto, color, olor, uniformidad.

Químicos: mantener dentro de los límites especificados para la integridad de la estructura química, el contenido de ingredientes y otros parámetros. En este aspecto a más de pH, un factor clave del estudio es determinar la concentración de fenoles totales en las cremas, activo biológico que está relacionado con el aceite esencial y actividad cosmética atribuida a las cremas (actividad antioxidante).

Microbiológicos: se espera se mantengan las características microbiológicas, conforme los requisitos especificados. El cumplimiento de las Buenas Prácticas de Manufactura (BPM) y los sistemas conservantes utilizados en la formulación pueden garantizar estas características.

Funcionalidad: los caracteres del producto deben ser constantes, sin variaciones en cuanto al efecto inicial planteado. La funcionabilidad estaría relacionada con la variación en la concentración de activos biológicos (Fenoles totales).

Seguridad: no debe existir alteraciones significativas que influyan en la seguridad de uso del producto cosmético (ANVISA, 2005).

1.2.3. Diseño de un estudio de estabilidad cosmética:

Un estudio de estabilidad debe incluir las siguientes consideraciones:

- Identificar pruebas que aceleren los efectos de las condiciones normales de almacenamiento y uso.

- Considerar la evaluación de propiedades estéticas críticas tales como color, fragancia, textura, especialmente después de la exposición a condiciones establecidas en el diseño.
- Considerar el impacto del empaque en el producto contenido, así como cualquier efecto que la formulación podría tener en el envase (COLIPA, 2004). Existe poca investigación publicada como apoyo a los métodos de predicción de la vida útil de los cosméticos, esto se debe a la variedad, complejidad de las fórmulas y envases cosméticos (COLIPA, 2004).

1.3.Certificaciones y Normas en Cosméticos Naturales

La producción de cosméticos convencionales se concentra en Europa y América del Norte acaparando el 80 % de las ventas mundiales, aunque existe un mercado que ofrece productos cosméticos naturales, estudios indican que existe una minoría con respecto a las ventas, siendo su disponibilidad su mayor debilidad (Manzano, 2015). Según datos de la Comisión de la Unión Europea en 2012 demostró que la mayoría de compras de cosméticos naturales son realizadas por el 26% de los consumidores, parte de estos consumidores confunden productos totalmente de origen natural con cosméticos naturales no puros que contiene sustancias químicas sintéticas tales como parabenos y sales de aluminio. Por estas razones es importante adoptar normas para legitimar que las marcas de los productos aseguren a los consumidores que sus productos cumplan con los estándares de la industria cosmética natural y orgánica (Manzano, 2015). Existen algunas certificaciones y normas como, por ejemplo:

1.3.1. Certificaciones Internacionales de Cosmética Natural

Son la manera de distinguir un producto cosmético de los demás, en Europa no se ha conseguido unificar las certificaciones, por lo que existe varios países que los proporcionan, entre ellos tenemos:

“AIAB” Asociación de trabajo en favor de la agricultura orgánica



Figura 1. Certificación AIAB

Fuente: (BDIH, 2012)

Certificación italiana de cosmética natural, tiene como propósito apoyar el uso de materiales orgánicos y prohibir el uso de materiales que contienen alergénicos, que son irritantes o peligrosos para la salud, hay una gran cantidad de ingredientes prohibidos tales como parabenos y siliconas. Además de asegurar una producción amigable con el ambiente, evitando la contaminación durante el proceso de embalaje (CosmeticOBS, 2009).

“BDHI” Certificado en Cosmética Natural



Figura 2. Certificación BDHI

Fuente: (BDIH, 2012)

Certificación alemana de cosmética natural, se caracteriza por ser estricta al exigir cumplimiento de reglas para la elaboración de los productos. Entre las exigencias más importantes se encuentran: el material vegetal a utilizarse debe ser recogido de una manera que no afecte al medio ambiente, también prohíbe el uso de material genéticamente modificado o derivados de los mismos, el uso de gran cantidad de ingredientes para la fabricación del producto, ingredientes sintéticos están prohibidos (BDIH, 2012).

“Cosmebio” Asociación Profesional de Cosméticos ecológicos y Orgánicos



Figura 3. Certificación COSMEBIO

Fuente: (BDIH, 2012)

Certificación francesa de cosméticos naturales, su objetivo es poner de manifiesto los verdaderos productos cosméticos naturales y promover los valores ambientales, apoyar la agricultura ecológica y asegurarse de que los productos cosméticos son seguros de usar y favorables para el consumidor. Este certificado también hace énfasis en la producción de cosméticos con ingredientes obtenidos a partir de agricultura ecológica evitando la adición de ingredientes que causan polémica. La fortaleza de la certificación es obtener productos de alta calidad y la información que se puede proporcionar al consumidor de forma clara y correcta de los productos a comercializar (COSMEBIO, 2012).

“ECOCERT” Certificado para Cosméticos Naturales



Figura 4. Certificación ECOCERT

Fuente: (BDIH, 2012)

Certificación francesa de cosméticos naturales, posee gran prestigio en Europa debido a su dedicación hacia el aspecto ambiental, por esta razón es utilizada en países fuera de Europa. ECOCERT fue desarrollado para apoyar a la agricultura ambientalmente amigable y dar un reconocimiento a organizaciones de agricultores comprometidas a cultivar y producir materia prima de esta manera. La certificación cubre también a alimentos, textiles y perfumes (ECOCERT, 2012).

“Soil Association” Asociación Sierra - Certificado para Cosméticos Naturales



Figura 5. Certificación Soil Association

Fuente: (BDIH, 2012)

Entidad encargada de certificación más grande de Reino Unido, el material a utilizarse para la elaboración de cosméticos naturales debe ser cultivados de manera que tenga el menor impacto al ambiente, conservando la fertilidad del suelo y su actividad biológica (Heino, 2012).

“NATRUE” Certificado para Cosméticos Naturales



Figura 6. Certificación NATRUE

Fuente: (BDIH, 2012)

Es una organización internacional que está apuntando hacia una creación de normas unificadas para la cosmética natural. Para que un cosmético pueda satisfacer las normas de NATRUE, debe contener únicamente ingredientes naturales, en la producción y el llenado se debe tener cuidado que sustancias no deseadas se mezclen con el producto (Heino, 2012).

En el Ecuador no existen entidades encargadas de la acreditación ni regulación de un cosmético natural. La Agencia Nacional de Regulación, Control y Vigilancia Sanitaria (ARCSA) posee una lista de Recursos Naturales que pueden ser utilizados como materias primas para la elaboración de una serie de productos, en esta lista consta el Ishpingo (*Ocotea quixos*) y Matico (*Aristeguietia glutinosa*) como recurso natural.

1.4. Normativas para estudios de estabilidad

El Ecuador carece de una normativa específica en cuanto al estudio de estabilidad de cosmética, instituciones como el ARCSA e INEN que son las encargadas de establecer y normalizar procedimientos, no poseen protocolos específicos para para dicho fin. Existe el Reglamento Técnico Ecuatoriano RTE INEN 093 “Productos Cosméticos”, este reglamento determina las exigencias que deben cumplir los productos cosméticos, con la finalidad de precautelar la vida, salud y seguridad de las personas y medio

ambiente. Este reglamento aplica a los productos cosméticos que se fabriquen a nivel nacional, importen y comercialicen en el Ecuador. Entre los requisitos que exige el RTE se encuentra: seguridad, calidad microbiológica, conformidad con lista de ingredientes cosméticos permitidos, prohibidos y restringidos, buenas prácticas de manufactura, pero no describe procedimientos para cumplir con los requisitos antes mencionados (Subsecretaría de la Calidad , 2013).

En Latinoamérica existe la Guía de Estabilidad de Productos Cosméticos desarrollada por la Agencia Nacional de Vigilancia Sanitaria de Brasil (ANVISA) tiene como fin garantizar la calidad mediante estudios de estabilidad y así lograr conservar las características del producto durante su tiempo de validez. El objetivo que se plantea es presentar estudios y recomendaciones que puedan orientar tanto a los profesionales, tesisistas y evaluadores estatales. Esta invita a las empresas a ser responsables con la evaluación de la estabilidad de sus productos antes de su comercialización. Al igual que ANVISA la Asociación Europea de Higiene y Perfumería Cosmética COLIPA estableció las normas sobre la estabilidad de productos cosméticos con principios y objetivos similares (ARCSA, 2015).

Capítulo 2

2. Marco Metodológico

2.1. Diseño experimental

Se estableció un diseño experimental completamente al azar (DCA) con un arreglo factorial 4x2x2 con tres repeticiones, en donde se considera como variables independientes: los aceites esenciales utilizados en la formulación en diferentes proporciones, los materiales de acondicionamiento de las cremas y las condiciones de almacenamiento; mientras que las variables dependientes son: pH, viscosidad, concentración de fenoles totales, cambios en características organolépticas y crecimiento microbiano. Esto permitió evaluar la interacción entre variables a los tiempos 0, 1, 2, 3 (meses) después de la elaboración de las cremas. En un total de 157 muestras estudiadas.

Tabla 1.

Arreglo factorial 4x2x2

Formulación	Material de acondicionamiento	Condiciones de almacenamiento
Crema de Matico	Plástico – Vidrio (20g)	-Condiciones ambientales. *-Condiciones controladas (T=40°C ±2) (HR=75% ±2).
Crema Ishpingo	Plástico – Vidrio (20g)	-Condiciones ambientales. * -Condiciones controladas (T=40°C ±2) (HR=75% ±2).
Crema Matico 80% - Ishpingo 20%	Plástico – Vidrio (20g)	-Condiciones ambientales. * -Condiciones controladas (T=40°C ±2) (HR=75% ±2).
Crema Matico 20% - Ishpingo 80%	Plástico – Vidrio (20g)	-Condiciones ambientales. * -Condiciones controladas (T=40°C ±2) (HR=75% ±2).

Nota: *Condiciones ambientales de Quito Aprox. (T=20°C +/- 2°C y 50% +/- 2% de Humedad Relativa)

Elaborado por: Los Autores, 2017

2.2.Prueba de Preferencia Hedónica

El análisis sensorial es la tipificación, medida científica y análisis e interpretación de las respuestas a los productos, distinguidas a través de los sentidos: gusto, vista, olfato, oído y tacto (Stone & Sidel, 1993). Esta prueba determinó el número de muestras a utilizarse en el estudio, el resultado de la prueba fue la selección de las cuatro formulaciones que se presentan en la tabla N° 1. En las pruebas el consumidor valora el grado de preferencia que genera el producto utilizando una a escala Hedónica que contiene 9 puntos de valoración descritos en la siguiente tabla:

Tabla 2.

Puntos de valoración de la Escala Hedónica

1 = me disgusta extremadamente	6 = me gusta levemente
2 = me disgusta mucho	7 = me gusta moderadamente
3 = me disgusta moderadamente	8 = me gusta mucho
4 = me disgusta levemente	9 = me gusta extremadamente
5 = no me gusta ni me disgusta	

Elaborado por: Los Autores, 2017

El objetivo de la prueba fue que, mediante análisis sensorial definir la concentración del activo natural considerando que las tres concentraciones en cada caso, eran bibliográficamente efectivas, pero era necesario identificar la preferencia del consumidor. La prueba se realizó con 32 panelistas estudiantes de la Universidad Politécnica Salesiana, entrenados en los atributos del producto a analizar. Las instrucciones de la prueba se describen en el Anexo 1.

El diseño utilizado en esta prueba sensorial es un diseño de cuadrado latino aleatorio, que determina el orden de evaluación de las formulaciones por cada panelista, diseño que rompe el sesgo de orden de presentación de las muestras, ya que cada muestra es evaluada en todos los tiempos posibles (1ro, 2do, 3ro, 4to), este se encuentra descrito

en la Tabla 3 en donde W, X, Y, Z representa la concentración del activo natural 0,4%; 0,6%; 0,8% y 0% (control) respectivamente.

Tabla 3.

Diseño de Panel Sensorial

Panelistas	W	X	Y	Z
1	W	X	Y	Z
2	Z	W	X	Y
3	Y	Z	W	X
4	X	Y	Z	W
5	W	X	Y	Z
6	Z	W	X	Y
7	Y	Z	W	X
8	X	Y	Z	W

Elaborado por: Los Autores, 2017

2.3. Formulación

Para el desarrollo de la crema se realizó una revisión bibliográfica previa con el fin de que la combinación de cada uno de los ingredientes más la adición de los activos vegetales, sea favorable para obtener un producto con buenas características organolépticas atractivas para el consumidor, los ingredientes indispensables que garanticen la seguridad al producto.

Los ingredientes fueron adquiridos en casas comerciales de la ciudad de Quito de acuerdo a la lista elaborada a partir de la revisión bibliográfica.

2.3.1. Ingredientes cosméticos para la formulación de cremas

Cada uno de los ingredientes cumplen la función de aplicabilidad según el Reglamento Técnico ecuatoriano RTE INEN 093 “Productos Cosméticos” (Subsecretaría de la Calidad , 2013)

Según la Normativa ECOCERT (2012), se consideran a los aceites esenciales como ingredientes activos principales, los que se utilizaron en las diferentes formulaciones cosméticas atribuyendo su actividad biológica (antioxidante) con el efecto cosmético de las formulaciones. Se utiliza excipientes grasos que actúan como: suavizantes, emolientes, emulsificantes, controladores de viscosidad; se consideró la utilización de aditivos para mejorar las propiedades del producto como: protegerlo frente a agentes químicos, biológicos contaminantes y mejorar sus características organolépticas (Martínez J. , 2012).

Dentro de los ingredientes considerados en la fórmula se encuentran:

- **Nombre Comercial:** Aceite mineral

Denominación INCI: Paraffinum Liquidum

Función: Se usa como emoliente en cosméticos, el porcentaje de uso recomendado es de hasta el 25% (Alegria & Amaya, 2007)

- **Nombre Comercial:** Estearato de glicerilo

Denominación INCI: Glyceryl stearate (Cithrol 40 GMS)

Función: Se usa como emulsificante en cosméticos, el porcentaje de uso recomendado es 2 al 15 % (Alegria & Amaya, 2007).

- **Nombre Comercial:** Ácido esteárico

Denominación INCI: Stearic acid

Función: Se usa como emulsificante en cosméticos, el porcentaje de uso recomendado es 1 al 20% (Alegria & Amaya, 2007)

- **Nombre Comercial:** Phenova

Denominación INCI: Phenoxyethanol, Methylparaben, Ethylparaben, Propylparaben, Butylparaben, Isobutylparaben

Función: Se usa como conservante en cosméticos, el porcentaje de uso recomendado es de 0,1 a 0,3 % (Representaciones Químicas, 2016).

- **Nombre Comercial:** Alcohol cetílico

Denominación INCI: Cetyl alcohol

Función: Se usa como controlador de viscosidad en cosméticos, el porcentaje de uso recomendado del 2 al 10% (Alegria & Amaya, 2007).

- **Nombre Comercial:** Crodamol GTCC

Denominación INCI: Caprylic/Capric triglyceride

Función Se usa como emoliente en cosméticos, el porcentaje de uso recomendado hasta 8% (Connelly, Emslie , & Metz, 1996).

- **Nombre Comercial:** Manteca de cacao

Denominación INCI: Theobroma cacao butter

Función: Se usa como emoliente en cosméticos, el porcentaje de uso recomendado del 3 al 5 % (Alegria & Amaya, 2007)

- **Nombre Comercial:** Silicona Xiameter DC 245

Denominación INCI: Cyclopentasiloxano

Función: Se usa como emoliente en cosméticos, el porcentaje de uso recomendado es de 1 al 20 % (Representaciones Químicas, 2016).

- **Nombre Comercial:** Fragancia

Denominación INCI: Fragrance

Función: Se usa como enmascarador de olores, para dar aroma a los cosméticos, el porcentaje de uso recomendado es de 0,1-0,5 % (Representaciones Químicas, 2016).

2.3.2. Proceso de manufactura de la formulación

Las cuatro formulaciones con base en Ishpingo (*Ocotea quixos*) y Matico (*Aristeguetia glutinosa*) fueron elaboradas a una cantidad de 2000g cada una, se realizó una emulsión de aceite en agua.

De manera previa se realiza la desinfección de los materiales y el área de fabricación, posteriormente se procedió a pesar cada componente. La fase oleosa en el orden de la lista (Tabla 6) se mezcló, manteniendo una agitación constante. Se utilizó el Turbo emulsor Silverson LSM a 2500 rpm por 15min para mezclar la fase acuosa (agua a 70° C) con la fase oleosa, el ingrediente activo se colocó cuando la mezcla llegó a una temperatura de 40°C, con una agitación a 4000 rpm por 10min.

2.3.3. Envase primario

En la industria cosmética es oportuno establecer el material de almacenamiento que contenga la crema elaborada, por lo tanto, se determinó las siguientes especificaciones:

Tabla 4.

Especificación del material de almacenamiento

ENVASE	Frasco de 20 mL	Frasco de 20 mL
MATERIAL	Vidrio	Polipropileno
COLOR	Transparente (Base) Gris (Tapa)	Base y Tapa Blanca
PESO	Aprox. 35 g.	Aprox. 4 g.

Nota: El material de almacenamiento fue adquirido en casas comerciales de la ciudad de Quito

Elaborado por: Los Autores, 2017

2.3.4. Desinfección de envases

Se realizó una esterilización en seco, para esto se rocía los envases con alcohol al 70%, se prepara la cámara de flujo como lo recomienda (CUBEN, 2014) para la desinfección de superficies el tiempo de exposición con luz UV debe ser entre 10 a 15 minutos, aplicando previamente alcohol al 70% y sablón al 1%. Se procede a destapar los frascos y colocarlos dentro de la cámara, (McGraw-Hill, 2010) recomienda que para la esterilización con radiación luz UV de materiales de laboratorio o de uso industrial, en este caso el envase de plástico y vidrio, se debe someter a un tiempo prolongado de exposición, sin definir cuantitativamente el significado de prolongado, considerando el tiempo recomendado por CUBEN, se determina cuadruplicar la recomendación a 60 minutos.

Una vez esterilizados los envases se dispensó la crema con la ayuda de una espátula estéril para evitar la contaminación por manipulación, cada envase contiene 20g aproximadamente.

2.3.5. Condiciones de almacenamiento

Se deberá tomar en cuenta las condiciones de la zona climática donde el producto fue elaborado. Las condiciones de ensayo fueron: temperatura ambiente $20^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ y $50\% \pm 2\%$ de Humedad Relativa (HR) determinadas gracias al equipo que registró la humedad y temperatura CENTER 340/342 durante todo el tiempo de estudio, mientras que las condiciones controladas fueron de 40°C y 75% de (HR) monitoreadas durante todo el estudio con una cámara climática con control de humedad (BINDER) modelo KBF 240.

2.4. Estudio de Estabilidad

Los estudios de estabilidad a corto plazo tienen por finalidad determinar la vida útil del producto, cuando éste se mantiene a condiciones ambientales y a condiciones controladas, que permiten acelerar el nivel de descomposición o pérdida de un componente esencial del producto (Ponce, 2002). Para el desarrollo de este tipo de estudios se debe tener en cuenta los siguientes aspectos:

2.4.1. Especificaciones Físicas

Se entiende como la capacidad que poseen los productos cosméticos de conservar de forma inalterada las características físicas que presentaban al culminar su producción. Aspectos como: la densidad relativa, viscosidad, color, olor, textura, entre otras que se entiende como propiedades físicas (Ponce, 2002).

2.4.1.1. Determinación de viscosidad

En una formulación cosmética es importante su apariencia semi-sólida pues gracias a esta su aplicación, en la zona del cuerpo requerida es más práctica, cómoda y fácil. Dicha apariencia está dada por la viscosidad que es la resistencia de un fluido a ser deformado por un esfuerzo de cizallamiento (Thining , Gmbh, & Strasse, n.d). Por esta razón las emulsiones al ser fluidos no Newtonianos su viscosidad disminuye cuando aumenta la velocidad de derrame a lo largo del tiempo (Rojas, 1999).

Para determinar la viscosidad en las formulaciones del estudio se utilizó el viscosímetro rotacional Brookfield DV-E, con un spindle número 63 a diferentes rpm, dependiendo de cada formulación en medición. El viscosímetro somete a rotación el husillo sumergido en el fluido, para que la medida sea confiable este debe encontrarse entre el 10- 90% del valor máximo posible (Parra, 2012).

2.4.1.2. Especificaciones Organolépticas

Los parámetros organolépticos a evaluar en cuanto a las formulaciones son:

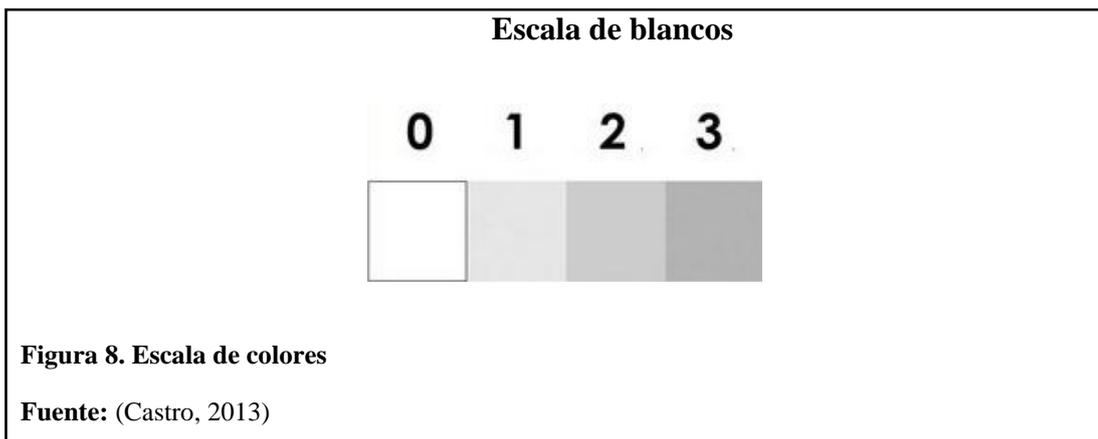
ASPECTO: tiene una valoración de acuerdo su modificación en el tiempo y corresponde a: normal (sin alteración), levemente turbio, levemente separado y separado o turbio con los valores de 0, 1, 2, 3 respectivamente.

OLOR: al igual que el caso anterior el olor, tiene una valoración de acuerdo a la modificación durante el ensayo y se clasifica en: normal (sin alteración), levemente modificada, modificada e intensamente modificada y estos tendrán el valor de 0, 1, 2, 3 respectivamente, basado en una escala de percepciones olfativas:

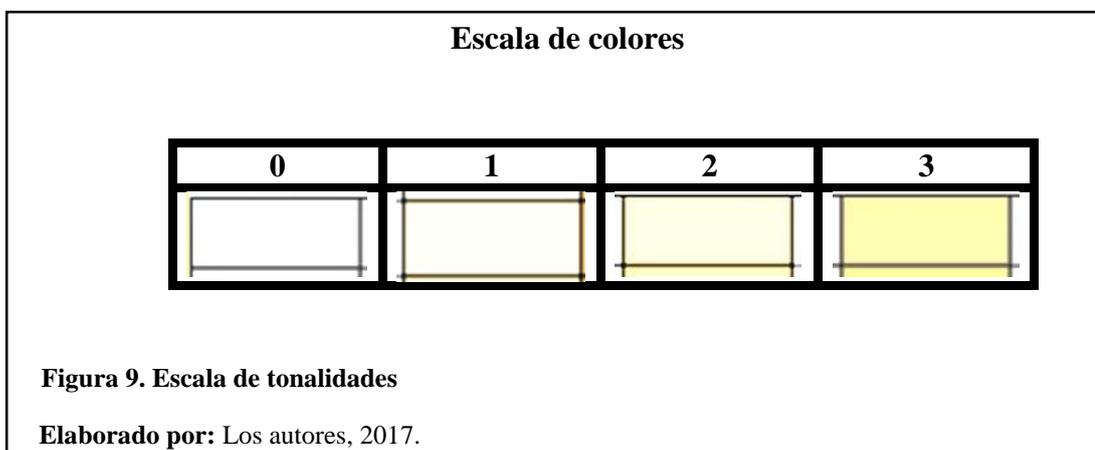
Escala de percepciones olfativas			
0	1	2	3
Normal o Fragante	Levemente modificada o Levemente fragante	Modificada o Levemente Rancio	Intensamente modificada o Rancio

Figura 7. Escala de percepciones olfativas
Elaborado por: Los autores, 2017.

COLOR: en cuanto al color se utiliza los criterios previamente establecidos, estos se basan en una escala de blancos:



En base a esta se elaboró una escala propia para el producto, que fue pasando de blanco a una tonalidad amarillenta.



Esta valoración servirá para el análisis estadístico.

2.4.2. Especificaciones Químicas

Es la capacidad que presentan los productos cosméticos de mantener dentro de ciertos límites establecidos la concentración de un componente considerado fundamental para la seguridad o eficacia de este. Además, la evaluación de parámetros como el pH.

2.4.2.1. Determinación de pH

Controlar y regular los niveles de pH que presentan los productos cosméticos es indispensable pues este actúa principalmente como un indicador de calidad, esta escala numérica adimensional expresa el grado de acidez o basicidad de una solución (Mapsa, 2000), determinando así la actividad de los iones hidrógeno (Zegarra, García, &

Etcheverry, 2009). La piel sana tiene un pH 4,5 y 5,9 siendo el óptimo 5,5 este nivel ácido actúa como una barrera protectora contra agentes infecciosos por ello que las formulaciones cosméticas, no alteren este pH natural es de suma importancia (METTLER TOLEDO, 2016). Para determinar el pH en cada formulación se utilizó el pHmetro Metter Toledo Seven Multi, el cual fue calibrado con soluciones de referencia certificadas de pH 4, 7 y 10 antes de la medición.

Durante la medición se tomó cada una de las muestras y se introdujo el electrodo a la crema, se esperó a que se estabilice la medición y se registró el resultado.

2.4.2.2. Determinación de fenoles totales

Se empleó la determinación de fenoles totales (método de Folin – Ciocalteu), el que se utiliza para determinar el contenido de compuestos fenólicos totales en productos vegetales. Este se basa en que los compuestos fenólicos reaccionan con el reactivo de Folin-Ciocalteu, a pH básico, el mecanismo es una reacción redox, la oxidación de los polifenoles presentes en la muestra, ~~la misma que~~ produce la aparición de una tonalidad azulada, finalmente se cuantifica por espectrofotometría en base a una recta patrón de ácido Gálico (García, Fernández, & Fuentes, 2015).

Para la curva de calibración a partir ácido Gálico se realizó soluciones de 10 mL con (0,1 mg, 0,2 mg, 0,5 mg, 1 mg, y 2 mg por mL de etanol al 96%) de ácido gálico. Posterior a esto se toma 6 frascos de 5 mL y se coloca 0,05mL de las soluciones en cada uno, 3,95 mL de agua destilada, 0,25 mL del Reactivo de Folin-Ciocalteu y finalmente 0,75 mL de Na₂CO₃ al 20% y se deja reposar por 2 horas, para el blanco se utilizó 4 mL de agua destilada.

Para la determinación de fenoles totales en las formulaciones se preparó las muestras a analizar tomando 1g de la crema y se disolvió en 10 mL de metanol (Pérez, Lugo,

Gutiérrez, & et.al, 2013), se utilizó un agitador magnético para homogenizar la muestra durante 10 min y finalmente se colocó en el ultrasonido por 5 min. Se procede a tomar 0.05 mL del sobrenadante y se realizó el procedimiento antes descrito.

Para la lectura de las muestras en el espectrofotómetro UV-Visible se utilizó una longitud de 765 nm (García, Fernández, & Fuentes, 2015) (Aldana, Guayasamín, & Noriega, 2014). El cálculo de los fenoles totales se realizó mediante la ecuación generada por regresión lineal de la curva de calibración.

2.4.3. Especificaciones Microbiológicas

Mantener la esterilidad de los productos cosméticos desde el principio hasta el final de su vida útil y tiempo de uso, es una forma más de asegurar la calidad del mismo a través de conteo microbiano y prueba de desafío del sistema conservante utilizado (Ponce, 2002). Los productos cosméticos deben cumplir los requisitos microbiológicos de acuerdo al Reglamento Técnico Ecuatoriano RTE INEN 093 “Productos Cosméticos”, detallados en la siguiente tabla:

Tabla 5.

Requisitos microbiológicos para los productos cosméticos

Área de aplicación y fase etaria	Límites de aceptabilidad
<ul style="list-style-type: none">• Productos para uso en infantes (hasta 3 años)• Productos para uso en área de ojos• Productos que entran en contacto con las membranas mucosas	<ol style="list-style-type: none">a. Recuento de microorganismos mesófilos aerobios totales. Límite máximo 5×10^2 UFC/g ó mL.b. Ausencia de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> en 1 g ó mL.c. Ausencia de <i>Staphylococcus aureus</i> en 1 g ó mL.d. Ausencia de <i>Escherichia coli</i> en 1 g ó mL.
Demás productos cosméticos susceptibles de contaminación microbiológica.	<ol style="list-style-type: none">a. Recuento de microorganismos mesófilos aerobios totales. Límite máximo 5×10^3 UFC/g ó mL.b. Ausencia de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> en 1 g ó mL.c. Ausencia de <i>Staphylococcus aureus</i> en 1 g ó mL.d. Ausencia de <i>Escherichia coli</i> en 1 g ó mL.
Productos a ser utilizados en los órganos genitales externos	<ol style="list-style-type: none">a. Ausencia de <i>Candida albicans</i>.

Fuente: CAN, resolución 1482 (COMUNIDAD ANDINA, 2012).

2.4.3.1. Análisis Microbiológico

El análisis microbiológico se realizó en cajas Petrifilm™ para mesófilos aerobios totales, mohos, levaduras, *E.coli* y coliformes totales. Cada placa contiene un sistema de medio de cultivo específico para cada microorganismo, un agente gelificante soluble en agua fría y un indicador que facilita la enumeración de las colonias respectivamente.

Se prepara medio peptona granulado Merck como diluyente (25,5g/L.) para el enriquecimiento bacteriano de las formulaciones en estudio recomendado por la

Organización Internacional para la Estandarización ISO (ISO 6579-2002). Para la preparación de la muestra se coloca 1g de crema en 9 ml de medio peptona, se mantiene en agitación por 10 min. La siembra se realizó en cámara de flujo laminar, posteriormente se colocó la caja Petrifilm respectiva a cada microorganismo en una superficie plana, levantando lentamente la lámina superior y con ayuda de una micropipeta se coloca 1ml de la muestra previamente preparada.

Se utilizó la incubadora Memmert INB 400 para Mohos y Levaduras a una temperatura de 25 °C por 7 días. Mientras que para Mesófilos aerobios totales, *E.coli* y Coliformes totales se utilizó la incubadora Shel Lab a 37,2 °C por 24 horas.

2.4.4. Método de Estabilidad

El método empleado para la determinación del tiempo de vida útil de las formulaciones en estudio es el de Poppe.

2.4.4.1.Método de Poppe

El fundamento de este método es el de determinar una tabla de contingencia y a su vez determinar el porcentaje de degradación del principio activo a diferentes temperaturas, considerando energías de activación usuales para productos farmacéuticos. (Portilla, 2012).

El método se basa en la ecuación de Arrhenius:

Este método establece una relación entre la velocidad de reacción y la temperatura dada por la siguiente ecuación:

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

$$\ln k = \ln A - \frac{E_a}{RT}$$

Dónde:

A: Factor pre-exponencial

K: Constante de velocidad de reacción.

E_a: Energía de activación.

R: Constante de los gases (R= 1,987 cal/Kmol)

k: Constante de Boltzman (1,38 x 10⁻¹⁶ erg. K)

n: Constante de Planck (6,63 x 10⁻²⁷ erg. s)

Se procede a elaborar una tabla de contingencia de la siguiente manera:

Se registran los valores de las constantes para diferentes temperaturas y energías de activación del Método de Poppe. Una vez que se obtienen las constantes se procede a calcular el porcentaje remanente y porcentaje de degradado. Se elabora la tabla de contingencia a partir de la cual se grafica la curva del Log del % degradado vs. 10000/T.

Cálculos para la tabla de contingencia basada en las ecuaciones de Arrhenius.

$$K = \left(\frac{kT}{n}\right) e^{-Ea}$$

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

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

$$A = [(2,08 \times 10^{10})^\circ\text{K}^{-1} \text{seg}^{-1}] T$$

Calculamos A, a dos temperaturas extremas 0°C y 50°C, se obtiene:

$$A = [(2,08 \times 10^{10})^\circ\text{K}^{-1} \text{seg}^{-1}] 273^\circ\text{K} = 5,68 \times 10^{12} \text{seg}^{-1}$$

$$A = [(2,08 \times 10^{10})^\circ K^{-1} \text{seg}^{-1}] 323^\circ K = 6,73 \times 10^{12} \text{seg}^{-1}$$

Los datos de A son constantes a diferentes temperaturas por lo cual se obtiene:

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

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

Dividiendo y eliminando A, se obtiene:

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

Aplicando logaritmos:

$$\ln\left(\frac{K_1}{K_2}\right) = \left(\frac{Ea}{R}\right)\left(\frac{1}{T_1} - \frac{1}{T_2}\right)$$

$$\ln K_2 = \left(\frac{Ea}{R}\right)\left(\frac{1}{T_1} - \frac{1}{T_2}\right) + \ln K_1$$

A continuación, se calcula K_1 a una temperatura de 25°C , siguiendo una cinética de orden uno, y un tiempo de 3 meses.

$$K_1 = \frac{\ln C_0 - \ln C}{t}$$

$$K_1 = \frac{0,105}{3} = 0,035 \text{ (mes}^{-1}\text{)}$$

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

$$\ln K_2 = \frac{\left(\frac{10000}{1,98}\right) \frac{\text{cal. mol}}{\text{Kcal. mol}} \times (303 - 298) \text{ K}}{(303 \times 298) \text{ K}} + \ln 0,035 = -3,07$$

$$\ln K_2 = \text{anti ln } -3,07 = 0,046 \text{ (mes}^{-1}\text{)}$$

Este mismo cálculo se realiza para una energía de activación de 25 Kcal/mol a 30°C y similar para 40°C y 50°C. Así se obtienen los valores de la siguiente tabla:

Tabla 6.

Valores de constantes del método de Poppe para diferentes temperaturas y energías

Temperatura			Resultado del cálculo de constantes	
°C	K	10000/T	Ea (10Kcal/mol)	Ea 25 (10Kcal/mol)
25	298	33,557	0,035 mes ⁻¹	0,035 mes ⁻¹
30	303	33,003	0,0462 mes ⁻¹	0,0531 mes ⁻¹
40	313	31,9489	0,076 mes ⁻¹	0,1177 mes ⁻¹
50	323	30,9597	0,1213 mes ⁻¹	0,2374 mes ⁻¹

Elaborado por: Los Autores

Cálculo de porcentaje degradado con:

$$C = C_0 e^{-K_1 t}$$

$$C = 100 e^{-0,035 \times 3 \text{ meses}}$$

$$C = 90,03$$

$$\% \text{ Degradado} = 9,97\%$$

C: Concentración Final

C₀: Concentración Inicial

Tabla 7.

Resultado de cálculos del porcentaje de degradación

Temperatura		Resultado de Cálculos				
°C	K	10000/T	% deg Ea (10Kcal/mol)	% deg Ea (25Kcal/mol)	log % deg Ea (25Kcal/mol)	log % deg Ea (10Kcal/mol)
25	298	33,557	9,968	9,968	0,998	0,998
30	303	33,003	12,943	14,726	1,112	1,168
40	313	31,9489	20,388	29,75	1,309	1,473
50	323	30,9597	30,504	50,944	1,484	1,707

Elaborado por: Los Autores

Una vez que se calcula el logaritmo del porcentaje de degradación a diferentes temperaturas y a diferentes energías de activación se procede a realizar una gráfica para lograr ubicar en que área se encuentran las muestras analizadas.

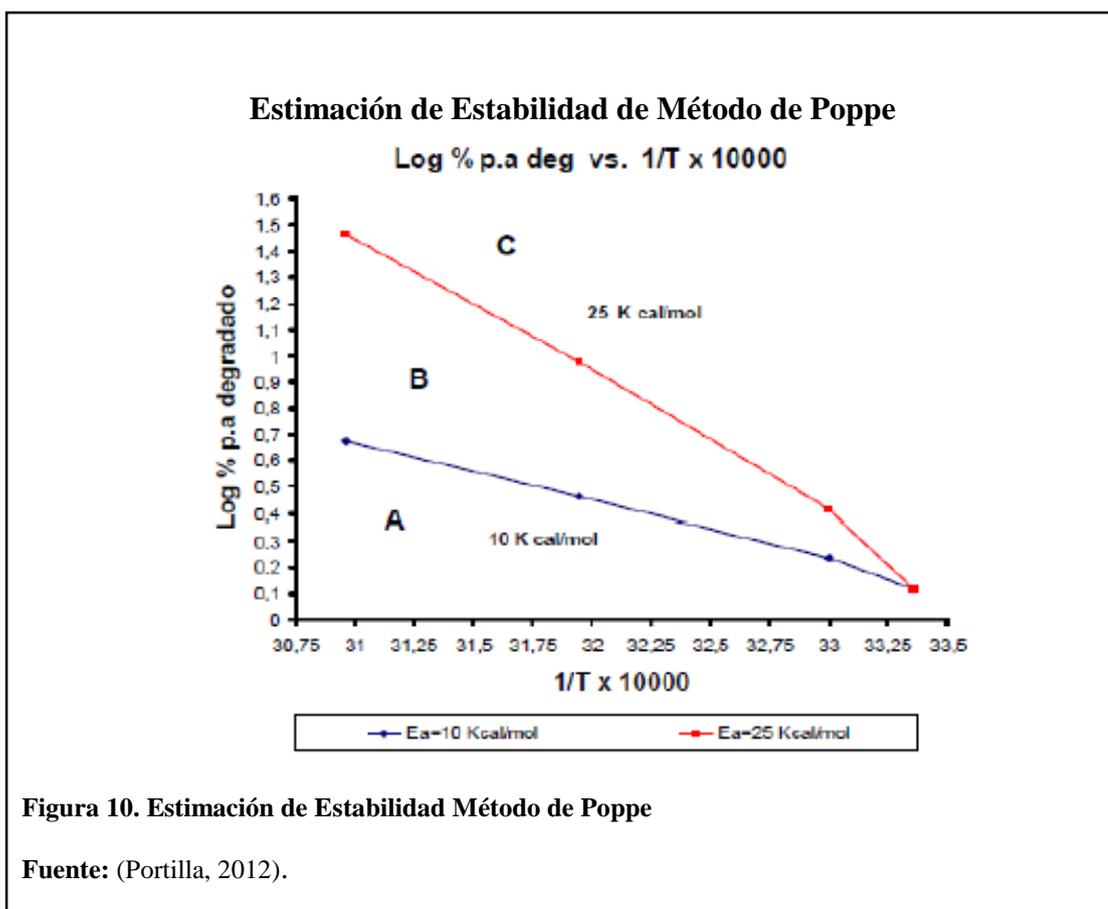


Figura 10. Estimación de Estabilidad Método de Poppe

Fuente: (Portilla, 2012).

Según donde se ubique el Log del % de degradación de la muestra se determina:

Área A: área que se encuentra bajo la línea formada por los logaritmos del porcentaje de degradación correspondiente a 10 Kcal/mol. Dentro de esta área el producto tiene una probabilidad de tener un tiempo de vida útil mayor a dos años.

Área B: área que se encuentra entre las líneas formadas por los logaritmos del porcentaje de degradación correspondientes a 10 Kcal/mol y 25 Kcal/mol. Dentro de esta área el producto tiene una probabilidad de tener un tiempo de vida útil de dos años.

Área C: área que se encuentra sobre la línea formada por los logaritmos del porcentaje de degradación correspondiente a 25 Kcal/mol. Dentro de esta área el producto tiene una probabilidad de tener un tiempo de vida útil menor a dos años (Guevara, 2012).

2.4.5. Análisis Estadístico

Se realizó un Análisis de Varianza (ANOVA), este permite que durante el estudio se realicen n pruebas, estas se corren al azar, de manera que los posibles efectos ambientales y temporales se vayan repartiendo de igual forma entre los tratamientos.

Conjuntamente se aplicó el test de Duncan con un alfa de 0,05 ($p=0,05$), que permite comparar las medias de los niveles de un factor, después de haber realizado la técnica del ANOVA, para determinar el número de medias implicadas en la comparación, se ordenan las medias muestrales de mayor a menor y así poder darles un rango y establecer si tuvieron diferencia significativa (Fallas, 2012), este test da una mayor capacidad de encontrar diferencias porque los umbrales son más pequeños y, por lo tanto, es más fácil encontrar diferencias entre las medias comparadas.

Para cumplir con el análisis antes descrito se formó una tabla matriz (Anexo 2) con los datos obtenidos de la interacción de las variables dependientes e independientes, esta tabla se sometió al análisis a través del software estadístico Infostat versión libre.

Capítulo 3

3. Resultados y Discusión

3.1. Formulación

De acuerdo con la bibliografía investigada, se tomó en cuenta para realizar la formulación, la siguiente lista de materias primas en los porcentajes indicados en la siguiente tabla:

Tabla 8.

Ingredientes para la elaboración de cremas

Nombre Comercial	Nombre (INCI*)	(%)	Cantidad (g)	Función
Aceite mineral	Paraffinum Liquidum	3	60	Emoliente
Estearato de glicerilo	Glyceryl stearate (Cithrol 40 GMS)	4	80	Emulsificante
Ácido esteárico	Stearic acid	5	100	Emulsificante
Alcohol cetílico	Cetyl alcohol	2,5	50	controlador de viscosidad
Manteca de cacao	Theobroma cacao butter	2	40	Emoliente
Crodamol GTCC	Caprylic/Capric triglyceride	6	120	Emoliente
Phenova	Phenoxyethanol, Methylparaben, Ethylparaben, Propylparaben, Butylparaben, Isobutylparaben	0,8	16	Conservante
Silicona Xiameter DC 245	Cyclopentasiloxano	3	60	Emoliente
Agua Desmineralizada	Agua	c.s.p 100	1434	Disolvente
Aceite esencial Matico (<i>Aristeguietia glutinosa</i>)	Aceite esencial de Matico (<i>Aristeguietia glutinosa</i>)	0,4	6,4	Activo Natural
Aceite esencial Ishpingo (<i>Ocotea quixos</i>).	Aceite Esencial Ishpingo (<i>Ocotea quixos</i>).	0,4	1,6	Activo Natural
Fragancia	Fragrance	1,6	32	Aroma
Volumen Total gramos	2000		2000	

Nota:*INCI (International Nomenclature of Cosmetic Ingredients)

Elaborado por: Los autores, 2017

Se realizaron cuatro formulaciones con diferentes activos naturales a distintas concentraciones:

F1: Crema de Matico (*Aristeguietia glutinosa*) al 0,4%

F2: Crema de Ishpingo (*Ocotea quixos*) al 0,4%

F3: Crema de Matico (*Aristeguietia glutinosa*) e Ishpingo (*Ocotea quixos*) al 0,4% en proporción 80:20 respectivamente.

F4: Crema de Ishpingo (*Ocotea quixos*) y Matico (*Aristeguietia glutinosa*) al 0,4% en proporción 80:20 respectivamente.

El porcentaje de activo se definió en base a estudios de preferencia, prueba hedónica que se explica en el siguiente literal.

3.1.1. Prueba de preferencia Hedónica:

En la siguiente tabla se presentan los resultados obtenidos en la prueba de preferencia sensorial:

Tabla 9.

Análisis de varianza en Prueba de Preferencia Hedónica para activo natural

Aceite esencial	Preferencia olor (0 min)	Preferencia (2 min)	Preferencia (5 min)
Matico	0,4% A - 0,6% A	0,4 % A -0,6% A	NS.
Ishpingo	0,4% A- 0,6% A	NS.	NS.
Matico- Ishpingo 80:20 %	NS.	NS.	NS.
Ishpingo-Matico 80:20 %	NS.	NS.	NS.

Nota: Medias con letra en común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)

Elaborado por: Los Autores, 2017

Los resultados obtenidos de la Prueba hedónica con un panel sensorial de 32 sujetos, con un rango de edad de 20 a 22 años, fueron analizados con un ANOVA- Duncan con un alfa igual al 0,05, determina que no existió diferencia significativa entre las

concentraciones, pero el promedio más alto fue 0,4%, concentración que fue usada para las formulaciones en estudio.

3.2. Estudio de Estabilidad

De acuerdo a lo indicado en literal 2.3.1. el Estudio de estabilidad de cremas faciales elaboradas con Matico (*Aristeguietia glutinosa*) e Ishpingo (*Ocotea quixos*) se realizó en función de las siguientes características:

- Especificaciones Físicas
- Especificaciones Químicas
- Especificaciones Microbiológicas.

Todos los análisis se realizan por triplicado, el resultado que se presentan en las tablas corresponden al promedio de las mediciones en diferentes tiempos:

T0: tiempo cero (elaboración de las cremas)

T1: tiempo uno (primer mes)

T2: tiempo dos (segundo mes)

T3: tiempo tres (tercer mes)

Tiempo de duración del estudio es de tres meses.

3.2.1. Determinación de viscosidad

Tabla 10.

Resultados de viscosidad

FÓRMULAS	F1	F2	F3	F4
Viscosidad T0* (cPs)	53170	27680	29790	28000
CONDICIONES AMBIENTALES- VIDRIO				
Viscosidad T1	10389	17526,67	32760	22230
Viscosidad T2	73340	183733,33	115300	168200
Viscosidad T3	230300	316300	184266,67	169333
CONDICIONES AMBIENTALES- PLÁSTICO				
Viscosidad T1	10044	27436,67	51030	18730
Viscosidad T2	13253,33	36613,33	10093,33	26693,33
Viscosidad T3	226566,67	208200	207800	180866,67
CONDICIONES CONTROLADAS- VIDRIO				
Viscosidad T1	68747,67	226366,67	211400	149266,67
Viscosidad T2	24686,6	17113,3	15720	24500
Viscosidad T3	944	1223,33	1032,67	364
CONDICIONES CONTROLADAS- PLÁSTICO				
Viscosidad T1	58570	68600	231466,67	174400
Viscosidad T2	112333,33	111533,33	188066,67	134466,67
Viscosidad T3	1065,33	826,33	599,33	17732

Elaborado por: Los autores, 2017

De acuerdo a los valores obtenidos se determinó que los diferentes cambios de viscosidad presentados fueron en función de la temperatura y humedad a las que estuvieron expuestas, mas no al envase usado. En condiciones ambientales la viscosidad aumentó conforme el tiempo, mientras que en condiciones controladas disminuyó significativamente, sin embargo, no existe una especificación de viscosidad en cremas, esta es manejada con: el aspecto y administración del usuario. En el caso

de cremas no debe tener menos de 2.500 cPs para que la formulación no se escurra entre los dedos (CONSUMER, 2004), pero tampoco debe ser excesiva, superando los 200.000 cPs (ATPP, 2008), aunque en los resultados del T3 de las cuatro formulaciones en condiciones ambientales superaron la especificación, las cremas conservaron su facilidad de uso.

3.2.2. Especificaciones Organolépticas

La siguiente tabla describe los diferentes cambios en olor, color y aspecto que presentaron las formulaciones a lo largo del tiempo en estudio, la valoración corresponde a:

- **0:** Normal, sin modificación.
- **1:** Levemente modificado.
- **2:** Modificado
- **3:** Intensamente modificado.

Los resultados obtenidos de análisis organoléptico de las diferentes formulaciones son los siguientes:

Tabla 11.**Resultados de especificaciones organolépticas**

COLOR					OLOR				ASPECTO			
FÓRMULAS	F1	F2	F3	F4	F1	F2	F3	F4	F1	F2	F3	F4
T0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
CONDICIONES AMBIENTALES- VIDRIO												
T1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
T2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
T3	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1
CONDICIONES AMBIENTALES- PLÁSTICO												
T1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
T2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
T3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
CONDICIONES CONTROLADAS- VIDRIO												
T1	1	0	1	0	1	0	1	0	0	0	0	0
T2	2	1	2	1	2	1	2	1	1	1	1	1
T3	3	1	3	2	3	1	3	1	3	3	3	3
CONDICIONES CONTROLADAS- PLÁSTICO												
T1	2	0	1	1	1	0	1	0	0	0	0	0
T2	3	1	2	1	2	1	2	1	1	1	1	1
T3	3	2	3	2	3	2	3	2	3	3	3	3

Elaborado por: Los autores, 2017

Las características organolépticas determinadas al tiempo cero del estudio de estabilidad fueron: olor: normal o fragante; aspecto: normal (sin alteración) y color blanco. Estas características no cambiaron significativamente durante los tres meses del estudio en condiciones ambientales. Mientras que en condiciones controladas dichas características evaluadas cambiaron drásticamente como se detalla en la (Tabla 9) en donde las diferencias, evaluadas en olor de 0 a 3 siendo 0 (normal o aroma fragante), 1 levemente modificada (disminuye aroma fragante), 2 modificada (pierde aroma fragante) 3 severamente modificada (cambia a aroma rancia). De acuerdo a los resultados indicados en la Tabla 9 las características organolépticas no tienen cambio en condiciones ambientales- envase: plástico, el análisis estadístico concluye que no existe diferencia significativa en los factores: **formulaciones y envases** presentando

cambios muy leves en las características en estudio. Con respecto a las condiciones de almacenamiento se observó que existe modificaciones notables en condiciones controladas siendo la alta temperatura ($40^{\circ}\text{C} \pm 2$) y HR ($75\% \pm 2$) determinantes para la estabilidad de las formulaciones, resultados que difieren con los del estudio realizado por (Calzadilla, Moreno, García, Besada, & Suárez, 2014) en donde las características de la crema formulada con Nitrato de Miconazol al 2 % mantuvieron sus características durante el tiempo de estudio en condiciones ambientales como en condiciones aceleradas.

3.2.3. Determinación de pH

Los valores de pH obtenidos a lo largo del estudio se encuentran dentro de los límites de uso dérmico (4,5- 5,9) como se describe en la siguiente tabla:

Tabla 12.

Resultados de pH

FÓRMULAS	F1	F2	F3	F4
pH T0	4,6	4,9	4,5	4,4
CONDICIONES AMBIENTALES- VIDRIO				
pH T1	4,8	5,5	5,4	5,5
pH T2	4,7	4,8	5,2	5,1
pH T3	4,6	5,3	5,2	5,0
CONDICIONES AMBIENTALES- PLÁSTICO				
pH T1	5,3	5,4	5,2	5,3
pH T2	4,9	4,9	5,2	5,3
pH T3	5,2	5,2	5,1	5,1
CONDICIONES CONTROLADAS- VIDRIO				
pH T1	5,1	5,1	5,2	5,2
pH T2	5,9	5,6	5,4	5,5
pH T3	5,4	5,5	5,2	5,4
CONDICIONES CONTROLADAS- PLÁSTICO				
pH T1	5,1	5,2	5,3	5,2
pH T2	5,6	5,5	5,0	5,5
pH T3	5,3	5,3	5,1	5,2

Elaborado por: Los autores, 2017

De acuerdo a los análisis estadísticos ninguna fórmula presentó diferencia significativa en cuanto a pH, sin embargo presentan un aumento de pH en las diferentes condiciones y tipo de envase, obteniendo un coeficiente de variación de 2,14%, este porcentaje de variación indica que ninguno de los factores altero los valores de pH, resultados que corrobora el estudio de (Muñoz, Fernández , & Nuñez , 2005) en donde no hubo una influencia del pH en la estabilidad química de la crema.

3.2.4. Especificaciones Microbiológicas

La presencia microbiana se encuentra ausente para algunas formulaciones o bajo los valores mínimos, el reporte se encuentra dado de acuerdo a los siguientes métodos:

- Bacterias Aerobios Totales: AOAC 990.12
- Mohos y Levaduras: AOAC 997.02
- E. coli y Coliformes Totales: AOAC 991.14

Tabla 13.

Resultados tiempo cero Recuento de Microorganismos

FÓRMULAS	F1	F2	F3	F4
Bacterias Aerobios Totales T0	< 100 UFC/mL	< 100 UFC/MI	< 100 UFC/mL	< 100 UFC/MI
Mohos y Levaduras T0	< 10 UFC/mL	< 10 UFC/MI	< 10 UFC/mL	< 10 UFC/mL
<i>E. coli T0-T3</i>	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia
Coliformes Totales T0	< 1 UFC/mL	< 1 UFC/mL	< 1 UFC/mL	< 1 UFC/mL
CONDICIONES AMBIENTALES- VIDRIO				
Bacterias Aerobios Totales T1-T3	< 100 UFC/mL	< 100 UFC/mL	< 100 UFC/mL	< 100 UFC/mL
Mohos y Levaduras T1-T3	< 10 UFC/mL	< 10 UFC/mL	< 10 UFC/mL	< 10 UFC/mL
<i>E. coli T1-T3</i>	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia
Coliformes Totales T1-T3	< 1 UFC/mL	< 1 UFC/mL	< 1 UFC/mL	< 1 UFC/mL
CONDICIONES AMBIENTALES- PLÁSTICO				
Bacterias Aerobios Totales T1-T3	< 100 UFC/mL	< 100 UFC/mL	< 100 UFC/mL	< 100 UFC/mL
Mohos y Levaduras T1-T3	< 10 UFC/mL	< 10 UFC/mL	< 10 UFC/mL	< 10 UFC/mL
<i>E. coli T1-T3</i>	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia
Coliformes Totales T1-T3	< 1 UFC/mL	< 1 UFC/mL	< 1 UFC/mL	< 1 UFC/mL
CONDICIONES CONTROLADAS- VIDRIO				
Bacterias Aerobios Totales T1-T3	< 100 UFC/mL	< 100 UFC/mL	< 100 UFC/mL	< 100 UFC/mL
Mohos y Levaduras T1-T3	< 10 UFC/mL	< 10 UFC/mL	< 10 UFC/mL	< 10 UFC/mL
<i>E. coli T1-T3</i>	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia
Coliformes Totales T1-T3	< 1 UFC/mL	< 1 UFC/mL	< 1 UFC/mL	< 1 UFC/mL
CONDICIONES CONTROLADAS- PLÁSTICO				
Bacterias Aerobios Totales T1-T3	< 100 UFC/mL	< 100 UFC/mL	< 100 UFC/mL	< 100 UFC/mL
Mohos y Levaduras T1-T3	< 10 UFC/mL	< 10 UFC/mL	< 10 UFC/mL	< 10 UFC/mL
<i>E. coli T1-T3</i>	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia
Coliformes Totales T1-T3	< 1 UFC/mL	< 1 UFC/mL	< 1 UFC/mL	< 1 UFC/mL

Elaborado por: Los autores, 2017

La estabilidad microbiológica en todas las formulaciones y en todas las condiciones es buena, no se presenta crecimiento de ninguno de los microorganismos indicados, demostrándose una efectiva actividad del conservante en la proporción indicada, podría también generar alguna acción antibacteriana los activos naturales utilizados,

de igual manera el estudio realizado por (Gajardo, Benítez, López, Burgos, & Galán, 2011) no evidencian crecimiento microbiano en su formulación a base de un antioxidante natural llamado Astaxantina.

3.2.5. Determinación de fenoles totales

La curva de calibración utilizada en este estudio se describe en la siguiente tabla:

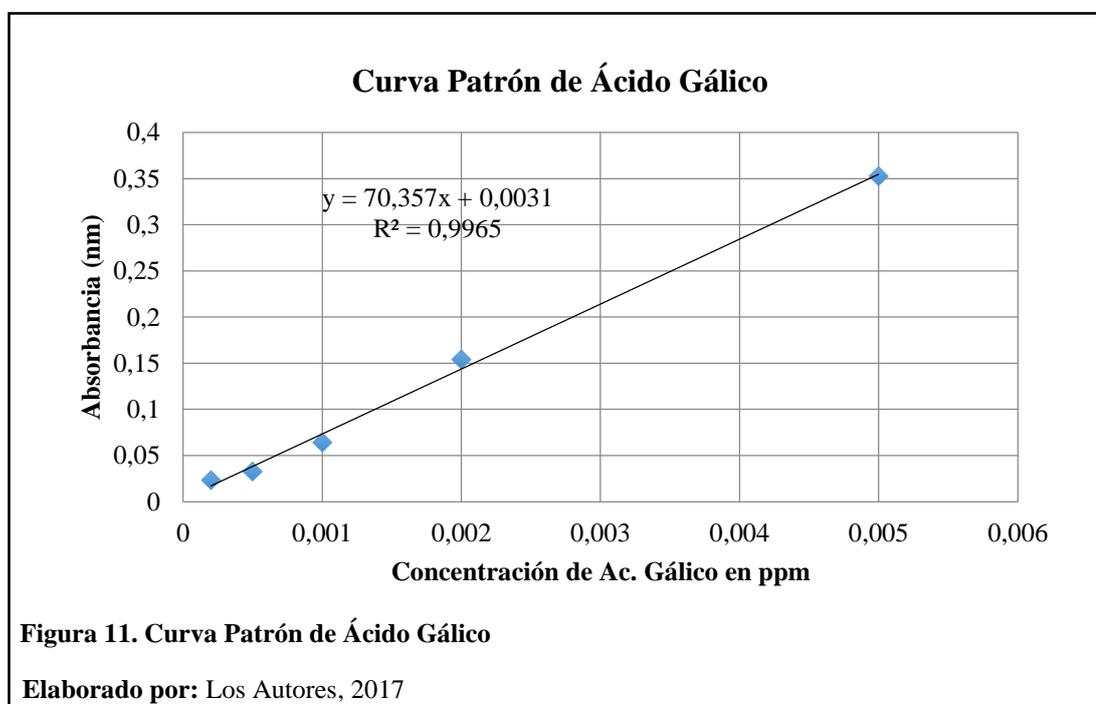
Tabla 14.

Curva patrón de Ácido Gálico

(mg) de Ácido Gálico	mg de Ac. Gálico en 1 mL solución (ppm)	Absorbancia (nm)
50	0,0002	0,0234
20	0,0005	0,0327
10	0,001	0,0643
5	0,002	0,1542
2	0,005	0,3528

Elaborado por: Los Autores, 2017

A continuación, se presenta la curva Patrón de Ácido Gálico:



Una vez elaborada la crema base se procedió a determinar la concentración de fenoles, determinando que la concentración aumentó en cuanto el activo natural se adiciona a la formulación base como se observa en la siguiente tabla:

Tabla 15.

Resultados de la cantidad de Fenoles Totales

Fenoles (mg/mL)	Crema Base			
	0,63			
FÓRMULAS	F1	F2	F3	F4
Fenoles T0 (mg/mL)	3,57	2,55	3,98	2,76
CONDICIONES AMBIENTALES- VIDRIO				
Fenoles T1 (mg/mL)	1,98	1,86	2,67	1,91
Fenoles T2 (mg/mL)	1,25	1,27	2,47	1,20
Fenoles T3 (mg/mL)	0,86	0,58	0,29	0,59
CONDICIONES AMBIENTALES- PLÁSTICO				
Fenoles T1 (mg/mL)	2,24	2,17	2,37	2,57
Fenoles T2 (mg/mL)	0,03	1,20	1,15	1,65
Fenoles T3 (mg/mL)	0	0	0	0,56
CONDICIONES CONTROLADAS- VIDRIO				
Fenoles T1 (mg/mL)	2,05	1,31	0,14	0,48
Fenoles T2 (mg/mL)	1,07	0,16	0	0,45
Fenoles T3 (mg/mL)	0,01	0	0	0,09
CONDICIONES CONTROLADAS- PLÁSTICO				
Fenoles T1 (mg/mL)	2,01	2,02	1,45	1,41
Fenoles T2 (mg/mL)	1,12	1,20	1,21	0,19
Fenoles T3 (mg/mL)	0,10	0	1,28	0,07

Elaborado por: Los Autores, 2017

Los resultados obtenidos marcan una clara tendencia de pérdida de fenoles en el transcurso del tiempo, mismos que ratifican los autores (Pampín, Paneque, Boza, & Sordo, 2003) en donde las cremas almacenadas a 45 °C no son estables porque en el primer mes las cremas perdieron más del 15% de los fenoles totales respecto a los

valores iniciales terminando a los tres meses con aproximadamente el 0,43% de fenoles totales. Estos datos fueron utilizados en el Análisis de Varianza- Duncan que se describe continuación en el análisis estadístico.

3.2.6. Análisis Estadístico

Los resultados del análisis de varianza mostrado a continuación corresponden a la interacción de todos los factores en estudio: condiciones, tiempos, formulaciones y envases, determinando con el mayor promedio y rango, la existencia o no de diferencia significativa entre dichos factores.

3.2.6.1. Análisis de varianza del factor: Formulación (Método comparativo de Duncan al 5%)

Tabla 16.

Análisis de varianza del factor: Formulación

	Factor en estudio: formulación					
	CV	Significancia	Promedio y rango			
			F1	F2	F3	F4
Fenoles (ppm)	18,78	*	1,06 B	1,02 BC	1,17 A	0,93 C
pH	2,49	*	5,11 C	5,31 A	5,22 B	5,28 AB
Viscosidad (cPs)	44,44	*	63341,11 B	1062203,31 A	93929,61 A	100767,17 A

Nota: Medias con letra en común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)

Elaborado por: Los Autores, 2017

En la Tabla 14 se muestra la interacción entre variables y factor: **formulación**, por medio del análisis de Duncan se observa en orden el promedio y rango de cada formulación, determinando que F3 fue la formulación que obtuvo mayor concentración de fenoles, pH dentro de los parámetros establecidos como óptimos para la piel durante el estudio y una viscosidad similar a la que se obtuvo en el tiempo 0.

3.2.6.2. Análisis de varianza del factor: Envase (Método comparativo de Duncan al 5%)

Este análisis permite determinar que envase (vidrio o plástico) mantiene en las condiciones de estudio las características evaluadas.

Tabla 17.

Análisis de varianza del factor: Envase

	Factor en estudio: envase			
	CV	Significancia	Promedio y rango	
			Vidrio	Plástico
Fenoles	18,78	*	0,95 B	1,14 A
pH	2,49	N.S	5,25 A	5,22 A
Viscosidad	44,44	N.S	91526,14 A	90594,46 A

Nota: Medias con letra en común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)

Elaborado por: Los Autores, 2017

En la Tabla 15 se muestra la interacción entre variables y factor: **envase**, de acuerdo al análisis de Duncan se ordena el promedio y rango de cada envase, determinando que el envase de plástico mantuvo una mayor concentración de fenoles, mientras que para las variables pH y viscosidad no existió diferencia significativa. Según (Muñoz, Fernández , & Nuñez , 2005) los envases de plástico favorecen la extensibilidad y consistencia de las formulaciones cosméticas a través del tiempo, corroborando los resultados obtenidos en el presente estudio.

3.2.6.3. Análisis de varianza del factor: Condición (Método comparativo de Duncan al 5%)

Este análisis permite determinar que condición (ambiental o controlada) es óptima para mantener las características en estudio.

Tabla 18.

Análisis de varianza del factor: Condición

	Factor en estudio: condición			
	CV	Significancia	Promedio y rango	
			C. Ambiental	C. Controlada
Fenoles	18,78	*	1,34 A	0,75 B
pH	2,49	*	5,13 B	5,33 A
Viscosidad	44,44	*	158812,96 A	23307,64 B

Nota: Medias con letra en común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)

Elaborado por: Los Autores, 2017

En la Tabla 16 se muestra la interacción entre variables y factor: **condición**, por medio del análisis de Duncan se observa en orden el promedio y rango de cada **condición** establecida para el estudio, determinando así que las **condiciones ambientales** fueron favorables para mantener una concentración alta de fenoles y conservación de la viscosidad de la crema en relación al tiempo 0. De acuerdo con (Pampín, Paneque, Boza, & Sordo, 2003) las condiciones ambientales favorecen a mantener la cantidad de fenoles por un tiempo mayor al de condiciones controladas.

3.2.6.4. Análisis de varianza del factor: Tiempo (Método comparativo de Duncan al 5%)

Este análisis permite determinar qué tiempo favorece de mejor manera a mantener las características en estudio.

Tabla 19.

Análisis de varianza del factor: Tiempo

	Factor en estudio: tiempo				
	CV	Significancia	Promedio y rango		
			T1	T2	T3
Fenoles	18,78	*	1,80 A	1,06 B	0,27 C
pH	2,49	*	5,24 AB	5,26 A	5,20 B
Viscosidad	44,44	*	93201,29 AB	78706,25 B	101273,35 A

Nota: Medias con letra en común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)

Elaborado por: Los Autores, 2017

En la Tabla 17 se muestra la interacción entre variables y factor: **tiempo**, de acuerdo al análisis de Duncan que ordena el promedio y rango de las variables en cada uno de los tiempos en que se tomaron los datos, determinando que en el T1 las variables presentan mejores resultados. Según (COLIPA, 2004) en cosméticos se debe realizar estudios cortos de 3 meses, tiempo necesario para determinar la funcionalidad y vida útil de un producto.

3.2.6.5. Análisis de varianza de la concentración de fenoles en interacción con los factores: formulación, envase, condición y tiempo (Método comparativo de Duncan al 5%)

La siguiente tabla detalla el análisis comparativo entre todos los factores del estudio en relación la concentración de fenoles, destacando la mejor formulación, envase, condición y tiempo como resultado del análisis de Duncan.

De acuerdo con la Tabla 18 el valor de las medias permite discriminar las mejores formulaciones, las formulaciones con letra en común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$), por lo tanto, la letra A representa los mejores resultados con respecto a todos los factores en estudio, mientras que la letra S representa los resultados menos favorecedores en cuanto a los factores estudiados.

Determinando que la formulación con mayor concentración de fenoles es la F3 en condiciones ambientales, envase de plástico durante el tiempo 1, el pH a lo largo del estudio se mantuvo entre 5,31 y 5,34 óptimo para la piel; la viscosidad tuvo un promedio alto en relación a las demás formulaciones en interacción con los factores en estudio. Los valores obtenidos por el ANOVA corroboran los resultados anteriores que aparecen en las tablas 11,12,13 y 14, mostrando como factor común el envase plástico, tiempo 1 y en condiciones ambientales.

3.2.7. Determinación de la Vida Útil de las Formulaciones – Método de Poppe

Se utiliza la concentración de fenoles totales de las diferentes formulaciones para determinar el porcentaje de degradación puesto que este está directamente relacionado con la funcionalidad de las fórmulas y la actividad antioxidante de las mismas.

Tabla 21.

Concentración de Fenoles de cada formulación durante el estudio de estabilidad en envase de vidrio

Vidrio					
40°C / 75% HR		F1 (mg/mL)	F2 (mg/mL)	F3 (mg/mL)	F4 (mg/mL)
Tiempo (Días)	0	3,59	2,55	3,975	2,76
	30	2,05	1,31	0,142	0,48
	60	1,07	0,16	0	0,45
	90	0,01	0	0	0,09

Elaborado por: Los Autores, 2017

Tabla 22.

Resultado de cálculos del porcentaje de degradación para las 4 formulaciones en envase de vidrio

Vidrio									
	T (°C)	K	10000/T	Ea 10 Kcal/mol (mes-1)	Ea 25 Kcal/mol (mes-1)	Conc. Inicial (mg/mL)	Conc. Final (mg/mL)	% de Degradación	Log % de Degradación
F1	40	313	31,95	0,08	0,12	3,57	0,01	99,6	1,99
F2						2,55	0	100	2
F3						3,98	0	100	2
F4						2,76	0,09	96,74	1,98

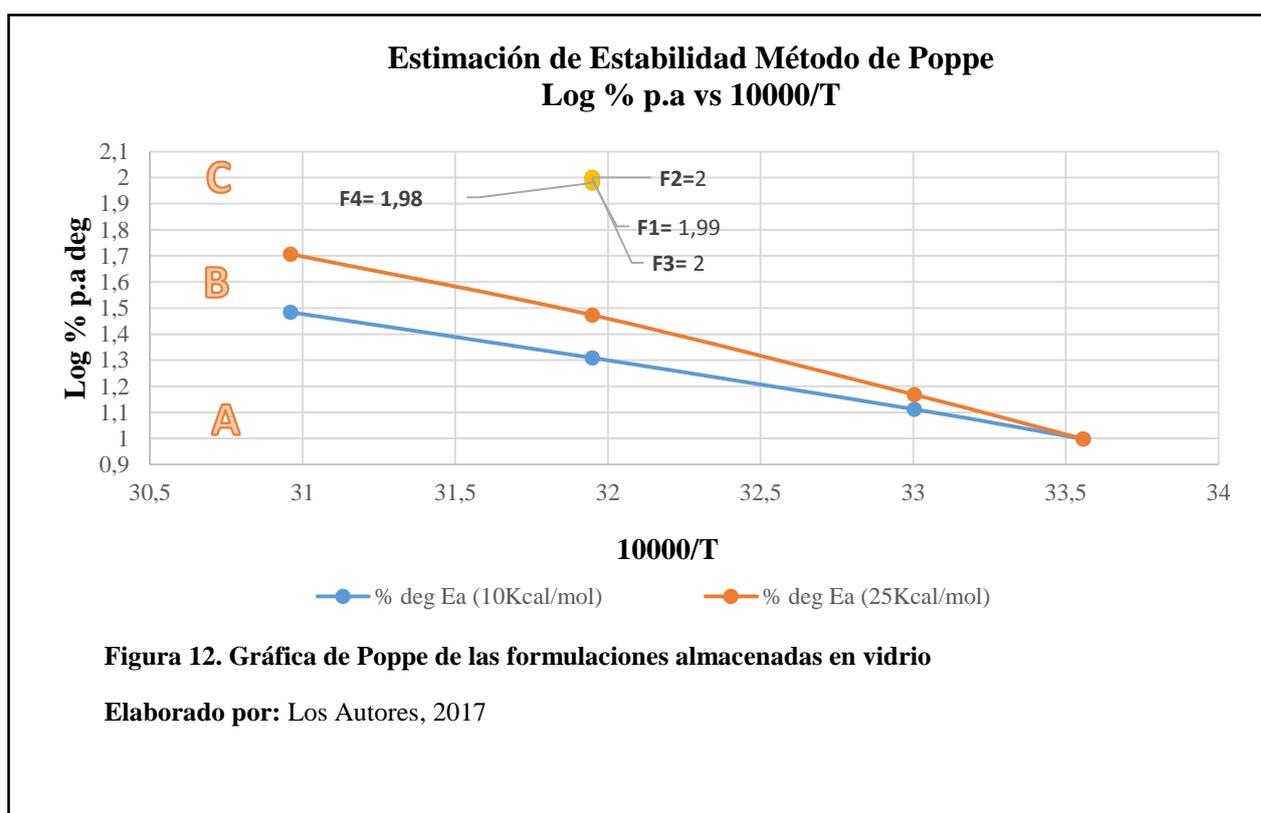
Elaborado por: Los Autores, 2017

De acuerdo con el Método de Poppe para relacionar el porcentaje de degradación del activo con el tiempo de vida útil, determina que:

Área A: el producto tiene una probabilidad de tener un tiempo de vida útil mayor a dos años.

Área B: el producto tiene una probabilidad de tener un tiempo de vida útil de dos años.

Área C: el producto tiene una probabilidad de tener un tiempo de vida útil menor a dos años



La gráfica muestra que el logaritmo del porcentaje de degradación que se obtuvo para las cuatro formulaciones almacenadas en vidrio se ubican en el área C, esto quiere decir que tienen un tiempo de vida útil menor a los 2 años. Cabe recalcar que como lo menciona (Ordoñez, 2013), este método es aplicado comúnmente a medicamentos por lo que se considera tiempos de vida tan largos, como se explicó anteriormente, no existe una metodología determinada para productos cosméticos, la utilización del método de Poppe está basada en el fundamento del método, definir tiempo de la vida útil relacionando el porcentaje de degradación del activo, en este caso se considera que la degradación del activo, en este caso se considera que la degradación de los fenoles totales en las formulaciones, fenoles que se encuentran relacionados con la actividad antioxidante de los aceites esenciales utilizados, tienen relación directa con la actividad cosmética atribuida a las fórmulas, de acuerdo a esto tomando el resultado del método de Poppe, los cuatro productos se ubican dentro de un área de degradación C, con un tiempo de vida útil menor a dos años.

Tabla 23.

Concentración de Fenoles de cada formulación durante el estudio de estabilidad en envase de plástico

Plástico					
40°C / 75% HR		F1 (mg/mL)	F2 (mg/mL)	F3 (mg/mL)	F4 (mg/mL)
Tiempo (Días)	0	3,57	2,55	3,98	2,76
	30	2,01	2,02	1,45	1,41
	60	1,12	1,20	1,21	0,19
	90	0,10	0	1,29	0,07

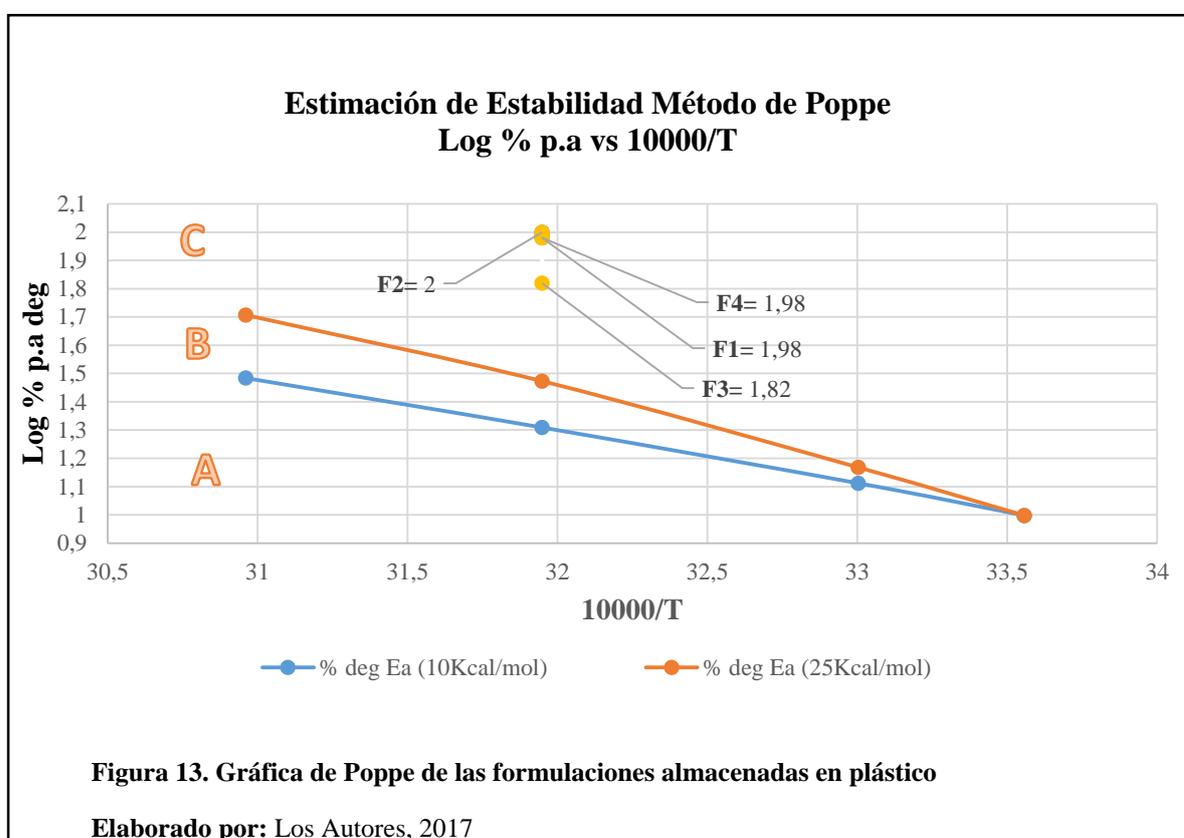
Elaborado por: Los Autores, 2017

Tabla 24.

Resultado de cálculos de porcentaje degradado para las 4 formulaciones en envase de plástico

Plástico									
	T (°C)	K	10000/T	Ea 10 Kcal/mol (mes-1)	Ea 25 Kcal/mol (mes-1)	Conc. Inicial (mg/mL)	Conc. Final (mg/mL)	% de Degradación	Log % de Degradación
F1	40	313	31,95	0,08	0,12	3,57	0,10	97,09	1,98
F2						2,55	0	100	2
F3						3,98	1,28	67,57	1,82
F4						2,76	0,07	97,42	1,98

Elaborado por: Los Autores, 2017



Los resultados de la vida útil de las formulaciones en plástico concuerdan con la gráfica anterior, en donde se muestra que el logaritmo del porcentaje de degradación que se obtuvo para las cuatro formulaciones se ubica en el área C, esto quiere decir que estas tienen un tiempo de vida útil menor a los 2 años.

Capítulo 4

4. Conclusiones y recomendaciones

4.1 Conclusiones

- Se confirma la hipótesis planteada que menciona: que si una de las formulaciones con uno o dos ingredientes activos Ishpingo (*Ocotea quixos*) y Matico (*Aristeguietia glutinosa*), mantiene sus características en el tiempo entonces se considera una fórmula estable. Siendo la mezcla de aceites Matico (*Aristeguietia glutinosa*) e Ishpingo (*Ocotea quixos*) en proporción (80:20) en la concentración utilizada de 0,4% de la formulación mantiene sus características en el tiempo en condiciones ambientales.
- La mezcla de diferentes activos naturales potencializa los efectos antioxidantes, destacando la alta concentración de fenoles en la F3 como resultado de la combinación de sus activos, en comparación con las demás formulaciones.
- En productos cosméticos la adición de aceites esenciales permite obtener un beneficio en cuanto al aroma, pero también su función como conservante podría estar relacionada a la presencia de estos ingredientes en la formulación.
- El envase de plástico mantiene durante el tiempo de estudio las características evaluadas en todas las fórmulas.
- En cuanto a la concentración de fenoles, en todas las fórmulas existe una disminución en función del tiempo, y en todas las condiciones, por lo que el activo natural es susceptible de degradación, resultados que podrían guiar estudios futuros con diferentes materiales de envase que permitan preservar por más tiempo esta característica.

- Mediante el método de Poppe se determina que las diferentes formulaciones tienen un tiempo de vida útil menor a los dos años, la definición exacta de tiempo, deben realizarse en base a un análisis de todos los otros parámetros evaluados en este estudio, sugiriendo un tiempo ideal de tres meses basados en que ha ese tiempo todavía existe una concentración de fenoles que podrían aportar a la efectividad cosmética de las fórmulas.

4.2. Recomendaciones

- Procurar que en futuros ensayos de estabilidad cosmética en donde el ingrediente activo sean sustancias fotosensibles, almacenar en envases que no permitan el paso de la luz, como frascos ámbar o plástico opaco.
- Utilizar envases con mínimas capacidades al considerar un tiempo de vida útil de menos de dos años y en función de los resultados, observando una degradación en tres meses.
- Tener en cuenta que la actividad antioxidante de las formulas podrían ser extendidas en el tiempo utilizando una combinación de antioxidantes como: Butilhidroxianisol (BHA), Butilhidroxitolueno (BHT), Propil Galato (PG).

Referencias

- Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios. (2015). *Compendio de normas y directrices europeas relativas a productos cosméticos para la aplicación del Reglamento 1223/2009*. Madrid : AEMPS.
- Agencia Nacional de Vigilancia Sanitaria. (mayo de 2005). Guía de Estabilidad de Productos Cosméticos. *ANVISA*, págs. 32-33.
- Alcalde, M. (2008). *Cosmética natural y ecológica*. , 27. 27.
- Aldana, C., Guayasamín, L., & Noriega, P. (2014). Evaluación De La Actividad Antioxidante De Los Extractos (Alcohólico Y Acuoso) De Las Hojas De Ficus Citrifolia Y Caracterización Química De Los Polifenoles.
- Alegria , M., & Amaya, R. (2007). Recopilación de monografías de excipientes y vehículos utilizados en la fabricación de medicamentos y cosméticos en la cátedra de tecnología farmacéutica. 1–392.
- ARCSA. (2015). Listado de Plantas Medicinales del Ecuador realizada a partir de revisiones bibliográficas. *AGENCIA NACIONAL DE REGULACIÓN, CONTROL Y VIGILANCIA SANITARIA DIRECCIÓN DE CERTIFICACIONES*.
- ATPP. (2008). *Aplicaciones Técnicas de Procesos Productivos*. Recuperado el abril de 2017, de <http://www.atpplleal.com/Pujat/file/VISCOSIDAD.pdf>
- Barahona, V. (2013). “EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE Y VALOR NUTRACÉUTICO DE LAS HOJAS Y FRUTOS DE LA GUANÁBANA (*Annona muricata*)”. Riobamba, Ecuador: ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO.

- BDIH. (2012). *Certified natural cosmetics*. Recuperado el marzo de 2017, de <http://www.kontrollierte-naturkosmetik.de/e/bdih.htm>
- Buestan , A., Merchan , A., Guaraca T, & León, F. (2013). Actividad Anti-inflamatoria de los extractos de plantas medicinales empleados en el Austro Ecuatoriano en el modelo de Danio rerio. Cuenca, Azuay, Ecuador: Facultad de Ciencias Químicas, Universidad de Cuenca.
- Calzadilla, W., Moreno, S., García , O., Besada, E., & Suárez, Y. (2014). Estabilidad de la crema reformulada de nitrato de miconazol al 2 %. *Scielo*, vol.48.
- Castellanos, G., & Alcalá, D. (2010). *Antioxidantes en dermatología*. Recuperado el marzo de 2017, de <http://www.medigraphic.com/pdfs/cosmetica/dcm-2010/dcm104j.pdf>
- Castro. (19 de septiembre de 2013). *¿Cuáles son los 10 olores básicos que reconoce el olfato?* Recuperado el marzo de 2017, de BBC MUNDO: http://www.bbc.com/mundo/noticias/2013/09/130919_ciencia_decatalogo_olor es_basicos_olfato_np
- Chankuap. (2006). *Ishpink Ishpink*. Informe Técnico. Macas, Ecuador.
- Chasipanta, E., Chicaiza, T., & Noriega, P. (2016). Evaluación de la Actividad Antioxidante Bioautográfica de 5 variedades de aceites esenciales amazónicos (Ocotea quixos, Psidium guajava, Eugenia stipitata, Piper auritum, Piper imperale). . Quito, Ecuador: Universidad Politécnica Salesiana.
- COLIPA. (2004). *The European Cosmetic Toiletry and Perfumery Association*. Bruselas: Guidelines of stability testing of cosmetic products.

COMUNIDAD ANDINA. (2012). RESOLUCION 1482. *LÍMITES DE CONTENIDO MICROBIOLÓGICO*.

Connelly, N., Emslie, D., & Metz, B. (1996). Composición de aceite vegetal. *OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS*, 108(4), 2289–2290.

CONSUMER. (2004). Análisis Comparativo Champús de uso Frecuente para cabello normal. . 30-33.

Coronado, M., Vega, S., León, R., & Gutiérrez. (2015). Antioxidantes: perspectiva actual para la salud humana. *Revista chilena de nutrición*, 206-212.

COSMEBIO. (2012). *Professional Association for Natural, Ecological and Organic cosmetics*. Recuperado el marzo de 2017, de <http://www.cosmebio.org/>

CosmeticOBS. (2009). *Observatoire cosmétiques*. Recuperado el marzo de 2017, de <http://www.cosmeticobs.com/>

Cosmos-standard AISBL. (2013). Cosmos-standard AISBL.

Criado, D., & Moya, M. (2009). *Vitaminas y antioxidantes*. Recuperado el febrero de 2017, de Departamento De Medicina De La Universidad Autonoma De Madrid, pp.5–33.:
http://2011.elmedicointeractivo.com/Documentos/doc/VITAMINAS_Y_ANTIOX_EL_MEDICO.pdf?botsearch.

CUBEN. (2014). Desinfección de aire y superficies. *CUBEN S.A*, p.4. Obtenido de CUBEN S.A.

ECOCERT. (2012). *Certefication body for sustainable development*. Recuperado el marzo de 2017, de <http://www.ecocert.com/en>

- Escutia , M., Roldán , M., & Zarcos , A. (2012). GUÍA DE COSMÉTICA ECONATURAL PARA PROFESIONALES. *Ecoestética*.
- Estrella , J., Manosalvas, R., & Mariaca , J. (2005). BIODIVERSIDAD Y RECURSOS GENÉTICOS: Una guía para su uso y acceso en el Ecuador. Quito, Ecuador: Ecuador Ediciones.
- Fallas, J. (2012). *ANÁLISIS DE VARIANZA: Comparando tres o más medias . p.54*. Recuperado el marzo de 2017, de http://www.ucipfg.com/Repositorio/MGAP/MGAP-05/BLOQUE-ACADEMICO/Unidad-2/complementarias/analisis_de_varianza_2012.pdf.
- Ferrer, D., Fonseca, C., & Arce, D. (1992). Radicales libres y su papel en la homeostasia neuronal. *Medisan*, 33 (2). p.p. 10p.
- Fonseca , S., Correa, A., & Chorili, M. (2015). Sustainability, natural and organic cosmetics: Consumer, products, efficacy, toxicological and regulatory considerations. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 51(1), pp.17–26.
- Fresneda, Y., Sánchez, M., & Álvarez, R. (2001). Taninos de diferentes especies vegetales en la prevención del fotoenvejecimiento. *Revista Cubana de Investigaciones Biomedicas*, 16-20.
- Gajardo, S., Benítez, J., López , J., Burgos, N., & Galán, C. (2011). Astaxantina: antioxidante de origen natural con variadas aplicaciones en cosmética. *BIOFARBO*, 6-12.
- García, E., Fernández, I., & Fuentes, A. (2015). Determinación de polifenoles totales por el método de Folin – Ciocalteu. 2-8.

- Guerrero, P., & Pozo, K. (febrero de 2016). Evaluación de la actividad antioxidante bioautográfica de cinco variedades de aceites esenciales andinos (Aristeguietia glutinosa; Myrcianthes rhopaloides; Ambrosia arborescens; Lantana camara; Minthostachys mollis). Quito, Ecuador: Universidad Politécnica Salesiana.
- Guevara, E. (2012). “Saponinas triterpénicas de la quinua (Chenopodium quinoa willd) en la elaboración de una crema con actividad exfoliante.
- Hampton, A. (2014). Dictionary of Natural Ingredients. *AUBREY*.
- Heino, A. (2012). Natural cosmetics as an innovation. pp.1–48.
- Inocente, M., Tomas, E., & Huaman. (2014). Actividad antioxidante y fotoprotectora in vitro de una loción y gel elaborados con extracto estabilizado de camu camu (Myrciaria dubia Kunth). *Revista sociedad Química Perú*, 80(1), pp.65–77.
- Instituto Nacional de Vigilancia de Medicamentos y Alimentos. (2015). Recomendaciones sobre Estudios de Estabilidad de Productos Cosméticos. *INVIMA*.
- Jørgensen, P. M., & Yáñez, L. (1999). *Catalogue of the vascular plants of Ecuador*. 75: i–viii, 1–1182. Missouri: Monogr. Syst. Bot. Missouri Bot. Gard.
- Joshi, L., & Pawar, H. (2015). Herbal Cosmetics and Cosmeceuticals: An Overview. *Natural Products Chemistry & Research*, 3(2), pp.1–8.
- López , M. (2004). Los aceites esenciales. 23, pp.88–91.

- Magliano, J. (2014). Antioxidantes de uso tópico en Dermatología. *Tendencias en Medicina*, (10), pp.91–96.
- Manzano, S. (2015). Focus : Natural cosmetics Natural Barrier Film for Skin Care Vellaplex. *COSSMA*.
- Mapsa, R. (2000). Determinación del pH. *Public Healt*, 0–1.
- Martínez , M. (2013). “ACTIVIDAD FOTOPROTECTORA DE LA MARACUYÁ (*Passiflora edulis*), ISHPINGO (*Ocotea quixos*) EN FOTOTIPOS III (*Homo sapiens*) PARA ELABORACIÓN DE UN PROTECTOR SOLAR”.
Chimborazo, Ecuador: ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO.
- Martinez, A. (2003). Aceites esenciales. *Pharmaceutical Chemistry Faculty*, 1–34.
- Martínez, J. (2012). Cosmetología. Tema 3: Los Cosméticos: Características Generales. *Cosméticos y más*, 2(3), pp.100–200.
- McGraw-Hill, E. (2010). Esterilización. Procedimientos relacionados. *Guia de Esterilización*, 11.1-20.
- METTLER TOLEDO. (2016). Ayudar a las Empresas de Cosméticos a Mejorar su Control de pH. *Guía de Selección de Electrodo de METTLER TOLEDO*, 5.
Obtenido de <https://www.electrodes.net/es/guia-de-productos-de-sensores/electrodos-de-ph/?L=22&id=1>
- Molina, E. (2012). El papel de los antioxidantes como desaceleradores del envejecimiento. pp.1109–1119.

- Montoya, G. (2010). *Aceites Esenciales. Primera Ed., Manizales*. Recuperado el marzo de 2017, de <http://www.bdigital.unal.edu.co/50956/7/9588280264.pdf>.
- Mosquera , T., Noriega , P., Tapia, W., & Pérez. (2012). EVALUACIÓN DE LA EFICACIA COSMÉTICA DE CREMAS ELABORADAS CON ACEITES EXTRAÍDOS DE ESPECIES VEGETALES AMAZÓNICAS: *Mauritia flexuosa* (MORETE), *Plukenetia volubilis* (SACHA INCHI) Y *Oenocarpus bataua* (UNGURAHUA). Quito, Ecuador: Universidad Politécnica Salesiana.
- Muñoz, A., Fernández , O., & Nuñez , L. (2005). Influencia de los parámetros químico físicos en el diseño de formulación de cremas de Budesonida al 0.025%. *Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas*, 25-30.
- NaTrue. (2013). Requirements to be met by natural and organic cosmetics. *NATRUE Label* , (1223), pp.1–10.
- Ordoñez, P. (2013). REFORMULACIÓN Y ESTUDIO DE LA ESTABILIDAD DE UNA SUSPENSIÓN PARENTERAL DE USO VETERINARIO QUE CONTIENE UNA ASOCIACIÓN DE PENICILINAS Y UN AMINOGLICOSIDO. Quito, Pichincha, Ecuador: Universidad Central del Ecuador. Recuperado el 18 de Febrero de 2017, de <http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/1641/1/T-UCE-0008-09.pdf>
- Pampín, L., Paneque, A., Boza, A., & Sordo, L. (2003). Estabilidad de la crema elaborada a partir del extracto seco de la corteza de *Mangifera indica* L. (Vimang). *Lat. Am. J. Pharm.*, 335-8.
- Parra, L. (2012). COMPORTAMIENTO REOLÓGICO DE FLUIDOS COMPLEJOS . *Objetivos docentes*, pp.55–60.

- Pérez, V., Lugo, E., Gutiérrez, M., & et.al. (2013). Extracción de compuestos fenólicos de lima (*Citrus limetta* Risso) y determinación de su actividad antioxidante. *Revista De Ciencias Biologicas Y De La Salud*, 18-22.
- Pinnell, S. (2012). Cutaneous photodamage oxidative stress and topical antioxidant protection . *Acad. Dermatol*, 67 (5);1013-24.
- Ponce, L. (2002). Estudios de Estabilidad de Productos Cosméticos. Bogota: GCI Global Cosmetic Industry Latinoamérica, Depto. de Farmacia, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional de Colombia.
- Portilla, D. (2012). ESTABILIDAD DE VITAMINA C EN GOMAS MASTICABLES ELABORADAS A PARTIR DEL LIOFILIZADO DE LA FRUTA DOVYALIS ABYSSINICA COMPARADO CON GOMAS DE ÁCIDO ASCÓRBICO SINTÉTICO. 2–3.
- Pouillot, A., & et. al. (2011). Natural Antioxidants and their Effects on the Skin. *Formulating, Packaging, and Marketing of Natural Cosmetic Product*, 239–257.
- Representaciones Químicas. (2016). LISTA DE MATERIAS PRIMAS AREA COSMÉTICA DE RLC.
- Rodríguez, C. (2014). Determinación de las propiedades físicas, composición química y evaluación de la actividad biológica y antioxidante del aceite esencial de la especie *Ocotea quixos* Kosterm de la provincia de Morona Santiago. Loja, Ecuador: UNIVERSIDAD TÉCNICA PARTICULAR DE LOJA.
- Rojas, O. (1999). Introducción a la reología. *Universidad de los Andes*, 2, p.24.

- Sprada, G., Da Mota, T., & Arantes, A. (2014). Antioxidant Activity of Cosmetic Formulations Based on Novel Extracts from Seeds of Brazilian *Araucaria angustifolia* (Bertoll) Kuntze Characterization, HPTLC, ORAC, PCL. *Journal of Cosmetics Dermatological Sciences and Applications Journal of Cosmetics*, 190-202.
- Stashenko, E. (2009). *ACEITES ESENCIALES* (Vol. I). Bucaramanga, Santander, Colombia: Publicaciones UIS.
- Stone, H., & Sidel, J. (1993). *Sensory Evaluation Practice*. San Diego: Academic Pres. 2nd ed.
- Subsecretaría de la Calidad . (2013). REGLAMENTO TÉCNICO ECUATORIANO RTE INEN 093 “PRODUCTOS COSMÉTICOS.” . pp.1–11.
- Thining , S., Gmbh, B., & Strasse, L. (n.d). *Introducción Viscosidad*. pp.241–242.
- Ubillos , J., Cerecetto, H., & González, M. (2011). Fraccionamiento bioguiado del extracto hidro-etanólico de *Aristeguietia glutinosa* Lam . y elucidación estructural de los principios activos anti- *Trypanosoma cruzi*. Riobamba, Ecuador: Laboratorio Química Orgánica, Facultad de Ciencias-Facultad de Química.
- Valarezo, S., & Vásquez, T. (noviembre de 2014). EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIFÚNGICA in vitro DE EMULSIONES DE MARCO (*Ambrosia arborescens* Mill) Y MATICO (*Aristeguietia glutinosa* Lam) SOBRE HONGOS PATÓGENOS CAUSANTES DE LA DERMATOMICOSIS. Quito, Ecuador: Universidad Politécnica Salesiana.

Zegarra, T., García, G., & Etcheverry, M. (2009). Importancia del pH en las industrias y módulo de laboratorio. pp.30–48.

Anexos

Anexo 1.

Prueba de Panel Sensorial



PRUEBA DE EVALUACIÓN SENSORIAL

PROYECTO EFICIENCIA COSMÉTICA

FECHA: _____

NUMERO DE PANELISTA: _____

INSTRUCCIONES

1.- Familiarizarse con la escala a utilizar, cualquier duda comunicar al instructor de la prueba

1 = me disgusta extremadamente	5 = no me gusta ni me disgusta
2 = me disgusta mucho	6 = me gusta levemente
3 = me disgusta moderadamente	7 = me gusta moderadamente
4 = me disgusta levemente	8 = me gusta mucho
	9 = me gusta extremadamente

2.- Sacar las muestras a testear y colocar en el orden indicado.

3.- Limpiar la zona de los dos antebrazos con los paños proporcionados para la prueba

4.- La primera calificación debe realizarse apenas se abre el recipiente que contiene la muestra.

5.- De acuerdo al orden de evaluación colocar la primera y segunda muestra en el antebrazo derecho y la tercera y cuarta en el antebrazo izquierdo.

6.- En el orden indicado realizar la evaluación,

AROMA: Acercar la nariz al área del antebrazo en donde se encuentre la muestra, tomar respiraciones cortas con la boca cerrada, y aromatizar el espacio de la muestra.

7.- Colocar los resultados en la siguiente tabla

N° MUESTRA	AROMA PRIMARIO (Al abrir el envase)	AROMA EN LA PIEL (Apenas se coloca en la piel)	AROMA EN LA PIEL (después de cinco minutos)

CENTRO DE INVESTIGACIÓN Y VALORACIÓN DE LA BIODIVERSIDAD - CIVABI

Sede Quito, Campus El Girón, Av. 12 de Octubre N24-22 y Wilson, bloque A 4to piso. Teléfonos: 3962 800 / 3962 900 ext.: 2218. Teléfono directo: 3962 879. Celular: 0995 400 925. Correo electrónico: tmosquera@ups.edu.ec

Fuente: Los Autores, 2017

Anexo 2.

Tabla matriz de datos utilizada para análisis en Infostat

Repeticiones	Formulaciones	Envases	Condiciones	Tiempo	pH	Color	Olor	Aspecto	Fenoles	Viscosidad
1	1	1	1	1	5,304	0	0	0	1,9899	66183
1	1	1	1	2	4,517	0	0	0	1,2081	77900
1	1	1	1	3	4,531	0	1	0	0,8386	237100
1	1	1	2	1	5,060	1	1	0	2,3594	10130
1	1	1	2	2	0,0283	2	2	1	0,8102	20160
1	1	1	2	3	5,429	3	3	3	0	949
1	1	2	1	1	5,359	0	0	0	2,1462	59630
1	1	2	1	2	4,57	0	0	0	0,0994	107600
1	1	2	1	3	4,768	0	1	0	0	208000
1	1	2	2	1	5,147	2	1	0	1,9472	10022
1	1	2	2	2	5,696	3	2	1	0,9239	11840

1	1	2	2	3	5,248	3	3	3	0	932
1	2	1	1	1	5,49	0	0	0	2,2456	230600
1	2	1	1	2	4,815	0	0	0	1,4213	194600
1	2	1	1	3	5,306	0	0	0	0,5401	327500
1	2	1	2	1	5,130	0	0	0	1,2792	181160
1	2	1	2	2	5,658	2	1	1	0,0994	16620
1	2	1	2	3	5,599	3	1	3	0	1105
1	2	2	1	1	5,478	0	0	0	2,1888	77100
1	2	2	1	2	4,882	0	0	0	1,4639	119100
1	2	2	1	3	5,418	0	0	0	0	189300
1	2	2	2	1	5,202	0	0	0	1,3929	27690
1	2	2	2	2	5,634	2	1	1	1,1654	38210
1	2	2	2	3	5,317	3	1	2	0	837
1	3	1	1	1	5,315	0	0	0	2,5015	211400
1	3	1	1	2	5,28	0	0	0	2,3878	147800

1	3	1	1	3	5,324	0	1	0	0,8386	170600
1	3	1	2	1	5,253	1	1	0	0,1847	32220
1	3	1	2	2	5,441	2	2	1	0	14900
1	3	1	2	3	5,104	3	3	3	0	889
1	3	2	1	1	5,17	0	0	0	2,259	224400
1	3	2	1	2	5,201	0	0	0	2,1462	194200
1	3	2	1	3	5,165	0	1	0	0	204200
1	3	2	2	1	5,284	1	1	0	1,3929	46850
1	3	2	2	2	5,047	2	2	1	1,2791	9900
1	3	2	2	3	5,15	3	3	3	1,044	1080
1	4	1	1	1	5,43	0	0	0	1,734	118400
1	4	1	1	2	5,111	0	0	0	1,1086	142600
1	4	1	1	3	5,072	0	0	0	0,5827	165000
1	4	1	2	1	5,201	1	1	0	0,5543	20030
1	4	1	2	2	5,56	2	1	1	0,4833	24530

1	4	1	2	3	5,262	3	2	3	0,0568	440
1	4	2	1	1	5,320	0	0	0	2,5442	136600
1	4	2	1	2	5,23	0	0	0	1,535	131200
1	4	2	1	3	5,151	0	1	0	0,8385	167600
1	4	2	2	1	5,232	1	0	0	1,2649	19170
1	4	2	2	2	5,493	2	2	1	0,2274	28600
1	4	2	2	3	5,215	3	3	3	0,1421	228
2	1	1	1	1	5,224	0	0	0	1,9614	76760
2	1	1	1	2	4,883	0	0	0	1,2223	78860
2	1	1	1	3	4,600	0	1	0	0,867	23160
2	1	1	2	1	5,092	1	1	0	1,7482	10177
2	1	1	2	2	5,925	2	2	1	0,9665	25950
2	1	1	2	3	5,414	3	3	3	0,0426	944
2	1	2	1	1	5,327	0	0	0	2,203	57410
2	1	2	1	2	4,625	0	0	0	0	119100

2	1	2	1	3	4,831	0	1	0	0	218800
2	1	2	2	1	5,146	2	1	0	2,0183	10020
2	1	2	2	2	5,55	3	2	1	1,3929	15360
2	1	2	2	3	5,285	3	3	3	0	1145
2	2	1	1	1	5,487	0	0	0	1,6061	218600
2	2	1	1	2	4,853	0	0	0	1,3503	174800
2	2	1	1	3	5,376	0	0	0	0,5685	345500
2	2	1	2	1	5,070	0	0	0	1,3645	17420
2	2	1	2	2	5,611	1	2	1	0,2416	17240
2	2	1	2	3	5,261	2	3	3	0	1091
2	2	2	1	1	5,391	0	0	0	2,1746	67910
2	2	2	1	2	4,92	0	0	0	1,7482	105400
2	2	2	1	3	5,271	0	0	0	0	213100
2	2	2	2	1	5,085	0	0	0	1,9614	27180
2	2	2	2	2	5,476	1	2	1	1,2508	36600

2	2	2	2	3	5,504	2	3	3	0	819
2	3	1	1	1	5,388	0	0	0	2,7005	21500
2	3	1	1	2	5,209	0	0	0	2,5999	168200
2	3	1	1	3	5,124	0	1	0	0	189200
2	3	1	2	1	5,259	1	1	0	0,2416	32960
2	3	1	2	2	5,415	2	2	1	0	16220
2	3	1	2	3	5,333	3	3	3	0	1116
2	3	2	1	1	5,159	0	0	0	2,3168	231300
2	3	2	1	2	5,173	0	0	0	2,1461	190800
2	3	2	1	3	5,143	0	1	0	0	207300
2	3	2	2	1	5,269	1	1	0	1,7908	51230
2	3	2	2	2	5,08	2	2	1	1,5113	10160
2	3	2	2	3	5,028	3	3	3	1,3076	362
2	4	1	1	1	5,452	0	0	0	1,9614	158200
2	4	1	1	2	5,101	0	0	0	1,355	186000

2	4	1	1	3	5,013	0	0	0	0,6111	178000
2	4	1	2	1	5,222	1	1	0	0,4263	22290
2	4	1	2	2	5,521	2	1	1	0,3695	24770
2	4	1	2	3	5,32	2	2	3	0,1137	424
2	4	2	1	1	5,359	0	0	0	2,6294	197800
2	4	2	1	2	5,31	0	0	0	1,5208	134200
2	4	2	1	3	5,146	0	0	0	0,8385	187400
2	4	2	2	1	5,168	1	0	0	1,7624	186600
2	4	2	2	2	5,47	1	1	1	0,2274	27080
2	4	2	2	3	5,018	2	2	3	0	238
3	1	1	1	1	4,01	0	0	0	1,9899	63300
3	1	1	1	2	4,570	0	0	0	1,336	71260
3	1	1	1	3	4,715	0	1	0	0,867	222200
3	1	1	2	1	5,218	1	1	0	2,0467	10860
3	1	1	2	2	5,823	2	2	1	1,4213	26950

3	1	1	2	3	5,331	3	3	3	0	1939
3	1	2	1	1	5,337	0	0	0	2,3593	58670
3	1	2	1	2	4,733	0	0	0	0	100300
3	1	2	1	3	4,952	0	1	0	0	252900
3	1	2	2	1	5,121	2	1	0	2,0893	10090
3	1	2	2	2	5,417	3	2	1	1,0518	12560
3	1	2	2	3	5,258	3	3	3	0,3127	1119
3	2	1	1	1	5,464	0	0	0	1,734	229900
3	2	1	1	2	4,903	0	0	0	1,0518	181800
3	2	1	1	3	5,359	0	0	0	0,6254	275900
3	2	1	2	1	5,130	0	0	0	1,2934	17000
3	2	1	2	2	5,665	1	1	1	0,1421	17480
3	2	1	2	3	5,529	1	2	3	0	1474
3	2	2	1	1	5,37	0	0	0	2,1462	60790
3	2	2	1	2	5,018	0	0	0	1,6203	124000

3	2	2	1	3	5,268	0	0	0	0	222200
3	2	2	2	1	5,178	0	0	0	2,7147	27440
3	2	2	2	2	5,537	1	1	1	1,1939	35030
3	2	2	2	3	5,456	1	2	3	0	823
3	3	1	1	1	5,414	0	0	0	2,8142	207800
3	3	1	1	2	5,245	0	0	0	2,5015	29900
3	3	1	1	3	5,226	0	1	0	0,0284	19300
3	3	1	2	1	5,228	1	1	0	0	33100
3	3	1	2	2	5,428	2	2	1	0	16100
3	3	1	2	3	5,266	3	3	3	0	1093
3	3	2	1	1	5,174	0	0	0	2,5442	238700
3	3	2	1	2	5,191	0	0	0	1,6487	179200
3	3	2	1	3	5,121	0	1	0	0	211900
3	3	2	2	1	5,208	1	1	0	1,4781	55010
3	3	2	2	2	4,999	2	2	1	1,2081	10220

3	3	2	2	3	5,239	3	3	3	1,1654	356
3	4	1	1	1	5,486	0	0	0	2,0467	171200
3	4	1	1	2	5,168	0	0	0	1,1513	176000
3	4	1	1	3	4,994	0	0	0	0,5827	165000
3	4	1	2	1	5,173	1	1	0	0,4975	223700
3	4	1	2	2	5,5	1	1	1	0,4669	24200
3	4	1	2	3	5,551	2	2	3	0,0994	228
3	4	2	1	1	5,344	0	0	0	2,5584	188800
3	4	2	1	2	5,355	0	0	0	1,9188	138000
3	4	2	1	3	5,144	0	0	0	0	187600
3	4	2	2	1	5,131	1	0	0	1,2081	18360
3	4	2	2	2	5,457	1	1	1	0,1421	24400
3	4	2	2	3	5,382	2	2	3	0,071	52730

Elaborado por: Los Autores, 2017

