



**ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO**  
**FACULTAD DE CIENCIAS**  
**CARRERA BIOQUÍMICA Y FARMACIA**

**“FORMULACIÓN Y CARACTERIZACIÓN FÍSICO-QUÍMICA DE  
UN SISTEMA DISPERSO EMULSIONABLE A BASE DE *Olea  
europaea*, *Butyrospermum parkii* Y *Cucurbita ficifolia* PARA LA  
MICROEMPRESA OMEGALAB”**

**Trabajo de Titulación**

Tipo: Trabajo Experimental

Presentado para optar el grado académico de:

**BIOQUÍMICA FARMACÉUTICA**

**AUTORA: JOHANNA VANESA VARGAS FLORES**

**DIRECTOR: BQF. DIEGO RENATO VINUEZA TAPIA M.sc**

Riobamba – Ecuador

2021

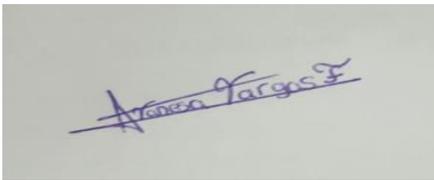
**©2021, Johanna Vanesa Vargas Flores**

Se autoriza la reproducción total o parcial, con fines académicos, por cualquier medio o procedimiento, incluyendo las citas bibliográficas del documento, siempre y cuando se reconozca el Derecho de Autor.

Yo, JOHANNA VANESA VARGAS FLORES, declaro que el presente trabajo de titulación es de mi autoría y los resultados del mismo son auténticos. Los textos en el documento que provienen de otras fuentes están debidamente citados y referenciados.

Como autora asumo la responsabilidad legal y académica de los contenidos de este trabajo de titulación; el patrimonio intelectual pertenece a la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.

Riobamba, 28 de octubre de 2021

A rectangular box containing a handwritten signature in blue ink. The signature appears to read "Johanna Vanesa Vargas Flores".

**Johanna Vanesa Vargas Flores**

**1804073490**

**ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO**  
**FACULTAD DE CIENCIAS**  
**CARRERA BIOQUÍMICA Y FARMACIA**

El Tribunal del Trabajo de Titulación certifica que: El Trabajo de Titulación; Tipo: Trabajo Experimental, **FORMULACIÓN Y CARACTERIZACIÓN FÍSICO QUÍMICA DE UN SISTEMA DISPERSO EMULSIONABLE A BASE DE *Olea europaea*, *Butyrospermum parkii* Y *Cucurbita ficifolia*** PARA LA MICROEMPRESA OMEGALAB, realizado por la señorita **JOHANNA VANESA VARGAS FLORES**, ha sido minuciosamente revisado por los Miembros del Tribunal del Trabajo de Titulación, el mismo que cumple con los requisitos científicos, técnicos, legales, en tal virtud el Tribunal Autoriza su presentación.

**FIRMA**

**FECHA**

BQF. Adriana Isabel Rodríguez Basantes Msc  
**PRESIDENTE DEL TRIBUNAL**

ADRIANA  
ISABEL  
RODRIGUEZ  
BASANTES  
Firmado digitalmente por  
ADRIANA ISABEL  
RODRIGUEZ  
BASANTES  
Fecha: 2022.01.26  
10:44:39 -05'00'

2021-08-30

BQF. Diego Renato Vinueza Tapia Msc  
**DIRECTOR DE TRABAJO DE  
TITULACIÓN**

 Firmado electrónicamente por:  
**DIEGO RENATO  
VINUEZA TAPIA**

2021-08-30

BQF. Gisela Alexandra Pilco Bonilla Msc  
**MIEMBRO DEL TRIBUNAL**

 Firmado electrónicamente por:  
**GISELA  
ALEXANDRA PILCO  
BONILLA**

2021-08-30

## **DEDICATORIA**

Mi tesis en primera instancia la dedico a Dios, quien supo guiarme con su bendición y así poder llegar a este importante momento de mi vida.

A mis estimados padres por brindarme su apoyo en todo el trayecto de mi vida, mi padre Guido Vargas que pesar de no caminar junto a mí, me incentivó para llevar a cabo mi formación estudiantil, a mi madre Nelly Flores por ser mi motor y guiarme día a día con sus consejos para lograr mis sueños.

A mis queridos hermanos, Guido y Erika, por estar siempre presentes en mi vida con sus consejos y ánimos para no rendirme en ningún momento y permitir compartir experiencias inolvidables.

A mis queridos sobrinitos Andresito y Monserrath quienes son mi fuente de motivación para seguir adelante y haberme permitido compartir con ellos sus dulces y divertidas ocurrencias y alegrar mi vida con su llegada.

A los dueños/ propietarios de la microempresa Omegalab, los esposos Carlitos Pazmiño y Mayra Tinajero por abrirme las puertas y permitir llevar a cabo mi trabajo, además de aportar con sus conocimientos, sabiduría en el desarrollo del trabajo. A mis amigos/ as, quienes formaron parte de mi vida y estuvieron a mi lado apoyándome y aconsejándome para ser mejor persona y haber compartido momentos de alegría y tristezas

Gracias a todos.

***Johanna.***

## **AGRADECIMIENTO**

En primer lugar, quiero expresar mi gratitud a Dios, quien con su bendición sigue guiando mi camino, gracias a cada uno de mis profesores de la carrera de Bioquímica y Farmacia de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, por trasmitirme el conocimiento y formarme profesionalmente para servir a la sociedad.

De igual forma quiero extender mi agradecimiento a mi tutor Bqf. Diego Vinueza, a la Dra. Susana Abdo, Bqf. Gisela Pilco y a mis colaboradores Bqf. Carlitos Pazmiño y Bqf, Mayra Tinajero, por contar con su apoyo profesionalmente cuando lo necesitaba. Además de direccionarme mediante sus recomendaciones, conocimientos, enseñanzas y asesoramiento, tanto profesional como moral en el desarrollo de este trabajo.

Y especialmente a toda mi familia por su apoyo incondicional en todas las etapas de mi vida.

***Johanna***

## TABLA DE CONTENIDO

ÍNDICE DE TABLAS .....	xi
ÍNDICE DE FIGURAS .....	xii
ÍNDICE DE GRÁFICOS .....	xiii
ÍNDICE DE ANEXOS .....	xiv
ÍNDICE DE ABREVIATURAS .....	xvi
RESUMEN .....	xvii
SUMMARY .....	xviii
INTRODUCCIÓN .....	1

## CAPÍTULO I

<b>1. MARCO TEÓRICO .....</b>	<b>2</b>
<b>1.1. Piel.....</b>	<b>2</b>
<b>1.1.1. Capas de la piel .....</b>	<b>2</b>
<b>1.1.1.1. Epidermis .....</b>	<b>3</b>
<b>1.1.1.2. Dermis (Corion) .....</b>	<b>5</b>
<b>1.1.1.3. Hipodermis o Tejido Subcutáneo.....</b>	<b>6</b>
<b>1.1.2. Tipos de piel .....</b>	<b>6</b>
<b>1.1.2.1. Piel normal.....</b>	<b>7</b>
<b>1.1.2.2. Piel seca (alópica y deshidratada).....</b>	<b>7</b>
<b>1.1.2.3. Piel grasa normal.....</b>	<b>7</b>
<b>1.1.2.4. Piel grasa deshidratada .....</b>	<b>7</b>
<b>1.1.2.5. Piel grasa asfíctica u ocluida.....</b>	<b>7</b>
<b>1.1.2.6. Piel sensible .....</b>	<b>8</b>
<b>1.2. Dermatitis Atópica .....</b>	<b>8</b>
<b>1.2.1. Epidemiología.....</b>	<b>8</b>
<b>1.2.2. Etiopatogenia.....</b>	<b>8</b>
<b>1.2.2.1. Factores genéticos.....</b>	<b>9</b>
<b>1.2.2.2. Trastornos del sistema inmune .....</b>	<b>9</b>
<b>1.2.2.3. Factores irritantes.....</b>	<b>10</b>
<b>1.2.2.4. Factores alérgenos .....</b>	<b>11</b>
<b>1.2.2.5. Factores medioambientales .....</b>	<b>11</b>
<b>1.2.2.6. Factores psicológicos .....</b>	<b>11</b>
<b>1.2.3. Manifestaciones clínicas .....</b>	<b>12</b>

1.2.4.	<b>Tratamientos farmacológicos</b> .....	12
1.2.4.1.	<i>Antisépticos y desinfectantes</i> .....	12
1.2.4.2.	<i>Antihistamínicos de usos sistémico</i> .....	12
1.2.4.3.	<i>Ansiolíticos Derivados del Difenilmetano</i> .....	12
1.2.4.4.	<i>Corticoides tópicos</i> .....	13
1.2.4.5.	<i>Inmunomoduladores tópicos</i> .....	13
1.2.4.6.	<i>Inhibidores de la fosfodiesterasa</i> .....	13
1.2.4.7.	<i>Emolientes e hidratantes</i> .....	13
1.3.	<b>Terapias o Tratamientos naturales (Tratamiento fitoterápico)</b> .....	13
1.3.1.	<b>Importancia de tratamientos naturales</b> .....	14
1.3.2.	<b>Óleos naturales con acción en DA</b> .....	14
1.3.3.	<b>Cosmética natural libre de parabenos</b> .....	14
1.3.4.	<b>Componentes naturales empleados en tratamiento Fitoterápicos</b> .....	15
1.3.4.1.	<i>Componentes grasos</i> .....	15
1.3.4.2.	<i>Flavonoides</i> .....	15
1.3.4.3.	<i>Fitoesteroles en el tratamiento de la dermatitis atópica</i> .....	16
1.4.	<b>Aceites que forman la fase oleosa</b> .....	17
1.4.1.	<b><i>Olea europaea</i></b> .....	17
1.4.1.1.	<i>Clasificación científica</i> .....	18
1.4.1.2.	<i>Características botánicas</i> .....	18
1.4.1.3.	<i>Uso medicinal</i> .....	18
1.4.1.4.	<i>Composición y principios activos</i> .....	18
1.4.2.	<b><i>Butyrospermum parkii</i> (Manteka de karité)</b> .....	19
1.4.2.1.	<i>Clasificación científica</i> .....	19
1.4.2.2.	<i>Características botánicas</i> .....	19
1.4.2.3.	<i>Uso medicinal</i> .....	20
1.4.2.4.	<i>Composición y principios activos</i> .....	20
1.4.3.	<b><i>Cucurbita ficifolia</i> (Sambo)</b> .....	20
1.4.3.1.	<i>Clasificación científica</i> .....	21
1.4.3.2.	<i>Características botánicas</i> .....	21
1.4.3.3.	<i>Uso medicinal</i> .....	21
1.4.3.4.	<i>Composición y principios activos</i> .....	22
1.5.	<b>Técnicas de extracción de aceites</b> .....	22
1.5.1.	<b><i>Extracción con solventes</i></b> .....	22
1.5.2.	<b><i>Centrifugación</i></b> .....	23
1.5.3.	<b><i>Extracción por prensado en frío</i></b> .....	23

1.5.4.	<i>Extracción con fluidos supercríticos</i> .....	23
1.6.	<b>Emulsión</b> .....	24
1.6.1.	<i>Tipos de emulsión</i> .....	24
1.6.2.	<i>Estabilidad de las emulsiones</i> .....	25
1.6.3.	<i>Tensioactivos</i> .....	26
1.6.3.1.	<i>Clasificación de los surfactantes</i> .....	26
1.6.3.2.	<i>Propiedades de los tensioactivos</i> .....	27
1.6.4.	<b>Balance Hidrofílico-lipofílico (HLB) de Griffin</b> .....	28
1.6.4.1.	<i>Cálculo de HLB según la escala de Griffin</i> .....	29
1.6.4.2.	<i>Cálculo de HLB por la ecuación de Davis</i> .....	29
1.6.4.3.	<i>Cálculo del valor del HLB requerido para grasas y aceites</i> .....	30
1.7.	<b>Diagrama ternario</b> .....	31
1.7.1.	<i>Construcción de un diagrama ternario</i> .....	31
1.7.2.	<i>Interpretación de diagramas ternarios</i> .....	32
1.7.3.	<i>Trayectorias en el diagrama ternario</i> .....	33
1.7.3.1.	<i>Trayectorias paralelas</i> .....	33
1.7.3.2.	<i>Trayectorias diagonales</i> .....	34
1.7.3.3.	<i>Trayectorias perpendiculares</i> .....	34
1.7.4.	<i>Importancia de los diagramas ternarios en microemulsiones</i> .....	34

## CAPÍTULO II

2.	<b>PARTE EXPERIMENTAL</b> .....	35
2.1.	<b>Lugar de investigación</b> .....	35
2.2.	<b>Materiales, equipos y reactivos</b> .....	35
2.2.1.	<i>Material vegetal</i> .....	35
2.2.2.	<i>Reactivos</i> .....	35
2.2.3.	<i>Materiales de laboratorio</i> .....	36
2.2.4.	<i>Equipos e instrumento</i> .....	36
2.3.	<b>Métodos y técnicas</b> .....	37
2.3.1.	<i>Recolección e identificación del material vegetal</i> .....	37
2.3.2.	<i>Determinación del control de calidad del aceite de Sambo</i> .....	39
2.3.2.1.	<i>Propiedades físicas del aceite</i> .....	39
2.3.2.2.	<i>Densidad Relativa</i> .....	39
2.3.2.3.	<i>Método del índice de acidez</i> .....	40
2.3.2.4.	<i>Método del índice de peróxidos</i> .....	40

2.3.2.5.	<i>Método del índice de yodo</i> .....	41
2.3.2.6.	<i>Método de índice de saponificación</i> .....	41
2.3.3.	<i>Formulaciones de las emulsiones cosméticas</i> .....	41
2.3.3.1.	<i>Preparación de la emulsión cosmética final</i> .....	42
2.3.3.2.	<i>Proceso de formulación cosmética de una emulsión cosmética</i> .....	42
2.3.4.	<i>Caracterización Fisicoquímica de la emulsión</i> .....	43
2.3.4.1.	<i>pH</i> .....	43
2.3.4.2.	<i>Densidad</i> .....	43
2.3.4.3.	<i>Extensibilidad</i> .....	44
2.3.4.4.	<i>Centrifugación</i> .....	44
2.3.5.	<b><i>Pruebas microbiológicas de la emulsión</i></b> .....	45
2.3.5.1.	<i>Método de conteo de Aerobios mesófilos totales</i> .....	45
2.3.5.2.	<i>Determinación de Pseudomona aeruginosa</i> .....	45
2.3.5.3.	<i>Determinación de Staphylococcus aureus</i> .....	47
2.3.5.4.	<i>Determinación de crecimiento de Escherichia coli</i> .....	48
2.3.5.5.	<i>Detección de Candida albicans</i> .....	50

### CAPÍTULO III

3.	<b>RESULTADOS Y DISCUSION Y ANALISIS DE RESULTADOS</b> .....	51
3.1.	<b>Extracción del aceite</b> .....	51
3.1.1.	<b><i>Caracterización de la calidad del aceite de semillas de Sambo</i></b> .....	51
3.1.1.1.	<i>Densidad</i> .....	52
3.1.1.2.	<i>Índice de acidez</i> .....	52
3.1.1.3.	<i>Índice de peróxidos</i> .....	53
3.1.1.4.	<i>Índice de saponificación</i> .....	53
3.1.1.5.	<i>Índice de yodo</i> .....	53
3.2.	<b>Formulaciones cosméticas a base de aceites esenciales extra virgen de oliva, sambo y Manteca de karité</b> .....	53
3.2.1.	<b><i>Determinación del HLB requerido utilizando la combinación de una mezcla emulgente</i></b> .....	53
3.2.2.	<b><i>Ensayos preliminares de las formulaciones</i></b> .....	58
3.2.3.	<b><i>Análisis de las pruebas realizadas a la formulación</i></b> .....	71
3.2.3.1.	<i>Prueba de estabilidad</i> .....	71
3.2.3.2.	<i>Prueba de pH</i> .....	72
3.2.3.3.	<i>Prueba de extensibilidad</i> .....	73

3.2.4.	<i>Diseño experimental</i> .....	74
3.3.	<b>Formulacion Final</b> .....	74
3.3.1.	<i>Pruebas organolépticas, físico-químicas y microbiológicas a la formulación final</i> .....	75
<b>CONCLUSIONES</b> .....		77
<b>RECOMENDACIONES</b> .....		78
<b>BIBLIOGRAFÍA</b>		
<b>ANEXOS</b>		

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1-1:</b> Países con mayor prevalencia de síntomas de eccema proporcionando por el centro de bases de ISAAC .....	9
<b>Tabla 2-1:</b> Descripción Botánica de <i>Olea europaea</i> .....	18
<b>Tabla 3-1:</b> Descripción botánica de <i>Butyrospermum parkii</i> .....	19
<b>Tabla 4-1:</b> Descripción botánica de <i>Cucurbita ficifolia</i> .....	20
<b>Tabla 1- 2:</b> Especificaciones de aceites de acuerdo con las ISO, debe cumplir con .....	39
<b>Tabla 2-2:</b> Formulación con los componentes base para una emulsión cosmética. ....	42
<b>Tabla 3-2:</b> Características morfológicas de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> en un medio selectivo. .	46
<b>Tabla 4-2:</b> Características morfológicas de <i>Staphylococcus aureus</i> en un medio selectivo.....	47
<b>Tabla 5-2:</b> Características morfológicas de <i>Escherichia coli</i> en un medio de agar MacConkey. ....	49
<b>Tabla 6-2:</b> Características morfológicas de <i>Escherichia coli</i> en un Medio de agar Levine con eosina y azul de metileno. ....	49
<b>Tabla 7-2:</b> Características morfológicas de <i>Candida albicans</i> en un medio de agar selectivo. .	50
<b>Tabla 1-3:</b> Resultados del control de calidad al Aceite de <i>Cucurbita ficifolia</i> .....	51
<b>Tabla 2-3:</b> Cálculo del porcentaje de tensioactivos. ....	56
<b>Tabla 3-3:</b> Cálculo de la mezcla de emulgente a diferentes concentraciones .....	57
<b>Tabla 4-3:</b> Cálculo de la Fase oleosa.....	58
<b>Tabla 5-3:</b> Ensayos de formulación al 2.5% de tensioactivo. ....	58
<b>Tabla 6-3:</b> Determinación de la mezcla de tensioactivos más estables al 3% de mezcla emulgente.....	58
<b>Tabla 7-3:</b> Determinación de la mezcla de tensioactivos más estables al 3% de mezcla emulgente.....	59
<b>Tabla 8-3:</b> Resultados de la Prueba de la Centrifuga.....	59
<b>Tabla 9-3:</b> Comportamiento de la emulsión al adicionar un componente más en las mezclas de tensioactivos más estables.....	60
<b>Tabla 10-3:</b> Prueba de la Centrifuga.....	60
<b>Tabla 11-3:</b> Toxicidad cutánea de los Tensioactivos.....	60
<b>Tabla 12-3:</b> Porcentaje de la fase oleosa según el diagrama ternario.....	61
<b>Tabla 13-3:</b> Pruebas Físico –químicas obtenidas de las formulaciones. ....	62
<b>Tabla 14-3:</b> Porcentaje de la formula final. ....	74
<b>Tabla 15-3:</b> Resultados de Pruebas Organolépticos, Pruebas Físico-químicas. ....	74

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1-1:</b> Distribución de las capas de la epidermis .....	2
<b>Figura 2-1:</b> Estructura química del esqueleto flavonólico .....	15
<b>Figura 3-1:</b> Estructura de esteroides vegetales .....	16
<b>Figura 4-1:</b> Fruto y hojas de <i>Olea europaea</i> .....	17
<b>Figura 5-1:</b> Fruto de <i>Butyrospermum parkii</i> y Manteca de karité .....	19
<b>Figura 6-1:</b> Fruto, semillas y flor de <i>Cucurbita ficifolia</i> .....	20
<b>Figura 7-1:</b> Tipos de emulsiones .....	24
<b>Figura 8-1:</b> Tipos de Inestabilidad de emulsiones .....	25
<b>Figura 9-1:</b> Calcificación de surfactantes .....	26
<b>Figura 10-1:</b> Escala que muestra la extensión de los valores HLB de diversos tensioactivos ..	28
<b>Figura 11-1:</b> Valores de HLB de algunos surfactantes .....	29
<b>Figura 12-1:</b> Coeficientes de HBL de grupos funcionales .....	30
<b>Figura 13-1:</b> Diagrama de fase pseudoternario de lecitina .....	32
<b>Figura 14-1:</b> Diversas trayectorias en el diagrama ternario .....	33
<b>Figura 15-1:</b> Trayectorias diagonales en un sistema ternario .....	34
<b>Figura 1-2:</b> Flujograma de extracción de aceite de las semillas de Zambo mediante prensado en frío.....	37

## ÍNDICE DE GRÁFICOS

<b>Gráfico 1-3:</b> Prueba de Estabilidad. ....	71
<b>Gráfico 2-3:</b> Prueba de Ph .....	72
<b>Gráfico 3-3:</b> Prueba de la extensibilidad .....	73
<b>Gráfico 4-3:</b> Límites del diseño experimental .....	74

## ÍNDICE DE ANEXOS

**ANEXO A:** CERTIFICADO DE CALIDAD DEL ACEITE DE OLIVA

**ANEXO B:** CERTIFICADO DE CALIDAD DE LA MANTECA DE KARITÉ

**ANEXO C:** EXTRACCIÓN DEL ACEITE DE SAMBO IMITANDO UN EXTRACTOR DE ACEITE POR Prensado en Frío

**ANEXO D:** EXTRACCIÓN DEL ACEITE DE SAMBO SEGÚN POR Prensado en Frío.

**ANEXO E:** SEDIMENTACIÓN DEL ACEITE DE SAMBO EN UN EMBUDO DE DECANTACIÓN

**ANEXO F:** ANÁLISIS FÍSICO DEL ACEITE DE SAMBO SEGÚN LA NORMATIVA INEN-DENSIDAD DEL ACEITE

**ANEXO G:** FORMULACIONES DEL SISTEMA DISPERSO EMULSIONABLE PARA DETERMINAR LA MEZCLA EMULGENTE.

**ANEXO H:** PRUEBA DE LA CENTRIFUGA APLICADA A LAS FORMULACIONES DEL SISTEMA DISPERSO EMULSIONABLE DE LA MEZCLA DE EMULGENTES.

**ANEXO I:** FORMULACIONES DEL SISTEMA DISPERSO EMULSIONABLE OBTENIDOS MEDIANTE EL DIAGRAMA TERNARIO PRIMER GRUPO

**ANEXO J:** FORMULACIONES DEL SISTEMA DISPERSO EMULSIONABLE OBTENIDOS MEDIANTE EL DIAGRAMA TERNARIO SEGUNDO GRUPO

**ANEXO K:** FORMULACIONES DEL SISTEMA DISPERSO EMULSIONABLE OBTENIDOS MEDIANTE EL DIAGRAMA TERNARIO TERCER GRUPO

**ANEXO L:** PRUEBA DE LA CENTRIFUGA A LAS FORMULACIONES DEL SISTEMA DISPERSO EMULSIONABLE OBTENIDOS MEDIANTE EL DIAGRAMA TERNARIO PRIMER GRUPO

**ANEXO M:** PRUEBA DE LA CENTRIFUGA A LAS FORMULACIONES DEL SISTEMA DISPERSO EMULSIONABLE OBTENIDOS MEDIANTE EL DIAGRAMA TERNARIO SEGUNDO GRUPO

**ANEXO N:** PRUEBA DE LA CENTRIFUGA A LAS FORMULACIONES DEL SISTEMA DISPERSO EMULSIONABLE OBTENIDOS MEDIANTE EL DIAGRAMA TERNARIO TERCER GRUPO

**ANEXO O:** PRUEBA DE LA EXTENSIBILIDAD APLICADA A TODAS LAS FORMULACIONES OBTENIDAS EN EL DIAGRAMA TERNARIO

**ANEXO P:** PRUEBA DE pH APLICADA A TODAS LAS FORMULACIONES OBTENIDAS EN EL DIAGRAMA TERNARIO

**ANEXO Q:** FORMULACIÓN FINAL

**ANEXO R:** CARACTERIZACIÓN FÍSICO-QUÍMICA A LA FORMULACIÓN FINAL  
PRUEBA DEL pH.

**ANEXO S:** CARACTERIZACIÓN FÍSICO-QUÍMICA A LA FORMULACIÓN FINAL  
PRUEBA DE LA CENTRIFUGA.

**ANEXO T:** CARACTERIZACIÓN FÍSICO-QUÍMICA A LA FORMULACIÓN FINAL  
PRUEBA DE LA EXTENSIBILIDAD.

**ANEXO U:** PREPARACIÓN DE MEDIOS DE CULTIVO.

**ANEXO V:** RESULTADOS DE LA CARACTERIZACIÓN MICROBIOLÓGICA A LA  
FORMULACIÓN FINAL.

## ÍNDICE DE ABREVIATURAS

<b>G</b>	Gramos
<b>Kg</b>	Kilogramos
<b>Cm</b>	Centímetro
<b>V</b>	Volumen
<b>N</b>	Normalidad
<b>P</b>	Peso
<b>Meq</b>	Miliequivalente
<b>+COLIPA</b>	Asociación europea Cosmética del Cuidado Personal
<b>USP</b>	Farmacopea de los Estados Unidos
<b>Ac</b>	Cantidad de Aceite
<b>ISO</b>	International Standard Organization
<b>ISAAC</b>	International Study of Asthma and Allergies in Childhood
<b>DA</b>	Dermatitis atópica
<b>FLG</b>	Filagrina
<b>Um</b>	Micrómetros
<b>CMC</b>	Concentración Micelar Crítica
<b>HLB</b>	Balance Hidrofílico-Lipofílico
<b>TA</b>	Tensioactivos
<b>LD</b>	Dosis letal

## RESUMEN

El presente estudio tiene como enfoque el desarrollar una formulación y caracterización físico química de un sistema disperso emulsionable a base de *Olea europaea*, *Butyrospermum parkii* y *Cucurbita ficifolia* para la microempresa Omegalab, destinado a personas con piel atópica. Para dicha investigación, se partió de la extracción de aceites por prensado en frío de las pepas de sambo (*Cucurbita ficifolia*), realizando pruebas de calidad como rendimiento, densidad, pH, acidez y determinación de peróxidos. A continuación, se determinó la mezcla emulgente más a fin a la formulación, la cual se seleccionó de acuerdo con la toxicidad que presenta los tensioactivos; luego se implementó un diseño de formulación en el programa ProSim, los porcentajes se establecieron mediante la aplicación de un diagrama ternario obteniendo un total de 27 formulaciones. Se descartaron las formulaciones según los resultados obtenidos en las pruebas fisicoquímicas, determinando que la mejor formulación se encontraba dentro de los siguientes rangos: aceite de oliva de 0.45% - 1.8%, aceite de sambo de 0.45% - 1.8% y manteca de karité de 5.4% - 8.1% complementando con el análisis físico químico y microbiológico el cual cumple con las especificaciones según la normativa vigente, llegando a determinar que una formulación elaborada con principios activos naturales presenta un menor riesgo de irritación cumpliendo con las pruebas requeridas por la normativa garantizando su inocuidad para su comercialización; finalmente, se recomienda efectuar estudios *in vivo* con el fin de verificar su efectividad.

**Palabras clave:** <TOXICIDAD>, <TENSIOACTIVO>, <PIEL ATÓPICA>, <XEROSIS>, <CERAMIDAS>.

LEONARDO  
FABIO  
MEDINA  
NUSTE

Firmado digitalmente por LEONARDO  
FABIO MEDINA NUSTE  
Nombre de reconocimiento (DN): c=EC,  
o=BANCO CENTRAL DEL ECUADOR,  
ou=ENTIDAD DE CERTIFICACION DE  
INFORMACION-ECIBCE, l=QUITO,  
serialNumber=0000621485,  
cn=LEONARDO FABIO MEDINA NUSTE  
Fecha: 2022.01.13 12:51:48 -05'00'



0053-DBRA-UTP-2022

## SUMMARY

This study focuses on developing a formulation and physical-chemical characterization of an emulsifiable disperse system based on *Olea europaea*, *Butyrospermum parkii* and *Cucurbita ficifolia* for Omegalab microenterprise, intended for people with atopic skin. This research started with the extraction of oils of sambo seeds (*Cucurbita ficifolia*) by means of cold pressing, carrying out quality tests such as yield, density, pH, acidity and peroxide determination. Next, the emulsifying mixture more in line with the formulation was determined, which was selected according to the toxicity of the surfactants; then a formulation design was implemented in ProSim software, the percentages were established by applying a ternary diagram, obtaining a total of 27 formulations. The formulations were discarded according to the results obtained in the physicochemical tests, determining that the best formulation was within the following ranges: olive oil 0.45% - 1.8%, sambo oil 0.45% - 1.8% and shea butter 5.4% - 8.1% complementing the physical chemical and microbiological analysis which complies with the specifications according to current regulations, determining that a formulation elaborated with natural active ingredients presents a lower risk of irritation, complying with the tests required by the regulations guaranteeing its innocuousness for its commercialization; finally, *in vivo* studies are recommended in order to verify its effectiveness.

**Keywords:** <TOXICITY>, <SURFACTANTS>, <ATOPTIC SKIN>, <XEROSIS>, <CERAMIDES>.

EDISON  
HERNAN  
SALAZAR  
CALDER  
ON

Firmado digitalmente por EDISON HERNAN SALAZAR CALDERON  
Fecha: 2022.02.01 20:24:45 -05'00'

## INTRODUCCIÓN

La dermatitis atópica (DA) es una enfermedad cutánea crónica de la piel, ocasionada posiblemente por una predisposición genética, sin embargo, su causa exacta aún se desconoce. Esta alteración se ha convertido en un problema de salud, sobre todo en países desarrollados, con alta incidencia en la población pediátrica y una prevalencia entre el 20 y 30%, con aumento en las últimas décadas (Leyva-Montero *et al.*, 2020, pp. 2-4). Los pacientes con DA presentan una alteración en la capa lipídica del estrato córneo lo que ha requerido la formulación de cremas que imiten a estos lípidos, es decir, que contengan colesterol, ceramidas, y ácidos grasos en las proporciones apropiadas (Baselga, 2003,pp.345-346).

De acuerdo al estudio realizado por el Instituto Internacional de Asma y Alergias en la Infancia (ISAAC) sobre la prevalencia de dermatitis atópica entre distintos países, en una edad de 6 a 7 años es de 22.5% en Ecuador, y va en aumento por la asociación a ciertos factores como ambientales, influencia epigenética, alimentación, alteraciones de la barrera epitelial, alergénicos entre otros (Femenía *et al.*, 2006,pp.1-13).

La dermatitis atópica es muy compleja e implica varios factores y parte de ellos no son bien conocidos, factores ambientales, alergénicos, irritantes, genéticos, alteraciones inmunológicas y bioquímicas con la liberación de Interleucinas (IL-4 e IL-1), capaces de suprimir la producción de péptidos antimicrobianos (lípidos) permiten la colonización de virus, bacterias y hongos con liberación de mediadores inflamatorios que perpetúa el prurito (Conde-Taboada, González-Barcala and Toribio, 2008,pp.3-8).

Diversos estudios señalan que los principales colaboradores de la DA son: alteración de la barrera cutánea y la desregulación del sistema inmune, alteración en la matriz epidérmica, proteínas y lípidos, todos estos en conjunto ocasionan un daño en la piel induciendo pérdida de agua transepidérmica provocando xerosis, por lo que se ha convertido en un problema de salud global, ya que conlleva altos costos en la atención médica con un deterioro de la calidad de vida (Leyva-Montero *et al.*, 2020,pp.7-11)(Torres *et al.*, 2019,pp.3-5).

La función de barrera en la epidermis es importante para la protección contra microorganismos, toxinas, patógenos, alergénicos, irritantes entre otros, como también para mantener la hidratación de la piel. La aplicación diaria de emolientes constituyen un pilar fundamental en el tratamiento de la DA independientemente de la gravedad, es importante después del baño aplicar inmediatamente una crema emoliente cuando la piel aun esta húmeda debido a que el estrato córneo está mejor hidratado y así evitar la evaporización del agua y mantener la piel hidratada (Baselga, 2003,pp.1-11)(Sendagorta Cudós and Laguna, 2009,pp.49-55).

Los emolientes reducen la xerosis, la picazón y pérdida de agua transepidérmica, mejorando en general la función de barrera cutánea y síntomas de dermatitis atópica (Leyva-Montero *et al.*, 2020,pp.4-11).

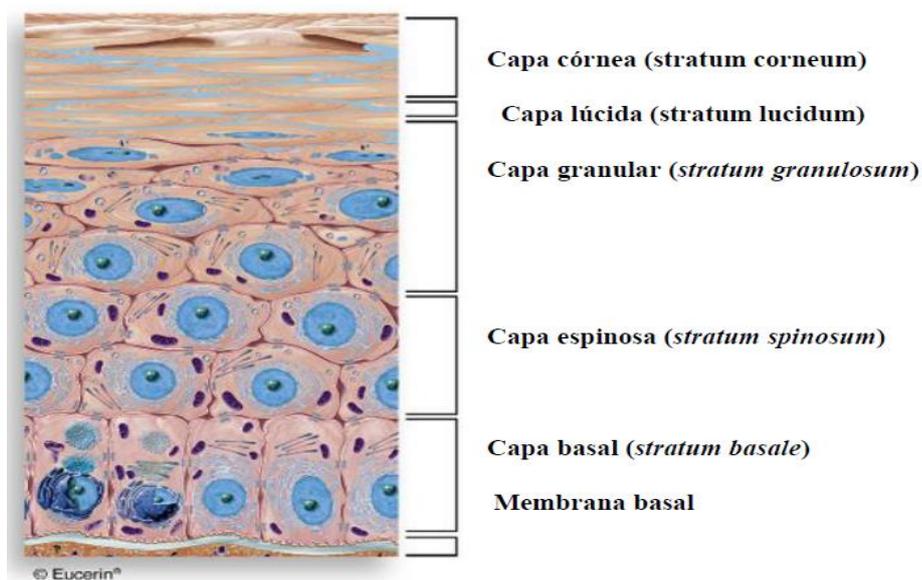
# CAPÍTULO I

## 1. MARCO TEÓRICO

### 1.1. Piel

Es el órgano más grande del cuerpo humano que recubre toda la superficie corporal y permite un adecuado intercambio con el exterior, mide alrededor de 1,5 y 2 m<sup>2</sup> y constituye una sexta parte del peso corporal total (Tortora and Derrickson, 2013,pp.147). La piel está constituida por 3 capas: la hipodermis (Tejido adiposo subcutáneo), dermis (corio) y la capa superficial epidermis. Dentro de estas capas se encuentran los anexos cutáneos: las glándulas sudoríparas eccrinas, las glándulas apocrinas, el aparato pilosebáceo y las uñas (Romera and Colmenero, 2013,pp.68-69).

#### 1.1.1. Capas de la piel



**Figura 3-1:** Distribución de las capas de la epidermis.

Fuente: (Shukla *et al.*, 2015,pp.69).

#### 1.1.1.1. *Epidermis*

Primera capa externa de la piel de origen ectodérmico. En esta superficie se encuentran los poros de las glándulas sudoríparas y los orificios de las glándulas sebáceas, que gracias a sus secreciones la piel permanece hidratada y recibe los lípidos necesarios para el mantenimiento de la película hidrolipídica, además de proteger contra las agresiones (Tortora and Derrickson, 2013, pp.147). Su grosor es variable, puede medir menos de 0,1 milímetros, en zonas de piel fina, como los párpados, o alcanzar más de 1,5 milímetros como en las plantas de los pies (Romera and Colmenero, 2013, pp.69). No tiene irrigación propia, y se nutre por difusión a partir de finos vasos de la dermis (Tortora and Derrickson, 2013, pp.147).

Es un epitelio plano pluriestratificado queratinizado constituido por los siguientes estratos: estrato basal o germinativo, estrato espinoso, estrato granuloso, estrato lúcido y estrato córneo tal como se muestra en la Figura 1-1 (Sánchez *et al.*, 2019, pp.30-33).

##### **1) Estrato córneo**

Es la capa externa de la epidermis (Figura 1-1), está constituida por 25 a 30 capas de células planas y muertas que son los córneoцитos que van formando hileras soportados en una matriz laminar, se caracteriza por ser gruesa, eosinófila y con queratinocitos muertos, planos y anucleadas, esto ayudan a proteger a las capas más profundas de lesiones e invasiones microbianas. Durante la cornificación, las células basales se transforman en células córneas planas sin núcleo (córneoцитos). Entre las células hay lípidos provenientes de los gránulos que contribuyen a la impermeabilidad del estrato (Tortora and Derrickson, 2013, pp.149-153). Entre las funciones básicas del estrato córneo comprende actuar como una barrera permeable por lo tanto evita la pérdida de agua transcutánea por evaporización e influye en la colonización de flora bacteriana no patógena. La matriz laminar de soporte de los córneoцитos, está constituida de altas concentraciones de ácidos grasos libres, colesterol y ceramidas (Boothe, Tarbox and Tarbox, 2017, pp. 8-11).

##### **2) Estrato lúcido**

Estrato lúcido (Figura 1-1) está presente en las plantas de los pies, las yemas de los dedos y las palmas de las manos, compuesta por 3 a 5 capas de queratinocitos muertos, aplanados y transparentes (Tortora and Derrickson, 2013, pp. 149-150). En esta capa empieza la degeneración de los núcleos, organelas y desaparecen del estrato lúcido según se llena de queratina (Romera and Colmenero, 2013, pp.69-70).

### **3) Estrato granuloso**

Estrato granuloso (Figura1-1) formado por 3 a 5 capas de queratinocitos aplanados que sufren apoptosis, cuyo citosol contiene gránulos basófilos (gránulos queratohialina) y gránulos proteicos precursora de filagrina. La queratohialina es una sustancia precursora de la queratina. En esta capa se inicia la cornificación, en donde los queratinocitos al llegar a la última capa de este estrato mueren y vierten su contenido al espacio intracelular (Romera and Colmenero, 2013,pp.69-70). Esta secreción ocupa los espacios entre las células del estrato granuloso, lúcido y estrato córneo, es rica en lípidos actuando como un sellador, que evita la entrada y pérdida de agua al igual que evita la entrada de material extraño (Tortora and Derrickson, 2013,pp.149-151).

### **4) Estrato espinoso**

Estrato espinoso (Figura1-1) se encuentra por encima del estrato basal formado por células con forma poligonal, aplanadas horizontalmente. El citosol es basófilo con numerosos tonofibrillas con prolongaciones en forma de espina. En ella se pueden apreciar las vacuolas de membrana cerrada (cuerpos de Odland) que contienen los precursores de los lípidos epidérmicos (Romera and Colmenero, 2013,pp.69-70).

### **5) Estrato basal**

Estrato basal (Figura1-1) denominado también como estrato germinativo está compuesto de células cilíndricas y cúbicas con núcleos ovalados relacionados por la unión desmosómica y ancladas a la membrana basal por hemidesmosómicas, formando una frontera entre la epidermis y la dermis (Romera and Colmenero, 2013,pp.69-70). Algunas células de esta capa son células madre que entran en división y renuevan la epidermis. Los melanocitos, células responsables de la pigmentación, encargadas de producir el pigmento café de la piel que es la melanina sintetizada a partir de la tirosina (Tortora and Derrickson, 2013,pp.149-151).

### **Células epidérmicas**

En esta capa de la piel (epidermis) los queratinocitos predominan un 90% y son responsables de la producción de la queratina, las células de Langerhans son componentes del sistema inmune participando en la respuesta inmunitaria contra microorganismos que invaden la piel, los melanocitos constituyen un 8% del sistema pigmentario que secretan melanina y la introducen dentro de los queratinocitos y las células de Merkel del sistema nervioso son menos numerosas y

se encuentran en contacto con las terminaciones nerviosas de las neuronas sensitivas de la capa más profunda de la epidermis (Tortora and Derrickson, 2013,pp.147-153).

## **Lípidos epidérmicos**

Las ceramidas fracción más grande de lípido de la capa córnea con un 40%, ácidos grasos libres con un 25%, el colesterol con un 25%, así como el sulfato de colesterol. Las ceramidas desde un punto de vista químico son un grupo de esfingolípidos responsables de las funciones de formación de barrera y retención del agua (Sánchez *et al.*, 2019,pp.31-34).

### *1.1.1.2. Dermis (Corion)*

Capa de tejido conjuntivo de origen mesodérmico. Es la capa de sostén de la piel, pues proporciona firmeza, resistencia y elasticidad. En esta capa se encuentran los vasos sanguíneos que nutren a la epidermis, nervios sensibles al tacto, temperatura y dolor, glándulas y folículos pilosos. Formado por 3 tipos de numerosas fibras: fibras de colágeno, fibras de elastina y reticulares. Esta capa está constituida por fibrocitos que se transforman en fibroblastos, los mismos que sintetizan sustancias precursoras de proteoglicanos, colágenos, y elastina, sustancias que forman la matriz extracelular que permite la retención eficaz de agua. Forma una frontera entre la epidermis y el tejido adiposo (Sánchez *et al.*, 2019,pp.31-34).

Constituido por 2 estratos: Estrato Papilar y Estrato Reticular.

#### **1) Estrato papilar**

Capa superior formada por tejido conectivo areolar que contiene fibras elásticas finas. Forma un frontera abrupta y ondulada con la epidermis, su estructura ondulada permite un mayor contacto con la epidermis garantizando así un suministro óptimo de nutrientes por medio de los vasos sanguíneos. Formado por tejido conectivo laxo, fibras de colágeno III y asas capilares (capilares sanguíneos). Algunas papilas dérmicas presentan receptores táctiles conocidos como corpúsculos de Meissner, terminaciones nerviosas al tacto como frío, calor, dolor, cosquilleo y comezón (Tortora and Derrickson, 2013,pp.149-153).

## **2) Estrato reticular**

Constituye la parte inferior de la dermis, compuesto por tejido conectivo denso irregular, que contiene fibroblastos, fibras gruesas de colágeno tipo I, dispuestas en grandes haces formando una red, que dan sostén y elasticidad a la piel, en donde se encuentran mastocitos, reticulocitos y macrófagos (Sánchez *et al.*, 2019,pp.31-34).

### ***1.1.1.3. Hipodermis o Tejido Subcutáneo***

Es la capa más profunda, formada por tejido adiposo y laxo, que contienen numerosas células de grasa y recubierta por una densa red de vasos sanguíneos, dentro de sus funciones se encuentra reserva energética por el almacenaje de lípidos, protección mecánica contra golpes y liberación de ácidos grasos. Esta capa está conectada con otros órganos profundos y compuesta por fibras, venas y adipocitos células encargadas de la producción y almacenamiento de grasas (Sánchez *et al.*, 2019,pp.31-34).

Los vasos sanguíneos aportan con el riego sanguíneo y vasos linfáticos que recogen las toxinas y conducen las células del sistema inmunitario. Los ligamentos cutáneos son los que permiten que la piel se mueva por encima de los órganos (Tortora and Derrickson, 2013,pp.149-153).

Los lipocitos o adipocitos son los productores de grasa cuya función es formar una especie de colchón o tejido subcutáneo que protege el organismo contra las agresiones externas y traumatismos. También protege el organismo contra el frío y proporciona consistencia a la piel, evitando que esta se hunda o se afloje (Tortora and Derrickson, 2013,pp.149-153).

### ***1.1.2. Tipos de piel***

El tipo de piel viene determinado por la emulsión epicutánea, compuesta por una mezcla de 2 sustancias no solubles entre sí, por lo tanto, se puede dividir en W / O (agua/aceite) o bien O / W (aceite/agua) (Figuroa-infante, Fonseca-santanilla and Reyes-lizcano, 2009,pp.1-12). Sobre la piel y entre las células se extiende una mezcla denominada emulsión epicutánea o manto hidrolipídico. La emulsión epicutánea es una mezcla de sebo y sudor junto con las células córneas descamadas y parte del agua que se difunde a través de la epidermis (Figuroa-infante, Fonseca-santanilla and Reyes-lizcano, 2009,pp.1-12).

#### 1.1.2.1. *Piel normal*

Es una piel con secreciones equilibradas (W=O) tanto en sudor como sebácea, por consiguiente, la piel está protegida por su capa córnea íntegra y bien hidratada. Esta piel se caracteriza por ser fresca, luminosa, hidratada y de color uniforme. Piel típica de los niños, tersa, elástica, suave, resistente y flexible (Figuroa-infante, Fonseca-santanilla and Reyes-lizcano, 2009,pp.1-12).

#### 1.1.2.2. *Piel seca (alópica y deshidratada)*

Este tipo de piel se debe a una pérdida de agua (deshidratada) o de grasa (alópica) presentes especialmente en personas con piel fina. Tiene un aspecto apergaminado (que a simple vista se ve arrugado), con irritaciones y telangiectasias (dilatación de los vasos capilares) localizadas, en zonas como nariz, las mejillas, incluso en los maxilares. Las arrugas de expresión a menudo están marcadas. Esta piel se caracteriza por ser una piel fina, poco elástica y suave.

- a) **Seca alópica:** Tiene una falta de secreción sebácea y sudoral, pero principalmente falta de grasa, de aspecto seco, opaco y reacciona mal a un exceso de sol, aire o productos agresivos.
- b) **Seca deshidratada:** Tiene una carencia de agua debido a factores internos como la edad y externos como el viento, aire. Es una piel sensible, sin brillo, mate y tiene un aspecto marchito (Figuroa-infante, Fonseca-santanilla and Reyes-lizcano, 2009,pp.1-12).

#### 1.1.2.3. *Piel grasa normal*

La secreción sudoral como sebácea son abundantes, pero muy protegidas y resistentes. Esta piel tiende a acumular mucha suciedad del ambiente, obstruyendo los poros consecuencia aparecen los barros con tendencia a infectarse, provocando la presencia constante de puntos negros. Esta piel se caracteriza por ser brillante, con poros dilatados y comedones (Figuroa-infante, Fonseca-santanilla and Reyes-lizcano, 2009,pp.1-12).

#### 1.1.2.4. *Piel grasa deshidratada*

Este tipo de piel tiene una película hidrolipídica formada de forma defectuosa, con una gran pérdida de agua debido a un cambio en la composición de sebo. Este tipo de piel se caracteriza por irritarse y descamarse con facilidad (Figuroa-infante, Fonseca-santanilla and Reyes-lizcano, 2009,pp.1-12).

#### 1.1.2.5. *Piel grasa asfíctica u ocluida*

En este tipo de la piel la película hidrolipídica no está bien definida. Existe una modificación en la secreción sebácea, se vuelve dura y no permite la salida al exterior de toxinas. La piel se irrita y se descama (Figueroa-infante, Fonseca-santanilla and Reyes-lizcano, 2009,pp.1-12).

#### 1.1.2.6. *Piel sensible*

Es una condición cutánea de hiperreactividad a factores ambientales y productos de aplicación tópica (Taberner, Segura Rodríguez and Guerra Tapia, 2011,pp.1-10).

### 1.2. **Dermatitis Atópica**

La dermatitis atópica (DA) es una enfermedad inflamatoria crónica multifactorial de la piel, caracterizada por una alteración de los lípidos del estrato córneo como resultado tenemos el deterioro de su función de barrera, pues presenta una disminución de las defensas locales ( $\beta$ -defensinas), y una elevada pérdida de agua dando lugar a una piel seca, permitiendo que los agentes irritantes sean más activos originando un crecimiento excesivo de *Staphylococcus aureus* (Boothe, Tarbox and Tarbox, 2017,pp.21-25).

En pacientes que presentan piel con DA existe un alto riesgo de infecciones cutáneas víricas y bacterianas por un aumento de colonización de *Staphylococcus aureus* y carencia de péptidos antimicrobianos protectores (Sendagorta Cudós and Laguna, 2009,pp.49-51).

#### 1.2.1. *Epidemiología*

La dermatitis es una enfermedad que afecta en un 10 a 20% a la población infantil y cerca de 3 a 8 % a la población adulta en Europa occidental y Estados Unidos sobre todo en países desarrollados, un 3,4% en niños mexicanos, mientras que en países en vía de desarrollo existe una prevalencia baja, aunque si emigran a países desarrollados la prevalencia será igual a los autóctonos pues factores externos e internos se ven involucrados (Torres *et al.*, 2019,pp.2-8).

Durante los últimos años se incrementado su prevalencia, especialmente en países de bajos ingresos. Según el International Study of Asthma and Allergies in Childhood (ISAAC), la prevalencia de DA es diferente entre países y regiones geográficas ver en la tabla 1-1 (Leyva-Montero *et al.*, 2020,pp.1-24).

Un estudio ejecutado en Quito, Ecuador sobre dermatitis atópica realizado por “ISAAC II” (International Study of Allergy, and Asthma in Childhood) reveló que Quito es una ciudad con alta prevalencia de DA tanto entre casos infantiles con 27%, como en los adolescentes con 7%,

que conjuntamente con los factores ambientales, factores de influencia epigenética, alimentación, alteraciones de la barrera epitelial pueden cooperar para una alta prevalencia de DA en Ecuador (Lascano *et al.*, 2011,pp.1-13). A continuación, en la Tabla 1-1 según ISAAC III se muestra los diez países mas afectados por la DA.

**Tabla 1-1:** Países con mayor prevalencia de síntomas de eccema proporcionando por el centro de bases de ISAAC.

PAÍS	PREVALENCIA (%)
<b>Ecuador</b>	22.5
<b>Suecia</b>	22.3
<b>Nicaragua</b>	20.0
<b>Cuba</b>	18.2
<b>Australia</b>	17.1
<b>Reino Unido</b>	16.0
<b>Honduras</b>	15.9
<b>Nueva Zelanda</b>	15.0
<b>Panamá</b>	14.4
<b>Colombia</b>	14.3

Fuente: (Lascano *et al.*, 2011,pp.1-13).

### 1.2.2. Etiopatogenia

La causa de la dermatitis atópica es desconocida, pero se sabe que existe una serie de factores que influyen en su aparición (Guerra y González 2011,pp.3-9.). Los brotes de dermatitis atópica pueden estar desencadenados por varios factores como genéticos, irritantes, infecciones, factores psicológicos, trastornos del sistema inmune que incluyen disfunción de la IgE, disfunción epidérmica por cambios en los lípidos, microbiota, factores ambientales, y alérgenos (Boothe, Tarbox and Tarbox, 2017,pp.21-33).

#### 1.2.2.1. Factores genéticos

Los defectos en las filagrina (FLG), transglutaminasas, queratinas y proteínas intercelulares son proteínas responsables del mantenimiento de la función de barrera epidérmica, si esta función llega a alterar provoca una pérdida de agua por la piel, y al volverse más seca, favorece la penetración microbiana y de alérgenos en la piel (Leyva-Montero *et al.*, 2020,pp.9-23).

La filagrina es la principal proteína estructural del estrato córneo, encargada de la compactación de los filamentos intermedios de queratina, su gen se localiza en el cromosoma 1q<sub>21</sub> y 1q<sub>23</sub> los pacientes con dermatitis presentan mutaciones en estos genes disminuyendo la expresión de la FLG y, por lo tanto, existe una escasez de gránulos de queratohialina provocando una alteración

en la barrera cutánea con consecuente disrupción del estrato córneo facilitando la penetración microbiana, irritantes y alergénicos. Aproximadamente un 80% de pacientes presenta una herencia poligénica, que presenta mutación en un grupo de genes localizados en el cromosoma 1q<sub>21</sub>, 17q<sub>25</sub>, 20p, 16q y 5q<sub>31</sub> presentes en pacientes con psoriasis, cuyos genes están relacionados con inflamación cutáneas, estos genes codifican la producción de interleucinas, IL-4 produce IgE específica frente a alergénicos, IL-5 que recluta eosinófilos al foco de inflamación dérmica y IL-13. Las mutaciones homocigóticas de FLG incrementan el riesgo de DA de inicio precoz con mayor persistencia e infecciones en la piel (Leyva-Montero *et al.*, 2020,pp.9-23) (Sánchez *et al.*, 2019,pp.31-34).

#### 1.2.2.2. Trastornos del sistema inmune

Los queratinocitos y células epiteliales poseen receptores Tipo Toll ó Toll-Like (TLR) que tienen la capacidad de reconocer agentes microbianos y activan mecanismos de la inmunidad como la producción de péptidos antimicrobianos (PAM) y defensinas ( $\beta$ -defensinas), estos mecanismos poseen amplio espectro de actividad contra patógenos *Staphylococcus aureus*, virus Vaccinia, virus del Herpes Simple, Poxvirus y Malassezia. Los PAM reúnen células de sistema inmune que ayudan en la recuperación de la función de barrera por lo que cualquier alteración en los receptores TLR disminuye la efectividad del sistema inmune y es susceptible a las infecciones (Sánchez *et al.*, 2019,pp.31-34).

El rascado produce prurito y daño mecánico lo que induce a la producción de citocinas proinflamatorias (IL-1, IL-18, TNF-, GM-CSF) que reúnen a los leucocitos en la piel, los linfocitos sufren una diferenciación a la vía TH2, inducidos por células dendríticas, estas células dendríticas presentan una capacidad aumentada para la presentación de antígenos y se unen a la Inmunoglobulina E (IgE), formando el complejo IgE-antígeno. Los complejos IgE-antígeno inducirán asimismo la agregación y activación de los mastocitos. Las células TH2 activadas liberan Interleucinas (IL-4 e IL-13), que suprimen la producción de péptidos antimicrobianos ( $\beta$ -defensinas 2 y 3). Bacterias, virus, y hongos se aprovechan de esta disminución, colonizando la piel y liberando productos proinflamatorios (superantígenos, proteoglicanos y ácido lipoteicoico) que amplifican la activación leucocitaria. Con esta activación se incrementa la liberación de mediadores inflamatorios, como la IL-31 y las proteasas, estas proteasas son enzimas proteolíticas del estrato córneo de la epidermis. Los pacientes con dermatitis atópica presentan mutaciones en este gen ocasionando que exista un incremento de la actividad proteolítica, lo que conduce a la fragmentación de córneodesmosomas (uniones entre los córneoцитos) potenciando la descamación de la piel dañando la barrera epitelial y la IL-31 que perpetúa el prurito (Conde-Taboada, González-Barcala and Toribio, 2008,pp.690-697).

#### *1.2.2.3. Factores irritantes*

Los irritantes incluyen productos químicos, fragancias, jabones, tabaco, alimentos y temperaturas que al evitarlos pueden disminuir la gravedad de la enfermedad. Pacientes con dermatitis atópica no toleran la ropa de lana, fibras sintéticas o de tacto áspero, la necesidad de aclarar bien la ropa, evitar la sudación excesiva, etc. Lo que mejor se tolera es la seda y el algodón. En el caso de prendas de algodón al ser tratadas con formaldehído, debe lavarse las prendas nuevas por lo menos 4 veces, pues si solo tiene un lavado, el contenido de formaldehído suele provocar reacciones de intolerancia (Sendagorta Cudós and Laguna, 2009, pp.49-51).

#### *1.2.2.4. Factores alérgenos*

Los alérgenos alimenticios puede ser un factor patogénico importante, dentro de más comunes se encuentran: los huevos, soja, leche de vaca, maní, trigo, frutos secos, pecado son factores predisponentes para el desarrollo de la DA (Sendagorta Cudós and Laguna, 2009, pp.49-51). Existe un aumento de los niveles séricos de IgE frente alérgenos ambientales y alimentarios por lo que es necesario realizar pruebas prick (son pruebas que se realizan sobre la piel para identificar la sustancia que desencadena una reacción alérgica en el paciente) (Baselga, 2003, pp.345-346). En estudios se ha demostrado que las medidas de evitación de ácaros como el uso de cubrecolchones, aplicación de un aerosol acaricida y el aspirado de la habitación con una aspiradora de alta filtración prevenía el desarrollo de asma, aunque no contribuyan al manejo de la dermatitis atópica son recomendables (Baselga, 2003, pp.345-346).

#### *1.2.2.5. Factores medioambientales*

Existen factores ambientales que pueden desencadenar esta enfermedad ocasionando brotes o agravando el problema. Afectan la humidificación del estrato córneo en climas fríos y secos en cambio se ve favorecido en clima templado y húmedo (Sendagorta Cudós and Laguna, 2009, pp.49-51).

#### *1.2.2.6. Factores psicológicos*

El estrés emocional puede desencadenar picor y rascado en pacientes atópicos.

### **1.2.3. Manifestaciones clínicas**

Prurito presente en todos los pacientes con dermatitis uno de los principales problemas que provoca el rascado ocasionando irritación en la piel y aumentando el riesgo de sobreinfección. El picor es persistente en la noche y dificulta el sueño de los pacientes. La sequedad cutánea se produce como consecuencia en la alteración de la barrera epidérmica por la alteración en la composición de los lípidos además de la presencia costras y escamas la cual la piel aparece enrojecida e hinchada que posteriormente se desarrolla pequeñas vesículas contenido de líquido que al romperse deja fluir un líquido pegajoso que al secarse forma las costras (Sánchez *et al.*, 2019,pp.31-34).

Las manifestaciones características de la Dermatitis atópica son: lesiones eritematosas, erupciones pruriginosas, prurito, escoriaciones, piel con costras, formación de pústulas, hipersensibilidad de la piel, piel seca y elevación de la IgE (Sánchez *et al.*, 2019,pp.31-34).

### **1.2.4. Tratamientos farmacológicos**

No existen ningún tratamiento curativo, pero se emplea un tratamiento para reducir los síntomas y controlar la enfermedad.

#### **1.2.4.1. Antisépticos y desinfectantes**

Son sustancias que inhiben o destruyen el crecimiento de microorganismos, el fármaco más empleado en dermatitis atópica son la clorhexidina y povidona yodada.

#### **1.2.4.2. Antihistamínicos de usos sistémico**

Utilizado para calmar el picor, el proceso de desgranulación de los mastocitos produce liberación de histaminas e IL-13, responsables del enrojecimiento, inflamación y picor. Los medicamentos antihistamínicos empleados en pacientes atópicos resultan eficaces para reducir o eliminar el prurito y demás síntomas provocados por la histamina como Dexclorfeniramina, Levocetirizina, Loratadina, etc.

#### **1.2.4.3. Ansiolíticos Derivados de Difenilmetano**

El más utilizado es la Hidroxizina, con actividad antihistamínica.

#### 1.2.4.4. *Corticoides tópicos*

Primera línea de tratamiento antiinflamatorio es altamente eficaz para el control de los brotes, sobre todo si se utiliza una potencia adecuada. Tienen acción antiproliferativa, antiinflamatoria, vasoconstrictora e inmunopresora. Los más empleados son propionato de fluticasona al 0.05% y la hidrocortisona 1% a nivel hospitalario.

#### 1.2.4.5. *Inmunomoduladores tópicos*

El tacrolimus y el pimecrolimus dos fármacos de aplicación tópica con acción inmunomoduladora.

#### 1.2.4.6. *Inhibidores de la fosfodiesterasa*

Los leucocitos tienen una actividad elevada de fosfodiesterasa de la adenosinmonofosfato produciendo niveles elevados de mediadores inflamación por lo que se requiere revertir esta acción con la aplicación tópica de cipamfilina y el CP800633 (Inhibidores exógenos de la fosfodiesterasa-4 (FDE4)) (Baselga, 2003, pp.346-351) (Sala-Cunill *et al.*, 2014, pp.1-19).

#### 1.2.4.7. *Emolientes e hidratantes*

Sustancias hidratantes aquellas que aumentan el contenido de agua en el estrato córneo y los emolientes son aquellas que hacen menos ásperas y más flexibles ayudando a mejorar el aspecto de la piel, reduciendo el prurito y facilita la reepitelización de la piel (Sendagorta Cudós and Laguna, 2009, pp.51-65).

### **1.3. Terapias o Tratamientos naturales (Tratamiento fitoterapéutico)**

Terapia natural es un conjunto de prácticas destinadas a conseguir efectos terapéuticos preventivos mediante técnicas naturales ayudando a estabilizar y mejorar el sistema fisiológico e inmune previniendo enfermedades con el fin de mantener y promover la salud.

Hoy en día no existe un tratamiento curativo para la Dermatitis atópica dependerá del grado de gravedad de la patología, pero los más empleados están los tópicos y sistémicos sin embargo los dermatólogos recomiendan el uso de terapias naturales utilizadas como una alternativa en la terapia clínica o también como coadyuvante, evitando así posibles efectos secundarios (Montesinos, 2019, pp.6-11).

### **1.3.1. Importancia de tratamientos naturales**

Es un desafío global la búsqueda de alternativas naturales frente a los antibióticos de tal forma que ayuden a reducir la toxicidad, alergias, resistencias, entre otras. Desde tiempos remotos la población rural utilizaba la medicina tradicional para la curación de varias dolencias, como es la utilización de plantas con fines medicinales por medio de infusiones o decocciones que consisten en una mezcla de varias cortezas, raíces, hojas constituyendo un componente indispensable para la terapia medicinal debido al bajo costo y fácil acceso.

Las plantas han sido utilizadas en las industrias farmacéuticas, cosméticas con aplicación terapéutica en el organismo, por sus diversas propiedades como antiinflamatorias, antioxidantes, antifúngico, cicatrizantes, etc. Por sus propiedades son empleadas como medicina natural en el tratamiento de diversas patologías, convirtiéndose en una excelente alternativa en el tratamiento además de no provocar efectos adversos.

### **1.3.2. Óleos naturales con acción en DA**

La mayor parte de aceites naturales tiene actividad emoliente, propiedades oclusivas y humectantes entre ellos está el aceite de coco, oliva, almendras, aguacate, maíz, soja, nuez, aceites vegetales esenciales para el cuidado de la piel. Todos los aceites naturales tienen glicerina un excelente humectante (Verallo-Rowell, Katalbas and Pangasinan, 2016,pp.2-11).

### **1.3.3. Cosmética natural libre de parabenos**

Los parabenos son agentes antimicrobianos empleados como conservantes en productos cosméticos y farmacéuticos los más comunes están: metilparabeno (MP), propilparabeno (PP), etilparabeno (EP) butilparabeno (BP) y bencilparabeno (BenzyIP). Se ha demostrado que los parabenos afectan el sistema endocrino, poseen un alto potencial estrogénico, muestran actividad antiandrogénica inhibiendo la testosterona por lo que la Unión Europea autorizó su uso en cantidades limitadas en productos cosméticos, motivo por el cual en el mercado existe una creciente cantidad de productos “libre de parabenos”, sobre todo en productos destinados al cuidado de los niños, por lo tanto a la hora de elegir una emulsión hay que tener en cuenta su composición, que conservante contiene, fragancias empleadas, debido a que estos componentes pueden agravar la dermatitis, puesto que si un paciente utiliza una emulsión que contiene Lauril Sulfato Sódico(LSS) agravaría su patología, ya que este componente provoca irritación en la piel (Montesinos, 2019,pp.7-15). Los parabenos pueden ingresar al cuerpo humano por medio de la

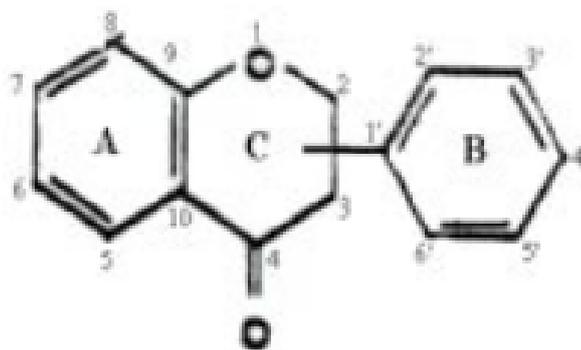
absorción transdérmica de la piel mientras aumenta la longitud de la cadena alquílica del parabeno disminuye la permeabilidad de la piel. Los parabenos pueden acumular en el cuerpo humano tras la aplicación diaria de varios productos que contienen este compuesto químico afectando la capacidad reproducción masculina y femenina (Kolatorova *et al.*, 2017,pp.2-11) .

### 1.3.4. Componentes naturales empleados en tratamiento Fito terapéuticos

#### 1.3.4.1. Componentes grasos

Las plantas de las que se extraen aceites ricos en ácidos grasos como el linoleico y el ácido oleico, muy empleados en las industrias cosméticas, en la elaboración de productos emolientes que nutren e hidratan la piel. Los ácidos grasos poliinsaturados (PUFA) poseen propiedades funcionales que se usan como nutracéuticos y cosmeceúticos, proporcionan una estructura, elasticidad y son vitales para la síntesis de lípidos del estrato córneo. Se dividen en dos familias omega-3 ( $\omega$ -3) y omega-6 ( $\omega$ -6) son empleados hoy en día en la terapéutica de varias enfermedades inflamatorias crónicas, especialmente el omega-3 ( $\omega$ -3) de gran importancia en la prevención como en el tratamiento de enfermedades inflamatorias crónicas comunes ya que puede restaurar el deterioro de la barrera y reducir la producción de mediadores proinflamatorios. La combinación de omega-6 ( $\omega$ -6), el ácido gamma-linolénico (GLA) y la suplementación de  $\omega$ -3 presenta un potencial en la disminución de procesos inflamatorios, siendo un componente beneficioso en enfermedades inflamatorias de la piel, como dermatitis atópica, acné, y psoriasis (Balić *et al.*, 2020,pp.2-25)(Leyva-Montero *et al.*, 2020,pp.9-23)(Krishna, Koci and Guix, 2013,pp.2-52).

#### 1.3.4.2. Flavonoides



**Figura 4-1:** Estructura química del esqueleto flavonólico.

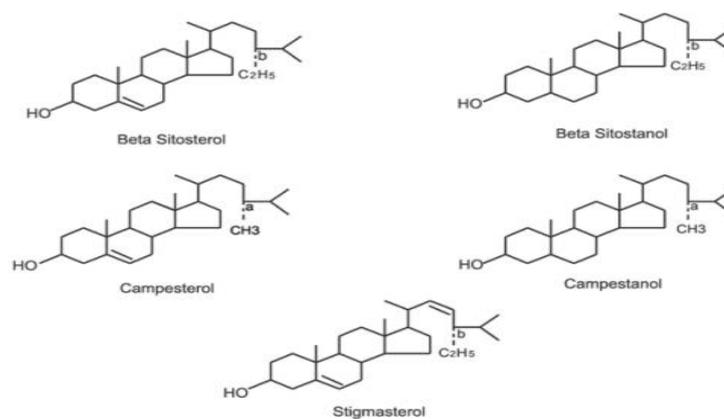
Fuente: (Cartaya and Reynaldo, 2001,pp.5-11).

Grupo amplio de compuestos polifenólicos presentes en el reino vegetal, caracterizado por una estructura benzo- $\gamma$ -pirano (figura 5-1) actúan como agentes protectores contra la luz UV, contra

la infección de microorganismos, además tiene una actividad antioxidante debido a su estructura química ideal para secuestrar radicales libres. Diversas enfermedades inflamatorias han sido tratadas con flavonoides es el caso de la parodontosis en la que se evidencia inflamación y destrucción del tejido conectivo, que normalmente son tratados con corticoides para disminuir el dolor, pero frecuentemente genera efectos adversos como sangramientos por lo tanto los flavonoides van a inhibir la síntesis de prostaglandinas y la estimulación de lisina y la prolina, dos sustancias que intervienen en la síntesis de colágeno, favoreciendo la formación de precursores de enlaces de fibrillas, fortificando el tejido conectivo. Los flavonoides de igual forma presentan acción antialérgica por cierta analogía con la estructura del fármaco antialérgico (cromoglicato), también presenta acción antimicrobiana no obstante, algunas flavanonas de cítricos tiene actividad frente al *Staphylococcus aureus*, *Bacillus typhosus* y *Escherichia coli* (Cartaya and Reynaldo, 2001, pp.5-11).

En la industria cosmética es muy empleado por su capacidad de disminuir la hiperpigmentación de la piel provocada durante el embarazo, exposición al sol y durante la vejez.

#### 1.3.4.3. Fitoesteroles en el tratamiento de la dermatitis atópica



**Figura 3-1:** Estructura de esteroides vegetales.

**Fuente:** (Bonilla, 2019, pp.20-22).

Los Fitoesteroles son compuestos naturales que han demostrado que poseen una actividad antiinflamatoria interviene en la modulación de la transcripción de genes inflamatorios, liberación de mediadores inflamatorios por lo tanto son considerados como una alternativa en la terapia de enfermedades de la piel. Un fitoesterol que se encuentra en las plantas medicinales, aceites vegetales, semillas, cereales, legumbres y frutos secos es el estigmasterol (figura 6-1) es un

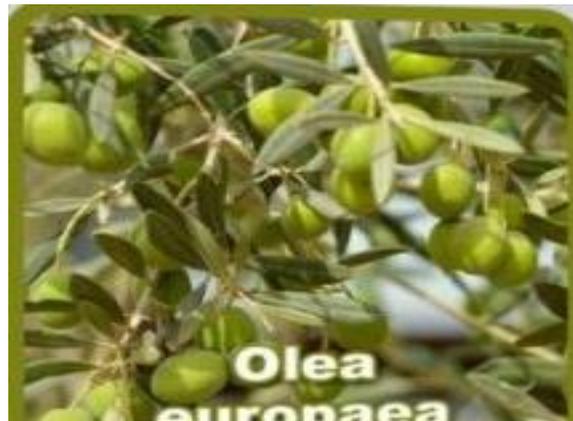
alcohol esteroide, caracterizado por su sistema inmunomodulador, demostró su efecto inhibidor en el reclutamiento de células inflamatorias y en el estrés oxidativo producido por alérgenos reduciendo el prurito (Antwi *et al.*, 2018, pp.2-13).

Dentro de las variadas propiedades de los fitoesteroles tenemos la capacidad antioxidante que van a prevenir o detectar una cadena oxidativa, estabiliza el radical donde evita el daño oxidativo.

Otro fitoesterol de estudio común es el B-sitosterol seguido del campesterol y el estigmasterol (figura 7-1) que poseen propiedades anticancerígenas, antiinflamatorias, antibacterianas y antioxidantes. Los esteroides vegetales pueden encontrarse en forma libre pero también aparecen como compuestos conjugados en donde el grupo  $3\beta$ -OH del esteroide está esterificado por ácidos grasos dando como resultado al ferulato considerado como un fuerte compuesto antioxidante (Bonilla, 2019, pp. 23-26).

#### **1.4. Aceites que forman la fase oleosa**

##### **1.4.1. *Olea europaea***



**Figura 4-1.** Fruto y hojas de *Olea europaea*.

**Fuente:** (Cutipa, 2013, pp.2-11).

#### 1.4.1.1. Clasificación científica

**Tabla 2-1:** Descripción Botánica de *Olea europaea*.

<b>Reino:</b> <i>Plantae</i>	<b>Sub reino:</b> <i>Cormobionta</i>
<b>Clase:</b> <i>Magnoliophyta(Dicotyledoneae)</i>	<b>Sub clase:</b> <i>Lamiidae</i>
<b>Familia:</b> <i>Oleaceae</i>	<b>División:</b> <i>Spermatophyta</i>
<b>Sub división:</b> <i>Magnoliophytina (Angiosperma)</i>	<b>Orden:</b> <i>Lamiales</i>
<b>Género:</b> <i>Olea</i>	<b>Especie:</b> <i>Olea europaea</i>
<b>Nombre vulgar</b>	<i>Olivo, olivera, aceituno</i>

Fuente: (Cutipa, 2013,pp.2-11).

#### 1.4.1.2. Características botánicas

*Olea europaea* árbol endémico de Europa, característico por sus aceitunas y la calidad del aceite que se obtiene, puede sobrevivir más de 1.500 años. Árbol de tronco robusto, grueso e irregular, sus hojas perennes, de color verde gris en su haz y plateada en su envés. Sus flores de color blanco, florece en forma de racimo con un olor agradable, por lo general florecen en primavera. Los frutos, las aceitunas, pueden ser redondeados u ovalados, grandes o pequeños primero verdes y después en tonos oscuros (Infojardin, 2015,pp.1-15).

#### 1.4.1.3. Uso medicinal

Se emplea como antihipertensivo por su efecto vasodilatador. Implica una reducción de enfermedades cardiovasculares, artritis reumatoide, y en menor cantidad una variedad de cánceres. Es utilizado en ungüentos junto con otras hierbas como el azafrán para hidratar la piel y evitar las arrugas. Además, tiene una ligera actividad antipirética, hipoglucemiante y antiséptica. El aceite de oliva se usaba en cuidados dermocapilares, mantenía un cabello sano, reducir la caspa, las canas. Se realizó la primera crema hidratante mezclando aceite de oliva con agua y cera de abeja produciendo una elasticidad a la piel. El uso directo del aceite de oliva sobre la piel es uno de los mejores hidratante y emolientes (Carrillo, 2009,pp.2-17).

#### 1.4.1.4. Composición y principios activos

La *Olea europaea* "Aceituna Negra" posee 0,1 gramos de fibra soluble y 2,1 gramos de fibra insoluble por cada 100 gramos de fruta. Contiene de 17 a 30% de ácidos grasos de los cuales el 77% son ácidos grasos monoinsaturados (ácido oleico), 14% de saturados y 8% de

poliinsaturados; además de poseer agentes antioxidantes como vitamina E, provitamina A y otra cantidad abundante de compuestos fenólicos (ácidos fenólicos y flavonoides de carácter antioxidante) (Terrones *et al.*, 2015,pp.55-59). Además, presenta compuestos como el  $\beta$ -estradiol que interviene en procesos inflamatorios, fitoesteroles (sitosterol), escualeno, terpenoides, etc. (Carrillo, 2009,pp.2-17).

#### 1.4.2. *Butyrospermum parkii* (Manteca de karité)



**Figura 5-1:** Fruto de *Butyrospermum parkii* y Manteca de karité

Fuente: (Cutipa, 2013,pp.4-25).

##### 1.4.2.1. Clasificación científica

**Tabla 3-1:** Descripción botánica de *Butyrospermum parkii*.

<b>Reino:</b> <i>Plantae</i>	<b>Clase:</b> <i>Magnoliopsida</i>
<b>Familia:</b> <i>Sapotaceae</i>	<b>División:</b> <i>Magnoliophyta</i>
<b>Sub división:</b> <i>Magnoliophytina (Angiosperma)</i>	<b>Orden:</b> <i>Ericales</i>
<b>Género:</b> <i>Vitellaria</i>	<b>Especie:</b> <i>V. paradoxa</i>
<b>Nombre vulgar:</b>	<i>Karité</i>

Fuente: (Makerere University Institute of Environment and Natural Resources, 2010,pp.2-12).

##### 1.4.2.2. Características botánicas

La manteca de Karité en su forma sólida es una pasta suave lechosa y de color marrón cuando se derrite (Adamu, 2020,pp.1-9).

*Butyrospermum parkii* es un árbol endémico de la sabana de África occidental, crece de manera espontánea a una altura de 15m, con ramas abundantes y una corteza gruesa y cerosa. La etapa de florecimiento esta entre los meses de enero y abril y produce frutos a los 20 años en junio para agosto, alcanzando su producción de frutos secos hasta los 200 año. Sus frutos tienen aspecto de

ciruela por lo general de color verde oscuro cuando están maduros, el mesocarpio es comestible y de la semilla se extrae la manteca de karité (Adamu, 2020,pp.1-9).

#### 1.4.2.3. *Uso medicinal*

*Butyruspermum parkii* es una planta medicinalmente importante utilizada para diversos fines en el tratamiento de enfermedades infecciosas y no infecciosas. También se ha utilizado en la fabricación de jabón, para productos cosméticos, y medicina natural.

Por su propiedad inflamatoria se utiliza con ungüentos para tratar enfermedades como protección de la piel frente a la intemperie y el sol, manchas, irritaciones, quemaduras, úlceras, labios agrietados, eritemas, decoloración de la piel, por su elevado contenido de materia insaponificable y por su propiedad hidratante es utilizado para el tratamiento de la sinusitis debido a que ayuda a relajar la tensión en la piel, facilitando la respiración (Adamu, 2020). Además, es un excelente agente curativo y eficaz contra quemaduras y cicatrices debido a sus vitaminas A,D,E y F (PromoFarma, 2018,pp.1-10).

#### 1.4.2.4. *Composición y principios activos*

Estas semillas presentan un alto contenido en ácidos grasos como el ácido esteárico (28-45%), ácido oleico (42-59%) y en menor contenido ácido linoleico (3-9%), triglicéridos (Trioleina, linoleina), fitosterol y una cantidad de materia insaponificable que varía entre 2.5% a 15% constituido por alcoholes triterpénicos (24-metilelanost-9 (11)-en-3B-ol (9), dammaradienol y 24-metilenedammarenol), hidrocarburos insaturados (fuerte porción de kariteno) y fitoesteróles como  $\alpha$ -spinasterol, Stigmasterol, además se han identificado como componentes mayoritarios el lupeol, brasseol,  $\alpha$  y  $\beta$ -amyrina y parkeol que estimula el proceso de renovación natural de la piel (Adamu, 2020,pp.1-9)(Ruiz Méndez y Huesa, 1991,pp.151-154).

#### 1.4.3. *Cucurbita ficifolia (Sambo)*



**Figura 6-1:** Fruto, semillas y flor de *Cucurbita ficifolia*

Fuente: (Bonilla, 2019,pp.345-349).

#### 1.4.3.1. Clasificación científica

**Tabla 4-1: Descripción botánica de *Cucurbita ficifolia*.**

<b>Reino:</b> <i>Plantae</i>	<b>Clase:</b> <i>Magnoliopsida</i>
<b>Familia:</b> <i>Cucurbitácea</i>	<b>División:</b> <i>Magnoliophyta</i>
<b>Sub división:</b> <i>Magnoliophytina (Angiosperma)</i>	<b>Orden:</b> <i>Cucurbitales</i>
<b>Género:</b> <i>Cucurbita</i>	<b>Especie:</b> <i>Ficifolia Bouché</i>
<b>Nombre vulgar:</b>	<i>Sambo, Calabaza blanca, Lacayo</i>

**Fuente:**(Andrés 2006,pp.5-37) (Bonilla, 2019,pp.5-11).

**Realizado por:** Vargas, Johanna.,2019.

#### 1.4.3.2. Características botánicas

*Cucurbita ficifolia* su origen no es conocido, pero se cree que se remonta en el continente asiático, no obstante, según un acuerdo en el siglo XX esta especie es de origen americano, pero todavía hay controversia en su origen y domesticación. Es una planta perteneciente a las enredaderas, de rápido crecimiento, presenta tallos grueso y largos cubierto de vellosidades suaves semejante a las espinas, sus hojas son grandes cuyas superficies cubiertas de pelo. Las flores pueden ser masculinas o femeninas, sin embargo, ambos tipos de flores se hallan en la misma planta las mismas que son polinizadas por insectos y autofecundadas. El fruto es globular de color blanco a verde claro con franjas o manchas blancas en la superficie. Cada planta puede producir alrededor de 50 frutos. Su pulpa siempre de color blanca. Sus semillas son ovaladas, planas con tamaños de 15 a 12 mm de color negro oscuro o negro pardusco. *Cucurbita ficifolia* es resistente a bajas temperaturas, pero sensible a las heladas, para el desarrollo de la planta requieren suelos húmedos y arenosos. (Bressani, 2015,pp.14-31) (Bonilla, 2019,pp.5-11).

#### 1.4.3.3. Uso medicinal

El fruto presenta un efecto hipoglucémico por lo que utiliza para tratar algunas enfermedades como diabetes mellitus tipo 2. Las semillas se utilizan como desparasitantes. El jugo liofilizado del fruto disminuye los niveles de glucosa sanguínea (Bressani, 2015,pp.14-31). *Cucurbita ficifolia* presenta varias propiedades benéficas para la salud por su alto contenido en carotenoides es útil

frente algún tipo de cáncer y frente a la arteriosclerosis cabe recalcar que en el organismo ayudan a generar una gran cantidad de anticuerpos, que van a actuar contra sustancias extrañas que generan daño. De igual forma la presencia de carotenoides y flavonoides ejercen una función antioxidante evitando la producción de radicales libres, que si llegaran a acumularse conllevaría a la muerte celular rápida.

#### *1.4.3.4. Composición y principios activos*

Un estudio compara y analiza la composición química de la pulpa de 11 especies de *Cucurbita spp* demostrando que contiene compuestos bioactivos como carotenoides (sustancias antioxidantes que captan radicales libre convirtiéndolo en inocuos, evitando la oxidación), polifenoles tenemos a los flavonoides (flavonoles y ácidos fenólicos, compuestos encargados de reducir y eliminar la producción de radicales libres protegiendo las membranas celulares por su actividad antioxidante), tocoferoles, minerales (K, Ca, Mg, Na, Fe, Zn, Cu, Mn), vitaminas ( C, B1, folatos) (Bartosz Kulczyński, 2019,pp.345-349). Se han encontrado fitoesteroles el más abundante el  $\beta$ -sitosterol, seguido por el campesterol y el estigmasterol que al esterificarse con ácidos grasos dan lugar al ferulato, fuente de antioxidantes semejante a la vitamina E y C. El mayor valor nutricional se encuentra en las semillas, aportan un alto contenido de aceite ya que es rico en ácidos grasos (ácido oleico y linoleico), proteínas, lípidos y minerales (potasio y magnesio.) (Bressani, 2015,pp.14-31)(Bonilla, 2019,pp.5-11) .

### **1.5. Técnicas de extracción de aceites**

#### *1.5.1. Extracción con solventes*

Método que consiste en separar la grasa de una materia vegetal mediante solventes generalmente conocida como extracción sólido-líquido o lixiviación. La muestra seca se pone en contacto con el disolvente orgánico para su separación, estos disolventes solubilizan la esencia y extraen otras sustancias como grasas y ceras obteniendo un extracto impuro. Existe varios solventes autorizados en este método, pero el más utilizado es el n-hexano, caracterizado por ser muy selectivo en la extracción en grasas, no solubiliza proteínas ni azúcares, no obstante, algunos disolventes presentan restricciones en cuanto a los residuos que pueden dejarse en los aceites esenciales cuando son materia prima en industrias alimentarias y cosméticas (Oviedo Z and Orochena J, 2011,pp.21-32).

La extracción por solventes es ventajosa en el tratamiento de semillas con un contenido bajo en aceite. Las semillas deben ser trituradas con la finalidad de abrir sus paredes y dejar salir el aceite,

este se vuelve miscible al estar en contacto con el solvente, motivo por el cual no se debe dejar el disolvente en contacto con el material hasta la completa extracción, debe ser reemplazado con un disolvente fresco. El aceite obtenido por este método debe ser refinado. La extracción con solventes presenta sus desventajas debido que además de requerir periodos de tiempos largos, los aceites esenciales obtenido contiene trazas de los disolventes utilizados por lo que se limita su uso en la industria cosmética, alimentos y farmacéutica.

### ***1.5.2. Centrifugación***

Es un método continuo o semi-continuo que consiste en separar sólido de líquido o líquidos inmiscibles entre sí, a través de la acción de fuerzas de centrifugas que se genera durante la rotación del material.

La distinta densidad de la partícula permite determinar la velocidad de la fuerza de centrifuga para realizar la separación. Este método tiene una desventaja que es la baja calidad del aceite debido a que durante el proceso genera aireación lo que conduce a la oxidación o pérdida de componentes volátiles aromáticos.

### ***1.5.3. Extracción por prensado en frio***

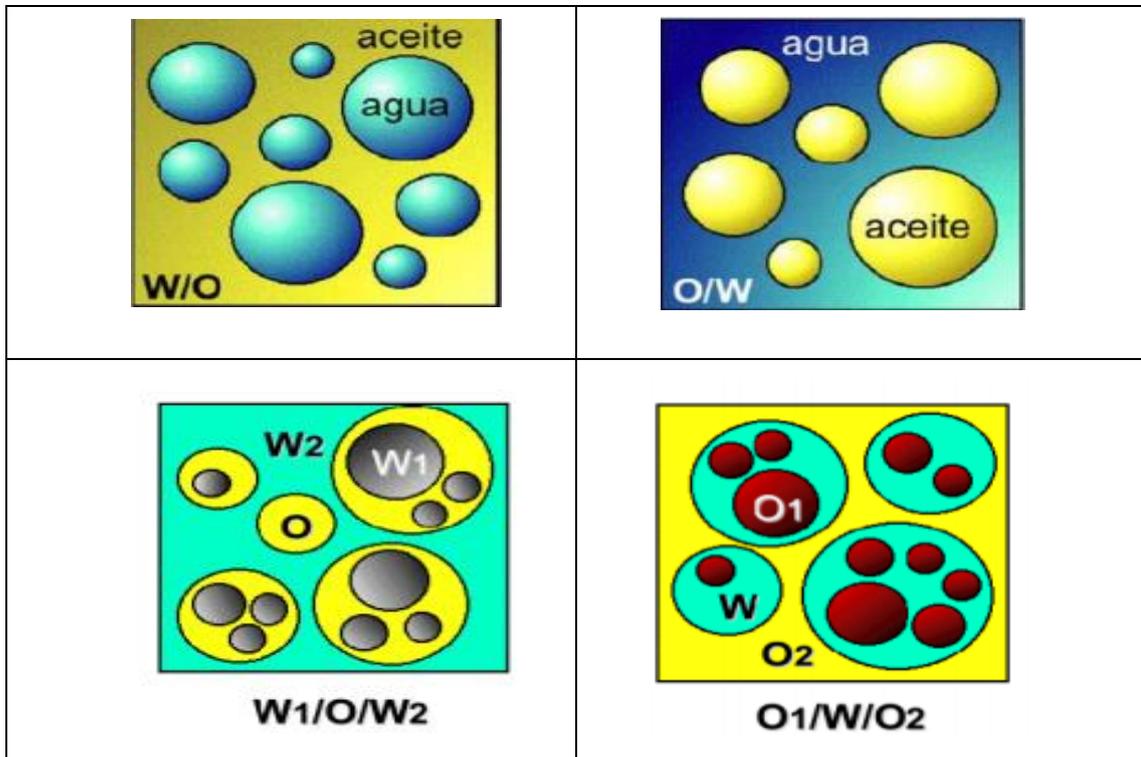
Desde tiempos antiguos el prensado ha sido el método más empleado en la extracción de aceites vegetales. El material vegetal una vez limpio es sometido a presión, por medio de molinos con la incorporación de una prensa de tornillo. El objetivo de este método es destruir las estructuras vegetales de la semilla para que libere el aceite y se separen de la masa (Hayqui, 2016,pp.31-39).

### ***1.5.4. Extracción con fluidos supercríticos***

Emplean fluidos supercríticos en condiciones encima de su temperatura y presión crítica obtenido extracto libre de disolventes, además que la extracción es más rápida que con solventes convencionales.

## 1.6. Emulsión

### 1.6.1. Tipos de emulsión

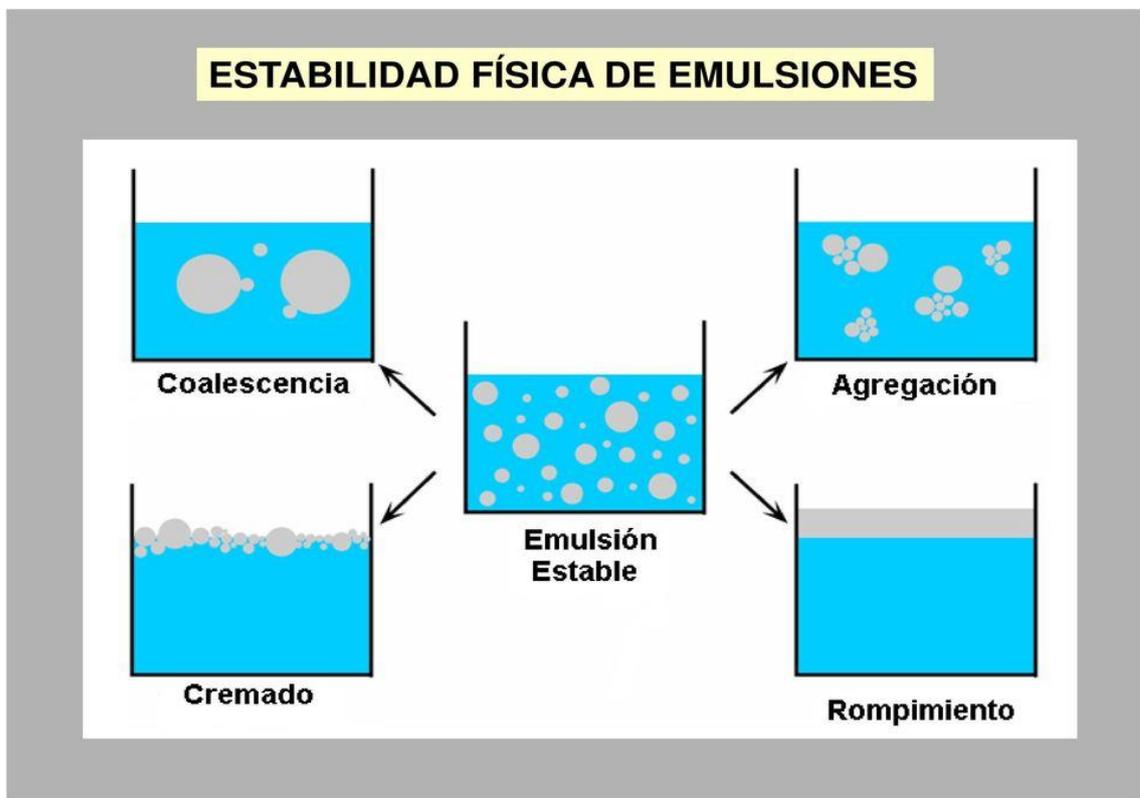


**Figura 7-1:** Tipos de emulsiones.

Fuente: (Villareal, 2019,pp.16-22).

- 1) **Emulsión W/O:** En donde la fase dispersa está constituida por gotas de agua (W) y la continua por el aceite (O), este tipo de emulsiones presentan características cosméticas más agradables debido a que proporcionan mayor emoliencia (Montesinos, 2019,pp.6-15).
- 2) **Emulsión O/W:** La fase dispersa o interna está constituida por gotas de aceite (O) y la fase continua por el agua (W) (Martínez, 2014,pp.3-44).
- 3) **Emulsiones mixtas W/O/W o O/W/O:** Sistemas polifásicos. Las emulsiones W/O/W caracterizada por unas pequeña gotas acuosas que se incluye en una gotas de fase oleosa más grande que está a su vez dispersa en un acuosa, y las emulsiones O/W/O unas gotas pequeñas de fase oleosa inmersa sobre una gota de fase acusa más grande y estas dispersas en una oleosa (Montesinos, 2019,pp.6-15).
- 4) **Emulsiones W/ S o siliconica:** Empleadas en los tratamientos antiseborreicos, antiacneicos (Montesinos, 2019,pp.6-15).

### 1.6.2. Estabilidad de las emulsiones



**Figura 8-1:** Tipos de Inestabilidad de emulsiones.

Fuente: (Villareal, 2019, pp.16-22).

La estabilidad consiste en mantener los factores físicos presentes en una emulsión para prevenir la ruptura de las fases. El proceso de ruptura de las emulsiones puede ocurrir mediante cuatro mecanismos de inestabilidad diferentes:

- i) “Creaming” /sedimentación: Se trata de un proceso causado por la acción de la gravedad y produce un gradiente vertical de concentración de las gotas sin variar la distribución del tamaño de las mismas. Para las emulsiones O/W, las gotas de aceite son menos densas que la fase continua y por lo tanto principalmente ocurre el “creaming” (figura 8-1).
- ii) La floculación: Es la adhesión de las gotas sin fusionarse y una vez más no existe una variación en la distribución de tamaño de gotas. El proceso de la floculación está controlado por un equilibrio global entre las fuerzas de atracción electrostáticas de van der Waals, y repulsivas de tipo estéricas y de hidratación (figura 9-1).
- iii) Coalescencia: Es la fusión de gotas para crear unas gotas más grandes con la eliminación de parte de la interfase líquido/líquido. Este cambio irreversible requeriría un aporte extra de energía para restablecer la distribución de tamaño de partícula original (figura 10-1).
- iv) Engrosamiento de gotas (Ostwald ripening): Se debe al crecimiento de las gotas más grandes a costa de las más pequeñas hasta que éstas últimas prácticamente desaparecen. Este proceso ocurre a una velocidad que es función de la solubilidad de la fase dispersa en la fase continua

y se debe a que la presión interna de las gotas (presión de Laplace) es mayor en las gotas más pequeñas (Martínez, 2014,pp,3-44).

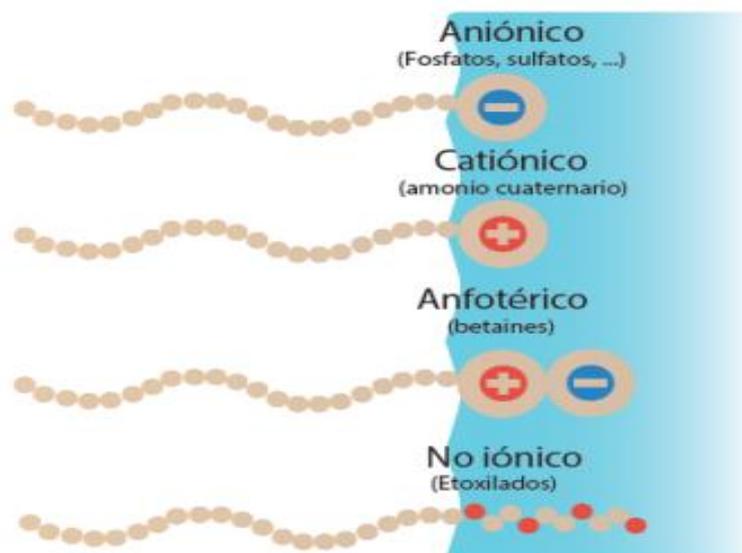
### 1.6.3. Tensioactivos

También llamados emulsificantes o surfactantes, son sustancias químicas que se adsorben o se concentran en la superficie, actúan en la interfase disminuyendo la tensión superficial entre las fases, permitiendo estabilizar la emulsión (Montesinos, 2019,pp.6-15). Los tensioactivos (Surfactantes) constan de una parte polar (Cabeza) que pueden interaccionar con solventes polares como el agua por lo tanto se denominada parte hidrófila y otra parte apolar (Cola) formada por una cadena de hidrocarburos no polares que puede interactuar con solventes apolares por lo tanto se denomina parte hidrofóbica o lipófila (Villareal, 2019,pp.16-22).

#### 1.6.3.1. Clasificación de los surfactantes

Los surfactantes se clasifican de acuerdo con la carga del grupo de la cabeza polar:

- Surfactante aniónico: la cabeza polar está formada por un grupo cargado negativamente.
- Surfactante catiónico La cabeza polar está formada por un grupo con carga positiva.
- Surfactante zwitteriónico (Anfotérico): La cabeza está formada por un grupo con carga negativa y positiva (Villareal, 2019,pp.16-22).
- Surfactante no iónico: la cabeza formada por un grupo sin carga.



**Figura 9-1:** Clasificación de surfactantes.

Fuente:(Villareal, 2019,pp.16-22).

### 1.6.3.2. *Propiedades de los tensioactivos*

Las dos propiedades importantes de los tensioactivos es la capacidad para adsorberse en la interfase y la capacidad de autoagregación formando micelas (Martínez Rodríguez, 2014,pp.3-44).

#### a) Capacidad de adsorción

Fenómeno espontáneo que se produce debido a que las moléculas por satisfacer el carácter anfifílico que se ubican en la superficie o interface reduciendo la tensión superficial e interfacial (Martínez Rodríguez, 2014,pp.3-34).

#### b) Tensión Superficial (SFT)

Interacción de las partículas y desbalance de las fuerzas moleculares en la superficie que existe en un líquido y el aire con el objetivo de reducir el área de contacto (Villareal, 2019,pp.16-22).

#### c) Tensión interfacial (IFT)

La tensión interfacial es la energía de Gibbs por unidad de área de interfaz a temperatura y presión fijas (Villareal, 2019,p..16-22).

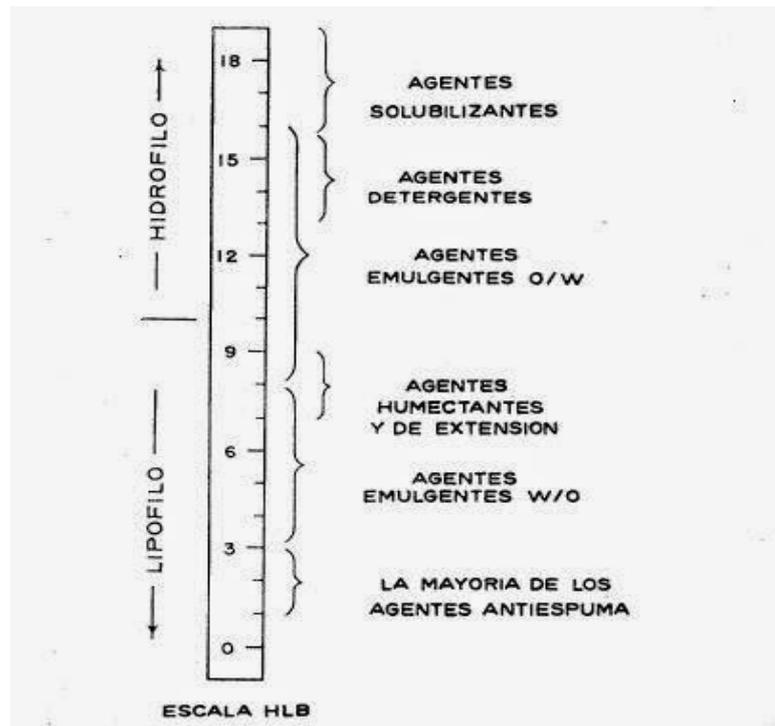
#### d) Capacidad de asociación

Las moléculas se asocian a consecuencia de la atracción mutua formando agregados moleculares conocidos con el nombre de micelas (Martínez Rodríguez, 2014,pp.16-22).

#### e) Concentración Micelar Critica (CMC)

Cuando se agrega un surfactante en medio líquido, las moléculas de surfactantes forman las micelas. Si está por encima de la CMC, la tensión superficial disminuirá al aumentar la concentración de surfactante. Debajo de la CMC, la tensión superficial es constante (Villareal, 2019,pp.16-22).

#### 1.6.4. Balance Hidrofílico-Lipofílico (HLB) de Griffin



**Figura 10-1:** Escala que muestra la extensión de los valores HLB de diversos tensioactivos.

Fuente: (Villareal, 2019, pp.16-22).

El HLB (Hydrophilic-Lipophilic Balance) es una herramienta muy empleada para encontrar un adecuado sistema emulsificante. Los surfactantes están caracterizados por su HLB conocido como balance hidrofílico-lipofílico, el tipo de emulsión que se tiende a formar depende del balance entre las propiedades hidrófilas e hidrófobas del agente emulsificante cuyo valor de HLB emitirá la atracción que experimenta las fases acuosa y oleosa (figura 10-1) (Villareal, 2019, pp.16-22).

Generalmente se suele cumplir la regla de Bancroft: que manifiesta:

*“Al preparar una emulsión, la fase continua o externa estará dada por aquel líquido en el que el agente emulsificante sea más soluble”* por lo tanto de acuerdo con la naturaleza del agente emulsificante será el signo de la emulsión. La naturaleza anfótera del agente tensioactivos puede ser expresado en términos de una escala empírica utilizada por Griffin que comúnmente se denomina el balance HLB, el cual utilizo dos surfactantes de referencia el ácido oleico con HLB 1 y oleato de potasio con HLB 20, por lo tanto, el primero es 100% Liofilice y el segundo 100% hidrofiliaco, a partir de los cuales se derivaron los otros números de HLB. Los agentes tensioactivos con características lipofílicas les ha asignado los valores de HLB más bajos es decir por debajo de 9 (menos polares) y a los agentes tensioactivos con propiedades hidrofílicas les ha asignado los valores más altos es decir superiores a 11 (polares), mientras que para los surfactantes con valores de HLB entre 9 y 11 presentan un carácter intermedio figura 10-1

(Villareal, 2019, pp.16-22). El valor HLB puede variar en función del tipo de electrolito, temperatura y tipo de aceite debido a que modifican la geometría de la capa de agentes tensioactivos en la interfase y por lo tanto varían su curvatura preferida (Aranberri *et al.*, 2006, pp.32-51).

Nombre	Surfactante	HLB
Span 85	Trioleato de sorbitol (NI)	1,8
Span 65	Triestearato de sorbitol (NI)	2,1
Span 80	Monooleato de sorbitol (NI)	4,3
Span 60	Monosteato de sorbitol (NI)	4,7
Span 40	Monopalmitato de sorbitol (NI)	6,7
Span 20	Monolaurato de sorbitol (NI)	8,6
Tween 81	Igual al Span 80 con poli-EO (NI)	10,0
Tween 65	Igual al Span 65 con poli-EO (NI)	10,5
Tween 21	Igual al Span 20 con poli-EO (NI)	13,3
Tween 60	Igual al Span 60 con poli-EO (NI)	14,9
Tween 80	Igual al Span 80 con poli-EO (NI)	15,0
Tween 40	Igual al Span 40 con poli-EO (NI)	15,6
Tween 20	Igual al Span 20 con poli-EO (NI)	16,7
Triton X-15	Octil-fenol-1,5 EO (NI)	3,6
Triton X-35	Octil-fenol-3,5 EO (NI)	7,8
Triton X-45	Octil-fenol-4,5 EO (NI)	10,4
Triton X-114	Octil-fenol-7,5 EO (NI)	12,4
Sipex SB	Dodecil sulfato de sodio (AI)	40,0
Sipon L-22	Dodecil sulfato de amonio (AI)	31,0
Sipon LT6	Dodecil sulfato de trietanolamina (AI)	34,0
Neodol 25-7	Alcohol primario (C12-15) poli-EO (NI)	12,0

**Figura 11-1.** Valores de HLB de algunos surfactantes.

Fuente: (Aranberri *et al.*, 2006, pp.35-51).

#### 1.6.4.1. Cálculo del HLB según la escala de Griffin

Método experimental, que define la relación porcentual entre el peso molecular de la fracción hidrofílica y el peso molecular total, matemáticamente expresada así:

$$HLBG = \frac{Mh}{Mh + Ml} * \frac{100}{5} = \frac{20 \times Mh}{MT}$$

Donde:

*BHLG* = BHL propuesto por Griffin

*Mh* = Peso Molecular de la fracción hidrofílica

*Ml* = Peso Molecular de la fracción lipofílica

*MT* = Peso Molecular Total (*Mh* + *Ml*)

#### 1.4.1.2 Cálculo del HLB por la ecuación de Davis

Método alternativo para calcular el HLB, en la que existe una relación lineal entre la energía libre de transferencia de moléculas de tensioactivo de la fase acuosa hacia la fase hidrofóbica, que se

puede encontrar dividiendo el BHL en contribuciones aditivas con valores numéricos positivos o negativos asignado la actividad hidrofílica o lipofílica de los grupos funcionales su ecuación es:

$$BHL = \sum Hi - \sum Li + 7$$

Donde:

$BHL$  = BHL propuesto por Davies

$\sum Hi$  = Sumatoria de los coeficientes BHL de los Grupos Hidrofílicos

$\sum Li$  = Sumatoria de los coeficientes BHL de los Grupos Lipofílicos

Grupos hidrofílicos		Grupos Lipofílicos	
Grupo	Coef. bhl	Grupo	Coef. bhl
$-\text{SO}_4\text{Na}^+$	38,7	$-\text{CH}-$	} 0,475
$-\text{COO}^-\text{K}^+$	21,1	$\text{CH}_2-$	
$-\text{COO}^-\text{Na}^+$	19,1	$-\text{CH}_3-$	
N (terciario)	9,4	$-\text{CH}-$	
Ester sorbitán	6,8		
Ester libre	2,4		
$-\text{COOH}$	2,1		
OH libre	1,9		
$-\text{O}-$	1,3	$-(\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{O})-$	+ 0,33
OH (anillo de sorbitán)	0,5	$-(\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{O})-$	-0,15

**Figura 12-1:** Coeficientes de HBL de grupos funcionales

Fuente:(Villareal, 2019,pp.16-22).

#### 1.6.4.2. Cálculo del valor del HLB requerido para grasas y aceites.

1. Determinación del peso de la materia grasa

2. Cálculo de porcentaje de cada grasa:

Total de grasa                      100%

g de cada grasa                      X

3. Determinación de HLB requerido de cada grasa:

100 g de la grasa                      valor de HLB de la tabla

% de la grasa                      X

4. Determinación de HLB requerido de la emulsión

Se suma los HLB de cada grasa en la formulación para obtener el HLB requerido de la emulsión.

Si es <8 será W/O y si es >10 será O/W.

5. Cálculo de la mezcla de emulgentes (%)



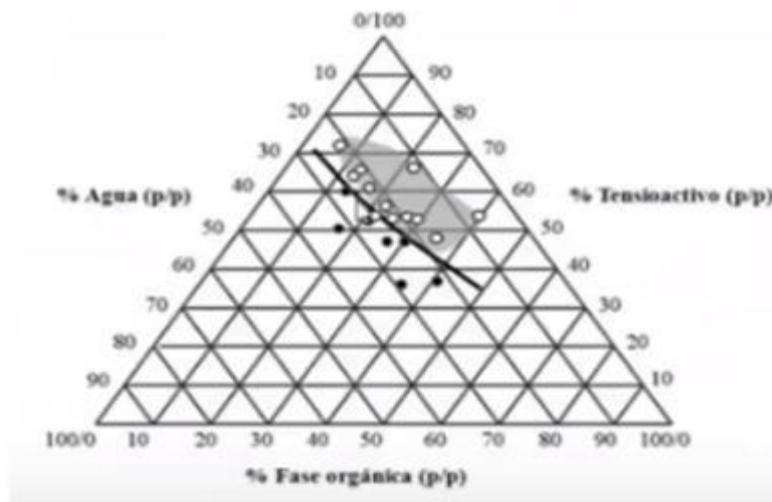
forma parte del componente en cuestión. Es decir, la concentración del componente A, se lee sobre las líneas auxiliares paralelas al sub-sistema B-C, por lo tanto, en el punto k el compuesto A contiene una fracción molar de  $X_A=0.3$ . De manera análoga la concentración del componente B, se lee sobre las líneas auxiliares paralelas al sub-sistema C-A, por lo tanto, en el punto k el compuesto b contiene una fracción molar de  $X_B=0.2$  y por último la concentración de C, se lee sobre las líneas auxiliares paralelas al sub-sistema A-B, por lo tanto, en el punto k el compuesto C contiene una fracción molar de  $X_C=0.5$  (Pisoni, 2014,pp.10-37).

La composición total del sistema ternario representa cualquier punto al interior del diagrama, donde la suma de las fracciones de los componentes es la unidad y se expresa en la siguiente ecuación:

$$X_A + X_B + X_C = 1 \quad (1)$$

La composición de cada componente esta expresada en moles, masa o volumen denotado en términos porcentuales o fraccionarios (Pisoni, 2014,pp.10-37).

### 1.7.2. Interpretación de diagramas ternarios



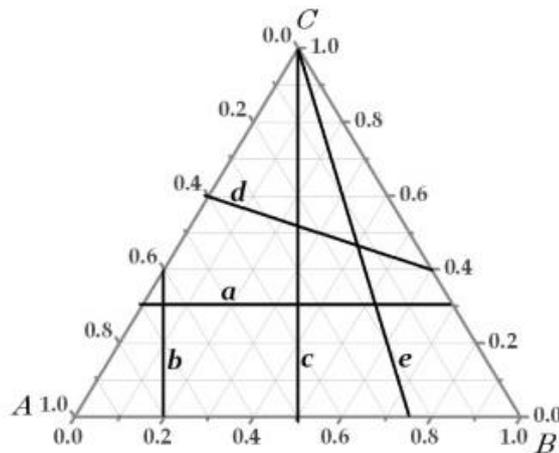
**Figura 13-1:** Diagrama de fase pseudoternario de lecitina.

**Fuente:**(Nathan and Scobell, 2012,pp.48-51).

Los sitios en donde están los círculos blancos revelan que existe una microemulsión estable, en cambio las zonas donde están los círculos negros demuestran que hay una separación de fase, la línea negra simboliza el límite de la separación de fase y el área sombreada de color gris indica que los tres componentes son solubles en todas las proporciones y donde se presentan una segregación para la formación de una microemulsión (Nathan and Scobell, 2012,pp.48-51).

### 1.7.3. Trayectorias en el diagrama ternario

En los diagramas ternarios se puede seleccionar diversas trayectorias lineales que pueden ser paralelas, perpendiculares y diagonales. De esta forma se localiza las zonas donde algunas características (viscosidad, solubilidad) cambian para un mismo sistema, en función de la composición de cada componente (Novelo-Torres and Gracia-Fadrique, 2010, pp.300-304).



**Figura 14-1:** Diversas trayectorias en el diagrama ternario.

Fuente: (Novelo-Torres and Gracia-Fadrique, 2010, pp.300-304).

#### 1.7.3.1. Trayectorias paralelas

Cualquier línea auxiliar paralela opuesto a la base del sistema del diagrama ternario A-B.

La composición de uno de los componentes que se compone la mezcla es constante, es decir la línea horizontal trazada paralela al recorrido del subsistema A-B, indica que la cantidad de la fracción C es una constante  $\alpha$  y se expresa en los siguientes términos (Novelo-Torres and Gracia-Fadrique, 2010, pp.300-304):

$$X_A + X_B + \alpha = 1$$

Para mezclas binarias AC:  $X_A^{AC} + X_C^{AC} = 1$

Y para la mezcla binaria BC:  $X_B^{BC} + X_C^{BC} = 1$

Se cumple que:  $X_C^{AC} + X_C^{BC} = \alpha$

Por lo tanto:  $X_A^{AC} + X_C^{BC} = 1$

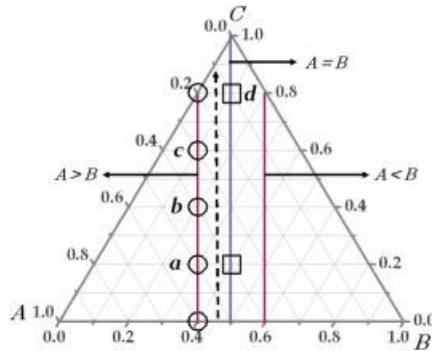
Donde:

El subíndice indica el componente puro.

X es la composición o fracción del componente.

Superíndice representa la mezcla binaria de la que procede.

### 1.7.3.2. Trayectorias diagonales



**Figura 15-1:** Trayectorias diagonales en un sistema ternario.

**Fuente:** (Novelo-Torres and Gracia-Fadrique, 2010,pp.300-304).

Una trayectoria diagonal trazada desde la parte desde un punto de la base y se dirige hacia un vértice opuesto (Novelo-Torres and Gracia-Fadrique, 2010,pp.300-304).

### 1.7.3.3. Trayectorias perpendiculares

$A > B$ : Un punto dentro del sistema A-B donde  $A > B$  y traza una trayectoria perpendicular a partir de este punto.

$A = B$ : Línea con la dirección al vértice C, cuando la proporción de la mezcla binaria es igual ( $x_A = x_B$ ) (Novelo-Torres and Gracia-Fadrique, 2010,pp.300-304).

### 1.7.4. Importancia de los diagramas ternarios en microemulsiones

Los diagramas pseudoternarios son una herramienta muy importante en la emulsión porque es una de las formas más adecuadas de estudiar el comportamiento de un sistema de equilibrio. Estudia todos los tipos de formulaciones que se pueden formar de la mezcla de aceite, tensioactivo y agua, y, al mismo tiempo para cubrir todas las probabilidades de mezclar de una manera más sistemática. Permite determinar fácilmente si la emulsión se encuentra en equilibrio de fases, cuáles son sus fases de equilibrio, la composición de estas fases, y sus cantidades (Pineros *et al.*, 2017,pp.4-21).

## CAPÍTULO II

### 2. PARTE EXPERIMENTAL

#### 2.1. Lugar de la investigación

El presente estudio se ejecutó en las instalaciones del Laboratorio Cosmético OMEGALAB ubicada en el Cantón de Píllaro, Provincia de Tungurahua.

#### 2.2. Materiales, equipos y reactivos

##### 2.2.1. *Material vegetal*

Los materiales vegetales empleados en el presente estudio fueron:

La Manteca de karité (*Butyrospermum parkii*) y el aceite de oliva (*Olea europaea*) fueron entregados por OMEGALAB en el mes de agosto 2020 en la ciudad de Píllaro, provincia de Tungurahua.

Las semillas de Zambo (*Cucurbita ficifolia*), se adquirió en la ciudad de Píllaro, Provincia de Tungurahua.

##### 2.2.2. *Reactivos*

Los reactivos utilizados en la presente investigación son:

- ✓ Agua destilada: Grado Analítico
- ✓ Aceite de oliva
- ✓ Manteca de karité
- ✓ Aceite de zambo
- ✓ T1 éter graso de polioxietileno
- ✓ T2 PEG-40 Hydrogenated castor Oil.
- ✓ Agar MC Conkey
- ✓ Manitol Salt Agar
- ✓ Peptona:
- ✓ Agar sabouraud

### **2.2.3. *Materiales de laboratorio***

- ✓ Picnómetro
- ✓ Tubos de ensayo tapa rosca
- ✓ Vasos de precipitación (500, 250,100ml)
- ✓ Gradillas metálicas
- ✓ Probeta (25, 50,100 ml)
- ✓ Pipetas graduadas (0.1, 5, 10ml)
- ✓ Matraces Erlenmeyer (50,100,250,500 ml)
- ✓ Cucharas
- ✓ Varilla de agitación
- ✓ Papel filtro
- ✓ Placas Petri
- ✓ Mechero de alcohol
- ✓ Pera de succión
- ✓ Placa petrifilm
- ✓ Papel aluminio
- ✓ Algodón
- ✓ Termómetro
- ✓ Frascos de vidrio

### **2.2.4. *Equipos e instrumento***

- ✓ Agitador mecánico
- ✓ Baño maría
- ✓ Centrifuga
- ✓ Rotavapor
- ✓ Estufa: Estufa Memmert universal con circulación forzada.
- ✓ Espectrómetro IR: Espectrómetro Jasco FT/IR-4100.
- ✓ Espectrofotómetro U.V: Espectrofotómetro Spectronic Helios Alpha UV-Vis.
- ✓ Balanza Analítica:
- ✓ Viscosímetro digital
- ✓ Conductímetro portátil
- ✓ pH-metro
- ✓ Sorbona

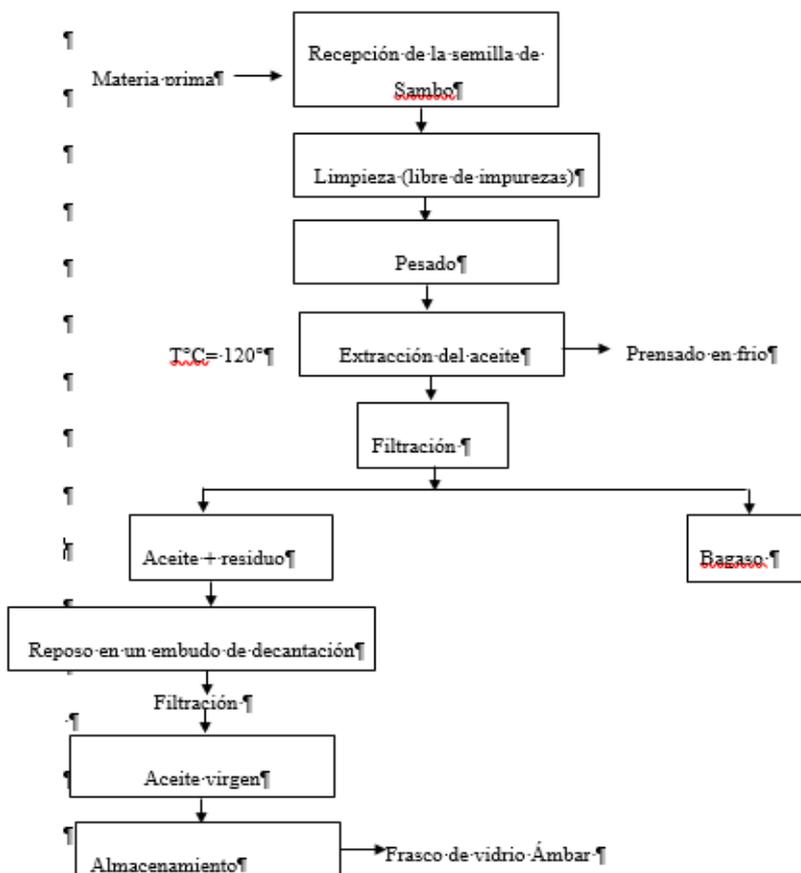
- ✓ Refrigeradora
- ✓ Autoclave
- ✓ Equipo de prensado en frío
- ✓ Reverbero

### 2.3. Métodos y técnicas

#### 2.3.1. Recolección e identificación del material vegetal

Las semillas de Zambo fueron adquiridas en Píllaro en un centro comercial denominado Santa clara, para la posterior extracción del aceite de *Cucurbita ficifolia* (Sambo).

La extracción del aceite de la semilla de *Cucurbita ficifolia* (Sambo) se realizó de acuerdo con el siguiente flujograma:



**Figura 1-2:** Flujograma de extracción de aceite de las semillas de Zambo mediante prensado en frío.

Fuente: (Hayqui, 2016, pp.31-39).

### 2.3.1.1. Descripción del proceso

#### **a. Recepción de la materia prima**

Proceso de ingreso de la materia prima al cuarto de bodega (figura 11-2) y etiquetado según el POE de materia prima Omegalab.

#### **b. Limpieza**

Se realizó una limpieza según la figura 12-2, con la finalidad de eliminar sustancias extrañas como polvo, tierra, piedras, etc que dificulten el proceso de extracción.

#### **c. Pesado**

Mediante una balanza analítica se recogió el peso inicial de las semillas tal como se muestra en la figura 13-1.

#### **d. Extracción del aceite**

Para la extracción del aceite se realizó por el método de prensado en frío mediante un molino con prensa, a escala laboratorio.

La ecuación para el cálculo del rendimiento:

$$n = \frac{Ac}{Ma} \times 100\%$$

Donde:

Ac= Cantidad de aceite obtenido en la extracción (g)

Ma= Cantidad de materia prima utilizada (g)

n= Rendimiento del proceso (%)

#### **e. Almacenado**

El aceite obtenido de la extracción fue envasado en un frasco de vidrio ámbar y se almaceno a temperatura ambiente como se detalla en la Figura 14-2.

El aceite fue almacenado en un embudo de decantación con el fin de separar las impurezas y residuos del aceite, mediante una pipeta se extrajo el aceite extra virgen y se almaceno en un vidrio ámbar.

### 2.3.2. Determinación del control de calidad del aceite de Sambo

Para la realización de los análisis físico-químicos se tomaron muestras del aceite extraído para proceder con el control del proceso. El aceite de Sambo (*Cucurbita ficifolia*) deberá cumplir los requisitos físicos químicos indicador en la tabla 5-2:

**Tabla 5- 2: Especificaciones de aceites de acuerdo con las ISO, debe cumplir con:**

REQUISITO	UNIDAD	MIN	MAX	NORMA DE REFERENCIA
Densidad relativa	-	0.909	0.915	NTE INEN 35
Índice de yodo	cg/g	79	89	NTE INEN 37
Índice de saponificación (mg KOH/g aceite)	mg/g	189	199	NTE INEN 40
Acidez	%	-	0.30	NTE INEN 38
Índice de peróxido	meqO <sub>2</sub> /kg	-	10.0	NTE INEN 277

Elaborado por: Vargas, Johanna, 2021.

Fuente: NTE INEN 2421, 2009.

#### 2.3.2.1. Propiedades físicas del aceite.

En la tabla 5-2, se muestran las especificaciones de aceites vegetales según la ISO, cuyo olor y color debe ser característicos del producto, lo único debe estar exento de un olor extraño o rancio. No debe contener sustancias extrañas.

#### 2.3.2.2. Densidad Relativa

Otra especificación detallada en la tabla 5-2 es el Método establecido según la Norma INEN ACEITES Y GRASAS DE ORIGEN ANIMAL Y VEGETAL DETERMINACIÓN DE LA DENSIDAD RELATIVA.

1. Se pesó en la balanza analítica, comprensión de 0.001 g, el picnómetro vacío, limpio y seco, conjuntamente con sus partes (termómetro incorporado o tapón). Se registró el resultado como *m*<sub>0</sub>.

2. Se llenó completamente el picnómetro limpio y seco con la muestra ensayo preparada.

3. Se colocó el tapón según sea el caso evitando la formación de burbujas de aire, y sacar el exterior del picnómetro con papel absorbente.
4. Se pesó en la balanza analítica y se registró el resultado como  $m_I$ .

#### 2.3.2.3. Método del índice de acidez

Otra especificación detallada en la tabla 5-2 es el índice de acidez es un indicador de alteraciones hidrolíticas que permite determinar los ácido libres en los aceites. Se determinó según el método establecido en la Farmacopea. Se pesaron 10g de aceite en un matraz Erlenmeyer de 250ml, se disolvió en 50ml de mezcla de etanol-éter previamente neutralizada con hidróxido de sodio (NaOH) 0.1 N, y se agito hasta completa disolución de grasa. Se adiciono 1mL de indicador de fenolftaleína y se tituló mediante agitación continua con NaOH 0.1N hasta observar el viraje de color, hasta coloración rosada persistente durante 30 segundos.

#### **Cálculo:**

$$\%A = \frac{VxcxM}{10xP}$$

#### **Donde:**

V: volumen en ml de la solución valorada de hidróxido potásico utilizada.

c: concentración exacta, en moles por litro, de la solución de hidróxido potásico utilizada.

M: peso molecular del ácido en que se expresa el resultado (ácido oleico = 282).

P: peso en gramos de la muestra utilizada.

#### 2.3.2.4. Método del índice de peróxidos

Otra especificación detallada en la tabla 5-2 en el índice de peróxidos según el método establecido en la Farmacopea. Se pesó 2g de aceite y se transfirió a un matraz esmerilado con tapón de 250ml, luego se adiciono 10ml de cloroformo y se disolvió por agitación, luego se agregó 15ml de ácido acético glacial y 1ml de solución acuosa saturada de yoduro potásico. Se cerró el Matraz y se agitó durante 1min y se conserva 5min en la oscuridad. Transcurrido ese tiempo se adicionó 75ml de agua destilada y agitándola para finalmente valorar con una disolución de yodo 0.002N hasta que el color vire de violeta a un blanco grisáceo.

#### **Cálculo:**

$$IP = \frac{VxNx1000}{P}$$

#### **Donde:**

V: ml de solución valorada de yodo empleados en el ensayo

N: normalidad exacta de la solución de yodo empleada.

P: peso, en gramos de la muestra problema

#### 2.3.2.5. *Método del índice de yodo*

Método útil que se va a determinar la dureza. Se determinó según el método establecido en la Farmacopea. Se pesó 200g de muestra y se transfirió a un matraz de 250ml. Se añadió 10 ml de cloroformo, 25,0 ml de bromuro de iodo se tapó y dejó en reposo durante 30 minutos al abrigo de la luz, agitando ocasionalmente. Se agregó 30 ml de ioduro de potasio y 100 ml de agua. Se tituló con tiosulfato de sodio 0,1 N, agitar después de cada agregado. Cuando el color del iodo se toma muy pálido, agregó 3 ml de almidón y continuar la titulación con tiosulfato de sodio 0,1 N hasta que el color azul desaparezca.

#### 2.3.2.6. *Método de índice de saponificación*

Indica el peso promedio molecular de los ácidos grasos, muy importante porque está relacionado con las propiedades organolépticas. Se determinó según el método establecido en la Farmacopea. Se pesó 2 g de muestra y se transfirió a un matraz de 250ml, se adiciono 25,0 ml de hidróxido de potasio alcohólico 0,5 N. Se calentó en un baño de vapor, con un refrigerante apropiado para mantener el reflujo durante 30 minutos, agitando por rotación frecuentemente. Se agregó 1 ml de fenolftaleína (SR) e ir titulando con hidróxido de potasio en exceso con ácido clorhídrico 0,5 N.

#### 2.3.3. *Formulaciones de las emulsiones cosméticas*

Se debe identificar el tipo de emulsión a desarrollar, en el presente estudio se realizará una emulsión O/W por la combinación de sus componentes, se emplearon aceites naturales extra virgen de *Olea europaea* (Oliva), *Butyrospermum parkii* (Manteca de Karité) y *Cucurbita ficifolia* (sambo), como fase oleosa y agua como fase acuosa, además se realizaron pruebas con los diferentes tensioactivos para determinar cuál combinación le brindan mayor estabilidad. Las dos fases fueron llevadas a una temperatura aproximadamente entre 60-70° C, alcanzada esta temperatura se incorporan las dos fases, mediante agitación constante a través de un agitador magnético, una vez alcanzado el punto de emulsión se suspende la fuente de calor y se baja a una temperatura de 30°C sin suspender la agitación con el fin de alcanzar un aspecto homogéneo.

### 2.3.3.1. Preparación de la emulsión cosmética final

**Tabla 6-2:** Formulación con los componentes base para una emulsión cosmética.

Nombre Comercial	Nombre INCI	Función
Aceite extra virgen de Oliva	Aceite de <i>Olea Europaea</i> FRUIT OIL	Emoliente Hidratante
Manteca de Karité	<i>Butyrospermum Parkii</i>	Emoliente
Aceite extra virgen de sambo	<i>Cucurbita ficifolia</i>	Emoliente Hidratante
PEG-40	PEG-40 Hydrogenated Castor Oil	Tensioactivo
Éter graso de polioxietileno	Steareth-2	Tensioactivo
Agua desmineralizada	Aqua	Solvente Fase acuosa
Fragancia	Fragrance	Aroma

**Elaborado por:** Johanna Vargas,2020.

**Fuente:** (Cutipa, 2013,pp.2-11).

### 2.3.3.2. Proceso de formulación cosmética de una emulsión cosmética:

Paso 1: Se pesaron los ingredientes de la fase oleosa: aceite de oliva, manteca de karité, aceite de sambo y la mezcla de Tensioactivos de acuerdo con el diagrama experimental en un frasco de vidrio detallados en la tabla 7-2.

Paso 2: Se pesaron los ingredientes de la fase acuosa (Agua), vertiéndolo en un vaso de precipitación y se calentó a temperatura de 70°C.

Paso3: Se llevó a 70°C tanto la fase acuosa mediante el reverbero, al igual que la fase oleosa mediante la placa del agitador, alcanzado la temperatura deseada se incorporó los ingredientes poco a poco hasta que se encuentren completamente homogéneos, agitando a 2500rpm hasta conseguir la emulsión.

Paso 4: Una vez que se obtuvo la emulsión se suspendió la fuente de calor y se esperó hasta que baje la temperatura a 30°C para suspender la agitación.

Paso 6: Se realizó la prueba de caracterización organoléptica, centrifugación, pH, extensibilidad, lo recomendado es alcanzar un pH entre 4.5 y 5.9 pH ideal de la piel. En el caso de tener un pH ácido se regula con trietanolamina y si se encuentra en un pH alcalino se empleó un ácido láctico.

#### **2.3.4. Caracterización Fisicoquímica de la emulsión**

Análisis que permiten evaluar alteraciones en la composición de la formulación que usualmente no son perceptibles a simple vista, pero que pueden indicar alguna alteración en la estabilidad entre los ingredientes de la formulación.

##### **2.3.4.1. pH**

Método establecido según la Norma INEN AGENTES SURFACTANTES. DETERMINACIÓN DEL pH.

1. La determinación debe efectuarse por triplicado sobre la muestra convenientemente homogenizada.
2. Se disolvió 1 g de muestra en 20 ml de agua destilada en un vaso de precipitación perfectamente limpio.
3. Introducir el electrodo del potenciómetro (previamente calibrado) en la solución, cuidando, que no toquen las paredes ni el fondo del recipiente.
4. Se efectuó la lectura en la escala de pH de forma inmediata.
5. Reporte de resultados

Como resultado final, debe reportarse la media de métrica de los resultados de la determinación.

##### **2.3.4.2. Densidad**

Método establecido según la Norma INEN ACEITES Y GRASAS DE ORIGEN ANIMAL Y VEGETAL DETERMINACIÓN DE LA DENSIDAD RELATIVA.

1. Se pesó en la balanza analítica, el picnómetro vacío, limpio y seco, conjuntamente con sus partes (termómetro incorporado o tapón). Se registró el resultado como  $m_0$ .
2. Se llenó completamente el picnómetro limpio y seco con la muestra ensayo preparada.
3. Se colocó el tapón según sea el caso evitando la formación de burbujas de aire, y sacar el exterior del picnómetro con papel absorbente.
4. Se pesó en la balanza analítica y se registró el resultado como  $m_1$ .

## CÁLCULOS Y EXPRESION DE LOS RESULTADOS

$$\rho_{25} = \frac{m - m_2}{v}$$

en donde:

$\rho_{25}$  es la densidad relativa a 25/25 °C

$m_0$ : es la masa, en gramos, del picnómetro vacío

$m_2$ : es la masa, en gramos, del picnómetro lleno de muestra

$v$ : es el volumen del picnómetro.

### 2.3.4.3. Extensibilidad

Método que permite verificar que la elaboración de una determinada preparación ha sido correctamente reproducida. No existen valores de referencia para comparar, es la propia oficina de farmacia quien crea los suyos propios y sus márgenes de tolerancia.

Por este método se valora el índice de extensibilidad, basándose en el aumento de la superficie de una determinada cantidad de muestra al ser sometida, progresivamente, a presiones crecientes a iguales intervalos de tiempo.

Para realizar este ensayo utilizamos dos placas de cristal entre las cuales se coloca, por ejemplo, 1 g del preparado.

1. Se colocó la placa inferior de cristal sobre una hoja de papel milimetrado. Se recuadra la placa y se trazan las diagonales.
2. Se colocó la muestra del preparado sobre el punto de intersección.
3. Se pesó la placa superior y se sitúa sobre la inferior. Pasado 1 minuto, por ejemplo, y por efecto de la presión, la preparación se habrá extendido de forma aproximadamente circular.
4. Se anotan los valores de los dos diámetros y se calcula el diámetro medio y a partir de éste, la superficie del círculo formado.
5. Se repite esta operación con sucesivos pesos (por ejemplo, 50,100,200 y 500g) colocados en el centro de la placa. Se representa la extensibilidad en mm<sup>2</sup> frente a los pesos empleados.

### 2.3.4.4. Centrifugación

1. Se homogenizo la muestra
2. Se colocó la muestra en un tubo de ensayo
3. Se colocó en centrifuga a 30000 rpm a 5 min
4. Se sacó de la centrifuga y se observó la separación de las fases con la ayuda de una regla se tomó la medida de la separación de cada una de las fases.

### **2.3.5. Pruebas microbiológicas de la emulsión**

#### **2.3.5.1. Método de conteo de Aerobios mesófilos totales**

La metodología que se utilizó para determinar la presencia o ausencia de Aerobios mesófilos totales a la formulación final es mediante el método por el recuento en placa utilizando el método de siembra en superficie descrita por la norma **NTE INEN-ISO 21149:2.17**.

En una caja Petri se añadió 15 ml a 20ml de medio agar fundido mantenido en un baño de agua no más de 48°C. las placas se dejan enfriar y solidificar, en una cabina microbiológica se dispersa sobre la superficie del medio un volumen definido de al menos 0,1 ml de la dilución inicial.

#### **Incubación**

Las placas Petri sembradas se invierten y se colocan en la estufa incubadora a 32,5°C durante 72h. Después de la incubación, las placas se deben examinar inmediatamente.

#### **Recuento de colonias.**

Después de la incubación, se efectúa un recuento de colonias.

#### **2.3.5.2. Determinación de *Pseudomonas aeruginosa***

La metodología que se utilizó para determinar la presencia o ausencia de *Pseudomonas aeruginosa* a la formulación final es mediante el método por el recuento en placa utilizando el método de siembra en superficie descrita por la norma **NTE INEN-ISO 22717:2015**.

#### **Preparación del caldo de enriquecimiento**

El enriquecimiento se preparó a partir de una muestra de al menos 1g o 1ml, del producto a ensayar, bien homogeneizado, que se dispersa en, al menos, 9ml de caldo de enriquecimiento.

Se incuba la suspensión inicial preparada en el caldo a 32,5 °C ± 2,5 °C durante al menos 20 h (con un máximo de 72 h).

#### **Aislamiento**

Con un asa estéril se tomó una alícuota del caldo de enriquecimiento incubado y se pasó por la superficie del medio de agar de cetrimida para obtener colonias aisladas.

Se invierte la placa Petri y se incuba a 32,5 °C ± 2,5 °C durante al menos 24 h (con un máximo de 48 h).

Se comprueban las características de las colonias véase la tabla 8-2.

**Tabla 8-2:** Características morfológicas de *Pseudomonas aeruginosa* en un medio selectivo.

Medio selectivo	Morfología características de las colonias de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>
Agar cetrimida	Pigmento amarillo-verdoso (piocianina) con fluorescencia bajo luz UV.

**Elaborado por:** Johanna Vargas,2020.

**Fuente:** norma NTE INEN-ISO 22717:2015.

### Identificación

Se procedió con los siguientes ensayos en las colonias sospechosas aisladas en el medio de agar cetrimida. La presencia de *Pseudomonas aeruginosa* se puede confirmar con otros ensayos en medios de cultivo o bioquímicos adecuados.

### Tinción de Gram

El ensayo se describe en la Norma ISO 21148. Se comprueba la presencia de bacilos Gram negativos.

### Prueba de la oxidasa

El ensayo se describe en la Norma ISO 21148.

Se comprueba el resultado positivo de oxidasa en el ensayo.

### Cultivo en agar de *Pseudomonas aeruginosa* para la detección de piocianina

Se inocular la superficie del medio de agar de *Pseudomonas aeruginosa* para la detección de piocianina a partir de colonias sospechosas aisladas en agar cetrimida, de modo que se desarrollen colonias individuales. Se incuba a  $32,5\text{ °C} \pm 2,5\text{ °C}$ .

Se comprueba el crecimiento bacteriano a las 24 h, 48 h y 72 h. *Pseudomonas aeruginosa* forma colonias rodeadas por una zona azul a verdosa debido a la formación de piocianina o por una zona roja a marrón oscuro debido a la producción de piorrubina.

Expresión de los resultados

Si la identificación de las colonias confirma la presencia de esta especie, se expresa el resultado como:

Presencia de *Pseudomonas aeruginosa* en la muestra, S.

Si no se ha producido crecimiento después del enriquecimiento y/o si la identificación de las colonias no confirma la presencia de esta especie, se expresa el resultado como:

Ausencia de *Pseudomonas aeruginosa* en la muestra, S.

#### 2.3.5.3. Determinación de *Staphylococcus aureus*

La metodología que se utilizó para determinar la presencia o ausencia de *Staphylococcus aureus* a la formulación final es mediante el método por el recuento en placa utilizando el método de siembra en superficie descrita por la norma **NTE INEN-ISO 22718:2015**.

##### Preparación del caldo de enriquecimiento

El enriquecimiento se preparó a partir de una muestra (3.2) de al menos 1g o 1ml, del producto a ensayar, bien homogeneizado, que se dispersa en, al menos, 9ml de caldo de enriquecimiento. Se incubó la suspensión inicial preparada en el caldo a  $32,5\text{ °C} \pm 2,5\text{ °C}$  durante al menos 20 h (con un máximo de 72 h).

##### Detección e identificación de *Staphylococcus aureus*

##### Aislamiento

Con un asa estéril, se tomó una alícuota del caldo de enriquecimiento incubado y se pasó por la superficie del medio de agar de Baird Parker para obtener colonias aisladas. Se invirtió la placa Petri y se incubó a  $32,5\text{ °C} \pm 2,5\text{ °C}$  durante al menos 24 h (con un máximo de 48 h). Se comprueba las características de las colonias véase la tabla 9-2.

**Tabla 9-2:** Características morfológicas de *Staphylococcus aureus* en un medio selectivo.

Medio selectivo	Aspecto de las colonias de <i>Staphylococcus aureus</i>
Agar Baird Parker	Colonias negras brillantes, rodeadas de zonas claras (de 2 mm a 5 mm)

**Elaborado por:** Johanna Vargas, 2020.

**Fuente:** norma NTE INEN-ISO 22718:2015.

#### Identificación de *Staphylococcus aureus*

Se procedió con los siguientes ensayos en las colonias sospechosas, aisladas en el medio de agar Baird Parker. La presencia de *Staphylococcus aureus* se puede confirmar con otros ensayos en medios de cultivo o bioquímicos adecuados.

#### Tinción de Gram

El ensayo se describe en la Norma ISO 21148.

Se comprueba la presencia de cocos Gram positivos agrupados en racimos.

### **Prueba de la catalasa**

El ensayo se describe en la Norma ISO 21148.

Se comprueba el resultado positivo de catalasa en el ensayo.

### **Prueba de la coagulasa**

Con un asa estéril, se transfirió colonias sospechosas representativas bien aisladas de la superficie del agar Baird Parker a tubos estériles individuales, en cada uno de los cuales hay 0,5 ml de plasma de mamífero, preferiblemente de conejo o caballo, con o sin aditivos adecuados. Se incubó a  $37\text{ °C} \pm 2\text{ °C}$  y se examinan los tubos a las 3 h, 4 h, 6 h, y si no hay coagulación durante las 6 h, se llega hasta las 24 h, a no ser que el fabricante especifique lo contrario. Una coagulación positiva que aparezca a las 24 h, debe ser confirmada. Se ensayan los controles simultáneamente con las colonias sospechosas conforme a las recomendaciones del fabricante.

Se comprueba el resultado positivo de coagulasa en el ensayo.

Expresión de los resultados (detección de *Staphylococcus aureus*)

Si la identificación de las colonias confirma la presencia de esta especie, se expresa el resultado como: Presencia de *Staphylococcus aureus* en la muestra S.

#### *2.3.5.4. Determinación de crecimiento de Escherichia coli*

La metodología que se va a utilizar para determinar la presencia o ausencia de *Escherichia coli* a la formulación final es mediante el método por el recuento en placa utilizando el método de siembra en superficie descrita por la norma **NTE INEN-ISO 21150;2016**.

Preparación del caldo de enriquecimiento

El enriquecimiento se preparó a partir de una muestra de al menos 1 g o 1 ml del producto a ensayar bien homogeneizado, que se dispersa en, al menos, 9 ml del caldo de enriquecimiento.

Se incubó la suspensión inicial preparada en el caldo a  $32,5\text{ °C} \pm 2,5\text{ °C}$  durante al menos 20 h (máximo 72 h).

Aislamiento

Con un asa estéril se tomó una alícuota del caldo de enriquecimiento incubado y se pasa por la superficie de agar MacConkey para obtener colonias aisladas.

Se invierte la placa Petri y se incubó a  $32,5\text{ °C} \pm 2,5\text{ °C}$  durante al menos 24 h (máximo 48 h).

Se comprobó las características de las colonias, véase la tabla 9-2.

**Tabla 10-2:** Características morfológicas de *Escherichia coli* en un medio de agar MacConkey.

Medio selectivo	Morfología característica de las colonias de <i>Escherichia coli</i>
Agar MacConkey	Color rojo ladrillo, pueden estar rodeadas por una zona de precipitado de sales biliares

**Elaborado por:** Johanna Vargas,2020.

**Fuente:** norma NTE INEN-ISO 22717:2015.

### Identificación de *Escherichia coli*

Se procedió con los siguientes ensayos en las colonias sospechosas, aisladas en el medio de agar MacConkey. La presencia de *Escherichia coli* se puede confirmar con otros ensayos en medios de cultivo o bioquímicos adecuados.

### Tinción de Gram

Se realizó el ensayo especificado en la Norma ISO 21148. Se comprueba la presencia de bacilos Gram negativos.

### Cultivo en medio de agar Levine con eosina y azul de metileno. (Medio de agar EMB)

Se inoculo la superficie del medio de agar Levine con eosina y azul de metileno con las colonias sospechosas aisladas que han crecido en el medio de agar MacConkey, de modo que se desarrollen colonias aisladas. Se invierte la placa Petri e incuba a  $32,5\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2,5\text{ }^{\circ}\text{C}$  durante al menos 24 h (máximo 48 h). Se comprobó las características de las colonias tal como se especifica en la tabla 11-2.

**Tabla 11-2:** Características morfológicas de *Escherichia coli* en un Medio de agar Levine con eosina y azul de metileno.

Medio selectivo	Morfología característica de las colonias de <i>Escherichia coli</i>
Agar Levine con eosina y azul de metileno	Brillo metálico bajo luz reflejada y apariencia negra-azulada bajo luz transmitida.

**Elaborado por:** Johanna Vargas,2020.

**Fuente:** norma NTE INEN-ISO 22717:2015.

### **Expresión de los resultados (detección de *Escherichia coli*)**

Si la identificación de las colonias confirma la presencia de esta especie, se expresa el resultado como:

"Presencia de *Escherichia coli* en la muestra S."

Si no se ha producido crecimiento después del enriquecimiento y/o si la identificación de las colonias no confirma la presencia de esta especie, se expresa el resultado como:

"Ausencia de *Escherichia coli* en la muestra S."

#### **2.3.5.5. Detección de *Candida albicans***

La metodología que se va a utilizar para determinar *Candida albicans* a la formulación final es mediante el método por el cuento de colonias basado en la siembra de profundidad en un medio de cultivo definido vertido en placa Petri con una cantidad de muestra está descrita por la norma **NTE INEN-ISO 18416:2015**.

##### **Preparación del diluyente**

Se disolvió los componentes en el agua, mezclándolos mientras se calientan. Se dispense en recipientes adecuados. Se esterilizó en autoclave a 121° centígrados durante 15 minutos.

El enriquecimiento se preparó de una muestra de al menos 1gr o 1ml, del producto ensayar, bien homogenizado, que se dispersa en, al menos, 9 ml de caldo de enriquecimiento.

##### **Medio de cultivo Agar de Sabouraud**

Realizados los cálculos siguiendo las indicaciones conforme a las instrucciones proporcionadas por el proveedor de los medios, se disolvió el medio en agua destilada, mientras se calienta. Se dispense el medio en los recipientes adecuados. Se esterilizó en la autoclave a 121° centígrados durante 15 minutos.

##### **Aislamiento**

Con un asa estéril, Se tomó una alícuota del caldo de enriquecimiento incubado se pasó por la superficie de la Garza doran para obtener colonias aisladas.

Se vierte se invierte la placa Petri y se incuba 32,5°C de 24 h a 48 h.

Se comprueban las características de las colonias.

**Tabla 12-2:** Características morfológicas de *Candida albicans* en un medio de agar selectivo.

<b>Medio selectivo</b>	<b>Aspecto de las colonias de <i>Candida albicans</i></b>
Agar Sabouraud dextrosa	Blanca a Beige, cremosa y convexa

**Elaborado por:** Johanna Vargas,2020.

**Fuente:** norma NTE INEN-ISO 22717:2015.

## CAPÍTULO III

### 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN Y ANÁLISIS DE RESULTADOS

#### 3.1. Extracción del aceite

La extracción del aceite de las semillas de Sambo extra virgen se realizó mecánicamente por prensado agregando una fuente de calor con la finalidad de facilitar la salida de los compuestos activos. El aceite extraído se dejó 24 horas en reposo en un embudo de decantación para la separación de impurezas, con la adición de vitamina E para evitar su oxidación y como conservante natural.

##### 3.1.1. Caracterización de la calidad del aceite de semillas de Sambo

Los resultados de las pruebas del control de calidad del aceite de *Cucurbita ficifolia* (semillas de sambo) se resumen en la siguiente tabla:

**Tabla 1-3:** Resultados del control de calidad al Aceite de *Cucurbita ficifolia*.

	CARACTERÍSTICAS ORGANOLÉPTICAS	PARAMETROS NORMATIVOS
PARÁMETRO	RESULTADO	ESPECIFICACIÓN
Color	Verde oscuro	Característico, exento de colores extraños y olores rancios.
Olor	Característico a Sambo fuerte y penetrante	Característico de las semillas de las cuales proceda el aceite.
Apariencia	Líquido verdoso libre de cuerpos extraños	Transparente y libre de cuerpos extraños a una temperatura de 20°C.
	PROPIEDADES FÍSICOQUÍMICAS	ESPECIFICACIONES CODEX ALIMENTARIUS
Densidad relativa (25°C)	0.914 g/ml	0,910-0,916 (20°C/agua a 20°C)
Índice de acidez	1.683 mg de KOH/g 0.423% AGL	4,0 mg de KOH/g de grasa o aceite 0.4-0.5% en ácido oleico
Índice de saponificación	187 mg de KOH	184-196 mg de KOH/kg
Yodo	80	75-94
Índice de peróxido	11 mqq/kg	hasta 15 miliequivalentes de oxígeno activo/kg de aceite

Fuente: NTE INEN 2421, 2009.

Elaborado por: Vargas, Johanna.2020.

Como se observa en la tabla 1-3, las características organolépticas y fisicoquímicas del aceite de *Cucurbita ficifolia* (sambo) se encuentran dentro de los rangos indicados según la NTE INEN 2421: 2012.GRASAS Y ACEITES COMESTIBLES.REQUISITOS.

#### 3.1.1.1. Densidad

En la tabla 12-3, se muestran algunas propiedades del aceite de *Cucurbita ficifolia* que permitieron determinar la calidad del aceite, entre ella se encuentra la densidad, donde se puede apreciar que el aceite de Sambo cumple con esta normativa obteniendo un valor de 0.914, este valor es comparable con el valor de la mayoría de los aceites vegetales que se encuentran entre 0.895 y 0.910mg/kg (NTE INEN 29, 2012).

#### 3.1.1.2. Índice de acidez

En tabla 12-3, se observa las propiedades físicas y químicas del aceite de sambo, donde se obtuvo un índice de acidez bajo, aplicando el método N° 2.201, establecido en la IUPAC (Gutiérrez, 1990), prueba que representa el porcentaje de ácido oleico presente en la muestra, obteniendo como resultado un índice de acidez de 1.68 mg de KOH/g, dato que se encuentra dentro de la normativa, este valor es comparable con la mayoría de aceites vegetales cuyo valor máximo es de 4,0 mg de KOH/g de grasa o aceite (NTE INEN 2421, 2012).

Al encontrarse la acidez dentro del rango establecido por el reglamento CE y la normativa es clasificado dentro de la categoría extra virgen.

#### 3.1.1.3. Índice de peróxidos

En la tabla 13-3 se muestra el índice de peróxido con un valor promedio de 14 meq de O<sub>2</sub>/kg de aceite, el mismo que se encuentra dentro de los valores aceptables, respecto a la categoría de aceites de oliva extravirgen. Según Alba (2004), al romperse una molécula de triglicéridos aumenta el porcentaje de ácidos grasos libres, por lo tanto, se eleva la acidez incrementando los niveles de glicerol, produciendo una oxidación en presencia de O<sub>2</sub>, ocasionando un aumento en el índice de peróxidos, con la formación de hiperóxidos, favoreciendo una descomposición y generando compuestos secundarios como aldehídos, ésteres, alcoholes y cetonas, característicos de olores como la rancidez (Hurtado,2003.pp.25).

#### 3.1.1.4. Índice de saponificación

En la tabla 12-3 se observa el valor del índice de saponificación, valor obtenido al aplicar el procedimiento estipulado por el INEN 0277 (INEN,1978) fue de 187, encontrándose dentro del resultado de referencia, que expresa los miliequivalentes de peróxido contenidos en un kilogramo de aceite. Parámetro que indica que al oxidarse puede formar peróxidos siendo la principal causa del deterioro químico generando olores desagradables.

#### 3.1.1.5. Índice yodo

En la tabla 14-3 se observa los resultados del control de calidad al Aceite de *Cucurbita ficifolia*, en la cual se obtuvo un resultado de 128 g, valor que se encuentra en el rango de normalidad, cuyo valor disminuirá a medida que los ácidos grasos poliinsaturados pierdan sus dobles enlaces.

### 3.2. Formulaciones cosméticas a base de aceites esenciales extra virgen de oliva, sambo y Manteca de karité

Los porcentajes de las materias primas utilizados en la formulación de la crema cosmética se establecieron de acuerdo con el diagrama pseudoternario y en función de los HLB de sus componentes para estimar la atracción que experimenta cada fase.

**Fase Oleosa:** Aceite de oliva, aceite de sambo, Manteca de Karité.

**Fase acuosa:** Agua destilada

Las emulsiones se prepararon como fase oleosa: Aceite de oliva, aceite de sambo, Manteca de Karité y como fase acuosa agua destilada, y una mezcla de surfactantes los cuales fueron determinados después de las combinaciones de tensioactivos para determinar cuál es más estable.

#### 3.2.1. Determinación del HLB requerido utilizando la combinación de una mezcla emulgente

Se investigó el HLB de cada aceite y manteca vegetal para calcular el HLB requerido con el fin de determinar el porcentaje de la mezcla emulgente.

La herramienta de formulación empleada en el estudio fue el cálculo de HLB, el cual se calculó con la siguiente formula:

$$HLB_{Req} = \frac{f_A * HLB_A + f_B * HLB_B + f_N * HLB_N}{100}$$

**Ecuación 1** Cálculo del HLB requerido

Donde los valores de Fa, Fb, Fn son las fracciones másicas de las grasas usadas en la mezcla, HLBA, HLBB y HLBN son los HLB de las grasas, obteniendo un HLB requerido de 7,72 para la emulsión (Véase en la tabla 13-3).

Se realizó los cálculos para determinar la mezcla de emulgente más estable entre la combinación de tensioactivos hidrófilos como T80, B21 y F52 con tensioactivos lipófilos como S20 y B2 aplicando las siguientes fórmulas (Véase en la tabla 14-3) (Véase en la tabla 15-3).

$$HLB_{Req} = \frac{\%T_1 * HLB_1 + (100 - \%T_1) * HLB_2}{100}$$

**Ecuación 2** Cálculo del % de Tensioactivo hidrófilo

$$\%T_2 = \%T_1 - 100$$

**Ecuación 3** Cálculo del % de Tensioactivo lipófilo

Se calculó la mezcla emulgente al 5% con la siguiente ecuación:

$$\%T_1 = 5 * \frac{T_1}{100}$$

$$\%T_2 = 5 * \frac{T_2}{100}$$

**Obteniéndose los siguientes resultados:**

**Tabla 2-3:** Cálculo del porcentaje de tensioactivos.

f.Oliva	HLB.Oliva	f M. Karité	HLB M. karité	f A. Sambo	HLB . A Sambo	HLB T1	HLB T2	HLB req	T1	T2	TENSIOACTIVOS
33	7,7	33	8	33	7,7	16	4,9	7,72	25,42	74,58	<b>HLB B21=16</b> <b>HLB B2=4.9</b>
33	7.7	33	8	33	7.7	16	4.3	7.72	29.25	70.75	<b>HLB B21=16</b> <b>HLB S80=4.3</b>
33	7,7	33	8	33	7,7	15	4,3	7,72	31,98	68,02	<b>HLB T80=15</b> <b>HLB S80= 4.3</b>
33	7,7	33	8	33	7,7	13,9	4,3	7,72	35,65	64,35	<b>HLB F52= 13.9</b> <b>HLB S80=4.3</b>
33	7,7	33	8	33	7,7	13,9	4,9	7,72	31,36	68,64	<b>HLB F52= 13.9</b> <b>HLB B2=4.9</b>
45	7,7	45	8	10	7,7	15	4,9	7,84	29,06	70,94	<b>HLB T80=15</b> <b>HLB B2= 4.9</b>
15	7,7	70	8	15	7,7	15	4,9	7,91	29,80	70,20	HLB T80=15 HLB B2= 4.9
15	7,7	70	8	15	7,7	15	4,3	7,91	33,74	66,26	HLB T80=15 HLB S80= 4.3
15	7,7	70	8	15	7,7	16	4,9	7,91	27,12	72,88	HLB B21=16 HLB B2=4.9
15	7,7	70	8	15	7,7	16	4,3	7,91	30,85	69,15	HLB B21=16 HLB S80=4.3
15	7,7	70	8	15	7,7	13,9	4,3	7,91	37,60	62,40	HLB F52= 13.9 HLB S80=4.3
15	7,7	70	8	15	7,7	13,9	4,9	7,91	33,44	66,56	HLB F52= 13.9 HLB B2=4.9

Elaborado por: Vargas, Johanna.2021.

**Tabla 3-3:** Cálculo de la mezcla de emulgente a diferentes concentraciones.

T1 al 5%	T2 al 5%	() 30% T1	() 30% T2	T1 al 3%	T2 al 3%	() 30% T1	() 30% T2	T1 al 2,5%	T2 al 2,5%	() 30% T1	() 30% T2	TENSIOACTIVOS
1,27	3,73	0,38	1,12	0,76	2,24	0,23	0,67	0,64	1,86	0,19	0,56	HLB B21=16 HLB B2.9
1,46	3,54	0,44	1,06	0,88	2,12	0,26	0,64	0,73	1,77	0,22	0,53	HLB B21=16 HLB S80= 4.3
1,60	3,40	0,48	1,02	0,96	2,04	0,29	0,61	0,80	1,70	0,24	0,51	HLB T80=15 HLB S80= 4.3
1,78	3,22	0,53	0,97	1,07	1,93	0,32	0,58	0,89	1,61	0,27	0,48	HLB F52= 13.9 HLB S80=4.3
1,57	3,43	0,47	1,03	0,94	2,06	0,28	0,62	0,78	1,72	0,24	0,51	HLB F52= 13.9 HLB B2=4.9
1,45	3,55	0,44	1,06	0,87	2,13	0,26	0,64	0,73	1,77	0,22	0,53	HLB T80=15 HLB B2= 4.9
1,49	3,51	0,45	1,05	0,89	2,11	0,27	0,63	0,75	1,75	0,22	0,53	HLB T80=15 HLB B2= 4.9
1,69	3,31	0,51	0,99	1,01	1,99	0,30	0,60	0,84	1,66	0,25	0,50	HLB T80=15 HLB S80= 4.3
1,36	3,64	0,41	1,09	0,81	2,19	0,24	0,66	0,68	1,82	0,20	0,55	HLB B21=16 HLB B2=4.9
1,54	3,46	0,46	1,04	0,93	2,07	0,28	0,62	0,77	1,73	0,23	0,52	HLB B21=16 HLB S80=4.3
1,88	3,12	0,56	0,94	1,13	1,87	0,34	0,56	0,94	1,56	0,28	0,47	HLB F52= 13.9 HLB S80=4.3
1,67	3,33	0,50	1,00	1,00	2,00	0,30	0,60	0,84	1,66	0,25	0,50	HLB F52= 13.9 HLB B2=4.9

Elaborado: Vargas, Johanna.2021.

**Tabla 4-3:** Cálculo de la Fase oleosa

% de Mezcla de materia grasa				Cálculo de la fase oleosa en 100g			Cálculo de la fase oleosa en 30g		
%fase oleosa	A. Oliva	M.Karité	A. Sambo	A. Oliva	M.Karité	A. Sambo	A. Oliva	M. karité	A. Sambo
30	15	70	15	4,50	21	4,50	1,35	6,30	1,35
30	45	45	10	13,50	13,50	3	4,05	4,05	0,90
30	33	33	33	9,90	9,90	9,9	2,97	2,97	2,97

Elaborado por: Vargas, Johanna.2021.

### 3.2.2. *Ensayos preliminares de las formulaciones*

Se preparó una emulsión O/W al 2.5% de tensioactivo véase en la tabla 5-3.

**Tabla 5-3:** Ensayos de formulación al 2.5% de tensioactivo.

INGREDIENTE INCI	CANTIDAD para 30g	FUNCION
Aceite de oliva	4.05	Emoliente
Aceite de sambo	0.9	Emoliente
Manteca de karité	4.05	Emoliente/ espesante
T80	0.22	Emulsificante
B2	0.53	Emulsificante
Agua	20.15	solvente

Elaborado por: Vargas, Johanna.2021.

### Segundo ensayo preliminar

Se preparó una emulsión O/W al 3% de tensioactivo para determinar la mezcla emulgente más estable (Véase en la tabla 17-3).

**Tabla 6-3:** Determinación de la mezcla de tensioactivos más estables al 3% de mezcla emulgente.

Componentes	Fórmula 1 (TB)	Fórmula 2 (TS)	Fórmula 3 (BB)	Fórmula 4 (BS)	Fórmula 5(FS)	Fórmula 6 (FB)
A. Oliva	1,35	1,35	1,35	1,35	1,35	1,35
A. Sambo	1,35	1,35	1,35	1,35	1,35	1,35
M.Karité	6,3	6,3	6,3	6,3	6,3	6,3
T1	0,27	0,3	0,24	0,28	0,34	0,3
T2	0,63	0,6	0,66	0,62	0,56	0,6
Agua	20,1	20,1	20,1	20,1	20,1	20,1

Elaborado por: Vargas, Johanna.2021.

### Tercer ensayo preliminar

Se preparó una emulsión O/W al 5% de tensioactivo para determinar la mezcla emulgente más estable (Véase en la tabla 7-3).

**Tabla 7-3:** Determinación de la mezcla de tensioactivos más estables al 3% de mezcla emulgente.

Componentes	Fórmula 1 (TB)	Fórmula 2 (TS)	Fórmula 3 (BB)	Fórmula 4 (BS)	Fórmula 5 (FS)	Fórmula 6 (FB)
A. Oliva	1,35	1,35	1,35	1,35	1,35	1,35
A. Sambo	1,35	1,35	1,35	1,35	1,35	1,35
M. Karité	6,3	6,3	6,3	6,3	6,3	6,3
T1	0,45	0,51	0,41	0,46	0,56	0,5
T2	1,05	0,99	1,09	1,04	0,94	1
Agua	19,5	19,5	19,5	19,5	19,5	19,5

**Elaborado por:** Vargas, Johanna.2021.

Se realizó la prueba de la centrifuga con el fin de comprobar que emulsión es la más estable como lo detalla la tabla 8-3.

**Tabla 8-3:** Resultados de la Prueba de la Centrifuga.

ENSAYO	RESULTADO
Fórmula 1	Separación de fases
Fórmula 2	Separación de fases
Fórmula 3	Estable
Fórmula 4	Separación de fases
Fórmula 5	Separación de fases
Fórmula 6	Estable

**Elaborado por:** Vargas, Johanna.2021.

### Cuarto ensayo preliminar

Se preparó una emulsión O/W al 2.5% de tensioactivo adicionando un componente para enmascarar el olor característico de sambo en las mezclas emulgentes más estable véase en la tabla 9-3.

**Tabla 9-3:** Comportamiento de la emulsión al adicionar un componente más en las mezclas de tensioactivos más estables.

COMPONENTES	Fórmula 3 (BB)	Fórmula 6 (FB)	COMPONENTES	Fórmula 3 (BB)	Fórmula 6 (FB)
A. Oliva	1,35	1,35	A. Oliva	2,13	2,13
A. Sambo	1,35	1,35	A. Sambo	2,13	2,13
M.Karité	3,15	3,15	M.Karité	3,15	3,15
A. Coco	3,15	3,15	Alcohol cetílico	1,56	1,56
T1	0,31	0,38	T1	0,31	0,38
T2	0,44	0,37	T2	0,44	0,37
Agua	20,25	20,25	Agua	20,28	20,28

Elaborado por: Vargas, Johanna.2021.

Se realizó la prueba de la centrifuga con el fin de comprobar que emulsión es la más estable como lo detalla la tabla 10-3.

**Tabla 10-3:** Prueba de la Centrifuga.

ENSAYO	RESULTADO
Fórmula 3+TB+TB+CC	Separación de fases
Fórmula 6+TF+TB+CC	Separación de fases
Fórmula 3+TB+TB+AC	Estable
Fórmula 6 TF+TB+AC	Estable

Elaborado por: Vargas, Johanna.2021.

Para la selección de la mezcla emulgente final se descartó según el nivel de toxicidad cutánea detallada en la tabla 11-3.

**Tabla 11-3:** Toxicidad cutánea de los Tensioactivos.

	TOXICIDAD DE LOS TENSIOACTIVOS	
BS2	BS721	F52
Toxicidad cutánea aguda	Toxicidad cutánea aguda	Toxicidad cutánea aguda
DL50: >2.000mgKg/	DL50: >2.000mgKg/	LD50: >12.0 (g/kg body-weight)

Elaborado por: Vargas, Johanna.2021.

Una vez analizada la toxicidad de los tensioactivos se seleccionó el de menor toxicidad, en este caso F52 y BS2 y se realizaron los cálculos de porcentajes de los aceites de acuerdo con el diagrama ternario, cuyas formulaciones se detallan en la tabla 12-3:

**Tabla 12-3:** Porcentaje de la fase oleosa según el diagrama ternario.

Porcentaje del Diagrama Ternario			TOTAL	HLB req	%fase oleosa	Cálculo de la fase oleosa al 30%			Cálculo de la fase oleosa al 30% de 30%			Formulaciones			
A. Oliva	A. Sambo	M. Karité				L	A. Oliva	A. Sambo	M. Karité	A. Oliva	A. Sambo	M. Karité	T1 (2.5%)	T2 (2.5%)	Agu a
5	5	90	100	7,97	30	1,5	1,5	27	0,45	0,45	8,1	0,25	0,5	20,2	30
10	10	80	100	7,94	30	3	3	24	0,9	0,9	7,2	0,25	0,5	20,2	30
15	15	70	100	7,91	30	4,5	4,5	21	1,35	1,35	6,3	0,25	0,5	20,2	30
20	20	60	100	7,88	30	6	6	18	1,8	1,8	5,4	0,25	0,5	20,2	30
25	25	50	100	7,85	30	7,5	7,5	15	2,25	2,25	4,5	0,25	0,5	20,2	30
30	30	40	100	7,82	30	9	9	12	2,7	2,7	3,6	0,25	0,5	20,2	30
35	35	30	100	7,79	30	10,5	10,5	9	3,15	3,15	2,7	0,25	0,5	20,2	30
40	40	20	100	7,76	30	12	12	6	3,6	3,6	1,8	0,25	0,5	20,2	30
45	45	10	100	7,73	30	13,5	13,5	3	4,05	4,05	0,9	0,25	0,5	20,2	30
45	10	45	100	7,835	30	13,5	3	13,5	4,05	0,9	4,05	0,25	0,5	20,2	30
40	20	40	100	7,82	30	12	6	12	3,6	1,8	3,6	0,25	0,5	20,2	30
35	30	35	100	7,805	30	10,5	9	10,5	3,15	2,7	3,15	0,25	0,5	20,2	30
30	40	30	100	7,79	30	9	12	9	2,7	3,6	2,7	0,25	0,5	20,2	30
25	50	25	100	7,775	30	7,5	15	7,5	2,25	4,5	2,25	0,25	0,5	20,2	30
20	60	20	100	7,76	30	6	18	6	1,8	5,4	1,8	0,25	0,5	20,2	30
15	70	15	100	7,745	30	4,5	21	4,5	1,35	6,3	1,35	0,25	0,5	20,2	30
10	80	10	100	7,73	30	3	24	3	0,9	7,2	0,9	0,25	0,5	20,2	30
5	90	5	100	7,715	30	1,5	27	1,5	0,45	8,1	0,45	0,25	0,5	20,2	30
10	45	45	100	7,835	30	3	13,5	13,5	0,9	4,05	4,05	0,25	0,5	20,2	30

20	40	40	100	7,82	30	6	12	12	1,8	3,6	3,6	0,25	0,5	20,2	30
30	35	35	100	7,805	30	9	10,5	10,5	2,7	3,15	3,15	0,25	0,5	20,2	30
40	30	30	100	7,79	30	12	9	9	3,6	2,7	2,7	0,25	0,5	20,2	30
50	25	25	100	7,775	30	15	7,5	7,5	4,5	2,25	2,25	0,25	0,5	20,2	30
60	20	20	100	7,76	30	18	6	6	5,4	1,8	1,8	0,25	0,5	20,2	30
70	15	15	100	7,745	30	21	4,5	4,5	6,3	1,35	1,35	0,25	0,5	20,2	30
80	10	10	100	7,73	30	24	3	3	7,2	0,9	0,9	0,25	0,5	20,2	30
90	5	5	100	7,715	30	27	1,5	1,5	8,1	0,45	0,45	0,25	0,5	20,2	30

Elaborado por: Vargas, Johanna.2021.

A cada ensayo se realizó las pruebas organolépticas, las pruebas de la estabilidad, prueba de extensibilidad y el pH. Cada prueba se realizó por triplicado detallado en la tabla 13-3:

**Tabla 13-3:** Pruebas Físico –químicas obtenidas de las formulaciones.

#	Formulación TA (2.5%)	Extensibilidad									pH			Estabilidad			Características				
		1		PRO MEDIO	2		PRO MEDIO	3		PRO MEDIO	1	2	3	PRO MEDIO	cm	Valor total de tubo	%	Color	Olor	Aspecto	
		Dh (cm)	Dv (cm)		Dh (cm)	Dv (cm)		Dh (cm)	Dv (cm)		PRO MEDIO FINAL										
1	Ensayo 1: Oliva0.45 % Sambo	8,1	6,9	7,5	7,7	7,8	7,7	6,9	7,5	7,2	7,4	7	7	7	7	0,2	6,5	3,08	Blanco	No	Presenci

	0.45% Karité 8.1%																				a de grupos (arenosa)
2	Ensayo 2: Oliva 0.9% Sambo 0.9% Karité 7.2%	7,2	7,9	7,5	7	7	7	7,2	7,1	7,1	7,2	6,9	6,9	6,9	6,9	0,4	6,5	6,15	Blanco hueso	No	Presencia de grupos (arenosa)
3	Ensayo 3: Oliva 1.35% Sambo 1.35% Karité 6.3%	9,5	8	8,7	7,8	8,2	8	7,5	8	7,7	8,1	6,9	6,9	6,9	6,9	0,3	7	4,2	Pantone 12-052 5TP6 LUMINARY GREEN	No	Presencia de grupos
4	Ensayo 4: Oliva 1.8% Sambo 1.8% Karité 5.4%	6,4	6,5	6,4	6,3	7,3	6,8	6,5	6,2	6,3	6,5	7,4	7,4	7,49	7,49	0,6	7	8,5	Pantone 12-052 5TP6 LUMINARY GREEN	No	Presencia de grupos
5	Ensayo 5: Oliva 2.25%	6,8	6,7	6,7	6,6	6,5	6,55	6,9	6,8	6,8	6,7	7,3	7,3	7,3	7,3	3,1	7,5	41,3	Pms372	No	Pres

	% Sambo 2.25% Karité 4.5%																					enci a de gru mos cons isten cia liqui da
6	Ensayo 6: Oliva2.7% Sambo 2.7% Karité 3.6%	8,1	8,1	8,1	7,9	8,1	8	7,5	7,6	7,5	7,8	7,4	7,4	7,4	7,4	3,2	7,5	42,7	PMS373	No	Pres enci a de poco s gru mos cons isten cia aren osa	
7	Ensayo 7: Oliva3.15 % Sambo 3.15% Karité 2.7%	8,5	8	8,2	7,4	7,6	7,5	8,2	7,9	8,1	7,9	7,3	7,3	7,3	7,3	4,7	8	58,7 5	PMS374	Carac terístic o a Sam bo	Pres enci a de prec ipita do	
8	Ensayo 8: Oliva3.6%	9,2	9,2	9,2	9,2	8	8,6	9,2	9,2	9,2	9	7,3	7,3	7,3	7,25	4,6	8	57,5 0	PMS373	Carac terístic o	Pres enci	

	Sambo 3.6% Karité 1.8%																			stico a Sam bo	a de gota s de aceit e
9	Ensayo 9: Oliva4.05 % Sambo 4.05% Kari té 0.9%	9,2	9,2	9,2	9,2	9,2	9,2	9,2	9,2	9,2	9,2	7,2	7,2	7,2	7,20	4,7	8,2	57,3 2	MPS375	Cara cterí stico a Sam bo	Asp ecto aceit osa
1	Ensayo 10: Oliva4.05 % Sambo 0.9% Karité 4.05%	8	7,6	7,8	9,2	8	8,6	7,8	8,2	8	8,1	7,3	7,3	7,3	7,31	4,1	8,2	50,0 0	PMS372	No	Pres enci a de pequ ños gru mos
2	Ensayo 11: Oliva3.6% Sambo 1.8% Karité 3.6%	8,4	8,2	8,3	8,3	7,8	8,05	8,5	8,7	8,6	8,3	7,1	7,1	7,16	7,17	3,1	6,9	44,9 3	PMS 373	No	Liqu ida con gru mos
3	Ensayo 12: Oliva3.15 % Sambo 2.7% Karité 3.15%	9,2	9,2	9,2	8,7	8,5	8,6	9,2	9,2	9,2	9	7,3	7,3	7,3	7,26	3,1	6,7	46,2 7	PMS 373	No	Con siste ncia liqui da con

																					gru mos
4	Ensayo 13: Oliva2.7% Sambo 3.6% Karité 2.7%	8,5	9,2	8,8	9,2	9,2	9,2	8,4	9,2	8,8	8,9	7,3	7,3	7,3	7,32	3,4	7,3	46,5 8	PMS 374	Carac terí stico a Sam bo	Goti tas de aceit e
5	Ensayo 14: Oliva2.25 % Sambo 4.5% Karité 2.25%	9,2	9,2	9,2	9,2	9,2	9,2	9,2	9,2	9,2	9,2	7,2	7,2	7,29	7,29	2,9	6,4	45,3 1	PMS 374	Carac terí stico a Sam bo	Asp ecto pres enci a de gotit as de aceit e
6	Ensayo 15: Oliva1.8% Sambo 5.4% Karité 1.8%	9,2	9,2	9,2	8,6	8,7	8,65	9,2	9,2	9,2	9,0	8,1	8,2	8,23	8,2	5,4	6,8	79,4 1	PMS 373	No	Pres enci a de gotit as de aceit e y poco s

																					gru mos
7	Ensayo 16: Oliva1.35 % Sambo 6.3% Karité 1.35%	9,4	9,4	9,4	7,8	9	8,4	8,5	8,5	8,5	8,7	8,1	8,1	8,12	8,12	5,6	7,1	78,8 7	PMS 373	No	Pres enci a de pequ eñas gotit as de aceit e
8	Ensayo 17: Oliva0.9% Sambo 7.2% Karité 0.9%	9	8,8	8,9	9	8,6	8,8	9,4	9,4	9,4	9,0	7,9	7,9	7,91	7,91	5	7,8	64,1 0	PMS 373	Cara cterí stico a Sam bo	pres enci a de gotit as de aceit e
9	Ensayo 18: Oliva0.45 % Sambo 8.1% Karité 0.45%	9,4	9,4	9,4	9,4	9,4	9,4	9,4	9,4	9,4	9,4	7,7	7,7	7,77	7,74	3,9	7	55,7 1	PMS 375	Cara cterí stico a Sam bo	Asp ecto hom ogén eo
1	Ensayo 19: Oliva0.9% Sambo	7,1	6,7	6,9	7,4	7,4	7,4	7,1	7,4	7,2	7,1	7,3	7,7	7,3	7,43	3,5	6,7	52,2 4	PMS 372	Cara cterí stico	Pres enci a de

	4.05% Kari té 4.05%																			a Sam bo	gru mos
2	Ensayo 20: Oliva 1.8% Sambo 3.6% Kari té 3.6%	7,5	7,3	7,4	7,5	7,4	7,45	7,7	7,7	7,7	7,5	7,1	7,1	7,15	7,15	3,5	7,1	49,3 0	PMS 372	Lige ro olor a Sam bo	Pres enci a de gru mos
3	Ensayo 21: Oliva 2.7% Sambo 3.15% Kari té 3.15%	8,3	8	8,1	7,6	7,7	7,65	8,1	7,8	7,9	7,9	7,1	7,1	7,17	7,17	3,7	6	61,6 7	Verde té	Carac terístic o a Sam bo	Pres enci a de gru mos
4	Ensayo 22: Oliva 3.6% Sambo 2.7% Kari té 2.7%	9,2	9,2	9,2	8	8,5	8,25	8,2	8,4	8,3	8,5	6,8	6,8	6,86	6,86	4,1	7	58,5 7	Verde té	Carac terístic o a Sam bo	Pres enci a de poco s gru mos
5	Ensayo 23: Oliva 4.5% Sambo 2.25% Kari té 2.25%	8,5	8	8,2	8,6	8,4	8,5	7,8	7,6	7,7	8,1	6,9	6,9	6,94	6,95	3,5	6,5	53,8 5	Verde té Olor	Carac terístic o a Sam bo	Míni ma pres enci a de gru mos

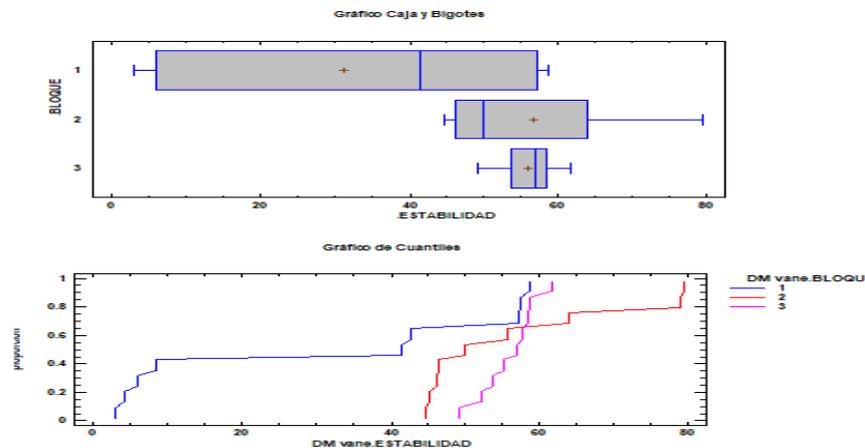
6	Ensayo 24: Oliva5.4% Sambo 1.8%Karité 1.8%	8,9	8,8	8,8	9	9	9	9,4	9,4	9,4	9,0	6,8	6,8	6,8	6,81	4	6,8	58,8 2	Verde té	Cara cterí stico a Sam bo	Pres enci a de pequ ños gru mos y gota s de aceit e
7	Ensayo 25: Oliva6.3% Sambo 1.35%Kari té 1.35%	9,2	9,4	9,3	8,9	8,2	8,55	9,4	9,4	9,4	9,0	6,9	6,9	6,9	6,91	3,6	6,5	55,3 8	Blanco cremoso	Cara cterí stico a Sam bo	Pres enci a de poco s gru mos
8	Ensayo 26: Oliva7.2% Sambo 0.9%Karité 0.9%	9,4	9,4	9,4	9,4	9,4	9,4	9,4	9,4	9,4	9,4	7,0	7,0	7,04	7,04	4	7	57,1 4	Blanco o crema hueso	Cara cterí stico a Sam bo	hom ogén ea sin pres enci a de gru mos sens

																					ación aceitosa
9	Ensayo 27: Oliva 8.1% Sambo 0.45% Kari té 0.45%	9,4	9,4	9,4	9,4	9,4	9,4	9,4	9,4	9,4	9,4	7,2	7,2	7,23	7,23	3,7	6,4	57,8 1	Blanco cremoso	Característica de Sambo	Presencia de grumos

Elaborado por: Vargas, Johanna.2021.

### 3.2.3. Análisis de las pruebas realizadas a la formulación

#### 3.2.3.1. Prueba de la estabilidad



**Gráfico 2-3:** Prueba de Estabilidad.

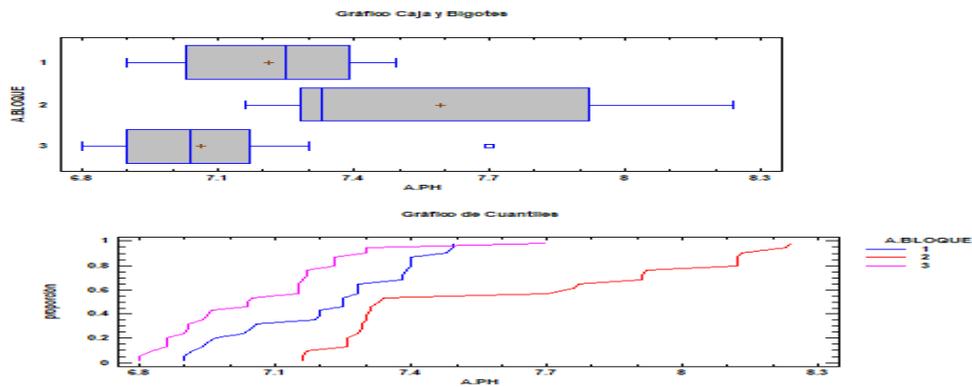
Elaborado por: Vargas, Johanna.2021.

En el Gráfico 1-3 se observa que en el bloque 1 varía el porcentaje de manteca de karité, respecto a la estabilidad, se encuentra entre el 5%- 58% con una distribución central a la derecha. La mediana es mayor a la media con una variación de 53%, se logró visualizar que los datos se concentran en la parte central y tiene muy pocos datos atípicos.

En el Gráfico 3-3 se observa que en el bloque 2 que varía el porcentaje de aceite de sambo, se logró estabilidad en un rango de 43%-80% con una distribución centrada a la izquierda. La mediana es menor la media con una variación de 37%, además tiene una gran cantidad de datos atípicos en el bigote derecho.

En el Gráfico 1-3 se observa que en el bloque 3 que varía el porcentaje de Aceite de Oliva se logró una estabilidad que se encuentra en un rango de 52%- 58%, con una distribución central a la derecha, ya que la media es mayor a la mediana con una variación de 6%.

### 3.2.3.2. Prueba del pH



**Gráfico 2-3:** Prueba de Ph

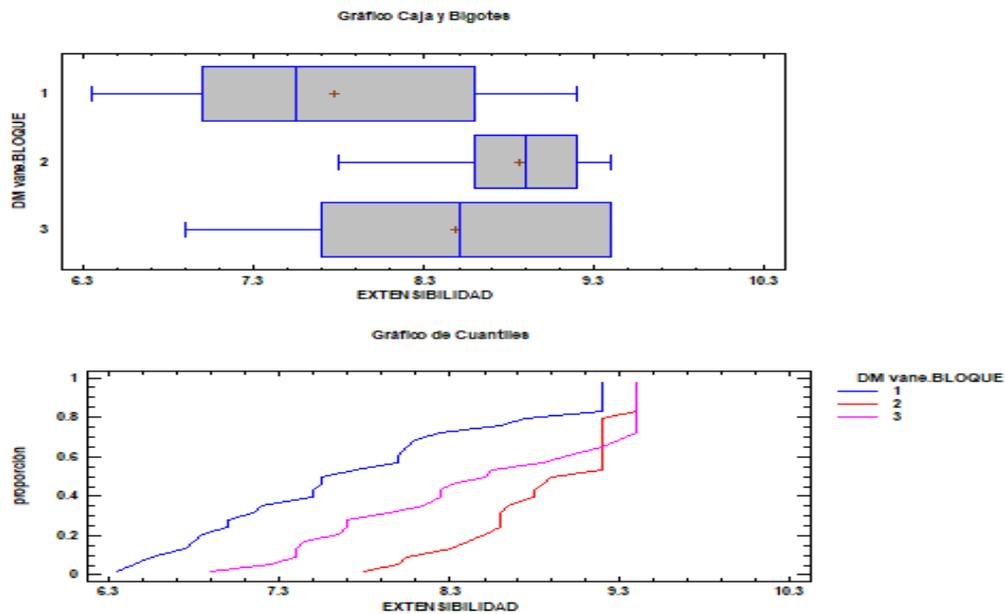
Elaborado por: Vargas, Johanna.2021.

En el Gráfico 2-3 se observa que en el bloque 1 que varía el porcentaje de manteca de karité, se logró un pH que se encuentra entre 7- 7.4 con una distribución central a la derecha, donde la mediana es mayor a la media con una variación de 0.4 %, se logró visualizar que los datos se concentran en la parte central y además tiene una gran cantidad de datos atípicos en el bigote izquierdo por lo que se pudo visualizar con un bigote más largo izquierdo.

En el Gráfico 2-3 se observa que en el bloque 2 que varía el porcentaje de aceite de sambo, se logró un pH que se encuentra en un rango de 7.2-7.9 con una distribución centrada a la izquierda ya que la mediana es menor la media con una variación de 0.7, además tiene una gran cantidad de datos atípicos en el bigote derecho por lo que se pudo visualizar con un bigote más largo derecho.

En el Gráfico 2-3 se observa que en el bloque 3 que varía el porcentaje de Aceite de Oliva se logró un pH que se encuentra en un rango de 6.9 -7.15, con una distribución central, ya que la media es menor a la mediana con una variación de 0.25, además presenta una gran cantidad de datos atípicos tanto en el bigote derecho como izquierdo.

### 3.2.3.3. Prueba de la extensibilidad



**Gráfico 3-3:** Prueba de la extensibilidad

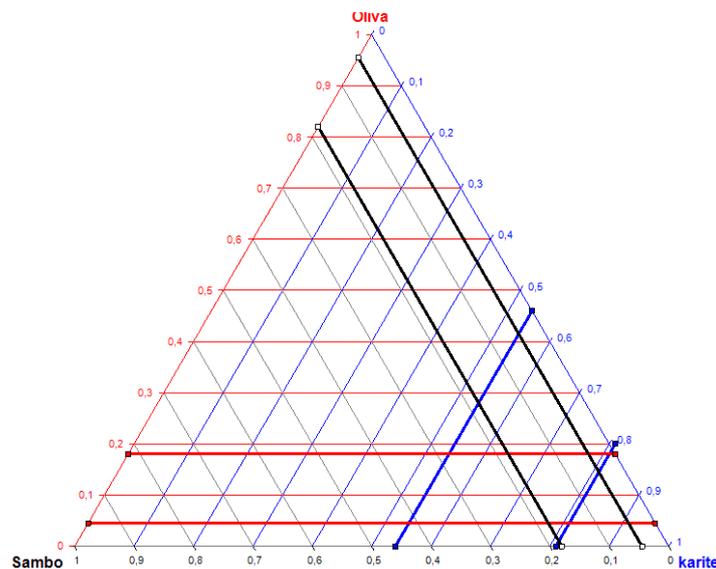
Elaborado por: Vargas, Johanna.2021.

En el Gráfico 3-3 se observa que en el bloque 1 que varía el porcentaje de manteca de karité, se logró una extensibilidad que se encuentra entre 7.1 cm- 8.5 cm con una distribución central a la Izquierda, donde la mediana es menor a la media con una variación de 1.4 cm, se logró visualizar que los datos se concentran en la parte central y además tiene una gran cantidad de datos atípicos en el bigote izquierdo por lo que se pudo visualizar con un bigote más largo izquierdo.

En el Gráfico 3-3 se observa que en el bloque 2 que varía el porcentaje de aceite de sambo, se logró una extensibilidad que se encuentra en un rango de 8.6 cm-9.3 cm con una distribución centrada ya que la mediana es mayor a la media con una variación de 0.7 cm, además tiene una gran cantidad de datos atípicos en el bigote izquierdo por lo que se pudo visualizar con un bigote más largo izquierdo.

En el Gráfico 3-3 se observa que en el bloque 3 que varía el porcentaje de Aceite de Oliva se logró una extensibilidad que se encuentra en un rango de 7.7 - 9.4, con una distribución central, ya que la media es mayor a la mediana con una variación de 1.7, además presenta una gran cantidad de datos atípicos en el bigote izquierdo.

### 3.2.4. *Diseño experimental*



**Gráfico 4-3:** Límites del diseño experimental.

Elaborado por: Vargas, Johanna.2021.

Según el Programa de Calidad para el Sector Cosméticos (Safe,2018) recomienda verificar la estabilidad de emulsiones y suspensiones con el fin de evitar posibles floculaciones, sedimentación, separación de fases entre otros, por lo tanto al realizar la formulación experimental se obtuvo un total de 27 formulaciones preliminares como se detalla en el diseño experimental (véase en el gráfico 4-3), las cuales fueron sometidas a la prueba de estabilidad, determinando que la mejor formulación se encuentran dentro de los siguientes rangos aceite de oliva de 0.45% hasta 1.8%, aceite de sambo de 0.45% hasta 1.8% y manteca de karité de 5.4% hasta 8.1% .

De las formulaciones seleccionadas se realizó la prueba del pH y extensibilidad, obteniendo los siguientes rangos: pH 6.91 a 7.49, extensibilidad de 6.53 a 8.17, según Orlandi,2004, el pH ideal de la piel se encuentra de 4,5 a 5,9; por lo cual se procede a disminuir el pH de la formulación utilizando ácido láctico o trietanolamina. Con respecto a la extensibilidad no existen valores de referencia para comparar, la propia microempresa establecerá sus límites de tolerancia.

### 3.3. Formulación Final

**Tabla 14-3:** Porcentaje de la formula final.

Componente	Porcentaje
Aceite de oliva	3%
Aceite de sambo	3%
Manteca de Karité	24%
T1	0.83%
T2	0.83%
Glicerina	5%
Propilenglicol	3%
Goma Xantan	0.1%
Fenoxietanol	0.1%
Aroma	0.1%
Agua purificada	Csp 100%

**Elaborado por:** Vargas, Johanna.2021.

Una vez analizadas las 4 mejores formulaciones, se eligió la mejor formulación la cual presenta pH cercano a la piel, siendo esta la formulación 2 con un pH de 6.91, producto al que se le adicionó otros componentes para mejorar la formulación, la presencia de glicerina y propilenglicol aportan una humectación adicional, la goma xantana es un estabilizador polimérico con el fin de mantener la emulsión en el tiempo detalladas en la tabla 14-3.

#### 3.3.1. Pruebas organolépticas, físico-químicas y microbiológicas a la formulación final

**Tabla 15-3:** Resultados de Pruebas Organolépticos, Pruebas Físico-químicas.

CARACTERÍSTICAS ORGANOLÉPTICAS		
PARÁMETRO	RESULTADO	ESPECIFICACIÓN
Color	Color blanco hueso	NTE INEN 2867 Requisitos. Productos cosméticos
Olor	Característico de la fragancia	NTE INEN 2867 Requisitos. Productos cosméticos
Aspecto	Homogénea	NTE INEN 2867 Requisitos. Productos cosméticos
PROPIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS		ESPECIFICACIONES
pH	6.86	Norma INEN AGENTES SURFACTANTES. DETERMINACIÓN DEL pH.
Extensibilidad	Normal	Criterios de la empresa
Estabilidad (Centrifuga)	Estable	Criterios de la empresa

PRUEBAS MICROBIOLÓGICAS		ESPECIFICACIONES
Aerobios mesófilos totales	No hubo crecimiento	$\leq 1 \times 10^2$ UFC por g o ml
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Ausencia	Ausencia en 1 g o ml
<i>Escherichia coli</i>	Ausencia	Ausencia en 1 g o ml
<i>Staphylococcus aureus</i>	Ausencia	Ausencia en 1 g o ml
<i>Candida albicans</i>	Ausencia	Ausencia en 1 g o ml

**Elaborado por:** Vargas, Johanna.2021.

En la Tabla 15-3 se detalla los resultados obtenidos en las pruebas organolépticas, físico-químicas y microbiológicas de la formulación final, los resultados se encontraron dentro de los parámetros establecido en la normativa internacional de cosméticos la NORMA ISO 22716. Se consideró importante realizar un análisis microbiológico con el fin de evitar el riesgo sanitario, garantizando así, la seguridad del consumidor. De las pruebas microbiológicas se observó ausencia de microorganismos, un recuento elevado podría deberse a una contaminación de la materia prima, incluso una deficiente manipulación durante el proceso de elaboración por y por ende alteración de producto.

## CONCLUSIONES

En la presente investigación se formuló una emulsión cosmética a base de tres componentes naturales con acción emoliente destinadas a personas que padecen piel atópica que tienden a presentar una alteración en la barrera lipídica. La formulación fue caracterizada física y químicamente y junto a pruebas microbiológica, los resultados obtenidos se encontraron dentro de los parámetros de calidad requeridos según la norma INEN 22717 de Productos Cosméticos y sus requisitos.

De igual forma, se realizó la formulación a través de un diagrama ternario que buscó reducir al mínimo el número de ensayos y realizar las combinaciones posibles limitando el uso de materia prima innecesaria con su respectiva caracterización fisicoquímica. La formulación 2 fue la más estable, representada por un 3% de Aceite de Oliva, 3% de Aceite de Sambo y 24% Manteca de Karité, con un mayor porcentaje en el último componente que aporta un efecto emoliente protegiendo la barrera cutánea lo que impide una alteración en la barrera lipídica.

Según los resultados obtenidos, la formulación 2 fue la más estable, la estabilidad se comprobó mediante la prueba de la centrifuga la misma que no presentó cambios ni evidenció separación de las fases.

La formulación final fue caracterizada, mediante pruebas fisicoquímicas, y microbiológicas establecidas según la normativa ISO 22716 cumpliendo con los parámetros de calidad que garantizan que el producto cosmético es seguro para el consumidor, recalcando que un análisis microbiológico garantiza la seguridad del consumidor y la calidad del cosmético además de ofrecer una buena imagen por parte de la empresa.

## **RECOMENDACIONES**

Impulsar el uso de productos cosméticos a base de componentes naturales, para disminuir el impacto ambiental y cultural generados por productos cosméticos elaborados con sustancias químicas.

Promover la formulación de productos cosméticos a base de componentes naturales con aplicación farmacológica.

Fortalecer estudios farmacognosicos de especies naturales sobre sus propiedades farmacológicas y beneficios y llevarlos a una formulación.

## **BIBLIOGRAFÍA**

**ADAMU, M.,** ‘Actividad antimicrobiana del aceite de la semilla de *Butyrospermum parkii* Manteca de karité’. *Revista Internacional de Biología y Medicina Modernas*, 2013, (United State of America), vol.3, no.2, pp. 202-205.

**ANDRES, T.,** 2006. *Origin, morphological variation, and uses of Cucurbita ficifolia, the mountain squash. Proceedings.* North Carolina, USA, 17-21, pp. 1–12.

**ANTWI, A. O. ET AL.** 2018.‘Stigmasterol Alleviates Cutaneous Allergic Responses in Rodents’, *BioMed Research International*, 2018. DOI: 10.1155/2018/3984068.

**ARANBERRI, I. ET AL.,** 2006.‘Elaboración y caracterización de emulsiones estabilizadas por polimeros y agentes tensioactivos’, *Revista Iberoamericana de Polímeros*, vol.7, no.3, p. 21. Disponible en: <http://www.ehu.es/reviberpol/pdf/AGO06/aranberri.pdf>.

**BALIC, A. ET AL.,** 2020.‘Omega-3 versus Omega-6 polyunsaturated fatty acids in the prevention and treatment of inflammatory skin diseases’, *International Journal of Molecular Sciences*, vol.21, no.3, pp. 1–25. DOI: 10.3390/ijms21030741.

**BARTOSZ KULCZYNSKI, A. G.-M.,** 2019.‘The Profile of Carotenoids and Other Bioactive Molecules in Various Pumpkin Fruits ( *Cucurbita maxima* Duchesne) Cultivars’, 24. DOI: 10.3390/molecules24183212.

**BASELGA, E.,** 2003. ‘Tratamiento de la dermatitis atópica en la infancia’, *Actas Dermo-Sifiliograficas.* Elsevier, vol.94, no.6, pp. 345–355. DOI: 10.1016/S0001-7310(03)76704-0.

**BONILLA, M. L.,** 2019. Compuestos fenólicos y actividad antioxidante en la harina de semilla de calabaza ( *Cucurbita ficifolia* )’.

**BOOTHE, W. D., TARBOX, J. A. y TARBOX, M. B.,** 2017. ‘Atopic Dermatitis : Pathophysiology’, pp. 21–37. DOI: 10.1007/978-3-319-64804-0.

**BRESSANI, R.,** 2015.‘“ Caracterización química y nutricional de la semilla , pulpa y cáscara de chilacayote ( *Cucúrbita ficifolia* ) y aplicaciones en el desarrollo de productos ”’, (023). Disponible en: [http://168.234.106.70/library/images/c/c7/FODECYT\\_2008.23.pdf](http://168.234.106.70/library/images/c/c7/FODECYT_2008.23.pdf).

**CARRILLO, P.**, 2009. 'Propiedades del aceite de oliva en el mantenimiento de la integridad cutánea', *Seminario médico, ISSN 0488-2571, Vol. 61, N.º. 2, 2009*, pp. 61–90. Disponible en: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=3421677>.

**CARTAYA, O. AND REYNALDO, I.**, 2001. 'Reseña bibliográfica FLAVONOIDES : CARACTERISTICAS QUÍMICAS Y APLICACIONES. Cartaya e Inés Reynaldo', *Cultivos tropicales*, vol.22,no.2, pp. 5–14.

**CONDE-TABOADA, A., GONZÁLEZ-BARCALA, F. J. AND TORIBIO, J.** 2008 'Dermatitis atópica infantil', *Actas Dermo-Sifiliográficas*, vol. 99 no.9, pp. 690–700. DOI: 10.1016/s0001-7310(08)76173-8.

**CUTIPA, K. E. P.**, 2013. 'EVALUACIÓN DEL PROCESO FERMENTATIVO DE LA ACEITUNA (*Olea europaea sativa* Hoffg, Link), VARIEDAD MANZANILLA EN ESTADO ENVERO Y SU INFLUENCIA EN LA ACEPTABILIDAD SENSORIAL Y RENDIMIENTO EN LA REGIÓN ICA DURANTE EL AÑO 2012', 66, pp. 37–39. Disponible en: [http://repositorio.unjbg.edu.pe/bitstream/handle/UNJBG/2951/150\\_2013\\_pinto\\_cutipa\\_ke\\_fcag\\_alimentarias.pdf?sequence=1&isAllowed=y](http://repositorio.unjbg.edu.pe/bitstream/handle/UNJBG/2951/150_2013_pinto_cutipa_ke_fcag_alimentarias.pdf?sequence=1&isAllowed=y).

**FEMENÍA, F. ET AL.**, 2006. 'Infecciones en el paciente', *Revista Española de Anestesiología y Reanimación*, 53(10), pp. 666–667. Disponible en: <https://www.medigraphic.com/pdfs/alergia/al-2018/al183b.pdf>.

**FIGUEROA-INFANTE, A. S., FONSECA-SANTANILLA, E. B. AND REYES-LIZCANO, F. A.**, 2009. 'TEMA 35 Estudio e identificación de los distintos tipos de piel . Clasificación de los tipos de piel . Métodos y medios para la identificación de los diferentes tipos de piel : lámpara de Wood . Cuidados básicos de cada uno de los tipos de piel', 13(1), pp. 45–70. Disponible en: <https://www.feandalucia.ccoo.es/docu/p5sd4870.pdf>.

**GERARD J. TORTORA, B. D.**, 2011. *Principios de Anatomía y Fisiología Tortora 11ed.pdf*. 13ª. Panamerican. Disponible en: <https://es.slideshare.net/jozmark/tortora-65257077>.

**HAYQUI, H.**, 2016 'Extracción y caracterización de aceite de semillas de zapallo de la variedad Macre ( *Cucurbita maxima* ), pp. 1–101.

**INFOJARDIN.**, *olea-europaea-olivo-olivera-aceituno @ fichas.infojardin.com*. Disponible en:

<http://fichas.infojardin.com/arboles/olea-europaea-olivo-olivera-aceituno.htm>.

**KOLATOROVA, L. ET AL.,** 2017. 'Prenatal exposure to bisphenols and parabens and impacts on human physiology', *Physiological Research*, vol.66, no.3, pp. S305–S315. DOI: 10.33549/physiolres.933723.

**KRISHNA, N. K., KOCI, M. D. y GUIX, S.,** 2013. *Immune responses, Astrovirus Research: Essential Ideas, Everyday Impacts, Future Directions*. DOI: 10.1007/978-1-4614-4735-1\_5.

**LASCANO, G. ET AL.,** 2011. 'ISAAC III: La Dermatitis Atópica en Quito', *Revista Ecuatoriana de Medicina y Ciencias Biológicas*, XXXII, pp. 11–23.

**LEYVA-MONTERO, M. DE LOS Á. ET AL.,** 2020. 'Dermatitis atópica: fisiopatología y sus implicaciones clínicas', pp.24.

**MARTÍNEZ RODRÍGUEZ, M.,** 2014. 'Formación y caracterización de emulsiones altamente concentradas de betún en agua', p. 1 recurs electrònic (297 ). Disponible en: <http://hdl.handle.net/2445/58163>.

**MONTESINOS, G.,** 2019. 'EMULSIONES DE APLICACIÓN CUTÁNEA PARA EL TRATAMIENTO DE LA DERMATITIS ATÓPICA', pp. 21.

**NATHAN, A. J. AND SCOBELL, A.,** 2012. 'EVALUACIÓN DEL EFECTO DE LAS VARIABLES DE FORMULACIÓN Y DE PROCESO SOBRE EL COMPORTAMIENTO REOLÓGICO Y PROPIEDADES FÍSICAS PARTIENDO DE MICROEMULSIONES DE SILICONA INDUSTRIAS QUÍMICAS SAINT GERMAIN LTDA.', *Foreign Affairs*, vol.91, no.5, pp. 1689–1699. DOI: 10.1017/CBO9781107415324.004.

**NOVELO-TORRES, A. M. AND GRACIA-FADRIQUE, J.,** 2010. 'Ternary diagrams paths', *Educacion Quimica*. Elsevier, vol.21, no.4, pp. 300–305. DOI: 10.1016/s0187-893x(18)30099-5.

**OVIEDO Z, C. D. AND OROCHENA J, S. A.,** 2011 "“ Métodos De Extracción De Aceites Esenciales , Comparación Y Empleo En Productos De Perfumería ”", pp. 1–130. Disponible en: <http://riul.unanleon.edu.ni:8080/jspui/handle/123456789/5873>.

**PINEROS, I. ET AL.,** 2017. 'Analgesic and anti-inflammatory controlled-released injectable microemulsion: Pseudo-ternary phase diagrams, in vitro, ex vivo and in vivo evaluation',

*European Journal of Pharmaceutical Sciences*. Elsevier B.V, 101, pp. 220–227. DOI: 10.1016/j.ejps.2016.12.030.

**PISONI, G.**, 2014. ‘Mapas Característicos del Equilibrio entre Fases para Sistemas Ternarios’. PromoFarma, *5 propiedades de la manteca de karité para el cuidado de la piel*, 17 agosto 2018. Disponible en: <https://www.promofarma.com/blog/belleza-cosmetica/5-propiedades-de-la-manteca-de-karite-para-el-cuidado-de-la-piel/>.

**RINCÓN, A.**, 2018. *Apuntes de Tecnología Farmacéutica*. Riobamba.

**ROMERA, A. V. AND COLMENERO, C. G .**, 2013. ‘EN INGENIERÍA TISULAR’, (2), pp. 68–75. Disponible en: <https://www.revespod.com/Documentos/ArticulosNew/X0210123813502989-2.pdf>.

**RUIZ MÉNDEZ, M. V. AND HUESA LOPE, J.**, 1991. ‘La manteca de karité’, *Grasas y Aceites*, 42(2), pp. 151–154. DOI: 10.3989/gya.1991.v42.i2.1264.

**SALA-CUNILL, A. ET AL.**, 2014. ‘Guía de cuidados básicos y tratamientos tópicos en la dermatitis atópica’, *Documento de consenso del Comité de Alergia Cutánea de la SEAIC*, pp. 1–17.

**SÁNCHEZ, R. ET AL.**, 2019. ‘Atención farmacéutica en pacientes con dermatitis atópica’, p. 250. Disponible en: <https://core.ac.uk/download/pdf/294761818.pdf>.

**SENDAGORTA CUDÓS, E. AND LAGUNA, R. D. L.**, 2009. ‘Tratamiento de la dermatitis atópica’, 11, pp. 49–67.

**SHUKLA, A. K. ET AL.**, 2015. ‘Annals of Public Health and Research Acellular Dermis as a Dermal Matrix of Tissue Engineered Skin Substitute for Burns Treatment’, *Ann Public Health Res*, 2(3).

**TABERNER, J. E., SEGURA RODRÍGUEZ, R. y GUERRA TAPIA, A.** 2011. ‘La piel sensible’, *Más Dermatol*, 13, pp. 4–13. Disponible en: <http://www.masdermatologia.com>.

**TERRONES, W. O. ET AL.**, 2015. ‘Sobre el perfil lipídico en adultos jóvenes Effectiveness of Oleo europea intake on serum lipids in young adults’, 35(1), pp. 55–61.

**TORRES, T. ET AL.,** 2019. 'Update on atopic dermatitis', *Acta Medica Portuguesa*, vol. 32, no.9, pp. 606–613. DOI: 10.20344/amp.11963.

**VERALLO-ROWELL, V. M., KATALBAS, S. S. y PANGASINAN, J. P.,** 2016. 'Natural (Mineral, Vegetable, Coconut, Essential) Oils and Contact Dermatitis', *Current Allergy and Asthma Reports*. *Current Allergy and Asthma Reports*, 16(7). DOI: 10.1007/s11882-016-0630-9.

**VILLAREAL, J.,** 2019. 'Análisis de la influencia del Balance Hidrofílico-Lipofílico en los surfactantes usados para recuperación mejorada de petróleo', p. 97.

**ANEXOS**

**ANEXO A: CERTIFICADO DE CALIDAD DEL ACEITE DE OLIVA.**

**Certificate of Analysis 34370633**

**Company**  
**ECUESSENCE CIA LTDA**  
**MARIANO CARDENAL OE 1-44 Y AV 1-44**  
**00006-530 QUITO**  
**REPUBLIC OF ECUADOR**

**symrise**

Date: 08-DEC-2020      Page: 1 / 2  
 Order: 1170226706  
 Your Order No.: CC-37-20  
 Delivery: 8170304488 / 10  
 Partner No.: 1006070  
 Contact Person: CIDA FIGUEIRA  
 Tel.: (15)32384518  
 Fax:  
 Email Address: cida.figueira@symrise.com

**Material: 959569-6017**  
**25 KG Shea Butter (refined) sustainable**  
 Batch: 30170001  
 Vendor batch: 30029/90776  
 Origin: Ghana  
 Quantity: 100,000 KG  
 Storage: dry, 10 to 30°C  
 Production date: 29.01.2020  
 Best Before: 29.01.2022

Characteristics	Method	Value	Lower Limit	Upper Limit
Odour on neutral surface				
Odour on paper sheet	0223	according to standard 1) according to standard		
Color / Appearance, as is				
Visual evaluation in sample vial	0864	passed test 1) passed test		
Color				
Visual evaluation in sample vial	0864	1) white to light beige		
Appearance/condition				
Visual evaluation in sample vial	0864	1) waxy mass		
Acid value				
Visual titration(Phenolphthalein)	0011	mg KOH/g 0,55		2,00
Peroxide value				
Peroxide value (Ph.Eur.)	0124	meq O/kg 0,00		10,00
Iodine value				
Iodine value according to Hanus	0428	g I/100g 62,61	50,00	65,00
Saponification value	0012	mg KOH/g 184,74	150,00	200,00

Symrise Aromas e Fragrâncias Ltda.  
 MATRIZ:  
 Av. Paulo Verchavtchik, 200-01 - Aparecidinha - Sorocaba - SP - Brasil - CEP 18087-190 - Fone: 15 3238 4500  
 FILIAIS:  
 R. Domingos Jorge, 1100-1000 - Prédio 9111 2o And - Socorro - São Paulo - SP - CEP 04778-900 - Fone: 11 5694 6000  
 Av. Victor Andrew, 3210/8 - Eden - Sorocaba - SP - CEP: 18086-300 - Fone: 15 3235 3800  
 Rod. Augusto Meira Filho, 3520 - KM 03 - Prédio de Extração de Óleos - Faz. Eldorado - Benevides - PA - CEP: 68795-000 - Fone: 91 3355 9580

**ANEXO B: CERTIFICADO DE CALIDAD DE LA MANTECA DE KARITÉ.**

**Certificate of Analysis 34370633** 

Material: 959569-6017 Page 2 / 2  
Batch: 30170001

Characteristics	Method	Value	Lower Limit	Upper Limit
<b>For information only</b>				
Flashpoint	°C approx.	> 100		
Flashpoint	°F approx.	> 212		

**Annotation:**  
1) Target value  
2) Intermittent tested. This time skipped.

The certificate does not release the user from the responsibility of undertaking his own tests of the characteristics of the product and its suitability in the intended application.

This is a computer generated certificate of analysis and is therefore not signed by hand. The positive release procedure and the stringent workflow of the computerized system ensure the same level of reliability as a handwritten signature.

**ANEXO C:** EXTRACCIÓN DEL ACEITE DE SAMBO IMITANDO UN EXTRACTOR DE ACEITE POR Prensado en Frío.



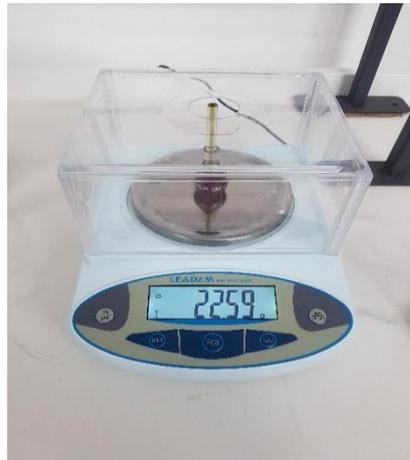
**ANEXO D:** EXTRACCIÓN DEL ACEITE DE SAMBO SEGÚN POR Prensado en Frío.



**ANEXO E:** SEDIMENTACIÓN DEL ACEITE DE SAMBO EN UN EMBUDO DE DECANTACIÓN.



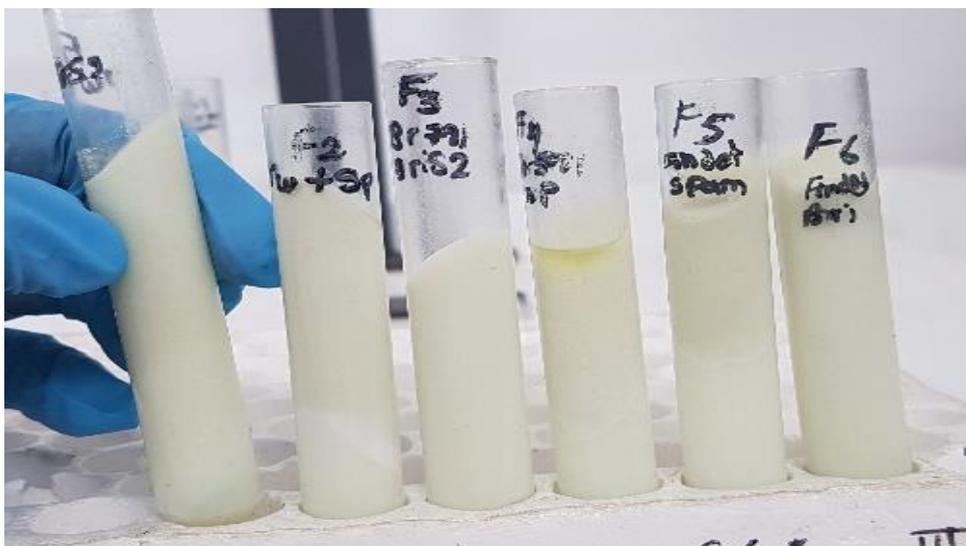
**ANEXO F: ANÁLISIS FÍSICO DEL ACEITE DE SAMBO SEGÚN LA NORMATIVA INEN-DENSIDAD DEL ACEITE.**



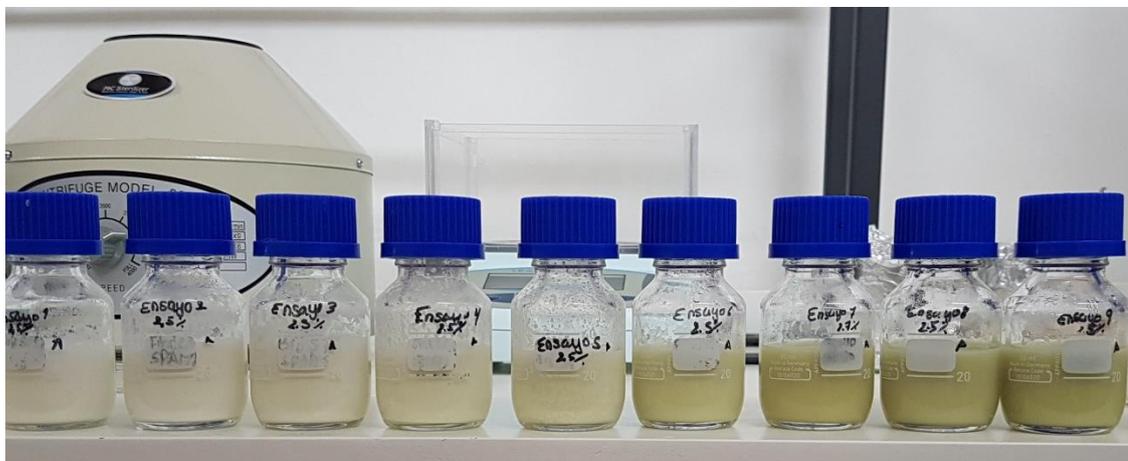
**ANEXO G: FORMULACIONES DEL SISTEMA DISPERSO EMULSIONABLE PARA DETERMINAR LA MEZCLA EMULGENTE.**



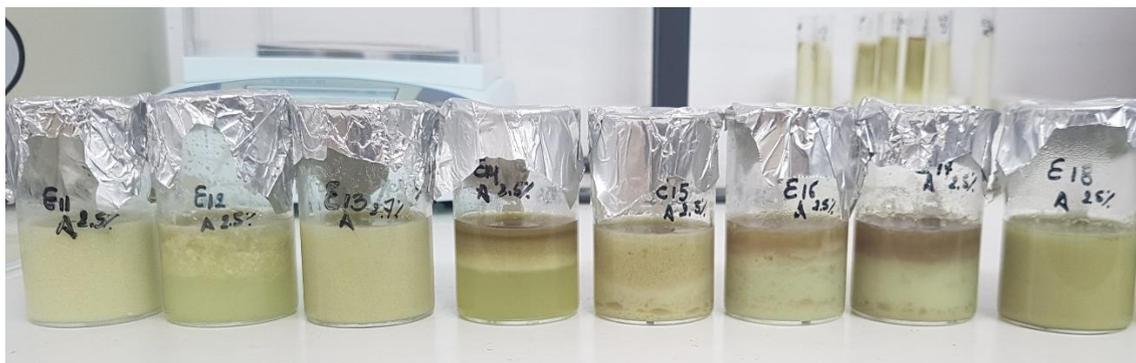
**ANEXO H: PRUEBA DE LA CENTRIFUGA APLICADA A LAS FORMULACIONES DEL SISTEMA DISPERSO EMULSIONABLE DE LA MEZCLA DE EMULGENTES.**



**ANEXO I: FORMULACIONES DEL SISTEMA DISPERSO EMULSIONABLE OBTENIDOS MEDIANTE EL DIAGRAMA TERNARIO PRIMER GRUPO.**



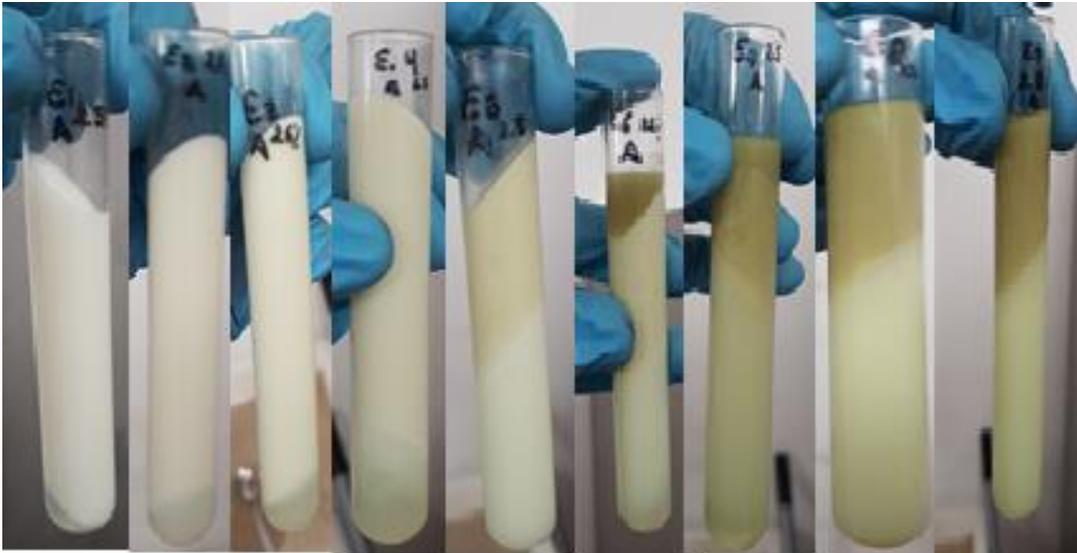
**ANEXO J: FORMULACIONES DEL SISTEMA DISPERSO EMULSIONABLE OBTENIDOS MEDIANTE EL DIAGRAMA TERNARIO SEGUNDO GRUPO.**



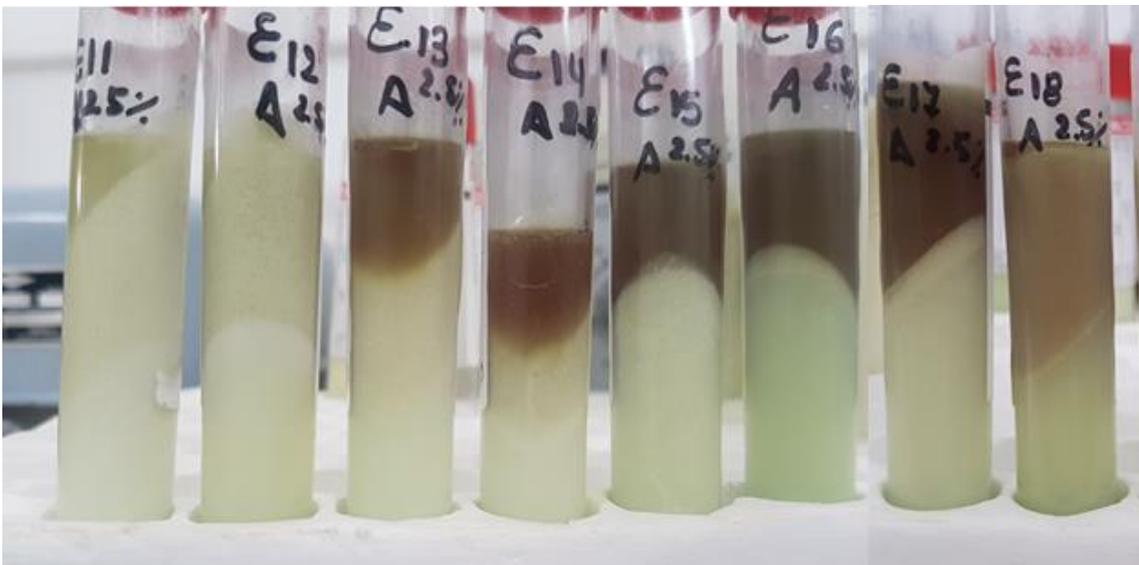
**ANEXO K: FORMULACIONES DEL SISTEMA DISPERSO EMULSIONABLE OBTENIDOS MEDIANTE EL DIAGRAMA TERNARIO TERCER GRUPO.**



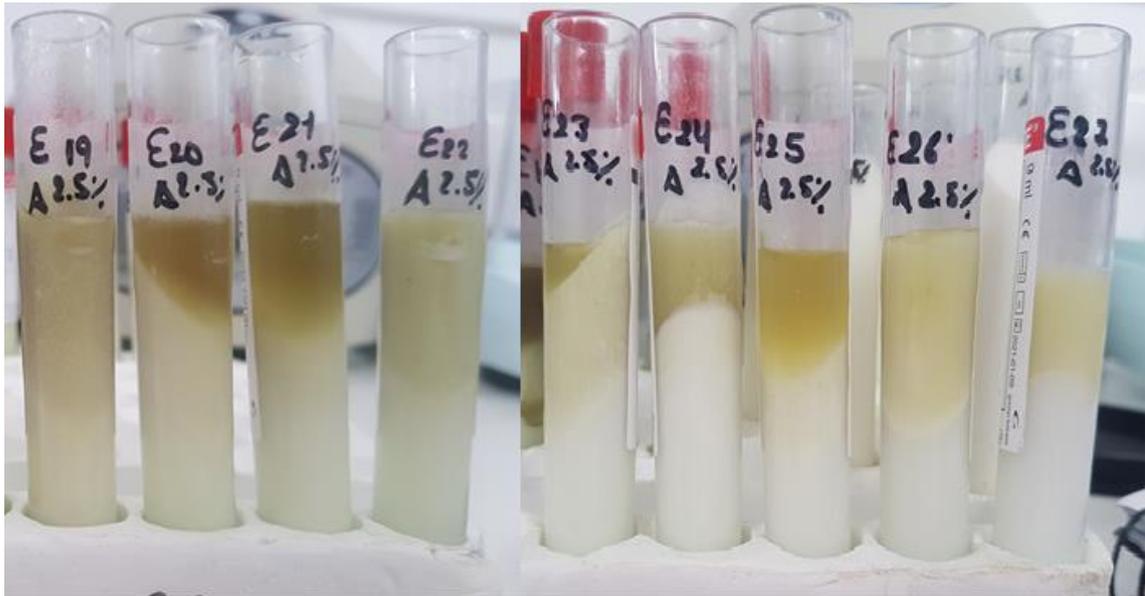
**ANEXO L:** PRUEBA DE LA CENTRIFUGA A LAS FORMULACIONES DEL SISTEMA DISPERSO EMULSIONABLE OBTENIDOS MEDIANTE EL DIAGRAMA TERNARIO PRIMER GRUPO.



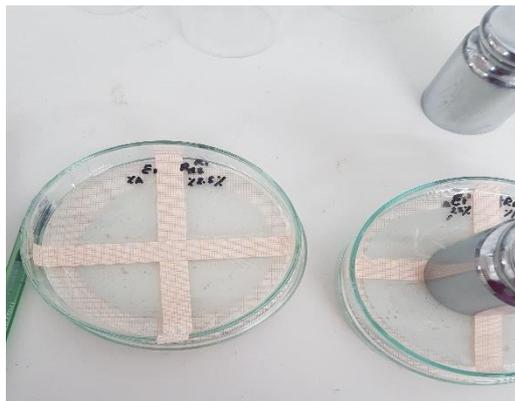
**ANEXO M:** PRUEBA DE LA CENTRIFUGA A LAS FORMULACIONES DEL SISTEMA DISPERSO EMULSIONABLE OBTENIDOS MEDIANTE EL DIAGRAMA TERNARIO SEGUNDO GRUPO.



**ANEXO N:** PRUEBA DE LA CENTRIFUGA A LAS FORMULACIONES DEL SISTEMA DISPERSO EMULSIONABLE OBTENIDOS MEDIANTE EL DIAGRAMA TERNARIO TERCER GRUPO.



**ANEXO O:** PRUEBA DE LA EXTENSIBILIDAD APLICADA A TODAS LAS FORMULACIONES OBTENIDAS EN EL DIAGRAMA TERNARIO.



**ANEXO P:** PRUEBA DE pH APLICADA A TODAS LAS FORMULACIONES OBTENIDAS EN EL DIAGRAMA TERNARIO.



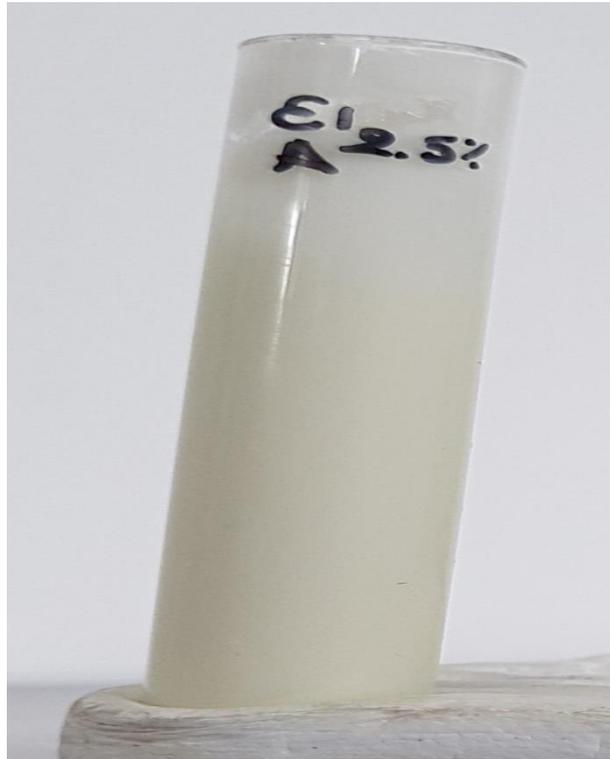
**ANEXO Q: FORMULACIÓN FINAL**



**ANEXO R: CARACTERIZACIÓN FÍSICO-QUÍMICA A LA FORMULACIÓN FINAL  
PRUEBA DEL pH**



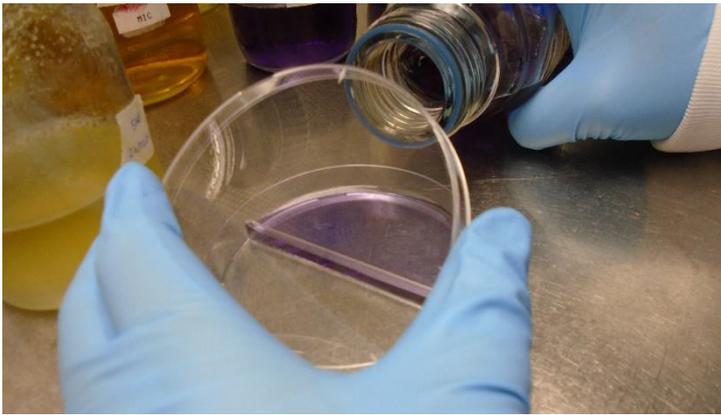
**ANEXO S:** CARACTERIZACIÓN FÍSICO-QUÍMICA A LA FORMULACIÓN FINAL  
PRUEBA DE LA CENTRIFUGA.



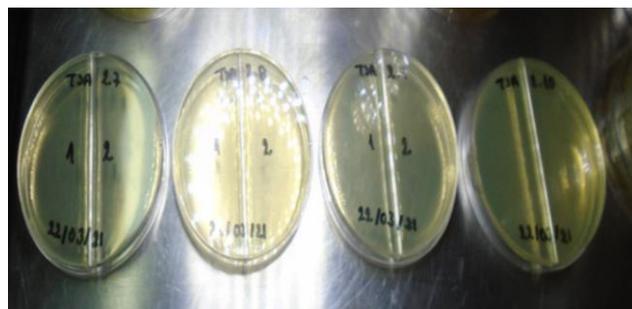
**ANEXO T:** CARACTERIZACIÓN FÍSICO-QUÍMICA A LA FORMULACIÓN FINAL  
PRUEBA DE LA EXTENSIBILIDAD.



## ANEXO U: PREPARACIÓN DE MEDIOS DE CULTIVO



## ANEXO V: RESULTADOS DE LA CARACTERIZACIÓN MICROBIOLÓGICA A LA FORMULACIÓN FINAL.





**ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO**

**DIRECCIÓN DE BIBLIOTECAS Y RECURSOS DEL APRENDIZAJE  
UNIDAD DE PROCESOS TÉCNICOS Y ANÁLISIS BIBLIOGRÁFICO Y DOCUMENTAL**

**REVISIÓN DE NORMAS TÉCNICAS, RESUMEN Y BIBLIOGRAFÍA**

*Fecha de entrega: 21 / 01 / 2022*

<b>INFORMACIÓN DEL AUTORA (S)</b>
<b>Nombres – Apellidos:</b> <i>Johanna Vanesa Vargas Flores</i>
<b>INFORMACIÓN INSTITUCIONAL</b>
<b>Facultad:</b> <i>Ciencias</i>
<b>Carrera:</b> <i>Bioquímica y Farmacia</i>
<b>Título a optar:</b> <i>Bioquímica Farmacéutica</i>
<b>f. Analista de Biblioteca responsable:</b> <i>Ing. Leonardo Medina Ñuste MSc.</i>

**LEONARDO  
FABIO MEDINA  
NUSTE**

Firmado digitalmente por LEONARDO  
FABIO MEDINA NUSTE  
Nombre de reconocimiento (DN): cn=EC,  
o=BANCO CENTRAL DEL ECUADOR,  
ou=ENTIDAD DE CERTIFICACION DE  
INFORMACION-ECIBCE, l=QUITO,  
serialNumber=0009621485,  
cn=LEONARDO FABIO MEDINA NUSTE  
Fecha: 2022.01.21 12:19:23 -05'00'



0053-DBRA-UTP-2022