



ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO

FACULTAD DE CIENCIAS

ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA

**“ELABORACIÓN DE SHAMPOO DE ROMERO (*Rosmarinus officinalis*) CON
ACTIVIDAD ANTI *Malassezia globosa* A ESCALA PILOTO”**

TESIS DE GRADO

PREVIA LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE

BIOQUÍMICO FARMACÉUTICO

PRESENTADO POR

JUAN GABRIEL CHÁVEZ ALMACHE

RIOBAMBA – ECUADOR

2013

DEDICATORIA

A Dios por ser mi creador, por darme fortaleza y sabiduría.

A mis padres por toda esta vida de sacrificios para poder darme la mejor herencia que me pueden dejar el estudio.

A mi abuelita por ser un ángel, y un ejemplo de vida.

A mis queridas tías por su apoyo incondicional en los buenos y malos momentos de mi vida.

AGRADECIMIENTO

*A la **Escuela Superior Politécnica de Chimborazo**, por haberme dado la oportunidad de formar parte de esta gran familia de gente que engrandece a nuestro país.*

*A la **Escuela de Bioquímica de Farmacia**, por haberme formado como un profesional de bien, capaz de desarrollarme en todos los ámbitos de la vida.*

*A la **Dra. Cumandá Játiva**, por su gran ayuda en el asesoramiento para la realización de esta tesis, gracias por compartir sus conocimientos, gracias por ser una gran maestra y sobre todo gracias por ser un ejemplo de profesionalismo a seguir y no perder ese amor por nuestra hermosa profesión.*

*Al **BQF. Víctor Guangasig**, gran profesional, gracias por su colaboración y consejos para culminar con éxito este trabajo de tesis.*

A todas aquellas personas que ayudaron a convertir este sueño en realidad.

ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO

FACULTAD DE CIENCIAS

ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA

El Tribunal de Tesis certifica que: El trabajo de investigación: “**ELABORACIÓN DE SHAMPOO DE ROMERO (*Rosmarinus officinalis*) CON ACTIVIDAD ANTI *Malassezia globosa* A ESCALA PILOTO**” de responsabilidad del señor egresado Juan Gabriel Chávez Almache, ha sido prolijamente revisado por los Miembros del Tribunal de Tesis, quedando autorizada su presentación.

FIRMA

FECHA

Dr. Silvio Álvarez
DECANO FAC. CIENCIAS

Dr. Iván Ramos
DIRECTOR DE ESCUELA

Dra. Cumandá Játiva
DIRECTORA DE TESIS

BQF. Víctor Guangasig
MIEMBRO DEL TRIBUNAL

Tc. Carlos Rodríguez
**DIRECTOR CENTRO
DE DOCUMENTACIÓN**

NOTA DE TESIS ESCRITA

Yo, (Juan Gabriel Chávez Almache), soy responsable de las ideas, doctrinas y resultados expuestos en esta Tesis; y el patrimonio intelectual de la Tesis de Grado, pertenece a la ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO

(JUAN GABRIEL CHÁVEZ ALMACHE)

ÍNDICE DE ABREVIATURAS

ADN	Ácido Desoxirribonucleico
ARN	Ácido Ribonucleico
%	Porcentaje
°C	Grados Celsius
C ₁₂	Carbono 12
C ₁₄	Carbono 14
C	Concentración
cm	Centímetro
DA	Dermatitis Atópica
Df	Grados de libertad
DS	Dermatitis Seborreica
D	Densidad relativa
Fvalue	Valor estadístico F
G+C	Guanina más Citocina
g	Gramos
Kg	Kilogramo
L	Litros
L1	Lote uno
L2	Lote dos
L3	Lote tres
M0	Mes cero
M1	Mes uno
M2	Mes dos
M3	Mes tres
M4	Mes cuatro
Mean Sq	Media de los cuadrados
mL	Mililitros
mm	Milímetro
ns	No difiere significativamente
Pr(>F)	Valor P
sp	Especie
spp	Especies
Sum Sq	Suma de cuadrados
t	Valor de la temperatura en (°C)

ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE DE ABREVIATURAS

ÍNDICE DE TABLAS

ÍNDICE DE CUADROS

ÍNDICE DE GRÁFICOS

ÍNDICE DE FIGURAS

ÍNDICE DE ANEXOS

INTRODUCCIÓN

1.	MARCO TEÓRICO.....	3
1.1	<i>Malassezia globosa</i>	3
1.1.1	Características morfológicas macroscópicas y microscópicas de <i>Malassezia globosa</i>	4
1.1.2	Características fisiológicas y bioquímicas de <i>Malassezia globosa</i>	5
1.1.3	Características ecológicas y epidemiológicas de <i>Malassezia globosa</i>	5
1.2	Shampoo.....	6
1.2.1	Historia.....	6
1.2.2	Definición	7
1.2.3	Etimología.....	7
1.2.4	Requerimientos	7
1.2.5	Como funciona el shampoo.....	7
1.2.6	Elemento principal del shampoo.....	8
1.2.7	Shampoo anti caspa.....	9
1.3	Romero (<i>Rosmarinus officinalis</i>)	10
1.3.1	Origen	11

1.3.2	Descripción botánica	11
1.3.3	Compuestos químicos	12
1.3.4	Actividad farmacológica	13
1.3.5	Efectos adversos y/o tóxicos	14
1.3.6	Formas galénicas	15
1.3.7	Tamizaje fitoquímico.....	15
1.3.8	Tamizaje fitoquímico de <i>Rosmarinus officinalis</i>	17
1.4	Aceites esenciales	18
1.4.1	Definición de aceite esencial	18
1.4.2	Clasificación de los aceites esenciales	19
1.5	Aceite esencial de romero	20
1.5.1	Propiedades físicas del aceite esencial de romero	21
1.5.2	Extracción de aceites esenciales	22
1.6	Excipientes	24
1.6.1	Lauril éter sulfato sódico (texapon)	25
1.6.2	Dietanolamida (coperlan)	26
1.6.3	Euperland	28
1.6.4	Bronidox (bromidox)	29
1.6.5	Alcohol cetílico (cetiol he)	30
1.7	Estudio de la estabilidad	32
1.7.1	Factores que influyen en la estabilidad	32
1.7.2	Aspectos considerados en la estabilidad	35
1.7.3	Motivos para realizar un estudio de estabilidad.....	36
1.7.4	Definiciones básicas en un estudio de estabilidad	37
1.7.5	Tipos de estudios de estabilidad	37
1.7.6	Método para realizar el estudio de estabilidad	38
1.7.7	Zonas climáticas en un estudio de estabilidad	42
1.8	Escala piloto	42
2.	PARTE EXPERIMENTAL	43
2.1	Materiales, equipos y reactivos	43
2.1.1	Material biológico	43

2.1.2	Obtención del material vegetal	43
2.1.3	Equipos	43
2.1.4	Materiales de laboratorio	44
2.1.5	Reactivos	45
2.2	Técnicas	46
2.2.1	Pruebas de control de calidad de la especie vegetal	46
2.2.1.1	Determinación de humedad	46
2.2.1.2	Determinación de cenizas totales	47
2.2.1.3	Determinación de cenizas solubles en agua	48
2.2.1.4	Determinación de cenizas insolubles en ácido clorhídrico	48
2.2.1.5	Determinación de sustancias solubles	49
2.2.2	Determinación de microorganismos contaminantes en la droga cruda.....	50
2.2.2.1	Método de conteo de aerobios mesófilos totales en placa.....	50
2.2.2.2	Determinación de coliformes totales	51
2.2.2.4	Método de conteo de mohos en placa	53
2.2.3	Obtención del aceite esencial de romero (<i>rosmarinus officinalis</i>) mediante hidrodestilación	54
2.2.4	Control de calidad de los excipientes	55
2.2.5	Elaboración del shampoo de romero	55
2.2.6	Determinación de la propiedades organolépticas del shampoo de romero	56
2.2.6.1	Color.....	56
2.2.6.2	Olor	57
2.2.6.3	Apariencia	57
2.2.7	Determinación de la propiedades físicas del shampoo de romero	57
2.2.7.1	Densidad relativa.....	57
2.2.7.2	Determinación de pH	58
2.2.7.3	Viscosidad.....	59
2.2.7.4	Determinación del residuo seco	59
2.2.7.5	Indice de espuma	60
2.2.7.6	Estabilidad del color	60
2.2.7.7	Determinación de la vida útil del producto	60

2.3	Metodología	61
2.3.1	Fase de campo.....	61
2.3.2	Fase de laboratorio	61
2.4	Tipo de diseño experimental	62
2.5	Análisis estadístico	62
2.5.1	Anova para 1 factor para 3 niveles diferentes	62
3.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	63
3.1	Control de calidad de la materia prima	63
3.2	Porcentaje de rendimiento de aceite esencial de romero.....	64
3.3	Características organolépticas y físicas del aceite esencial de romero	64
3.4	Concentración de cineol en el aceite esencial de romero	65
3.5	Control de calidad de los excipientes	68
3.5.1	Texapon	68
3.5.2	Coperland	68
3.5.3	Bronidox	69
3.5.4	Cetiol	69
3.6	Análisis organoléptico del shampoo anticasca de romero en producto terminado y para estabilidad al mes 1, 2, 3, 4	70
3.7	Datos de las propiedades físicas y químicas del shampoo de romero para tres lotes	70
3.8	Resultados test de anova 1 factor 3 niveles por cuatro meses	74
3.9	Resultados control de calidad del producto terminado	76
3.10	Cálculo de la estabilidad acelerada y vida útil del producto	78
3.11	Análisis de costos.....	79
4	CONCLUSIONES	80
5	RECOMENDACIONES	82
6	RESUMEN	83
	SUMARY.....	85
7	BIBLIOGRAFÍA	87
8	ANEXOS	94

ÍNDICE DE TABLAS

TABLA No. 1	Tamizaje fitoquímico de <i>Rosmarinus officinalis</i>	17
TABLA No. 2	Valores de constantes para diferentes temperaturas y energías de activación del método de Poppe	40
TABLA No. 3	Zonas climáticas para un estudio de estabilidad	42
TABLA No. 4	Datos para la interpretación del nmp para la determinación de coliformes totales	52

ÍNDICE DE CUADROS

CUADRO No. 1	Resultados control de calidad de materia prima del romero.....	63
CUADRO No. 2	Resultados del análisis microbiológico del romero.....	63
CUADRO No. 3	Resultados del estudio de las características organolépticas y físicas del aceite esencial de romero.....	64
CUADRO No. 4	Concentración de 1,8 cineol en el aceite esencial de romero.....	65
CUADRO No. 5	Control de calidad del texapon.....	68
CUADRO No. 6	Control de calidad del coperland.....	68
CUADRO No. 7	Control de calidad del bronidox.....	69
CUADRO No. 8	Control de calidad del cetiol.....	69
CUADRO No. 9	Resultados del análisis organoléptico del shampoo anticaspa de romero en los 4 meses de estudio.....	70
CUADRO No. 10	Datos de las propiedades físicas químicas y microbiológicas del shampoo de romero para tres lotes, lote uno.....	70
CUADRO No. 11	Datos de las propiedades físicas químicas y microbiológicas del shampoo de romero para tres lotes, lote dos	72
CUADRO No. 12	Datos de las propiedades físicas químicas y microbiológicas del shampoo de romero para tres lotes, lote tres.....	73
CUADRO No. 13	Resultados test Anova para cuatro meses 3 lotes.....	74
CUADRO No. 14	Resultados control de calidad del producto terminado en condiciones aceleradas	76
CUADRO No. 15	Datos para la gráfica Log % degradado vs. 1/T x 10000 para el shampoo anticaspa de romero.....	78
CUADRO No. 16	Análisis de costos para el shampoo de romero.....	79

ÍNDICE DE GRÁFICOS

GRÁFICA No. 01	Estabilidad del método de Poppe	41
GRÁFICO No. 02	Regresión lineal para el cálculo concentración de 1,8 cineol	65
GRÁFICA No. 03	Log % degradado vs. $1/T \cdot 10000$ para el shampoo anticaspa de romero.....	78

ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA No. 1	Fórmula estructural del borneol.....	21
FIGURA No. 2	Fórmula estructural del pineno.....	21
FIGURA No. 3	Fórmula estructural del canfeno.....	21
FIGURA No. 4	Fórmula estructural del cineol.....	21
FIGURA No. 5	Fórmula estructural del limoneno.....	21
FIGURA No. 6	Fórmula estructural del alcanfor.....	21
FIGURA No. 7	Fórmula estructural del borneol, acetato de bornilo.....	21
FIGURA No. 8	Fórmula estructural del cariofileno.....	21
FIGURA No. 9	Fórmula estructural del Texapon.....	25
FIGURA No. 10	Estructura química del coperland.....	26
FIGURA No. 11	Fórmula estructural del bronidox.....	29
FIGURA No. 12	Estructura química del cetiol.....	30

ÍNDICE DE FOTOGRAFÍAS

FOTOGRAFÍA No. 01	Planta de romero, <i>Rosmarinus officinalis</i> L.....	10
FOTOGRAFÍA No. 02	Cromatografía en capa fina para identificación del 1,8cineol en el aceite esencial de romero.....	66
FOTOGRAFÍA No. 03	Cromatografía en capa fina primer mes 1,8 cineol.....	67
FOTOGRAFÍA No. 04	Cromatografía en capa segunda mes 1,8 cineol.....	67
FOTOGRAFÍA No. 05	Cromatografía en capa fina tercer mes 1,8 cineol.....	67
FOTOGRAFÍA No. 06	Cromatografía en capa fina cuarto mes 1,8 cineol..	67

ÍNDICE DE ANEXOS

ANEXO No. 01	Extracción del aceite de romero.....	94
ANEXO No. 02	Características de la mezcladora utilizada	94
ANEXO No. 03	Fotografías de la mezcladora utiliza.....	95
ANEXO No. 04	Proceso de mezclado del shampoo anticaspa de romero.....	95
ANEXO No. 05	Fotografías envasado del shampoo anticaspa de romero.....	96
ANEXO No. 06	Fotografías de la medición de la viscosidad.....	96
ANEXO No. 07	Fotografías del análisis microbiológico del shampoo anticaspa de romero.....	97
ANEXO No. 08	Resultados test ANOVA para el pH mes cero.....	98
ANEXO No. 09	Resultados test ANOVA para el pH mes uno.....	98
ANEXO No. 10	Resultados test ANOVA para el pH mes dos.....	99
ANEXO No. 11	Resultados test ANOVA para el pH mes tres.....	99
ANEXO No. 12	Resultados test ANOVA para el pH mes cuatro.....	100
ANEXO No. 13	Resultados test ANOVA para el densidad mes cero.....	100
ANEXO No. 14	Resultados test ANOVA para el densidad mes uno.....	101
ANEXO No. 15	Resultados test ANOVA para el densidad mes dos.....	101
ANEXO No. 16	Resultados test ANOVA para el densidad mes tres.....	102
ANEXO No. 17	Resultados test ANOVA para el densidad mes cuatro.....	102
ANEXO No. 18	Resultados test ANOVA para la viscosidad mes cero.....	103
ANEXO No. 19	Resultados test ANOVA para la viscosidad mes uno.....	103
ANEXO No. 20	Resultados test ANOVA para la viscosidad mes dos.....	104
ANEXO No. 21	Resultados test ANOVA para la viscosidad mes tres.....	104
ANEXO No. 22	Resultados test ANOVA para la viscosidad mes cuatro.....	105
ANEXO No. 23	Resultados test ANOVA para el índice de espuma mes cero.....	105
ANEXO No. 24	Resultados test ANOVA para el índice de espuma mes uno.....	106
ANEXO No. 25	Resultados test ANOVA para el índice de espuma mes dos.....	106
ANEXO No. 26	Resultados test ANOVA para el índice de espuma mes tres.....	107
ANEXO No. 27	Resultados test ANOVA para el índice de espuma mes cuatro....	107
ANEXO No. 28	Resultados test ANOVA para el residuo seco mes cero.....	108
ANEXO No. 29	Resultados test ANOVA para el residuo seco mes uno.....	108

ANEXO No. 30	Resultados test ANOVA para el residuo seco mes dos.....	109
ANEXO No. 31	Resultados test ANOVA para el residuo seco mes tres.....	109
ANEXO No. 32	Resultados test ANOVA para el residuo seco mes cuatro.....	110
ANEXO No. 33	Resultados test ANOVA para concentración de 1,8 cineol mes cero	110
ANEXO No. 34	Resultados test ANOVA para concentración de 1,8 cineol mes uno	111
ANEXO No. 35	Resultados test ANOVA para concentración de 1,8 cineol mes dos	111
ANEXO No. 36	Resultados test ANOVA para concentración de 1,8 cineol mes tres	112
ANEXO No. 37	Resultados test ANOVA para concentración de 1,8 cineol mes cuatro	112
ANEXO No. 38	Norma técnica ecuatoriana INEN 820	113
ANEXO No. 39	Norma técnica ecuatoriana INEN 821	114
ANEXO No. 40	Norma técnica ecuatoriana INEN 822.....	115
ANEXO No. 41	Norma técnica ecuatoriana INEN 823.....	116
ANEXO No. 42	Norma técnica ecuatoriana INEN 833	117
ANEXO No. 43	Norma técnica ecuatoriana INEN 851	118
ANEXO No. 44	Norma técnica colombiana NTC1689	119

INTRODUCCIÓN

En una sociedad donde el culto a la imagen es un valor primordial, padecer el problema de la caspa y la descamación sobre la ropa causa malestar y hasta cierto punto preocupación en desmedro de la imagen personal. Las personas con *Pityriasis capitis* (caspa) se encuentran continuamente pendientes de la apariencia de su cabello y hombros, llegando a evitar el uso de vestimenta oscura para no resaltar el problema, por otro lado el romero (*Rosmarinus officinalis*) tiene propiedades antibacterianas, antisépticas, fungicidas y balsámicas. A su vez, tiene un efecto cicatrizante, antiespasmódico, diurético y colagogo cardiotónico, hipotensor, carminativo por la presencia de aceites esenciales, diterpenos, triterpenos, flavonoides, polifenoles. (32).

Este trabajo se realizó en base a investigaciones realizadas por Alulema R. en la determinación de la sensibilidad “in vitro” de *Malassezia globosa* frente a los hidrodestilados de *Calendula officinalis*, *Rosmarinus officinalis* y *Salix alba* que el romero tiene actividad para el microorganismo productor de la caspa, y L. Chunata comprueba que el tratamiento de la *Pityriasis capitis* del cuero cabelludo producida por *Malassezia globosa* con shampoo de romero (*Rosmarinus officinalis*), con un intervalo de aplicación pasando un día, resultó eficiente.(26) (27)

El objetivo principal es elaborar shampoo anticaspa de romero a escala piloto, obtener el aceite de romero a partir de vegetal fresco, crear una formulación para un volumen

piloto y realizar el control de calidad del producto terminado, así como la estabilidad para establecer el tiempo de vida útil.

Se obtuvo un producto que cumple con todos los parámetros establecidos con una formulación adecuada, efectiva contra *Malassezia globosa*, con tiempo de vida útil extensa y rentable.

CAPÍTULO I

1. MARCO TEÓRICO

1.1 *Malassezia globosa*

La *Malassezia globosa* pertenece al reino de los hongos, concretamente al género *Malassezia* del que actualmente se conocen diez especies diferentes, está presente en la piel de todos los humanos y en muchos animales. Se estima que solo en la cabeza de una persona hay una media de 8 millones de esporas. (37)

Este hongo se alimenta de la grasa secretada por las glándulas sebáceas este suele habitar las zonas de la piel que cuentan con un mayor número de estas glándulas como son el cuero cabelludo, la cara y en menor medida el tórax superior.

En 1904 R. Sabouraud descubrió que el hongo que él llamó "*Pityrosporum malassez*" era el causante de la caspa. Posteriormente se demostró que este organismo era el mismo que ya había sido descubierto anteriormente en el siglo XIX por Louis C. Malassez al que llamó *Malassezia*, que es el nombre que finalmente ha llegado hasta nuestros días. (37)

Recientemente se ha demostrado que el hongo llamado *Malassezia globosa* es el principal causante de la caspa y de la dermatitis seborreica. No obstante se cree que el

hongo *Malassezia restricta* también está implicado en la formación de la caspa aunque en menor medida. (37)

Sin embargo con el paso del tiempo se identificaron diferentes especies que pertenecían al género *Malassezia* (10 en la actualidad) y no se tenían pruebas de cuál de estos organismos concretamente era el causante de la caspa y otros problemas de la piel como la dermatitis seborreica. (37)

El genoma de la *Malassezia globosa* fue secuenciado en el año 2007 y se espera que gracias a su secuenciación se encuentren nuevas dianas contra este hongo que puedan resultar en nuevos medicamentos para eliminar la caspa.

La *Malassezia* fue clasificada dentro del género *Fungi* (hongo), división *Basidiomycota*, clase *Himenomicetos*, orden *Tremellales*, familia *Filobasidium uniguttulatum*. La levadura había sido difícil de aislar, cultivar e identificar clínicamente. Esta nueva especificación taxonómica fue posible gracias a la moderna biología molecular, similar a la utilizada en la criminología forense, y a las comparaciones entre el análisis de la secuencia del ARN y el ADN, así como del contenido G+C en el ADN extraído. (37)

En la última reclasificación realizada Guého y Col, reconocieron siete especies distintas dentro de este género: *M. furfur*, *M. pachydermatis*, *M. sympodialis*, *M. globosa*, *M. obtusa*, *M. restricta* y *M. slooffiae*. (29)

1.1.1 CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS MACROSCÓPICAS Y MICROSCÓPICAS DE *Malassezia globosa*

En medio Dixon modificado a 32°C después de siete días de incubación las colonias son elevadas, plegadizas y rugosas, de 4 mm de diámetro en promedio. La textura de estas levaduras generalmente es áspera y quebradiza. Presentan células esféricas, con un diámetro que varía entre 2.5-8 µm de diámetro. (31)

A diferencia de las otras especies, las cicatrices después de la gemación no se desarrollan en forma prominente. Algunas veces pueden presentar filamentos cortos localizados en el origen de la gema. En ocasiones pueden ocurrir ramificaciones en el punto de unión de la célula madre. Algunas células hijas pueden elongarse, figurando un tubo de germinación o filamentos cortos semejantes a los observados en escamas de *Pityriasis versicolor*. (31)

1.1.2 CARACTERÍSTICAS FISIOLÓGICAS Y BIOQUÍMICAS DE *Malassezia globosa*

Malassezia globosa pertenece a las levaduras que requieren la adición al medio de ácidos grasos de cadena larga para su desarrollo. No crece en agar/peptona conteniendo Tweens 20, 40, 60, y 80 como única fuente lipídica. Sin embargo, en ocasiones, al igual que *M. obtusa* y *M. restricta*, se forma un anillo de precipitación alrededor del pocillo que contienen Tween 40 y 60, sin ningún crecimiento visible. Esta precipitación a veces avanza hacia el pocillo, hasta formar un disco opalescente completo. Ocasionalmente pueden formarse colonias pequeñas a lo largo de una línea entre los pocillos que contienen Tween 60 y 80 y entre los que tienen Tween 80 y 20. Este fenómeno podría representar un sinergismo con bajas concentraciones del lípido correspondiente. A 37°C no se observa crecimiento o éste es muy débil. Esta especie presenta actividad fosfatasa alcalina, estearasa, estearasa lipasa, fosfatasa ácida y N-naftol fosfohidrolasa. (31)

Las células no sobreviven a la liofilización. Sin embargo, mediante la técnica de congelación a -80°C, usando glicerol al 10% (v/v) se lograron obtener excelentes resultados de recuperación. (31)

1.1.3 CARACTERÍSTICAS ECOLÓGICAS Y EPIDEMIOLÓGICAS DE *Malassezia globosa*

Dentro de las especies lipodependientes *M. globosa* se aísla principalmente de casos de PV Y DS, ya sea sola o en asociación con otras especies del género *Malassezia*. En individuos con DS *M. globosa* representó el 72% del total de las cepas aisladas. Así

mismo, es considerada como uno de los principales componentes de la microbiota de la piel en pacientes con DS. (31)

Los primeros aislamientos de *M. globosa* en animales se realizaron en piel sana de guepardo y de vaca. Algunos estudios han confirmado la presencia de *M. globosa* en la piel de gatos sanos. Recientemente, ha sido descrita la presencia de esta especie lipodependiente en el conducto auditivo de bovinos con y sin otitis externa. Durante la realización de varios estudios sobre la presencia de *Malassezia spp.* en caballos y rumiantes domésticos. (31)

1.2 SHAMPOO

1.2.1 HISTORIA

El término y el servicio fueron introducidos en Gran Bretaña por Sake Dean Mahomed, migrante de India, que abrió unos baños de "shampoo" conocidos como Mahomed's Indian Vapour Baths (Baños Indios de Vapor de Mahoma) en Brighton en 1759. Estos baños eran similares a los baños turcos, pero los clientes recibían un tratamiento indio de champi (masaje terapéutico). Sus servicios eran muy apreciados, y Mahomed recibió el alto honor de ser nombrado "Cirujano de champú" para los reyes Jorge IV y Guillermo IV. Irónicamente, la palabra "champú" tuvo su origen en Inglaterra casi al mismo tiempo que los químicos alemanes descubrían los verdaderos detergentes que se convertirían en los modernos shampoos. (13) (31)

En los primeros tiempos del shampoo, los peluqueros ingleses hervían jabón en agua y añadían hierbas aromáticas para dar brillo y fragancia al cabello. Kasey Hebert fue el primer fabricante conocido de shampoo, y su origen aún se le atribuye a él. Hebert vendió su primer shampoo, con el nombre de "Shaempoo" del hindú champo, que significa "dar masaje" en las calles de Londres. (13) (24)

1.2.2 DEFINICIÓN

El champú o shampoo es un producto para el cuidado del cabello, usado para limpiarlo de suciedad, la grasa formada por las glándulas sebáceas, escamas de la piel y en general partículas contaminantes que gradualmente se acumulan en el cabello. (24)

1.2.3 ETIMOLOGÍA

La palabra champú deriva del inglés shampoo, palabra que data de 1762, y significaba originalmente "masajear". Esta palabra es un préstamo del Anglo-Indio shampoo, y esta a su vez del Hindi champo, imperativo de champna, "presionar, amasar los músculos, masajear". (13)

1.2.4 REQUERIMIENTOS

- Los shampoos deben dejar el cabello flexible, suave, brillante y fácil de peinar.
- Deben conferir al cabello un buen aspecto, sin electricidad estática.
- No deben modificar el pH del cuero cabelludo. (28)

1.2.5 COMO FUNCIONA EL SHAMPOO

El shampoo limpia separando el sebo del cabello. El sebo es un aceite secretado por los folículos pilosos que es fácilmente absorbido por las mechas de cabello, y forma una película protectora. El sebo protege de daños externos la estructura proteínica del cabello, pero tiene un coste asociado, el sebo tiende a atrapar la suciedad, las escamas del cuero cabelludo (caspa) y los productos que se suelen añadir al cabello (perfumes, gomina, geles, etc.). Los surfactantes del shampoo separan el sebo de los cabellos, arrastrando la suciedad con él. (10)

El mecanismo químico que hace funcionar el shampoo es el mismo que el del jabón. El cabello sano tiene una superficie hidrofóbica a la que se adhieren los lípidos, pero que

repele el agua. La grasa no es arrastrada por el agua, por lo que no se puede lavar el cabello sólo con agua. Cuando se aplica shampoo al cabello húmedo, es absorbido en la superficie entre el cabello y el sebo. Los surfactantes aniónicos reducen la tensión de superficie y favorecen la separación del sebo del cabello. La materia grasa (apolar) se emulsiona con el shampoo y el agua, y es arrastrada en el aclarado. (10)

1.2.6 ELEMENTO PRINCIPAL DEL SHAMPOO

El elemento principal en la formulación del shampoo es el agente limpiador, también conocido como Surfactante (tensioactivo) y se clasifican en cuatro categorías:

a. Surfactante Aniónicos: Estos surfactantes contienen generalmente uno de cuatro grupos polares solubles, carboxilato, sulfonato, sulfato o fosfato, combinado con una cadena hidrocarbonada hidrófoba. Si esa cadena es corta son muy hidrosolubles, y en caso contrario tendrán baja hidrosolubilidad y actuarán en sistemas no acuosos como aceites lubricantes. A este tipo pertenecen los surfactantes de mayor producción: detergentes como alquilbencenosulfonatos, jabones o sales de ácidos. (12) (13)

b. Surfactante Catiónicos: Estos comúnmente utilizados en detergentes, agentes limpiadores, líquidos lavaplatos y cosméticos están compuestos por una molécula lipofílica y otra hidrofílica, consistente de uno o varios grupos amonio terciarios o cuaternarios. Las sales de cadenas larga de amonio terciarias, obtenidas por neutralización de las aminas con ácidos orgánicos o inorgánicos, son raramente usadas en detergentes y preparaciones para limpieza. Su principal aplicación está en el tratamiento de textiles y ocasionalmente como suavizantes tipo rinse. (12) (13)

Las sales de amonio cuaternarias con un solo grupo alquilo (C12-C18), o dos grupos más cortos (C8-C10) son usados como sustancias activas antimicrobianas. Debido a su capacidad para adsorber sobre fibras o cabello, los inicialmente mencionados sirven como acondicionadores para el cabello. (12) (13)

c. Surfactante No-iónicos: En contraste a sus contrapartes iónicas, los surfactantes no iónicos no se disocian en iones hidratados en medios acuosos. Las propiedades hidrofílicas son provistas por hidratación de grupos amida, amino, éter o hidroxilo. Cuando existe un número suficiente de estos grupos la solubilidad acuosa es comparable con la de los surfactantes iónicos. Las aplicaciones son extensas y dependen de la cantidad de grupos polares presentes, que determinaran la solubilidad tanto en agua como en aceite. Una gran parte de estos surfactantes son alcoholes o fenoles etoxilados (lavaplatos, shampoo). Ciertos derivados del sorbitol producen surfactantes no-tóxicos para uso farmacéutico o alimenticio. (12) (13) (33)

d. Surfactante Anfotéricos: Productos que según el pH de la solución pueden presentar tanto cargas positivas como negativas, al mismo tiempo. Como por ejemplo los aminoácidos, las betainas o los fosfolípidos. Según el pH del medio una de las dos disociaciones prevalece. Este tipo de surfactante se usa sólo en casos particulares debido a su alto costo. (12) (13)

El término surfactante es una contracción de la expresión agente activo de superficie (surface-active agent) y fue creado por la corporación GAF. Todos los shampoos, con la excepción de algunos especializados, contienen un surfactante ya que este es necesario para la formación de la espuma, además de ser agente limpiador. Estas moléculas están formadas fundamentalmente por dos partes, una de las cuales es atraída por las grasas / aceites (lipofílica) y otra que es atraída por el agua (hidrofílica).

Esta propiedad es la que permite que el agua y el aceite / grasas, lleguen a estar íntimamente mezclados. (12) (13)

Una cuidadosa selección y mezcla de surfactantes dan al shampoo su habilidad de remover el sucio y el sebo, sin dañar o irritar el cabello y el cuero cabelludo. (12)

1.2.7 SHAMPOO ANTI CASPA

Las compañías de cosméticos han desarrollado shampoos para aquellos que tienen caspa. Estos contienen fungicidas como piritiona de zinc y sulfito de selenio que ayudan

a reducir la caspa, alquitrán y Salicilato y sus derivados son usados también a menudo. Otro agente activo lo constituye el ketoconazol, poderoso antimicótico. (35)

Los principios activos más utilizados para controlar la caspa son:

- **Zinc piritiona:** Estas sustancias actúan principalmente inhibiendo la proliferación microbiana; sin embargo, también presentan cierto efecto citostático que ayuda a normalizar el proceso de la queratinización o renovación celular. (35)
- **Alquitrán:** Al igual que el anterior, actúa como un queratoregulador, es decir, disminuye la velocidad de duplicación de las células del cuero cabelludo.
- **Sulfuro de selenio:** Previene la sustitución acelerada de las células. Puede desteñir un poco el cabello, por lo que se recomienda seguir cuidadosamente las indicaciones. (35)
- **Ácido salicílico:** Cuando a los dermatólogos llegan caspas más severas, suelen utilizar tratamientos antiinflamatorios tópicos con ácido salicílico o corticoides para combatir la inflamación que existe, previa a la descamación. El ácido salicílico junto con algunos derivados de azufre (azufre coloidal, sulfuro de selenio) son buenos agentes exfoliantes que facilitan la eliminación de las escamas del cuero cabelludo. (35)

Siguiendo la tendencia creciente del mercado a diseñar cosméticos menos agresivos y más naturales, se están incorporando a las formulaciones anticaspa extractos vegetales que aportan nuevas propiedades antisépticas y cicatrizantes además de reducir las propiedades irritantes de alguno de los ingredientes activos. (33)

1.3 ROMERO (*Rosmarinus officinalis*)



FOTOGRAFÍA No. 1 PLANTA DE ROMERO, *Rosmarinus officinalis* L.

División: Magnolophya

Clase: Magnoliopsida

Subclase: Asteridae

Orden: Lamiales

Familia: Lamiaceae

Género: Rosmarinus

Especie: *Rosmarinus officinalis*

NOMBRES COMUNES: Los nombres locales varían según la región, con mayor frecuencia en la literatura se encuentra como, Romero bendito, romero blanco, romero común, romero coronario, romero de huerta, romero fino, romero hembra, romero macho, romerón, romero peregrino, romero real, romiru, rosa de mar, rosmarino, rumaní. (12).

1.3.1 ORIGEN

El romero es conocido desde hace siglos, se dice que los faraones egipcios hacían poner sobre su tumba un ramillete de romero para perfumar su viaje al país de los muertos. En el siglo XIV, la reina Isabel de Hungría, martirizada por el reumatismo, recobró la juventud gracias a esta planta, tanto fue así, que a sus 72 años el rey de Polonia la pidió matrimonio. Desde entonces se habla del “agua de la reina de Hungría” para hacer referencia a una de las formas de aplicar esta planta. (8)

1.3.2 DESCRIPCIÓN BOTÁNICA

Planta arbustiva que pertenece a la familia de las labiadas (Lamiaceae) característica por el aroma que desprende. Común en nuestro país, puede conseguir de uno a dos metros de altura siendo abundante en la tierra baja de todo nuestro territorio. Las hojas son opuestas y sésiles (no tienen pecíolos) y las flores bilabiales son de un tono azul, lila-rosado. Las ramas se desarrollan con consistencia leñosa formando matas altas

bastante erectas. Es verde todo el año. Son característicos los matojos de romero y brezo de invierno. Es una especie mediterránea. (12)

Es una planta vivaz, leñosa, arbustiva, de ramas pardas, de la que parten hojas de 15 a 40 mm de longitud, perennes, sentadas, opuestas, coriáceas, estrechas, lanceoladas, con los bordes enteros y revueltos hacia abajo, de color verde brillante, algo granulosa por el haz y suaves, con tomento blanquecino, por su envés. Las flores están agrupadas en pequeños y cortos racimos, en las axilas de las hojas; el cáliz es leñoso, con dientes bordeados de blanco; la corola, de 10 a 12 mm de longitud, es de color azul o lila pálido, a veces rosa y más rara vez blanca. En el interior del tubo de la corola se insertan dos estambres salientes, provistos en su base de un pequeño diente y terminados por dos anteras con un solo saco. El fruto es un tetraquenio. Florece desde febrero hasta noviembre. (8)

1.3.3 COMPUESTOS QUÍMICOS

Aceite esencial: tiene composición variable en función del lugar de cultivo, contiene los siguientes compuestos:

- **Monoterpenos:** 1,8-cineol (15 a 50%), alcanfor (3 a 25%) responsables ambos del olor alcanforado característico, proporcionando una sensación de frescor; alfa-pineno, alfa-terpineol, canfeno, borneol, acetato de bornilo, limoneno, linalol, mirceno, verbenona.
- **Sesquiterpenos:** β - cariofileno, α -pineno (10 a 35%).

Las hojas de romero también contienen principios amargos, constituidos por:

Diterpenos: picrosalvina, carnosol, isorosmanol, rosmadial, rosmaridifenol, rosmariquinona.

Triterpenos: ácidos oleanólico y ursólico, y sus 3-acetil-ésteres.

Flavonoides: cirsimarina, diosmina, hesperidina, homoplantiginina, fegopolina, nepetina y nepitrina.

Polifenoles: ácido rosmarínico, ácido clorogénico, ácido cafeico y ácidos fenólicos derivados del ácido cinámico. (4) (34) (36)

Cabe indicar que el ácido rosmarínico es un antioxidante común en muchas especies vegetales donde actúa como una defensa frente a las agresiones externas. La aplicación tópica de un contenido de ácido rosmarínico se ha mostrado eficaz en la reducción del prurito, sequedad, eritema y otros síntomas de la dermatitis. (36)

1.3.4 ACTIVIDAD FARMACOLÓGICA

El romero es carminativo, digestivo y antiespasmódico, y tiene propiedades coleréticas, colagogas y hepatoprotectoras. El efecto favorable que ejerce en la digestión se produce al actuar sobre varios niveles. En primer lugar, estimula la producción de los jugos gastrointestinales. Además relaja el músculo liso gastrointestinal, elimina posibles espasmos y favorece las secreciones. Al relajar el cardias, tiene un efecto carminativo y colagogo, gracias a la relajación del esfínter de Oddi. (7) (9)

La planta ejerce también un efecto diurético, antiinflamatorio, antiulcerogénico y antioxidante. Aunque en la literatura científica no se han descrito ensayos clínicos sobre estas propiedades farmacológicas, sí que se han demostrado mediante ensayos in vivo e in vitro. Su actividad colagoga, colerética y protectora hepática, así como su efecto diurético se ha observado en ratas y cobayas. Algunos ensayos farmacológicos han permitido asimismo demostrar que el aceite esencial, algunos extractos y varios de sus componentes aislados, relajan las musculaturas lisas traqueales, intestinales y vasculares de distintos animales de experimentación. (5) (24)

En cuanto a la actividad antiinflamatoria de los principios activos del romero, se ha comprobado en animales de experimentación que el ácido rosmarínico incrementa la producción de prostaglandina E2 y reduce la producción de leucotrieno B4 en leucocitos polimorfonucleares humanos. Asimismo se ha observado que este ácido fenólico inhibe el sistema del complemento. Por esta razón su uso podría ser útil en el

tratamiento o la prevención de diversas afecciones inflamatorias. También se ha demostrado en ratas que el extracto hidroalcohólico de la planta tiene una actividad antiulcerosa, efecto que algunos investigadores atribuyen a los componentes antioxidantes que contiene. (7)(22)

Finalmente, la esencia de la planta tiene propiedades antibacterianas, antisépticas, fungicidas y balsámicas. Es por este efecto balsámico por lo que se suele emplear para combatir afecciones respiratorias. A su vez, tiene un efecto rubefaciente y cicatrizante. (31)

El romero en tisana de flores y de hojas es un estimulante energético, hepático y biliar (colagogo). Se ha prescrito a convalecientes y a personas que padecen dermatitis. También es antiespasmódico y diurético. Tiene propiedades antisépticas, antiinfecciosas y cicatrizantes. Encontramos indicada la infusión de romero en el aclarado del cabello y en las dermatitis seborreicas, pero suele ser recomendable el combinarla con el uso interno. Si la dermatitis es muy marcada, será recomendable comenzar por una infusión muy diluida, pues puede aparecer una ligera irritación debido a la alta sensibilidad de la piel frente a la presencia de esencia. (1) (38)

La cocción de las ramitas con las hojas la aplican al cuero cabelludo para combatir la caída del cabello, y la cocción hecha con vinagre para combatir la caspa. (25)

1.3.5 EFECTOS ADVERSOS Y/O TÓXICOS

En dosis normales no es tóxico. El aceite esencial, por el contrario, no deberá usarse internamente porque ocasiona irritaciones gástricas, intestinales y renales. El baño de romero tomado por la noche altera el sueño. El ácido rosmarínico ha demostrado una baja toxicidad de acuerdo con la DL50 exhibida en ratones por vía endovenosa, que alcanzó los 561 mg/kg. Dicho ácido es eliminado de la circulación con un tiempo de 9 minutos (Parnham M. &Kesselring K., 1985). En humanos, la aplicación tópica del aceite esencial no provoca irritación o dermatitis cutánea, salvo algunos casos

individuales de hipersensibilidad o fotosensibilidad aislados. Debe recordarse que el aceite esencial de romero contiene alcanfor en concentraciones importantes, lo cual hace que su empleo oral en dosis inadecuadas pueda generar cuadros epileptiformes. Así mismo puede ser irritativo para el endotelio renal. (4) (9)

1.3.6 FORMAS GALÉNICAS

- **Infusión:** De la sumidad florida al 2-4%, administrándose tres veces al día.
- **Extracto Seco:** Relación 8:1, se administra en base a 0,3-1 g diario, repartido en 2-3 tomas.
- **Tintura:** Relación 1:5 g/mL. Se recomienda 10 mL, 3 veces al día. En casos de elaborar la tintura en relación 1:8, en etanol de 35%, se administran 3-5 mL/dosis.
- **Aceite Esencial:** Se suele administrar en forma de cápsulas de 50 mg cada una, con una dosis de 100-150 mg diarios.
- **Vía Externa:** En aplicación tópica al 5% bajo solución oleosa o alcohólica, es empleado como repelente de insectos y antineurálgicos. También se emplea en fórmulas capilares junto a la ortiga para evitar la caída del cabello. (31)

1.3.7 TAMIZAJE FITOQUÍMICO

El cribaje o tamizaje fitoquímico tiene como objetivo general la determinación cualitativa de los principales grupos fitoquímicos presentes en un extracto vegetal. (27)

La extracción de los metabolitos secundarios del vegetal se lo realiza con un solvente que solubilice al mayor número de componentes, a este extracto se lo somete a reacciones sensibles (de coloración), reproducibles y de bajo costo, los resultados del tamizaje fitoquímico constituyen únicamente una orientación y deben interpretarse en conjunto con los resultados de las pruebas in vitro, ya que en ocasiones la actividad biológica está dada por el fitocomplejo y en otras por un determinado compuesto conocido como marcador. (4) (6)

Las técnicas de determinación cualitativa más corrientemente utilizadas incluyen la determinación de la presencia de alcaloides, flavonoides, taninos, antracenos, esteroides insaturados, saponinas, glicósidoscardioactivos, taninos y otros grupos fenólicos. (27)

- a. **Ensayo de Dragendorff:** Utilizado para detectar la presencia de alcaloides.

- b. **Ensayo de Lieberman-Buchard:** Permite reconocer en un extracto la presencia de triterpenos y/o esteroide, en ambos tipos de productos debe poseer un núcleo androstano, generalmente insaturado en el anillo B y la posición 5-6.

- c. **Ensayo de Borntranger:** Es útil para detectar la presencia de quinonas.

- d. **Ensayo de Baljet:** Es útil para reconocer la presencia de compuestos con agrupamiento lactónico, en particular Cumarinas, aunque otros compuestos lactónicos pueden dar resultado positivo.

- e. **Ensayo de Sudan III:** Permite conocer en un extracto la presencia de compuestos grasos.

- f. **Ensayo de Wagner:** Se parte de la solución ácida, de igual forma que en los casos anteriores. A esta solución, se adiciona 2 o 3 gotas de reactivo de Wagner y se reporta los resultados de igual forma que en la reacción anterior.

- g. **Ensayo de Fehling:** Permite reconocer en un extracto la presencia de azúcares reductores.

- h. **Ensayo de Espuma:** Permite reconocer en un extracto la presencia de saponinas, tanto del tipo esterooidal como triterpénica.

- i. **Ensayo de Cloruro Férrico:** Permite reconocer la presencia de compuestos fenólicos y/o taninos en un extracto vegetal.

- j. Ensayo de Ninhidrina:** Permite reconocer en los extractos vegetales la presencia de aminoácidos libres o de aminas en general.

- k. Ensayo de Shinoda:** Permite reconocer la presencia de flavonoides en el extracto vegetal.

- l. Ensayo de Antocianidas:** Permite conocer en los extractos vegetales la presencia de estas estructuras de secuencia C6-C3-C5 del grupo de los flavonoides.

- m. Ensayo de Mucílagos:** Permite reconocer en los extractos de vegetales la presencia de esta estructura tipo polisacárido, que forma un coloide hidrófilo de alto índice de masa que aumenta la densidad del agua donde se extrae. (27)(6)

1.3.8 TAMIZAJE FITOQUÍMICO DE *Rosmarinus officinalis*

En el hidrodestilado de *Rosmarinus officinalis* se determinan que hay la presencia de agrupamientos lactónicos, aceites esenciales y terpenoides, ya que las pruebas de Baljet, Sudan III, y Rosenheid resultaron positivas. (6)

TABLA No. 1 TAMIZAJE FITOQUÍMICO DE *Rosmarinus officinalis*.

PRUEBAS	RESULTADO
Ensayo de Dragendorff	(-)
Ensayo de Baljet	(+)
Ensayo de Sudan III	(+)
Ensayo de Cloruro Férrico	(-)
Ensayo de Shinoda	(-)
Ensayo de Rosentaler	(+)

1.4 ACEITES ESENCIALES

1.4.1 DEFINICIÓN DE ACEITE ESENCIAL

Braverman (1967) sostiene que las esencias contienen en gran proporción mezclas volátiles de terpenos, sesquiterpenos, alcoholes, aldehidos, cetonas, ácidos, ésteres, y otros compuestos no volátiles como alcanfores y materiales céreos por lo que se pueden presentar en forma líquida o sólida.

Contribuyendo a estas dos definiciones, los aceites esenciales son sustancias líquidas y perfumadas que se encuentran en las flores en los frutos y en las hojas de las plantas; químicamente son mezclas complejas de compuestos orgánicos que suelen contener terpenos; se obtienen por destilación en una corriente de vapor, por absorción sobre grasas en frío, por infusión en caliente con grasas, por disolución en disolventes adecuados, por presión mediante el uso de prensas, etc. Se han dado muchas definiciones de los aceites esenciales, en consecuencia debido a que los aceites esenciales tienen el aspecto de los verdaderos aceites, pues se les considera como tales, conservando hasta nuestros días su nombre genérico original. (51)

Los aceites esenciales presentan las siguientes características:

- Constituyen un grupo de sustancias muy heterogéneas, muchas de las cuales tienen en común ciertos caracteres.
- Su olor agradable se debe básicamente a la acción conjunta de varias sustancias aromáticas, de tal forma que cuando estos son preparados artificialmente no constituyen sustitutos perfectos de los productos naturales, tanto el olor y el sabor varían según las partes de la planta de la cual provienen; el sabor puede ser amargo e irritante.
- En una gran proporción los aceites esenciales son más livianos que el agua, límpidos, bastantes volátiles, incoloros o ligeramente coloreados.

- Casi todos los aceites esenciales se encuentran en estado líquido a la temperatura ambiente.
- Cuando son enfriados violentamente o por acción del tiempo, forman en el fondo del recipiente que los contiene un sedimento de aspecto cristalino. La acción del tiempo hace que los aceites esenciales modifiquen su aroma o lo pierdan, volviéndose estos más densos o inservibles.
- Cuando son frescos, generalmente presentan una notoria neutralidad, pero después de cierto tiempo y especialmente si los recipientes han estado deficientemente cerrados toman un carácter ácido denominándose a esto "Resinificación" que modifica totalmente las características del producto, cambiando el color, olor y sabor; aumenta su densidad, se vuelve ácido y viscoso, aumentando el punto de ebullición y disminuyendo su solubilidad.
- La resinificación es el resultado de la oxidación ocasionada por el aire y acelerada por la luz; por este motivo los aceites esenciales deben conservarse en lugares oscuros o en frascos de vidrio de color caramelo, herméticamente cerrados. (51)

1.4.2 CLASIFICACIÓN DE LOS ACEITES ESENCIALES

Podemos clasificarlos en tres aspectos:

a. POR SU ORIGEN:

- **ESENCIAS NATURALES:** Son aquellos que se obtienen directamente de la naturaleza ya sea como productos de secreción o mediante procesos fisicoquímicos.
- **ESENCIAS SINTÉTICAS:** Son aquellas que se obtienen por síntesis orgánica ya sea de las mismas o de las sustancias químicas que la componen, esto es empleado en la industria de perfumes.

- ESENCIAS ARTIFICIALES O MIXTAS: Son aquellas que resultan de la mezcla de las esencias naturales y sintéticas, siendo el aroma análogo al de los naturales. Por ejemplo la vainilla es la esencia artificial obtenida del almizcle. (51)

b. POR SU COMPOSICIÓN ELEMENTAL:

- ESENCIAS NITROGENADAS: Son aquellas que en su composición química llevan nitrógeno como la esencia del berro, etc.

- ESENCIAS SULFURADAS: Son aquellas que en su composición química contienen azufre, como la esencia de mostaza, ajo, cebolla, etc.

- ESENCIAS POBRES EN OXIGENO: llamadas también esencias ricas en terpenos. Tiene esta clasificación la esencia de trementina, eucalipto, laurel, limón, romero.

- ESENCIAS RICAS EN OXIGENO: Dentro de ellas tenemos la esencia de rosas, violetas, anís, menta, etc.

c. POR SU PUNTO DE EBULLICIÓN:

- ESENCIAS FIJAS: Son aquellas cuyo peso molecular generalmente es elevado, en este grupo están: los productos balsámicos y las esencias resinosas.

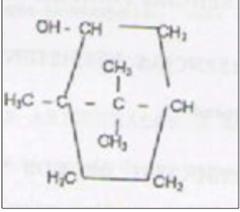
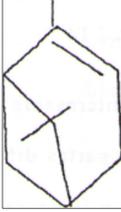
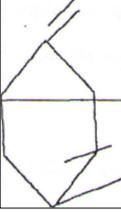
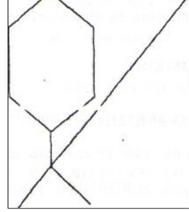
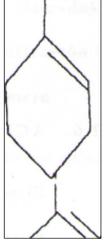
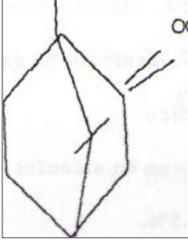
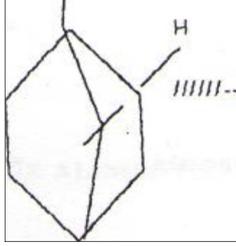
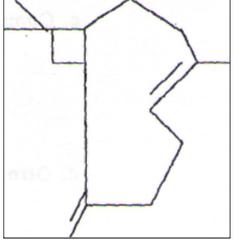
- ESENCIAS FUGACES: Dentro de estas tenemos: menta.

- ESENCIAS PERSISTENTES: Dentro de estas tenemos: rosas.

1.5 ACEITE ESENCIAL DE ROMERO

El aceite esencial de romero es una sustancia líquida, obtenida a partir del *Rosmarinus officinalis L.* es de color amarillento, con olor característico, siendo su principal constituyente el Borneol.

La esencia de romero además contiene: α - pineno, canfeno, cineol, limoneno, alcanfor, acetato de bornilo y cariofileno, ésta esencia se encuentra en una proporción de 1.2-2 % (hojas).

			
<p>FIGURA No. 1 FÓRMULA ESTRUCTURAL DEL BORNEOL</p>	<p>FIGURA No. 2 FÓRMULA ESTRUCTURAL DEL PINENO</p>	<p>FIGURA No. 3 FÓRMULA ESTRUCTURAL DEL CANFENO</p>	<p>FIGURA No. 4 FÓRMULA ESTRUCTURAL DEL CINEOL</p>
			
<p>FIGURA No. 5 FÓRMULA ESTRUCTURAL DEL LIMONENO</p>	<p>FIGURA No. 6 FÓRMULA ESTRUCTURAL DEL ALCANFOR</p>	<p>FIGURA No. 7 FÓRMULA ESTRUCTURAL DEL BORNEOL , ACETATO DE BORNILO</p>	<p>FIGURA No. 8 FÓRMULA ESTRUCTURAL DEL CARIOFILENO</p>

1.5.1 PROPIEDADES FÍSICAS DEL ACEITE ESENCIAL DE ROMERO

- a. Densidad relativa a 20 °C = 0.9170 g / mL.
- b. Índice de refracción = 1.4701
- c. Solubilidad en alcohol = 1 en 3.3 vol. alcohol de 80 °.
- d. Desviación polarimétrica = 5°, 74. c. Índice do acidez = 0.77.
- f. Absorción en ultravioleta = débilmente absorbente.
- g. Caracteres organolépticos = Es un líquido límpido, amarillento, de olor alcanforado y sabor amargo. (51)

1.5.2 EXTRACCIÓN DE ACEITES ESENCIALES

El proceso de extracción de aceites esenciales a partir de diferentes materias primas vegetales está supeditado a la materia prima a utilizar. Ello ligado al rendimiento de extracción deseado, son los factores principales que condicionan el método y equipos a emplear para dicho fin.

EXTRACCIÓN POR DESTILACIÓN

Ames y Mathews (1972) manifiestan que la destilación es una técnica de separación del material volátil y no volátil mediante el vapor de agua. El material volátil es arrastrado conjuntamente con el vapor de agua formando una mezcla, pasando luego a un condensador donde ambas se separan en dos fases distintas por condensación. Los mismos autores mencionan que la característica fundamental de los aceites esenciales en la destilación con vapor de agua es que estas sustancias son insolubles o poco solubles en agua y que dos líquidos volátiles los cuales no son mutuamente solubles, evaporan juntamente a una temperatura menor que el punto de ebullición de uno u otro; de este modo cada sustancia volátil en un aceite esencial es elevado por el vapor y la mezcla tiene un punto de ebullición ligeramente menor a 100°C.

Berg (1963), informa que la volatilidad de un líquido es directamente proporcional a su presión de vapor e inversamente proporcional a su punto de ebullición y peso molecular.

Guenther (1963), denomina a la destilación, hidrodestilación y señala como los principales efectos que lo acompañan lo siguiente:

- Difusión de aceite y agua caliente a través de las membranas de la planta.
- Hidrólisis de algunos componentes del aceite esencial.
- Descomposición ocasionada por el calor.

García (1953) señala que el efecto de la destilación es que el vapor mediante su acción térmica, fisicoquímica e incluso química (sobre todo el vapor húmedo) hincha las paredes de los tejidos facilitando por medio de la osmosis el paso de la esencia al exterior. Una vez aislada la esencia, ésta destila a temperaturas muy inferiores a su punto de ebullición, influyendo favorablemente en la cantidad de agua presente.

Sievers (1972) menciona que entre las ventajas del método de destilación por vapor esta su simplicidad, el tiempo corto de operación y las grandes cantidades de materia prima que se pueden utilizar a bajo costo.

Ames y Mathews (1972) mencionan que existen tres tipos básicos de destilación de aceites esenciales que se diferencian en el grado de contacto entre el agua y el material de la planta.

- Destilación por agua: En este tipo de destilación, el material es totalmente sumergido en agua en ebullición, esta es la forma más simple de destilación de aceites esenciales; consiste en sobrecalentar a fuego (madera y otro combustible) un recipiente conteniendo agua y material de la planta. (51)

Las desventajas de este método son:

- Es casi imposible mantener un calentamiento uniforme.
- La destilación es lenta.
- La destilación en gran escala es antieconómica.

Las ventajas que presenta son:

- La destilación por agua es necesario para algunos casos por ejemplo: pétalos de rosa.
- A veces la destilación de algunos materiales de madera tales como la canela facilita la difusión del aceite.
- Destilación por agua y vapor de agua: En este tipo de destilación el material es soportado encima del nivel del agua en ebullición (por medio de una rejilla), la carga no está expuesta directamente a la fuente de calor . Alternativamente el agua

puede ser calentada por un serpentín cerrado por el cual circula vapor o fuego directo sobre la base del recipiente. (51)

Las ventajas son:

- Corto tiempo de duración del proceso.
- Se puede recuperar el aroma del agua condensada en una primera destilación, al utilizar esta nuevamente para producir vapor.
- Destilación por vapor directo: Este tipo de destilación constituye la técnica más avanzada de destilación. La carga es mantenida sobre la rejilla dentro del destilador, el vapor proveniente de un caldero alimenta al destilador a través de un serpentín cribado. El vapor puede ser saturado o ligeramente sobrecalentado. Si el destilador no está revestido con material aislante se forma mucho condensado; sin embargo hay suficiente vapor para facilitar que el aceite salga de los tejidos.

Las ventajas que presentan son:

- Es un proceso corto, esto minimiza la descomposición de constituyentes sensibles tales como los ésteres.
- Apropiado para la destilación en gran escala, por la puesta en marcha del proceso rápidamente, lo mismo que un vaciado y cargado de material.

Las desventajas que presenta son:

- Si no se regula la calidad del vapor, la humedad en el material puede evaporarse y el aceite podría no liberarse de los tejidos. (51)

1.6 EXCIPIENTES

Son sustancias auxiliares que ayudan a que el principio activo se formule de manera estable, eficaz y, sobre todo, seguras para el paciente. Estos excipientes se pueden

Se suele combinar con alcanolamidas de ácidos grasos para sobreengrasar y espesar el producto. Una manera de aumentar la viscosidad de estos compuestos es mediante la adición de sal común (cloruro sódico). El lauril éter sulfato sódico se puede mezclar con un gran número de sustancias detergentes, en cualquier proporción, y también con otros principios activos y aditivos especiales (23) (44)

Toxicología

El SLES es considerado seguro, los efectos de irritación se incrementan al aumentar la concentración. (44)

1.6.2 DIETANOLAMIDA (COPERLAN)

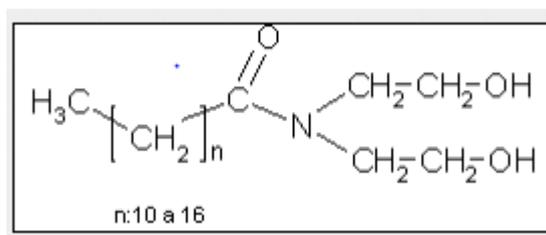


FIGURA No. 10 ESTRUCTURA QUÍMICA DEL COPERLAN

Sección: Tensioactivo

Tipo: No iónico

Familia: Alcanolamidas

Subfamilia: Amida derivadas de las Alcanolamidas

Denominación química: Dietanolamida de ácido graso de coco

Número CAS: 61791-31-9; 68603-42-9

Propiedades Físico químicas típicas

Composición Dietanolamida de ácidos grasos de coco

Aspecto Líquido oleoso viscoso de color amarillo claro o pasta blanda.

Datos técnicos	Amina libre	<5%
	Ácido graso libre	<1%
	Éster	6%
	Amida	78-90%
	Agua	0.5%
	Valor de pH	8-10

Propiedades

La dietanolamida de ácidos grasos de coco se disuelve en agua formando un sol turbio jabonoso levemente espumante. Este producto posee poder emulsionante y codisolvente. En soluciones detergentes destacan especialmente sus propiedades espesantes y formadoras de estructura. En estas combinaciones actúa protegiendo la piel con un suave poder detergente propio. (34)

En alcoholes y otros disolventes empleados en cosmética se disuelve en forma transparente, siendo miscible con muchos aceites (especialmente con ceras y alcohol de Guerbet). Mediante reducidas adiciones de alcohol, pueden clarificarse las mezclas con aceites grasos de origen vegetal y animal.

La cocamide DEA ejerce un fuerte efecto emulsionante en todos los casos en que se incorpore agua. (34)

Aplicaciones

Como espesante con propio poder detergente, la cocamide DEA se emplea ventajosamente en la fabricación de detergentes líquidos, especialmente en shampoos transparentes y en emulsión. En estos casos no es indispensable la incorporación de sal para elevar la viscosidad.

Sin embargo, no puede indicarse un esquema de composición fijo para estos sistemas de estructura viscosa, especialmente después de haber efectuado una dilución con agua. Por tanto, será necesario realizar en cada caso algunos ensayos previos para determinar la composición óptima de un producto final con buena estabilidad.

Como ejemplo, una solución de lauril éter sulfato sódico diluída con agua hasta doblar su volumen debe alcanzar una viscosidad de aproximadamente 10000 cP a 20°C mediante una adición de un 6% de dietanolamida de ácidos grasos de coco.

La cantidad de empleo de la cocamide DEA en muchos productos especiales cosméticos y técnicos oscila en general entre 1 y 5%, calculado sobre el producto final.(23)(34)

Estabilidad

Pueden sufrir hidrólisis a pH extremos, pero en su uso normal en cosmética son estables. Cabe destacar que tienen tendencia a decolorarse con la exposición al aire y la luz.

1.6.3 EUPERLAND

Es una mezcla de eter-sulfato de alcoholes grasos con sustancias nacarantes y avivantes para preparaciones tensoactivas, elaborados en estado frío.

ASPECTO: Es una emulsión viscosa, blanda y con brillo nacarado.

OLOR: Ligeramente débil característico al alcohol.

USOS: Debido a su elevado contenido de sustancias avivantes es particularmente apropiado para las llamados cremas espumantes para el baño, como componente nacarante y reengrasante.

PROPIEDADES: El Euperlan PK es apropiado para la industria de preparados cosméticos en forma de emulsión con brillo nacarado, como por ejemplo para shampoos, geles, espumantes, etc.

PELIGRO: No es tóxico, no irrita la piel y no es inflamable.

APLICACIÓN Y ELABORACION: Este producto es compatible con todos los tipos Texapón y demás sustancias detergentes afines. Su especial ventaja consistente en la posibilidad de que pueda incorporarse en frío. Para su elaboración se mezclan todos los componentes y se agita hasta su homogenización. La viscosidad se regula con el comperlan o cloruro de sodio.

ALMACENAMIENTO: Se conserva como mínimo tres años en los envases originales, debidamente cerrados y a temperaturas normales.

NOTA: Tenemos cinco tipos de EUPERLAN, las mismas que su aplicación es universal para los preparados tensoactivos, cuya función es como concentrado nacarante por que genera brillo perla, sedoso muy denso y fino. (36)

1.6.4 BRONIDOX (BROMIDOX)

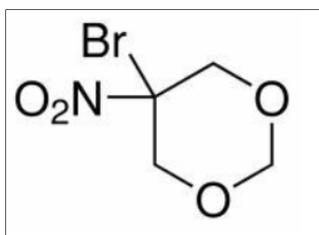


FIGURA No. 11 ESTRUCTURA QUÍMICA DEL BRONIDOX

Es un moderno agente de conservación, apropiado para todas las operaciones y preparados de cosméticos que no permanecen en la piel; como shampoos, baños de espuma, preparaciones para la ducha, cremas detergentes, humectantes, emulsionantes, etc.

El Bronidox puede trabajarse en frío, en forma que su aplicación no ofrece problemas alguno. Este producto se incorpora a las formulaciones acabados bajo agitación, sin que por ello surja problema alguno como cambio de color y olor. Es estable frente a la luz y la temperatura y es a la vez compatible con otros componentes.

ADVERTENCIA: En la manipulación de esta materia prima en forma diluida, deberá evitarse su contacto directo con la piel y las mucosas.

NOTA: Tenemos dos clases de bronidox. L Y L5, las mismas que se utilizan para conservar el producto terminado durante un tiempo determinado, especialmente para shampoos, baños de espuma, preparaciones tensoactivas, productos enjuagables y otros cosméticos similares. También se observarán las regulaciones de las correspondientes leyes sobre cosméticos. (23)(36)

Es el 5-bromo, 5 nitro-1.3 dioxano. es el nombre comercial de la compañía Cognis. Viene en solución al 5% y al 10 % en glicoles. Su uso principal; como preservante contra contaminación microbiológica de producto cosméticos líquidos y sólidos en concentraciones que van desde 0.05% hasta 0.1%

1.6.5 ALCOHOL CETILICO (CETIOL HE)

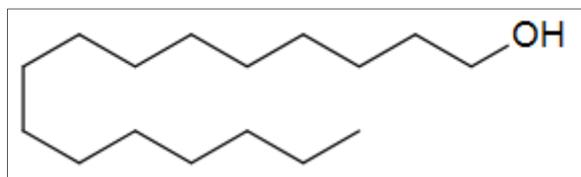


FIGURA No. 12 ESTRUCTURA QUÍMICA DEL CETIOL

Es un aceite de éster decílico del ácido oléico, siruposo, límpido e incoloro y de reacción neutra, similar a las grasas cutáneas biológicas de uso universal para preparados de tratamiento.

Olor: Débil característico a la glicerina.

USOS: Productos farmacéuticos, perfumería, acondicionadores, cremas, tonificantes colorantes capilares, shampoos finos, jabones especiales, humectantes, emulsionantes y preparaciones anhidras.

ENVASES: Al almacenar debe realizar en lugares frescos y en envases de polietileno.

PELIGRO: Poco tóxico y no es inflamable.

PROPIEDADES: Por su alto poder penetrante es usado como buen disolvente en sustancias farmacéuticas y comerciales, ya sea puro o en mezcla de otros aceites. Es muy apropiado para elaborar aceites cutáneos y componentes reengrasantes para cremas y emulsiones líquidas, es un alto agente acondicionante y un fijo engrasante en cremas y shampoos.

MISCIBILIDAD: Es compatible con agua, alcohol, éter y disolventes orgánicos.

En la cosmética fina, el CETIOL HE es utilizado para elaborar productos de alta calidad por ser aceites con carácter fuertemente graso, escaso poder de extensibilidad y con gran efecto a profundidad. Es un aceite hidrófilo como componente para todos los preparados tensoactivos y componentes oleosas con propiedades conservantes, agradable impresión sobre la piel y con pronunciado efecto medio de uso universal.
(23)(34)

Peso molecular: 212.06.

Color: polvo cristalino blanco, líquido descolorido, transparente en el glicol 1.2- del propileno.

Punto de fusión: 60°C o 58.5-62°C

Solubilidad: insoluble en agua

pH: 6-7

Estable bajo condiciones normales

No reactivo con enzima/sustrato en la inhibición de los análisis pero de las causas de las bacterias de la actividad enzimática.

Se utiliza en inmunología para preservar los anticuerpos y los antisueros en 0.1 - 0.5% concentración.

Bactericida. Muy eficaz contra la levadura y los hongos.

Utilizado en cosméticos desde los mediados de los años setenta como preservativo para los shampoos, el baño de la espuma, el etc. La concentración máxima es 0.1 %.
(28)(23)

1.7 ESTUDIO DE LA ESTABILIDAD

Proporciona informaciones que indican el grado de estabilidad relativa de un producto en las variadas condiciones a las que pueda estar sujeto desde su fabricación hasta su expiración.

Esta estabilidad es relativa, pues varía con el tiempo y en función de factores que aceleran o retardan alteraciones en los parámetros del producto. Modificaciones dentro de límites determinados pueden no configurar como motivo para reprobación del producto.

El estudio de la estabilidad contribuye para:

- Orientar el desarrollo de la formulación y del material de acondicionamiento adecuado.
- Proporcionar ayudas para el perfeccionamiento de las formulaciones.
- Estimar el plazo de validez y proporcionar informaciones para su confirmación.
(12 Theme series Anvisa Cosmetics Volume 1)
- Auxiliar en el monitoreo de la estabilidad organoléptica, físico-química y microbiológica, produciendo informaciones sobre la confiabilidad y seguridad de los productos.

1.7.1 FACTORES QUE INFLUENCIAN LA ESTABILIDAD

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

clasificadas como extrínsecas, cuando son determinadas por factores externos; o intrínsecas, cuando son determinadas por factores inherentes a la formulación.

FACTORES EXTRÍNSECOS

Se refieren a factores externos a los cuales el producto está expuesto, tales como:

a) Tiempo

El envejecimiento del producto puede llevar a alteraciones en las características organolépticas, físico-químicas, microbiológicas y toxicológicas.

b) Temperatura

Temperaturas elevadas aceleran reacciones físico-químicas y químicas, ocasionando alteraciones en: la actividad de componentes, viscosidad, aspecto, color y olor del producto.

Bajas temperaturas aceleran posibles alteraciones físicas como turbiedad, precipitación, cristalización.

Problemas generados, en función de temperaturas elevadas o muy bajas, también pueden ser resultantes de disconformidades en el proceso de fabricación, almacenamiento o transporte del producto.

c) Luz y Oxígeno

La luz ultravioleta, conjuntamente con el oxígeno, origina la formación de radicales libres y desencadena reacciones de óxido-reducción.

Los productos sensibles a la acción de la luz deben ser acondicionados en lugares protegidos, en frascos opacos u oscuros y deben ser adicionadas sustancias antioxidantes en la formulación, con el propósito de retardar el proceso oxidativo.(31)

d) Humedad

Este factor afecta principalmente las formas cosméticas sólidas como talco, jabón en barra, sombras, sales de baño, entre otras.

Pueden ocurrir alteraciones en el aspecto físico del producto, volviéndolo blando, pegajoso, o modificando su peso o volumen, como también contaminación microbiológica.

e) Material de Acondicionamiento

Los materiales utilizados para el acondicionamiento de los productos como vidrio, papel, metal y plástico pueden influenciar en la estabilidad.

Deben ser efectuadas pruebas de compatibilidad entre el material de acondicionamiento y la formulación, con el propósito de determinar la mejor relación entre ellos.

f) Microorganismos

Los productos cosméticos más susceptibles a la contaminación son los que presentan agua en su formulación como emulsiones, geles, suspensiones o soluciones.

La utilización de sistemas conservantes adecuados y validados (prueba de desafío del sistema conservante - Challenge Test), así como el cumplimiento de las Buenas Prácticas de Fabricación son necesarios para la conservación adecuada de las formulaciones.

g) Vibración

Vibración durante el transporte puede afectar la estabilidad de las formulaciones, ocasionando separación de fases de emulsiones, compactación de suspensiones, alteración de la viscosidad entre otros.

Un factor agravante del efecto de la vibración es la alteración de la temperatura durante el transporte del producto.

FACTORES INTRÍNSECOS

Son factores relacionados a la propia naturaleza de las formulaciones y sobre todo a la interacción de sus ingredientes entre sí y/o con el material de acondicionamiento.

Resultan en incompatibilidades de naturaleza física o química que pueden, o no, ser visualizadas por el consumidor.

Incompatibilidad Física

Ocurren alteraciones, en el aspecto físico de la formulación, observadas por: precipitación, separación de fases, cristalización, formación de grietas, entre otras.

(6)(28).

Incompatibilidad Química

a) pH

Se deben compatibilizar tres diferentes aspectos relacionados al valor del pH: estabilidad de los ingredientes de la formulación, eficacia y seguridad del producto.

b) Reacciones de Óxido-Reducción

Ocurren procesos de oxidación o reducción llevando a alteraciones de la actividad de las sustancias activas, de las características organolépticas y físicas de las formulaciones.

c) Reacciones de Hidrólisis

Suceden en la presencia del agua, siendo más sensibles las sustancias con funciones éster y amida. Cuanto más elevado es el contenido de agua en la formulación, es más probable que se presente este tipo de reacción.

d) Interacción entre los ingredientes de la formulación

Son reacciones químicas indeseables que pueden ocurrir entre ingredientes de la formulación anulando o alterando su actividad.

e) Interacción entre ingredientes de la formulación y el material de acondicionamiento

Son alteraciones químicas que pueden acarrear modificación a nivel físico o químico entre los componentes del material de acondicionamiento y los ingredientes de la formulación.

1.7.2 ASPECTOS CONSIDERADOS EN LA ESTABILIDAD

Físicos: deben ser conservadas las propiedades físicas originales como aspecto, color, olor, uniformidad, entre otras.

Químicos: deben ser mantenidos dentro de los límites especificados para la integridad de la estructura química, el contenido de ingredientes y otros parámetros.

Microbiológicos: deben ser conservadas las características microbiológicas, conforme los requisitos especificados. El cumplimiento de las Buenas Prácticas de Fabricación y los sistemas conservantes utilizados en la formulación pueden garantizar estas características.

Además de estos aspectos es necesario considerar también el mantener las características del producto en cuanto a la Funcionalidad: los atributos del producto deben ser mantenidos sin alteraciones en cuanto al efecto inicial propuesto.

(Cosmetic Products Stability Guide 15)

Seguridad: no deben ocurrir alteraciones significativas que influyeran en la seguridad de uso del producto.

Antes de iniciar los estudios de estabilidad, se recomienda someter al producto a la prueba de centrifugación. Se sugiere centrifugar una muestra a 3.000 rpm durante 30 minutos. El producto debe permanecer estable y cualquier señal de inestabilidad indica la necesidad de reformulación. Si es aprobado en esta prueba, el producto puede ser sometido a las pruebas de estabilidad.(6)(28)

1.7.3 MOTIVOS PARA REALIZAR UN ESTUDIO DE ESTABILIDAD.

- RAZONES LEGALES.- Este es un requisito establecido por las autoridades salud para establecer el periodo de vida útil del producto farmacéutico.

- RAZÓN SANITARIA.-Es necesario realizar este estudio, porque los productos de degradación del principio activo excipientes no siempre suelen ser inocuos.

- RAZONES ECONÓMICAS.- Si el producto sufre degradaciones físicas que afecten su presentación comercial, este ya no es aceptado por parte del paciente consumidor.

(32)

1.7.4 DEFINICIONES BÁSICAS EN UN ESTUDIO DE ESTABILIDAD

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

- PERIODO DE VIDA ÚTIL.- Es el intervalo de tiempo desde la elaboración del medicamento hasta que ya no cumple con las especificaciones físicas, químicas y microbiológicas establecidas en farmacopeas oficiales.

- FECHA DE CADUCIDAD.- Es la fecha límite que pasada la cual ya no cumple con las especificaciones establecidas en farmacopeas oficiales (24) (40).

1.7.5 TIPOS DE ESTUDIOS DE ESTABILIDAD

Tenemos dos tipos de estudio.

a) Estudios normales

b) Estudios acelerado

a) ESTUDIOS NORMALES.- Estos estudios consisten en someter a la muestra a condiciones normales de temperatura y humedad de almacenamiento, se determina en forma periódica la degradación del principio activo; este es un método que nos permite determinaren una forma más exacta la vida útil del medicamento o cosmético, sin embargo el gran inconveniente es el tiempo que demora el estudio.

b) ESTUDIOS ACELERADOS.- Este tipo de estudios se basan en el efecto de la temperatura sobre la velocidad de reacción. Consiste en someter la muestra a condiciones extremas de almacenamiento (Temperatura y humedad relativa), con el fin de acelerar a degradación química y modificación física se determina en forma periódica la concentración del principio activo. (12)(50)

1.7.6 MÉTODO PARA REALIZAR EL ESTUDIO DE ESTABILIDAD

El método más usado es:

MÉTODO DE POPPE

Es una variación del método de Arrhenius, es más práctico y seguro, no se necesita determinar el orden de reacción, no se necesita un porcentaje alto de degradación del principio activo.

Se basa determinar tablas de contingencia y determinar el porcentaje degradado del principio activo a diferentes temperaturas considerando energías de activación usuales para productos farmacéuticos. Dependiendo del tiempo para el que se realicen las tablas de contingencia, se podrá estimar si el producto tiene determinados meses previamente establecidos de vida útil.

Este es un método muy utilizado en investigación y desarrollo de nuevos fármacos.

Este método se basa en la ecuación de Arrhenius:

$$K = (\kappa T / \eta) e^{-E_a}$$

En donde:

K = Velocidad de reacción.

κ = Constante de Boltzman 1.38×10^{-16} erg. °K

η = Constante de Plank 6.624×10^{-27} erg. s

E_a = Energía de activación.

METODOLOGÍA

- Se procede a elaborar la tabla de contingencia de la siguiente forma:

Basados en las dos ecuaciones:

$$K = (\kappa T / \eta) e^{-E_a}$$

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

Igualamos ecuaciones y despejemos A:

$$A = [(1,38 \times 10^{-16}) \text{ erg}^{\circ} \text{k} / (6,624 \times 10^{-27}) \text{ erg} \cdot \text{seg}] T$$
$$A = ((2,0833 \times 10^{10})^{\circ} \text{K}^{-1} \cdot \text{seg}^{-1}) T$$

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

$$A = ((2,0833 \times 10^{10})^{\circ} \text{K}^{-1} \cdot \text{seg}^{-1}) \times 273^{\circ} \text{K} = 5,68741 \times 10^{12} \text{ seg}^{-1}$$
$$A = ((2,0833 \times 10^{10})^{\circ} \text{K}^{-1} \cdot \text{seg}^{-1}) \times 323^{\circ} \text{K} = 6,72906 \times 10^{12} \text{ seg}^{-1}$$

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

$$K_1 = A_1 e^{-E_a/RT_1} \qquad K_2 = A_2 e^{-E_a/RT_2}$$

Dividiendo y eliminando A tenemos:

Aplicando logaritmos:

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

Aplicando logaritmos

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

De esta manera obtenemos la siguiente tabla:

TABLA No 2. VALORES DE CONSTANTES PARA DIFERENTES TEMPERATURAS Y ENERGÍAS DE ACTIVACIÓN DEL MÉTODO DE POPPE.

°C	°K	E_a 10 Kcal/mol (mes ⁻¹)	E_a 25 Kcal/mol (mes ⁻¹)
25	298	4.38×10^{-3}	4.38×10^{-3}
30	303	5.80×10^{-3}	8.81×10^{-3}
40	313	9.86×10^{-3}	3.32×10^{-3}
50	323	1.62×10^{-3}	1.15×10^{-3}

Una vez obtenidas las constantes procedemos a calcular el porcentaje remanente y el degradado:

$$C = C_0 e^{-kt}$$

$$C = 100 \times e^{(4.39 \times 10^{-3})(3) \text{ meses}}$$

$$C = 98.69\% \text{ remanente}$$

$$\% \text{ degradado} = 100 - 98.69 = 1.31\%$$

En donde:

C= Concentración final.

C₀= Concentración inicial.

Una vez calculados todos los porcentajes, se procede a elaborar la tabla de contingencia a partir de la cual graficamos la curva Log % degradado vs. 1/T x 10000.

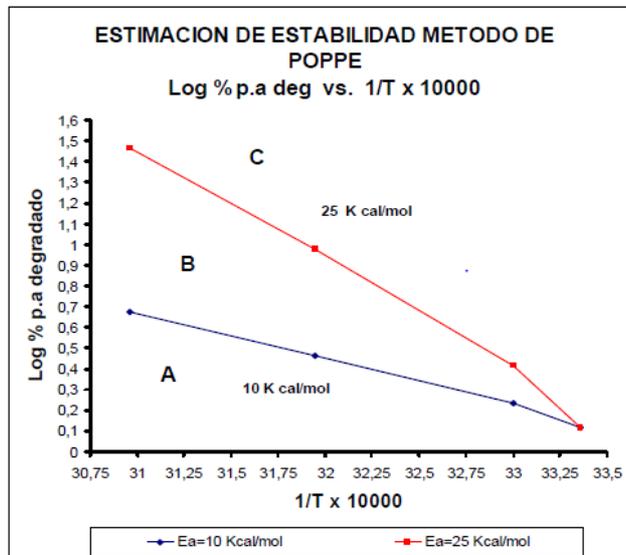


GRÁFICO No. 1 ESTABILIDAD DE MÉTODO DE POPPE

En base a la gráfica se obtiene el periodo de vida útil:

- Si se ubica en el área A, el producto tiene la probabilidad de tener un período de vida útil mayor a dos años.
- Si se ubica en el área B, el producto tiene buenas probabilidades de tener un período de vida útil de dos años.

- Si se ubica en el área C el periodo de vida útil del producto es muy probable que sea menor a dos años.

1.7.7 ZONAS CLIMÁTICAS EN UN ESTUDIO DE ESTABILIDAD

Debido a que un producto farmacéutico puede ser comercializado en cualquier parte del mundo, y por ende hay una gran variedad de tipos de clima, los estudios de estabilidad se dividieron en las siguientes zonas climáticas (12).

TABLA No 3. ZONAS CLIMÁTICAS PARA UN ESTUDIO DE ESTABILIDAD

ZONA	DESCRIPCIÓN	TEMPERATURA	HUMEDAD
ZONA 1	Clima Templado	25°C+/- 2°C	45°C+/- 5°C
ZONA 2	Mediterráneo	25°C+/- 2°C	60°C+/- 5°C
ZONA 3	Caliente y seco	30°C+/- 2°C	35°C+/- 5°C
ZONA 4	Caliente y húmedo	30°C+/- 2°C	70°C+/- 5°C

BID (54).2108 PP.

1.8 ESCALA PILOTO

Como su nombre lo indica es un proceso a escala reducida. Este proceso persigue diseñar, construir y operar una planta piloto para recolectar información sobre varios procesos como procesos físicos o químicos, que permita determinar si el mismo es técnico y económicamente viable, así como establecer los parámetros de operación óptimos de dicho proceso para el posterior diseño y construcción de la planta a escala industrial.(47)

CAPÍTULO II

2. PARTE EXPERIMENTAL

LUGAR Y PRUEBAS DE ENSAYO

La presente investigación se desarrolló en el Laboratorio de Productos naturales, laboratorio de Microbiología aplicada y laboratorio de Operaciones Unitarias de la Facultad de Ciencias de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo en función a las diversas determinaciones y ensayos que se debieron realizar.

2.1 MATERIALES, EQUIPOS Y REACTIVOS

2.1.1 MATERIAL BIOLÓGICO

- *Rosmarinus officinalis*

2.1.2 OBTENCIÓN DEL MATERIAL VEGETAL

La materia prima se la obtuvo en el mercado mayorista de la ciudad de Riobamba por su accesibilidad, disponibilidad, y temporada de recolección.

Nombre común: Romero

Nombre científico: *Rosmarinus officinalis*

Lugar de procedencia: Cantón Chambo, provincia de Chimborazo

2.1.3 EQUIPOS

- Hidrodestilador para aceites esenciales industrial de 220L.

- pH metro (Hanna HI98127)
- Balanza técnica (Orion)
- Balanza Analítica (Boeco)
- Estufa (Fanem)
- Cámara Digital
- Mezcladora semi industrial 50L.
- Cámara de maduración.
- Viscosímetro (Selecta ST-2001)
- Reverbero Eléctrico
- Mufla
- Desecador
- Computadora Vaio
- Cámara de flujo laminar
- Autoclave
- Centrifuga

2.1.4 MATERIALES DE LABORATORIO

- Varilla de agitación
- Probetas
- Pipetas volumétricas
- Pipetas 1, 5, 10 mL
- Pera de succión
- Erlenmeyer
- Picnómetro
- Mascarilla
- Baldes de 20L
- Papel Aluminio
- Masqui
- Placas para cromatografía en capa fina
- Algodón
- Mechero

- Cápsula de porcelana
- Desecador
- Trípode
- Embudo
- Vasos de precipitación
- Pinza para capsulas
- Pinza para buretas
- Soporte universal
- Tubos capilares
- Placas cromatográficas con indicador fluorescente
- Espátulas semi industriales
- Envases plásticos número 2 de 500mL
- Gradillas
- Tubos de ensayo

2.1.5 REACTIVOS

- Agua destilada
- Alcohol antiséptico
- Cloruro de sodio
- Comperland KD
- Texapon N70
- Euperland
- Aceite esencial de romero
- Bromidox
- Alcohol cetílico
- Agua de peptona
- Caldo de cultivo verde bromocresol
- Petrifilm para aerobios
- Tolueno
- Acetato de etilo
- Ácido fórmico

- Ácido acético glacial
- Ácido sulfúrico concentrado
- Sulfato de cerio
- Vainillina
- Ácido nítrico

2.2 TÉCNICAS

2.2.1 PRUEBAS DE CONTROL DE CALIDAD DE LA ESPECIE VEGETAL

El control de calidad de la droga se lo realizó considerando las metodologías de la OMS, y demás organismos encargados de asegurar la calidad de los productos fitofarmacéuticos.

Para el control de calidad de la droga cruda se realizan las siguientes pruebas:

- Determinación de la humedad
- Cenizas totales
- Cenizas solubles en agua
- Cenizas insolubles en ácido clorhídrico
- Determinación de sustancias solubles
- Determinación de microorganismos

2.2.1.1 DETERMINACIÓN DE HUMEDAD

De la muestra pulverizada se pesan 2g con desviación permisible de 0.5 mg y se transfieren a una cápsula de porcelana previamente tarada y desecada a 105 °C hasta masa constante; seguidamente se deseca a 105 °C. Durante 3 horas. La cápsula se coloca en la desecadora donde se deja enfriar a temperatura ambiente y se pesa, colocándose nuevamente en la estufa durante 1h., volviéndose a pesar, hasta obtener una masa constante.

Expresión de los resultados.

$$\%H = \frac{M_2 - M_1}{M_2 - M} \times 100$$

% H = pérdida en peso por desecación (%).

M₂ = peso de la cápsula con la muestra de ensayos (g.)

M₁ = peso de la cápsula con la muestra de ensayo desecada (g.)

M = peso de la cápsula vacía.

100 = factor matemático. (25)

2.2.1.2 DETERMINACIÓN DE CENIZAS TOTALES

Se determina la masa de 2.0 g. de la muestra de ensayo con una variación permisible de 0.5mg en un crisol de porcelana previamente tarado.

Calentar suavemente la porción de ensayo aumentando la temperatura hasta carbonizar y luego incinerar en un horno mufla a temperaturas de 700 a 750 °C. Durante 2h.

Se enfría el crisol en una desecadora y se pesa, repitiéndose el proceso hasta que dos pesadas sucesivas no difieran en más de 0.5 mg. por g. (masa constante).

Para obtener masa constante los intervalos entre calentamiento y pesada son de 30 min. Si el residuo presenta trazas de carbón, se le añaden unas gotas de solución de H₂O₂ concentrado, ácido nítrico o solución de nitrato de amonio al 10% y se calienta hasta evaporar los solventes. Al enfriar el crisol el residuo es de color blanco.

Expresión de los resultados:

$$\%CT = \frac{M_2 - M}{M_1 - M} \times 100$$

%C_T = porcentaje de cenizas totales en base hidratada.

M = peso del crisol vacío (g).

M_1 = peso del crisol con la porción de ensayo (g).

M_2 = peso del crisol con la ceniza (g).

100 = factor matemático para los cálculos. (25)

2.2.1.3 DETERMINACIÓN DE CENIZAS SOLUBLES EN AGUA

A las cenizas totales obtenidas según el apartado anterior, se le añaden de 15 a 20 mL de agua. El crisol se tapa y se hierve suavemente a la llama del mechero durante 5 min.

La solución se filtra a través del papel de filtro libre de cenizas. El filtro con el residuo se transfiere al crisol inicial, se carboniza en un mechero y luego se incinera en un horno mufla de 700-750 °C., durante 2h. Posteriormente se coloca en una desecadora y cuando alcance la temperatura ambiente se pesa. Se repite el procedimiento hasta alcanzar peso constante.

Expresión de los resultados.

$$\%CA = \frac{M_2 - M_a}{M_1 - M} \times 100$$

%CA = porcentaje de cenizas solubles en agua en base hidratada.

M_2 = peso del crisol con las cenizas totales (g).

M_a = peso del crisol con las cenizas insolubles en agua (g).

M_1 = peso del crisol con la muestra de ensayo (g).

M = peso del crisol vacío.

100 = factor matemático. (25)

2.2.1.4 DETERMINACIÓN DE CENIZAS INSOLUBLES EN ÁCIDO CLORHÍDRICO

A las cenizas totales obtenidas según la técnica se le añaden de 2-3 mL de ácido clorhídrico al 10%. El crisol se tapa con un vidrio reloj y se calienta sobre un baño de

agua hirviendo durante 10 min. Se lava el vidrio reloj con 5 mL de agua caliente y se une al contenido del crisol.

La solución se filtra a través de un papel de filtro libre de cenizas; se lava el residuo con agua caliente hasta que el filtrado acidulado con ácido nítrico al cual se le añade una o dos gotas de solución de nitrato de plata 0.1M. No muestre presencia de cloruros.

El filtrado con el residuo se deseca de 100 a 105 °C., se transfiere al crisol inicial y se incinera en un horno mufla a una temperatura de 700-750 °C durante 2h00 (si no se señala otra temperatura en la norma específica) Posteriormente se coloca en una desecadora y cuando alcance la temperatura ambiente se pesa. Se repite el procedimiento hasta obtener masa constante.

Expresión de los resultados:

$$\%CI = \frac{M2 - M}{M1 - M} \times 100$$

%CI= porcentaje de cenizas insolubles en ácido clorhídrico en base hidratada.

M = peso del crisol con la porción de ensayos (g.)

M1= peso del crisol con cenizas insolubles en acido clorhidrico

M2= peso del crisol con la ceniza (g.)

100= factor matemático. (25)

2.2.1.5 DETERMINACIÓN DE SUSTANCIAS SOLUBLES

De la muestra de ensayo previamente pulverizada y tamizada se pesa 5 g y se transfiere a un frasco cónico con tapa con capacidad de 250 mL. Se añade 100 mL de agua y se agita constantemente durante 6 horas. Dejar en reposo 24 horas, luego se agita 30 min. y se filtra por papel.

Se toma una alícuota de 20 mL, se transfiere a una cápsula de porcelana previamente tarada, evaporar sobre baño de agua, se deseca en estufa a 105 °C, durante 3 horas, se enfría en un desecador y se pesa. El ensayo se realiza por triplicado.

Expresión de los resultados.

$$\%Ss = \frac{R * 500 * 100}{M * (100 - H)}$$

%Ss = porcentaje de sustancias solubles en base hidratada.

H = Humedad de la muestra en %

R = Residuo de la muestra (g.)

M = peso de la muestra de ensayo (g).

100 y 500 = factor matemático para los cálculos.

2.2.2 DETERMINACIÓN DE MICROORGANISMOS CONTAMINANTES EN LA DROGA CRUDA.

2.2.2.1 MÉTODO DE CONTEO DE AEROBIOS MESÓFILOS TOTALES EN PLACA.

- Pesar 25 g. de materia prima vegetal en un erlenmeyer estéril.
- Agregar 250 mL de agua peptonada al 0.1% estéril y homogenizar; de este modo se obtiene una dilución de 10^{-1}
- Dejar reposar por 1 hora.
- De esta dilución, tomar 1 mL y mezclar con 9 mL de agua peptonada 0.1% y obtener una dilución de 10^{-2} . De este modo realizar otras diluciones.
- Se preparan tubos de ensayo tapa rosca con 15 mL de medio de cultivo PCA (Plate count agar).

- A cada tubo con agar se adiciona 1 mL de la dilución preparada en el agua peptonada al 0.1%.
- Homogenizar en un vortex, y el contenido de cada tubo verter en cajas petri.
- Incubar a $35\pm 2^{\circ}\text{C}$ por 48 horas.
- Transcurrido este tiempo, realizar la lectura.
- Contar las colonias que se desarrollan y se anota el resultado de las placas con mayor número de colonias. (24)

2.2.2.2 DETERMINACIÓN DE COLIFORMES TOTALES

a) PRUEBA PRESUNTIVA.

- Pesar 25 g de materia prima vegetal en un erlenmeyer estéril.
- Agregar 250 mL de agua peptonada al 0.1% estéril y homogenizar. De este modo se obtiene una dilución de 10^{-1} .
- Dejar reposar por 1 hora.
- De esta dilución, tomar 1 mL y mezclar con 9 mL de agua peptonada 0.1% y obtener una dilución de 10^{-2} .
- Colocar 1 mL de cada una de las diluciones en 10 mL de caldo lactosado.
- Incubar por 24-48 h. a $35 \pm 2^{\circ}\text{C}$.
- Observar si existe turbidez en el caldo lactosado y/o presencia de burbujas en la campana Durham (fermentación con formación de gas).

b) PRUEBA CONFIRMATORIA.

- De los tubos positivos en caldo lactosado tomar 2 o 3 asadas y sembrar en tubos 10mL de caldo BRILLA.

- Incubar por 24-48 h. a $35 \pm 2^{\circ}\text{C}$.

- Observar si existe turbidez en el caldo lactosado y/o presencia de burbujas en la campana Durham (fermentación con formación de gas).

- Los resultados se interpretaron según la tabla de NMP.

TABLA No 4. DATOS PARA LA INTERPRETACIÓN DEL NMP PARA LA DETERMINACIÓN DE COLIFORMES TOTALES.

COMBINACIÓN DE TUBOS.	NMP	COMBINACIÓN DE TUBOS.	NMP
0-0-0	□3	3-0-0	23
0-0-1	3	3-0-1	39
0-1-0	3	3-0-2	64
1-0-0	4	3-1-0	43
1-0-1	7	3-1-1	75
1-1-0	7	3-1-2	120
1-1-1	11	3-2-0	93
1-2-0	11	3-2-1	150
2-0-0	9	3-2-2	210
2-0-1	14	3-3-0	240
2-1-0	15	3-3-1	260
2-1-1	20	3-3-2	1100
2-2-0	21	3-3-3	□2400

Fuente: Cáceres, Armando. Control de Calidad Microbiológico de Materia Prima y Productos Fito farmacéuticos. Farmaya. Guatemala.

El número de microorganismos aceptados para este tipo de material es:

Para coliformes totales: 0-100 NMP/g.	ACEPTABLE.
100-460 NMP/g.	REGULAR ACEPTABLE.
>	460 NMP/g.

INACEPTABLE/RECHAZADO.

Para coliformes fecales: < de 10 NMP/g. ACEPTABLE.
> DE 10 NMP/g. RECHAZADO. (8)

2.2.2.3 DETERMINACIÓN DE COLIFORMES FECALES.

a). PRUEBA PRESUNTIVA.

Se procede de igual forma que en la prueba presuntiva para Coliformes totales.

b). PRUEBA CONFIRMATORIA.

- De los tubos positivos en caldo lactosado tomar 2 ó 3 asadas y sembrar en tubos 10 mL de caldo EC.

- Incubar por 24-48 h a $35 \pm 2^{\circ}\text{C}$.

- Observar si existe turbidez en el caldo lactosado y/o presencia de burbujas en la campana Durham (fermentación con formación de gas).

- Los resultados se interpretaron según la tabla de NMP. (24)

2.2.2.4 MÉTODO DE CONTEO DE MOHOS EN PLACA

- Pesar 25 g. de materia prima vegetal en un erlenmeyer estéril.

- Agregar 250 mL de agua peptonada al 0.1% estéril y homogenizar; de este modo se obtiene una dilución de 10^{-1} .
- Dejar reposar por 1 hora.
- De esta dilución, tomar 1 mL y mezclar con 9 mL de agua peptonada 0.1% y obtener una dilución de 10^{-2} .
- Preparar cajas petri con medio de cultivo OGY.
- Sobre las cajas petri colocar 0.1 mL de las diluciones respectivas y extender mediante un extensor de vidrio.
- Incubar a temperatura ambiente por 5-7 días.
- Realizar el contaje.
- El recuento del número de colonias formadas no debe ser mayor de 100 Colonias/caja.
(24)

2.2.3 OBTENCIÓN DEL ACEITE ESENCIAL DE ROMERO (*Rosmarinus officinalis*) MEDIANTE HIDRODESTILACIÓN

Hidrodestilación: Proceso para obtener aceite esencial de alguna materia prima vegetal, mediante el uso de vapor saturado a presión atmosférica.

Procedimiento:

- Lavar el romero con una solución de agua con hipoclorito de sodio, enjuagarla con abundante agua.

- Colocar el romero en el hidroddestilador con la cantidad suficiente de agua para que esta cumpla con su función de manera correcta.
- Tapar el hidroddestilador de manera adecuada y dejar que este cumpla con su función evitando que se escapen vapores para no perder todos los beneficiosos del aceite esencial que se extrae.
- Recoger el aceite esencial y separarlo mediante en embudo de separación.

2.2.4 CONTROL DE CALIDAD DE LOS EXCIPIENTES

El control calidad de los excipientes que son utilizadas para formular formas farmacéuticas es uno de todos los eslabones del sistema de Aseguramiento de Calidad en la Industria Farmacéutica. El laboratorio de Control de Calidad, mediante técnicas analíticas validadas, debe certificar la calidad de todos los fármacos y excipientes luego que éstos llegan a la bodega de materias primas. De esta manera, el laboratorio de Control de Calidad podrá liberar una partida de una sustancia determinada, la cual entonces y sólo entonces puede ser utilizada en los diferentes procesos de producción.

2.2.5 ELABORACIÓN DEL SHAMPOO DE ROMERO (100 L)

Ingredientes:

- | | |
|-----------------------------|----------------------------------|
| - Texapon N70 | Tensioactivo |
| - Comperland KD | Espesante |
| - Cloruro de sodio | Espesante, activador del texapon |
| - Euperland | Aditivo (agente acondicionador) |
| - Bromidox | Conservante |
| - Aceite esencial de romero | Principio activo anti fúngico |

PROCESO:

1. Colocar en la mezcladora 5.4Kg de Texapon, Coperland 1.125Kg y mezclar durante 10min hasta dar el aspecto de una crema chantillí.

2. Diluir previamente 1.125Kg de NaCl en 3.88L de agua destilada en un recipiente, filtrar e incorporarlo a la mezcla anterior, agitarla por 15min, hasta que esta tome un aspecto homogéneo.
3. Diluir previamente 28.24g de ácido cítrico en 14.12L de agua e incorporarlo a la mezcla y agitar por 5min.
4. Incorporar 0.45g de Cetiol, 25mL de Bromidox, y continuar agitando por 10min.
5. Añadir el aceite esencial de romero e incorporar 1.125Kg de Euperlan y agitar durante 25min hasta obtener una mezcla homogénea.
6. Dejar reposar la mezcla por 24 horas hasta que se complete su proceso de saponificación.
7. Envasar el shampoo en recipientes de plástico número 2 de 500mL adecuados para cosméticos y medicamentos.
8. Realizar el control de calidad del producto terminado.

2.2.6 DETERMINACIÓN DE LA PROPIEDADES ORGANOLÉPTICAS DEL SHAMPOO DE ROMERO

2.2.6.1 Color

Tomar un tubo de ensayo limpio y seco, llenarlo hasta las 3/4 partes con la muestra de ensayo y se observa el color, la transparencia, la presencia de partículas y la separación de capas. Se reportan los resultados. (9)

2.2.6.2 Olor

Tomar una tira de papel secante aproximadamente 1 cm de ancho por 10 cm de largo y se introduce un extremo en la muestra de ensayo. Se huele y se determina si corresponde con la característica del producto. (9)

2.2.6.3 Apariencia

Análisis del aspecto externo. (9)

2.2.7 DETERMINACIÓN DE LA PROPIEDADES FÍSICAS DEL SHAMPOO DE ROMERO

2.2.7.1 Densidad relativa

Es la relación entre el peso específico del cuerpo y el peso específico de la sustancia de referencia.

La sustancia de referencia es aire para los gases y agua para los sólidos y líquidos.

$$\text{Densidad relativa} = \quad S_c = d_r = \frac{G_{\text{cuerpo}}}{G_{\text{referencia}}} = \frac{r_{cg}}{R_{rg}} = \frac{R_c}{R_r}$$

La densidad relativa es adimensional:

$$[S] = \frac{[F/L^3]}{[F/L^3]} = 1$$

Densidad relativa del agua: $S_a = 1$. (37)

Dónde:

M1: Peso de picnómetro con la muestra (g)

M2: Peso del picnómetro con agua (g)

M: Peso del picnómetro vacío (g)

Procedimiento

Pesar el picnómetro vacío y seco a 25 °C, llenar el picnómetro con la muestra de análisis a temperatura de 25 °C (+/- 1 °C) y retirar el exceso con una tira de papel y pesarlo. (9)

Llenar el picnómetro con agua destilada a una temperatura de 25°C secar el exceso de agua y proceder a pesarlo.

Repetir todo este proceso 3 veces y el resultado es el valor de la media de todas las mediciones.

2.2.7.2 DETERMINACIÓN DE pH

El pH es un índice numérico que se utiliza para expresar la mayor o menos acidez de una solución en función de los iones hidrógeno. Se calcula teóricamente mediante la ecuación:

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

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

En la práctica, la medición del pH se lleva a cabo por medio de la lectura de pH en la escala de un instrumento medidor de pH, ya sea digital o analógico. (9)

Esta lectura está en función de la diferencia de potencial establecida entre un electrodo indicador y un electrodo de referencia usando como solución de ajuste de la escala del medidor de pH, una solución reguladora del mismo. (9)

Procedimiento

- La determinación debe efectuarse por duplicado sobre la muestra convenientemente homogenizada.
- Colocar aproximadamente 300mL de la solución prepara (300mL al 1% v/v en agua destilada) en un vaso de precipitación perfectamente limpio.

- Introducir los electrodos del potenciómetro (previamente calibrado) en la solución, cuidando que no toquen ni las paredes ni el fondo del recipiente.
- Efectuar la lectura en la escala de pH en forma inmediata. (38)

2.2.7.3 VISCOSIDAD

Es la resistencia que oponen los líquidos al movimiento de unas capas sobre otras. Se calcula mediante la fórmula de Stokes:

$$\mu = \frac{2r^2g \pm (\rho_{esf} - \rho_{líq})}{9 \frac{h}{t}}$$

Dónde:

μ	Viscosidad del líquido problema
r	Radio de la esfera
g	Gravedad
ρ_{esf}	Densidad de la esfera
$\rho_{líq}$	Densidad del líquido problema
t	Tiempo de caída de la esfera
h	Longitud del tubo

Procedimiento.

Se mide directamente en 12g de producto a 25°C, utilizando un viscosímetro rotacional de Brookfield, registrar modelo, velocidad de giro y número de husillo utilizado.

2.2.7.4 DETERMINACIÓN DEL RESIDUO SECO

Se basa en la medición gravimétrica de la pérdida en peso que se produce cuando se calienta una muestra (1g) a 105°C por un periodo de 2 horas.

$$\% \text{ residuo seco} = \frac{\text{peso final de la muestra} \times 100}{\text{peso inicial}}$$

2.2.7.5 ÍNDICE DE ESPUMA

Se basa en la propiedad de producir espuma por parte de los tensioactivos presentes en el producto.

Procedimiento

Transferir 100mL de una solución al 1% de shampoo a una probeta con tapa de 250mL, agitar la probeta invirtiéndola en 180° por 10 veces.

Medir la altura total y la altura de la espuma al minuto, a los 3 y 5 minutos.

$$\text{Índice de espuma} = \frac{\text{altura de la espuma}}{\text{altura total}}$$

Una espuma duradera presenta valores de índice de espuma relativamente constantes. Observar el tamaño y forma de los glóbulos, lo que da una indicación de la calidad de la espuma.

2.2.7.6 ESTABILIDAD DEL COLOR

Exponer el producto a la luz solar indirecta durante 12 horas. El color debe ser estable a la luz.

2.2.7.7 DETERMINACIÓN DE LA VIDA ÚTIL DEL PRODUCTO

Se recomienda que las muestras para evaluación de la estabilidad sean acondicionadas en frascos de vidrio neutro, transparente, con tapa que garantice un buen cierre evitando pérdida de gases o vapor para el medio. La cantidad de producto debe ser suficiente para las evaluaciones necesarias. Si existiera incompatibilidad conocida entre los componentes de la formulación y el vidrio, el formulador debe seleccionar otro material

de acondicionamiento. El empleo de otros materiales queda a criterio del formulador, dependiendo de sus conocimientos sobre la formulación y los materiales de acondicionamiento.

Se debe evitar la incorporación de aire en el producto, durante el envasado en el recipiente de prueba. Es importante no completar el volumen total del recipiente permitiendo un espacio vacío (head space) de aproximadamente un tercio de la capacidad del frasco para posibles intercambios gaseosos.

Se puede utilizar, paralelamente al vidrio neutro, el material de acondicionamiento final; anticipándose de esta manera, la evaluación de la compatibilidad entre la formulación y el embalaje.

Generalmente tiene una duración de noventa días y las formulaciones en prueba son sometidas a condiciones menos extremas que en la prueba de estabilidad preliminar.

En algunos casos, la duración de esta prueba puede ser extendida por seis meses o hasta un año, dependiendo del tipo de producto. Las muestras pueden ser sometidas a calentamiento en estufas, enfriamiento en refrigeradores, exposición a la radiación luminosa y al ambiente.

2.3 METODOLOGÍA

2.3.1 FASE DE CAMPO

Se realizó la compra de la materia vegetal en el mercado mayorista de la ciudad de Riobamba, la misma que procedía del cantón Chambo en la provincia de Chimborazo, la parte de la planta que se utilizó son las hojas y el tallo ya que estas presentan mayor concentración de principio activo.

2.3.2 FASE DE LABORATORIO

En la fase de laboratorio se realizó:

- Control de calidad de la materia prima.

- Control de calidad de los excipientes.
- Extracción del aceite esencial de Romero.
- Elaboración del Shampoo de Romero.
- Estabilidad acelerada del Shampoo de Romero.
- Control de calidad del producto terminado.

También se debió realizar un tratamiento estadístico de los datos.

- Test de ANOVA para 1 factor en 3 niveles diferentes con un nivel de confianza del 95%.

2.4 TIPO DE DISEÑO EXPERIMENTAL

Aleatorio al azar para 3 lotes durante 4 meses.

2.5 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los datos se tabularon y se determinaron las medias de las distintas lecturas para realizar el análisis de varianza, separación de medias y análisis de regresión, con el software R versión 2.15.1(2012-06-22) ISBN 3-90051-07-0.

2.5.1 ANOVA PARA 1 FACTOR PARA 3 NIVELES DIFERENTES

Método para comparar dos o más medidas, para medir la variación de las observaciones a las que se divide sus componentes.

CAPÍTULO III

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 CONTROL DE CALIDAD DE LA MATERIA PRIMA

CUADRO No. 1 RESULTADOS CONTROL DE CALIDAD DEL ROMERO

DETERMINACION	RESULTADO	LIMITE
Humedad	10%	8-14%
Cenizas Totales	4.6%	Max. 12%
Cenizas Solubles en Agua	2.23%	-
Cenizas Insolubles en Ácido Clorhídrico	2.37%	-

CUADRO No. 2 RESULTADOS DEL ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DEL ROMERO

DETERMINACIONES	MÉTODO USADO Y CONDICIONES DE INCUBACIÓN	VALORES DE REFERENCIA	VALORES ENCONTRADOS
Determinación del número de organismos Aerobios Mesófilos UFC g	Método AOAC (990.12 recuento de aerobios en alimentos, film seco re hidratable, 35 cada 48 horas	10 ⁵	0
Determinación de microorganismos coliformes totales NMP g	Método INEN 1529-6 técnica de número más probable 35 48horas		0
Determinación de microorganismos coliformes fecales y <i>E.coli</i>. NMP g	Método INEN 1529-6 técnica de número más probable 35 48horas	10	0

La materia prima que va a ser utilizada para la elaboración del shampoo anticasca de romero es adecuada para este proceso ya que está dentro de los límites establecidos tanto físicos, químicos, microbiológicos.

3.2 PORCENTAJE DE RENDIMIENTO DE ACEITE ESENCIAL DE ROMERO

Rendimiento teórico aceite de romero

1.3%

Rendimiento real aceite de romero

1.8%

Se colocó 10Kg de romero fresco en el equipo de destilación con 40L de agua destilada se obtuvo 130 mL de aceite esencial y 16 L de hidrodestilado.

$$\frac{\text{rendimiento teorico}}{\text{rendimiento real}} * 100$$
$$\frac{1.3}{1.8} * 100$$

72.22% Rendimiento del aceite esencial de romero

Un porcentaje aceptable es de un rendimiento del 70%

3.3 CARÁCTERÍSTICAS ORGANOLÉPTICAS Y FÍSICAS DEL ACEITE ESENCIAL DE ROMERO

CUADRO No. 3 RESULTADOS DEL ESTUDIO DE LAS CARÁCTERÍSTICAS ORGANOLÉPTICAS Y FÍSICAS DEL ACEITE ESENCIAL DE ROMERO

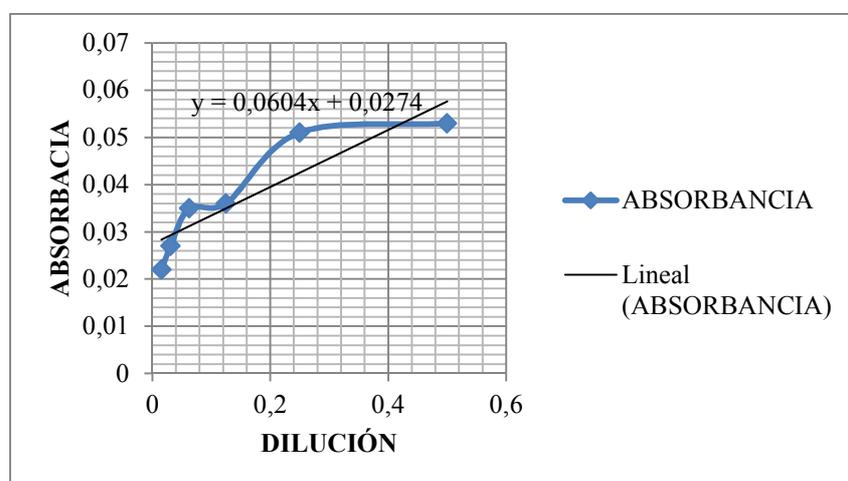
Parámetro	Especificación	Resultado
Aspecto	Líquido aceitoso	Líquido Aceitoso
Color	Amarillento	Pardo verdoso
Olor	A Romero	Característico
Sabor	Amargo	Amargo picante
pH	7	6.8
Densidad	0.9170 g / mL	0.9166g/MI

Según el cuadro No. 2 las características organolépticas y físicas del aceite esencial de Romero (*Rosmarinus officinalis*) están dentro de lo establecido en bibliografía.

3.4 CONCENTRACIÓN DE CINEOL EN EL ACEITE ESENCIAL DE ROMERO

CUADRO No 4. CONCENTRACIÓN DE 1,8 CINEOL EN EL ACEITE ESENCIA DE ROMERO

ABSORBANCIA	A	B	Concentración mg/mL
0,053	0,0604	1	0,877
0,051	0,0604	1	0,844
0,036	0,0604	1	0,596
0,035	0,0604	1	0,579
0,027	0,0604	1	0,447
0,022	0,0604	1	0,364



$\lambda = 549.00$

GRÁFICO No 2. REGRESIÓN LINEAL PARA EL CÁLCULO CONCENTRACIÓN DE 1,8 CINEOL

La concentración del Cineol en 5mL de aceite esencial de romero (*Rosmarinus officinalis*) corresponde a 0.877mg.

FOTOGRAFÍA No 2 CROMATOGRAFÍA EN CAPA FINA PARA IDENTIFICACIÓN DEL 1,8CINEOL EN EL ACEITE ESENCIAL DE ROMERO

FASE ESTACIONARIA: Sílica gel 60F²⁵⁴

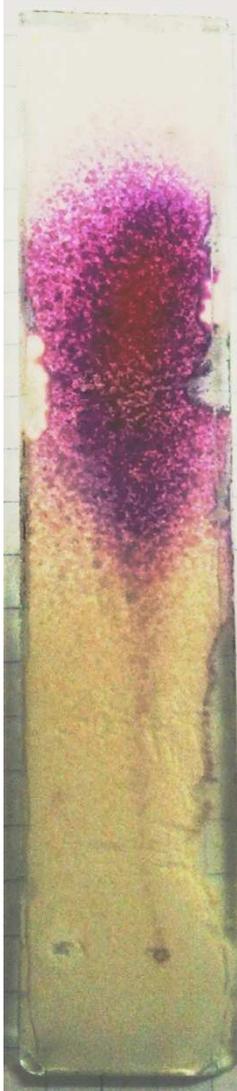
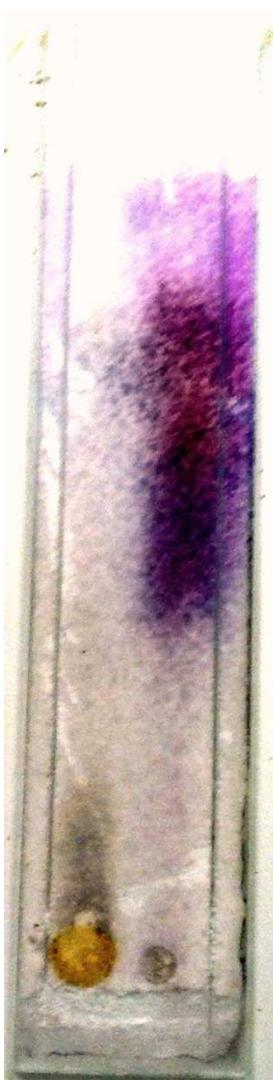
FASE MÓVIL: Tolueno- Acetato de etilo 93:7

REVELALOR: Vainillina-Ácido sulfúrico

Rf estándar 0,4 Rf aceite de romero 0,39



FASE ESTACIONARIA: Sílica gel 60F²⁵⁴
FASE MÓVIL: Tolueno- Acetato de etilo 93:7
REVELADOR: Vainillina - Ácido sulfúrico

			
<p>Rf = 0.4</p>	<p>Rf = 0.39</p>	<p>Rf = 0.39</p>	<p>Rf = 0.39</p>
<p>FOTOGRAFÍA No. 3 CROMATOGRFIA EN CAPA FINA EN EL PRIMER MES 1,8 CINEOL</p>	<p>FOTOGRAFIA No. 4 CROMATOGRFIA EN CAPA FINA EN EL SEGUNDO MES 1,8 CINEOL</p>	<p>FOTOGRAFÍA No. 5 CROMATOGRFIA EN CAPA FINA MES TRES 1,8 CINEOL</p>	<p>FOTOGRAFÍA No.6 CROMATOGRFIA EN CAPA FINA MES CUATRO 1,8 CINEOL</p>

3.5 CONTROL DE CALIDAD DE LOS EXCIPIENTES

3.5.1 TEXAPON

CUADRO No 5 CONTROL DE CALIDAD DEL TEXAPON

Tipo de Análisis	Especificaciones	Resultado
Descripción	Cristales pequeños, blancos o ligeramente amarillos, presenta un olor característico leve.	CUMPLE
Solubilidad	Fácilmente soluble en agua, ligeramente soluble en etanol y metanol	CUMPLE
Ensayos de identidad	El precipitado obtenido de la muestra no es mayor al obtenido con la solución de referencia	CUMPLE
Alcalinidad	No más de 0.6 mL son necesarios para neutralizar	CUMPLE
Cloruro de sodio	No mayor al 8.0%	CUMPLE
Sulfato de Sodio	No mayor al 8.0 %	
Agua	No más del 5.0 %	CUMPLE
Alcoholes no Sulfatados	El peso del residuo no es mayor del 4.0	Ficha técnica
% Alcoholes Totales	El peso del residuo no es menor del 59.0 %	Ficha técnica
% metales pesados	No más de 200 ppm	Ficha técnica

3.5.2 COPERLAND

CUADRO No 6 CONTROL DE CALIDAD DEL COPERLAND

TIPO DE ANÁLISIS	ESPECIFICACIÓN	RESULTADO
Aspecto	Líquido oleoso viscoso de color amarillo claro o pasta blanda.	CUMPLE
Agua	0.5%	CUMPLE
Valor del pH	8-10	CUMPLE
Amina libre	<5%	FICHA TÉCNICA
Ácido graso libre	<1%	FICHA TÉCNICA

Ester	6%	FICHA TÉCNICA
Amida	78-90%	FICHA TÉCNICA
Índice de refracción	1.4697-1.4816	CUMPLE

3.5.3 BRONIDOX

CUADRO No 7 CONTROL DE CALIDAD DEL BRONIDOX

TIPO DE ANALISIS	ESPECIFICACIÓN	RESULTADO
Apariencia	polvo cristalino blanco	CUMPLE
Pureza	99% min.	FICHA TÉCNICA
Pérdida por desecación	0.5%	CUMPLE
Punto de fusión	57-62°C	58°C
Aspecto de la solución (10% w/v en CH₃OH)	Claro o casi clara solución, libre de extrajeros partículas	CUMPLE
Formaldehído	5 ppm	FICHA TÉCNICA

3.5.4 CETIOL

CUADRO No 8 CONTROL DE CALIDAD DEL CETIOL

TIPO DE ANÁLISIS	ESPECIFICACIÓN	RESULTADO
Aspecto	Polvo cristalino blanco, líquido descolorido, transparente en el glicol 1.2- del propileno.	CUMPLE
Punto de fusión	58.5-62°C	59°C
Solubilidad	Insoluble en agua	CUMPLE
Ph	6-7	6.5

3.6 ANÁLISIS ORGANOLÉPTICO DEL SHAMPOO ANTICASPA DE ROMERO EN PRODUCTO TERMINADO Y PARA ESTABILIDAD AL MES 1, 2, 3, 4

CUADRO No. 9 RESULTADOS DEL ANÁLISIS ORGANOLÉPTICO DEL SHAMPOO ANTICASPA DE ROMERO EN LOS 4 MESES DE ESTUDIO

CARACTERÍSTICAS	PRODUCTO	MES 01	MES 02	MES 03	MES 04
	TERMINADO				
COLOR	Blanco	Blanco	Blanco	Blanco	Blanco
OLOR	Romero	Romero	Romero	Romero	Romero
PRECIPITADO	No	No	No	No	No
ASPECTO	Homogéneo	Homogéneo	Homogéneo	Homogéneo	Homogéneo

El análisis organoléptico del Shampoo de Romero presenta características propias.

3.7 DATOS DE LAS PROPIEDADES FÍSICAS Y QUÍMICAS DEL SHAMPOO DE ROMERO PARA TRES LOTES

CUADRO No. 10 DATOS DE LAS PROPIEDADES FÍSICAS, QUÍMICAS Y MICROBIOLÓGICAS DEL SHAMPOO DE ROMERO PARA TRES LOTES, LOTE UNO

CARACTERÍSTICAS	M0	MES 01	MES 02	MES 03	MES 04
FÍSICAS					
pH (5 – 7,5)	7	7	7	7	7
	7	6,8	7	7	7
	6,9	7	7	7	7
	7	7	7	7	6,9
	6,8	7	6,9	7	7
	7	6,9	7	6,8	7
DENSIDAD (1,015-	1.025	1.023	1.026	1.023	1.022

1,052g/mL)	1.023	1.024	1.024	1.025	1.024
	1.023	1.023	1.021	1.023	1.022
	1.024	1.022	1.023	1.024	1.025
	1.024	1.025	1.024	1.025	1.020
	1.023	1.023	1.022	1.022	1.023

*VISCOSIDAD (5805-5816Cp)	5809,4	5813,7	5812,4	5813,1	5811,8
	5808,7	5809	5810,4	5809,2	5810,7
	5810,3	5809,7	5809,9	5810,6	5810,4
	5809,1	5812,6	5811,3	5809,9	5811,3
	5810,5	5812,3	5809,8	5810,7	5809,6
	5809,3	5808,3	5810,3	5810,2	5809,1

ÍNDICE DE ESPUMA	10,3	10,1	10	10	9,8
	10,2	10	9,9	10,3	10,4
	10,3	9,8	10	10,1	10,1
	10	10,3	10,1	9,9	9,9
	10,3	10,2	10,2	10,1	10,2
	10,1	10	10,3	10,3	10,2

RESIDUO SECO	96,48%	96,44%	96,37%,	96,37%	96,35%
	96,47%	96,46%	96,35%	96,38%	96,36%
	96,49%	96,43%	96,38%	96,36%	96,34%
	96,50%	96,45%	96,36%	96,36%	96,36%
	96,48%	96,44%	96,38%	96,35%	96,35%
	96,49%	96,43%	96,39%	96,37%	96,37%

CARACTERÍSTICAS QUÍMICAS	MO	MES 01	MES 02	MES 03	MES 04
CONCENTRACIÓN DE 1,8 CINEOL (10mL)	0,2689	0,2689	0,2687	0,2686	0,2684
	0,2689	0,2688	0,2688	0,2685	0,2683
	0,2688	0,2688	0,2688	0,2686	0,2685
	0,2687	0,2688	0,2689	0,2687	0,2683
	0,2689	0,2689	0,2687	0,2685	0,2683

*valores entre 2.500-13.000 se han valorados correctos; <2.500, insuficientes y >13.000, excesivos

CUADRO No 11. DATOS DE LAS PROPIEDADES FÍSICAS, QUÍMICAS Y MICROBIOLÓGICAS DEL SHAMPOO DE ROMERO PARA TRES LOTES, LOTE DOS

CARACTERÍSTICAS	PRODUCTO TERMINADO	MES 01	MES 02	MES 03	MES 04
FÍSICAS	O				
pH (5 – 7.5)	7.0	7.00	7.0	7.0	7.0
	6.9	6.9	6.9	7.0	7.0
	7.0	7.0	6.9	6.8	6.9
	6.8	7.0	6.9	6.9	6.8
	7.0	6.9	7.0	7.0	6.9
DENSIDAD (1.015-1.052g/mL)	1.025	1.023	1.026	1.023	1.022
	1.023	1.024	1.024	1.025	1.024
	1.025	1.025	1.025	1.023	1.025
	1.026	1.025	1.023	1.025	1.024
	1.025	1.024	1.026	1.024	1.023
*VISCOSIDAD (5805-5816Cp)	5809.4	5813.7	5812.4	5813.10	5811.8
	5810.3	5809.9	5810.5	5811.56	5813.7
	5808.7	5812.7	5813.2	5813.7	5809.6
	5812.3	5810.4	5809.9	5809.1	5812.8
	5810.7	5812.8	5813.0	5811.9	5811.2
ÍNDICE DE ESPUMA	10.3	10.1	10	10	9.8
	10.2	10.3	9.9	10.3	10
	9.9	10.1	10.1	9.7	10.3
	10.0	9.8	9.7	10.2	10.1
	10.1	10.3	10.3	10.2	9.9
RESIDUO SECO	96.48%	96.44%	96.37%	96.37%	96.35%
	96.50%	96.46%	96.35%	96.36%	96.37%
	96.46%	96.50%	96.38%	96.38%	96.34%
	96.49%	96.48%	96.37%	96.39%	96.36%
	96.49%	96.46%	96.49%	96.36%	96.38%
	96.48%	96.47%	96.36%	96.37%	96.39%
CARACTERÍSTICAS QUÍMICAS	PRODUCTO TERMINADO	MES 01	MES 02	MES 03	MES 04

CONCENTRACIÓN DE 1,8 CINEOL (10mL)	0,2689	0,2689	0,2687	0,2686	0,2684
	0,2689	0,2689	0,2689	0,2685	0,2685
	0,2689	0,2688	0,2688	0,2685	0,2683
	0,2688	0,2688	0,2688	0,2686	0,2683
	0,2687	0,2688	0,2687	0,2687	0,2683

*valores entre 2.500-13.000 se han valorados correctos; <2.500, insuficientes y >13.000, excesivos)

CUADRO No 12 DATOS DE LAS PROPIEDADES FÍSICAS, QUÍMICAS Y MICROBIOLÓGICAS DEL SHAMPOO DE ROMERO PARA TRES LOTES, LOTE TRES

CARACTERÍSTICAS	PRODUCTO TERMINADO	MES 01	MES 02	MES 03	MES 04
FÍSICAS					
pH (5 – 7.5)	7.00	7.00	7.00	7.0	7.0
	7	7	7	7	7
	7	6.9	6.9	7	6.9
	6.9	7	7	7	7
	7	7	6.9	6.9	7
DENSIDAD (1.015- 1.052g/mL)	1.025	1.023	1.026	1.023	1.022
	1.026	1.024	1.026	1.024	1.024
	1.023	1.026	1.024	1.022	1.023
	1.025	1.025	1.023	1.025	1,024
	1.026	1.024	1.024	1.023	1,025
VISCOSIDAD (5805- 5816Cp)	5809.4	5813.7	5812.4	5813.10	5811.8
	5810.1	5811.6	5810.4	5812.4	5810.7
	5808.6	5812.6	5813.1	5810.4	5809.7
	5809.9	5811.8	5812.5	5811.7	5812.4
	5811.5	5810.9	5810.4	5810.4	5813.5
ÍNDICE DE ESPUMA	10.3	10.1	10	10	9.8
	10.1	10.2	10.2	10.1	10
	10	10.3	10.1	10.3	9.9
	10.2	10.1	10	10	10.1
	10.1	10	10.3	10.2	9.9
RESIDUO SECO	96.48%	96.44%	96.37%.	96.37%	96.35%
	96.50%	96.43%	96.39%	96.41%	96.37%

CARACTERÍSTICAS QUÍMICAS	96.49%	96.42%	96.40%	96.45%	96.42%
	96.45%	96.46%	96.42%	96.47%	96.41%
	96.50%	96.47%	96.43%	96.43%	96.39%
	96.49%	96.49%	96.41%	96.46%	96.36%
	PRODUCTO TERMINADO	MES 01	MES 02	MES 03	MES 04
CONCENTRACIÓN DE 1,8 CINEOL (10mL)	0,2689	0,2689	0,2687	0,2685	0,2682
	0,2689	0,2688	0,2688	0,2685	0,2683
	0,2688	0,2687	0,2688	0,2686	0,2684
	0,2687	0,2688	0,2689	0,2687	0,2683
	0,2687	0,2689	0,2686	0,2685	0,2683

*valores entre 2.500-13.000 se han valorados correctos; <2.500, insuficientes y >13.000, excesivos

3.8 RESULTADOS TEST DE ANOVA 1 FACTOR 3 NIVELES POR CUATRO MESES

H0= Los tres lotes de shampoo anticaspa de romero presentan características físicas y químicas similares.

H1= Los tres lotes de shampoo anticaspa de romero no presentan características físicas y químicas iguales.

Pr(>f) debe ser mayor a 0.05 para que con un nivel de confianza de 95% se diga que los tres lotes son iguales.

CUADRO No. 13 RESULTADOS TEST ANOVA PARA CUATRO MESES 3 LOTES

Características	M0	M1	M2	M3	M4
pH	0,535	0,446	0,425	0,803	0.862
Densidad	0,060	0,0912	0,171	0,726	0,06
Viscosidad	0,559	0,26	0,162	0,26	0,172
Índice de espuma	0,441	0,465	0,77	0,992	0.158
Residuo seco	1	0,53	0,109	0,06	0,06
Concentración de 1,8cineol	0,495	0,627	0,735	0,707	0,267

El valor de Pr ($>F$) es mayor a 0,05 en todos los casos por lo que se acepta H_0 , es decir el valor de pH, densidad, viscosidad, índice de espuma, residuo seco y concentración de 1,8 cineol en el M0,M1,M,M3,M4 de los tres lotes no tienen una variación significativa, por lo tanto son iguales.

3.9 RESULTADOS CONTROL DE CALIDAD DEL PRODUCTO TERMINADO

CUADRO No. 14 RESULTADOS CONTROL DE CALIDAD DEL PRODUCTO TERMINADO EN CONDICIONES ACELERADAS 40°C ± 2 Y 70% HR ± 5

PARAMETROS	ESPECIFICACIÓN	RESULTADOS			MÉTODO
		*medias de datos obtenidos en cuatro meses			
		L1	L2	L3	
ASPECTO	Viscoso, de olor característico, blanco nacarado	Cumple	Cumple	Cumple	Percepción
PRESENTACIÓN	Envases Plásticos N°2 De 500mL	Cumple	Cumple	Cumple	
VOLUMEN DE LLENADO	500mL ± 10mL	Cumple	Cumple	Cumple	
pH	5 - 7.5	6.97	6.94	6.98	Potenciometría
DENSIDAD	1,015- 1,052g/mL	1,0228 g/mL	1,0238 g/mL	1,024 g/mL	Picnometría
VISCOSIDAD	5805-5816Cp	5810,45Cp	5811,54Cp	5811.40Cp	Poiseuille
ÍNDICE DE ESPUMA	-----	10,10cm	10,06cm	10,09cm	
RESIDUO SECO	No menor al 95%	96,34%	96,41%	96,45%	Gravimetria

CONCENTRACIÓN DE 1,8 CINEOL	-----	0,2687mg/10mL	0,2687mg/10mL	0,2687mg/10mL	Espectroscopía
AEROBIOS MESOFILOS	10 ⁵	0	0	0	AOAC (990.12)
COLIFORMES TOTALES	0	0	0	0	INEN 1529-6 NMP
COLIFORMES FECALES y <i>E.coli</i>	10	0	0	0	INEN 1529-6 NMP

Los resultados del estudio son los mismos para los tres lotes de shampoo anticaspa de romero durante los cuatro meses de análisis, es decir cumplen con los parámetros físicos químicos y microbiológicos establecidos en normas por lo que el shampoo es apto para el uso en humanos.

3.10 CÁLCULO DE LA ESTABILIDAD ACELERADA Y VIDA UTIL DEL PRODUCTO

CUADRO 15. DATOS PARA GRÁFICO LOG % DEGRADADO VS. $1/T \times 10000$ PARA EL SHAMPOO ANTICASPA DE ROMERO EN CONDICIONES ACELERADAS $40 \pm 2^\circ\text{C}$ Y $7.0\% \pm 5\%$

DIAS	%
0	17.4
30	17.7
60	17.0
90	14.1

La diferencia de porcentaje de principio activo fue 3.3 y su logaritmo es 0.51

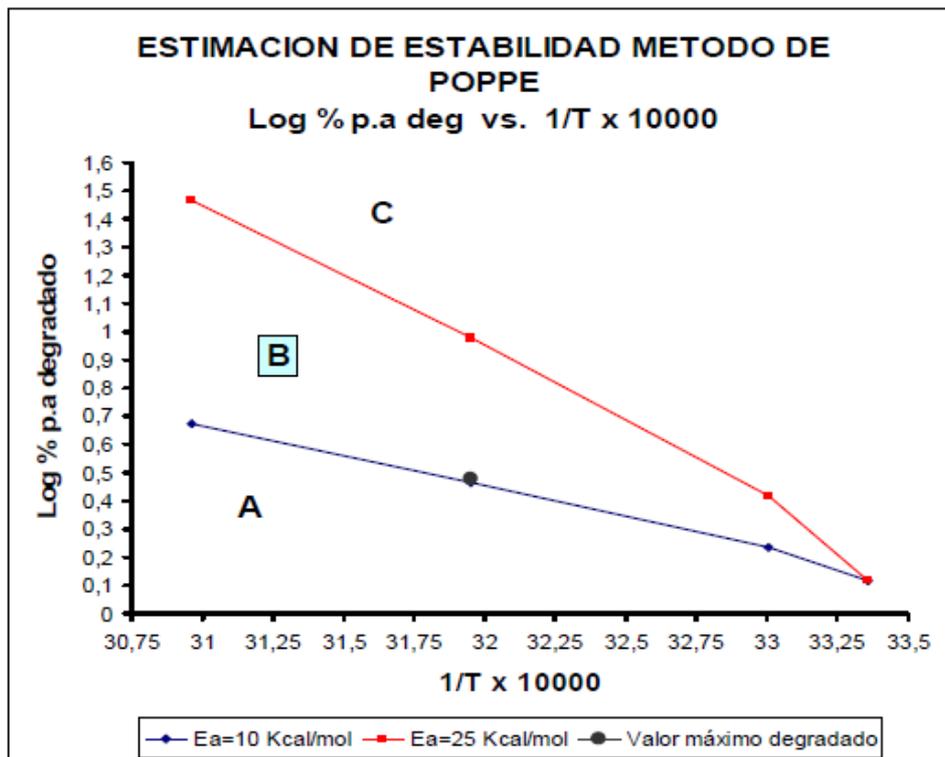


GRÁFICO No. 3 Log% DEGRADO VS. $1/T \times 10000$ PARA EL SHAMPOO ANTICASPA DE ROMERO

A través de las gráficas obtenemos que el logaritmo del máximo porcentaje de 1,8 cineol degradado cae en el área B de las curvas, por lo cual se estima que el período de vida útil del shampoo anticaspa de romero es de dos años.

3.11 ANÁLISIS DE COSTOS

CUADRO No. 16 ANÁLISIS DE COSTOS PARA EL SHAMPOO ANTICASPA DE ROMERO

Costos producción shampoo 300L	
Romero	116
Excipientes	277
Balanza	25
Exámenes de laboratorio	160
Agua destilada	15
Insumos	8
Transporte	40
Mano de obra	135
Servicios básicos	20
TOTAL	796 USD

ANALISIS FINANCIERO DE PRODUCCION

TOTAL PRODUCCIÓN
600 botellas de 500 mL
COSTO DE PRODUCCIÓN:
1.33 USD por cada botella de 500mL
PRECIO MÍNIMO DE VENTA
1.72usd
PRECIO DE VENTA
2.50 USD
PORCENTAJE DE GANANCIA:
47%

CAPÍTULO IV

4. CONCLUSIONES

1.- Se comprobó que las características físicas químicas y microbiológicas del shampoo anticaspa de romero están dentro de los rangos establecidos, mediante un test de ANOVA de un factor (lote) a tres niveles (tres lotes diferentes) durante cuatro meses con un nivel de confianza del 95%, todos los valores fueron mayores a 0.05 lo que nos indica que no existe diferencia significativa entre los tres lotes por lo que hipótesis nula se acepta.

2.- El control de los excipientes: Texapon, Coperland, Euperland, Cetiol, Cloruro de sodio, Bronidox, se encuentran dentro de los parámetros establecidos por la USP XXVIII concluyendo que estos excipientes cumplen características de calidad para la elaboración del shampoo anticaspa de romero y son aptos para su uso en humanos.

3.- Se obtuvo 40.5L de hidrodestilado de romero (*Rosmarinus officinalis*) junto con aceite esencial, con un concentración de 1,8 cineol de 0.877mg/mL para el inicio de la determinación en condiciones aceleradas y 0,364 mg/mL de 1,8 cineol en el shampoo de romero a los 4 meses corroborando la vida útil de dos años.

4.- Se desarrolló una formulación para la elaboración del shampoo anticaspa de romero (*Rosmarinus officinalis*) para tres lotes de 100L, estableciendo características como olor aromático, blanco, homogéneo, con pH 5-7.5, densidad 1.015-1.052g/mL, viscosidad 5805-5816cps, índice de espuma de 10.10cm, residuo seco menor al 95%, características químicas como concentración de 1,8 cineol, de 0.877 mg/mL, ausencia de microorganismos aerobios mesofilos, coliformes totales, coliformes fecales.

5.- El estudio de estabilidad acelerada realizado por el método de Poppe da como resultado que el periodo de vida útil del shampoo anticaspa de romero es de dos años.

6.- Esta producción a escala piloto tiene una ganancia del 47% ya que cada shampoo cuesta producirlo \$1.33 y se lo vende en \$2.50 por lo que su producción es rentable y puede ser llevado a una escala mayor.

CAPÍTULO V

5. RECOMENDACIONES

1. Dada la efectividad ya comprobada del shampoo anticasca de romero es conveniente promocionar el producto en cuanto se ha comprobado que es mejor que los shampoos comerciales y además con un menor precio.

CAPÍTULO VI

6. RESUMEN

La elaboración del shampoo de romero (*Rosmarinus officinalis*) con actividad anti *Malassezia globosa* a escala piloto se realizó en los laboratorios de fitoquímica, procesos unitarios, y de microbiología de la Facultad de Ciencias, utilizando el método científico deductivo.

La extracción del aceite de romero se obtuvo por hidrodestilación dando 16L de hidrodestilado con un rendimiento del 1.8% de aceite esencial sustancia activa para la *Pitiriasis capitis* (caspa), se determinó con cromatografía de capa fina, corrida en placas de sílica gel con tolueno acetato de etilo 97:3 revelada con vainillina ácido sulfúrico dando como resultado un Rf de 0.39

Realizados los controles de calidad de la materia prima se determinó que se necesita 4.5Kg de Texapon, 0.45Kg de Cetiol, 1,125Kg de Euperland, 1.125Kg de Coperland, 1.12 Kg de Cloruro de sodio, 28.24mL de Bronidox, 2mL aceite esencial de romero por cada 40L de shampoo.

Los análisis de calidad del shampoo indican el test de ANOVA del factor lote a tres niveles (L1, L2, L3) a condiciones aceleradas $40\pm 2^{\circ}\text{C}$ y $70\% \pm 5\%$ de humedad relativa con un nivel de confianza del 95% todos los valores son mayores a 0.05 lo que nos indica que no existe diferencia significativa entre los tres lotes analizados.

Esta producción a escala piloto tiene una ganancia del 47% ya que cada shampoo cuesta producirlo \$1.33 y se lo vende en \$2,50 por lo que su producción es rentable.

Concluyo que el shampoo anticaspa de romero a escala piloto cumple con las características físicas, químicas y microbiológicas establecidas para su producción a escala piloto y puede ser llevado a una escala mayor.

Se recomienda el uso de este shampoo pasando un día para eliminar los problemas relacionados con la caspa pues se ha comprobado su efectividad.

SUMMARY

The elaboration of Rosemary shampoo (*Rosmarinus officinalis*) with activity anti *Malassezia globosa* to pilot scale was carried out in the laboratories of Phytochemical, microbiology of de Faculty of Sciences and unitary process, using the deductive scientific method.

The extraction of Rosemary oil was obtained by hydro distillation giving 16L of hydro distilled with a yield of 1.8% of essential oil active substance to the Pitiriasis capitis (dandruff), it was determined by thin-layer chromatography set up on plates of silica gel toluene ethyl acetate 97:3 revealed with vanilla sulfuric acid resulting in a Rf of 0.39

Once quality controls have been done in the raw, it was determined that is needed 4.5Kg of Texapon, 0.45kg of Cetiol, 1.125Kg of Euperland, 1.125Kg of Coperland, 1.12Kg of sodium Chloride, 28.24mL of Bromidox, 2mL Rosemary essential oil for every 40L of shampoo.

Shampoo quality analyses indicate factor ANOVA test batch at three levels (L1, L2, L3) to accelerated conditions $40\pm 2^{\circ}\text{C}$ and $70\%\pm 5\%$ relative humidity with a confidence level of 95% all values are greater than 0.05 which tells us that there is no significant difference between the three lots tested.

This pilot-scale production has a gain of 47% since each shampoo costs to produce it \$1.33 and sells it at \$2.50, so its production is profitable.

I conclude that the shampoo anti dandruff of Rosemary to pilot scale complies with the physical, chemical and microbiological characteristics established for its production to pilot scale and can be taken to a major scale.

The use of this shampoo is recommended spending one day to eliminate the problems related to the dandruff since its effectiveness has been verified.

CAPÍTULO VII

7. BIBLIOGRAFÍA

1. **ALONSO, J.R.**, Tratado de Fitofármacos y nutracéuticos., 2a. ed., Corpus. Buenos Aires-Argentina, 2004., Pp. 96-97
2. **ARA, A.**, Las 40 plantas medicinales más populares., 4a. ed., Madrid-España. EDAF., 2000., Pp.164.
3. **BARRAGAN, R.**, Principios de Diseño Experimental.2a. ed., Madrid-España., 1997., Pp. 10-21.
4. **BERNAL, H, y OTROS.**, Especies vegetales promisorias de los países del convenio Andrés Bello., 7a. ed. Bogotá-Colombia., Secretaría Ejecutiva del Convenio Andrés Bello., 2001., Pp. 170-177
5. **BHRMAN, R. Y OTROS.**, Nelson Tratado de Pediatría.17a. ed., Madrid-España., Elsevier. 2004., Pp. 1016.
6. **BRODY, A.**, Envasado de alimentos en atmósferas controladas, modificadas y a vacío. Zaragoza-España., Editorial Acribia S. A. 1996., Pp. 3
7. **BRUNETON, J.**, Plantas tóxicas vegetales peligrosos para el hombre y los animales., Editorial Acribia. Zaragoza., 2000., Pp. 45-48

8. **CLAUDE, M.**, Dermocosmética y estética. 3a. ed. Madrid-España., Elsevier 1997. Pp.69
9. **CONSEJO GENERAL DE COLEGIOS OFICIALES DE FARMACÉUTICOS.**, Catálogo de plantas medicinales, Colección Consejo Plus 2009., CGCOF. Madrid-España., 2009., Pp. 109-111
10. **CHERRANDIZ, C.**, Dermatología Clínica. 2a. ed. Madrid-España., Elsevier. 2001., Pp.127-128
11. **CHIVOT, M.**, Cosmetología., 3a. ed. Madrid-España., Elsevier 1997., Pp.73
12. **GUÍA DE ESTABILIDAD DE PRODUCTOS COSMÉTICOS.**, Agencia Nacional de Vigilancia Sanitaria., Brasilia-Brasil., ANVISA, 2004., Pp.23-32
13. **LÓPEZ GONZÁLEZ, G.**, Guía de los árboles y arbustos de la Península Ibérica y Baleares., Barcelona-España., Mundi-Prensa. 2003., Pp 67.
14. **MUÑOZ, F.**, Plantas medicinales y aromáticas., 2a. ed., Madrid-España., Mundo Prensa Libros., 2002., Pp. 265.
15. **PAMPLONA, R.**, Como tener un cuerpo sano., Buenos Aires-Argentina., Safeliz. 2009., Pp. 134
16. **PAMPLONA, R.**, Enciclopedia de las plantas medicinales. 2a. ed., Buenos Aires-Argentina., Safeliz., 2006., Pp. 674-675.
17. **VIERLING, E.**, Aliments Et Boissons Technologies Et Aspects Réglementaires. 3a. ed., Crdp D'aquitaine. Colección Biosciences Et Techniques, Bordeaux- Francia. La gacet., 2008., Pp. 131 - 141

18. **VILLACÍS, M.**, Obtención de chips de manzana por medio de fritura al vacío (proceso continuo)., Quito-Ecuador., Escuela Politécnica Nacional., 2004., Pp. 29,30,51
19. **WAGNER, H.**, Plant drug analysis. 2a ed. Publicado en inglés. Berlin-Alemania 2001., Pp. 156-158,168-186.
20. **TORRES, I.**, Estabilidad de Medicamentos de los Estudios. Bogotá-Colombia., Antares., 2003, Pp. 17-22
21. **SHARAPIN, N.**, Fundamentos de tecnología de productos fitoterápicos. Bogotá-Colombia., Antares 2002 Pp. 212-225
22. **STANLY, J** Statistic desinge of experimets., 2a. ed., Madrid- España Duxry 2004., Pp. 89.
23. **VISCOSIDAD DEL SHAMPOO**
Revista Comsummers., Análisis comparativo champús de uso frecuente para cabello normal., Vol. III, Madrid- España., 02-2004., Pp. 30-38
24. **ALULEMA, R.** Determinación de la sensibilidad in vitro de *Malassezia globosa* frente a los hidrodestilados de *Calendula officinalis*, *Rosmarinus officinalis* y *Salix alba*. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Facultad de Ciencia, Escuela Bioquímica y Farmacia. Riobamba-Ecuador., Tesis 2011. Pp. 13-16, 33-34.
25. **CHUNATA, L** “TRATAMIENTO DE LA PITYRIASIS CAPITIS DEL CUERO CABELLUDO PRODUCIDA POR *Malassezia globosa* CON SHAMPOO DE ROMERO (*Rosmarinus officinalis*)” Bioquímico Farmacéutico. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Facultad de Ciencia, Escuela Bioquímica y Farmacia., Riobamba- Ecuador., Tesis 2011., Pp. 12-15

26. **OROZCO R.** Elaboración de Gel, Pomada y Crema Antiviral de Bidens Pilosa con el control de Calidad. Bioquímica y Farmacia., Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Facultad de Ciencias. Escuela de Bioquímica y Farmacia., Riobamba- Ecuador., Tesis 2005, Pp. 100.

27. **ACTIVIDAD FARMACOLOGICA**
<http://www.hierbitas.com/nombrecomun/Romero.htm>
2012/03/15

28. **BROMIDOX**
<http://www.furrental.com/pages/fj/bronidox.pdf>
2012/07/27

29. **COMPARACIÓN DEL EFECTO CICATRIZANTE DE GELES ELABORADOS A BASE DE PROPÓLEO Y CALÉNDULA EN HERIDAS DE CONEJOS**
[http://www.saludalia.com/starmedia/temas.](http://www.saludalia.com/starmedia/temas)
2012/06/21

30. **CHAMPU PEINADOS Y TÉCNICAS DE PELUQUERÍA.**
[http://anacamara.blogspot.com/historia-de-la-higiene-capilar-elhamp.html.](http://anacamara.blogspot.com/historia-de-la-higiene-capilar-elhamp.html)
2012/05/13

31. **CONTROL Y ELABORACIÓN DE UN GEL DE ALOE PARA TRATAMIENTO DEL ACNÉ.**
<http://www.medicina.usmp.edu.pe/congresomundial/000data/temlib.htm>
2012/05/28.

32. **CONTROL DE FORMULACIONES**
<http://www.ffyb.uba.ar/farmacotecnia%2014/controlformulaciones>
2012/08/23

33. COMPOSICIÓN DEL ROMERO

<http://www.hierbitas.com/nombrecomun/Romero.htm>

2012/07/13

34. COPERLAND

<http://www.abacovital.com/fichastecnicas/alcanolamida/camidedea.htm>

2012/07/23

35. EL ROMERO CON EFECTOS ANTIOXIDANTES

http://www.dfarmacia.com/farma/ctl_servlet?f=37&id=13124840

2012/03/07

36. EUPERLAND

<http://spanish.alibaba.com/product-free/euperlan-pk-771-109498801.html>

<http://es.scribd.com/doc/46618983/compuestos-para-cosmetica>

2012/08/21

37. ETIOLOGÍA HIGH PERFORMANCE ANTIDANDRUFF SHAMPOO.

<http://divineskin.com/esp/dandrene/etiology.html>

2012/02/28

38. FUNCIÓN DEL SHAMPOO

http://es.wikipedia.org/wiki/Champ%_funciona_el_champ.C3.BA

2012/03/01

39. LA ENFERMEDAD DERMATITIS SEBORREICA

<http://www.e-dermatosis.com/pdf-zip/Derma023.pdf>

2012/02/28

40. MALASSEZIA GLOBOSA

<http://www.anticaspa.com/info/malassezia-globosa>

2012/03/30

41. PROPIEDADES DEL ROMERO

<http://www.mariacasasbiologa.es/castellanoromero.pdf>

2012/03/02

42. PROPIEDADES Y USOS DEL MATICO.

http://www.mundonuevo.cl/areas/Areas_Tematicas/Terapias_matico.php

2012/08/05

43. PROPIEDADES Y USOS DEL SHAMPOO

<http://www.uc.cl/medicina/medicinafamiliar/html/articulos/077.html>

2012/02/28

44. TEXAPON

Final report on the safety assessment of sodium laureth sulfate and ammonium laureth sulfate». *Journal of the American College of Toxicology* **2** (5): pp. 1–34. 1983

http://es.wikipedia.org/wiki/Lauril_%C3%A9ter_sulfato

<http://www.abacovital.com/tensioactivo/anionicoammolauri.htm>

2012/08/06

45. TIPOS DE CONTROL DE CALIDAD DEL SHAMPOO, DENSIDAD RELATIVA

<http://fluidos.eia.edu.co/fluidos/propiedades/densidadrelativapf.html>

2012/09/12

46. TIPOS DE SHAMPOO

http://www.inen.gob.ec/index.php?option=com_content&view

2012/09/21

47. TIPOS DE PLANTA PILOTO Y DEFINICIONES

http://es.wikipedia.org/wiki/Planta_piloto

2012/06/17

48. TODO SOBRE EL SHAMPOO

<http://es.wikipedia.org/wiki/Champ%C3%BA>

2012/03/07

49. TODO SOBRE LA ENFERMEDAD DE LA CASPA

<http://todosobresaludyenfermedades.blogspot.com/2010/12/que-cause-la-caspa-todo-sobre-salud-y.html>

2012/03/01

50. SHAMPOO COMPOSICIÓN

<http://es.wikipedia.org/wiki/Champ%C3%BA>

2012/05/07

51. TECNOLOGIA DE ACEITES Y GRASAS

<http://aromaticas.tripod.com/Aceites.htm>

2013/01/03

CAPÍTULO VIII

8 ANEXOS

ANEXO 1. EXTRACCIÓN DEL ACEITE DE ROMERO



ANEXO 2. CARACTERÍSTICAS DE LA MEZCLADORA UTILIZADA.

NOMBRE	Mezcladora
MARCA	Genérica
CAPACIDAD	60L
NÚMERO DE SERIE	B32327-B15
LOTE	SN
PALETAS	1
MOTOR	EMR 60 RPM 60 TORQUE 60

ANEXO 3. FOTOGRAFÍAS DE LA MEZCLADORA



ANEXO 4. PROCESO ELABORACIÓN DEL SHAMPOO ANTICASPA DE ROMERO



ANEXO 5. ENVASADO DEL SHAMPO ANTICASPA DE ROMERO



ANEXO 6. MEDICIÓN DE LA VISCOSIDAD

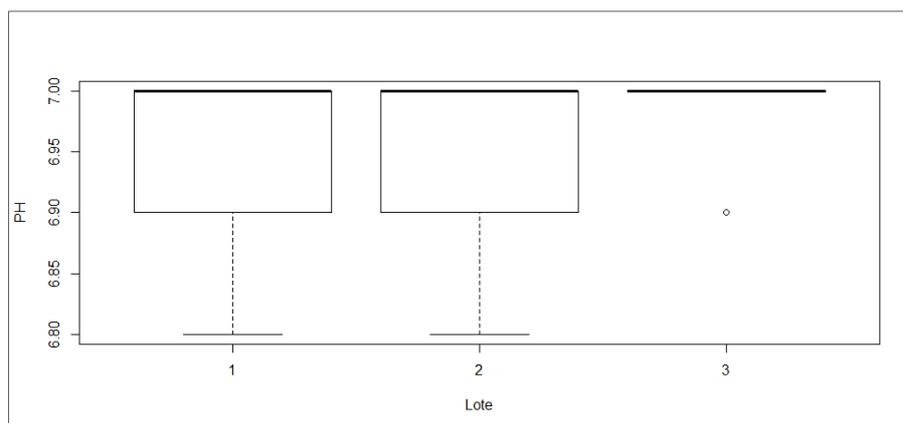


ANEXO 7. ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DEL SHAMPOO ANTICASPA DE ROMERO



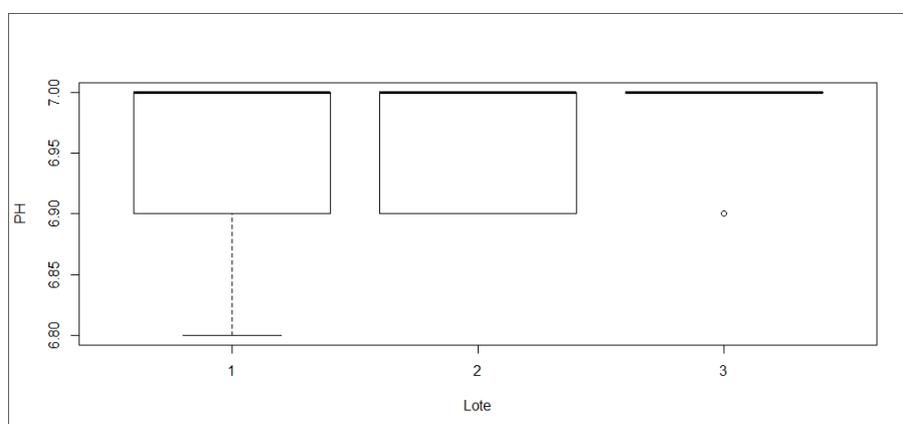
ANEXO 8. RESULTADOS TEST ANOVA PARA EL pH MES CERO

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
M0	1	0.308	0.3076	0.405	0.535
Residuals	14	10.630	0.7593		



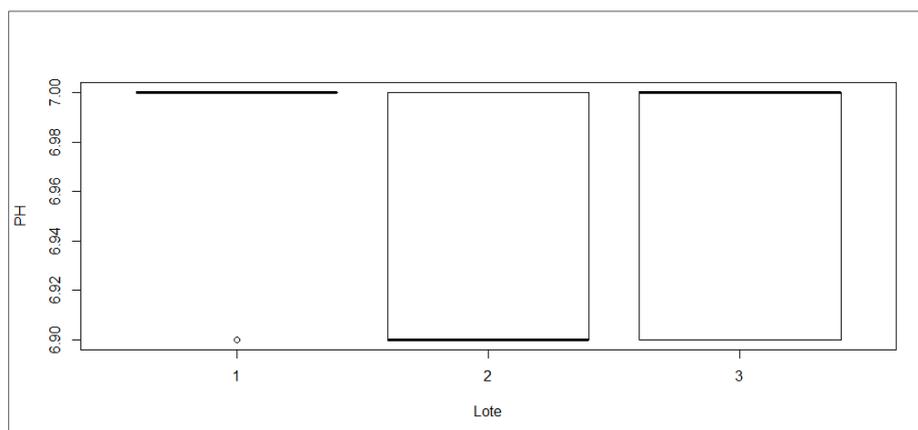
ANEXO 9. RESULTADOS TEST ANOVA PARA EL pH MES UNO

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
M1	1	0.459	0.4592	0.614	0.446
Residuals	14	10.478	0.7484		



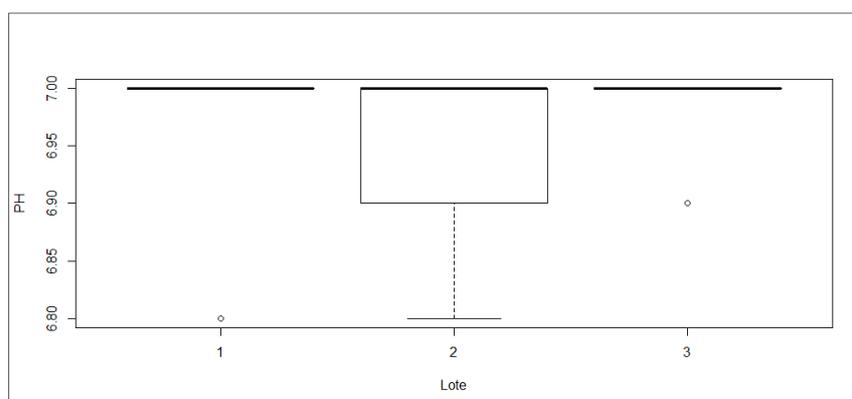
ANEXO 10. RESULTADOS TEST ANOVA PARA EL pH MES DOS

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
M2	1	0.504	0.5042	0.677	0.425
Residuals	14	10.433	0.7452		



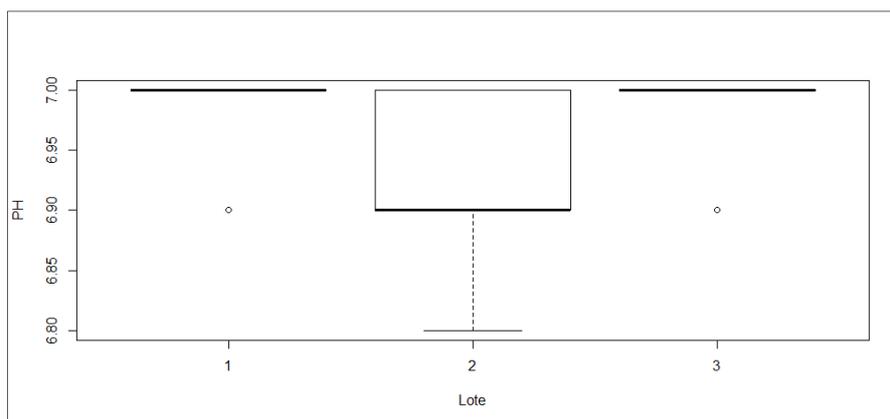
ANEXO 11. RESULTADOS TEST ANOVA PARA EL pH MES TRES

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
M3	1	0.05	0.0504	0.065	0.803
Residuals	14	10.89	0.7776		



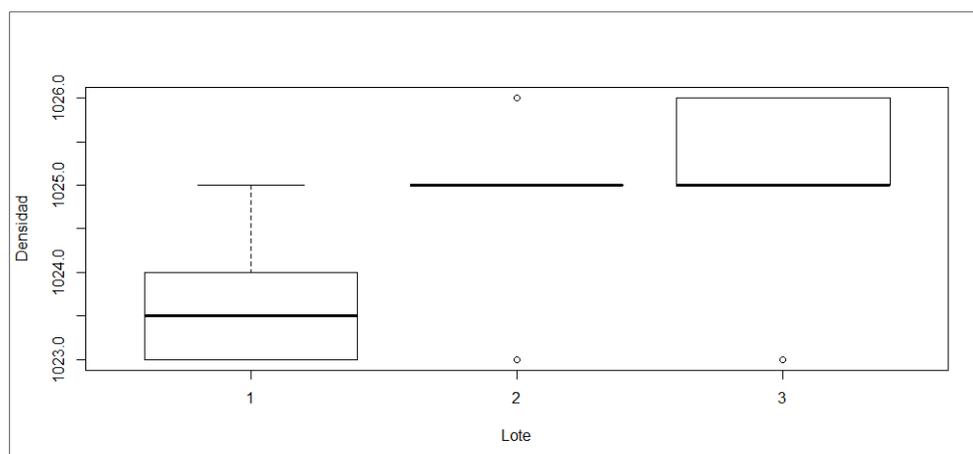
ANEXO 12. RESULTADOS TEST ANOVA PARA EL pH MES CUATRO

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
M4	1	0.024	0.0245	0.031	0.862
Residuals	14	10.913	0.7795		



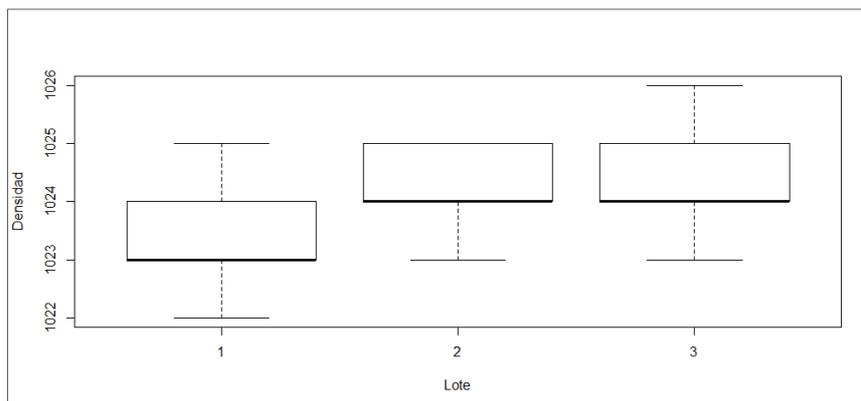
ANEXO 13. RESULTADOS TEST ANOVA PARA DENSIDAD MES CERO

	Df	Sum Sq	Mean Sq F	value	Pr(>F)
M0	1	2.774	2.7745	4.758	0.0567
Residuals	14	8.163	0.5831		



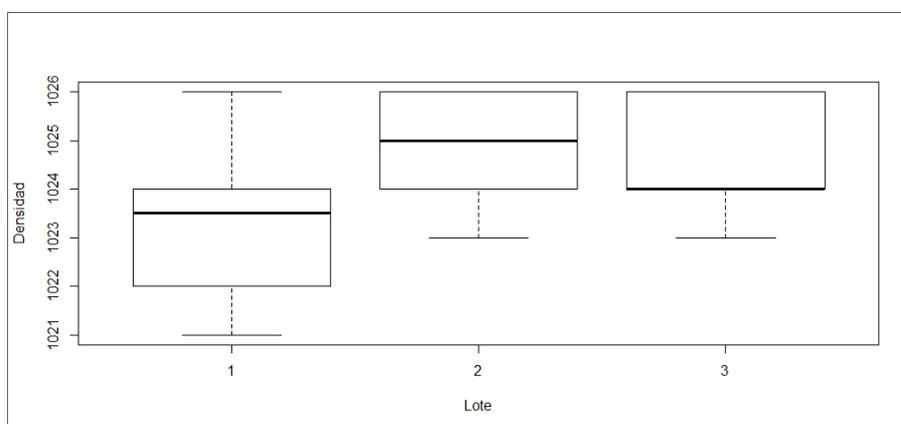
ANEXO 14. RESULTADOS TEST ANOVA PARA DENSIDAD MES UNO

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
M1	1	2.081	2.0814	3.29	0.0912
Residuals	14	8.856	0.6326		



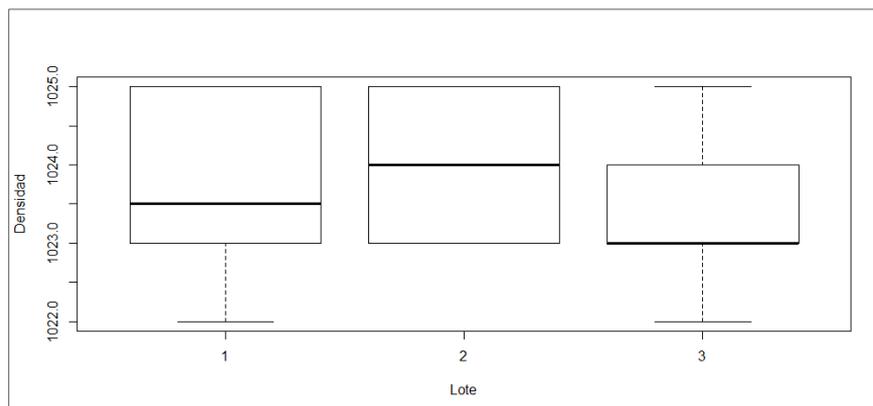
ANEXO 15. RESULTADOS TEST ANOVA PARA DENSIDAD MES DOS

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
M2	1	1.418	1.418	2.085	0.171
Residuals	14	9.520	0.680		



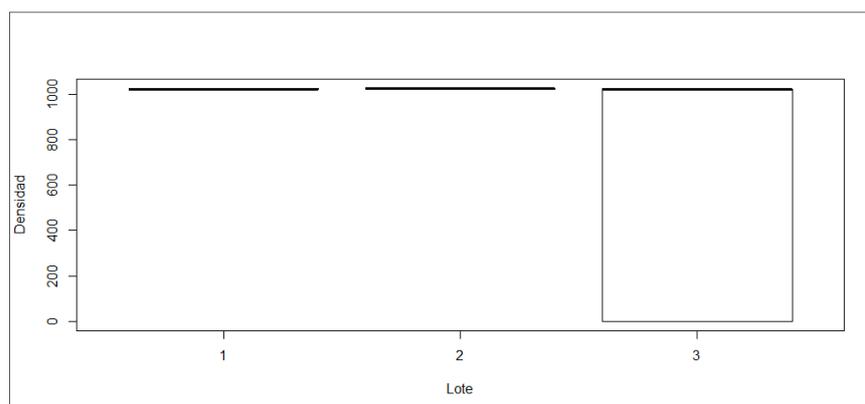
ANEXO 16. RESULTADOS TEST ANOVA PARA DENSIDAD MES TRES

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
M3	1	0.099	0.0988	0.128	0.726
Residuals	14	10.839	0.7742		



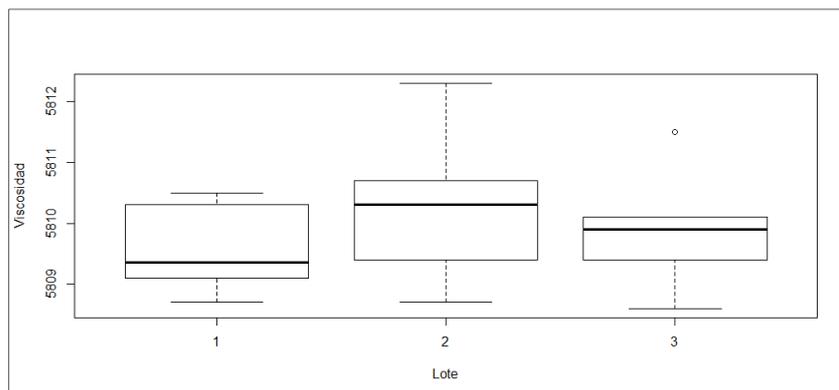
ANEXO 17. RESULTADOS TEST ANOVA PARA DENSIDAD MES CUATRO

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
M4	1	2.575	2.5751	4.311	0.0568
Residuals	14	8.362	0.5973		



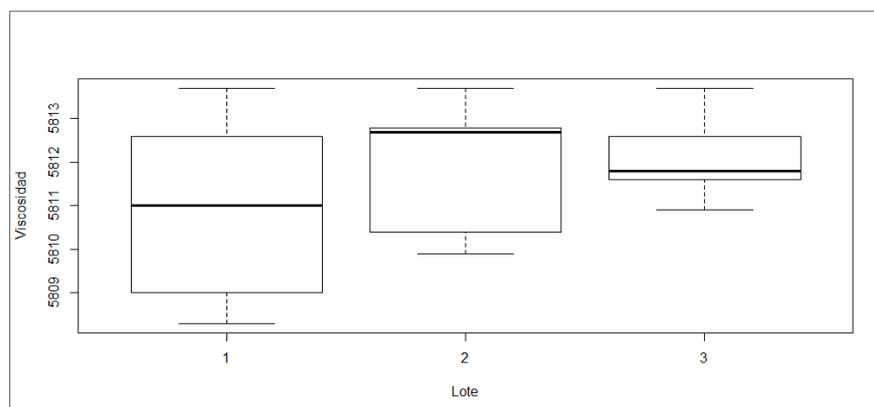
ANEXO 18. RESULTADOS TEST ANOVA PARA VISCOSIDAD MES CERO

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
M0	1	0.272	0.2724	0.358	0.559
Residuals	14	10.665	0.7618		



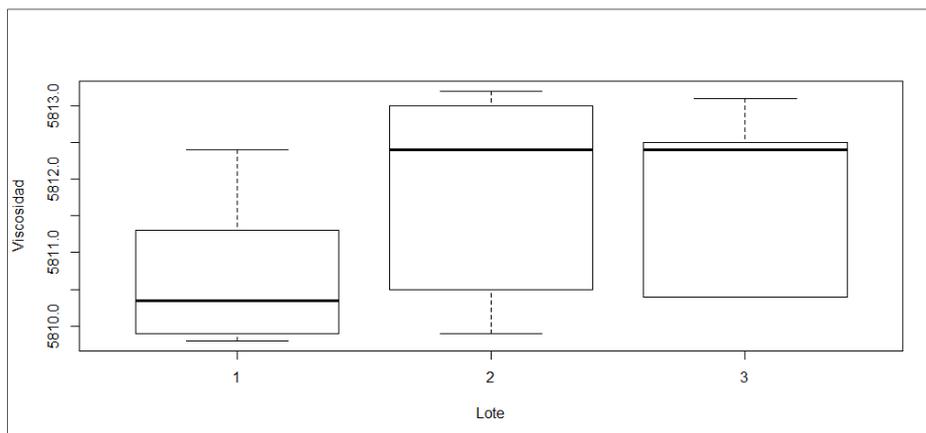
ANEXO 19. RESULTADOS TEST ANOVA PARA VISCOSIDAD MES UNO

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
M1	1	0.981	0.9810	1.379	0.26
Residuals	14	9.957	0.7112		



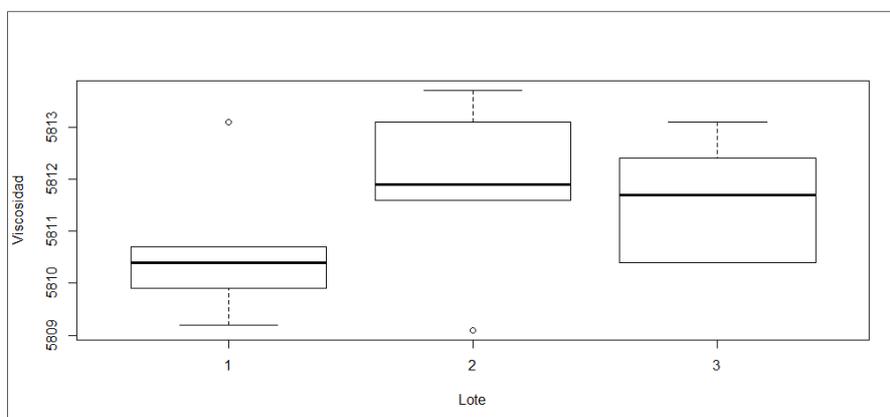
ANEXO 20. RESULTADOS TEST ANOVA PARA VISCOSIDAD MES DOS

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
M2	1	1.475	1.4747	2.182	0.162
Residuals	14	9.463	0.6759		



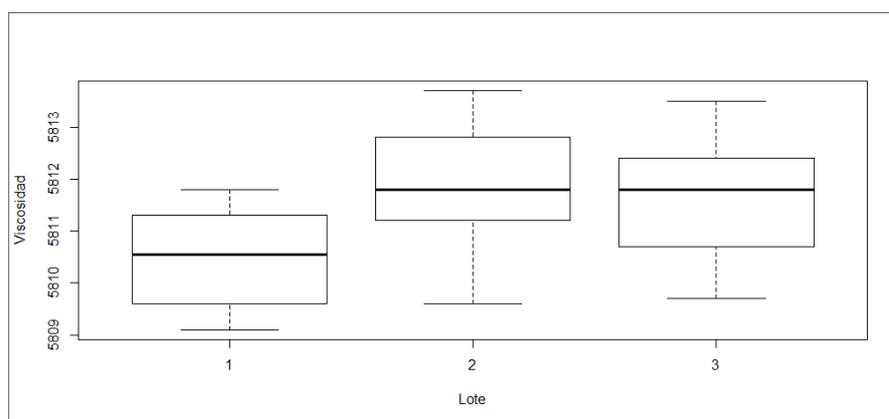
ANEXO 21. RESULTADOS TEST ANOVA PARA VISCOSIDAD MES TRES

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
M3	1	0.981	0.9809	1.379	0.26
Residuals	14	9.957	0.7112		



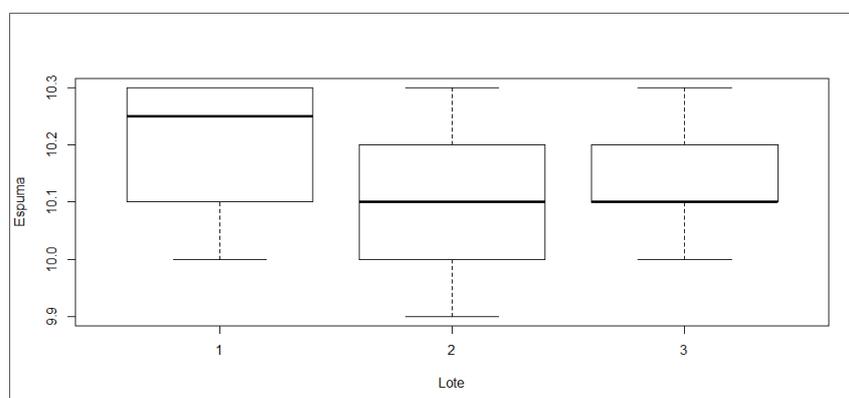
ANEXO 22. RESULTADOS TEST ANOVA PARA VISCOSIDAD MES CUATRO

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
M4	1	1.413	1.4130	2.077	0.172
Residuals	14	9.524	0.6803		



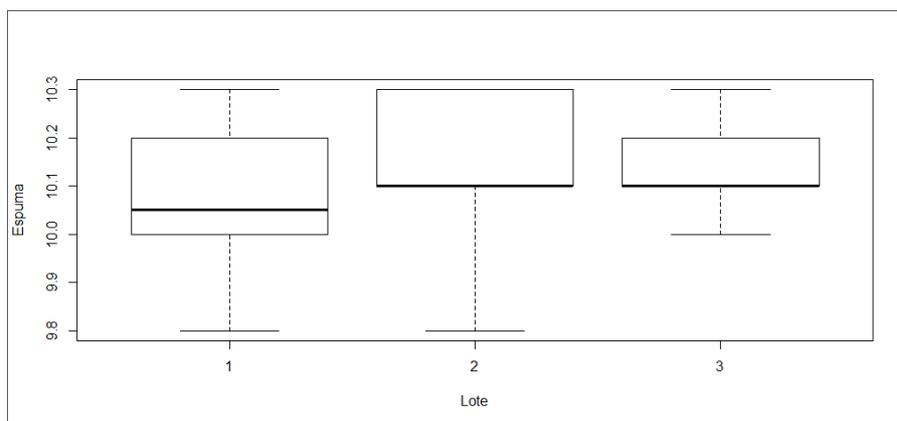
ANEXO 23. RESULTADOS TEST ANOVA PARA INDICE DE ESPUMA MES CERO

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
M0	1	0.471	0.4712	0.63	0.441
Residuals	14	10.466	0.7476		



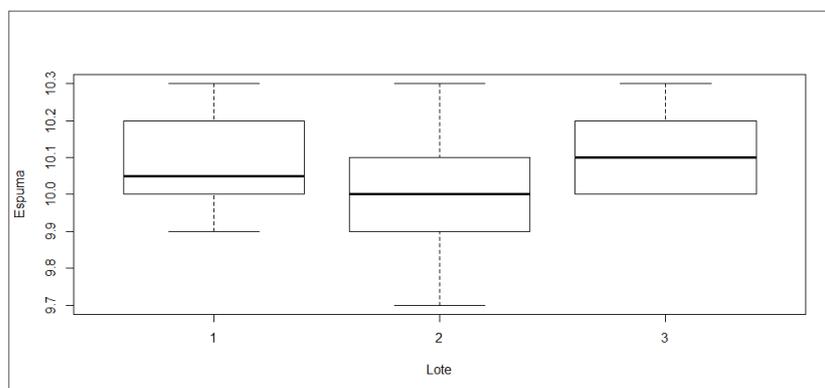
ANEXO 24. RESULTADOS TEST ANOVA PARA INDICE DE ESPUMA MES UNO

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
M1	1	0.424	0.4239	0.564	0.465
Residuals	14	10.514	0.7510		



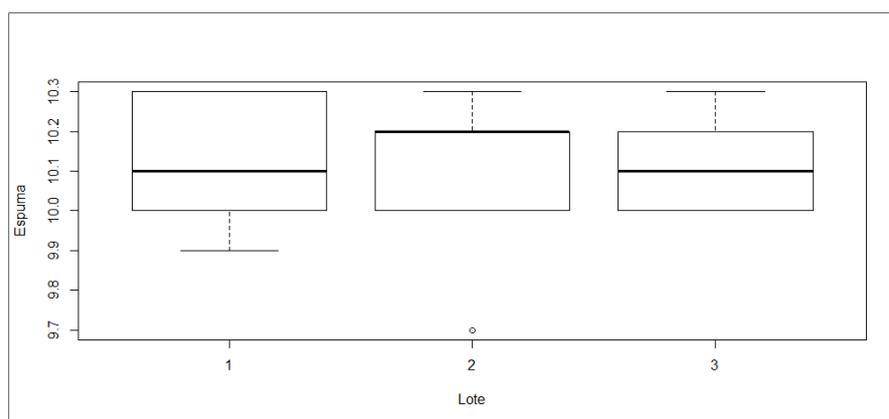
ANEXO 25. RESULTADOS TEST ANOVA PARA INDICE DE ESPUMA MES DOS

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
M2	1	0.069	0.0687	0.089	0.77
Residuals	14	10.869	0.7763		



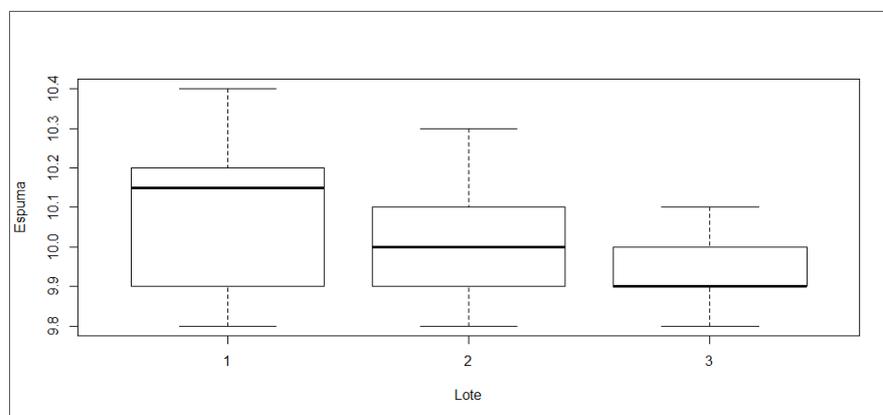
ANEXO 26. RESULTADOS TEST ANOVA PARA INDICE DE ESPUMA MES TRES

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
M3	1	0.00	0.0001	0	0.992
Residuals	14	10.94	0.7812		



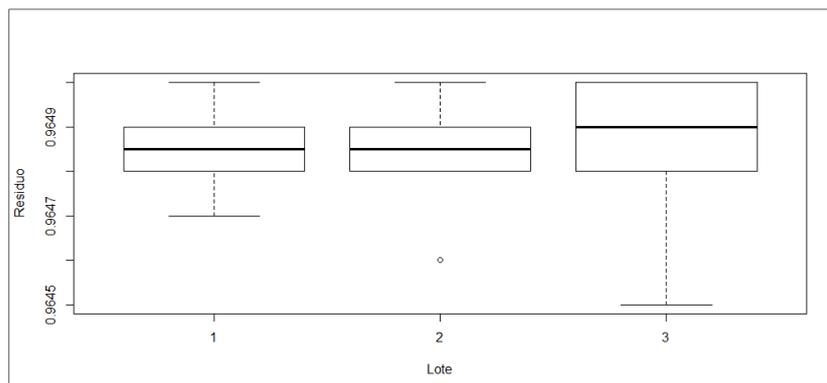
ANEXO 27. RESULTADOS TEST ANOVA PARA INDICE DE ESPUMA MES CUATRO

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
M4	1	1.501	1.501	2.227	0.158
Residuals	14	9.436	0.674		



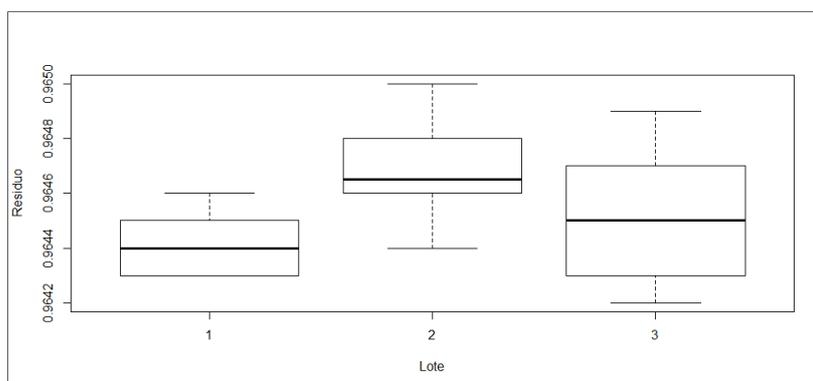
ANEXO 28. RESULTADOS TEST ANOVA PARA RESIDUO SECO MES CERO

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
M0	1	0	0.00	0	1
Residuals	16	12	0.75		



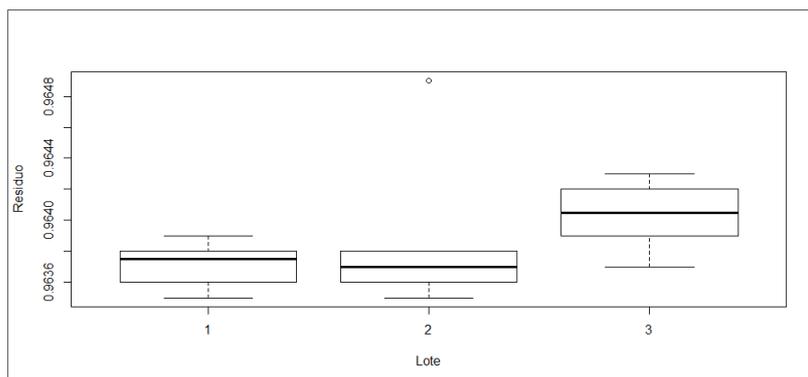
ANEXO 29. RESULTADOS TEST ANOVA PARA RESIDUO SECO MES UNO

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
M1	1	0.427	0.4272	0.591	0.453
Residuals	16	11.573	0.7233		



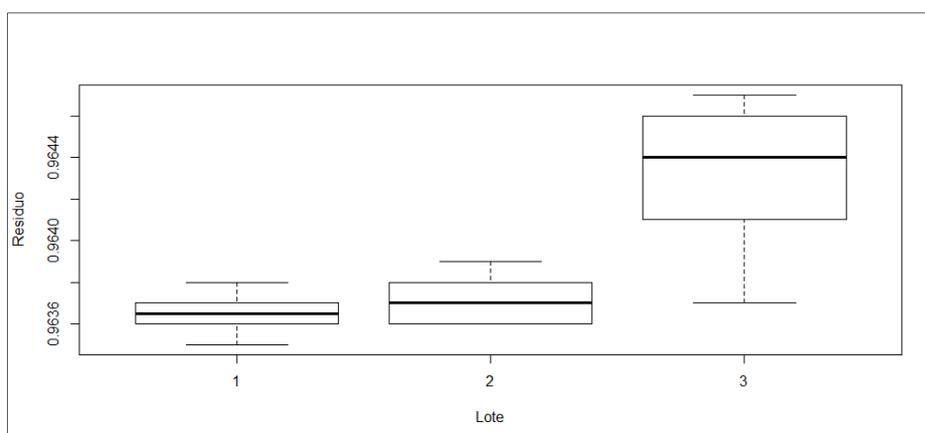
ANEXO 30. RESULTADOS TEST ANOVA PARA RESIDUO SECO MES DOS

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
M2	1	1.827	1.8268	2.873	0.109
Residuals	16	10.173	0.6358		



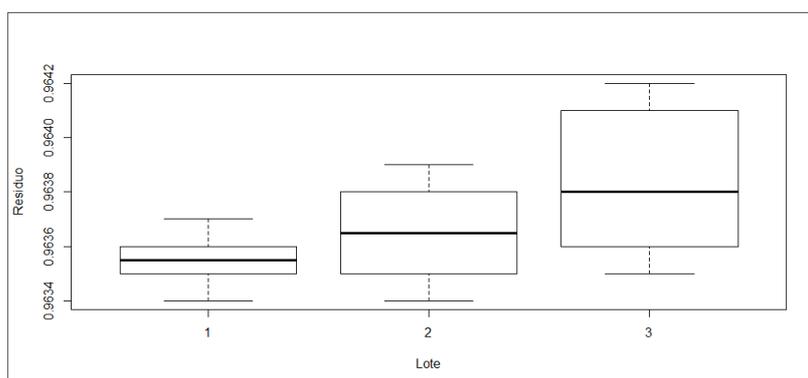
ANEXO 31. RESULTADOS TEST ANOVA PARA RESIDUO SECO MES TRES

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
M3	1	6.586	6.586	19.46	0.000437
Residuals	16	5.414	0.338		



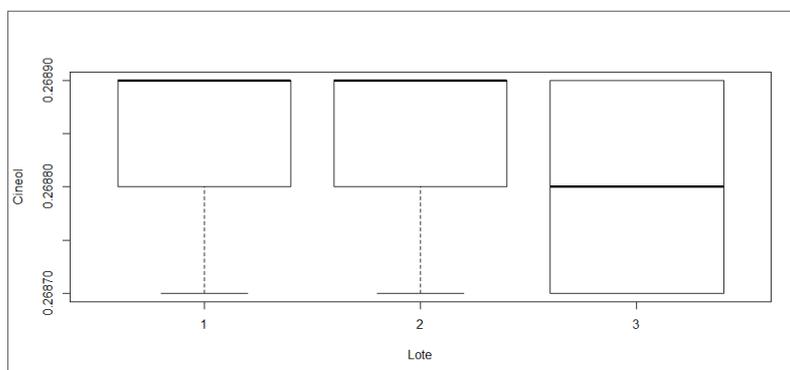
ANEXO 32. RESULTADOS TEST ANOVA PARA RESIDUO SECO MES CUATRO

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
M4	1	3.318	3.318	6.114	0.0525
Residuals	16	8.682	0.543		



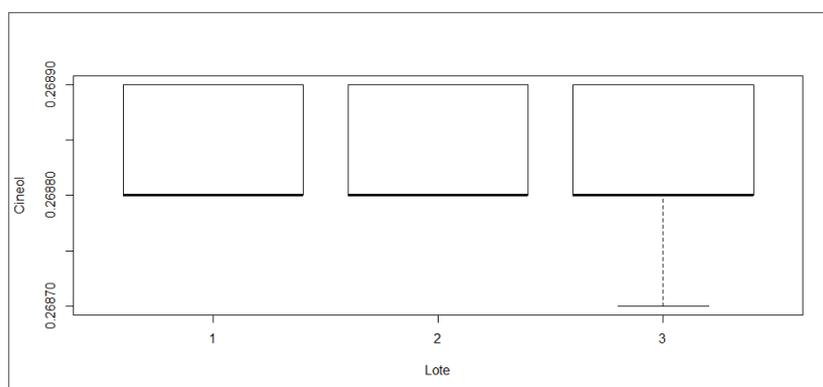
ANEXO 33. RESULTADOS TEST ANOVA PARA CONCENTRACIÓN DE 1,8CINEOL MES CERO

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
M0	1	0.366	0.3659	0.494	0.495
Residuals	13	9.634	0.7411		



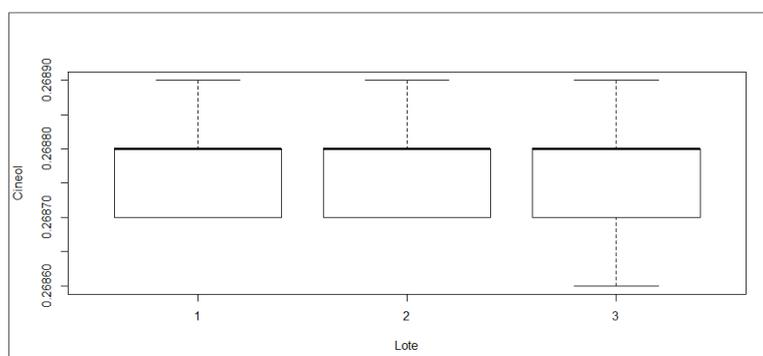
ANEXO 34. RESULTADOS TEST ANOVA PARA CONCENTRACIÓN DE 1,8CINEOL MES UNO

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
M1	1	0.188	0.1875	0.248	0.627
Residuals	13	9.812	0.7548		



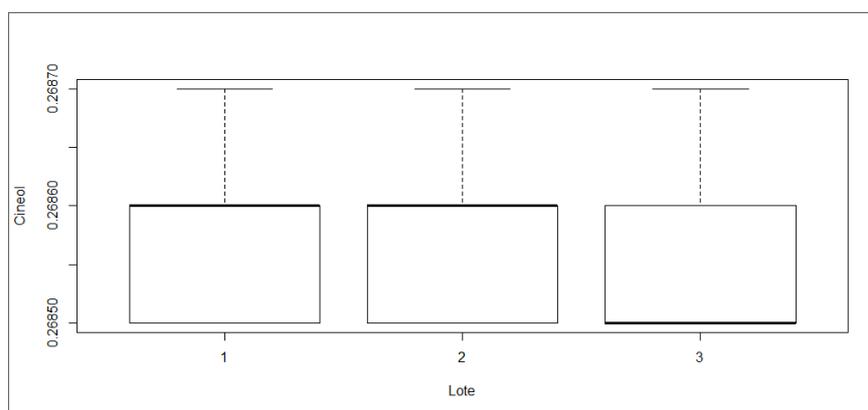
ANEXO 35. RESULTADOS TEST ANOVA PARA CONCENTRACIÓN DE 1,8CINEOL MES DOS

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
M2	1	0.091	0.0915	0.12	0.735
Residuals	13	9.909	0.7622		



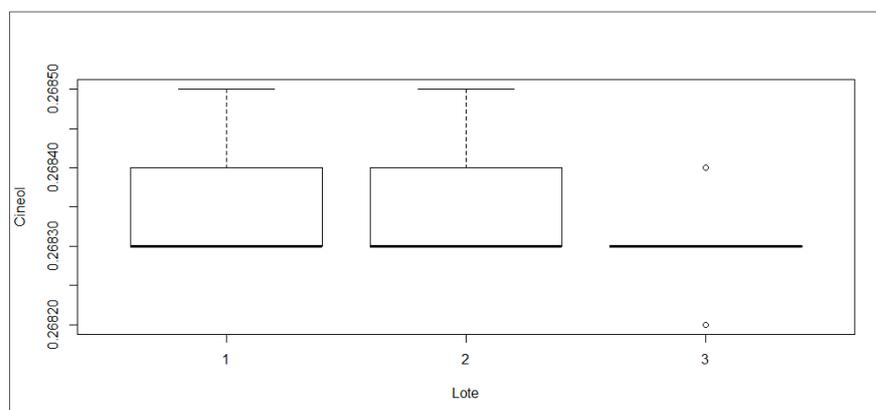
ANEXO 36. RESULTADOS TEST ANOVA PARA CONCENTRACIÓN DE 1,8CINEOL MES TRES

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
M3	1	0.112	0.1119	0.147	0.707
Residuals	13	9.888	0.7606		



ANEXO 37. RESULTADOS TEST ANOVA PARA CONCENTRACIÓN DE 1,8CINEOL MES CUATRO

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
M4	1	0.938	0.9375	1.345	0.267
Residuals	13	9.062	0.6971		



ANEXO 38. NORMA TÉCNICA ECUATORIANA INEN 820

ANEXO 39. NORMA TÉCNICA ECUATORIANA INEN 821

ANEXO 40.NORMA TÉCNICA ECUATORIANA INEN 822

ANEXO 41. NORMA TÉCNICA ECUATORIANA INEN 823

ANEXO 42. NORMA TÉCNICA ECUATORIANA INEN 833

ANEXO 43. NORMA TÉCNICA ECUATORIANA INEN 851

ANEXO 44. NORMA TÉCNICA COLOMBIANA NTC 1689

