UNIVERSIDAD CENTRAL "MARTA ABREU" DE LAS VILLAS
VERITATE SOLA NOBIS IMPONETUR VIRILIS TOGA. 1948

FACULTAD DE QUIMICA-FARMACIA

DEPARTAMENTO DE FARMACIA

Tesis en opción al Título de Licenciada en Ciencias Farmacéuticas

"Desarrollo de una formulación cosmecéutica en forma de emulsión a partir del aceite de germen de maíz"

Autora: Lic. Wendy Rita Felicie.

Tutores: Dra. C. Mirtha Mayra González Bedia.
MSc. C. William Ortiz Fernández.
Asesora: Dra. C. Gretel Villanueva Ramos.

Santa Clara [2014]

Firma del Autor

Los abajo firmantes certificamos que el presente trabajo ha sido realizado según acuerdo de la dirección de nuestro centro y el mismo cumple con los requisitos que debe tener un trabajo de esta envergadura, referido a la temática señalada.

Firma de los tutores

Firma del Jefe de Departamento donde se defiende el trabajo

Firma del Responsable de Información Científico-Técnica

EXERGO

"Never regard your study as a duty, but as the enviable opportunity to learn to know the liberating influence of beauty in the realm of the spirit for your own personal joy and to the profit of the community to which your later work belongs."

~~~ALBERT EINSTEIN~~~

DEDICATORIA

Con el amor más grande del mundo dedico mi tesis a:

Mi hijo Kyle por ser la luz de mi vida y que con solamente oír su voz y ver su cara me hace sentir que todo es posible en la vida.

A mi familia, en especial a mi madre Nadia y hermana Hana por su amor, gran apoyo, dedicación y la comprensión que me han dado; gracias a sus esfuerzos he podido alcanzar todas las metas que me he propuesto en la vida.

AGRADECIMIENTO

- *A Dios por mantenerme firme; por darme fuerza y valentía en los momentos que lo necesité.*

- *A mis tutores Mirtha Mayra y William Ortiz que sin su ayuda este trabajo no se hubiera podido realizar y por su interés, paciencia, dedicación y por la seguridad que siempre me inspiraron.*

- *Toda mi familia que siempre me alienta y apoya.*

- *A mi novio, por su apoyo cuando más lo necesité, su paciencia y comprensión.*

- *A los profesores Gretel Villanueva y Enoel Hernández, a Anita, y Reina por la ayuda brindada.*

- *A mis compañeras del grupo 2009-2013, que más que compañeras de estudio se han convertido en mis hermanas, con las cuales he compartido importantes momentos a lo largo de esos 4 años, especialmente Anh Vu Ngoc, Emeline Bapoh y Sherilyn Meléndez.*

- *A mis compañeros de 5to año y compañeras de Seychelles, por su amistad y apoyo.*

- *A todas las personas que me han ayudado de una forma u otra en la realización de ese trabajo y a los que han contribuido con mi desarrollo académico y futuro desarrollo profesional.*

A todos ¡Muchas Gracias!

RESUMEN

En el presente trabajo se propone una alternativa de uso para el aceite de germen de maíz obtenido en la UEB Glucosa Cienfuegos. Este aceite, por sus altos niveles de ácidos grasos poliinsaturados y de componentes con poder antioxidante es muy prometedor como ingrediente cosmecéutico. El objetivo del trabajo es desarrollar una emulsión cosmecéutica para la piel que lo contenga. Para esto, primeramente se evaluó su actividad antioxidante mediante el método de actividad secuestradora del radical libre DPPH. Se diseñó la emulsión mediante un diseño de experimentos factorial 2^3 (variables dependientes: concentración de polawax, concentración de glicerina y velocidad de agitación, y variables respuesta: volumen tras centrifugación, viscosidad aparente, densidad relativa y extensibilidad). A la formulación seleccionada se le evaluó su estabilidad física mediante centrifugación y ciclos frío-calor, tipo de emulsión, características organolépticas, extensibilidad, pH y densidad relativa. La aceptación por los consumidores se evaluó mediante una prueba sensorial afectiva a 50 consumidores no entrenados. El aceite de germen de maíz posee buena actividad antioxidante. La emulsión seleccionada contiene 7,2 % del aceite de maíz, 7% de glicerina, 5 % de polawax y se elabora empleando una velocidad de agitación de 500 rpm. Es una emulsión oleo/acuosa, posee buenas propiedades organolépticas, extensibilidad (56,12 cm^2), pH 7,21, densidad relativa (1,18), con brillo, sin grumos y buena estabilidad física. Posee muy buena aceptación por parte de los consumidores.

ABSTRACT

In the present work an alternative use for corn germ oil obtained in Cienfuegos UEB Glucose was proposed. This oil, for its high level of polyunsaturated fatty acids and antioxidant components is very promising as a cosmeceutical ingredient. The objective of this work is to develop a cosmeceutical skin emulsion that contains the corn oil. Therefore, firstly an evaluation of the antioxidant activity using the method of free radical scavenging activity DPPH was conducted. An emulsion was designed using a factorial experimental design 2^3 (dependent variables: polawax concentration, glycerol concentration, and stirring velocity, and response variables: volume after centrifugation, apparent viscosity, relative density and extensibility). The selected formulation was evaluated by centrifugation physical stability and hot-cold cycles, type of emulsion, organoleptic characteristics, extensibility, pH and relative density. The consumer acceptance was evaluated using an affective sensory test of 50 untrained consumers. It was observed that corn oil had a good antioxidant activity. The selected emulsion containing 7,2 % corn oil, 7% of glycerol, 5% polawax and 500rpm (stirring velocity). Is an oil / water emulsion, it has good organoleptic properties, extensibility (56,12 cm^2), pH 7,21, relative density (1,18), shiny, smooth and good physical stability. And it has very good acceptance by consumers.

ÍNDICE

Índice

Introducción……...1

Capítulo I: Revisión Bibliográfica……4

1.1 Consideraciones generales del aceite de germen de maíz…….....4

1.1.1. Métodos de obtención…….....4

1.1.2. Componentes y sus funciones de interés cosmético…….....5

1.1.3. Estabilidad y estabilización……..……....7

1.1.4. Aplicaciones Cosméticas……..……....9

1.1.4.1. Trastornos de la piel que se pueden corregir con Cosméticos……9

1.1.5. Aceite de germen de maíz como ingrediente cosmético……..……13

1.1.6. Aplicaciones en las industrias farmacéuticas alimentaria…….....….14

1.2 Humectantes……15

1.2.1. Generalidades de los humectantes……...……15

1.3 Actividad Antioxidantes……...16

1.3.1. Generalidades de los antioxidantes……...16

1.3.2. Método para evaluar actividad antioxidante……...…..17

1.4 Emulsiones cosméticas……..18

1.4.1. Tipos de emulsiones……18

1.4.2. Estabilidad de las emulsiones cosmecéuticas……19

1.5 Ensayo de control de calidad de emulsiones cosmeticas……24

Capítulo II: Materiales y métodos……22

2.1 La planta, equipos y reactivos en el presente trabajo…….....22

2.2 Evaluación de la actividad antioxidante del aceite de germen de maíz……23

2.3 Diseño de experimento para el desarrollo de la emulsión cosmecéutica….....25

2.4 Método de elaboración de las formulaciones……27

2.5 Control de la calidad tecnológica de las formulaciones cosmecéutica……....29

2.6 Evaluación de la aceptación de la formulación por los consumidores……..32

Capítulo III: Resultados y Discusión……..…..….34

3.1 Actividad antioxidante en el aceite de maíz.……....34

3.2 Resultados del diseño experimental factorial 2^3 para la elaboración de una emulsión cosmecéutica a partir del aceite de maíz.……....40

3.3 Selección del método de elaboración de las emulsiones……..42

3.4 Resultados del diseño experimental factorial 2^3 para la elaboración de una emulsión cosmecéutica a partir del aceite de germen de maíz……..43

3.4.1. Selección de los factores independientes y las variables respuestas…..43

3.4.2. Calidad tecnológica de las formulaciones cosmecéuticas elaboradas a apartir del diseño factorial 2^3…….....45

3.4.2.1. Características organolépticas y tipo de emulsión…….….....45

3.4.2.2. Resultados de las variables respuestas del diseño factorial 2^3...46

3.5 Selección de la formulación cosmecéutica más adecuada.Pruebas de control de calidad…….....53

3.5.1. Resultados del control de la calidad de la formulación Seleccionada……...54

3.5.1.1. Estabilidad física acelerada……....55

3.5.1.2. pH,área de extensibilidad y densidad relativa…….55

3.5.2. Aceptación por los consumidores de la emulsión cosmecéutica seleccionada……56

Conclusiones y Recomendaciones…….…….63

Anexos…….....65

Bibliografía…….....75

Introducción

El empleo de recursos naturales con fines cosméticos no es un hecho reciente. Esta práctica se remonta al surgimiento de la especie humana. Desde entonces se han considerado indispensables para la belleza facial, corporal, y la higiene

En la actualidad son pocos los países donde no se hayan iniciado estudios y aplicaciones de productos de origen natural, especialmente los de fuentes vegetales y animales, con fines medicinales y/o cosméticos (Croda, 2004;Quoc-Tuan, 2011).

Debido a sus características, los aceites de origen vegetal, animal o mineral se incluyen entre los principales componentes de la inmensa gama de formulaciones cosméticas que se comercializan actualmente, en particular, para el cuidado de la piel (Croda,2004).

Uno de los aceites vegetales, con grandes potencialidades en la industria cosmética, es el aceite de germen de maíz o aceite de maíz, que se obtiene a partir del germen del grano de *Zea* mays L. Posee ventajas sobre otros aceites vegetales: se comercializa como un aceite saludable; posee sabor agradable; con bajo contenido en ácidos grasos saturados; elevados niveles de ácidos grasos polinsaturados: ácido linoleíco (omega 6) y ácido alfa linolénico (omega 3), en muy bajo contenido, y con y una elevada estabilidad oxidativa.

El ácido linoleíco juega un papel fundamental en la constitución normal del componente lipídico interlamelar de la capa córnea de la epidermis y, por tanto, en su correcta función barrera. Estos ácidos grasos polinsaturados (omega 6 y 3) poseen funciones integrales en el organismo y no pueden sintetizarse endógenamente; por tanto, deben suministrarse mediante fuentes externas (Dunford, 2005; Quoc-Tuan, 2011).

El aceite de maíz presenta, además, esteroles libres y esterificados, que poseen actividad antiinflamatoria y antioxidante; tocoferoles, que se reconocen como los principales antioxidantes naturales. La vitamina E se considera uno de los antioxidantes más eficientes biológicamente. El α-tocoferol también es capaz de

proteger la piel de la radiación UV, previniendo la formación de eritema debido a la exposición a la luz solar o a fuentes artificiales de radiación UV (Quoc-Tuan, 2011).

Otros componentes del aceite de maíz son los tocotrienoles, que son mejores antioxidantes que sus correspondientes tocoferoles; el escualeno, en un muy bajo porcentaje, que es un inhibidor potencial de la oxidación; y elevados niveles de carotenoides, que poseen buenas propiedades antioxidantes.

La presencia de componentes con acciones muy beneficiosas sobre la piel: antioxidantes, favorecedores de la integridad de la piel y protectores de la radiación UV, convierten al aceite de germen de maíz en un poderoso aliado para prevenir patologías cutáneas antiestéticas, tales como sequedad cutánea y dermatitis atópica; para combatir el envejecimiento celular y para proteger la piel en general.

Las principales aplicaciones cosméticas y cosmecéuticas actuales de este aceite incluyen: productos para el cuidado del cabello y la piel, sobre todo como hidratante; como aceite base para fabricar otros tipos de aceites aromáticos para las diferentes terapias de masaje y en la fabricación de jabones (Dunford, 2005).

En nuestro país se importa maíz de Estados Unidos para su empleo como materia prima en la obtención de glucosa en la Unidad Empresarial de Base (UEB) Cienfuegos. En este proceso se genera el aceite de germen de maíz, como subproducto. Sería muy conveniente el empleo del mismo en el diseño de formulaciones cosmecéuticas para aplicación en la piel. De esta forma se aportaría valor agregado al maíz importado y, se contribuiría al desarrollo de producciones más limpias en esta UEB.

La UEB Cienfuegos, en colaboración con la Universidad Central de Las Villas, ha iniciado los estudios de este aceite, con vistas a su empleo como materia prima en las industrias cubanas de cosméticos, medicamentos y alimentos.

Todo lo anterior motivó la realización del presente trabajo de investigación, que posee como **problema científico**:

El aceite del germen de maíz tiene una amplia utilización en el mundo en el campo de la cosmética y la cosmecéutica, debido a las propiedades beneficiosas de sus componentes y su buena estabilidad oxidativa. En la UEB Cienfuegos se genera como subproducto; sin embargo no se dispone en Cuba de ninguna formulación de este tipo que lo contenga.

Se parte de la **hipótesis:**

Si se realizan estudios de formulación del aceite de germen de maíz obtenido en la UEB Cienfuegos, es posible disponer de una emulsión cosmecéutica para aplicación en la piel, físicamente estable, y con potencial actividad antioxidante, humectante y protectora frente a las radiaciones UV.

Teniendo en cuenta estos aspectos, se propone como **objetivo general** de este trabajo:

Diseñar una emulsión cosmecéutica a partir del aceite de germen de maíz obtenido en la UEB Cienfuegos.

A partir de este objetivo general se derivan los siguientes **objetivos específicos:**

- Comprobar la actividad antioxidante del aceite de germen de maíz.
- Obtener, mediante diseño de experimentos, una formulación cosmecéutica en forma de emulsión a partir del aceite de germen de maíz, con adecuados atributos de calidad tecnológica y estabilidad física.
- Evaluar la aceptación de la formulación por parte de los consumidores mediante la aplicación de una prueba sensorial afectiva.

CAPITULO I:

Revisión Bibliográfica

1.1. Consideraciones generales sobre el Aceite de germen de maíz.

Entre las numerosas plantas que se emplean con fines nutritivos y curativos se encuentra el maíz (Zea mays L.), comúnmente llamada corn; maize; zea mays; maise; maydol; mazola, que pertenece a la familia de las gramíneas. Los primeros cultivos de maíz que se conocen se localizan desde el sur de América hasta el Perú y Bolivia. Se cultiva extensivamente en muchos países. Es una planta anual, con ciclo de vida corto, que no solo se utilizaba como alimento, sino también como medicina. Para los indígenas de la época, el maíz representaba y tenía más valor que el oro y la plata, porque constituía uno de sus alimentos principales (Dunford, 2005, Mataix, 2011).

Para su perfecto desarrollo solo necesita de tierras que cuenten con un buen número de horas de sol y agua en abundancia. Sus granos se empleaban como fuente comercial de aceite vegetal (Dunford, 2005, Mataix, 2011). El aceite es límpido, de color amarillo claro, olor y sabor suave característico (Müller, 1999).

Es soluble en benceno, cloroformo, diclorometano, eter, hexano, éter de petróleo. Prácticamente insoluble en etanol (95%) y agua (Rowe y col., 2009).Por su composición y propiedades, se emplea actualmente como ingrediente alimentario, farmacéutico y cosmético, como lubricante de maquinarias y como combustible (Acofarma, 2010; Rowe y col., 2009; Aluyor y Ori-Jesu, 2008).

1.1.1. Métodos de obtención.

Los aceites vírgenes, aceites sin modificar, se obtienen a partir de las semillas, por procedimientos mecánicos (por ejemplo, expresión en frío o centrifugación) y por aplicación únicamente de calor.

Se pueden purificar solo por lavado, sedimentación, filtración y centrifugación (Soto-Vásquez, 2011; Ortiz, 2013).

En el caso de los aceites refinados se obtienen por expresión y/o extracción con disolventes y, posterior refinado con álcalis (seguido por decoloración y

desodorización) o refinado físico (Ortiz, 2013). El aceite de maíz refinado, con fines comestibles, tiene mucho éxito ya que tiene una gran resistencia al enranciamiento y potencia el sabor de los alimentos.

Para aprovechar el cien por cien de sus propiedades nutricionales debe emplearse aceite obtenido por presión en frío del germen de maíz fresco (Sayago y col., 2007).

Para fines alimentícios, farmacêuticos y cosméticos se comercializa como aceite no refinado y refinado, fundamentalmente como aceite refinado. No obstante, los consumidores actuales prefieren productos naturales y seguros, lo que aumenta el valor de los aceites obtendidos por prensado en frio (crudos), que no involucran el empleo de calor, ni tratamientos químicos, Este método es ecológico y no consume gran energía. Estos aceites se prefieren porque poseen mayor valor nutritivo que los refinados. Su principal desventaja es su baja productividad y la dificultad para obtener un producto de calidad constante (Siger y col., 2008).

1.1.2 Componentes y sus funciones de interés cosmético.

- **Ácidos grasos**

El gérmen o embrión del maíz contiene un 50% en aceite. Este aceite posee ácidos grasos en forma de triglicéridos y, en mucha menor proporción, como ácidos libres (ácidos: palmítico, esteárico, oleico, linoleico y linolénico (Quoc-Tuan, 2011). De ellos presenta un bajo contenido de ácidos grasos saturados (ácidos palmítico, esteárico) y elevados niveles de ácidos grasos polinsaturados. Es uno de los aceites vegetales fijos con mayor proporción de ácidos grasos polinsaturados, alrededor de un 60%, solamente superado por el aceite de nueces, que contiene un 63,3%. Como la mayoría de los aceites vegetales, no contiene colesterol (Botanical, 2014; Quoc-Tuan, 2011).

Algunos de estos ácidos grasos son ácidos grasos esenciales porque poseen funciones integrales en el organismo y no pueden sintetizarse endógenamente;

por tanto, deben suministrarse mediante fuentes externas. Los aceites comestibles son la principal fuente de ácidos grasos esenciales para el organismo. Los ácidos grasos esenciales, fundamentalmente el linoleíco, presentan una gran variedad de acciones: forman parte de las membranas de las células, controlan los cambios fisiológicos del pelo, favorecen la integridad de la piel, tienen propiedades antiinflamatorias e inmunomoduladoras, intervienen en el transporte y metabolismo del colesterol, intervienen en las funciones nerviosas, reproductivas, gastrointestinales y renales (Quoc-Tuan, 2011; Panin, 2002)

Dentro de los ácidos grasos esenciales, presentes en el aceite de germen de maíz, se destacan el ácido linoleíco (omega 6), que está en elevada proporción y en mayor porcentaje que en otros aceites comestibles; y ácido alfa linolénico (omega 3), presente en muy baja proporción. Estos son los principales ácidos grasos esenciales de los animales y del hombre. El ácido linoleico juega un papel fundamental en la constitución normal del componente lipídico interlamelar de la capa córnea de la epidermis y, por tanto, en su correcta función barrera.

El bajo contenido de omega 3 es uno de las ventajas por su buena estabilidad durante el proceso de freido del aceite de maiz.Algunos estudios han demostrado que,en comparación con aceite de soya y la canola,el aceite de maíz produce el menor nivel de productos de oxidación y retiene el mayor nivel de tocoferol,durante 5 dias continuoso de temperatura de freido. (Quoc-Tuan, 2011; Gertz, 2000).

- **Componentes no saponificables.**

El aceite de maíz presenta entre 1,3 % y 2,3 % de material insaponificable. Contiene esteroles libres y esterificados, que poseen actividad antinflamatoria y antioxidante; tocoferoles, de los cuales los mayoritarios son el δ-Tocoferol (36 %-88 % de los compuestos insaponificables) y el α-tocoferol (2,1 %-45 %), que se reconocen como los principales antioxidantes naturales. La vitamina E se

considera uno de los antioxidantes más eficientes biológicamente. El α-tocoferol también es capaz de proteger la piel de la radiación UV, ya que absorbe en el intervalo de longitudes de onda entre 295 nm y 315 nm, previniendo la formación de eritema debido a la exposición a la luz solar o a fuentes artificiales de radiación UV. La proporción particular de tocoferoles individuales en el aceite de maíz (elevada razón γ-tocoferol/α-tocoferol) puede brindar mejor protección frente al daño del DNA que el α-tocoferol solo (Quoc-Tuan, 2011).

Otros componentes del aceite de maíz son los tocotrienoles, que son mejores antioxidantes que sus correspondientes tocoferoles; el escualeno, en un muy bajo porcentaje, que es un inhibidor potencial de la oxidación, disminuye el riesgo de varios tipos de cáncer y fortalece el sistema inmune y elevados niveles de carotenoides, que poseen buenas propiedades antioxidantes. El escualeno se usa en general para cosméticos y farmacia como solvente,humectant y lubricant (Diaz,2012).El β-sitosterol es el esterol principal en el aceite del germen de maíz.

Los cambios fundamentales en la composición del aceite de maíz crudo, o virgen, tras su refinamiento, consisten en un menor contenido de tocoferoles, fitosteroles, carotenoides y proteínas, y la eliminación de ácidos grasos libres y fosfolípidos. Ya sea refinado o virgen, tiene una gran cantidad de vitamina E (Dunford, 2005, Mataix, 2011).

1.1.3. Estabilidad y estabilización.

La principal inestabilidad de los aceites vegetales fijos son las reacciones de fotoxidación o enranciamiento que sufren los aceites grasos insaturados que contienen. La autoxidación de grasas y aceites es un proceso complejo, que se inicia por reacciones de radicales libres que involucran ácidos grasos insaturados. El proceso de oxidación se afecta por el oxígeno atmosférico, calor, metales pesados, exposición a la luz. Estos factores generan radicales libres que conducen a la formación de radicales peróxido, y subsecuente reacción en cadena

que genera productos secundarios (Nwosu y Boyd, 2012). Los aceites vegetales pueden sufrir, además, reacciones de hidrólisis, polimerización e isomerización a elevadas temperaturas, como las que se alcanzan cuando se fríe (Rubalya, 2009).

La estabilidad oxidativa es un parámetro importante para la evaluación de la calidad de grasas y aceites. Todos los aceites vegetales presentan en su composición compuestos fenólicos, que son muy importantes para su estabilidad oxidativa. A pesar de la presencia de antioxidantes naturales en su composición, tienden a oxidarse cuando se exponen a la luz y al oxígeno. Dentro de los aceites vegetales comestibles el aceite de germen de maíz es uno de los más estables a elevadas temperaturas, ya que, a diferencia de otros aceites vegetales fijos, posee un bajo contenido en ácido alfa linolénico. Este ácido graso se oxida más del doble de rápido que el ácido linoleico y 20 veces más rápido que el ácido oleico (omega 9). Se puede esterilizar por calor seco a 150 ºC durante 1 h (Quoc-Tuan, 2011; Acofarma, 2010; Nwosu y Boyd, 2012).

Para la estabilización de estos aceites se recurre a la adición de antioxidantes y sinérgicos solubles en aceites (tabla 1.1), como principal vía de estabilización, y la protección del aire y de la luz mediante la sustitución del aire dentro del envase por nitrógeno y empleo de envases ámbar bien cerrados o herméticos Debe conservarse en un envase hermético, resistente a la luz, en un lugar frío y seco (Nwosu y Boyd, 2012; Acofarma,2010; Aluyor y Ori-Jesu,2008).La fotoxidación del aceite de germen de maíz es sensible a muestras de óxido de zinc y óxido de titanio cubiertos grados farmacéutico y cosmético.

(Lindberg-Donald, 2013; Sayago, 2007; Rowe y col., 2009; Careli, 2005).

Tabla 1.1. Antioxidantes y sinérgicos empleados en la estabilización de aceites fijos (Pakistan standards and quality control authority.2003).

Antioxidante	**Concentración**
Propil octil y dodecil galatos	100 mg/kg solos o en combinación
Hidroxitolueno butilado (BHT) Hidroxianisol butilado (BHA)	220 mg/kg solos o en combinación
Cualquier combinación de galatos con BHA y BHA o ambos	200 mg/kg, pero los galatos no deben exceder 100 mg/kg
Tocoferoles naturales o sintéticos	No limitados
Palmitato de ascorbilo	200 mg/kg solos o en combinación
Estearato de ascorbilo	200 mg/kg solos o en combinación
Butil hidroquinona terciaria (TBHQ)	200 mg/kg
Antioxidante sinérgico	**Nivel máximo de uso**
Ácido cítrico y su sal sódica	Limitado por las BPM
Mezcla de citrato de isopropilo	100 mg/kg
Ácido fosfórico	100 mg/kg solos o en combinación

1.1.4. Aplicaciones Cosméticas.

1.1.4.1. Trastornos de la piel que se pueden corregir con cosméticos.

La principal función de la piel es proteger al organismo del medioambiente externo. Además, es fundamental para evitar la pérdida de agua y electrolitos, lo cual llevaría a importantes problemas de deshidratación. Esta función de permeabilidad de la piel se encuentra principalmente en la capa más externa de la epidermis, constituyendo lo que se denomina la barrera cutánea o epidérmica.

La barrera cutánea está compuesta de células, grasas epidérmicas (ácidos grasos, colesterol y ceramidas) y proteínas. Las grasas epidérmicas y proteínas

permiten la unión entre las células, favoreciendo una barrera cutánea integra y cohesionada (Alander, 2006).

La piel normal es aquella cuyo manto hidrolipídico se halla correctamente formado, con una cantidad de lípidos idónea y constituyendo una emulsión de fase externa acuosa (O/W) o de fase externa oleosa (W/O) (*tabla 1.2),* bien constituida. La función barrera no presenta ninguna alteración y la hidratación cutánea presenta una normalidad absoluta.

***Tabla 1.2* Características de los diferentes tipos de piel.**

	PIEL SECA	PIEL NORMAL	PIEL GRASA
Tipo de emulsión	O/W	O/W	W/O
Epidermis	Fina	Normal	Gruesa
Secreción sebácea	Escasa	Media	Alta
Tamaño de poro	Pequeño	Normal	Grande

Si por alguna circunstancia,esta barrera cutánea se ve alteradab(escasez de ácidos grasos esenciales,por ejemplo) pueden aparecer problemas de deshidratación, descamaciones rápidas y excesivas (caspa), predisposición a infecciones cutáneas y a alergias, y pieles secas o demasiado grasientas. Parte de los ácidos grasos esenciales que provienen de fuentes externas van a la piel para formar parte de las grasas epidérmicas requeridas para la estructura normal y las funciones de protección y permeabilidad de la barrera cutánea. Su aplicación sobre la piel es más efectiva que la administración oral, ya que se alcanzan concentraciones óptimas en la piel en un tiempo menor (animals) (Héctor-Riveros, 2012).

Pieles secas.

Las pieles secas se desarrollan como consecuencia de una disminución en el contenido de agua del estrato córneo, dificultando dicha función barrera. Esta hidratación del estrato córneo depende de muchos factores, tanto internos como

externos. La sequedad cutánea se caracteriza por presentar aspereza, descamación, pérdida de flexibilidad y elasticidad, grietas e hiperqueratosis.

La pérdida de agua puede deberse a:

Disfunciones fisiológicas:

- Disminución de la secreción sebácea o alipia.
- La falta de precursores (filagrina) de las moléculas hidroscópicas que constituyen el factor de hidratación natural (FHN) de los corneocitos.
- La escasez y alteración de los lípidos que forman las membranas córneas y la sustancia cementante intercorneal.
- Patologías cutáneas, como ictiosis, psoriasis, xerosis o dermatitis seca, ligadas a una hiperqueratosis y que son causa de deshidratación, sequedad, descamación y aspereza en el estrato córneo.

Agentes externos:

- El calor seco intenso y persistente.
- El frío puede afectar las actividades enzimáticas.
- El exceso de radiación UV puede dañar las proteínas córneas y los lípidos lábiles. A largo plazo produce hiperqueratosis.
- La utilización continuada de jabones y detergentes puede provocar una pérdida de los lípidos superficiales.
- Los productos alcalinos pueden bloquear la capacidad tampón del estrato córneo y provocar la pérdida de la acidez fisiológica característica de la capa córnea.

La sequedad cutánea puede ser ocasional o crónica. La piel seca constitucional presenta poca tolerancia a los agentes externos. El síntoma acompañante más frecuente es el prurito. Es frecuente en personas ancianas o con dermatitis atópica. Dentro de las pieles secas ocasionales o temporales se encuentran principalmente las pieles secas alipídicas y las pieles secas deshidratadas.

- Pieles secas alipídicas.

Se caracterizan por una disminución del nivel lipídico en la secreción sebácea, ocasionando la deshidratación de la capa córnea por una menor protección de la emulsión epicutánea.

- Pieles secas deshidratadas.

Deben su sequedad a un déficit de agua en el estrato córneo. Los agentes externos favorecen la eliminación del agua superficial conduciendo a un resecamiento y mayor descamación córnea.

Piel sensible.

Es toda aquella que tiene un umbral de tolerancia inferior al de una piel normal, es decir, reacciona frente a estímulos a los que una piel normal no reacciona, sufre sensaciones de incomodidad como calor, tirantez, enrojecimiento o prurito, y es frágil, clara y sujeta a rojeces difusas y/o patologías (acné, dermatitis atópica).

En el estrato córneo de estas pieles aparecen una serie de cambios: eliminación de lípidos, eliminación de sustancias solubles celulares y agua, desnaturalización y desdoblamiento de proteínas, descamación, cambios en el contenido detectable de enzimas, engrosamiento de la capa córnea. Estos cambios originan la pérdida de la función barrera, que perjudica la resistencia a la penetración de microorganismos o sustancias externas, y una pérdida de la elasticidad, que origina pequeñas fisuras y descamación, facilitando la penetración de sustancias agresivas e irritantes, aumentando la posibilidad de desencadenar reacciones alérgicas. La piel sensible debe su alta reactividad a la protección cutánea insuficiente, a la hiperreactividad alérgica y a problemas microcirculatorios (Fabregas, 2007; Alander, 2006).

1.1.5. Aceite de germen de maíz como ingrediente cosmético.

Debido a su excelente calidad, composición y propiedades el aceite de maíz tiene varías aplicaciones cosméticas. La presencia de ácidos grasos polinsaturados, en

especial su alto contenido en ácido linoléico; de vários componentes con propiedades antioxidantes, favorecedores de la integridad de la piel y protectores de radiaciones UV, descritas en el **epígrafe 1.1.2** del presente trabajo, le confieren a este aceite un elevado potencial en el campo de los cosméticos y cosmecéuticos, para prevenir patologías cutáneas antiestéticas, tales como: sequedad cutánea y dermatitis atópica; para combatir el envejecimiento celular y para proteger la piel en general (Panin,2002;Pouillot y col.,2011).

Las principales aplicaciones cosméticas y cosmecéuticas actuales de este aceite incluyen: productos para el cuidado del cabello y la piel, sobre todo como hidratante, emoliente; como aceite base para fabricar otros tipos de aceites aromáticos para las diferentes terapias de masaje y en la fabricación de jabones.Se describe como uno de los componentes de una solución jabonosa, indicada para la higiene y limpieza de pieles sensibles, irritadas y secas (Vademecum,2007).

Se patentó un dispositivo para dispensar en forma de spray una composición de aplicación tópica que comprende vitamina E y ácidos grasos esenciales para aplicaciones en el campo de la dermatología y de la dermocosmética. Incluye en su composición un aceite rico en ácidos grasos esenciales y/o ácidos grasos polinsaturados con un contenido en omega 6 u omega 3 al menos al 50% del peso, como el aceite de germen de maíz (Panin, 2002).

Se ha demostrado su eficacia por vía tópica en la práctica clínica en el cuidado de la piel de perros y gatos que presentaban dermatitis atópica, descamaciones, mal olor y otros signos queratoseborréicos. Se afirma que estos ácidos son capaces de restaurar la barrera epidérmica y la película hidrolipídica sebácea e incrementan la hidratación epidérmica, reduciendo así la pérdida de agua transepidérmica (León, 2011).

1.1.6. Aplicaciones en las industrias farmacéuticas alimentaria.

Industria alimentaria.

Sus aplicaciones como aceite comestible incluyen: su empleo para freir, como parte de margarinas, para ensaladas, etc.Actualmente se han diversificado. En el 2006 la Comisión de las Comunidades Europeas aprobó la autorización de comercialización del aceite de germen de maíz con alto contenido de material no saponificable, como nuevo ingrediente alimentario, que se diferencia del aceite de maiz refinado en su mayor contenido de material no saponificable: tocoferoles esteroles, alcoholes triterpénicos y metilesteroles (de 1,2 en el aceite de germen de maíz a 10 g en el aceite que se propone) (Müller, 1999).

Industria farmacéutica.

El aceite de gérmen de maíz, por sus ácidos grasos insaturados, es útil en hipercolesterolemias después del infarto agudo de miocardio y en las hipercolesterolemias familiares. Se utiliza también como suplemento dietético hipercalórico. Se emplea como vehículo en preparaciones oleosas, como en inyectables intramusculares, vacunas veterinarias, etc (Acofarma,2010).

En las Farmacopeas británica, japonesa, en la USP y la europea, se describe como aceite refinado. Sus usos incluyen: vehículo oleoso y disolvente. Se usa fundamentalmente como vehículo para inyecciones intrmusculares oleosas, como vehículo para preparaciones tópicas, en emulsiones orales con hasta 67% del aceite como suplemeto nutricional. Cuando se combina con surfactantes y polímeros formadores de geles se emplea para formular vacunas veterinarias (Rowe y col.,2009).

Se comercializa en medicamentos como componente de cápsulas de gelatina blanda de ácido valproico, de formulaciones en forma de cápsulas de ingredientes farmacéuticos activos microencapsulados (aspirina, cloruro de potasio y carbonato de potasio) de liberación retardada, en tabletas orales y sublinguales, en

suspensiones orales en un 50%, en jarabe de multivitaminas y minerales, de gotas de vitaminas del complejo B, A,C, D y calcio y de emulsión acuosa de aceite de maíz para el control del peso: como IFA (Siger,2007).

1.2. Humectantes.

1.2.1. Generalidades de los humectantes.

El tratamiento que se utiliza hoy día para evitar la sequedad de la piel se basa fundamentalmente en la elaboración de productos que contengan sustancias humectantes, que son principalmente sustancias higroscópicas y sustancias hidratantes que mejoran la capacidad de retención de humedad mediante oclusión.

El agua, jugaría un rol muy importante en las propiedades físicas del estrato córneo y la exacta cuantificación de ésta en el estrato córneo y sus interacciones con la aplicación tópica de productos son esenciales para entender la fisiología de la piel y revelaría además, la eficacia de formulaciones para el cuidado de la piel, como también la irritación que éstas puedan producir. Uno de los ingredientes activos que se está utilizando en variadas formulaciones es el aceite (Tapia-Caceres, 2006).

La hidratación de la piel se puede conseguir mediante dos procesos, primero es el aumentando de la hidratación del estrato corneo por la aplicación externa de sustancias higroscópicas humectantes hidratantes y el segundo es evitando la excesiva deshidratación del estrato corneo por la aplicación externa de sustancias oclusivas y emolientes. Las mejores preparaciones son las que presentan ambas acciones llamadas hidratantes-oclusivas. Las emulsiones parecen ser las formas cosmética idónea para este propósito (Fábregas, 2007).

La razón principal por la que se añaden humectantes a las cremas cosméticas, especialmente las del tipo O/W, que tienden a perder agua por evaporación, es la de disminuir la desecación por exposición al aire de la película de crema que

permanece en la piel tras la aplicación, hecho que influye al mismo tiempo en el estado de la piel, pues el humectante actúa como un emoliente, ayudando a conservar el grado de humedad originada por la transpiración. Se contrarrestan de este modo los efectos adversos de ciertas condiciones ambientales, como viento, frío o sol, causantes de sequedad, descamación, grietas, etc (Tapia-Cáceres, 2006).

1.3. Actividad Antioxidantes.

1.3.1. Generalidades de los antioxidantes.

Los antioxidantes son sustancias que pueden inhibir o retardar el proceso oxidativo, interfiriendo con la iniciación o propagación de las reacciones en cadena de la auto-oxidación. La importancia de un antioxidante depende de su concentración, del medio donde actúa y de su habilidad para interaccionar con sistemas regeneradores (Shalaby y Shanab, 2013; Tafurt, 2005; Serra y Tribo, 1999).

Las defensas antioxidantes del organismo son claves para el control de enfermedades crónicas asociadas con el estrés oxidativo como cáncer, arterioesclerosis, artritis y el proceso biológico de envejecimiento, por lo tanto el suministro de antioxidantes exógenos podría tener efectos benéficos y ser una alternativa en la prevención y tratamiento de enfermedades asociadas con procesos oxidativos a nivel celular (Rivera, 2006; Tafurt y col., 2005; Brad-Williams y col., 1995).

Existen varias fuentes de antioxidantes naturales: avena, soya, aceites vegetales, té, granos de café, especias, arroz, papas, frutas, productos microbianos (Cedillo, 2006).

Teniendo en cuenta que los antioxidantes protegen de los radicales libres y se encuentran como ingredientes esenciales de cualquier producto cosmético, se busca que los insumos naturales utilizados en la cosmetología contengan un alto

porcentaje de ácidos grasos, y emolientes que proporcionan ácidos grasos al organismo previniendo la perdida de humedad; como la mayoría de estos componentes no son sintetizados estos deben ser aplicados por medio de productos cosméticos (García y Moncada,2006;Builes y Marulanda,2003).

1.3.2. Método para evaluar actividad antioxidante

En las literaturas se han reportado que los métodos más usados para medir la capacidad antioxidante son; el FRAP que es basado en la capacidad de reducción férrica y los de ABTS, DPPH y ORAC, que son basados en la captación de distintos radicales libres. En el caso del aceite de germen de maíz, seleccionamos el DPPH por las ventajas que tiene (descrito en el parágrafo siguiente) y la disponibilidad de los reactivos para el mismo.

Actividad secuestradora del radical libre DPPH.

Método basado en la reacción de transferencia electrónica.

El ensayo DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) es un método rápido y sencillo que no requiere un equipamiento sofisticado, sencillamente un espectrofotómetro. El DPPH se comercializa ya en la forma de radical y sencillamente requiere su disolución en tolueno para el desarrollo del método. Por esta razón se trata de un método ampliamente utilizado para evaluación de la actividad antioxidante total (Bougaud, 2001; Gokhan, 2011).

El DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) es un radical estable en tolueno con el color violeta característico a causa del electrón libre en todas partes de la molécula que da una absorbancia fuerte máximo a 517 nm. Cuando se mezcla la solución de DPPH con una sustancia donadora de átomo de hidrógeno, el DPPH-H formado tiene un color amarrillo. El resultado se determina la concentración resultante una vez que se ha añadido el posible antioxidante, de forma que una disminución de la absorción de radiación se traduce en una disminución de la

concentración de DPPH debida a la cesión de electrones de la especie antioxidante (Gokhan, 2011; Pier-Giorgio, 2000).

El grado de decoloración indica la capacidad secuestradora de DPPH. A mayor decoloración de la solución de DPPH, mayor será la actividad antioxidante y eso se refleja en el valor menor de IC_{50} que es la concentración necesaria causante del 50% de la inhibición de la absorbancia (Pier-Giorgio,2000;*Agraria*,2002).Los resultados se pueden presentar a través de diferentes parámetros, siendo los más utilizados el porcentaje de la actividad secuestradora de radical DPPH y la concentración de sustrato necesario para secuestrar 50% de radical libre de DPPH (IC_{50}) (Guenther,2005;Pier-Giorgio,2000).

1.4. Emulsiones Cosméticas.

Una gran cantidad de cremas y lociones para la piel y para el cabello son emulsiones de aceites y agua, que al ser aplicadas forman una película protectora que disminuye la deshidratación y el daño causados por el medio y los microorganismos (Paloma de Matos, 2004).

Una emulsión se puede definir como una preparación compuesta a base de dos fases líquidas inmiscibles; una de las cuales se encuentra dispersada en el seno de la otra (Valdés-Pinal, 2010).

1.4.1. Tipos de emulsiones.

Las emulsiones pueden ser de dos tipos: si las gotas de aceite se dispersan a través de la fase acuosa, la emulsión se denomina de aceite en agua (O/A: oleo-acuosa). Es aquella donde la fase dispersa la constituye el aceite, y la fase continua el agua (en un 70 -80 % de agua), mientras que un sistema en el que el agua se dispersa a través del aceite es una emulsión de agua en aceite (A/O: acuo-oleosa) (Valdés-Pinal, 2010).

Las emulsiones aceite en agua son las sistemas cosméticos más usados debido a que no son grasosos, son lavables, poseen capacidad hidratante y mejoran las condiciones de la piel por la formación de una barrera oclusiva sobre su superficie. Los sistemas en forma de emulsiones, incluyendo cremas y lociones, son un área de alto potencial para los productos cosméticos (Villarreal-Carvajal, 2004; Oliva, 2009; Naresuan, 2003; Guy y Hadgraft, 1988; Riefenrath y col., 1991;).

Las características de una emulsión aceite en agua son su buena tolerancia (no irritación, o sensibilización)**,** inercia frente al principio activo (compatibilidad física y química), así como frente al material de acondicionamiento; su estabilidad frente a factores ambientales para garantizar su conservación; consistencia conveniente para que su extensión sobre la piel sea fácil y puedan dispensarse en tubos; caracteres organolépticos agradables, capacidad para incorporar sustancias solubles en agua y en aceite, capacidad para actuar en piel grasa o seca, facilidad para transferir rápidamente a la piel las sustancias activas y no deshidratar, ni desengrasar la piel (Decker, 1989).

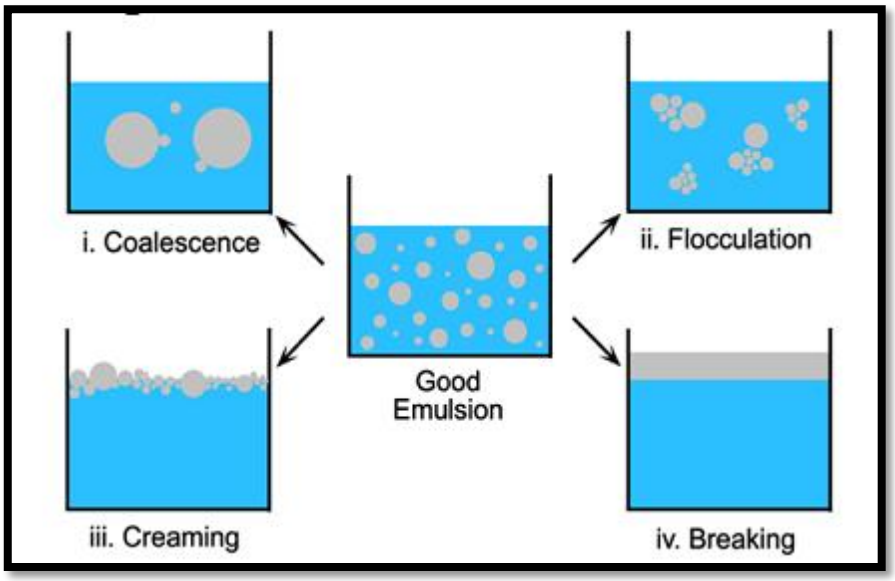
Uno de los aceites más utilizados para este tipo de preparados son los aceites de origen vegetal, como los de sésamo, maíz, semilla de algodón, etc. Debido a su ausencia de toxicidad, excelente hidratante, emoliente que lo hacen convertido en un alternativa excelente para tratamiento tópica de la piel (Villarreal-Carvajal, 2004; Oliva, 2009; Naresuan, 2003).

1.4.2. Estabilidad de las emulsiones cosmecéuticas.

La cualidad más importante que deben reunir las emulsiones de uso cosmético y farmacéutico, una vez que han sido preparadas, probablemente es su estabilidad. En una emulsión, la estabilidad viene caracterizada por la ausencia de coalescencia de la fase interna, ausencia de separación de fase interna, aglomeración y de la formación de cremado; junto con el mantenimiento de su

buen aspecto, color, olor y otras propiedades físicas (Chotten y Matos,2004, Simmons, 2000).

Figura 1.3. Posibles inestabilidades que pueden sufrir las emulsiones.



En general, el complejo proceso de la inestabilidad de las emulsiones suele ocurrir mediante la combinación de los cuatro posibles procesos de inestabilidad que pueden suceder simultáneamente a diferentes velocidades. De hecho, la mayoría de las veces, dos de los procesos anteriormente citados se suelen acoplar (Binks y col., 2006; Fletcher y Horsup, 1992).

Para ser estables, las emulsiones requieren la presencia de un tercer componente, el agente emulsionante que es una sustancia que facilita la formación de una emulsión y ayuda a retrasar la separación de las fases (Chotten y Matos, 2004).

Para mejorar la estabilidad de las emulsiones se incorporaron agentes viscosantes en una concentración de 6 % respecto a la formulación total (Tapia-Caceres, 2006).

1.5. Ensayos de control de calidad de emulsiones cosméticas.

Es de gran importancia el control de la calidad para asegurar la eficacia de los productos (Chiari y col., 2010; Savic y col., 2011). Las pruebas de control de calidad a realizar serán ensayos organolépticos, que determinan los parámetros de aceptación del producto por el consumidor; de un modo general, se evalúan el aspecto, color, olor, visual y sensación al tacto (García y Pérez, 2010).

Es importante, en las emulsiones cosméticas, estudiar las alteraciones en la estructura de la formulación que no son comúnmente perceptibles a simple vista. Estos análisis pueden indicar problemas de estabilidad entre los ingredientes o resultado del proceso de fabricación. Entre estos se encuentran los siguientes: prueba de centrifugación y ciclos calor-frio y además de esto otros ensayos químico físicos, tales como el valor de pH, área de extensibilidad, tipo de emulsión, densidad relativa y la viscosidad (Bilbao y col., 2006; Costa-Sallum, 2005).

.

CAPITULO II:

Materiales y Métodos

2.1. La planta, equipos y reactivos.

La presente investigación se realizó en el Departamento de Farmacia de la Facultad de Química y Farmacia, durante la etapa comprendida desde Febrero 2014 hasta Junio de 2014. El aceite de germen de maíz, subproducto de la producción de glucosa a partir de maíz, fue suministrado por la UEB Glucosa de Cienfuegos. El mismo se obtuvo a partir del germen mediante prensado en frio con una prensa tornillo de compresión continua.

En todos los procedimientos desarrollados se utilizó cristalería específica de laboratorio, previamente descontaminada, empleando reactivos de calidad analítica, cosmética o farmacéutica, y equipos certificados como aptos para el uso.

Instrumentos y equipos:

- Balanza analítica, Boeco, *Alemania*.
- Refractómetro digital de Abbe, *WYA-S, Alemania*.
- Viscosimetro Rotatorio,MLW,Rheotest 2.0 ,Alemania.
- Baño de Maria, MLW, Alemania.
- Balanza técnica, Gram Precisión, España.
- Plancha de calentamiento, Johnson, Estados Unidos.
- Estufa, Binder, Alemania.
- Micro pipetas, Ependorf, Alemania.
- Agitador eléctrico, IKA, Estados Unidos.
- Agitador Magnético, AGIMATIC-E, España.
- Centrifuga de alta velocidad, Yingtan, China.
- pH metro, HANNA, Alemania.
- Refrigerador, LG.
- Espectrofotómetro, Termo electrón*, Estados Unidos.*
- Autoclave, RAYPA modelo AES-28, España.
- Vortex mecánico, Gilson, Alemania.

Se empleó cristalería de laboratorio apropiada para cada ensayo.

Reactivos:

- Tolueno, *AnalaR.*
- 2,2-difenil-1-picril-hidracilo (DPPH),Sigma-Aldrish.
- Glicerina, UNI-CHEM.
- Alfa-tocoferol, BASF, Alemania.
- Propil-parabeno, calidad farmacéutica, Quimefa, Cuba.
- Metil-parabeno, calidad farmacéutica,Quimefa,Cuba.
- Polawax NF, calidad cosmetica, Brazil.
- Fragancia Bouquet Rosa 767, calidad farmacéutica.
- Cuando no se aclara, son de calidad analítica**.**

2.2. Evaluación de la actividad antioxidante del aceite de germen de maíz.

Actividad secuestradora del radical libre DPPH:

- Procedimiento:

Para la muestra (aceite de germen de maíz).

- Se pesó 1g del aceite, se transfirió a un matraz aforado de 10 mL, se disolvió con tolueno y se completó a volumen con el mismo disolvente. Así se obtuvo una solución madre de concentración 100 mg/mL.
- De la solución madre se tomaron alícuotas de 0,25 mL; 0,5 mL; 1 mL; 2 mL y 4 mL. Cada alícuota se transfirió a matraz aforado de 10 mL y se completó a volumen con tolueno, para obtener disoluciones de concentración: 0,625 mg/mL; 1,250 mg/mL; 2,500 mg/mL, 5,000 mg/mL y 10,000 mg/mL.
- Se pesaron 0,004g de DPPH, se disolvieron con tolueno y se completó a 100 mL con el mismo disolvente. Así, se obtuvo una solución de DPPH de concentración 0,004% (p/v) (0,01 mM).
- A 1mL de cada disolución de aceite se le adicionó 1 mL de la disolución de DPPH de concentración 0,004 % (p/v) y 2 mL de tolueno. Después las

muestras se colocaron durante 30 minutos en la oscuridad y se midió la absorbancia a 517 nm, frente a un blanco (tolueno).

Para la referencia (BHA).

- Se pesó 1 mg de BHA, se transfirieron a un matraz aforado de 10 mL, se disolvieron con tolueno y se completó a volumen con el mismo disolvente. Así se obtuvo una solución madre de concentración 1 mg/mL.
- De la solución madre se tomaron alícuotas de 10 µL; 20 µL; 40 µL; 80 µL y 160 µL. Cada alícuota se transfirió a matraz aforado de 10 mL y se completó a volumen con tolueno, para obtener disoluciones de concentración: 0,1 µg/mL; 0,5 µg/mL; 1,0 µg/mL, 5,0 µg/mL y 10,0 µg/mL.
- Se pesaron 0,004g de DPPH, se disolvieron con tolueno y se completó a 100 mL con el mismo disolvente. Así, se obtuvo una solución de DPPH de concentración 0,004% (p/v) (0,01 mM).
- A 1mL de cada disolución de BHA se le adicionó 1 mL de la disolución de DPPH de concentración 0,004 % (p/v) y 2 mL de tolueno. Después las muestras se colocaron durante 30 minutos en la oscuridad y se midió la absorbancia a 517 nm, frente a un blanco (tolueno).

Para el control.

- Para la muestra y la referencia se midió la absorbancia a 517 nm de una disolución de 3 mL tolueno + 1 mL de disolución de DPPH de concentración 0,004 % (p/v), que se consideró como control.

Los ensayos se realizaron por triplicado.

➢ <u>Cálculo del porcentaje de inhibición del radical libre DPPH</u>.

El porcentaje de inhibición del radical libre DPPH para todas las concentraciones de la muestra (aceite), y de la referencia (BHA) se calculó por:

$$\% \text{ Efecto secuestrador} = \frac{A_{DPPH} - A_S}{A_{DPPH}} \times 100$$

Ecuación 2.1

Donde:

A_{DPPH}: Absorbancia del control (contiene todos los reactivos excepto la muestra).

A_S: Absorbancia de la muestra.

- Cálculo de la concentración inhibitoria media (IC_{50}).

El valor de IC_{50} (concentración de muestra que se requiere para reducir el 50 % los radicales libres), para la muestra y la referencia, se calculó a partir de la ecuación de regresión, de la curva de calibración que mejor se ajusta a los datos experimentales; empleando la hoja de cálculo Excel, del Microsoft Office 2010.

2.3. Diseño de experimento para el desarrollo de la emulsión cosmecéutica.

Se emplearon como componentes de la formulación los que se describen en la ***tabla 2.1***.

Tabla 2.1. Componentes de la formulación cosmecéutica que se propone, y sus cantidades.

No	Componente	Cantidad (%)
1	Polawax	5 ó 7
2	Aceite de maíz	5,2 ó 7,2
3	Glicerina	5 ó 7
4	Metil-parabeno	0,2
5	Propil-parabeno	0,02
6	Bouquet Rosa 767	0,14
7	α-tocoferol	0,3
8	Agua destilada	80.14 ó 82.14

Se realizó un diseño factorial 2^3 empleando el paquete estadístico Statgraphics Centurión XV. Los factores (independientes) utilizados se describen en la tabla 2.2. La composición y la velocidad de agitación, a emplear en la incorporación de la fase acuosa sobre la oleosa, de las 8 formulaciones que se obtienen a partir de

este diseño se describen en la tabla 2.3.Las variables respuesta (variables dependientes) consideradas fueron: extensibilidad, densidad relativa, viscosidad y volumen de separación de fases obtenido en el ensayo de estabilidad acelerada mediante centrifugación, que se realizaron según se describe en el **epígrafe 2.5**.

Se obtuvieron las ecuaciones de regresión y se determinaron las variables significativas del diseño, mediante la regresión múltiple y análisis experimental.

Tabla 2.2. Factores (variables independientes) empleados en el diseño factorial 2^3 para el diseño de la formulación.

No	Factor	Nivel alto	Nivel bajo
1	**X1:** Contenido de glicerina (%)	+1 = 7	-1 = 5
2	**X2:** Contenido de polawax (%)	+1 = 7	-1 = 5
3	**X3:** Velocidad de agitación (rpm)	+1 = 700	-1 = 500

Tabla 2.3. Componentes y velocidad de agitación empleados en las 8 formulaciones obtenidas en el diseño factorial 2^3.

	Componentes de cada formulación (%)							
Componente	**1**	**2**	**3**	**4**	**5**	**6**	**7**	**8**
Polawax	7	7	5	5	7	7	5	5
Aceite de maíz	5,2	5,2	7,2	7,2	5,2	5,2	7,2	7,2
Glicerina	7	7	7	7	5	5	5	5
Metil-parabeno	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
Propil-parabeno	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02
Bouquet Rosa 767	0,14	0,14	0,14	0,14	0,14	0,14	0,14	0,14
α-tocoferol	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3
Agua destilada	80,14	80,14	80,14	80,14	82,14	82,14	82,14	82,14
	Velocidad de agitación en cada formulación (rpm)							
	700	500	700	500	700	500	700	500

- **Selección de la formulación.**

Se seleccionó la mejor formulación considerando los resultados de las variables respuesta que mejor se ajustaron a una emulsión cosmecéutica para aplicación en la piel: menor volumen de fase separada tras la centrifugación, mayor extensibilidad, menor viscosidad y densidad.

2.4. Método de elaboración de las formulaciones.

Se prepararon 200 g de cada formulación obtenida mediante el diseño de experimentos **(Tabla 2.3, epígrafe 2.3).** El proceso de elaboración se llevó a cabo a escala del laboratorio. Se elaboraron 2 lotes para cada una de las ocho formulaciones.

Procedimiento:

1. Se pesaron los componentes de la formulación.
2. Se preparó la fase acuosa:

- Se colocaron el metil-parabeno, el propil-parabeno, la glicerina y el agua en un beaker de 500 mL de capacidad, se sometieron a calentamiento a 80 ^{o}C y se agitó hasta disolución.

3. Se preparó la fase oleosa:

- Se colocó el polawax en un beaker de 400mL de capacidad, se sometió a calentamiento (80 ^{o}C) en baño de María hasta fusión.
- Se adicionó el aceite de germen de maíz al polawax fundido y se mezclaron hasta homogenización (80 ^{o}C).

4. Se verificó que la temperatura de ambas fuera de 80 ^{o}C.
5. Se adicionó la fase acuosa sobre la oleosa, con agitación continua (agitador eléctrico), empleando la velocidad de agitación que corresponde a la formulación en cuestión, hasta que la temperatura disminuyó a 75 ^{o}C.
6. Se agitó a intervalo, entre 15 min y 20 min más, hasta que la temperatura disminuyó a 50 ^{o}C.

7. Se dejó la emulsión en reposo hasta que alcanzó la temperatura ambiente.
8. Se añadió la fragancia y el α-tocoferol, y se agitó hasta homogenización.
9. Se envasó la emulsión en frascos bien cerrados de vidrio ámbar con tapa de bakelita.
10. Se conserva en un lugar bien cerrado a temperatura ambiente.

2.5. Control de la calidad tecnológica de las formulaciones cosmecéuticas.

2.5.1. Control de la calidad de las formulaciones obtenidas mediante diseño experimental.

El control de la calidad tecnológica de las ocho formulaciones obtenidas mediante el diseño factorial se realizó a las 48 h de elaboradas, excepto la viscosidad relativa, que fue a los 8 días de elaboradas. Las pruebas realizadas fueron: área de extensibilidad, volumen de separación de fases tras la prueba de centrifugación, densidad relativa, viscosidad aparente, características organolépticas y tipo de emulsión, según se describe más adelante en este epígrafe.

A la formulación seleccionada se le realizaron, nuevamente, las pruebas de control de la calidad tecnológica, que se utilizaron como variables respuesta en el diseño experimental de la formulación: área de extensibilidad, volumen de separación de fases tras la prueba de centrifugación, densidad relativa, características organolépticas y tipo de emulsión. Además se evaluaron el pH y la prueba de ciclos frío-calor, según se describen, más adelante, en este epígrafe.

En todos los casos las mediciones de los parámetros se hicieron por triplicado. El procesamiento estadístico de los mismos se realizó mediante la hoja de cálculo Microsoft Excel 2013, de Microsoft Office.

- **Características organolépticas**.

Se determinó el color, olor, brillo, homogeneidad, formación de grumos, según el Procedimiento Normalizado de Operación (P.N.O) 3.02.002.95 del Laboratorio

Farmacéutico "Roberto Escudero".Estos se comprueban mediante los sentidos de la vista, el olfato y el tacto (Rafael,1975).

- **Tipo de emulsión.**

Prueba de dilución: Se dispersaron 0,5 g de la emulsión en 50 mL de agua destilada. La determinación del tipo de emulsión se realizó siguiendo los siguientes criterios: es una emulsión directa, aceite/agua (O/A) si tras la dilución la preparación toma aspecto lechoso; es una emulsión agua/aceite (A/O) si no permiten dilución: el agua se queda como una capa sobre la emulsión.

Prueba de lavado: Se colocó sobre la superficie seca de la mano aproximadamente 1 g de emulsión. Se Aplicó un chorro pequeño de agua corriente y se trata de lavar esta porción de emulsión con ayuda del dedo índice. La determinación del tipo de emulsión se realizó siguiendo los siguientes criterios: es una emulsión directa, aceite/agua (O/A) se puede lavar completamente; es una emulsión agua/aceite (A/O) si no se puede lavar completamente

- **Área de extensibilidad.**

Se adicionaron 2 g exactos de la emulsión sobre el centro de una placa de vidrio de 20 x 20 cm; de manera que coincidiera con el centro de 8 radios trazados en un papel milimetrado, colocado previamente en la parte inferior de la placa. Sobre la placa de vidrio, con los 2 g de muestra, se colocó otra de igual dimensión y de un peso de 467.8 g. A los 5 minutos se midió la distancia desde el punto de aplicación a los bordes en las 8 direcciones. Se le determinó el área de la circunferencia formada por la emulsión, empleando la siguiente ecuación (ecuación 2.6):

$$E=A=\pi\,(r_p)^2 \qquad \textit{Ecuación 2.2}$$

Dónde:

A_E: Área de extensibilidad (cm^2)

r_p: Radio promedio de las 8 mediciones (cm)

π = Constante (3,1416)

- **Prueba de centrifugación.**

Se colocan, aproximadamente, 10 mL de la emulsión en un tubo de centrífuga graduado. Se colocó en una centrífuga y se mantuvo a 3000 rpm, a temperatura ambiente, durante 1 hora. Al cabo de este tiempo se observó visualmente la aparición de cualquier inestabilidad física (separación de fases, cremado). Cuando se detectó separación de fase se midió el volumen de la fase separada.

- **Densidad Relativa.**

Se determinó por la relación entre la masa de 2 mL de una emulsión cosmética a temperatura ambiente y la masa de un volumen igual de agua a la misma temperatura en un picnometro.

- **Viscosidad Aparente.**

Se determinó a las emulsiones a los 8 días de elaboradas, en un viscosímetro rotatorio, a 30 ºC, empleando un cilindro tipo S_1, un volumen de muestra de 25 mL, y un gradiente de cizallamiento constante: 524,9, posición I a una velocidad fijo de 8ac del viscosímetro.

Se calculó según:

$$\eta = \frac{\tau_r}{D_r} * 100$$ ***Ecuación 2.3***

Dónde:

η = Viscosidad aparente (mPa/s = centipoise: cp)

τ_r = Tensión tangencial (dinas/cm2 = 10^{-1} Pa)

D_r = Gradiente de cizallamiento o gradiente de velocidad (s^{-1})

$$\tau_r = Z * \alpha$$ ***Ecuación 2.4***

Dónde:

Z = Constante del cilindro (mPa/skt) = 5,57 mPa/skt

α = Lectura del valor de la escala del viscosímetro (skt)

Nota: skt son las graduaciones de la escala.

- **pH.**

Se dispersó, aproximadamente, 1 g de la formulación en 10 mL de agua destilada y se medió el pH en un pH-metro a 28 ºC. Se trabajó según el P.N.O.3.02.002.95 del Laboratorio Farmacéutico "Roberto Escudero"

- **Ciclos frío-calor.**

Se sometieron tres muestras de 50 g de la formulación a ciclos de temperatura frío-calor, de 24 h. Como temperatura fría se empleó 4 °C, colocando la muestra en la parte cercana al congelador del refrigerador; y como temperatura caliente 40 °C, que se consiguió empleando la estufa. A los 7 días se evaluó visualmente la muestra para detectar la presencia de manifestaciones de inestabilidad: cremado, separación de fases y/o coalescencia del sistema.

2.6. Evaluación de la aceptación de la formulación por los consumidores.

La aceptabilidad sensorial de la formulación se evaluó considerando los atributos: olor, color, textura y extensibilidad, utilizando para ello una escala hedónica de diez puntos, donde cada punto de la escala se categorizó desde: 1–pésimo, hasta 10–excelente. Esta escala se utilizó en forma independiente para cada atributo. También se evaluó la presencia de grumos y el brillo de la formulación cosmecéutica, clasificándolos como: Si o No.

La prueba se realizó por un panel de 50 consumidores (no entrenados) en la Facultad de Química-Farmacia, de la Universidad Central de Las Villas, de ambos sexos, que aceptaron voluntariamente acceder a participar en el estudio, con edades comprendidas de menor de 30 años,30 a 50 años y mayor que 50 años. A cada uno de los consumidores se entregó el producto en un frasco conteniendo aproximadamente 5 gramos y la encuesta **(Anexo 2.1)** y se lo aplica sobre la mano o brazo.

El procesamiento estadístico de las encuestas se realizó mediante la hoja de cálculo Excel Microsoft 2010, de Microsoft Office.

CAPITULO III:

Resultados y Discusión

3.1. Actividad antioxidante en el aceite de maíz.

Una de las potencialidades del aceite de germen de maíz, como ingrediente cosmecéutico, es su actividad antioxidante. La literatura describe la presencia de esta actividad en los aceites vegetales fijos, debido a la presencia de componentes con esta capacidad, tales como: tocoferoles, tocotrienoles, carotenoides, entre otros (Quoc-Tuan, 2011). En particular, al aceite de germen de maíz se le atribuye una potente actividad antioxidante, determinada mediante métodos in vitro (Ilkay et al., 2009).

Dado que la concentración de componentes con actividad antioxidante en este aceite puede verse afectada por varios factores, es importante confirmar su presencia en el que se obtiene en la UEB Cienfuegos.

Actividad secuestradora de radical libre DPPH.

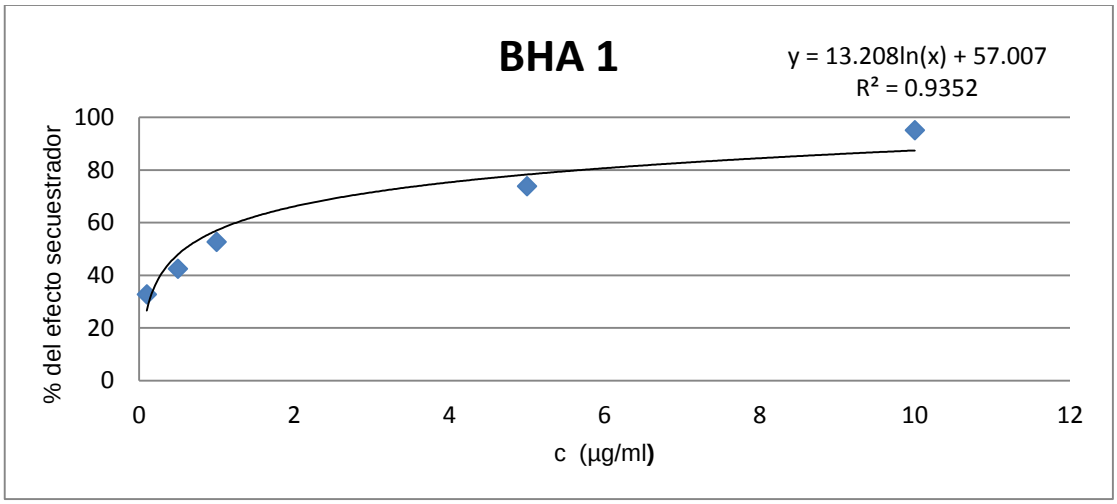
Para la evaluación de la actividad antioxidante del aceite de germen de maíz se seleccionó el método de la actividad secuestradora del radical libre DPPH, que es método *in vitro* que se basa en la transferencia electrónica. Es un método rápido, simple y barato en comparación con los otros métodos que describe la literatura (Badarinath y col., 2010).

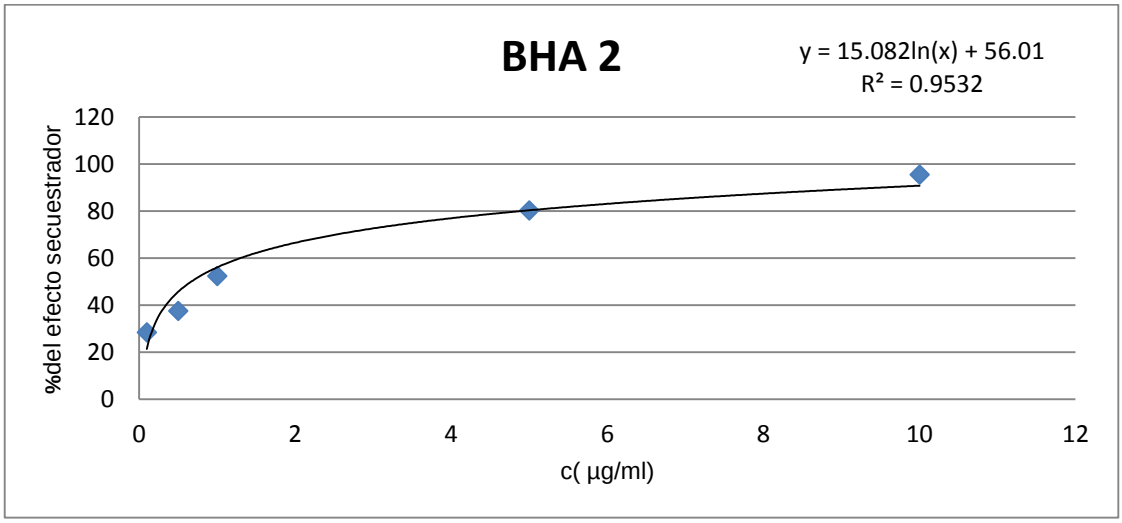
Para la selección de las condiciones del método se consideró la necesidad de seleccionar un disolvente adecuado para el radical DPPH y el aceite: un disolvente común, que no inactivara al radical DPPH. Este disolvente fue el tolueno, empleado con anterioridad por Ilkay y colaboradores (2009) para otros aceites de semillas vegetales. Además se utilizó como referencia al antioxidante sintético BHA, y un control que no contenía la muestra (aceite de germen de maíz, BHA).

A partir de las ecuaciones de las curvas de calibración, que mejor se ajustan a los datos experimentales de porcentaje del efecto secuestrador en función de la concentración, obtenidas en el estudio (**tablas en Anexos 3.1, 3.2, 3.3, 3.4 y 3.5, respectivamente**), se pudo calcular el IC_{50} para el BHA y para el aceite de

germen de maíz. Estas curvas muestran que la actividad secuestradora se incrementa con el aumento de la concentración de la muestra en una forma logarítmica debido a la reacción de donación de electrones entre las moléculas del antioxidante y los radicales libres.

Figura 3.1. Curvas de calibración de porcentaje del efecto secuestrador en función de la concentración para la referencia (BHA).





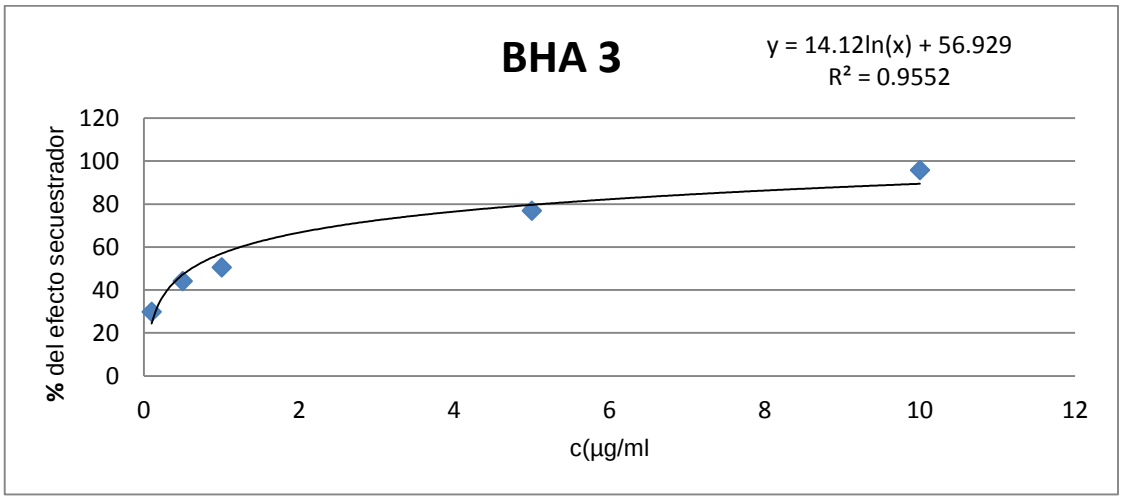
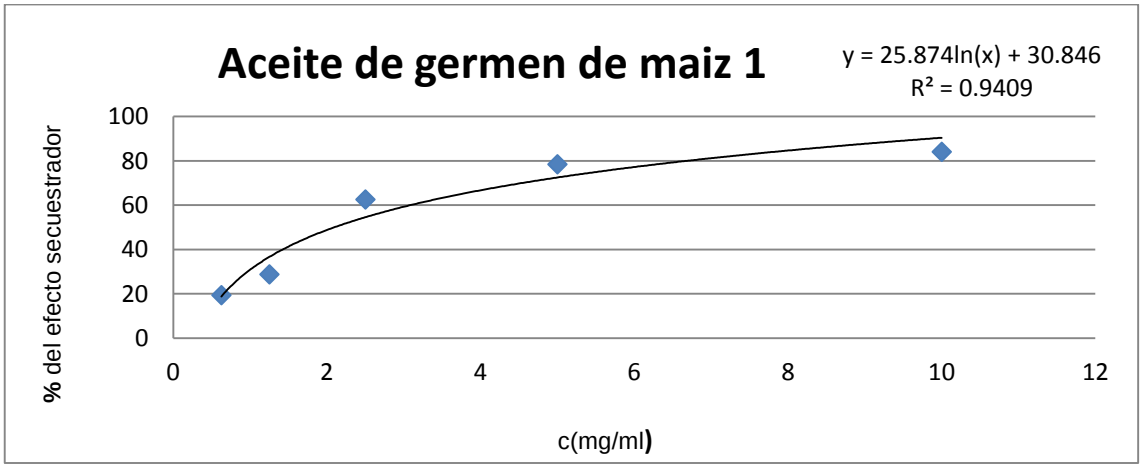
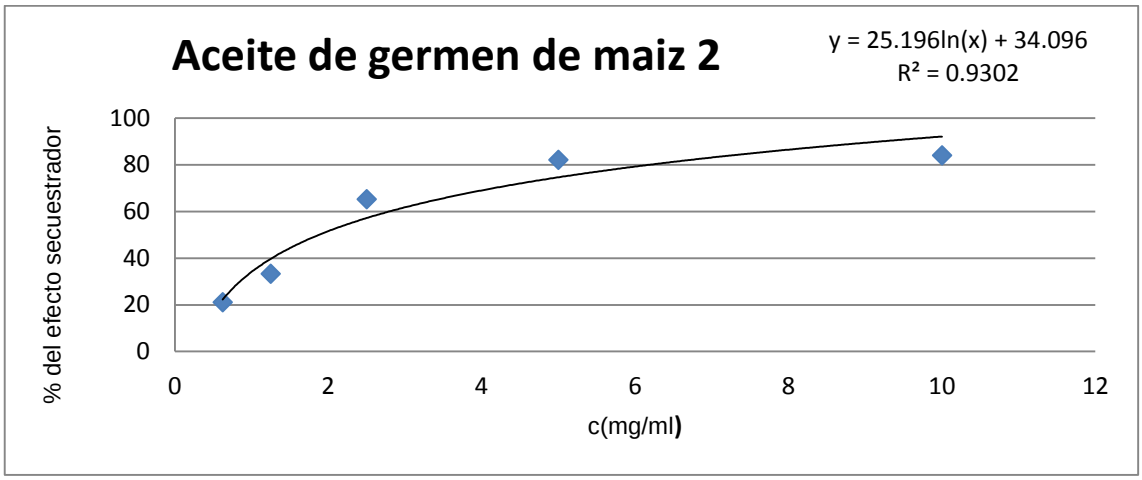
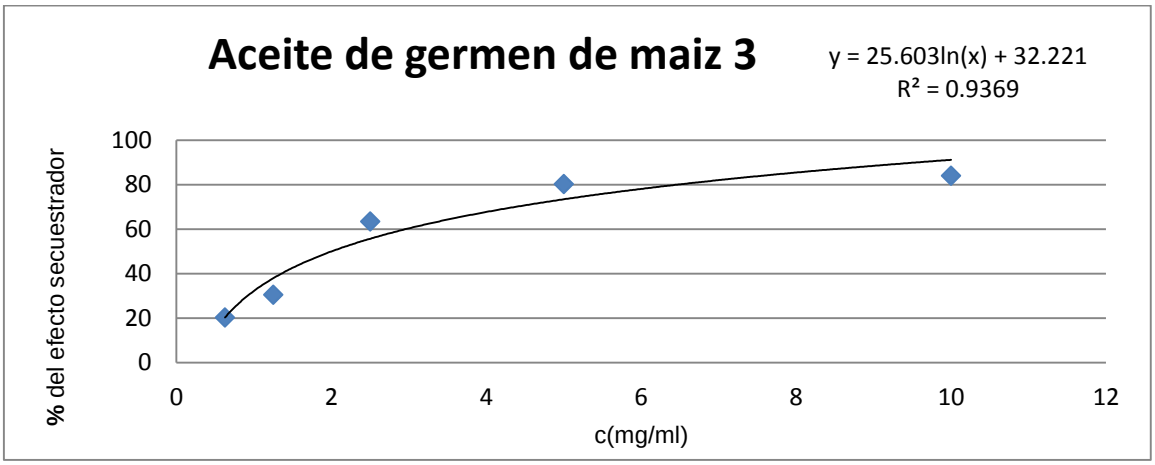


Figura 3.2. Curvas de calibración de porcentaje del efecto secuestrador en función de la concentración para el aceite de germen de maíz.







Los bajos valores de IC_{50} obtenidos para el BHA (Tabla 3.1) confirman su elevada actividad secuestradora de radicales libres, y por tanto su elevada actividad antioxidante. Además, permiten validar el método, así como los resultados que se obtuvieron para la muestra en estudio.

Tabla 3.1. Resultados de la actividad secuestradora del radical DPPH y de IC_{50} para el aceite de germen de maíz y el antioxidante sintético BHA.

Muestras	Concentración (µg/mL)	Inhibición (%) del efecto Secuestrador	IC_{50} (µg/mL) ($\dot{X} \pm S$)

BHA	0,1	30,35	0,624±0.042
	0,5	41,42	
	1,0	51,88	
	5,0	77,04	
	10,0	95,47	
	Concentración (mg/mL)	**Inhibición (%) del efecto secuestrador**	**IC_{50} (mg/mL)**
Aceite de germen de maíz	0,625	20,18	1,993±0.108
	1,25	30,82	
	2.5	63,69	
	5,0	80,28	
	10,0	84,03	

Los valores de IC_{50} obtenidos para el aceite de germen de maíz, a pesar de que son muy superiores a los de la referencia (Tabla 3.1), muestran que el mismo posee buena actividad secuestradora de radicales libres y actividad antioxidante; máxime si se considera que el BHA es un antioxidante puro, y en el aceite los componentes antioxidantes están en baja concentración.

Cabe destacar que los porcentajes de inhibición del radical DPPH conseguidos con el aceite de germen de maíz son muy superiores a los que se determinaron por este método para cuatro aceites vegetales de semillas, empleando tolueno como disolvente común (Ilkay y col., 2009). Con estos cuatro aceites se alcanzan valores de porcentaje de inhibición del radical DPPH muy inferiores a los que se consiguieron con el aceite de maíz en nuestro trabajo. Los mejores resultados se alcanzaron con el aceite de semilla de *Corylus avellana* L. (73 % de inhibición),

pero a concentraciones 10 veces superiores a la máxima empleada en nuestro estudio (100 mg/mL).

La actividad antioxidante del aceite de germen de maíz pudiera explicarse por la presencia en el mismo de componentes con actividad antioxidante, tales como: tocoferoles, tocotrienoles y escualeno.

Los resultados de este estudio nos permiten afirmar que el aceite de germen de maíz obtenido en la UEB Glucosa Cienfuegos posee actividad antioxidante, resultado que nos sugiere que no solo podría emplearse como fuente de energía, sino también como fuente de componentes con actividad antioxidante, lo que es muy interesante para sus aplicaciones cosméticas, alimentarias y farmacéuticas. De hecho la compañía Easman Chemical comercializa varias formulaciones líquidas antioxidantes para aplicación cosmética y para el cuidado personal que contienen aceite de germen de maíz, en su composición, como uno de los antioxidantes (Easman Chemical Company, 2011).

3.2. Resultados del diseño experimental factorial 2^3 para la elaboración de una emulsión cosmecéutica a partir del aceite de maíz.

En nuestro país el clima favorece la aparición de pieles secas, lo que se acentúa tras exposiciones prolongadas al sol, como en la playa. Como ya se ha mencionado, estas pieles son propensas a afecciones cutáneas. Sería muy conveniente disponer en el país de una formulación cosmecéutica, que incorpore al aceite de germen de maíz obtenido como subproducto en la UEB Glucosa Cienfuegos.

Con este propósito se escogió la forma de emulsión para este tipo de aplicación; por las ventajas que la misma aporta desde el punto de vista cosmético. Como principios activos cosméticos de esta emulsión se incorporaron: el aceite de germen de maíz, que además se emplea como componente de la fase oleosa, por su potencial efecto humectante, emoliente, antioxidante y protector de las

radiaciones UV; y la glicerina por su efecto humectante. Como agente emulsificante, componente de la fase oleosa y endurecedor, se escogió al polawax, por las características que posee.

El polawax, o cera emulsificante no iónica, se prepara a partir del alcohol cetoestearílico y contiene un derivado de polioxietileno de un éster de ácido graso del sorbitán. Se emplea como agente emulsificante para producir emulsiones O/A, que no se afectan por concentraciones moderadas de electrolitos y son estables en un amplio intervalo de pH. También se describe su uso como agente solubilizante y endurecedor. A concentraciones de hasta el 5 % el producto que se obtiene es capaz de derramarse cuando se vierte. Concentraciones de alrededor del 15 % se emplean comúnmente en la formulación de cremas. Las cremas que lo contienen son susceptibles de crecimiento microbiano por lo que se recomienda preservarlas. Funde en el intervalo 50 ºC – 54 ºC, es prácticamente insoluble en agua, soluble en alcohol y libremente soluble en éter, cloroformo y en la mayoría de los disolventes hidrocarbonados. Es incompatible con taninos, fenol y compuestos fenólicos, resorcinol y benzocaina. Reduce la eficacia antibacteriana de compuestos de amonio cuaternario. Sus emulsiones buena estabilidad durante el almacenamiento, que se ha atribuido a la formación de cristales líquidos.
(Rowe y col., 2009).

Por la presencia de agua en elevada proporción en la formulación y del polawax se decidió incluir preservos para asegurar su calidad microbiológica. Con este fin se emplearon los metil y propil parabenos, debido a su probada efectividad.

A pesar de que la seguridad del empleo de los parabenos en productos cosméticos y para el cuidado personal se ha discutido a nivel político en la Unión Europea en años recientes, y en la base de datos de esta comisión se ha identificado que los 4 parabenos, más comúnmente empleados (metil, etil, propil y butil parabenos), son potenciales causantes de alteraciones del sistema endocrino; la Directiva sobre Cosméticos de la Unión Europea actual permite su

uso en este campo, siempre que su concentración no exceda 0,4 %, para componentes individuales, o 0,8 % cuando se emplean en mezclas. Además, establece que el metil y el etil parabenos son seguros y recomienda que los niveles de propil y butil se disminuyan. Estos deben ser menores que 0,19 % (Parabens Unión europea, 2013). Como se puede observar en la tabla 2,1 los niveles en que se emplean el metil y propil parabenos en las formulaciones cumple con todos estos requisitos.

Otro aspecto a considerar en la selección de los componentes de la formulación fue la estabilidad oxidativa del aceite de germen de maíz. A pesar de su capacidad antioxidante y de su elevada estabilidad oxidativa, en relación con otros aceites vegetales (Maita, 2010; Anguaya-Velásquez, 2007; Dunford, 2005), no es menos cierto que la principal degradación que puede sufrir el mismo es la fotoxidación. Esta vía de degradación afectaría el nivel de componentes con actividad antioxidante (tocoferoles, tocotrienoles y escualeno), el grado de insaturación de los ácidos grasos que lo componen; así como el olor del producto final; todo lo cual conduciría a pérdida de los efectos cosmecéuticos que se pretenden conseguir con esta emulsión y de sus atributos sensoriales. Con el propósito de actuar como antioxidante de los componentes de la formulación, se incluyó en la formulación un 0,3 % de α-tocoferol, antioxidante que ya posee el aceite de germen de maíz, lo que podría potenciar sus efectos beneficiosos sobre la piel.

Finalmente, como todo producto cosmético y/o cosmecéutico, requiere de un olor agradable. Con este objetivo se incluyó en la formulación una fragancia. Dado que el aceite de germen de maíz posee un olor agradable no es difícil conseguir este propósito.

3.3 Selección del método de elaboración de las emulsiones.

Uno de los aspectos que influye en la estabilidad y propiedades de las emulsiones cosméticas es la adecuada selección de la tecnología de elaboración (Mijovic, P &

col., 2013). Se conoce que para lograr una emulsificación adecuada, además de la selección apropiada del tipo y cantidad del agente emulsificante, el orden de adición de los componentes, la velocidad de agitación y la temperatura a la que se mezclan las fases acuosas y oleosa son de gran importancia.

La presencia del polawax como componente de la fase oleosa, una cera sólida a temperatura ambiente, impone como paso inicial de la preparación de esta fase, su fusión. Para la preparación de emulsiones satisfactorias que emplean al polawax como agente emulsificante, a pesar de que posee una temperatura de fusión entre 50 ºC y 57 ºC, se recomienda calentar ambas fases a temperaturas entre 70 ºC y 80 ºC (Valdes-Pinal, 2010; Savic, 2011).A continuación se añade el aceite de maíz y se mezclan.

Por otra parte, la presencia de parabenos como preservos, requiere de elevadas temperaturas para su solubilización en agua. Además, el aceite de germen de maíz posee una elevada estabilidad oxidativa. Por todo esto se decidió calentar ambas fases a 80 ºC. La adición del α-tocoferol y la fragancia se realizó cuando la temperatura disminuyó hasta la ambiente, con el propósito de evitar su deterioro y la evaporación de este último.

Finalmente las formulaciones recién elaboradas se envasaron en frascos bien cerrados de vidrio ámbar con tapa de baquelita, para proteger los componentes susceptibles de oxidación del aceite de germen de maíz, y permanecieron en reposo en hasta la evaluación de su calidad.

3.4. Resultados del diseño experimental factorial 2^3 para la elaboración de una emulsión cosmecéutica a partir del aceite de germen de maíz.

3.4.1. Selección de los factores independientes y las variables repuestas.

Una vez seleccionados los componentes que formarán parte de la emulsión cosmecéutica que se desea formular, resulta conveniente determinar la proporción más adecuada de aquellos que poseen una implicación importante en su calidad y

estabilidad. Además, se debe determinar el valor adecuado de parámetros importantes de la tecnología de elaboración. Para este propósito resultan muy útiles los diseños de experimento factoriales.

En este sentido se seleccionó un diseño factorial 2^3, que implica un número no elevado de formulaciones; un total de 8, en las cuales se pueden variar 3 factores independientes en dos niveles, uno alto y uno bajo. Además permite combinar como factores independientes componentes de la formulación y parámetros de la tecnología de elaboración. Así se incluyeron como variables independientes: el contenido de polawax, el de glicerina, y la velocidad de agitación.

Los niveles de polawax se consideran de gran importancia para la consistencia, extensibilidad y estabilidad física de la emulsión que se desea obtener. Estos se escogieron entre aquellos que fueran superiores al 5 % y menores de 10 %, para obtener un producto final de consistencia adecuada para aplicación en la piel y que pudiera extenderse con facilidad. Estos fueron 5 % y 7 %. La proporción de la fase oleosa se mantuvo constante en las 8 formulaciones elaboradas, con un valor de 12,2 %; que se alcanzó incluyendo la cantidad necesaria de aceite de germen de maíz. Para la glicerina se seleccionaron los niveles alto y bajo entre las proporciones en que comúnmente funciona como humectante en formulaciones cosméticas y que deben aportar tersura y suavidad a la piel. La velocidad de agitación es de gran importancia pues influye en el grado de dispersión de la fase interna. En este caso se evaluaron 500 rpm y 700 rpm.

Como variables respuesta del diseño factorial 2^3 se seleccionaron aquellas que tienen gran influencia en la estabilidad física de la emulsión, así como en su calidad sensorial. La estabilidad es el factor más importante a considerar en la tecnología de emulsiones y es uno de los factores más importantes para describir la calidad de una emulsión (Mijovic, P y col., 2013). Estas variables fueron: manifestaciones de inestabilidad física tras someter las emulsiones al ensayo de centrifugación, detectables a simple vista, tales como separación de fases,

cremado y coalescencia; extensibilidad, viscosidad y densidad relativa.

3.4.2 Calidad tecnológica de las formulaciones cosmecéuticas elaboradas a partir del diseño factorial 2^3.

Para evaluar la influencia de las variaciones en la composición (concentración de polawax y de glicerina), así como en la velocidad de agitación de las 8 formulaciones obtenidas mediante el diseño factorial, se llevó a cabo su control de la calidad tecnológica. El mismo incluyó los ensayos que se consideraron como factores respuesta en el diseño: manifestaciones de inestabilidad tras el ensayo de centrifugación, área de extensibilidad, viscosidad y densidad relativa. Además se evaluaron las características organolépticas y determinación del tipo de emulsión formada.

3.4.2.1 Características organolépticas y tipo de emulsión.

- **Características organolépticas**

Todas las formulaciones poseen un color blanco hueso, pero la intensidad del mismo aumenta o disminuye, ligeramente, en dependencia de la proporción del aceite de maíz que posea la formulación. Las más blancas son las que poseen menor cantidad de aceite. El olor en todas las formulaciones es característico de la fragancia aplicada; presentan homogeneidad, brillo, untuosidad al tacto y no se detecta formación de grumos. Las preparaciones poseen una apariencia agradable.

Es conocido que salvo que alguno de los componentes le confiera coloración al conjunto, las cremas y emulsiones suelen ser blancas, con algunas ligeras tonalidades que van desde el amarillento hasta el blanco con reflejos azulados o grisáceos, todo ello en función del mayor o menor grado de dispersión de la fase interna. Un color blanco brillante suele ser indicativo de un elevado grado de dispersión, que generalmente se correlaciona con una correcta estabilidad física

del sistema. El color y brillo de todas las formulaciones sugieren de deben presentar buena estabilidad física.

- **Tipo de emulsión**

Un aspecto importante al elaborar emulsiones es determinar el tipo de emulsión que se forma. Para determinarlo existen diferentes ensayos sencillos, que consumen poco tiempo y que dan un criterio certero. En nuestro trabajo empleamos las pruebas de dilución y las de lavado. Todas las formulaciones elaboradas tienen aspecto lechoso y se lavan completamente; resultados que corresponden a emulsiones directas (O/A).

3.4.2.2. Resultados de las variables respuesta del diseño factorial 2^3.

Los resultados obtenidos para el área de extensibilidad, densidad relativa, viscosidad y manifestaciones de inestabilidad tras la prueba de centrifugación aparecen en las tablas de **Anexo 3.6**, y las fotos de las formulaciones tras el ensayo de centrifugación se muestran en el **Anexo 3.7**.

Tabla 3.2. Valores promedios y desviación estándar de las variables respuesta empleadas en el diseño factorial 2^3.

Formulación	Factores			($\dot{X}$± S)			
	X 1	X 2	X 3	Extensibilidad (cm^2)	Densidad Relativa	Vol.Sep.F. (cm)	Viscosidad ($Pa\ s^{-1}$)
1	+	+	+	43,94 ± 0,07	1,24 ± 0,004	0±0.02	59,21 ± 0,47
2	+	+	-	42,66 ± 0,35	1,23 ± 0,002	0±0.01	65,05 ± 0,38
3	+	-	+	56,38 ± 0,70	1,18 ± 0,002	0.5±0.01	37,32 ± 0,81
4	+	-	-	54,92 ± 0,57	1,18 ± 0,001	0±0.01	39,37 ± 0,63

5	-	+	+	30,10 ± 0,49	1,23 ± 0,001	0±0.05	55,87 ± 0,31
6	-	+	-	29,61 ± 0,39	1,23 ± 0,002	0.5±0.02	63,01 ± 0,93
7	-	-	+	67,23 ± 0,70	1,18 ± 0,001	1±0.09	29,18 ± 0,75
8	-	-	-	55,30 ± 0,49	1,17 ± 0,002	0.75±0.05	31,24 ± 0,67

X1: Contenido de glicerina: - (5 %), + (7 %)
X2: Contenido de polawax: - (5 %), + (7 %)
X3: Velocidad de agitación: - (500rpm), + (700rpm)
Vol.Sep.F.: Volumen de separación de fase tras centrifugación.

Los resultados de cada ensayo permitieron definir cómo influyeron los factores analizados (contenido de polawax, de glicerina y velocidad de agitación) en las variables respuesta (variables dependientes): área de extensibilidad, densidad relativa, viscosidad y volumen de separación de fases en la centrifugación. Para todas las variables respuesta se obtuvieron las ecuaciones de regresión y se determinaron las variables significativas del diseño, mediante la regresión múltiple y análisis experimental.

- **Variable dependiente: Área de extensibilidad.**

En el caso del área de extensibilidad (***Anexo 3.6),*** tras aplicar la regresión múltiple y análisis experimental los resultados mostraron que el valor-P en la tabla ANOVA es mayor o igual que 0,05, entonces no existe una relación estadísticamente significativa entre las variables con un nivel de confianza del 95,0 % (P = 0,0581).

Estos resultados podrían explicarse por las características del método que se empleó para determinar el área de extensibilidad, que es totalmente artesanal y fácilmente influido por mínimos errores de manipulación del analista.

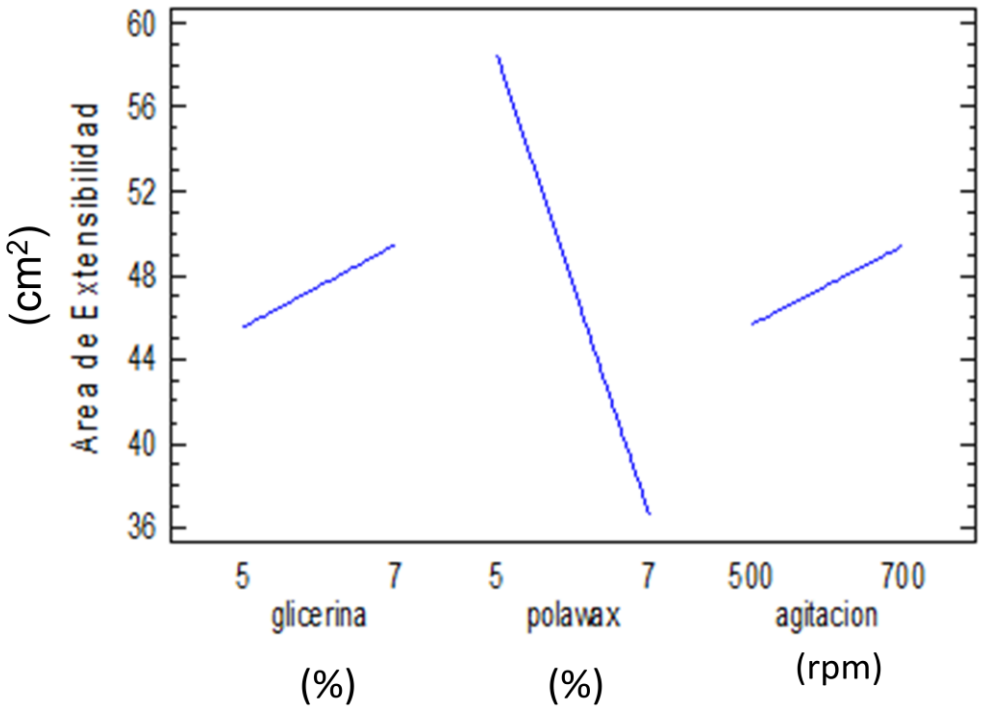
La ecuación del modelo ajustado que se obtuvo, para el área de extensibilidad (ecuación 3.1) muestra solo efectos positivos para el contenido de glicerina y la

velocidad de agitación, pero toman valores muy bajos. La representación de los efectos principales para este factor muestra que el área de extensibilidad presenta una relación inversa con el contenido de polawax, es decir que a medida que aumenta el contenido de polawax, disminuye el área de extensibilidad, resultado que es de esperar si consideramos que este componente aporta consistencia a la formulación. En el caso del contenido de glicerina y la velocidad de agitación existe una relación directa con la extensibilidad. Es conocido que el aumento de la velocidad de agitación conduce, generalmente, a un mayor grado de dispersión de la fase interna, lo que podría explicar estos resultados.

Ecuación 3.1.

Á. Extens. = 90,0425 + 1,9575*glicerina – 10,94*polawax + 0,01895*agitación

Figura 3.3. Representación de los efectos principales para área de extensibilidad.



- **Variable dependiente: Densidad relativa**

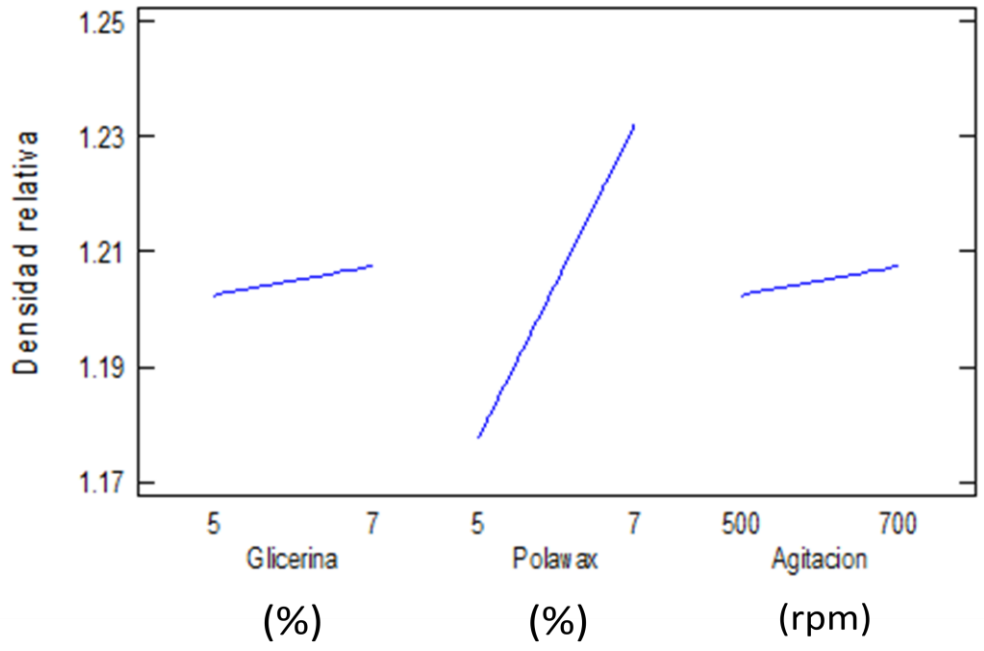
En el caso de la variable respuesta densidad relativa, al aplicar la regresión múltiple y el análisis experimental los resultados muestran que el valor-P en la tabla ANOVA es menor que 0,05, por lo tanto existe una relación estadísticamente significativa entre las variables con un nivel de confianza del 95,0% (P=0,0001).

La ecuación del modelo ajustado que se obtuvo para este factor (ecuación 3.2) muestra efectos positivos para los tres factores considerados; contenidos de polawax, de glicerina y velocidad de agitación; pero al igual que en el caso del área de extensibilidad, los valores son bajos.

Ecuación 3.2

Dens.Rel. = 1,01 + 0,0025*Glicerina + 0,0275*Polawax + 0,000025*Agitación

Figura 3.4. Representación de los efectos principales para la densidad relativa.



Los efectos principales para este factor (Fig. 3.4) muestran que la densidad relativa manifiesta una relación directa con los tres factores; entonces a medida que aumenta el contenido de glicerina, de polawax y la velocidad de agitación aumenta la densidad relativa, siendo más marcado el efecto en el caso del polawax, como era de esperar.

- **Variable dependiente: Volumen de separación de fases en el ensayo de centrifugación.**

Una de las variables respuesta más importantes es la que considera los resultados del ensayo de estabilidad física de las emulsiones obtenidas mediante el diseño factorial. Es conocido que es difícil lograr emulsiones físicamente estables por un período prolongado de tiempo. En este caso, la única manifestación de inestabilidad detectada a simple vista en algunas formulaciones es la separación de una porción de fase acuosa. Por eso se decidió considerar el volumen de esta como el valor cuantitativo de este factor.

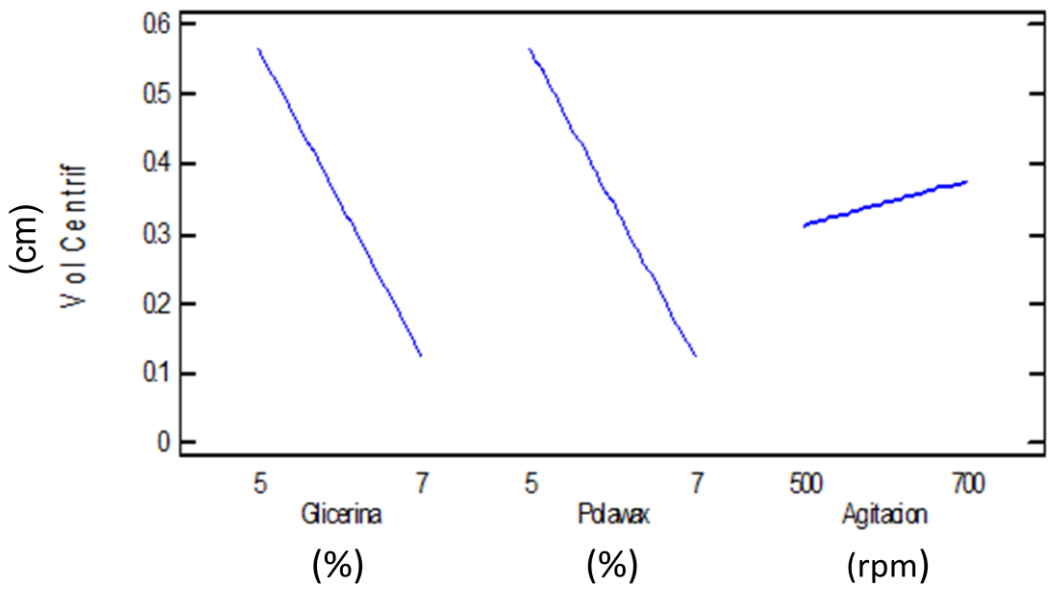
Al aplicar la regresión múltiple y análisis experimental se observa que el valor-P en la tabla ANOVA es mayor o igual que 0,05, por lo tanto se puede afirmar que no existe una relación estadísticamente significativa entre las variables con un nivel de confianza del 95,0% (P=0,1581).

La ecuación del modelo ajustado que se obtuvo para este factor (ecuación 3.3) muestra efectos positivos solo para la velocidad de agitación; pero de magnitud muy baja.

Ecuación 3.3

Vol,Se.F. =2,78125 – 0,21875*glicerina – 0,21875*Polawax + 0,0003125*Agitación

Figura 3.5. Representación de los efectos principales para el volumen de separación de fases tras la centrifugación.



Se puede observar (Fig.3.5) que el volumen de separación de fases tras la centrifugación está en relación inversa con el contenido de glicerina y polawax, entonces a medida que aumenta la cantidad de glicerina y de polawax disminuye el volumen de separación de fases, resultado que era de esperar; pero en el caso de la velocidad de agitación a medida que aumenta ese factor, aumenta la separación de fases, entonces tiene una relación directa con esta variable dependiente.

- **Variable dependiente: Viscosidad.**

A diferencia de las demás variables respuesta a evaluar, se determinó la viscosidad después de una semana (7dias). Los valores de viscosidad obtenidos para cada formulación son aceptables.

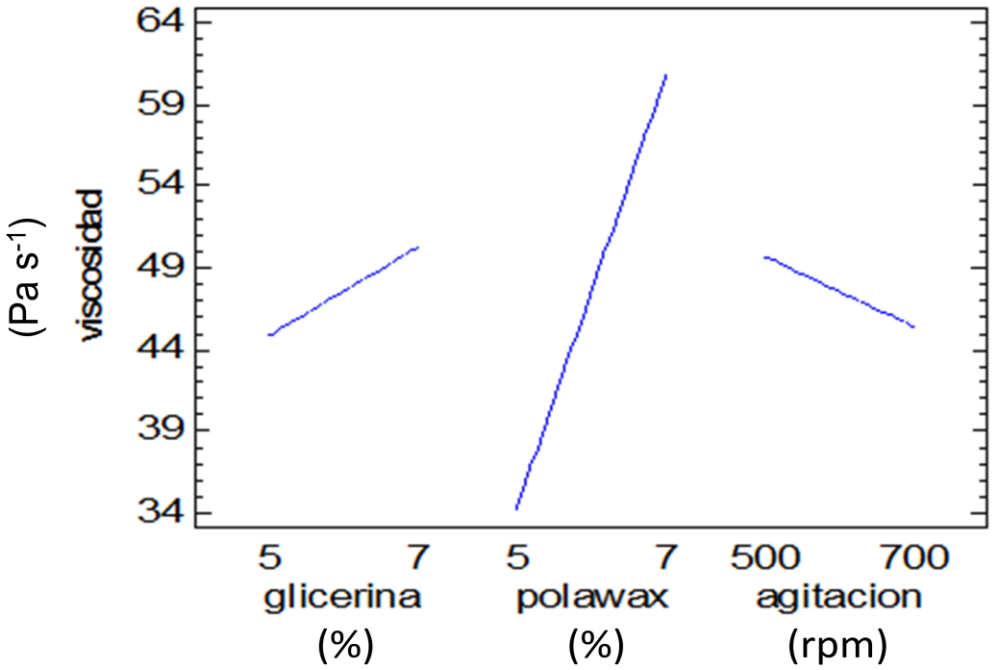
Al aplicar la regresión múltiple y el análisis experimental se observa que el valor-P en la tabla ANOVA es menor que 0,05, por lo tanto existe una relación estadísticamente significativa entre las variables con un nivel de confianza del 95,0% (P=0,0005).

La ecuación obtenida para el modelo (ecuación 3.4) muestra efectos positivos solo para el contenido de glicerina y de polawax, pero con magnitudes más elevadas, sobre todo para el contenido de polawax. La representación de los efectos principales (Fig.3.6) muestra que la viscosidad manifiesta una relación directa con los contenidos de glicerina y de polawax.

Ecuación 3.4

Viscos. = -35,4112 + 2,70625*glicerina + 13,2537*polawax – 0,0213625*agitación

Figura 3.6. Representación de los efectos principales para la viscosidad.



3.5. Selección de la formulación cosmecéutica más adecuada. Pruebas de control de calidad.

De forma general se pudiera plantear que de las ocho formulaciones obtenidas mediante el diseño experimental, solo las formulaciones 1, 2, 4 y 5 deben presentar una buena estabilidad física porque no mostraron ninguna alteración al

realizar el ensayo acelerado mediante centrifugación. Sobre esta base la formulación que se seleccione debe partir de estas cuatro.

Considerando los resultados del resto de los ensayos de control de la calidad realizados podemos observar que la formulación 4 es la mejor porque, además de la estabilidad física, posee buenas propiedades organolépticas, brillo, sin grumos, es la de mayor extensibilidad de las 4 mejores, no tan consistente para su aplicación sobre la piel con baja viscosidad. Por estas razones se seleccionó como la mejor la formulación 4 (figura 3,7), que contiene baja contenido de polawax (5%), alta contenido de glicerina (7%) y que requiere baja velocidad de agitación durante su elaboración (500 rpm).

Fig. 3.7. Composición de la formulación con mejores propiedades tecnológicas, formulación 4.

No	Componente	Cantidad (%)
1	Polawax	5
2	Aceite de maíz	7,2
3	Glicerina	7
4	Metil-parabeno	0,2
5	Propil-parabeno	0,02
6	Bouquet Rosa 767	0,14
7	α-tocoferol	0,3
8	Agua destilada	82,14

3.5.1. Resultados del control de la calidad de la formulación seleccionada.

Con el propósito de confirmar la calidad tecnológica de la formulación seleccionada se repitieron todos los ensayos de control de este tipo, excepto la viscosidad. Se incluyeron, además el pH y la prueba de estabilidad física ciclos frío-calor.

En cuanto a las características organolépticas, se obtuvieron resultados similares

a los alcanzados con el diseño inicial: posee color blanco hueso, olor característico de la fragancia aplicada, presenta homogeneidad, brillo, untuosidad al tacto y no se detecta formación de grumos. La preparación posee una apariencia agradable. Se confirmó, además que la formulación 4 es una emulsión directa (O/A).

3.5.1.1. Estabilidad física acelerada.

Dado que la estabilidad física de emulsiones es vital para asegurar su calidad tecnológica durante toda la vida útil de un producto cosmético en forma de emulsión, se decidió repetir el ensayo de centrifugación e incluir otro. Los resultados de la prueba de centrifugación, y de los ciclos frío-calor no mostraron ninguna variación, detectable a simple vista, en las características de la emulsión correspondiente a la formulación 4, que fueran indicativos de inestabilidad física de emulsiones: coalescencia, separación de fases o cremado. Estos resultados aportan criterios acerca de la buena estabilidad física de la formulación seleccionada.

3.5.1.2. pH, área de extensibilidad y densidad relativa.

Los resultados obtenidos para el área de extensibilidad y la densidad relativa confirman los ya obtenidos para esta formulación, y son satisfactorios (tabla 3.3). Esta formulación posee buena consistencia y extensibilidad.

Tabla 3.3. Resultados de los promedios y desviaciones estándar para el pH, área de extensibilidad y densidad relativa de la formulación 4.

Propiedades	pH	Área de extensibilidad (cm^2)	Densidad relativa
($\dot{X}$ ± S)	7,21 ± 0,028	56,12 ± 0,155	1,18 ± 0,001

Otro criterio muy importante a considerar en el diseño de formulaciones para aplicación en la piel, es que el pH debe ser adecuado a esta zona de nuestro cuerpo. En este sentido la formulación seleccionada presenta un pH muy cercano

a la neutralidad, que puede considerarse como adecuado, y coincide con los resultados obtenidos por otros autores, que obtienen formulaciones para la piel con valores de pH similares (Nunez y col., 2006).

3.5.2. Aceptación por los consumidores de la emulsión cosmecéutica seleccionada.

Uno de los aspectos más importantes a considerar en el diseño de formulaciones cosméticas es su sensación en la piel, o sea su calidad sensorial, y su aceptación por los consumidores. Para la evaluación de de estos atributos de la emulsión cosmecéutica seleccionada (formulación 4) se usó la metodología de análisis sensorial.

La emulsión cosmética fue evaluada por 50 consumidores no entrenados (hombres y mujeres) seleccionados al azar en la Facultad de Química-Farmacia de la Universidad Central de Las Villas. La muestra de consumidores, que participó como jueces no estrenados, estuvo compuesta por un 54 % del sexo masculino y mayoritariamente integrada por jóvenes: con un 72 % de personas menores de 30 años (**anexo 3.9, 3.10, 3.11, 3.12, 3.13, 3.14**), Es importante considerar que los hábitos de consumo de cosméticos y cosmecéuticos, en la actualidad, han variado. De hecho su consumo, por la población en general, se ha incrementado y se caracteriza por un incremento notable de los consumidores masculinos jóvenes

Fig. 3.8. Genero de los jueces no entrenados que participaron en la evaluación de la calidad sensorial de la formulación seleccionada.

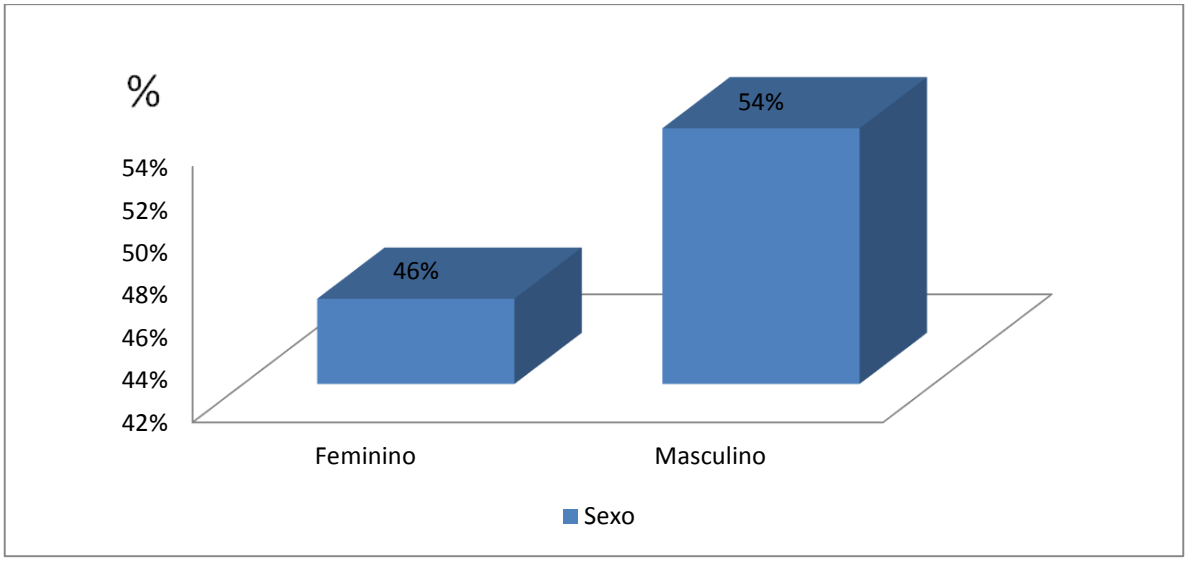
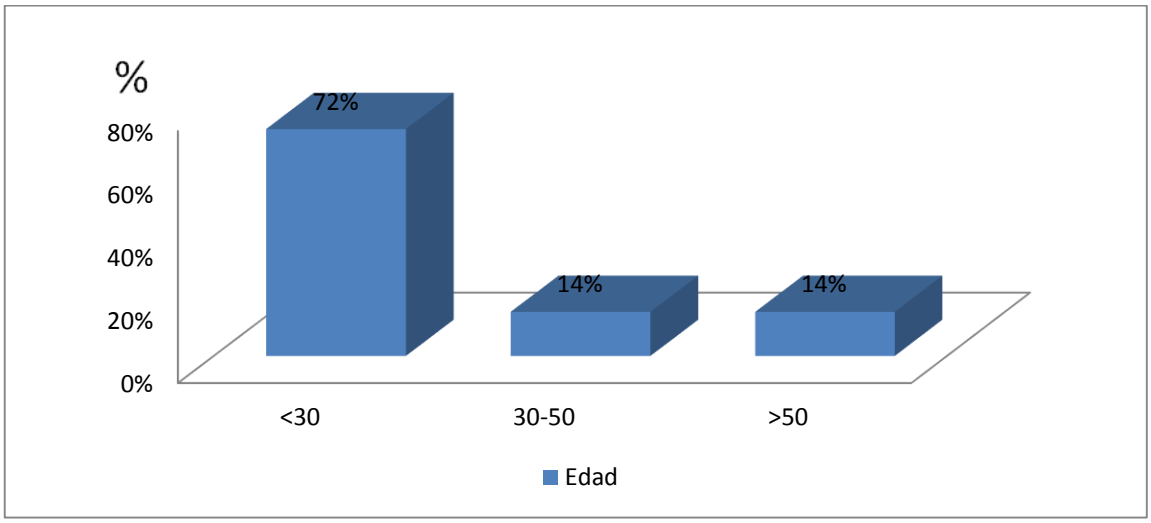


Fig.3.9. Clasificación de los jueces no entrenados que participaron en la evaluación de la calidad sensorial de la formulación seleccionada, por grupos de edades.



El empleo de una escala hedónica de 10 puntos permite delimitar mejor la valoración de los jueces no entrenados con respecto al color, olor, textura y extensibilidad de la emulsión cosmecéutica.

Los resultados obtenidos muestran que para el color, todos los jueces asignaron valores de la escala hedónica superiores a 7, que corresponden a clasificaciones entre aceptable y excelente; con más del 50 % que lo clasifican entre muy bueno y excelente (Fig. 3.10). En el caso de olor y la textura se obtienen resultados similares, con la particularidad de que cerca del 90 % asigna valores entre 9 y 10, que corresponden a clasificaciones del olor entre muy bueno y excelente (Figs 3.10 y 3.11,respectivamente).

En cuanto a la extensibilidad, las categorías de puntuación elegidas estuvieron entre 8-bueno, con un 6 % y 10-excelente, con un 54 %. Cerca del 90 % asigna valores entre 9 y 10, que corresponden a clasificaciones del olor entre muy bueno y excelente (Fig. 3.11).

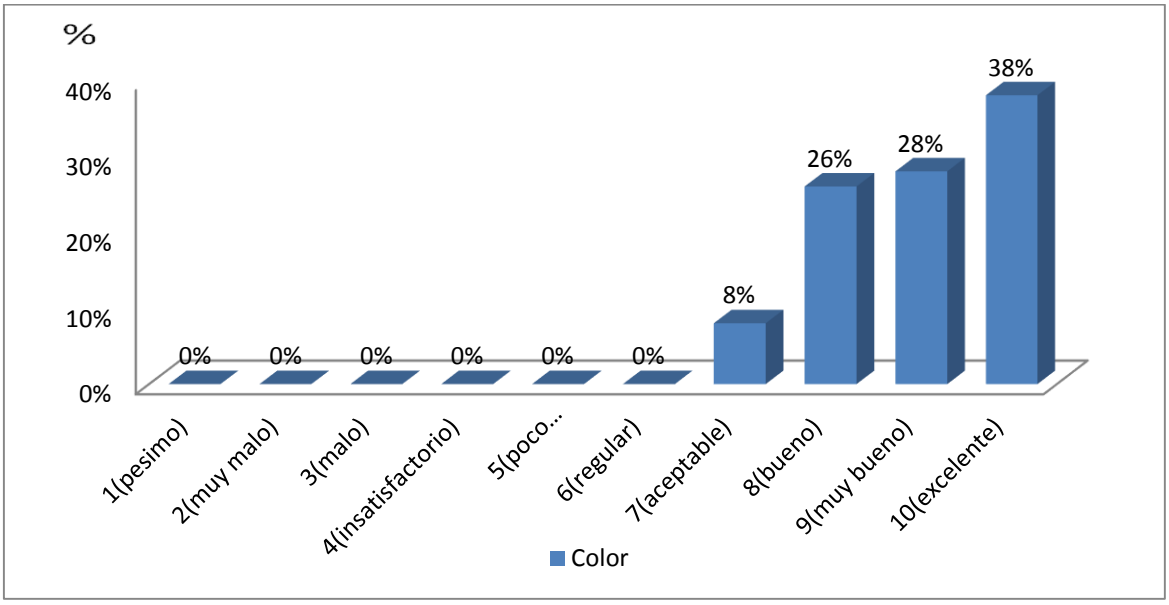
Es de destacar la excelente calidad sensorial de la formulación cosmecéutica seleccionada, en base a los atributos considerados, sobre la base del criterio de los 50 jueces no entrenados.

Otros aspectos considerados en la encuesta (**Anexo 2.1)** fueron la presencia de grumos y el brillo de la formulación cosmecéutica. En este sentido, el 100 % de los encuestados manifestó no detectar presencia de grumos en la formulación; y en cuanto al segundo atributo, el brillo, el 98% coincidió en dar un criterio positivo y solo un 2 % valoró como negativo este parámetro (***Figuras 3.12).***

Los resultados obtenidos en cuanto al brillo y la presencia de grumos dan criterios de la excelente aceptación de los consumidores en cuanto a estos aspectos y de la excelente calidad sensorial de la formulación seleccionada. Además, la presencia de brillo y ausencia de grumos en una emulsión dan criterios de que posee homogeneidad y se caracteriza por un elevado grado de dispersión de la

fase interna; lo cual se traduce en una buena calidad tecnológica y estabilidad física.

Fig 3.10.Clasificación del color y el olor de la emulsión cosmecéutica por los jueces no entrenados, en base a la escala hedónica de 10 puntos.



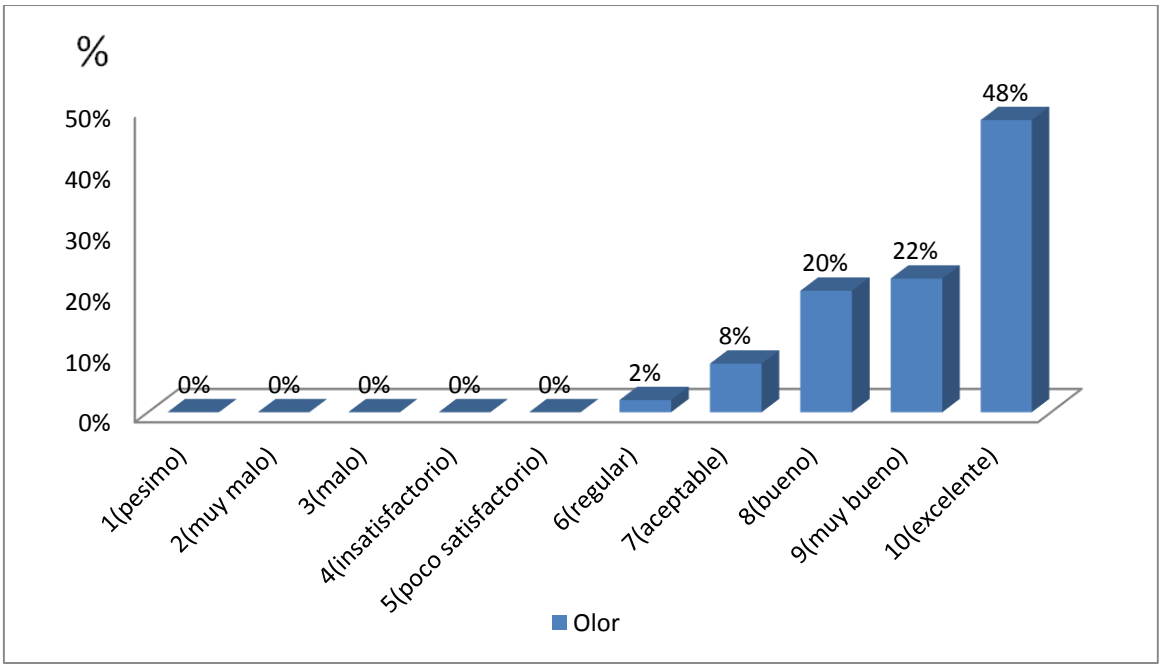
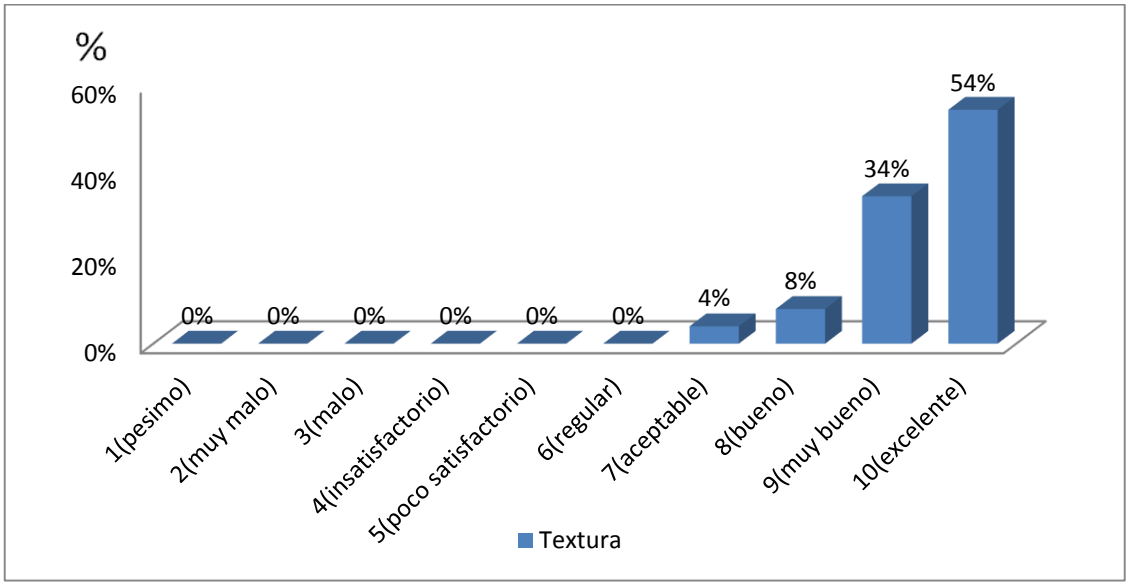


Fig. 3.11. Clasificación de la textura y la extensibilidad de la emulsión cosmecéutica por los jueces no entrenados, en base a la escala hedónica de 10 puntos.



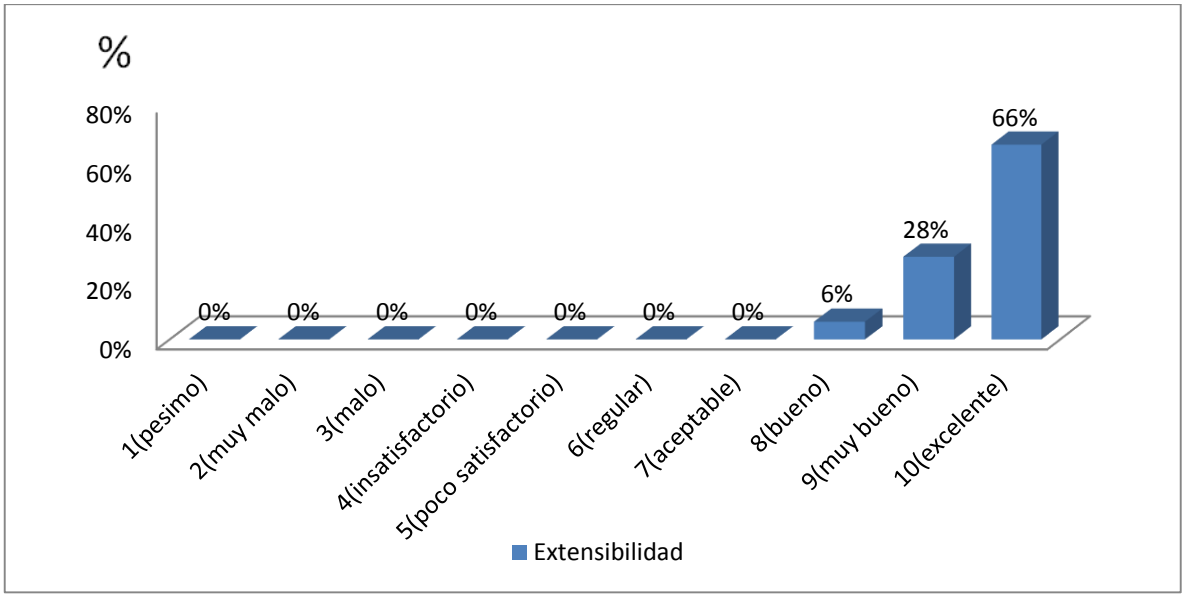
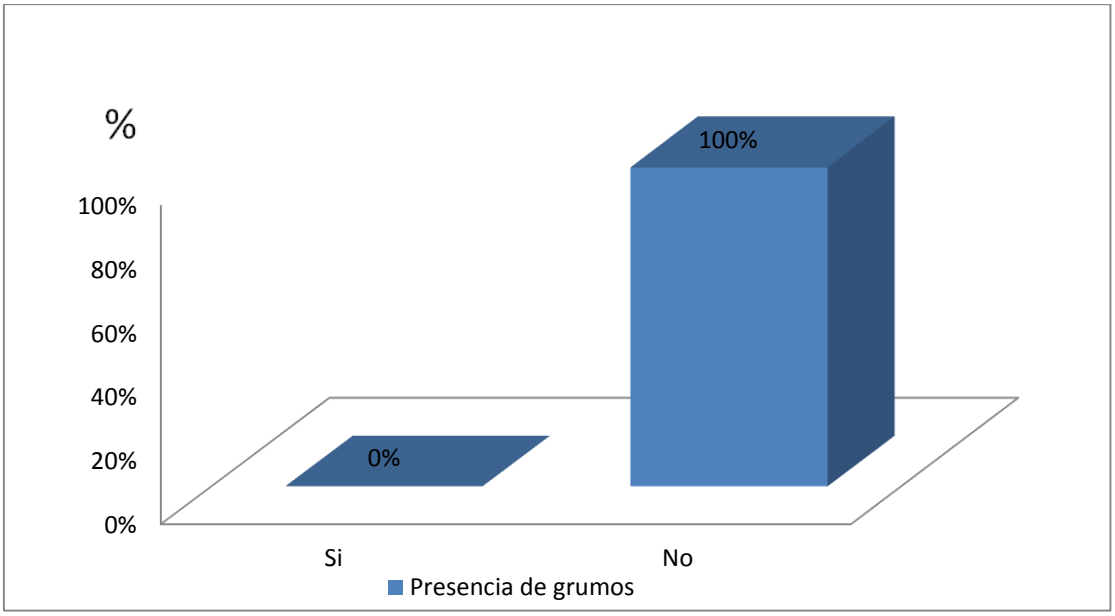
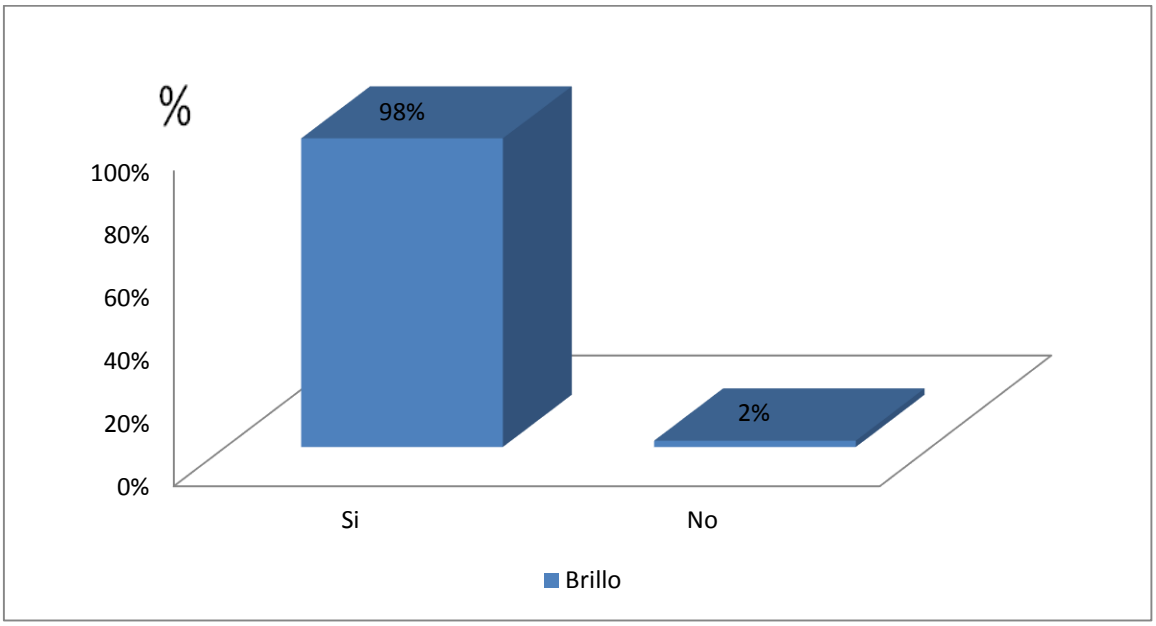


Fig. 3.12. Clasificación de la presencia o no de brillo y de grumos en la emulsión cosmecéutica, por los jueces no entrenados.





CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

CONCLUSIONES

1. El aceite de germen de maíz que se obtiene como subproducto en la UEB Glucosa Cienfuegos posee buena actividad antioxidante *in vitro*.

2. La formulación cosmecéutica obtenida que contiene un 7,2% de aceite de maíz, es una emulsión O/A, que posee buenas propiedades organolépticas, buena extensibilidad, pH adecuado para aplicación en la piel, con brillo, sin grumos, que debe presentar buena estabilidad física.

3. La emulsión cosmecéutica seleccionada posee muy buena aceptación por parte de los consumidores, en cuanto a: color, olor, extensibilidad, textura, brillo y ausencia de grumos.

RECOMENDACIONES

- Evaluar la influencia de la incorporación de α-tocoferol y otros antioxidantes sintéticos en la estabilidad oxidativa del aceite de maíz y su emulsión cosmecéutica.
- Evaluar la actividad antioxidante del aceite de germen de maíz mediante otros métodos, así como la capacidad humectante y de protección frente a las radiaciones UV de la emulsión cosmecéutica.

Anexos

Anexo 2.1. La encuesta para los consumidores.

En el Departamento de Farmacia de la Facultad de Química y Farmacia de la Universidad Central de Las Villas se desarrolló un producto cosmético para aplicación en la piel, que contiene aceite de germen de maíz. Sus criterios serán de mucha utilidad para evaluar la aceptación de la misma desde el punto de vista sensorial.

- ¿Está de acuerdo en participar voluntariamente en esta evaluación?

  Si: __ No: ___

En caso afirmativo:

- Edad:_____ Género:_____

1. Clasificación del color, olor, textura y extensibilidad del producto.

Para tener criterios sobre el **color, olor, textura y extensibilidad** usted debe clasificar cada uno con un número del 1 al 10, según la escala hedónica siguiente:

Asignar los valores correspondientes para cada factor a considerar mediante la siguiente escala hedónica:

1 Pésimo	5 Poco satisfactorio	9 Muy bueno
2 Muy malo	6 Regular	10 Excelente
3 Malo	7 Aceptable	
4 Insatisfactorio	8 Bueno	

Color: Observe a simple vista el color del producto y asígnele un número (1-10), en la tabla que aparece más abajo, de acuerdo a su criterio; considerando que su aplicación es como cosmético.

Olor: Quite la tapa del envase del producto, abanique varias veces la parte superior del producto y asígnele un número (1-10), en la tabla que aparece más abajo, de acuerdo a su criterio; considerando que su aplicación es como cosmético.

Textura: Tome una porción del producto entre los dedos índice y pulgar, frótelo, y asígnele un número (1-10), en la tabla que aparece más abajo, de acuerdo a su criterio; considerando la suavidad y sensación grasienta o no del producto.

Extensibilidad: Extienda una pequeña porción del producto en la parte superior del antebrazo. Asígnele un número (1-10), en la tabla que aparece más abajo, de acuerdo a su criterio; considerando la capacidad del producto.de extensión sobre la piel.

Marque con una **X** en el número que usted asignó a cada característica del producto cosmético.

Característica del producto cosmético	**Valor que le asigna según escala hedónica**									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Color										
Olor										
Textura										
Extensibilidad										

2. Clasificación de la presencia de brillo y grumos en el producto.

- **Presencia de grumos:** Tome una porción del producto entre los dedos índice y pulgar, frótelo, trate de detectar la presencia de grumos. Se consideran grumos la presencia den el producto de partículas sólidas que pueden palpase. De acuerdo a su criterio; clasifique la presencia de grumos en si y no:
  Presencia de grumos: Si____ No ____

- **Presencia de brillo**: Quite la tapa del envase del producto y observe la superficie del producto. Clasifique la presencia de brillo en si o no:
  Presencia de brillo: Si____ No____

  Muchas gracias por su participación.

Anexo 3.1. Valores de absorbancia en función de la concentración de aceite de germen de maíz en la evaluación de su capacidad antioxidante.

Concentración de aceite de germen de maíz (mg/mL)	Absorbancia (517 nm) por réplica del ensayo		
	1	2	3
0 **(control)**	0,108	0,105	0,107
0,625	0,086	0,084	0,085
1,25	0,076	0,071	0,074
2,5	0,040	0,037	0,039
5,0	0,023	0,019	0,021
10	0,017	0,017	0,017

Anexo 3.2. Valores del % del efecto secuestrador IC_{50}, en función de la concentración de aceite de germen de maíz, en la evaluación de su capacidad antioxidante.

Concentración de aceite de germen de maíz (mg/mL)	% del efecto secuestrador del radical DPPH, por réplica del ensayo			
	1	**2**	**3**	**($\dot{X}$ ± S)**
0 **(control)**	-1,408	1,408	-0,469	
0,625	19,249	21,126	20,187	20,187 ± 0,94
1,25	28,638	33,333	30,516	30,829 ± 2,36
2,5	62,441	65,258	63,380	63,693 ± 1,43
5	78,403	82,159	80,281	80,281 ± 1,87

10	84,037	84,037	84,037	84,037 ± 0,00

Anexo 3.3. Valores de absorbancia en función de la concentración de BHA en la evaluación de su capacidad antioxidante.

Concentración del BHA (µg/mL)	**Absorbancia (517 nm) por réplica del ensayo**		
	1	2	3
0 **(control)**	0,297	0,286	0,289
0,1	0,199	0,205	0,203
0,5	0,171	0,179	0,161
1,0	0,141	0,136	0,143
5,0	0,077	0,057	0,066
10	0,015	0,013	0,012

Anexo 3.4. Valores del % del efecto secuestrador IC_{50}, en función de la concentración del BHA, en la evaluación de su capacidad antioxidante.

Concentración del BHA (µg/mL)	% del efecto secuestrador del radical DPPH, por réplica del ensayo			
	1	2	3	($\dot{X}$ ± S)
0 (control)	0	0	0	
0,1	32,828	28,371	29,879	30,360 ± 2,27
0,5	42,592	37,478	44,214	41,428 ± 3,52
1,0	52,693	52,364	50,605	51,887 ± 1,12
5,0	73,906	80,210	77,029	77,048 ± 3,15
10	95,118	95,446	95,855	95,473 ± 0,37

Anexo 3.5. Valores del IC_{50}, en función de la concentración de aceite de germen de maíz y BHA, en la evaluación de la capacidad antioxidante.

Muestra	IC_{50}	IC_{50} ($\dot{X}$ ± S)
Aceite de maiz	2,096	1,993 ± 0,108
	2,002	
	1,880	
BHA	0,588	0,624 ± 0,042
	0,671	
	0,613	

Anexo 3.6. Resultados de las variables respuesta del diseño factorial 2^3 para las 8 formulaciones y sus réplicas.

Formulac.	Área de Extens. (cm^2)		Densidad Relativa		Visc. Aparente ($Pa\ s^{-1}$)		V. Sep. Fase (mL)	
	X	($\dot{X}$ ± S)	X	($\dot{X}$ ± S)	X	($\dot{X}$ ± S)	X	($\dot{X}$ ± S)
1	44,01	43,94	1,240	1,242	59,54	59,20	0,00	0,00
1.1	43,87	± 0,07	1.245	± 0,004	58,87	±0,47	0,02	± 0,00
2	43,01	42,66	1,233	1,234	65,32	65,05	0,00	0,00
2.1	42,31	± 0,35	1,236	± 0,002	64,78	± 0,38	0,01	± 0,01
3.	57,07	56,38	1,183	1,182	37,89	37,32	0,51	0,50
3.1	55,68	± 0,70	1,180	± 0,002	36,74	± 0,81	0,50	± 0,01
4	55,49	54,92	1,184	1,183	39,81	39,36	0,00	0,00
4.1	54,35	± 0,57	1,183	± 0,001	38,92	± 0,63	0,01	± 0,01
5	30,58	30,10	1,235	1,234	56,09	55,87	0,05	0,00
5.1	29,61	± 0,48	1,234	± 0,001	55,65	± 0,31	0,00	± 0,05
6	29,99	29,60	1,236	1,234	63,67	63,01	0,50	0,50
6.1	29,22	± 0,38	1,233	± 0.002	62,35	±0,93	0,52	± 0,02
7	66,53	67,22	1,182	1,183	29,71	29,18	1,00	1,00
7.1	67,92	0,70	1,183	± 0.001	28,65	± 0,75	1,09	± 0,09
8	55,79	53,30	1,174	1,172	30,76	31,24	0,75	0,75
8.1	54,81	0,49	1,171	± 0.002	31,71	± 0,67	0,80	± 0,05

Anexo 3.7. Imágenes de las 8 formulaciones tras el ensayo de centrifugación.

Formulaciónes 1, 2, 4 y 5

Formulaciones 3 y 6

Formulaciónes 7y 8

Anexo 3.8. Resultados de las pruebas de control de la calidad para la formulación seleccionada.

Ensayos	Densidad relativa		Área de extens. (cm^2)		pH		Vol. Sep. Fase (mL)	
Réplicas	1,181	1,183	56,23	26,01	7,19	7,23	0,00	0,00
($\dot{X}$ ± S)	1,18 ± 0,001		56,12 ± 0,15		7,21 ± 0,03		0,00 ± 0,00	

Anexo 3.9. Porcentaje de jueces no entrenados, por sexo, participantes en la evaluación sensorial de la formulación cosmecéutica.

Sexo	Porcentaje (%)
Femenino	46
Masculino	54

Anexo 3.10. Porcentaje de jueces no entrenados, por grupos de edades, participantes en la evaluación sensorial de la formulación cosmecéutica.

Edad (años)	Porcentaje (%)
<30	72
30-50	14
>50	14

Anexo 3.11. Valoración de los jueces no entrenados sobre la presencia de grumos y brillo en la formulación seleccionada.

Respuesta	Presencia de grumos	Presencia de Brillo
Si	0%	98%
No	100%	2%

Anexo 3.12. Valoración de los jueces no entrenados sobre la textura, color, olor y extensibilidad de la formulación seleccionada en base a la escala hedónica.

Categorías	Textura %	Color %	Olor %	Extensibilidad %
1 (pésimo)	0	0	0	0
2 (muy malo)	0	0	0	0
3 (malo)	0	0	0	0
4 (insatisfactorio)	0	0	0	0
5 (poco satisfactorio)	0	0	0	0
6 (regular)	0	0	1	0
7 (aceptable)	4	8	4	0
8 (bueno)	8	26	10	6
9 (muy bueno)	34	28	11	28
10 (excelente)	54	38	24	66

Anexo 3.13. Valoración de los jueces no entrenados, por grupos de edades, sobre la presencia de grumos y brillo en la formulación seleccionada.

Característica	Cantidad de jueces por grupos de edades y por sexo					
	>50		30-50		<30	
Genero	**M** 4	**F** 3	**M** 2	**F** 5	**M** 21	**F** 15
Presencia de grumos	**Si** 0	**No** 7	**Si** 1	**No** 6	**Si** 0	**No** 36
Presencia de brillo	**Si** 6	**No** 1	**Si** 7	**No** 0	**Si** 36	**No** 0

Anexo 3.14. Valoración de los jueces no entrenados, por grupos de edades, sobre la textura, color, olor y extensibilidad de la formulación seleccionada en base a la escala hedónica.

Atributo	Grupos de edades de los jueces (años)	Cantidad de jueces por puntuación de la escala hedónica				
Color		**1-4**	**5**	**6-7**	**8**	**9-10**
	>50	0	0	1	2	4
	30-50	0	0	1	0	6
	<30	0	0	2	11	23
Olor		**1-4**	**5**	**6-7**	**8**	**9-10**
	>50	0	0	0	1	6
	30-50	0	0	1	1	5
	<30	0	0	4	8	24
Textura		**1-4**	**5**	**6-7**	**8**	**9-10**
	>50	0	0	0	1	6
	30-50	0	0	0	1	6
	<30	0	0	2	2	32
Extensibilidad		**1-4**	**5**	**6-8**	**9-10**	
	>50	0	0	0	7	
	30-50	0	0	0	7	
	<30	0	0	3	33	

BIBLIOGRAFÍA

1) Botanical.,(2014).
2) Cosmetica a medida.,(Enero 2012).
3) Acofarma.,(2010).
4) Agraria, GD.,(2002).Boletín de plantas medicinales y aromáticas. Ed. Santiago - Chile, 6.
5) Ajiwe,SC.et al.,(1994).Extraction and utilisation of Cassava Seed Oil. Bioresource Technology. pp. 85-86.
6) Alander,JA y Lindstrom,C.,(2006).Cosmetic emollients with high stability against photo-oxidation.pp.18.
7) Aluyor,E y Ori-Jesu,M.,(2008).The use of antioxidants in vegetable oils. A review. African Journal of Biotechnology.Vol. 7 (25).
8) Careli,AA.et al.,(2005).Effectiveness of added natural antioxidants in sunflower oil. 56.pp.303-310.
9) Anguaya-Velásquez,CA.,(2007).Estudio de estabilidad en almacén del biodiesel obtenido de aceite Effectiveness of added natural antioxidants in sunflower oil de soya (Glycine max), palma africana (Elaeis guineensis), maíz (Zea mays), higuerilla (Ricinus communis) y piñón (Jatropha curcas). Carrera de agroindustria alimentaria. Proyecto especial presentado como requisito parcial para optar al título de Ingeniero en Agroindustria Alimentaria en el Grado Académico de Licenciatura. Honduras, pp.58.
10) Animal dermocare,Dermoscent,(2012).
Acidos grasos esenciales,componentes de la piel de los perros y los gatos.
11) Aranberri,IB. et al.,(2006).Elaboracion y caracterizacion de emulsion estabilizados por polimeros y agentes tensoactivos.Iberoamericana de Polímeros, 7.
12) Arquette, JG. y Brown,JH.,(1993).Development of a cosmetic grade oil from *Lesquerella fendleri* seed. In: J. Janick and J.E. Simon (eds.), New crops. Wiley, New York. pp. 367-371.

13) Bilbao, O.,(2014). Conferencias de tecnologias farmaceutica I.166.

14) Brad-Williams,ME.et al.,(1995).Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. Food science and technology, 28 (1): pp. 25-30.

15) Chiari,BG.et al.,(2010).Cosmetics' Quality Control.

Disponible en:http://dx.doi.org/10.5772/51846.(Accesado el 17 febrero 2014).

16) Bombix,ML.,(2003).La obtención de aceite y sus derivados., Tesis de grado. Universidad Tecnológica de Pereira. Facultad de Tecnología. Escuela de Química.

17) Bourgaud,F.et al.,(2001).Production of plant secondary metabolites: a historical perspective. Review. Plant Science.

18) Cedillo,CD.,(2006).Tesis de maestría. Identificación de los compuestos fenólicos en el capulín prunus serotonina EHRH y evaluación de su capacidad antioxidante y estabilidad en mermeladas.

19) Chira,NC; Nicoles,A;Paunes,G y col.,(2009).U.P.B.Sci.Bull.,Series B,Vol.71,Iss 4 Determination of the technical quality indices of vegetable oils by modern physical techniques.

20) Costa-Sallum, J.et al.,(mayo 2005). Gerencia General de Cosméticos. *Anvisa,* 1.

21) Croda.,(2004) Disponible en : www.croda.com.br/crodamazon.php.(accesado el 5 febrero 2014).

22) Decisión de la comisión relativa a la autorización de comercialización del «aceite de germen de maíz con alto contenido de material no saponificable» como nuevo ingrediente alimentario, con arreglo a lo dispuesto en el Reglamento (CE) no 258/97 del Parlamento Europeo y del Consejo. Diario oficial de la Unión Europea, 2006/723/CE.

23) Decker, M.,(1989).Pharmaceutical Dosage Forms Disperse System.

24) Díaz, SO.,(2012). Evaluacion fisicoquímica y capacidad antioxidante del aceite de amaranto y estabilidad oxidativo de diferentes sistemas de encapsulación.

25) Diaz,IA.et al.,(2005).Diseño de una crema para masajes con extracto de spirulina cubana. *Rev Cubana Farm*.:39(3).

26) Draelos, ZK.,(1995).Cosméticos en Dermatología.

27) Dunford,N.,(2005).Germ Oil From Different Sources. *Bailey's Industrial Oil and Fat Products,* 6**,** pp.13-21.

28) Duran, P.,(1999).Aceites y Grasas. Panreac,Analiticos en alimentaria.

29) Easman Chemical Company.,(2011).Easman products for cosmetics and personal care industry 2011. Disponible en: www.easmanpersonalcare.com. (accesado el 22 marzo 2014).

30) Fabregas,A.,(2007).Conceptos básicos de hidratación cutánea (IV).Hidratación activa: humectantes. Farmacia práctica.Formacion permanente en dermofarmacia,26.

31) Fletcher, P.,(1992). J. Chem. Soc. Faraday Trans.

32) Garcia,R y Perez,E.,(2010).Ssitemas heterogeneos reologia.

33) García, N. y Moncada, M.,(2006).Estudio microbiológico del aceite de luffa cylindrica para su potencial uso en la industria cosmética. Pereira. Tesis de grado. Universidad tecnológica de Pereira. Facultad de Tecnología. Escuela de Química.

34) Gonzalez-Jimenez,FE.,(2010).Caracterizacion de compuestos fenolicos presentes en la semilla y aceite de Chía (*Salvia hispanica* L.),mediante electroforesis capilar.

35) Gokhan,Z.et al.,(2011).Antioxidant capacity and fatty acid profile of Centaurea kotschyi (Boiss. & Heldr.), Hayek var. persica (Boiss.) Wagenitz from Turkey. grasas y aceites. 62**,** pp.90-95.

36) Graham,P.et al.,(2013).Bulletin:Oil-in-water cosmetic composition. European patent application.

37) Griffin, WA.et al.,(1986).J. Soc. Cosmetic Chemists.

38) Guenther,E.,(2005).The essential Oils; New York, 1942; (b) Martínez, N. Los aceites esenciales naturales y la Aromaterapia.

39) Guy, R H., y Hadgraft,J.,(1988).Physicochemical aspects of percutaneous penetration and its enhancement. *Pharmaceutical Research* 5:pp.753.

40) Rowe,RC-;Sheskey PJ y Quin,ME.,(2009).Handbook of pharmaceutical Excipient. Sixth edition.

41) Sarfaraz,N.,(2009).Handbook of manufacturing pharmaceutical formulations. . Informa Healthcare.Segunda edición.

42) Hector-Riveros,R.,(2012).*Vitaminas en los cosméticos.*

43) Helman, J.,(1982).*Supositorios.* Farmacotécnia teoría y práctica. Editorial Continental, México D.F., pp. 2033-2034.

44) Ilkay,OB.,(2009).Evaluation of antibacterial, antifungal,antiviral,and antioxidant potentials of some edible oils and their fatty acid profiles.

45) Inventor/es: Panin, Giorgio. Título: Dispositivo para dispensar en forma de spray una composición de aplicación tópica que comprende vitamina E y ácidos grasos esenciales. Fecha de publicación de la solicitud: 02.05.2002. Fecha de publicación de la mención BOPI: 16.03.2004.((accesado el 14 marzo 2014).

46) Jurado, JA y Munoz, LV., (2009).Caracterizacion del aceite de las semillas de Solanum Quitoense L variedad la Selva y evaluación de su actividad antioxidante.

47) John Wiley & Sons, Inc.,(2011).Chapter 13 natural antioxidants and their effects on the skin. pp.239-257.

48) Kumar,D y Jhariya,AD.,(2013).Nutritional, Medicinal and Economical importance of Corn: A Mini Review. Research Journal of Pharmaceutical Sciences, Vol. 2(7), pp.7-8.

49) KILN.,(1997).Instruction manual of the Corneometer CM 825® and personal communication. *Courage-Khazaka Electronic*.

50) León, M.,(2011).Consulta de Difusión Veterinaria;182: pp. 32-37.

51) Lindberg-Donald,A.,(2013).Medline Plus.

52) Maita,J.,(2010).Maiz.Cadena de valor agregado.

53) Martín, C; Bénet, S y Obert, L.,(2008). Determination of Proteins in Refined and Nonrefined Oils. Journal of Agricultural and. Food Chemistry,. 56,pp.4348–4351.

54) Mataix,J.,(2011).Los ácidos grasos poliinsaturados Omega 3 y monoinsaturados tipo oleico y su papel en la salud. Lípidos alimentarios. pp.13-34.

55) Mateo,G.,(2008).VEICR, eds. Modern Nutrition in Health and Disease.pp.396-411.

56) Messera,M.,(2010).Productos que contienen inulina a modo de ingrediente: necesidad nutricional de su incorporación y atributos percibidos por sus consumidores.

57) Morea,KB.,(2006).Eastern Regional Research Center. *Agricultural Research Service,* 21**,**pp.18-54.

58) Moreau,RA; Johnston,DB y Hicks,KB. Corn Ethanol. Higher Value Coproducts and Corn Oil Recovery.Sustainable biofuels and coproducts research unit.Eastern Regional Research Center, ARS, USDA. 600 E. Mermaid Lane, Wyndmoor PA 19038.

59) Muiia,I.et al.,(2010).Revista de la Facultad de Ingeniería Universidad Central de Venezuela.

60) Muller, L., (1999). Aceite De Maiz. *GBC Internacional*.

61) Naresuan University Journal. (2003).11(3):pp. 29-49.

62) Nwosu, N y Boyd, LC., (2012).Oxidative stability of various oils determined by Rancimit method. Technical report, North Carolina State University. Department of food sciences.

63) Nuñez,IC.et al.,(2006). Elaboracion de una crema con extracto blando de propoleos.

64) Oliva,AS.,(2009).Practcas de tecnologia farmaceutica II.

65) Pakistan standard specification for refined maize (corn) oil (1st rev.). Pakistan standard. 1562-2003.ICS No.67.200.20. Pakistan standards and quality control authority. Standards Development Centre.

66) Matos,MC. Y Chotten,R.,(2004).Elaboración y Evaluación Sensorial de Cremas de Aceite de Nuez y de Pulpa.

67) Parabens Unión europea,(2013).SUBSPORT Specific Substances Alternatives Assessment

68) Pier-Giorgio, P.,(2000).Flavonoid as antioxidant. J.Nat.Prod. 63**,** pp.1035-1042.

69) Prats Grauet,S. y Faulí Trillo,C.,(1993).*Excipientes grasos y productos lipoideos.*

70) Pouillot, A.et al.,(2011) Natural antioxidants and Their effects on the skin. Libro: Formulating, Packaging, and Marketing of Natural Cosmetic Products, First Edition.

71) Procedimiento Normalizado de Operación (P.N.O) 3.02.002.95 del Laboratorio Farmacéutico "Roberto Escudero".

72) Quoc-Tuan,H.,(2011).Characterization of natural edible oils regarding their quality and safety related constituents.

73) Race, S.,(2009).Antioxidants.The truth about BHA, BHT, TBHQ and other antioxidants used as food additives.ISBN: 9781907119002. PDF Edition. Published by Tigmor Books.

74) Rafael,UR.,(1975).Tecnología de la Producción de Preparados Farmacéuticos Semisólidos. Científico,Técnica.

75) Perez,P.et al., (2013).Diseño de una crema regeneradora con quitina para despues del bronceado.

76) Riefenrath,W.et al.,(1991).Percutaneous penetration and skin retention of topically applied compounds: an in vitro/in vivo study. *Journal of Pharmaceutical Sciences* 80:pp.526.

77) Rivera,D.,(2006).Actividad antioxidante de algunas especies de la familia melastomataceae. Tesis de grado. Universidad tecnológica de Pereira. Facultad de Tecnología. Escuela de Química.

78) Rothman, S.,(1955).The mechanism of percutaneous penetration and absorption. *Journal of the Society of Cosmetic Chemistry* 6:pp.193-200.

79) Rubalya,S.,(2009).Evaluation of antioxidant activity and chemical characterization of corn oil on heating. International Journal of College Science in India, Vol. 3.

80) Savic, S. et al.,(2011).An alkyl polyglucoside-mixed emulsifier as stabilizer of emulsion systems: The influence of colloidal structure on emulsion skin hydration potential. Journal of Colloid and Interface Science, 358,pp.182-191.

81) Sayago,A.M.;Aparicio,R.; Morales,MT.,(2007).Vitamina E y aceites vegetales. 1**,** pp.7-86.

82) Scheuplein,RJ.,(1965).Mechanism of percutaneous absorption. I. Route of penetration and the influence of solubility. *Journal of Investigative Dermatology* 45: pp.334-346.

83) Serra,E.;Tribo,M.,(1999).Antioxidantes.Disponible:http://www.actualidaddermatol.com/art2197.pdf.(accesado el 20 marzo 2014).

84) Shalaby,EA y Shanab,SM.,(2013).Antioxidant compounds, assays of determination and mode of action. African Journal of Pharmacy and Pharmacology, Vol. 7(10), pp. 528-539.

85) Shewhart,W.,(1980). Economic control of quality of manufactured product, American Society for Quality Control.

86) Siger, A.; Nogala-Kalucka,M. y Lampart-Szczapa, E., (2007).The content and antioxidant activity of phenolic compounds in cold-pressed plant oils. Journal of Food Lipids 15.pp.137–149.

87) Simmons,J.,(2000). Formulación, Evaluación y Aplicación. Madrid, ES. AMV. 459.

88) Simon-Gonzalez,R.,(2009).Diseño mecánico de un equipo para medida de la viscosidad en fluidos no newtonianos.

89) Soto-Vaquez,M.,(2011).Control de Calidad de Aceites Vegetales por Q.F.

90) Tapia-Caceres,P.,(2006).Estudio comparativo de la Capacidad Humectante de la piel de activos cosméticos naturales respecto al aceite de Emú utilizando el Corneometer CM 825.

91) Tafurt,G. et al.,(2005).Evaluación de la capacidad antioxidante *In Vitro* de bencilaminas y aceites esenciales utilizando los ensayos con ABTS y DPPH. C. Goancales et al /Phytochemistry. 66. pp.89-98.

92) Tratado de Farmacia Galénica, (2011).1era Ed. Editorial Luzán 5 S.A. Madrid. Cap. 10, pp.163-172.

93) Tsaknis,J;Lalas,S y Protopapa,E.,(2002).Effectiveness of the antioxidants BHA and BHT in selected vegetable oils during intermittent heating. Grasas y Aceites , Vol. 53. Fasc. 2, pp.199-205.

94) USP 24, The United Stated Pharmacopeia and NF 19 The National Formulary (2000).*C,* pp.1868-1870.

95) Vademecum,(2007).Laboratorios UniFarma, S.A. Barcelona, España.Rev.:9.

96) Valdes-Pinal,S.,(2010).Emulsiones.

97) Villareal-Carvajal,A.,(2004).Formulacion de una nanoemulsion dermocosmetica,nutririva y regeneradora de la piel.