

2016

*Trabajo de Diploma en opción
al Título Académico de Licenciada
en Ciencias Farmacéuticas*

Reformulación de emulsiones cosméticas con activos naturales



Autora: Yisel María Navarro Pérez

Tutora: Dra.C. Mirtha Mayra González

Bedia

Universidad Central Marta Abreu de Las Villas

Facultad de Química y Farmacia

Departamento de Farmacia

6/23/2016

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



Science is the work of centuries to bring together all the knowable phenomena of our world.

~~~ALBERT EINSTEIN~~~

Dedicatoria



Con mi corazón deseo dedicarle mi tesis a:

Mi madre Yanelis, que siempre me apoyó en los momentos más difíciles y me ayudó a luchar por mis sueños aún cuando yo no creía en mí misma.

Mi padre Pedro, que aunque la distancia nos separa, siempre me recordó el gran amor que siente por mí y me impulsó a llegar hasta el final de mis metas.

Mi tío Yuri, que de alguna forma u otra, me estimuló a ampliar mis conocimientos y a formarme exitosamente como toda una profesional.

Agradecimiento

- ◆ *A Dios, por darme la convicción de que todo puede salir bien a pesar de las adversidades de la vida.*
- ◆ *A mi tutora Mirtha Mayra, que sin su dedicación, esmero y constancia yo no habría tenido la oportunidad de aprender a su lado y poder realizar este trabajo, que es equivalente a esfuerzo y perseverancia.*
- ◆ *A mi familia por todo su cariño y apoyo.*
- ◆ *A los profesores Montenegro y Anita por toda la ayuda brindada.*
- ◆ *A Elisa Cedeño del LPC-VC, por su apoyo y confianza.*
- ◆ *A todas las personas que me han ayudado de una forma u otra en la realización de este trabajo y a los que han contribuido con mi crecimiento académico y futuro desarrollo profesional.*

A todos ¡Muchas Gracias!

Resumen



Actualmente existen problemas con la elaboración de las cremas cosméticas con activos naturales del Laboratorio Provincial de Cosméticos de Villa Clara (LPC-VC) debido a carencia de uno de los emulsionantes, el monoestearato de glicerilo. El presente trabajo tiene como objetivo reformular la emulsión base de las cremas cosméticas del LPC-VC empleando como único emulsionante lauril éter sulfato de sodio (LESS), mediante un proceso de elaboración más corto y simple. Con este fin se elaboraron por el método de fusión 8 formulaciones, obtenidas mediante un diseño de experimentos factorial 2^3 . En el método de elaboración se consideró preparar el gel LESS/NaCl en frío a partir de una solución saturada de NaCl, e incorporar la fase acuosa a la oleosa a 75 °C, asegurando la disolución previa en la fase acuosa de la mayor cantidad posible de componentes solubles en agua. Se evaluaron las formulaciones en cuanto a propiedades organolépticas, tipo de emulsión, extensibilidad, densidad aparente, pH y estabilidad física acelerada mediante los ensayos de centrifugación y ciclos de temperatura. El empleo del emulsionante LESS al 1,5 %, NaCl al 0,5 % como viscosante y 500 rpm como velocidad de agitación permitió obtener una formulación con todos los requerimientos en cuanto a calidad tecnológica y estabilidad física acelerada, mediante un proceso más corto y simple.

Palabras claves: Reformulación, cosméticos activos, LESS, cremas cosméticas, emulsión, estabilidad física, calidad tecnológica.

Abstract



Currently there are problems with the preparation of cosmetic creams with natural actives of Villa Clara Cosmetics Provincial Laboratory (VCCPL) due to the instability in the supply of glyceryl monostearate, one of the emulsifiers. This work aims to reformulate the base emulsion of VCCPL cosmetic creams using sodium lauryl ether sulfate (SLES) as the only emulsifier, through a shorter and simpler processing. For this purpose eight formulations were prepared by the fusion method, obtained by a factorial 2^3 experiments design. In the method of preparation it was considered to prepare the SLES /NaCl gel in cold from a saturated NaCl solution, and incorporating the aqueous to the oil phase at 75 °C, ensuring prior dissolution in the aqueous phase of the maximum amount of water soluble components. The formulations were evaluated considering organoleptic properties, emulsion type, extensibility, bulk density, pH and accelerated physical stability by centrifugation and temperature cycles. It was possible to obtain a formulation with all requirements in terms of technological quality and accelerated physical stability, through a shorter and simple process by the use of SLES as emulsifier at 1.5%, NaCl at 0.5%, as thickening agent, and 500 rpm as stirring speed.

Keywords: Reformulation, active cosmetics, SLES, cosmetic creams, emulsion, physical stability, technological quality.

Índice

| | |
|---|-----------|
| Introducción | 1 |
| Capítulo I: Revisión Bibliográfica | 4 |
| 1.1 Reformulación..... | 4 |
| 1.1.1 Principales modificaciones en reformulación..... | 5 |
| 1.2 Consideraciones generales sobre cosméticos..... | 5 |
| 1.2.1 Cosméticos a base de plantas..... | 6 |
| 1.2.2 Activos naturales en cosméticos..... | 7 |
| 1.3 Emulsiones cosméticas para la piel..... | 12 |
| 1.4 Evaluación de la calidad de las emulsiones cosméticas..... | 14 |
| 1.5 Estabilidad de las emulsiones cosméticas..... | 15 |
| 1.6 Estudios de estabilidad..... | 16 |
| 1.6.1 Estabilidad preliminar..... | 17 |
| 1.6.2 Evaluación microbiológica..... | 19 |
| Capítulo II: Materiales y métodos | 20 |
| 2.1. Equipos y reactivos..... | 20 |
| 2.2. Valoración crítica de la emulsión base..... | 21 |
| 2.3. Diseño de experimentos para el desarrollo de la emulsión cosmética..... | 22 |
| 2.4. Método de elaboración de las formulaciones cosméticas..... | 24 |
| 2.5. Control de la calidad de las formulaciones obtenidas mediante diseño experimental..... | 25 |
| 2.6 Estabilidad física acelerada de las formulaciones obtenidas mediante diseño experimental..... | 27 |
| 2.7 Propuesta de formulación definitiva..... | 28 |
| Capítulo III: Resultados y discusión..... | 30 |
| 3.1 Valoración crítica de la emulsión base del LPC-VC..... | 30 |

| | |
|--|-----------|
| 3.2 Composición y método de elaboración de las formulaciones cosméticas reformuladas..... | 35 |
| 3.3 Evaluación de las emulsiones de <i>Aloe vera</i> obtenidas mediante diseño factorial 2^3 | 37 |
| 3.3.1. Calidad tecnológica de las emulsiones cosméticas..... | 37 |
| 3.3.1.1. Extensibilidad, densidad aparente y pH. | 37 |
| 3.3.1.2. Características organolépticas y tipo de emulsión..... | 42 |
| 3.3.2. Estabilidad física acelerada. | 44 |
| 3.4. Propuesta de formulación definitiva. | 47 |
| Conclusiones..... | 50 |
| Recomendaciones..... | 51 |
| Anexos | 51 |
| Bibliografía | 55 |

Introducción

Introducción

En la actualidad se ha ampliado el uso de los cosméticos activos o cosmecéuticos como tratamiento de apoyo, o complementario, a la acción de determinados fármacos frente a diferentes patologías cutáneas. Estos productos se utilizan para el cuidado de la piel y son una combinación entre cosméticos y medicamentos. Brindan beneficios terapéuticos superiores a los cosméticos simples, ya que contienen ingredientes activos, tales como los extractos de plantas. Constituyen un segmento del mercado de rápido crecimiento puesto que se encuentran en gran abundancia y sus precios son baratos.

Los consumidores buscan este tipo de productos para tratar el envejecimiento de la piel, acné, melasma, rosácea, etc. Además, ven estos productos como alternativas a la medicación y a menudo prueban productos cosmecéuticos antes de buscar ayuda profesional. Por su parte, los médicos también valoran a los cosmecéuticos por sus efectos terapéuticos y los emplean junto a los medicamentos como terapia de apoyo para tratar diferentes condiciones de la piel: dermatitis atópica, piel seca, acné, rosácea, etc.

En nuestro país el empleo de los cosméticos activos, cosméticos basados en la evidencia o cosmecéuticos, por los consumidores y médicos también está ganando un mayor espacio. Una de las alternativas para adquirir este tipo de productos en nuestra provincia está en los que se producen en el Laboratorio Provincial de Cosméticos de Villa Clara (LPC-VC). Estos representan una opción más económica y estable en el mercado.

Entre los productos del LPC-VC de mayor demanda, por los consumidores y que se recomiendan por los dermatólogos, se incluyen las cremas cosméticas con productos naturales, tales como las de manzanilla, sábila, miel de abejas y propóleo.

Debido al alto nivel de demanda del producto, y por tanto, su continuo proceso de producción, se han presentado dificultades con su elaboración debido a la carencia de materias primas. Dentro de ellas se incluye uno de los dos emulsionantes de estas cremas: el monoestearato de glicerilo.

Por otro lado, su proceso tecnológico es largo y tedioso puesto que se presenta dificultad con la incorporación del cloruro de sodio al lauril éter sulfato de sodio para la formación de un gel. Esta es una de las etapas del proceso más difíciles y largas.

A solicitud del LPC-VC se comenzó a realizar la reformulación de la emulsión base de estas cremas. Se valoró la realización de la menor cantidad de cambios, a la formulación original y su proceso de elaboración, y la no inclusión del monoestearato de glicerilo como emulsionante.

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

No se han evaluado alternativas de formulación y de proceso tecnológico de elaboración, de la emulsión base de las cremas que se producen en el LPC-VC, que no incluyan al monoestearato de glicerilo como emulsionante y se elaboren por un proceso más corto y sencillo.

Se parte de la **hipótesis**:

Si se emplea una proporción adecuada de lauril éter sulfato de sodio como único emulsionante y se realizan ajustes a la técnica de elaboración de la emulsión base de las cremas que se producen en el LPC-VC, será posible obtener emulsiones físicamente estables y tecnológicamente adecuadas, mediante un proceso más corto y simple.

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

Reformular la emulsión base de las cremas cosméticas del LPC-VC empleando como único emulsionante lauril éter sulfato de sodio (LESS), mediante un proceso de elaboración más corto y simple.

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

- Proponer cambios a la formulación y proceso tecnológico de elaboración de la emulsión base de las cremas cosméticas del LPC-VC, a partir de una valoración crítica de los mismos.
- Obtener, mediante diseño factorial 2^3 , formulaciones de la emulsión base de las cremas con activos naturales del LPC-VC, que satisfagan los cambios en la formulación y proceso tecnológico necesarios para su reformulación.
- Evaluar la calidad tecnológica y estabilidad física acelerada de la emulsión base reformulada seleccionada.

Capítulo I:

Revisión

bibliográfica

Capítulo I: Revisión Bibliográfica

1.1 Reformulación.

"Reformulación" en el sector farmacéutico, es el desarrollo de formulaciones diferentes para el mismo producto farmacéutico y es frecuente en diferentes industrias tales como las de alimentos, medicamentos y cosméticos. Con el tiempo, los productores pueden reformular sus productos en respuesta a los cambios en los gustos o preferencias de los consumidores, los cambios en el costo o disponibilidad de las materias primas, o en respuesta a acciones regulatorias gubernamentales (1).

En algunos casos se impone reformular productos por razones medioambientales. En este sentido, Johnson & Johnson está trabajando en la búsqueda de alternativas para eliminar las microperlas exfoliantes de plástico, que han surgido como un contaminante del agua potencialmente grave (2). En los últimos años, bajo una creciente presión, varios de los principales fabricantes han comenzado la eliminación de ciertos ingredientes controvertidos, y principales minoristas han anunciado planes para adaptar sus acciones en consecuencia (3).

El objetivo de las reformulaciones cosméticas o farmacéuticas es generalmente reducir los costos de producción o cambiar los atributos de los productos de una manera que se adapten mejor a las preferencias del consumidor. Debido a que el desarrollo de nuevas formulaciones es el resultado incierto de la investigación y desarrollo (I + D), las empresas deben evaluar la probabilidad de éxito técnico; la cual permita que el producto reformulado se pueda comercializar de manera efectiva; y que el rendimiento esperado de la inversión en I + D (y, potencialmente, en el propio proceso de producción) cumpla con el umbral de aceptación del proyecto (4).

La reformulación no es un proceso sencillo, consume tiempo y recursos. Por ejemplo la compañía Johnson & Johnson desarrolló para el año 2013 1.500 prototipos para reformular alrededor de 100 productos para bebés. El proceso de reformulación inicial fue particularmente difícil, ya que implicaba cambiar los productos más emblemáticos de la compañía, que tenían que conservar sus colores, consistencias y aromas (5).

1.1.1 Principales modificaciones en reformulación.

La reformulación de un producto puede conducir a diferentes modificaciones de su formulación original en cuanto a componentes y sus cantidades. Esto se puede lograr mediante:

1. Sustitución de un ingrediente menor no crítico.
2. Sustitución de un ingrediente menor crítico.
3. Sustitución de un ingrediente principal (también probablemente requiere un cambio en el proceso de producción).
4. Cambio en el proceso de producción(6).

La sustitución de un ingrediente por otro es probablemente el tipo más comúnmente adoptado de reformulación. En algunos casos, los fabricantes podrían sustituir un ingrediente similar comprado a un proveedor diferente, pero en otros casos, los fabricantes podrían sustituir un tipo de ingrediente por otro diferente. Mediante la sustitución de un ingrediente similar a un proveedor diferente, los fabricantes podrían obtener un ingrediente de mayor calidad o de otra fuente u otro proceso. Por lo tanto, se puede eliminar un potencial problema de salud. Sin embargo, si se asume que el fabricante optimiza la fórmula inicial, entonces cada ingrediente tiene una función. Si un ingrediente se elimina para evitar un impacto regulatorio, se debe encontrar un material similar para realizar su(s) función(es) (5).

1.2 Consideraciones generales sobre cosméticos.

La palabra cosmético se deriva de la palabra griega " kosm tikos ", que significa que tiene poder y habilidad para la decoración (7). El origen de los cosméticos y su evolución ha estado ligado al propio surgimiento y desarrollo del hombre. El hombre en tiempos prehistóricos, 3000 a.C, utilizaba colores para la decoración, con el objetivo de atraer a los animales que deseaba cazar. También sobrevivió al ataque del enemigo por la aplicación de colorantes a su piel y con el empleo de adornos en su cuerpo: que le servían de protección y para provocar miedo al enemigo (ya sea hombre o animal) (8). El origen de la cosmética se asocia con la caza, la lucha, la religión y la superstición, y más tarde se asocia con la medicina (7).

1.2.1 Cosméticos a base de plantas.

La belleza de la piel y el cabello de las personas dependen de la salud, hábitos, trabajo rutinario, condiciones climáticas, y de su mantenimiento (9). La piel se deshidrata durante el verano debido a la exposición excesiva al calor, que causa arrugas, pecas, manchas, pigmentación y quemaduras. Un intenso invierno causa daños a la piel que se manifiesta en forma de grietas, cortes, infecciones y maceración (10). Las enfermedades de la piel son comunes entre todos los grupos de edades y pueden deberse a la exposición a microorganismos, agentes químicos, toxinas biológicas presentes en el medio ambiente, y también, en cierta medida a la desnutrición (11).

Los cosméticos a base de plantas son los preparados que contienen fitoquímicos de una variedad de fuentes botánicas, que influyen en las funciones de la piel y proporcionan los nutrientes necesarios para la salud de la piel o el pelo (12). Las plantas y sus productos también se utilizan por su valor aromático en preparaciones cosméticas. A estos cosméticos se les denomina cosméticos a base de plantas (13).

Los cosméticos a base de plantas se formulan utilizando diversos ingredientes cosméticos permisibles para formar la base en la que uno o más ingredientes de plantas se utilizan para proporcionar beneficios cosméticos únicamente definidos (14).

A partir de la década de los 90 los fabricantes de cosméticos adaptaron el término "cosmecéuticos" para describir los productos para el cuidado de la piel, que reivindica el beneficio terapéutico mediante la adición de productos de plantas y/o ingredientes activos como el alfa-hidroxiácido, ácido retinoico, ácido ascórbico y la coenzima Q10 (15). Estos ingredientes activos sirven para muchos propósitos como el aumento de la elasticidad de la piel, retraso en el envejecimiento de la piel, reducción de las arrugas, protección contra las radiaciones, con propiedades antioxidantes y para restaurar la degradación del colágeno (16).

Dentro de los requisitos para su empleo, la Ley de Fármacos y Cosméticos especifica que las plantas y aceites esenciales utilizados en los cosméticos no deben pretender penetrar más allá de las capas superficiales de la piel ni deben tener ningún efecto terapéutico (16). El requisito legal y los procedimientos de regulación para los

cosméticos a base de plantas son los mismos que el de otros ingredientes químicos utilizados en formulaciones cosméticas (17).

Dentro de los productos naturales empleados en cosméticos se incluyen, para pieles normales: los aceites esenciales de manzanilla, geranio, limón y rosa; para pieles secas: plantas como aloe vera, caléndula, el aceite de oliva, los aceites esenciales de manzanilla, geranio, limón, rosa, almendra y aguacate; y para pieles grasas: plantas como aloe vera, lavanda, brotes de rosa, aceites esenciales de geranio, limón (14).

Remedios herbarios que se emplean para problemas especiales de la piel incluyen, para piel agrietada: aplicación de aceites de oliva, aguacate después de un baño o masaje con aceite de oliva caliente, mostaza o aceite de coco media hora antes de bañarse; para piel sensitiva: aceite esencial de manzanilla, lavanda y rosa (14).

Dentro de las plantas con aplicaciones cosméticas para el cuidado de la piel se describen: el bulbo de *Allium sativum*, que promueve la cicatrización, así como por sus propiedades antibacterianas; las hojas de *Aloe vera* por sus efectos humectante, protector solar y emoliente; las hojas de *Azadirata indica* por sus acciones antisépticas, antibacterianas y reducción de puntos negros; las flores de *Calendula officinalis* por sus propiedades antiinflamatoria y antiséptica.(14).

Los cosméticos a base de plantas se pueden agrupar en las categorías principales siguientes: (14)

- La cosmética para mejorar el aspecto de la piel facial.
- La cosmética para el crecimiento del cabello y su cuidado.
- Cosméticos para el cuidado de la piel, especialmente en la adolescencia (18).
- Champús, jabones, polvos y perfumería, etc.
- Productos diversos.

1.2.2 Activos naturales en cosméticos.

Las plantas juegan un papel importante, especialmente en los tiempos modernos, cuando los efectos dañinos de la elaboración de alimentos y sobremedicación han alcanzado proporciones alarmantes. Actualmente se están empleando cada vez más

las plantas en la elaboración de cosméticos, alimentos y tés, así como en la medicina alternativa. El interés creciente en las plantas es una parte del movimiento hacia el cambio en los estilos de vida. Este se basa en la creencia de que las plantas tienen un enorme potencial para su uso curativo (19).

- **Manzanilla (*Matricaria chamomilla*)**

Matricaria chamomilla, conocida como manzanilla, es una planta anual de la familia compuesta *Asteraceae*. También se utiliza en cosmética, principalmente para hacer un enjuague para el cabello rubio y tiene un colorante amarillo para las telas (20).

La manzanilla alemana (*Matricaria recutita* o *Chamomilla recutita*), una de las 12 plantas medicinales más utilizadas, (21) ha sido reconocida por su uso en la terapéutica, y por sus propiedades calmantes, desde la edad de Hipócrates. Se consideraba que impartía beneficios cutáneos significativos, tales como la mejora de la textura y la elasticidad, así como la reducción del prurito y de los signos de daño solar. Ensayos químicos han sugerido que la manzanilla exhibe alguna actividad antioxidante. Se incluye en formulaciones para la piel como emoliente y para proporcionar acción antiinflamatoria para pieles sensibles (22).

Sus aplicaciones en la terapia a base de plantas incluyen, por vía tópica, su utilización como lavajos para ojos cansados, y en forma de cataplasma o crema para erupciones leves o abrasiones de la piel (23).

- **Sábila (*Aloe vera*)**

El *Aloe vera*, también conocido como *Aloe barbadensis*, contiene un gel mucilaginoso incoloro producido por las células parenquimatosas en las hojas frescas. (24). Es similar a la planta de un cactus, con hojas verdes en forma de daga, carnosas, estrechas, espinosas y rellenas de un gel viscoso transparente (25). Esta planta es común en la medicina tradicional china y ayurvédica (la medicina tradicional de la India). Los chinos describen al aloe y al revestimiento interior de sus hojas como un remedio amargo para el resfriado, y se utiliza para curar el estreñimiento debido a la acumulación de calor (26), el gel se considera fresco y húmedo. En la medicina

ayurvédica, tiene múltiples usos incluyendo: laxante, antihelmíntico, remedio para las hemorroides, y estimulante uterino. Se utiliza por vía tópica, a menudo en combinación con la raíz de regaliz, para tratar el eczema o la psoriasis. En la medicina árabe, el gel fresco se utiliza en la frente como un remedio para el dolor de cabeza o se frota sobre el cuerpo para que se enfríe en caso de fiebre, además de ser utilizado para la curación de heridas, conjuntivitis y como desinfectante y laxante. El gel se ha utilizado ampliamente en los trastornos gastrointestinales, incluyendo úlcera péptica, y su eficacia clínica se ha documentado (27).

A. vera contiene más de 75 nutrientes y 200 compuestos activos, incluyendo las vitaminas, enzimas, minerales, azúcares, lignina, antraquinonas, saponinas, ácido salicílico y aminoácidos (28). Numerosos estudios científicos demuestran sus propiedades analgésicas, antiinflamatorias, cicatrización de heridas, inmunomoduladoras, antitumorales, antivirales, antibacterianas y antifúngicas. Los productos de *A. vera* se utilizan principalmente en las industrias cosmética, farmacéutica y alimentaria. En la actualidad el gel es un ingrediente activo en cientos de lociones para la piel, protectores solares y cosméticos (29).

Usos en la cosmética de *Aloe vera*:

A. vera se incluye en formulaciones antienvjecimiento únicas para mantener una piel fresca y saludable. Los poderes curativos de la planta son los más ampliamente promocionados para el tratamiento de enfermedades de la piel. Estas condiciones incluyen la psoriasis, tejas (enfermedad causada por el herpes zóster) y otras asociadas con picazón; además, se dice que los cortes, abrasiones y quemaduras se pueden eliminar por la aplicación tópica del gel de la hoja en las zonas afectadas. Los ingredientes activos poseen propiedades antiinflamatorias y se ha reportado para aliviar el dolor y la inflamación, asociados con picores y quemaduras. Su acción cosmética es antiinflamatoria, calmante, tonificante, hidratante y protectora (30),(31). Las enzimas y los aminoácidos que están en el gel, le aportan propiedades especiales como un producto para el cuidado de la piel. El gel estimula el crecimiento celular y como tal mejora la restauración de la piel dañada. Hidrata la piel, ya que tiene capacidad para la

retención de agua. Esta humedad sobre la piel también tiene un efecto de enfriamiento (32).

Además del gel, se emplea el extracto hidroalcohólico de la planta. El mismo forma parte de productos de maquillaje por sus efectos cicatrizantes debido a su contenido de mucílago. Este extracto, además, posee actividad antifúngica in vitro (33).

El extracto de *Aloe vera* trata quemaduras inducidas por ácido sulfúrico en conejos, y actúa como un antibacteriano mediante la inhibición de *Staphylococcus aureus*. Se recomienda su uso en pacientes y animales para el tratamiento de la picazón, heridas, quemaduras y en la cosmética (34).

Recomendaciones para la aplicación en cosméticos:

El *Aloe vera* es extremadamente versátil en su uso y sus nuevos campos de aplicación son cada vez más evidentes. Estos se extienden desde las lociones corporales y cuidado de los tejidos de la piel a los desodorantes, geles de baño, mascarillas y productos solares. Por lo tanto, las recomendaciones de aplicación se basan en los cosméticos para la hidratación y cuidado de la piel, en caso de irritaciones. En cuanto a la aplicación dermatológica, se utiliza para la cicatrización de heridas en caso de acné y quemaduras (35).

Cremas de reparación y protección UV

Aloe vera en crema para la piel tiene las propiedades de suprimir las espinillas, nutrir y mantener la humedad, eliminar la piel muerta y resistir el envejecimiento. Esta crema también es útil para las manchas causadas por los azotes de la edad y del medio ambiente, disminuyendo su tamaño e intensidad progresivamente (36).

- **Propóleo**

El propóleo es una sustancia resinosa recolectada por las abejas (*Apis mellifera*) a partir de yemas, brotes y peciolos de las hojas de diferentes vegetales, que se mezclan en la colmena con ceras y secreciones salivales. De acuerdo a varios autores, este compuesto posee actividad antifúngica, antibacteriana, antiviral y antiparasitaria.

Otros estudios han demostrado que tiene propiedades como antioxidante, anticancerígeno y antiinflamatorio (37).

La composición química del propóleo es muy compleja: contiene más de 160 componentes activos, entre ellos flavonoides, ácido benzoico, ácido caféico y sus derivados. Se ha propuesto que su actividad biológica depende de muchos factores y, por lo tanto, ha sido asociada a la región geográfica, la temporada de recolección, el tipo de vegetación, la especie de abeja y el solvente usado para su extracción (38),(39).

En la actualidad existe en el mercado farmacéutico internacional una infinita gama de productos que usan el propóleo y cada vez adquiere más importancia en las farmacopeas y en la cosmética moderna debido a sus valiosas propiedades terapéuticas. Se le puede encontrar en tres formas de presentación: sólida (en pasta para masticar, granulado o en polvo); semisólida (pomadas y ungüentos); y líquida (solución alcohólica o acuosa).

En el área dermatológica es donde más aplicaciones se encuentran, principalmente para procesos tales como abscesos, forúnculos, supuraciones diversas, sabañones, grietas, verrugas, callosidades, eczemas y psoriasis, entre otros.

En cosmética su utilización es creciente, pues por sus propiedades antimicrobianas se le incluye en productos de higiene personal como sustancia activa en desodorantes y jabones. Por sus propiedades regenerativas y antioxidantes, el extracto de propóleo es comercializado en la industria cosmética para ser incluido en formulaciones de cremas regenerativas para piel madura o dañada, cremas antiarrugas, cremas para piel grasa propensa al acné, en productos para contorno de ojos, productos solares, para el cuidado del cabello en general y sobre todo para cabellos finos que tienden a quebrarse (40).

- **Miel de abejas**

La miel es definida según el Codex Alimentarius como: “la sustancia dulce natural producida por las abejas obreras a partir de las flores o secreciones de partes vivas de las plantas o de excreciones de insectos succionadores de plantas que quedan sobre

las partes vivas, que las abejas recogen, transforman y combinan con sustancias específicas propias y almacenan y dejan en el panal para que madure y añeje” (41).

La miel posee al menos 181 compuestos que se encuentran en menor proporción, que le dan las propiedades funcionales (42). Entre estos podemos mencionar: ácidos fenólicos y flavonoides, enzimas como la glucosa oxidasa y catalasa, ácido ascórbico, carotenoides, proteínas, aminoácidos, y α -tocoferol (43). La composición de la miel varía de acuerdo a la flora, clima, las condiciones ambientales del lugar donde se encuentren las abejas, así como de su posterior procesamiento por los humanos (42).

La miel tiene acción benéfica sobre la piel a causa de sus propiedades nutritivas, emolientes y bactericidas, que la convierten en un excelente cicatrizante (44). También nutre los tejidos epiteliales y las ramificaciones nerviosas subcutáneas. Así, la miel tiene buenas aplicaciones en cosmética a causa de sus propiedades demulcentes, antiinflamatorias, epitelizantes, emolientes, hidratantes, refrescantes y tonificantes. Se puede utilizar en forma de lociones, geles, emulsiones, soluciones, cremas, jabones, ungüentos y pastas (45).

Como se ha indicado, la miel no sólo suaviza la piel, sino que además la nutre y gracias a su propiedad higroscópica, absorbe las secreciones cutáneas y actúa como desinfectante. Del mismo modo, la miel proporciona elasticidad y tersura a la piel, borrando arrugas y asperezas (45).

1.3 Emulsiones cosméticas para la piel.

Las emulsiones constituyen uno de los sistemas más empleados en cosmética, en especial para aplicación en la piel. En una emulsión las propiedades de sus ingredientes activos y la extensibilidad de sus componentes se ven incrementadas (46).

Una emulsión puede definirse como un sistema disperso que consiste en pequeños glóbulos de la fase dispersa líquida (fase interna o discontinua) que se distribuyen en un vehículo inmiscible (medio de dispersión fase externa o fase continua). Un agente emulsionante tipo tensoactivo posee grupos tanto hidrófilos como hidrófobos y se utiliza de forma rutinaria para estabilizar la emulsión. El tensoactivo adsorbido en la interface

agua/aceite reduce la tensión interfacial y ayuda en la distribución de los pequeños glóbulos en el medio de dispersión (47). Hoy en día se utilizan comúnmente en cosméticos dos tipos de emulsiones, independientemente del tamaño de los glóbulos: (a) aceite en agua (O / W), que se utiliza en cosmética general, y (b) agua en aceite (W / O), que se utiliza para la piel seca y como emoliente (por ejemplo en cremas hidratantes). El sistema de emulsión O / W consiste en una fase oleosa interna (hasta 55%) y una fase acuosa externa. El agente emulsionante, en este caso, tiene que ser de naturaleza hidrófila y puede ser iónico o no iónico. Por el contrario, el sistema de emulsión W / O consiste en una fase acuosa interna (hasta 45%) y una fase oleosa externa. El agente emulsionante tiene que ser de naturaleza lipófila. Otro tipo de emulsión, que rara vez se utiliza debido a su complejidad e inestabilidad, son las emulsiones múltiples. Se pueden producir los sistemas de emulsión agua-aceite-agua (W / O / W) (W / O, más emulsionante hidrófilo) o aceite-agua-aceite (O / W / O) (O / W más emulsionante hidrófobo) (48).

Además, se pueden distinguir tres tipos de emulsiones dependientes del tamaño: (i) las macro-emulsiones (gotas de 1 a 100 micras de diámetro), también conocidas como emulsiones / coloides convencionales, que son inestables en el sentido de que las gotas pueden sedimentar o flotar en función de las densidades de la fase dispersa y del medio de dispersión, y no se estabilizan por adsorción de partículas sólidas en su superficie (49); (ii) las micro-emulsiones (gotas de 1-100 nm de diámetro, por lo general entre 10-50 nm), que son un sistema líquido isotrópico, y si se compara con las macro-emulsiones son más transparentes, uniformes / homogéneas en tamaño, menos viscosas, muestran más baja tensión interfacial debido al uso de co-tensoactivos (alcoholes de cadena corta), así como una mayor estabilidad termodinámica y una mayor biodisponibilidad (50). En farmacia y cosmética, las micro-emulsiones ofrecen la mejor opción; (iii) las nanoemulsiones (gotas de 20 nm a 200 nm de diámetro), que al igual que las microemulsiones son transparentes o translúcidas y estables. Curiosamente, necesitan menos cantidad de agente emulsionante en comparación con las micro-emulsiones. Los sistemas de nano-emulsión se han utilizado recientemente como vehículo para la administración de fármacos no esteroideos antiinflamatorios y

esteroideos, para la administración dirigida de fármacos contra el cáncer y en cosméticos (51).

Las emulsiones tienen gran valor en cosmética debido a que se pueden emplear con propósitos cosméticos generales y pueden incorporar ingredientes activos con efectos cosméticos específicos. Recientemente, debido a sus propiedades beneficiosas, los extractos naturales de plantas y productos derivados de estos se han incorporado en este tipo de sistema. La mayoría de estos ingredientes activos provienen de fuentes naturales, tales como aceites de oliva y almendra, extractos de diferentes partes de plantas y aceites esenciales. Dentro de las emulsiones de mayor aceptación por los consumidores se destacan las del tipo O / W debido a que son bases lavables (46). Las emulsiones forman parte de las cremas cosméticas limpiadoras, humectantes, "Cold Creams", cremas para los ojos, protectores solares, entre otros (52).

Dentro de los usos más frecuentes de las emulsiones cosméticas en la actualidad se destaca la prevención del envejecimiento. El envejecimiento de la piel, el órgano más grande en el cuerpo humano, es un proceso gradual que implica tanto a moléculas (por ejemplo, especies reactivas de oxígeno intrínsecas (ROS) y factores ambientales (por ejemplo, la radiación ultravioleta) (53),(54). Durante este proceso, la apariencia y funciones de la piel se alteran (por ejemplo, estimulando la liberación de colagenasa, elastasa y hialuronidasa de la matriz extracelular (ECM)) (55). Los signos de envejecimiento de la piel son visibles en forma de arrugas, apariencia desigual de la pigmentación y atrofia de la piel. Una piel envejecida disminuye el bienestar social y la confianza en sí mismo. La aplicación tópica de cosméticos en forma de emulsiones, se utiliza a menudo en forma de lociones y cremas (por ejemplo, filtros solares). Contribuyen a recuperar cierto rejuvenecimiento y retrasar el proceso de envejecimiento fisiopatológico, en particular, debido a su contenido en antioxidantes (por ejemplo, los polifenoles, vitaminas C y E) (56), (57), (58).

1.4 Evaluación de la calidad de las emulsiones cosméticas.

Los parámetros a evaluar en el producto cosmético, relacionados con su calidad, dependen del tipo de producto cosmético. En todos los casos se incluye la evaluación

de las características organolépticas, que determinan la aceptación por el consumidor, e incluyen: color, olor, apariencia y sensación al tacto (59).

En las emulsiones cosméticas se describen como ensayos para el control de la calidad las características organolépticas, solubilidad, tipo de emulsión, pH, temperatura de fusión, contenido de agua, sustancias volátiles y grasas, acidez, índices de éster, de saponificación, de iodo y de peróxido, contenido de microorganismos y concentración de Cd, Hg, Pb y Ti. (60). Además, se incluye el comportamiento reológico, caracterizado por el tipo de flujo, presencia o no de tixotropía, de estructuras cristalinas líquidas que son deseadas en las emulsiones porque incrementan su estabilidad. El análisis sensorial se considera en este caso como otro aspecto importante en cuanto a la calidad de las emulsiones cosméticas (59).

También se evalúan, la extensibilidad, que juega un papel importante no solo en la eficacia del producto sino también en su aceptación por los consumidores, y las propiedades de oclusividad, muy relacionadas con la hidratación de la piel (61). Otras determinaciones son el tamaño de partícula (gota) y el potencial ζ (62).

En nuestro país se adoptan como oficiales las normas para los cosméticos establecidas por los organismos regulatorios de los Estados Unidos, la Unión Europea y Japón. Sin embargo la norma cubana de requisitos sanitarios para cosméticos en forma de cremas líquidas y sólidas solo especifica la determinación del pH, que debe estar entre 6.5 y 7.5 (63).

1.5 Estabilidad de las emulsiones cosméticas.

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 fases, aglomeración y formación de cremado; junto con el mantenimiento de su buen aspecto, color, olor y otras propiedades físicas. La estabilidad es una consecuencia del tamaño de gota pequeño y la presencia de una película interfacial de emulsionante sobre las gotas de las emulsiones, que las hacen

dispersiones estables. En emulsiones estables, las gotas dispersas no sedimentan, flotan ni se unen rápidamente (64, 65).

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 (66).

El cremado es lo contrario de la sedimentación y resultado de una densidad diferente entre las dos fases líquidas y crea un gradiente de concentración de las gotas, que dan como resultado un empaquetamiento compacto de las mismas. En la agregación, dos o más gotas se agrupan, tocándose solamente en ciertos puntos, y con prácticamente ningún cambio en el área de la superficie total. Por lo tanto, la agregación de las gotas se puede decir que se produce cuando se quedan muy cerca unas de otras por un tiempo mucho más prolongado que si no hubiera fuerzas de atracción que actúan entre ellas. Las especies conservan su identidad, pero pierden su independencia cinética debido a la agregación y se mueven como una sola unidad. La agregación de las gotas puede conducir a la coalescencia y la formación de gotas más grandes hasta que las fases se separan (64, 65).

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 (55). Para mejorar la estabilidad de las emulsiones se pueden incorporar agentes viscosantes en una concentración de 6 % respecto a la formulación total (67).

1.6 Estudios de estabilidad.

El objetivo de los estudios de estabilidad de los productos cosméticos es asegurar que un producto nuevo o modificado cumple con los estándares de calidad microbiológicos, químicos, físicos, así como de funcionalidad y estéticos cuando se almacena bajo condiciones apropiadas. Para cada tipo de fórmula se deben seleccionar los criterios pertinentes a evaluar de acuerdo a la experiencia de los productores. Debido a la amplia variedad de productos cosméticos y su inherente complejidad no es posible

establecer ensayos de estabilidad estándares (68). En la etapa inicial de desarrollo de un cosmético la estabilidad suele evaluarse mediante estudios acelerados, que se diseñan bajo condiciones en las que se incrementa la velocidad de ocurrencia de un cambio físico (coalescencia, floculación, cremado, etc) mediante condiciones exageradas o severas de temperatura, campo centrífugo, fuerza iónica, etc (69).

Antes de iniciar los estudios de estabilidad de emulsiones se recomienda someter el producto a la prueba de centrifugación. Se sugiere centrifugar una muestra a 3.000 rpm durante 30 minutos. El producto debe permanecer estable y cualquier señal de inestabilidad indica la necesidad de reformulación. Si cumple esta prueba, el producto puede ser sometido a las pruebas de estabilidad (70).

1.6.1 Estabilidad preliminar.

Esta prueba también es conocida como Prueba de Selección, estabilidad acelerada o de corto plazo, tiene como objetivo auxiliar y orientar en la elección de las formulaciones.

El estudio de estabilidad preliminar consiste en la realización de la prueba en la fase inicial del desarrollo del producto, utilizándose diferentes formulaciones de laboratorio y con duración reducida. Emplea condiciones extremas de temperatura con el objetivo de acelerar posibles reacciones entre sus componentes y el surgimiento de señales que deben ser observadas y analizadas conforme las características específicas de cada tipo de producto. Debido a las condiciones en que es conducido, este estudio no tiene la finalidad de estimar la vida útil del producto, sino de auxiliar en la selección de las formulaciones.

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

criterio del formulador, dependiendo de sus conocimientos sobre la formulación y los materiales de acondicionamiento.

La duración del estudio es generalmente de quince días y auxilia en la selección de las formulaciones. Las formulaciones en prueba son sometidas a condiciones de estrés buscando acelerar el surgimiento de posibles señales de inestabilidad. Generalmente las muestras son sometidas a calentamiento en estufas, enfriamiento en refrigeradores y a ciclos alternados de enfriamiento y calentamiento. Los valores generalmente adoptados para temperaturas elevadas pueden ser:

Estufa: $T = 37 \pm 20 \text{ }^{\circ}\text{C}$

Estufa: $T = 40 \pm 20 \text{ }^{\circ}\text{C}$

Estufa: $T = 45 \pm 20 \text{ }^{\circ}\text{C}$

Estufa: $T = 50 \pm 20 \text{ }^{\circ}\text{C}$

Los valores generalmente adoptados para bajas temperaturas pueden ser:

Nevera: $T = 5 \pm 20 \text{ }^{\circ}\text{C}$

Congelador: $T = -5 \pm 20 \text{ }^{\circ}\text{C}$ ó $T = -10 \pm 20 \text{ }^{\circ}\text{C}$.

Los valores generalmente adoptados para los ciclos son:

Ciclos de 24 horas a $40 \pm 20 \text{ }^{\circ}\text{C}$, y 24 horas a $4 \pm 20 \text{ }^{\circ}\text{C}$ - durante cuatro semanas.

Ciclos de 24 horas a $45 \pm 20 \text{ }^{\circ}\text{C}$ y 24 horas a $-5 \pm 20 \text{ }^{\circ}\text{C}$ – durante 12 días (6 ciclos).

Ciclos de 24 horas a $50 \pm 20 \text{ }^{\circ}\text{C}$ y 24 horas a $-5 \pm 20 \text{ }^{\circ}\text{C}$ – durante 12 días (6 ciclos).

En este tipo de estudio, las muestras se almacenan en condiciones distintas de temperatura, alternadas en intervalos regulares de tiempo (70).

Los parámetros que generalmente son evaluados pueden ser:

- Características Organolépticas: Aspecto, color, olor y sabor, sensación al tacto, cuando sea aplicable.
- Características físico-químicas: Valor de pH; materiales volátiles; contenido de agua; viscosidad; tamaño de la partícula; centrifugación; densidad;

granulometría; conductividad eléctrica; humedad; contenido de activo, cuando sea el caso.

1.6.2 Evaluación microbiológica.

La evaluación microbiológica permite verificar si la elección del sistema conservante es adecuada, o si la incidencia de interacciones entre los componentes de la formulación podrá afectar la eficacia (70),(68). Las pruebas normalmente utilizadas son: Prueba de desafío del sistema conservante (Challenge Test) y conteo microbiano.

Capítulo II:

*Materiales y
métodos*

Capítulo II: Materiales y métodos

2.1. Equipos y reactivos.

La presente investigación se realizó en el Departamento de Farmacia de la Facultad de Química y Farmacia de la Universidad Central de Las Villas, durante la etapa comprendida desde Febrero 2016 hasta Junio de 2016. La mayoría de los componentes de las cremas cosméticas fueron suministrados por el LPC-VC y poseen calidad cosmética o farmacéutica.

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

Instrumentos, equipos y reactivos utilizados

Instrumentos y equipos:

- ✦ Balanza analítica, Boeco, *Alemania*.
- ✦ Baño de María, MLW, *Alemania*.
- ✦ Balanza técnica, Gram Precisión, *España*.
- ✦ Estufa, Binder, *Alemania*.
- ✦ Agitador eléctrico, IKA, *Estados Unidos*.
- ✦ pH metro, HANNA, *Alemania*.
- ✦ Refrigerador, LG. *Chino*

Se empleó cristalería de laboratorio apropiada para cada ensayo.

Reactivos:

- ✦ Petrolato sólido, Grupo Empresarial LABIOFAM, *Cuba*
- ✦ Propilénglicol, Grupo Empresarial LABIOFAM, *Cuba*
- ✦ Ácido esteárico, UAM (Unidad Agropecuaria Militar) S. *Spíritus*
- ✦ LESS, Grupo Empresarial LABIOFAM, *Cuba*
- ✦ Benzoato de sodio, Grupo Empresarial LABIOFAM, *Cuba*
- ✦ Cloruro de sodio, Panreac, *Estados Unidos*.
- ✦ Alcohol estearílico, UAM (Unidad Agropecuaria Militar) S. *Spíritus*

- ✳ Extracto de sábila, UAM (Unidad Agropecuaria Militar) Santa Clara (Laboratorio de biopreparados).
- ✳ Aceite esencial de almendras dulces, suministrado por SUCHEL-REGALO, Cuba.
- ✳ Ácido clorhídrico, Panreac, Estados Unidos.

2.2. Valoración crítica de la emulsión base.

Se valoró la pertinencia de los componentes, sus concentraciones y del método de elaboración de la emulsión base de las cremas cosméticas que se elaboran en el LPC-VC, sobre la base de los requisitos que se exigen actualmente para estos productos en la literatura científica, regulaciones y normativas actuales. Para esto se partió de considerar la composición de las formulaciones, sus especificaciones de calidad y método de elaboración establecidos en el LPC-VC (**Tablas 2.1 y 2.2**). En base a este análisis se realizó la propuesta de cambios a la formulación y al método de elaboración.

Tabla 2.1 Composición de la crema cosmética de *Aloe vera* del LPC-VC (30 L).

| No | Componente | Cantidad | Función |
|----|------------------------------|-----------|------------------|
| 1 | Petrolato sólido | 1,5675 Kg | Hidratante, FO |
| 2 | Propilénglicol | 0,3025 Kg | Humectante |
| 3 | Monoestearato de glicerilo | 0,3175 Kg | Emulsionante |
| 4 | Ácido esteárico | 0,2775 Kg | Endurecedor, FO |
| 5 | LESS | 0,1750 Kg | Emulsionante |
| 6 | Benzoato de sodio | 0,1750 Kg | Preservo |
| 7 | Cloruro de sodio | 0.0440 Kg | Viscosante |
| 8 | Alcohol estearílico | 0.6350 Kg | Endurecedor, FO |
| 9 | Extracto de <i>Aloe vera</i> | 0,3075 L | Activo cosmético |
| 10 | Fragancia | 0.0625 L | Aromatizante |
| 11 | Agua destilada | 26,1100 L | Fase acuosa |

Método de elaboración:

El método de elaboración de las cremas cosméticas con activos naturales elaboradas en el LPC-VC es similar e incluye 13 pasos:

1. Pesar o medir los componentes de la formulación.

2. Disolver el cloruro de sodio en el LESS.
3. Añadir 1,5 L de agua al paso anterior (paso 2) y agitar hasta formar un gel.
4. Calentar el recipiente de elaboración con agua caliente y luego extraer el agua.
5. Fundir los componentes de la fase oleosa (ácido esteárico, alcohol estearílico y petrolato sólido) a más de 75 °C y pasarlos al recipiente caliente.
6. Añadir el gel elaborado en el paso 3, poco a poco, a la fase oleosa fundida con agitación (60 rpm).
7. Añadir el propilénglicol lentamente al paso anterior.
8. Agitar por 7 min.
9. Disolver el benzoato de sodio en una porción de agua y añadir la solución lentamente.
10. Calentar el resto del agua a temperatura superior a 75 °C.
11. Añadir el resto del agua con agitación (100 rpm).
12. Añadir el extracto y fragancia a temperatura por debajo de 40 °C, con agitación (100 rpm).
13. Agitar hasta temperatura ambiente (100 rpm).

Tabla 2.2 Especificaciones de calidad de la crema cosmética de *Aloe vera* del LPC-VC.

| No | Atributo | Especificación |
|----|--------------------|--------------------------------|
| 1 | Olor | Característico de la fragancia |
| 2 | Color | Blanco |
| 3 | Apariencia | Viscosa, cremosa |
| 4 | pH | 3,5-7 |
| 5 | Tiempo de duración | 3 meses |

2.3. Diseño de experimentos para el desarrollo de la emulsión cosmética.

Se realizó un diseño de experimentos factorial, con tres factores, (2³) y tres réplicas. Se emplearon como componentes de la formulación los que se describen en la **tabla 2.3**. Los factores (independientes) utilizados se describen en la **tabla 2.4**, y las 8 formulaciones que se obtienen a partir del mismo en la **tabla 2.5**. Las variables respuesta (variables dependientes) consideradas fueron: extensibilidad, densidad

aparente y pH. El orden de selección de las formulaciones para su preparación fue aleatorio atendiendo al diseño experimental.

Tabla 2.3 Composición de la emulsión cosmética de *Aloe vera* (100g) reformulada.

| No | Componente | Cantidad (%) | Función |
|----|-------------------------|-------------------|------------------|
| 1 | Petrolato sólido | 5.225 | Hidratante, FO |
| 2 | Propilenglicol | 1.0083 | Humectante |
| 3 | Ácido esteárico | 1.05 | Endurecedor, FO |
| 4 | LESS | 0.5 ó 1 | Emulsionante |
| 5 | Benzoato de sodio | 0.5833 | Preservo |
| 6 | Cloruro de sodio | 0.25 ó 0.5 | Viscosante |
| 7 | Alcohol estearílico | 2.1167 | Endurecedor, FO |
| 8 | Ácido clorhídrico (5 %) | 1 | Regulador de pH |
| 9 | Extracto de sábila | 1.025 | Activo cosmético |
| 10 | Fragancia | 0.20833 | Aromatizante |
| 11 | Agua destilada | 86.0333 | Fase acuosa |

Tabla 2.4 Factores (variables independientes) empleados en el diseño factorial 2³ para el diseño de la formulación.

| No | Factor | Nivel alto | Nivel bajo |
|----|------------------------|--------------|--------------|
| 1 | LESS | +1 = 1 % | -1 = 0.5 % |
| 2 | NaCl | +1 = 0.5 % | -1 = 0.25 % |
| 3 | Velocidad de agitación | +1 = 500 rpm | -1 = 100 rpm |

Se realizó la evaluación estadística mediante un ANOVA multifactorial. Para los análisis se utilizó el paquete de programas estadísticos Statgraphics Centurion XV versión 15.2.14 del 2007. Se realizó un análisis de varianzas para determinar la influencia de los factores concentración de LESS, NaCl y velocidad de agitación en las variables extensibilidad, densidad aparente y pH. En las comparaciones múltiples se utilizó el test de los intervalos LCD de Fisher.

Tabla 2.5 Componentes y velocidad de agitación empleados en las 8 formulaciones obtenidas en el diseño factorial 2^3 .

| Formulación | SSA (%) | NaCl (%) | Velocidad de Agitación (rpm) |
|-------------|---------|----------|------------------------------|
| 1 | 1 | 0.5 | 500 |
| 2 | 0.5 | 0.25 | 100 |
| 3 | 0.5 | 0.5 | 100 |
| 4 | 1 | 0.25 | 500 |
| 5 | 1 | 0.5 | 100 |
| 6 | 0.5 | 0.25 | 500 |
| 7 | 0.5 | 0.5 | 500 |
| 8 | 1 | 0.25 | 100 |

2.4. Método de elaboración de las formulaciones cosméticas.

Se prepararon 100 g de cada formulación obtenida mediante el diseño de experimentos. El proceso de elaboración se llevó a cabo a escala de laboratorio. Se elaboraron 2 lotes para cada formulación.

Procedimiento:

1. Se pesaron o midieron los componentes de la formulación.
2. Se preparó la fase acuosa:
 - a) Se disolvió el NaCl en 0,7 mL de agua.
 - b) Se añadió la solución de NaCl al LESS y se formó un gel con mínima agitación manual.
 - c) Se disolvió el benzoato de sodio, el propilénglicol y el gel de NaCl/LESS en el resto del agua a temperatura ambiente.
 - d) Se calentó la solución acuosa a 75 °C.
3. Se preparó la fase oleosa:
 - a) Se colocó el ácido esteárico en un beaker de 500 mL de capacidad, se calentó (75 °C) en baño de María hasta fusión.

- b) Se adicionaron inmediatamente el alcohol estearílico y el petrolato sólido al ácido esteárico fundido y se mezclaron hasta fusión de todos los componentes y homogenización (75 °C).
4. Se verificó que la temperatura de ambas fases, acuosa y oleosa, fuera de 75 °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 y se mantuvo en agitación hasta que la temperatura disminuyó a 40 °C.
 6. Se añadió la fragancia y el extracto de sábila, y se agitó hasta homogenización.
 7. Se dejó la emulsión en reposo hasta que alcanzó la temperatura ambiente.
 8. Se envasó la emulsión en frascos bien cerrados de vidrio ámbar con tapa de bakelita.

Las formulaciones elaboradas se mantuvieron a temperatura ambiente por un periodo de 48 horas hasta la realización de los ensayos de control de la calidad tecnológica y estabilidad física acelerada.

2.5. 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 2^3 se realizó a las 48 h de elaboradas y conservadas a temperatura ambiente. A todas las formulaciones se les realizaron los ensayos considerados como variables respuesta en el diseño de experimentos: extensibilidad, densidad aparente y pH. Además se realizaron otros ensayos: características organolépticas y tipo de emulsión, según se describe más adelante en este epígrafe.

Las mediciones de los parámetros se realizaron 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, apariencia, brillo, homogeneidad y presencia de grumos, según la Norma Cubana 1085/2015 (71) que establece los métodos de ensayos para pruebas organolépticas de cosméticos.

- **Tipo de emulsión.**

El tipo de emulsión, directa o inversa, se determinó para todas las formulaciones mediante dos ensayos, la prueba de dilución y la de lavado.

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 / W) si tras la dilución la preparación toma aspecto lechoso; es una emulsión inversa, agua/aceite (W / O) si no permite dilución: el agua se separa 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 sobre la misma agua corriente y se trató 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 / W) si se puede lavar completamente; es una emulsión inversa, agua/aceite (W / O) si no se puede lavar completamente.

- **Extensibilidad.**

Se colocaron 2 g exactamente pesados 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 peso 467.8 g. A los 5 minutos se midió la distancia desde el punto de aplicación a los bordes en las 8 direcciones. Se determinó el área de la circunferencia formada por la emulsión, empleando la siguiente ecuación:

$$E=A= \pi [(r_1 + r_2 + r_3 + r_4 + r_5 + r_6 + r_7 + r_8)/8]^2$$

Dónde:

E = Extensibilidad del producto (cm²).

A = Área de la circunferencia formada (cm²).

π = Constante (3.1416).

r₁, r₂, r₃, r₄, r₅, r₆, r₇ y r₈ = Radios de la circunferencia formada por la emulsión (cm).

- **Densidad aparente**

La densidad aparente se determinó a las emulsiones en estudio según procedimiento establecido en la Norma Cubana 1086: 2015 (72) que establece el método de ensayo para la determinación de la densidad aparente en cosméticos semisólidos.

Procedimiento:

Se llenó una probeta de 10 mL con la emulsión, añadiéndola lentamente de forma constante y dejándola correr por las paredes para evitar que quedara aire ocluido. Se golpeó no menos de 10 veces suavemente la probeta sobre una toalla doblada para eliminar la posible incorporación de aire. Se añadió la cantidad necesaria de emulsión para completar un volumen de 10 mL. La densidad aparente se calculó según la siguiente ecuación:

$$\text{Densidad aparente} = \frac{P_1 - P_0}{V} \text{ (g/mL)}$$

Donde:

P_0 = Peso de la probeta vacía (g)

P_1 = Peso de la probeta con la muestra de ensayo (g)

V = Volumen de la probeta ocupado por la muestra de ensayo (mL)

- **pH**

Se dispersó aproximadamente 1 g del producto en 10 mL de agua destilada y se midió el pH en un pH metro a 28 ° C. Se determinó el pH a las emulsiones en estudio según procedimiento establecido en la Norma Cubana 836: 2011 (73) que establece el método de ensayo para la determinación del pH en cosméticos.

2.6 Estabilidad física acelerada de las formulaciones obtenidas mediante diseño experimental.

A todas las formulaciones obtenidas mediante el diseño experimental se les evaluó la estabilidad física mediante tres métodos acelerados: la prueba de centrifugación y los ensayos ciclos frío/calor y ciclos congelación/descongelación.

- **Prueba de centrifugación.**

Se colocaron, aproximadamente, 10 mL de la emulsión en un tubo de centrifuga graduado. Se colocó el tubo en una centrifuga y se mantuvo a 3000 r.p.m., a temperatura ambiente, durante 30 min. Al cabo de este tiempo se observó visualmente la aparición de cualquier signo de inestabilidad física (cremado, coalescencia, separación de fases). Se considera que la emulsión debe poseer una estabilidad física satisfactoria si al finalizar el ensayo no se detecta ninguno de los signos de inestabilidad mencionados.

- **Ciclos frío/calor.**

Se colocó una porción de la emulsión de alrededor de 2 mL en un tubo de ensayo y se mantuvo a 5 °C en el refrigerador durante 24 h. Transcurrido este tiempo se pasó la misma muestra a una estufa regulada a 40 °C, y se mantuvo a esta temperatura durante 24 h. Este ciclo se repitió 2 veces. Al final de los 2 ciclos se observó visualmente la aparición de cualquier signo de inestabilidad física (cremado, coalescencia, separación de fases). Se considera que la emulsión debe poseer una estabilidad física satisfactoria si al finalizar el ensayo no se detecta ninguno de los signos de inestabilidad mencionados.

- **Ciclos congelación/descongelación.**

Se colocó una porción de la emulsión de alrededor de 2 mL en un tubo de ensayo y se mantuvo a -5 °C en el refrigerador durante 24 h. Transcurrido este tiempo se pasó la misma muestra a una estufa regulada a 40 °C, y se mantuvo a esta temperatura durante 24 h. Este ciclo se repitió 2 veces. Al final de los 2 ciclos se observó visualmente la aparición de cualquier signo de inestabilidad física (cremado, coalescencia, separación de fases). Se considera que la emulsión debe poseer una estabilidad física satisfactoria si al finalizar el ensayo no se detecta ninguno de los signos de inestabilidad mencionados.

2.7 Propuesta de formulación definitiva.

Se elaboraron diferentes formulaciones las cuales se obtuvieron mediante diseño de experimentos, que implicaron la realización de cambios mínimos en cuanto a concentración de LESS, NaCl, ácido esteárico, alcohol estearílico y temperatura de calentamiento de las fases acuosa y oleosa. A todas las formulaciones propuestas se les evaluó la presencia de grumos. Se escogieron para evaluación del control de la calidad y estabilidad física acelerada las que no presentaron grumos y tuvieron buenas propiedades organolépticas. La formulación que mejores resultados mostró se sometió a los mismos ensayos que a las obtenidas mediante diseño de experimentos, descritos en los acápites 2.5 y 2.6 del presente trabajo.

.

Capítulo III:

*Resultados y
discusión*

Capítulo III: Resultados y discusión

3.1 Valoración crítica de la emulsión base del LPC-VC.

La inestabilidad en el suministro de materias primas para la elaboración de formulaciones cosméticas en el LPC-VC pone en riesgo la satisfacción de las demandas de los consumidores en cuanto a algunos de sus productos. Dentro de los más demandados por la población y de mayor indicación por los dermatólogos están las cremas cosméticas a base de productos naturales: manzanilla, sábila, miel de abejas y propóleo. Estas poseen una emulsión base común en cuanto a tipo y contenido de componentes, y se elaboran por el mismo método. Actualmente se puede ver comprometida la satisfacción de sus demandas debido a la carencia de uno de los emulsionantes que la componen, el monoestearato de glicerilo.

En el presente trabajo se escogió la crema de *Aloe vera* para todos los estudios de reformulación porque los resultados que se obtengan con ella pueden ser extrapolables al resto debido a la similitud en su composición. Los resultados que se obtengan con esta crema deben corroborarse con el resto de los activos naturales.

- **Emulsionante**

El emulsionante es un componente fundamental en cualquier emulsión, pues de su adecuada selección y concentración dependen la calidad tecnológica y estabilidad física de este tipo de sistema disperso. La emulsión base de las cremas con activos naturales del LPC-VC posee dos emulsionantes, el LESS y el monoestearato de glicerilo. Con vistas a modificar en la menor medida posible la formulación original nos propusimos evaluar la posibilidad de emplear un solo emulsionante en la nueva propuesta, el LESS, debido a sus propiedades.

El LESS es una sustancia superficialmente activa aniónica que puede funcionar como emulsionante mediante diferentes mecanismos. Puede estabilizar la emulsión por formación de una barrera mecánica y, al ser iónico, por estabilización electrostática. Es efectivo en un intervalo de pH amplio, tanto en soluciones ácidas como alcalinas y en agua dura (74).

Es un líquido viscoso, con excelente solubilidad en agua, detergencia, rápida mojabilidad, alto poder espumante y características como emulsionante y espesante en presencia de electrolitos, tales como NaCl y NH₄Cl. La presencia del óxido de etileno aumenta la resistencia a la dureza del agua en estos compuestos y reduce la irritación de la piel y de los ojos en comparación con los lauril sulfatos correspondientes (no etoxilados). Debe emplearse a valores de pH superiores a 3 para evitar la hidrólisis del radical sulfato. Su solución acuosa al 1 % p/p posee un pH entre 6.5 y 8.5. Es completamente biodegradable (75).

LESS se ha empleado históricamente en numerosos tipos de productos cosméticos, tales como champús para niños y adultos, maquillaje para los ojos, removedor de maquillaje para los ojos, acondicionadores para el cabello, bases de maquillaje, loción para después del afeitado, preparaciones para el cuidado de las manos y el cuerpo, humectantes, preparaciones para el cuidado de la piel. Las concentraciones en que se ha empleado varía entre 0.1 % y 50 %, en función del tipo de preparado cosmético. En el caso particular de las preparaciones para el cuidado de la piel estas varían entre 0.4 % y 11 %. A pesar de que puede provocar irritación ocular y dérmica en algunas personas, al igual que otros surfactantes, un organismo independiente de la industria cosmética de los Estados Unidos, el CIR (siglas en inglés de *Cosmetic Ingredient Review*), considera que es un ingrediente seguro en sus usos actuales en productos cosméticos. Esta irritación es bastante común cuando se emplea en concentraciones superiores al 2 % (76), (52).

Además, este tensoactivo posee la cualidad de formar complejos moleculares con alcoholes grasos lo que contribuye muy notablemente a la consistencia y a las propiedades de absorción de la preparación. Este efecto, sumado al hecho del incremento de la consistencia de las preparaciones con LESS por la adición de electrolitos puede conducir a un mayor grado de consistencia y estabilidad física, con un menor requerimiento de emulsionante y de fase oleosa (77).

Por todas estas razones se valoró mantener al LESS como único emulsionante y emplearlo en concentraciones entre 0.5 % y 1 %. Además, mantener el cloruro de sodio y el alcohol estearílico como componentes de la emulsión.

- **Preservo**

En los preparados cosméticos y farmacéuticos no estériles, con elevado contenido de agua se requiere de preservos, para evitar su contaminación microbiológica. El empleado en la formulación de partida del LPC-VC es el benzoato de sodio. Estudios recientes de toxicidad, por diferentes vías de administración, hacen que sea considerado por el CIR (de sus siglas en inglés: *Cosmetic Ingredients Review*) como un ingrediente seguro en concentraciones de hasta el 5 %. Es muy soluble en agua (1 g se disuelve en 1.8 mL de agua), es un secuestrante de radicales hidróxido y se emplea en concentraciones entre 0.1 % y 0.5 % en cosméticos. La mayor limitante en su empleo está dada porque es efectivo en un intervalo de pH estrecho. Posee propiedades bacteriostáticas y antifúngicas y su eficacia conservante es mejor en soluciones ácidas (pH 2-5) (78). Sin embargo, el pH de la formulación original del laboratorio de cosméticos con extracto hidroalcohólico de *Aloe vera* posee un valor de 5.69, ligeramente superior al requerido para la efectividad del preservo.

Estas razones justifican que se mantenga el benzoato de sodio como preservo en las emulsiones cosméticas que se propongan; con la consideración de que el pH de la preparación se ajuste a un valor en el que sea efectivo.

- **pH**

El pH de la crema cosmética de *Aloe vera*, como ya se mencionó es de 5.69, que no satisface los requerimientos del conservante microbiológico de la emulsión. Sin embargo, en la selección del pH final de un preparado para aplicación en la piel se deben considerar otros aspectos, tales como los requerimientos fisiológicos. Se considera que el "manto ácido", que consiste en una mezcla delgada de sudor y sebo que cubre la capa externa del estrato córneo, es un tema de importancia clínica. Recientemente, se ha relacionado con la función vital del estrato córneo. A pesar de la evidencia convincente de la ciencia básica, que coloca al pH de la piel como un factor clave en la homeostasis de la barrera, la integridad de la capa córnea, y la defensa antimicrobiana, la aplicación del concepto manto ácido en la atención clínica es insuficiente. Reconocer los factores que alteran el pH de la piel, diseñar y seleccionar

productos que preserven el manto ácido es de primordial importancia en el tratamiento de pacientes dermatológicos (79), (80).

La piel tiene un pH ácido, ligeramente inferior a 5, del orden de 4.7. Los cambios abruptos en el mismo pueden conducir a irritación cutánea, por esto la industria cosmética en la actualidad tiene como práctica adaptar el pH de las preparaciones cosméticas al pH de la piel normal (52). Además, aplicar cosméticos que conserven el pH normal de la piel favorece que se mantenga unida a ella la microflora residente, o “buena”, que protege del ataque de microorganismos patógenos; acelera los procesos de reparación de la función barrera dañada e incrementa la resistencia a la aparición de dermatitis irritante (81).

Por otra parte, se ha demostrado que en los ancianos se produce un incremento del pH de la piel, y por tanto, una disminución de la capacidad barrera y de otras funciones fisiológicas de este órgano. Se sugiere que los productos para el cuidado de la piel, en este caso, deben formularse con un pH de 4 para normalizar el incremento que se produce con la edad (82).

Además, muchas dermatosis se caracterizan por la alteración del pH, tales como la dermatitis atópica; el acné (*P. acnés* crece bien a pH entre 6 y 6.5 y disminuye su crecimiento a pH inferior a 6); prurito urémico en pacientes con hemodiálisis; *Tinea pedis*, dermatitis irritante por contacto e intertrigo por *Cándida*; en todos los casos caracterizados por un incremento del pH de la piel (83).

Por estas razones se decidió ajustar el pH de la formulación a valores entre 4.5 y 5. Con estos fines se utilizó una solución de ácido clorhídrico al 5 %. El HCl está incluido en la base de datos de ingredientes inactivos de la FDA (soluciones dentales, inyecciones epidurales, intramusculares, subcutáneas, intravenosas, preparaciones tópicas y oftálmicas, soluciones orales, nasales, óticas e inhalaciones). Además, se emplea como agente acidificante, generalmente como ácido diluido (78).

- **Otros componentes**

El resto de los componentes de la formulación original se consideró debían mantenerse durante la reformulación. El ácido esteárico, el alcohol estearílico y el petrolato sólido

forman parte de la fase oleosa. Se encuentran en pequeña proporción dentro de la formulación, lo que no afecta la consistencia final del preparado debido a la influencia del complejo molecular LESS/alcohol estearílico y al gel LESS/NaCl. El ácido esteárico aporta consistencia a la emulsión y se describe como promotor de la absorción química por perturbación selectiva de las bicapas lipídicas intracelulares (81, 84), lo que favorecería el efecto de los activos naturales presentes en las cremas en estudio.

El alcohol estearílico también funciona como endurecedor de la emulsión por su naturaleza grasa (78) y porque forma un complejo molecular con el LESS. Los tres componentes de la fase oleosa son muy importantes para favorecer la hidratación de la piel. El empleo de lociones y cremas es, típicamente, la mejor forma para hidratar la piel, debido a la presencia de humectantes, emolientes y agentes oclusivos. El petrolato es un agente oclusivo que evita que la piel se seque por la formación de una barrera sobre el estrato córneo, que evita la pérdida de agua transepidérmica. Los humectantes, como el propilenglicol tienen la capacidad de retener la humedad por ser higroscópicos, retardando la evaporación de agua de la formulación y favoreciendo la hidratación de la piel (84).

- **Método de elaboración**

Los pasos que incluye el método de elaboración de la crema de *Aloe vera*, descritos en el capítulo de materiales y métodos del presente trabajo (**Acápite 2.2**) son numerosos. Los componentes de la formulación solubles en agua no se incorporan a la fase acuosa antes de la adición de esta a la oleosa, lo que supone una metodología más engorrosa. La etapa crítica está dada por la formación del gel entre el LESS y el cloruro de sodio porque se disuelve la sal directamente en el tensoactivo, lo cual es un proceso largo y tedioso.

En este sentido, en la literatura consultada se establece que cuando el cloruro de sodio se usa como viscosante, el LESS puede incorporarse a la formulación en frío. Para esto la cantidad requerida del mismo se disuelve en la menor cantidad de agua absolutamente necesaria para obtener una solución (solución saturada). La solución de esta sal debe adicionarse al LESS con agitación hasta que la mezcla se vuelva fluida.

Seguidamente, el agua remanente se puede adicionar sin dificultad. Si la incorporación de la sal no se realiza de esta forma se recomienda que el LESS se disuelva en agua caliente, alrededor de 80 °C, con agitación. A continuación podrían adicionarse el resto de los componentes. Como regla general el cloruro de sodio no debe añadirse en estado sólido sino en forma de solución acuosa (85).

Con vistas a lograr un método de preparación más sencillo y que consuma menos tiempo se consideró incorporar el cloruro de sodio en frío en forma de una solución acuosa saturada al LESS, según se describe en el párrafo anterior, para así formar el gel entre estos componentes de una forma sencilla. Además, disolver todos los componentes solubles en agua, incluido el gel NaCl/LESS, con posterior incorporación de la fase acuosa a la oleosa; y no uno a uno como se realiza en la formulación original. De los componentes hidrosolubles, solo la solución de ácido clorhídrico y el extracto de *Aloe vera* se incorporarían a la emulsión una vez que la temperatura haya disminuido, para cumplir mejor su función y evitar su deterioro, respectivamente.

3.2 Composición y método de elaboración de las formulaciones cosméticas reformuladas.

Uno de los aspectos que influye en la estabilidad y propiedades de las emulsiones cosméticas es la adecuada selección de sus componentes y de la tecnología de elaboración (86). Se conoce que para lograr una emulsificación adecuada, además de la selección apropiada del tipo y cantidad del agente emulsionante, el orden de adición de los componentes, la velocidad de agitación y la temperatura a la que se mezclan las fases acuosa y oleosa son de gran importancia.

La composición de la formulación base para las cremas del LPC-VC que se propone evaluar durante su reformulación (**Tabla 2.3**) posee mínimos cambios en relación a la formulación original, que se caracterizan, en cuanto al tipo de componente, por la eliminación del monoestearato de glicerilo y la inclusión de un agente acidificante (HCl). En cuanto a las cantidades, solo se propone evaluar variaciones en la concentración del LESS y del NaCl, por ser componentes esenciales en la consistencia del preparado final y de su estabilidad física.

Para determinar la cantidad necesaria de HCl, para ajustar el pH final de la emulsión a valores entre 4 y 5, se evaluó la influencia de diferentes proporciones de la solución de HCl al 5 %. La adición de 1 mL de esta solución fue suficiente para cumplir con los requerimientos de pH.

En cuanto al método de elaboración las principales variaciones se centraron en la preparación del gel LESS/NaCl mediante una variante que facilita el proceso tecnológico en cuanto a simplicidad y duración. Para esto se aplicó la metodología de adición en frío descrita en el acápite 3.1 del presente trabajo, con la que se consigue la formación del gel en muy poco tiempo y con ligera agitación manual. Además, se incorporan todos los componentes solubles en agua a la fase acuosa para su posterior adición a la fase oleosa, minimizando el número de pasos del proceso tecnológico. Se estableció como temperatura para mezclar las fases acuosa y oleosa 75 °C, por ser ligeramente superior a la de fusión de los componentes sólidos de la fase oleosa. Se proponen dos velocidades de agitación para la emulsificación: 100 rpm, que es la que se emplea en el LPC-VC dadas las limitaciones del equipamiento del que disponen, y 500 rpm, una velocidad muy superior, que facilitaría la magnitud de la dispersión de la fase oleosa en la acuosa.

Finalmente se seleccionó el envase, frascos bien cerrados de vidrio ámbar con tapa de baquelita, que es el empleado para la comercialización de las cremas del LPC-VC. Este tipo de envase protege los componentes susceptibles de degradación por la luz, evita la pérdida de agua de formulación dada la impermeabilidad del vidrio, y es adecuado para la dispensación de las cremas. Las cremas envasadas permanecieron en reposo durante 48 h hasta la evaluación de su calidad para asegurar la estructuración de la base de emulsión.

Para la propuesta de de formulaciones a evaluar se escogió un diseño de experimentos factorial 2^3 que permite evaluar la influencia de los factores concentración de LESS y de NaCl, y velocidad de agitación en dos niveles, alto y bajo, con un mínimo de formulaciones. Las variables respuestas seleccionadas fueron aquellas que poseen gran influencia en la calidad tecnológica y estabilidad de las emulsiones, y que se pueden cuantificar: extensibilidad, pH, densidad aparente. Además todas las

formulaciones se evaluaron en cuanto a otros parámetros que aportan criterio sobre su calidad tecnológica: (a) características organolépticas, que son importantes para valorar la calidad estética del preparado cosmético y por tanto su posible aceptación por los consumidores, así como su calidad tecnológica; y (b) tipo de emulsión, para evaluar la influencia de los cambios en la composición de la formulación y en su proceso de elaboración en el tipo de emulsión que se forma.

En la caracterización de las emulsiones obtenidas mediante el diseño factorial se incluyó, como elemento esencial, la evaluación de la estabilidad física mediante métodos acelerados: centrifugación, ciclos frío/calor y congelación/descongelación. A pesar de que estos ensayos no se consideraron parte de las variables respuesta, por ser cualitativos, son definitorios en la selección de la formulación final.

3.3 Evaluación de las emulsiones de *Aloe vera* obtenidas mediante diseño factorial 2³.

3.3.1. Calidad tecnológica de las emulsiones cosméticas.

La evaluación de la calidad tecnológica de las emulsiones a las 48h de elaboradas se realizó mediante ensayos cualitativos y cuantitativos, empleados comúnmente en este tipo de sistema disperso.

3.3.1.1. Extensibilidad, densidad aparente y pH.

Como variables dependientes (respuesta) del diseño factorial 2³ se evaluaron la extensibilidad, densidad aparente y pH, por ser parámetros cuantitativos que describen la calidad tecnológica de una emulsión.

- **Extensibilidad**

La extensibilidad es una propiedad importante de los semisólidos para aplicación cutánea, y es de gran valor para la aceptación por los consumidores. Esta propiedad está directamente relacionada con la consistencia de la formulación, y por tanto con su viscosidad. Los resultados obtenidos para esta variable respuesta se muestran en la **tabla 3.1**.

Tabla 3.1 Densidad aparente, extensibilidad y pH de las formulaciones obtenidas en el diseño factorial 2³.

| Formulación | Factores independ. | | | Variables respuesta ($\bar{X} \pm DE$) | | |
|-------------|--------------------|----------------|----------------|--|-----------------------------------|-----------------|
| | X ₁ | X ₂ | X ₃ | Densidad aparente (g/mL) | Extensibilidad (cm ²) | pH |
| 1 | + | + | + | 0.9239 ± 0.0197 | 113.5475 ± 6.1483 | 4.6400 ± 0.0668 |
| 2 | - | - | - | 0.9394 ± 0.02175 | 67.6525 ± 20.7288 | 4.0525 ± 0.0818 |
| 3 | - | + | - | 0.9394 ± 0.0159 | 109.7750 ± 17.2605 | 4.7050 ± 0.0300 |
| 4 | + | - | + | 0.9380 ± 0.0136 | 119.5975 ± 18.8338 | 4.7225 ± 0.0512 |
| 5 | + | + | - | 0.9472 ± 0.0091 | 137.2550 ± 5.2963 | 4.6175 ± 0.0519 |
| 6 | - | - | + | 0.9592 ± 0.00403 | 91.7650 ± 12.4875 | 4.6725 ± 0.0350 |
| 7 | - | + | + | 0.9258 ± 0.01473 | 89.0975 ± 30.2889 | 4.2000 ± 0.4755 |
| 8 | + | - | - | 0.9572 ± 0.01048 | 111.8200 ± 34.6199 | 4.7125 ± 0.0479 |

X1: Contenido de LESS: - (0.5 %), + (1 %)
 X2: Contenido de NaCl: - (0.25 %), + (0.5 %)
 X3: Velocidad de agitación: - (100rpm), + (500rpm)
 DE: Desviación estándar

Las 8 formulaciones evaluadas muestran muy buena extensibilidad, con valores que varían entre 67 cm² y 138 cm². Es evidente que las emulsiones con mayores valores de extensibilidad son las que poseen mayor contenido de LESS (Formulaciones 1, 4, 5 y 8). De ellas, las que presentan, además, elevado contenido de NaCl son las de mejores resultados (Formulaciones 1 y 5). Este comportamiento podría parecer contradictorio porque el incremento en la concentración de LESS y NaCl debe conducir a mayor viscosidad de la emulsión, lo que se manifestaría en una menor extensibilidad. Sin embargo podrían explicarse por un mayor grado de dispersión de la fase oleosa a mayor contenido de emulsionante, sumado al efecto positivo del NaCl sobre la estabilización de la emulsión, y por la presencia de grumos de menor tamaño en las formulaciones con mayor contenido de LESS. La desviación estándar, relativamente elevada, que se observa en estos resultados puede atribuirse a que el método que se empleó para determinar la extensibilidad es totalmente artesanal y

fácilmente influenciado por mínimos errores de manipulación del analista.

El análisis de varianza de estos resultados (**Anexo 1**), muestra que un solo factor independiente significativo influye sobre la variable respuesta extensibilidad: el contenido de LESS en la formulación. A medida que aumentan los niveles de LESS incrementan significativamente los valores de la extensibilidad (**Figura 3.1**). A pesar de estos resultados estadísticos, se debe destacar que todas las formulaciones poseen buena extensibilidad y, por tanto, deben aplicarse con facilidad y tener buena aceptación por los consumidores.

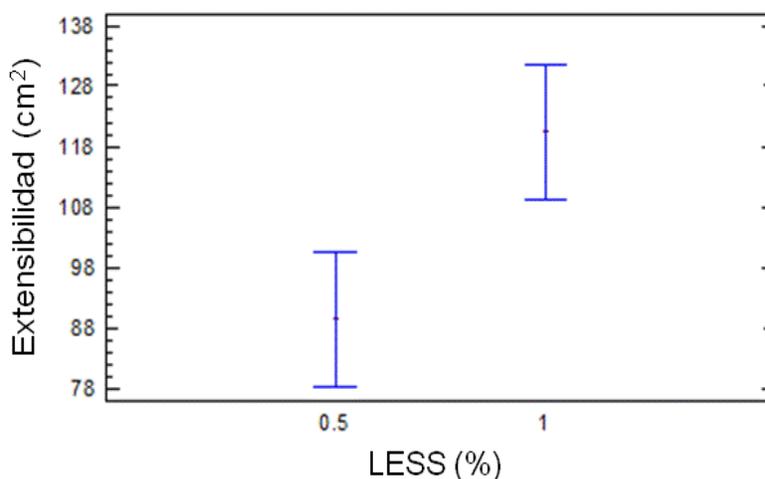


Fig. 3.1 Representación de los efectos principales para la extensibilidad.

- **Densidad aparente**

La densidad aparente es una propiedad que se emplea comúnmente en el control de la calidad de preparados cosméticos y farmacéuticos semisólidos, y da una medida de la relación entre la masa de los componentes y el volumen que ocupan. Se emplea frecuentemente dentro de las especificaciones de calidad de productos de este tipo. En este caso particular, emulsiones con un emulsionante con elevado poder espumante, los resultados pueden estar influenciados por la formación de sistemas más complejos, como es la formación de espumas, que conducen a un incremento del volumen con una disminución consiguiente de la densidad aparente.

Los valores de este parámetro para las formulaciones en estudio (**Tabla 3.1**) presentan pocas variaciones, y alcanzan valores entre 0.92 g/mL y 0.96 g/mL,

independientemente de las variaciones en los contenidos de LESS y NaCl y de la velocidad de agitación. Sin embargo, en la tabla ANOVA obtenida para esta propiedad (**Anexo 2**), se observa que la interacción entre los factores NaCl y velocidad de agitación es significativa.

La **figura 3.2** muestra la influencia de esta interacción NaCl/velocidad de agitación sobre los valores de la variable densidad aparente. Cuando los niveles del factor NaCl son bajos, los valores de la densidad relativa alcanzan valores de alrededor de 0.95 g/mL, independientemente de la velocidad de agitación. A medida que aumentan los niveles de NaCl, los valores de la densidad relativa disminuyen significativamente si se aumenta la velocidad de agitación o incrementan si disminuye la velocidad de agitación.

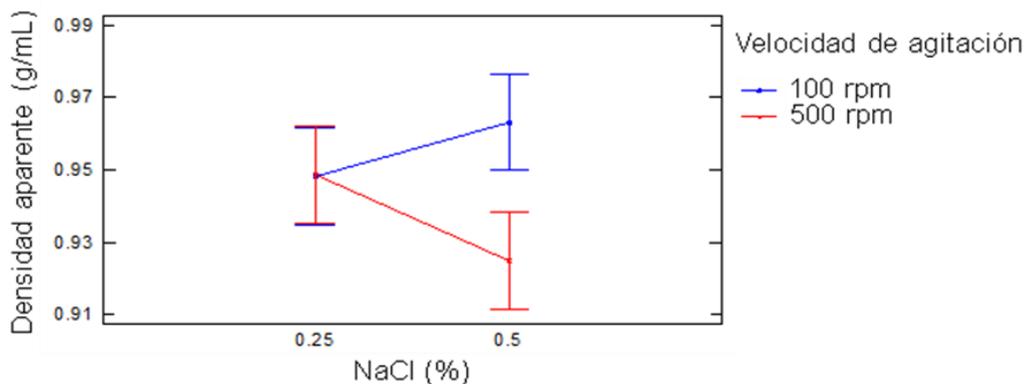


Fig. 3.2 Representación de los efectos principales para la densidad aparente.

Como se ha explicado anteriormente, estos resultados pueden estar condicionados por la inclusión de aire, formación de espuma, con la mayor velocidad de agitación, y por tanto por un incremento en el volumen del preparado. Además, el método empleado y las características de la muestra (cremas) pueden conducir a resultados falseados porque puede quedar aire atrapado dentro de la probeta y es difícil conseguir el enrase igual en todas las muestras.

- **pH**

Los valores de pH de las emulsiones en estudio (**Tabla 3.1**) toman valores entre 4.05 y 4.73, que satisfacen el intervalo propuesto para las emulsiones ensayadas en el

presente trabajo (pH entre 4 y 5). Las diferencias en el pH entre las diferentes formulaciones pueden estar dadas por la adición, a todas, del mismo volumen de la solución de HCl 5 % y a las diferencias en composición entre ellas, sobre todo en el contenido de LESS, que es una sal sódica, y por tanto, tiende a elevar el pH de sus soluciones. Los resultados del análisis de varianza no se corresponden con esta valoración.

En la tabla ANOVA (**Anexo 3**), se observa que la interacción entre los factores NaCl y velocidad de agitación es significativa. La **figura 3.3**, muestra la influencia de esta interacción NaCl/velocidad de agitación sobre los valores de la variable densidad, mostrando que cuando los niveles del factor NaCl son elevados, los valores del pH toman valores de alrededor de 4.5, independientemente de la velocidad de agitación. A medida que disminuyen los niveles de NaCl, los valores del pH disminuyen significativamente con el nivel bajo de la velocidad de agitación, o se elevan si se incrementa la velocidad de agitación.

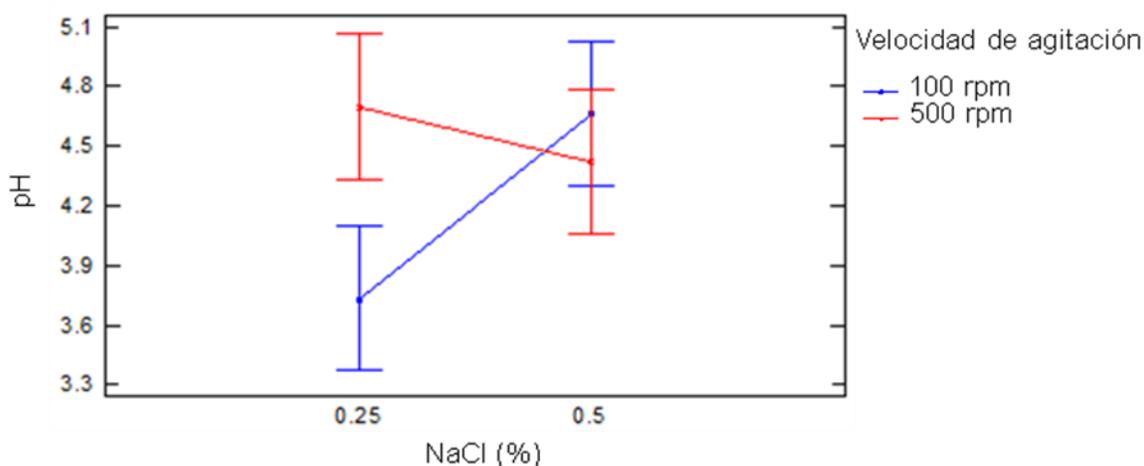


Fig. 3.3 Representación de los efectos principales para el pH.

A pesar de estos resultados, se conoce que el pH de un preparado no debe variar significativamente con la velocidad de agitación y que debe cambiar más por las variaciones en la concentración de LESS, que es una sal sódica y se emplea a concentraciones superiores a las de NaCl, que forma soluciones neutras. Posiblemente estos resultados estén condicionados por la formación de espuma, en algunas formulaciones, con la consiguiente disminución de la densidad aparente y variación en

la composición de la muestra que se pesa para la determinación del pH.

En los **anexos 1, 2 y 3** se muestran las representaciones de los residuales para la extensibilidad, la densidad aparente y el pH. En las mismas no se evidencia ninguna observación anómala, lo cual es un indicador de la validez de los análisis estadísticos.

Un análisis integral de la extensibilidad, densidad aparente y pH de las formulaciones nos permite afirmar que todas poseen propiedades tecnológicas satisfactorias en cuanto a estas propiedades.

3.3.1.2. Características organolépticas y tipo de emulsión.

- **Características organolépticas**

Todas las formulaciones poseen color blanco brillante, que suele ser indicativo de un elevado grado de dispersión de la fase interna, que se correlaciona con una adecuada estabilidad física del sistema y se explica por el fenómeno de reflexión total de la luz por las gotas de la fase dispersa (**Figura 3.4**). Presentan olor característico a la fragancia (aceite esencial de almendras dulces), homogeneidad y se extienden con facilidad sobre el dorso de la mano. Las preparaciones presentaron una apariencia agradable, no grasosa. Sin embargo, todas mostraron grumos, excepto las formulaciones 1 y 5, en una de las réplicas; que se caracterizan por el nivel alto de LESS y NaCl. Los grumos fueron de menor tamaño en las emulsiones con mayor contenido de LESS.

Se conoce que la estructura o características semisólidas de las cremas (O / W) se deben a las gotas líquidas emulsionadas que forman la fase interna. Estos semisólidos se preparan generalmente a elevadas temperaturas por el método de fusión. Emplean como componentes de la fase interna aceites minerales o vegetales, ésteres emolientes líquidos, ácidos grasos, alcoholes y ésteres de cadena larga sólidos. Cuando el sistema se enfría estos componentes de la fase oleosa existen como gotas microscópicas emulsionadas o dispersas, cristales líquidos, partículas sólidas, o esferas, creando una estructura o matriz de gel tridimensional que atrapa la fase acuosa externa. En muchas formulaciones la estructura de gel puede ser metaestable (87). Estas características de las cremas, y las de los grumos en las emulsiones en

estudio: naturaleza grasa, color blanco y que desaparecen al extender la crema sobre el dorso de la mano, nos hacen pensar que pudieran corresponder a parte de uno de los componentes de la fase oleosa, que al bajar la temperatura durante la elaboración de la emulsión se encuentra en estado sólido: ácido esteárico o alcohol estearílico.

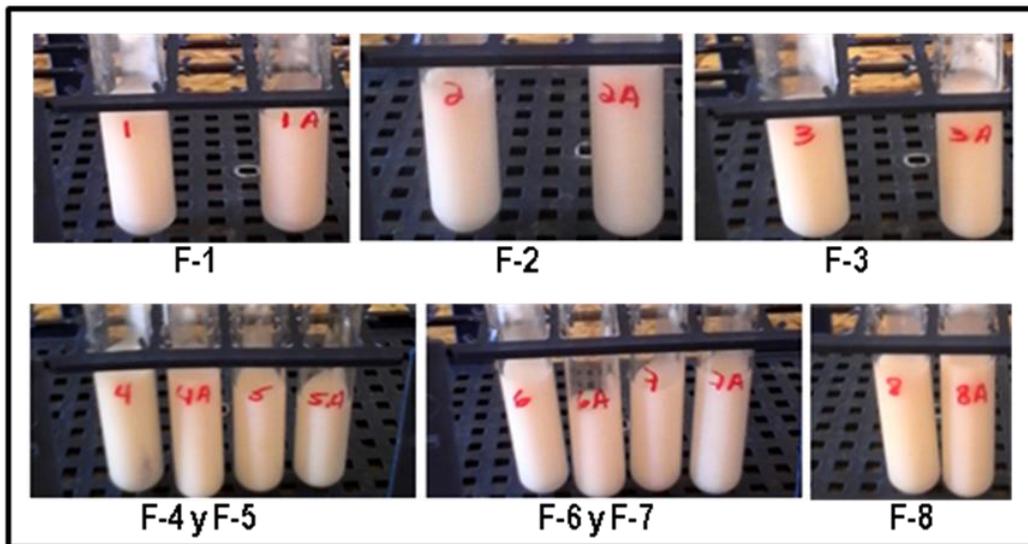


Fig. 3.4 Fotos de las formulaciones obtenidas mediante diseño factorial 2^3 a las 48 h de elaboradas.

Además, Barry y Shoton en 1967 (88) estudiaron la estructura de los complejos alcohol graso y tensoactivos del tipo lauril sulfato de sodio. Afirman que cuando el sistema de emulsión se está formando y está en estado líquido por efecto de la temperatura, y la emulsión se está formando por efecto de la agitación, una porción del alcohol graso migra de la fase oleosa a la fase acuosa, a través de la interface donde se encuentra el tensoactivo y este penetra en el enrejado cristalino del alcohol, formando una fase líquida ternaria semejante a hilos líquidos cristalinos. Simultáneamente, algunos cristales del alcohol se disuelven en el agua formándose una solución micelar cuando la masa está aún caliente. A medida que la temperatura disminuye el alcohol se solidifica formando estructuras sólidas metaestables, dando como resultado un gel con propiedades viscoelásticas responsable del incremento de la consistencia. En el caso de las emulsiones en estudio los grumos aparecen cuando el sistema se está enfriando, lo que nos hace suponer que la cantidad de LESS empleada en las

formulaciones es insuficiente y no todo el alcohol graso pasa a formar parte del gel, y una parte se separa en forma sólida.

Por otra parte, la medida en la que un alcohol graso afecta las propiedades de una emulsión específica depende del tipo y concentración del alcohol y del surfactante. Estudios sobre la estabilidad de emulsiones de aerosoles, que emplean lauril sulfato de sodio (LSS) y diferentes alcoholes grasos en relación molar 1:1 y concentración de LSS de 0.10 M, han demostrado que el alcohol estearílico forma emulsiones con limitada estabilidad (89). Estos elementos nos hacen pensar que para este alcohol graso en específico la concentración empleada de LESS ha sido insuficiente.

- **Tipo de emulsión**

Todas las formulaciones mostraron apariencia lechosa en el ensayo de dilución y se lavaron completamente tras aplicar agua del grifo; comportamiento característico de las emulsiones directas (O / W). Estos resultados muestran que las variaciones en las concentraciones de LESS y NaCl, y en la velocidad de agitación no influyeron en el tipo de emulsión que se forma.

3.3.2. Estabilidad física acelerada.

Uno de los elementos definitorios en el diseño de productos en forma de emulsión es su estabilidad física. Estos son sistemas heterogéneos, termodinámicamente inestables, difíciles de preparar. Existen diferentes métodos que permiten predecir en corto tiempo la estabilidad física de emulsiones. Dentro de los más empleados se incluyen la centrifugación y los ciclos frío/calor y congelación/descongelación. Estos ensayos se emplean también para predecir la estabilidad de preparaciones cosméticas durante la transportación; etapa en que las muestras pueden estar sometidas a condiciones diferentes a las establecidas para su conservación.

Al finalizar la prueba de centrifugación ninguna de las ocho emulsiones en estudio mostró signos de inestabilidad a simple vista (**Figura 3.5**). No se detectaron variaciones en los tonos del color en diferentes regiones de la emulsión, ni separación de fases. Todas exhibieron apariencia homogénea.

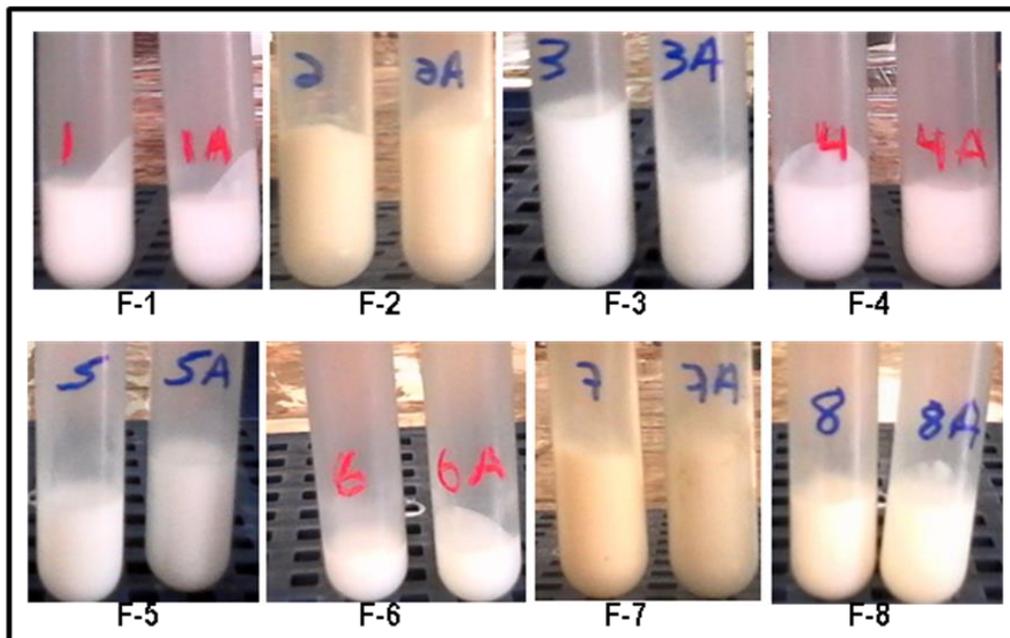


Fig. 3.5 Fotos de las formulaciones obtenidas mediante diseño factorial 2^3 al finalizar el ensayo de centrifugación.

Someter las muestras a ciclos de temperatura puede conducir a su ruptura si el sistema no está bien diseñado. En estos ensayos todas las formulaciones, excepto la formulación 2, mantuvieron su apariencia y homogeneidad (**Figuras 3.6 y 3.7**). No apareció ningún signo de inestabilidad detectable a simple vista. En la formulación 2, se separa parte de la fase acuosa.

Estos resultados sugieren que todas las formulaciones propuestas mediante diseño factorial 2^3 , excepto la formulación 2, deben presentar buena estabilidad física si se conservan en condiciones normales de almacenamiento. Cabe destacar que la formulación 2 es la que presenta el nivel bajo de los tres factores independientes: concentraciones de LESS (emulsionante) y NaCl (viscosante) y velocidad de agitación, que se conoce son fundamentales para lograr una adecuada emulsificación.

La composición de esta formulación, en cuanto a emulsionante y viscosante, y la velocidad de agitación empleada durante su elaboración, son similares a las empleadas en la formulación original del LPC-VC, solo que en el último caso se emplea un co-emulsionante (monoestearato de glicerilo).

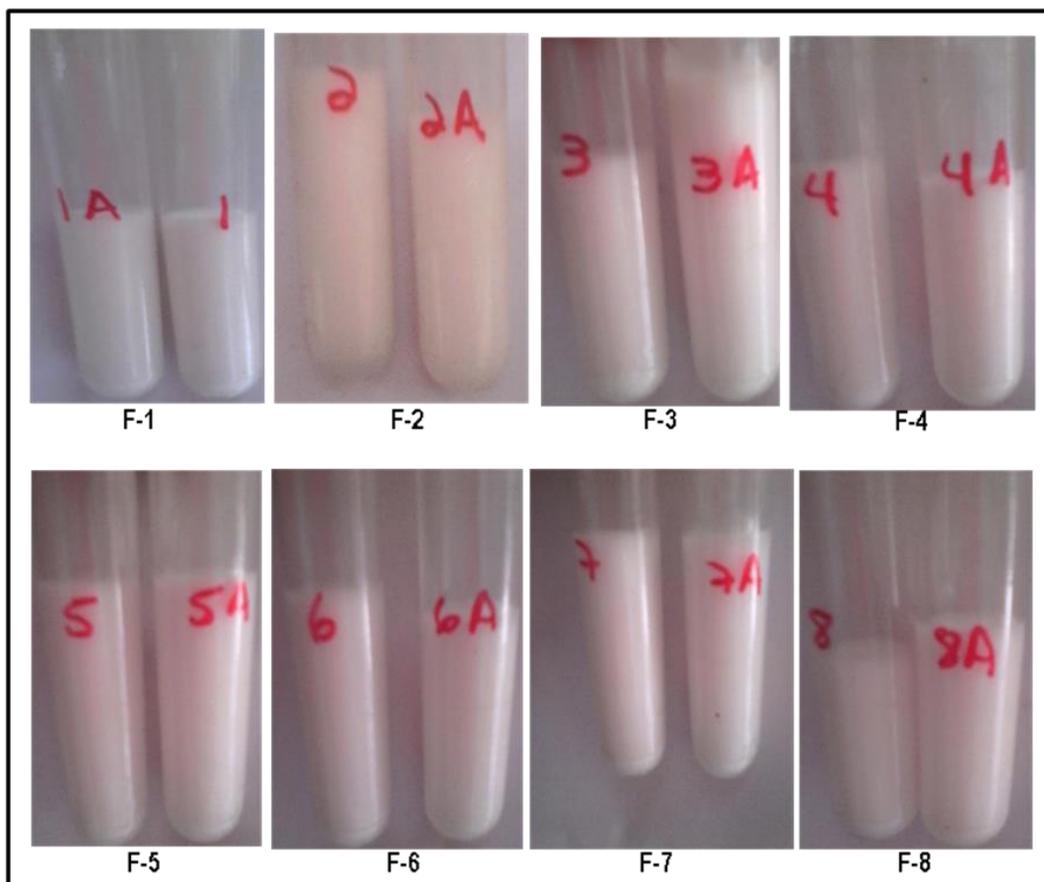


Fig. 3.6 Fotos de las formulaciones obtenidas mediante diseño factorial 2^3 al finalizar el ensayo de ciclos frío/calor.

Una valoración integral de las emulsiones obtenidas mediante diseño de experimentos muestra que es posible obtener emulsiones con estabilidad física y calidad tecnológica adecuadas, mediante un proceso de elaboración más corto y simple, excepto por la presencia de grumos, empleando como único emulsionante LESS a concentraciones del 0.5 % y 1 %, como viscosante NaCl al 0.25 % y 0.5 %, y velocidades de agitación de 100 rpm y 500 rpm, siempre que estos tres factores no se empleen en una misma formulación en el nivel bajo.

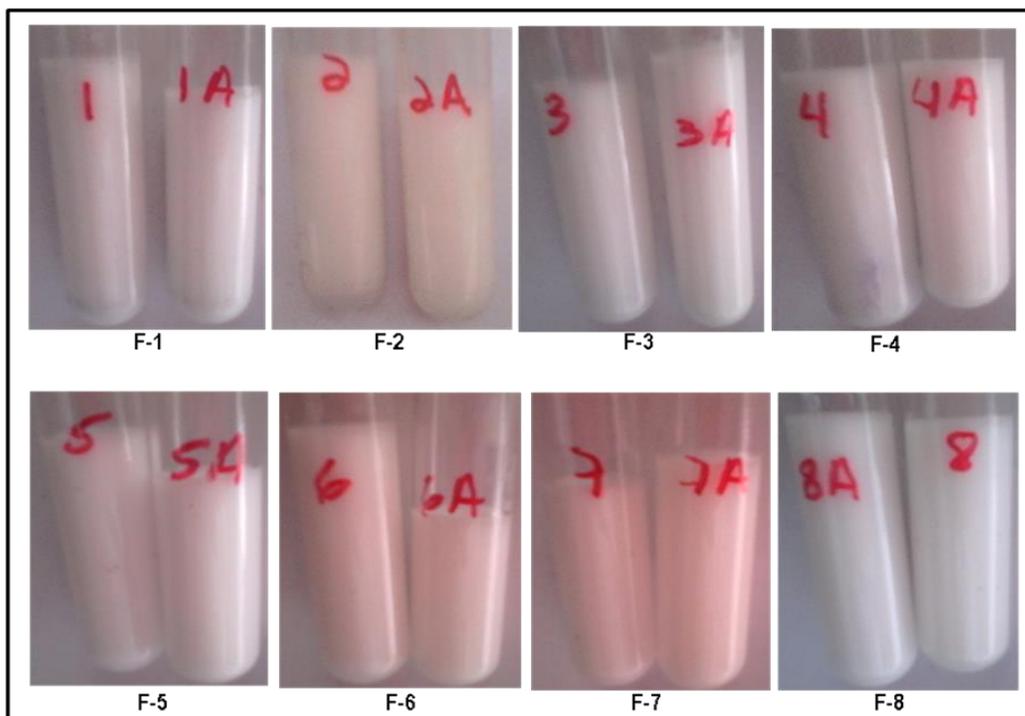


Fig. 3.7 Fotos de las formulaciones obtenidas mediante diseño factorial 2^3 al finalizar el ensayo de ciclos congelación/descongelación.

3.4. Propuesta de formulación definitiva.

La presencia de grumos en cremas cosméticas afecta su apariencia de forma negativa y las hace inaceptables desde el punto de vista tecnológico y de aceptación por los consumidores. Por estas razones se centraron los esfuerzos en lograr que las cremas obtenidas fueran libres de grumos.

Con este propósito se realizaron diferentes variaciones a partir de las formulaciones 1 y 5, obtenidas mediante diseño de experimentos, ya que fueron las que no mostraron grumos, en al menos una réplica. Los cambios que se evaluaron fueron mínimos: concentración de LESS (1,5 %), NaCl (0.75 %), ácido esteárico (0.5 %), alcohol estearílico (1 %) y temperatura de calentamiento de las fases acuosa y oleosa (70 °C, 80 °C y 90 °C).

De todas las variantes evaluadas solo la formulación con 1,5 % de LESS, 0,5 % de

NaCl, elaborada a 500 rpm (**Tabla 3.2**) no presentó grumos. Para confirmar estos resultados se elaboraron dos lotes de la misma (Formulación 9) y se les realizó el control de la calidad tecnológica y estabilidad física acelerada, mediante los mismos ensayos empleados en las formulaciones obtenidas mediante diseño de experimentos.

Tabla 3.2 Composición de la emulsión cosmética de *Aloe vera* (100g) libre de grumos (Formulación 9).

| No | Componente | Cantidad (%) |
|----|-------------------------|--------------|
| 1 | Petrolato sólido | 5.225 |
| 2 | Propilénglicol | 1.0083 |
| 3 | Ácido esteárico | 1.05 |
| 4 | LESS | 1,5 |
| 5 | Benzoato de sodio | 0.5833 |
| 6 | Cloruro de sodio | 0.5 |
| 7 | Alcohol estearílico | 2.1167 |
| 8 | Ácido clorhídrico (5 %) | 1 |
| 9 | Extracto de sábila | 1.025 |
| 10 | Fragancia | 0.2083 |
| 11 | Agua destilada | 86.0333 |

Las dos réplicas de la formulación 9 poseen propiedades tecnológicas y estabilidad física satisfactorias (**Figura 3.5, Tabla 3,3**). Por estas razones se propone como formulación definitiva la reformulación de la emulsión base de las cremas con activos naturales que se elaboran en el LPC-VC.



Fig. 3.5 Foto de la formulación definitiva (9) a las 48 h de elaborada.

Tabla 3.3 Resultados de los ensayos de control de la calidad tecnológica y estabilidad física acelerada de la emulsión base libre de grumos (Formulación 9).

| Ensayo | Resultados |
|-----------------------------------|---|
| Propiedades organolépticas | Color blanco, con brillo, olor característico a la fragancia, aspecto homogéneo, se extiende con facilidad sobre el dorso de la mano, no presenta grumos |
| Tipo de emulsión | Directa (O / W) |
| Densidad aparente | 0.9584 ± 0.0085 g/mL |
| Extensibilidad | 119.9646 ± 0.4412 cm ² |
| pH | 4.665 ± 0.01061 |
| Centrifugación | No aparecen signos de inestabilidad |
| Ciclos frío/calor | No aparecen signos de inestabilidad |
| Ciclos congelación/descongelación | No aparecen signos de inestabilidad |

Conclusiones
y
recomendaciones

Conclusiones

1. Los cambios fundamentales a considerar en la reformulación de la emulsión base de las cremas que se elaboran en el LPC-VC consisten en: emplear LESS como único emulsionante, ajustar el pH a valores entre 4 y 5 para asegurar la efectividad del preservo y los requerimientos fisiológicos, preparar el gel LESS/NaCl en frío a partir de una solución saturada de NaCl, e incorporar la fase acuosa a la oleosa a 75 °C, asegurando la disolución previa en la fase acuosa de la mayor cantidad posible de componentes solubles en agua.
2. Es posible obtener, mediante diseño factorial 2³, la emulsión base de las cremas con activos naturales del LPC-VC con estabilidad física y calidad tecnológica adecuadas, mediante un proceso de elaboración más corto y simple, excepto por la presencia de grumos, empleando como único emulsionante LESS a concentraciones del 0.5 % y 1 %, como viscosante NaCl al 0.25 % y 0.5 % y velocidades de agitación de 100 rpm y 500 rpm, siempre que estos tres factores no se empleen en una misma formulación en el nivel bajo.
3. La formulación de la emulsión base del LPC-VC, obtenida en la etapa de reformulación, caracterizada por un incremento en la concentración de LESS a 1,5 %, 0,5 % de NaCl y elaborada a 500 rpm cumple con todos los requerimientos en cuanto a calidad tecnológica y estabilidad física acelerada.

Recomendaciones

1. Escalar la formulación base seleccionada a la escala de producción del LPC-VC.
2. Evaluar la estabilidad de la emulsión base seleccionada en condiciones reales de almacenamiento.
3. Establecer las especificaciones de calidad de esta formulación.

Anexos

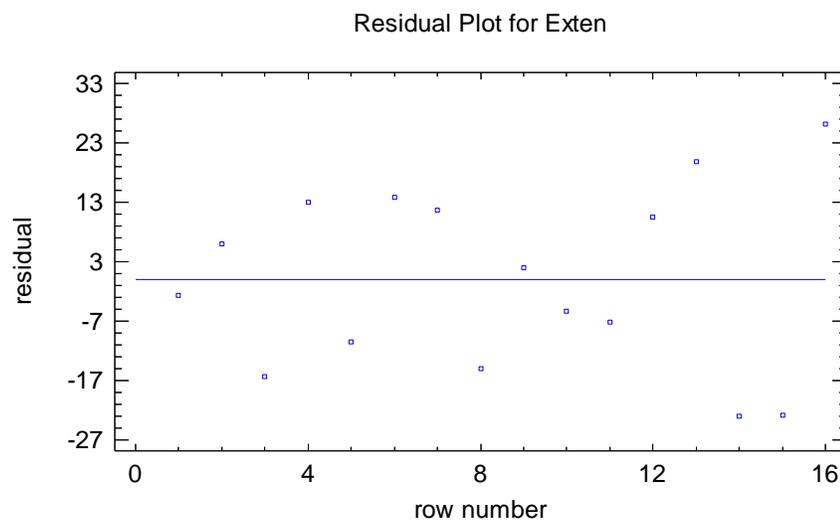
Anexos

Anexo 1: Resultados estadísticos para el factor respuesta extensibilidad en las formulaciones obtenidas mediante diseño factorial 2^3 .

Analysis of Variance for Extensibilidad- Type III Sums of Squares

| Source | Sum of Squares | Df | Mean Square | F-Ratio | P-Value |
|-------------------|----------------|----|-------------|---------|---------|
| MAIN EFFECTS | | | | | |
| A:LEsNa | 3839.66 | 1 | 3839.66 | 9.98 | 0.0116 |
| B:NaCl | 865.536 | 1 | 865.536 | 2.25 | 0.1680 |
| C:VAg | 39.0313 | 1 | 39.0313 | 0.10 | 0.7574 |
| INTERACTIONS | | | | | |
| AB | 100.701 | 1 | 100.701 | 0.26 | 0.6213 |
| AC | 93.7508 | 1 | 93.7508 | 0.24 | 0.6335 |
| BC | 1454.47 | 1 | 1454.47 | 3.78 | 0.0838 |
| RESIDUAL | 3464.32 | 9 | 384.925 | | |
| TOTAL (CORRECTED) | 9857.47 | 15 | | | |

All F-ratios are based on the residual mean square error.

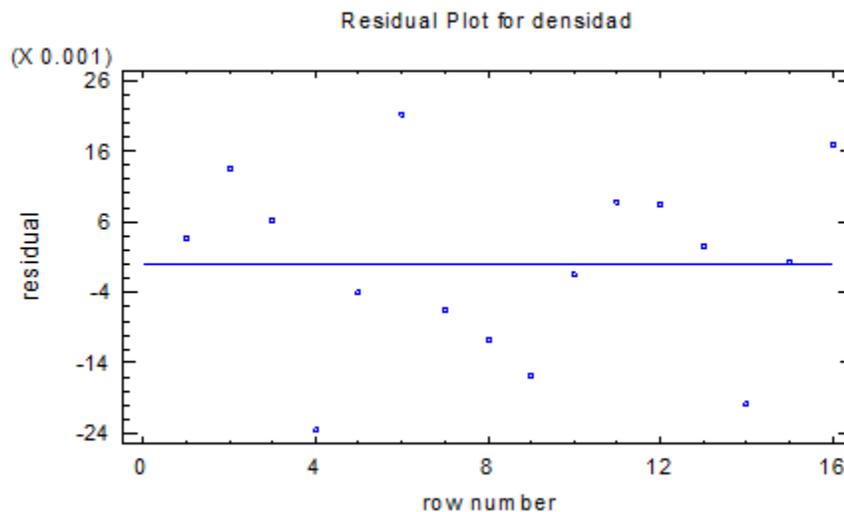


Anexo 2: Resultados estadísticos para el factor respuesta densidad aparente en las formulaciones obtenidas mediante diseño factorial 2^3 .

Analysis of Variance for densidad aparente - Type III Sums of Squares

| Source | Sum of Squares | Df | Mean Square | F-Ratio | P-Value |
|-------------------|----------------|----|--------------|---------|---------|
| MAIN EFFECTS | | | | | |
| A:LESS | 0.00034452 | 1 | 0.00034452 | 1.24 | 0.2937 |
| B:NaCl | 0.0000782119 | 1 | 0.0000782119 | 0.28 | 0.6081 |
| C:Velocidad Agit. | 0.00143973 | 1 | 0.00143973 | 5.20 | 0.0486 |
| INTERACTIONS | | | | | |
| AB | 0.000229712 | 1 | 0.000229712 | 0.83 | 0.3863 |
| AC | 0.0000206684 | 1 | 0.0000206684 | 0.07 | 0.7909 |
| BC | 0.00148678 | 1 | 0.00148678 | 5.37 | 0.0457 |
| RESIDUAL | 0.00249355 | 9 | 0.000277061 | | |
| TOTAL (CORRECTED) | 0.00609317 | 15 | | | |

All F-ratios are based on the residual mean square error.

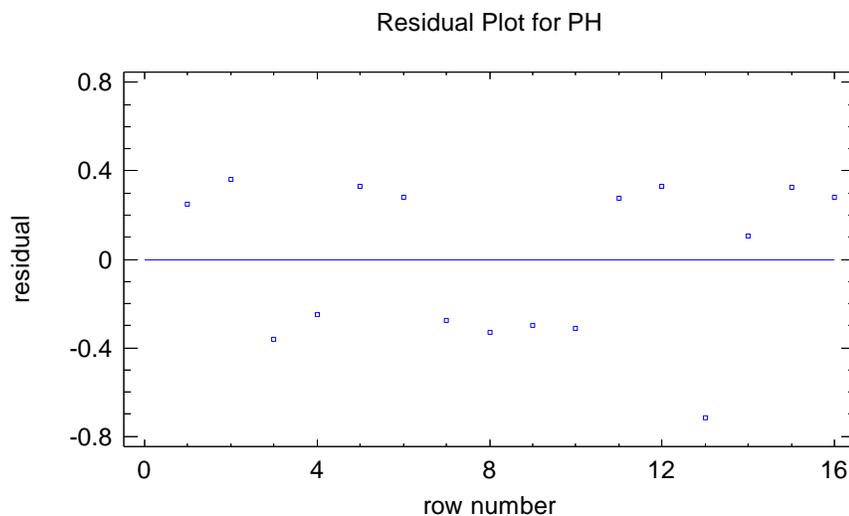


Anexo 3: Resultados estadísticos para el factor respuesta pH en las formulaciones obtenidas mediante diseño factorial 2^3 .

Analysis of Variance for pH - Type III Sums of Squares

| Source | Sum of Squares | Df | Mean Square | F-Ratio | P-Value |
|-------------------|----------------|----|-------------|---------|---------|
| MAIN EFFECTS | | | | | |
| A:LEsNa | 1.39535 | 1 | 1.39535 | 6.83 | 0.0281 |
| B:NaCl | 0.424127 | 1 | 0.424127 | 2.07 | 0.1836 |
| C:VAg | 0.523814 | 1 | 0.523814 | 2.56 | 0.1439 |
| INTERACTIONS | | | | | |
| AB | 0.686827 | 1 | 0.686827 | 3.36 | 0.1000 |
| AC | 0.477827 | 1 | 0.477827 | 2.34 | 0.1606 |
| BC | 1.45504 | 1 | 1.45504 | 7.12 | 0.0257 |
| RESIDUAL | 1.83961 | 9 | 0.204402 | | |
| TOTAL (CORRECTED) | 6.8026 | 15 | | | |

All F-ratios are based on the residual mean square error.



Bibliografía

Bibliografía

1. Elsner P, Maibach HI. Business Insights reports. Successful strategies for drug repositioning: low-risk approaches to indication expansion and lifecycle extension for established molecules. . Business Insights. 2011;27:101.
2. Companies JJC. Our Safety & Care Commitment. New Brunswick 2015.
3. Rebecca K. MORE than COSMETIC CHANGES Taking Stock of Personal Care Product Safety. Environmental Health Perspectives. 2015;123.
4. White WJ, Gledhill E, Karns S, Muth MK. Cost of Reformulating Foods and Cosmetics. Reformulating Foods and Cosmetics. 2002.
5. Farris PK. Cosmeceuticals and Cosmetic Practice Cosmeceuticals and Cosmetic Practice. 2014.
6. Muth MK, Karns SA. Modeling the Decision to Reformulate Foods and Cosmetics. Center for Food Safety and Applied Nutrition Food and Drug Administration 2004.
7. Shivanand P, Nilam M, Viral D. Herbs Play an Important Role in the Field of Cosmetics. International Journal of PharmTech Research. 2010;1 632-9.
8. Kapoor V. Herbal cosmetics for skin and hair care. Indian Journal of Natural Products and Resources. 2005;4:306-14.
9. Prashant LK, Hemant RJ, Prasad T, Anantha NN. Cosmetics potential of herbal extracts. Indian Journal of Natural Products and Resources (IJNPR) 2005;4:315-21.
10. Tamimi N, Ellis P. Drug development: from concept to marketing! Nephron Clin Pract. 2009;125-31.
11. Rondon H. Modern Cosmeticology. Chemical Pub Co. 2011; 1:363-72.

12. Larsson SC, Bergkvist L, Näslund I, Rutegård J, Wolk A. Vitamin A, retinol, and carotenoids and the risk of gastric cancer: a prospective cohort study. . Am J Clin Nutr. 2007;2(85):497-503.
13. Joshi LS, Pawar HA. Herbal Cosmetics and Cosmeceuticals: An Overview. Natural Products Chemistry & Research. 2015; 3 (2):2-8.
14. Sumit K, Vivek S, Sujata S, Ashish B. Herbal Cosmetics: Used for Skin and Hair Inventi. 2012 (4).
15. Draelos ZD. Topical Antiinflammatory agents. Cosmetic Dermatol. 2011;16(10): 41-2.
16. Rousseaux CG, Schachter H. Regulatory issues concerning the safety, efficacy and quality of herbal remedies. Birth Defects Res B, Dev Reprod Toxicol. 2013;68(6):505-10.
17. Cosmetics/Cosmeceuticals. Nat Prod Resour Repos. 2014;5(2).
18. Sang S, Lapsley K, Rosen R. New prenylated benzoic acid and other constituents from almond hulls (*Prunus amygdalus* Batsch). J Agric Food Chem. 2006;50(2):607-9.
19. Dicenta F, Martinez-Gomez P, Grane N, al. e. Relationship between cyanogenic compounds in kernels, leaves, and roots of sweet and bitter kernelled almonds. J Agric Food Chem. 2012;50(4):2149-52.
20. Cantrell A, McGarvey DJ, Truscott TG, Rancan F. F. Singlet oxygen quenching by dietary carotenoids in a model membrane environment. Arch Biochem Biophys. 2005;412(3):47-54.
21. O'Hara M, Kieferm D, Farrell K, Kemper K. A review of 12 commonly used medicinal herbs. Arch Fam Med. 1998;7:523-36.
22. Lee K, Shibamoto T. Determination of antioxidant potential of volatile extracts isolated from various herbs and spices. J Agric Food Chem. 2002; 50:4947-52.

23. Zadeh JB, Kor NM, Kor ZM. Chamomile (*Matricaria recutita*) As a Valuable Medicinal Plant. *International journal of Advanced Biological and Biomedical Research*. 2014;2 (3):823-9.
24. Okareh O, Enesi D, Shittu O. Ecological influence on selected *A. vera*. Populations in two geographical zones in Nigeria. *International Research Journal of Plant Science*. 2012; 3(5): 88-93.
25. Karpagam T, Devaraj R. Studies on the efficacy of *A. vera* on antimicrobial activity. *International Journal of Research in Ayurveda and Pharmacy*. 2011;2(4):16-21.
26. Gomathi P, Solomon K, Biruk S, Mebrahtom G, Gereziher G, Aman K. *World journal of pharmacy and pharmaceutical sciences*. Cosmetic use of aloe vera – a review. 2014; 3 (5):342-458.
27. Narayan PY, Shruti S, Priyam S, Debabrata C, Suaib L, Sudeep T. Development and evaluation of *Aloe vera*(L.) Burm. based topical cream formulation. *Annals of Phytomedicine* 2014;3(2):60-5.
28. Bhuvana KB, Hema NG, Rajesh P. Review on aloe vera. *International Journal of Advanced Research*. 2014; 2(3):677 -91.
29. Sampath K, Debjit B, Chiranjib B. *Aloe vera* : A Potential Herb and its Medicinal Importance *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*. 2010;2(1):21-9.
30. Agarwal S, Sharma TR. Multiple biological activities of *Aloe barbadensis* (*A. vera*): an overview. *Asian Journal of Pharmacy & Life Science*. 2011;1 (2):195-205.
31. Taiwo VO, Olukunle OA, Ozor IC, Oyejobi AT. Consumption of Aqueous Extract of Raw *Aloe Vera* Leaves: Histopathological and Biochemical Studies in Rat and Tilapia. *African Journal of Biomedical Research*. 2005; 8 169 - 78.
32. Leun JA. Effective ingredients of *A. vera*. *Drugs and Cosmetics* 2007:34-5, 154-5.

33. Hashemi SA, Madani SA, Abediankenari S. The Review on Properties of Aloe Vera in Healing of Cutaneous Wounds. *BioMed Research International*. 2015.
34. Adnan MJ, Hameedah HA-A, Rabab A, Hamad A. Study of the Efficacy of Aloe Vera Extracts in Treatment of Non-Infected Wounds Induced by Sulfuric Acid and Infected Wounds with *Staphylococcus aureus*. *International Journal of Advanced Research*. 2015;3(1):593-601.
35. Rahn. A. vera Gel for Cosmetics and Dermatology. Terry laboratories Quality A vera Extracts and Concentrates. 2012: 1-24.
36. Ribeiro AS, Estanqueiro M, Oliveira MB, Sousa Lobo JM. Main Benefits and Applicability of Plant Extracts in Skin Care Products Cosmetics. 2015;2:48-65.
37. IC N, OG P, OB R, A. J. Elaboracion de una crema con extracto blando de propoleo. 2006.
38. Quintero-Mora ML, Londoño-Orozco A, Hernández-Hernández F, Manzano-Gayosso P, al. e. Efecto de extractos de propóleos mexicanos de *Apis mellifera* sobre el crecimiento in vitro de *Candida albicans*. *Rev Iberoam Micol*. 2008;25: 22-6.
39. Ayala Fernández ES, Macay Hernández CE. Efecto de extractos de propóleo y miel de abeja (*Apis mellifera*) en las propiedades físicas y sensoriales de una salchicha de desayuno con dos niveles de grasa *Rev Iberoam Micol*. 2010;30:22-8.
40. Lopez del Villar JA, Ubillús Celi MM. Estandarizacion del propoleos de la provincia de Oxapampa como materia prima para su utilización a nivel industrial [Tesis de Licenciatura]. Lima- Perú: Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2004.
41. Isla M, Cordero A, Díaz L, Pérez-Pérez EM. Cosmetic properties of honey. Antioxidant activity Stingless bees process honey and pollen in cerumen pots. 2013.
42. Viuda-Martos M, Ruiz-Navajas Y, Fernandez-López J, Pérez-Álvarez M. Functional properties of honey, propolis and royally jelly. *Journal of Food Science* 2008; 73(9):117-24.

43. Ferreres F, García-Viguera C, Tomás-Lorente F, Tomás-Barberán F. Hesperetin C a marker of the floral origin of citrus honey. . *Journal Science Food Agricultural*. 2009;61:121 -3.
44. González Novelo SA, Tamayo Cortez JA, Toledo López VM, Tamayo Canul EN, Vargas y Vargas MdL. Productos con alto contenido de miel, como opción para incrementar su uso en Yucatán. *Sexta Época*. 2013;33.
45. Garrido R, Gómez M, Franco I, Carballo J. Cambios lipolíticos y oxidativos durante la elaboración de lacon crudo-curado. . *Journal grasas y aceites*. 2010;60(3).
46. Smaoui S, Ben Hlima H, Jarraya R, Grati Kamoun N, Ellouze R, Damak M. Cosmetic emulsion from virgin olive oil: Formulation and bio-physical evaluation. *African Journal of Biotechnology* 2012;11(40):9664-71.
47. Allen L, Popovich N, Ansel H. *Methods for emulsion preparation: Ansel's Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems*. Lippincott Williams and Wilkins. 2011: 404-14.
48. Sathe S, Roux K, Teuber S. Biochemical characterization of amandin, the major storage protein in almond. *J Agric Food Chem* 2002;43:33-41.
49. Glaser D. Anti-ageing products and cosmeceuticals. *Facial Plast Surg, Clin N Am*. 2004;12(4):363-72.
50. Dicenta F, Martínez-Gómez P, Grane N, et al. Relationship between cyanogenic compounds in kernels, leaves, and roots of sweet and bitter kernelled almonds. *J Agric Food Chem*. 2002;50(4):2149-52.
51. Young AJ, Lowe GM. Antioxidant and prooxidant properties of carotenoids. *Arch Biochem Biophys*. 2001;385(3):20-7.
52. Creams and Liquid Emulsions for Facial Cleansing. In: Shai A, Maibach HI, Baran R, editors. *Handbook of cosmetic skin care 6*. Beer-Sheva, Israel: Informa UK Ltd; 2009. p. 41-3.

53. Kim H, Cho S, Lee S, Kim K, Cho K, al. e. Photoprotective and anti-skin-aging effects of eicosapentaenoic acid in human skin in vivo. *J Lipid Res.* 2006; 47:921-30.
54. Masson C, Menea F, Pinon-Lataillade G, Frobert Y, Chevillard S, al. e. Global genome repair is required to activate KIN17, a UVC-responsive gene involved in DNA replication. *ProcNatlAcadSci U S A* 2003;100:616-21.
55. Ndlovu G, Fouche G, Tselanyane M, Cordier W, Steenkamp V. In vitro determination of the anti-aging potential of four southern African medicinal plants. *BMC Complement Altern Med.* 2013;13:304.
56. Khan B, Akhtar N, Khan H, Waseem K, Mahmood T, al. e. Basics of pharmaceutical emulsions. A Review. *Afr J Pharm Pharmacol.* 2011; 5:2715-25.
57. Menea F, Menea A. Skin photoprotection by polyphenols in animal models and humans. . *Polyphenols in Human Health and Disease.* 2013:831-8.
58. Menea F, Menea A, Tréton J. Polyphenols against skin aging. *Polyphenols in Human Health and Disease.* 2013: 819-29.
59. Chiari BJdA M, Correa M, Borges I. *Cosmetics' Quality Control.* 2011:337-64.
60. Popescu VS A, Dobrinas S. The quality control of some dermo-cosmetic products. 2014;25(2):85-90.
61. Montenegro L, Rapisarda L, Ministeri C, Puglisi G. Effects of Lipids and Emulsifiers on the Physicochemical and Sensory Properties of Cosmetic Emulsions Containing Vitamin E. *Cosmetics.* 2015;2:35-47.
62. Aoki TD E, McClements D. Influence of environmental stresses on stability of O/W emulsions containing droplets stabilized by multilayered membranes produced by a layer-by-layer electrostatic deposition technique. *Food Hydrocolloids.* 2005;19:209-20.
63. Luna Martínez MVA O, Castillo Pino A, Fernández Gómez R, Calderín Alfonso A, Suárez Pita M, Vicente Riquelme S. Registro Sanitario de alimentos, cosméticos, juguetes y otros productos de interés sanitario. In: Pública IdNeHdIAMdS, editor. 2012.

64. Paloma de Matos MC, R. Elaboración y Evaluación Sensorial de Cremas de Aceite de Nuez y de Pulpa. Diciembre, 2004.
65. Simmons J. cosméticos: Formulación, Evaluación y Aplicación. Madrid, ES. AMV. 2000:459.
66. Aranberri IB, Clint J, Fletcher-Aranberri. Elaboracion y caracterizacion de emulsion estabilizados por polimeros y agentes tensoactivos. Iberoamericana de Polímeros. 2006;7.
67. Tapia-Caceres P. Estudio comparativo de la Capacidad Humectante de la piel de activos cosméticos naturales respecto al aceite de Emú utilizando el Corneometer CM 825. 2006.
68. The European Cosmetic TaPAC, , . GUIDELINES ON STABILITY TESTING OF COSMETIC PRODUCTS2004.
69. Walters S. Stability testing of Finished Pharmaceutical Products (FPPs). Training Workshop on Pharmaceutical Development with focus on Paediatric Formulations South Africa World Health Organization. Paediatric Formulations South Africa World Health Organization 2007;6:450-9.
70. ANVISA- Agencia Nacional de Vigilancia Sanitaria. Mayo 2005;1
71. Cosméticos, agentes activos de superficie, limpiadores, ambientadores y desinfectantes. Pruebas organolépticas. Métodos de ensayo.
72. Cosméticos, agentes activos de superficie. Determinación de la densidad en líquidos y semisólidos.
73. Cosméticos, agentes activos de superficie, limpiadores, desinfectantes y ambientadores. Determinación del pH.
74. Background review for sodium laurilsulfate used as an excipient. In: Agency EM, editor. 2015.

75. Oxiteno. ALKOPON®. Alcoholes Grasos Sulfatados. Alcoholes Grasos Etoxilados Sulfatados. 2014.
76. Cosmetic Ingredient Review. Expert Panel. Annual review of cosmetic ingredient safety. International Journal of Toxicology 2005;1: 1-102.
77. Ponce De Leon LF, Gamez L, Lemos L. Efecto de algunos alcoholes y electrolitos sobre la viscosidad y otras propiedades de un tipo comercial de lauril eter sulfatod sodio. [Tesis de Licenciatura]: Universidad Nacional de Colombia; 1980.
78. Rowe RC, Sheskey PJ, Quinn ME. Handbook of Pharmaceutical Excipients: Pharmaceutical Press and American Pharmacists Association 2009.
79. Korting M-H-W, Badolato GA F, Schuchmann H, Sobisch T, Lerche D. The pH of the Skin Surface and Its Impact on the Barrier Function. Skin Pharmacol Physiol. 2006;19:296-302.
80. Telofski LS, Morello AP, Correa M, Stamatias GN. The infant skin barrier: can we preserve, protect, and enhance the barrier? . Dermatology research and practice. 2012;2:30-5.
81. Handbook of Cosmetic Science and Technology. New York: Editorial Marcel Dekker, Inc.; 2001.
82. Schreml SK M, Abels C. Skin pH in the elderly and appropriate skin care. European Medical Journal Dermatology. 2014;6:57-71.
83. Silny W, Czarnecka-Operacz M, Glinski W, Samochocki Z, Jenerowicz D. Special paper: Atopic dermatitis-contemporary view on pathomechanism and management. Position statement of the Polish Dermatological Society specialists. Polish Dermatological Alergology. 2010;27(5).
84. Handbook of Cosmetic Science and Technology. New York: Editorial Marcel Dekker, Inc; 2009.
85. Texapon® n 70. 2004.

86. Mijovic P, Giagloglou E, Jeremic B, Macuzic I, Djapan M, Milosevic M. Influence of processing on cosmetic, pharmaceutical and food emulsions quality, stability and rheology. 7th International Quality Conference; May 24th. 2013; Center for Quality, Faculty of Engineering, University of Kragujevac2013.
87. O'laughlin R, Sachs C, Brittain H, Cohen E, Timmins P, Varia S. Effects of variations in physicochemical properties of glyceryl monostearate on the stability of an oil-in-water cream. *Journal of the Society of Cosmetic and Chemistry*. 1989;40:215-29.
88. Barry BW, Shoton E. Structure and rheology of sodium dodecyl sulphate-cetil alcohol-water: continuous shear experiments. *J Pharm Pharmac*. 1967;19.
89. Sanders PA. Molecular Complex Formation in Aerosol Emulsions and Foams. *Journal of the Society of Cosmetic Chemists*. 1966;17:801-30.