



**ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO**

**FACULTAD DE CIENCIAS**

**CARRERA BIOQUÍMICA Y FARMACIA**

**FORMULACIÓN Y CONTROL DE CALIDAD DE CREMA EN  
BARRA CON PROPIEDADES ANTIBACTERIANAS A BASE DE  
*Rosmarinus officinalis* Y *Myrcianthes hallii***

**Trabajo de Integración Curricular**

Tipo: Trabajo Experimental

Presentado para optar al grado académico de:

**BIOQUÍMICA FARMACÉUTICA**

**AUTORA: JUANA MARICELA URGILÉS GUAMÁN**

**DIRECTOR: BQF. GISELA PILCO BONILLA MSc.**

Riobamba - Ecuador

2022

**©2022, Juana Maricela Urgilés Guamán**

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

Yo, JUANA MARICELA URGILÉS GUAMÁN, declaro que el presente Trabajo de Integración Curricular es de mi autoría y los resultados del mismo son auténticos. Los textos en el documento que provienen de otras fuentes están debidamente citados y referenciados.

Como autora asumo la responsabilidad legal y académica de los contenidos de este Trabajo de Integración Curricular; El patrimonio intelectual pertenece a la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.

Riobamba, 30 de marzo del 2022.

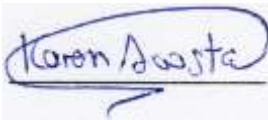


**Juana Maricela Urgilés Guamán**

**060507946-6**

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

El Tribunal del Trabajo de Integración Curricular certifica que: El Trabajo de Integración Curricular; tipo: Trabajo Experimental, **FORMULACIÓN Y CONTROL DE CALIDAD DE CREMA EN BARRA CON PROPIEDADES ANTIBACTERIANAS A BASE DE *Rosmarinus officinalis* Y *Myrcianthes hallii***, realizado por la señorita **JUANA MARICELA URGILÉS GUAMÁN**, ha sido minuciosamente revisado por los Miembros del Tribunal del Trabajo de Integración Curricular, el mismo que cumple con los requisitos científicos, técnicos, legales, en tal virtud el Tribunal autoriza su presentación.

	<b>FIRMA</b>	<b>FECHA</b>
Lic. Karen Lisseth Acosta León MSc. <b>PRESIDENTE DEL TRIBUNAL</b>		2022-03-30
Bqf. Gisela Alexandra Pilco Bonilla MSc. <b>DIRECTORA DEL TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR</b>		2022-03-30
Bqf. Aida Adriana Miranda Barros MSc. <b>MIEMBRO DE TRIBUNAL</b>		2022-03-30

## **DEDICATORIA**

El presente trabajo de titulación lo dedico principalmente a Dios, dueño de todo conocimiento y sabiduría, quien ha sido el promotor para que todo este proceso se lleve a cabo, sin él nada de esto fuera posible; gracias a mis padres Alfredo y Dolores por ser los mejores ejemplares en mi vida, por el apoyo, esfuerzo y sacrificio incondicional, quienes han estado al pie del cañón junto a mí, en los momentos más difíciles cuando sentía desmayar, por inculcar en mí esos bonitos valores, y ser ese ejemplo de esfuerzo y valentía para enfrentar a la vida. A mis hermanas Irma, Belén y Liliana por acompañarme en el transcurso de este camino largo, sin estos seres maravillosos en mi vida, simplemente nada de esto fuera igual.

*Maricela*

## **AGRADECIMIENTO**

Quiero expresar mi gratitud a Dios, por ser la fuente inagotable de vida, sin su ayuda simplemente no estaría culminado este proceso, todo lo agradable y bello que tengo es gracias a él, quien me ha dado la dicha de tener unos seres maravillosos, mis padres que son mi hombro de refugio en momentos de debilidad, su ejemplo me mantuvo soñando cuando quise rendirme. De igual forma quiero agradecer a mi querida institución la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo que me abrió las puertas y me permitió formarme, me siento orgullosa de pertenecer a tan noble institución, y a cada una de las personas que forman parte de ella, por impartir valiosos conocimientos que me han formado tanto personalmente como profesionalmente.

***Maricela***

## TABLA DE CONTENIDO

ÍNDICE DE TABLAS.....	ix
ÍNDICE DE FIGURAS.....	x
ÍNDICE DE GRÁFICOS.....	xi
ÍNDICE DE ANEXOS.....	xii
ÍNDICE DE ABREVIATURAS.....	xiii
RESUMEN.....	xv
ABSTRACT.....	xvi
INTRODUCCIÓN.....	1

## CAPÍTULO I

1. MARCO TEÓRICO.....	4
1.1. La piel.....	4
1.1.1. <i>Tipos de piel</i> .....	4
1.1.2. <i>Alteraciones de la piel</i> .....	4
1.1.3. <i>Lesiones en la piel</i> .....	5
1.2. Cremas faciales.....	5
1.2.1. <i>Cremas en barra</i> .....	5
1.2.2. <i>Excipientes utilizados en la crema sólida</i> .....	6
1.3. Impacto de los cosméticos en el medio ambiente.....	11
1.3.1. <i>Principales químicos usado en cosméticos que afectan al ambiente</i> .....	11
1.4. Extractos vegetales.....	14
1.4.1. <i>Myrcianthes hallii (Arrayán)</i> .....	15
1.4.1.1. <i>Descripción botánica</i> .....	16
1.4.1.2. <i>Componentes</i> .....	16
1.4.2. <i>Rosmarinus officinalis (Romero)</i> .....	16
1.4.2.1. <i>Descripción botánica</i> .....	17
1.4.2.2. <i>Componentes</i> .....	17
1.5. Métodos de cuantificación de fenoles y flavonoides en extractos vegetal.....	18
1.6. Control de calidad de los productos cosméticos terminados.....	19
1.7. Estudio de estabilidad en cosméticos.....	19
1.8. Métodos para determinar de la actividad antibacteriana <i>in vitro</i> de la crema.....	20
1.8.1. <i>Cepas contaminantes en cosméticos</i> .....	20

1.9.	<b>Principios activos que se usan para infecciones bacterianas en la piel</b> .....	22
------	---	----

## CAPÍTULO II

2.	<b>MARCO METODOLÓGICO</b> .....	24
2.1.	<b>Lugar de recolección e identificación botánica</b> .....	24
2.2.	<b>Lugar de la Investigación</b> .....	24
2.3.	<b>Tipo y diseño de la investigación</b> .....	25
2.4.	<b>Población de estudio, tamaño de muestra, método de muestreo</b> .....	25
2.5.	<b>Hipótesis</b> .....	26
2.6.	<b>Identificación de Variables</b> .....	26
2.7.	<b>Formulación de la crema</b> .....	26
2.8.	<b>Equipos, materiales y recursos</b> .....	29
2.9.	<b>Pruebas de control de calidad de la especie vegetal</b> .....	28
2.10.	<b>Análisis fisicoquímico cuantitativo</b> .....	28
2.10.1.	<i>Determinación de humedad</i> .....	28
2.10.2.	<i>Determinación de cenizas totales</i> .....	29
2.10.3.	<i>Determinación de cenizas solubles en agua</i> .....	29
2.10.4.	<i>Determinación de cenizas insolubles en ácido clorhídrico</i> .....	30
2.11.	<b>Tamizaje fitoquímico</b> .....	31
2.11.1.	<i>Obtención del extracto etéreo, alcohólico y acuoso del Arrayán y Romero</i> .....	31
2.11.2.	<i>Obtención del extracto hidroalcohólico, concentrado y liofilizado</i> .....	34
2.11.3.	<i>Control de calidad del extracto hidroalcohólico de romero y arrayán</i> .....	33
2.12.	<b>Análisis fitoquímico</b> .....	37
2.12.1.	<i>Reacciones de caracterización fitoquímica</i> .....	39
2.12.1.1.	<i>Tamizaje fitoquímico del extracto etéreo</i> .....	39
2.12.2.2.	<i>Tamizaje fitoquímico del extracto alcohólico</i> .....	36
2.12.2.3.	<i>Tamizaje fitoquímico del extracto acuoso</i> .....	37
2.12.2.4.	<i>Tamizaje fitoquímico del extracto hidroalcohólico</i> .....	37
2.12.2.	<i>Reacciones cualitativas para determinar metabolitos secundarios</i> .....	38
2.13.	<b>Proceso de cuantificación de fenoles</b> .....	40
2.14.	<b>Cuantificación de flavonoides</b> .....	43
2.15.	<b>Formulación de la crema</b> .....	44
2.15.1.	<i>Control de calidad del producto final</i> .....	47
2.16.	<b>Determinación de la actividad antibacteriana del producto final</b> .....	50



## CAPÍTULO III

<b>3.</b>	<b>MARCO DE RESULTADOS, ANÁLISIS Y DISCUSIÓN</b> .....	51
<b>3.1.</b>	<b>Análisis de la especie vegetal</b> .....	51
<b>3.1.1.</b>	<i>Control de calidad de las especies vegetales</i> .....	51
<b>3.1.2.</b>	<i>Comprobación taxonómica e identificación botánica</i> .....	51
<b>3.1.3.</b>	<i>Análisis físico-químico cuantitativo</i> .....	52
<b>3.1.4</b>	<i>Control de calidad del extracto hidroalcohólico de romero y arrayán</i> .....	54
<b>3.2.</b>	<b>Análisis fisicoquímico cualitativo</b> .....	56
<b>3.2.1.</b>	<i>Reacciones de caracterización</i> .....	56
<b>3.3.</b>	<b>Cuantificación de fenoles y flavonoides</b> .....	60
<b>3.4.</b>	<b>Formulación de la crema en barra</b> .....	63
<b>3.5.</b>	<b>Envasado y etiquetado de la crema en barra</b> .....	76
<b>3.6.</b>	<b>Aplicación de encuestas</b> .....	77
<b>3.6.1.</b>	<i>Tabulación de las encuestas</i> .....	78
	<b>CONCLUSIONES</b> .....	81
	<b>RECOMENDACIONES</b> .....	82
	<b>GLOSARIO</b>	
	<b>BIBLIOGRAFÍA</b>	
	<b>ANEXOS</b>	

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1-1:</b>	Clasificación científica del arrayán .....	15
<b>Tabla 2-1:</b>	Clasificación científica del romero .....	17
<b>Tabla 3-1:</b>	Metabolitos del romero y su actividad biológica.....	19
<b>Tabla 4-1:</b>	Condiciones de almacenamiento.....	21
<b>Tabla 1-2:</b>	Población, muestra y criterios de inclusión y exclusión .....	25
<b>Tabla 2-2:</b>	Factores de estudio.....	27
<b>Tabla 3-2:</b>	Formulación de la crema.....	44
<b>Tabla 4-2:</b>	Nivel de riesgo del producto .....	47
<b>Tabla 5-2:</b>	Criterios de clasificación para cosméticos .....	47
<b>Tabla 6-2:</b>	Parámetros para formas sólidas .....	48
<b>Tabla 7-2:</b>	Control de calidad del producto terminado .....	48
<b>Tabla 1-3:</b>	Cenizas totales, humedad y cenizas solubles de roero y arrayán.....	52
<b>Tabla 2-3:</b>	Extracto de arrayán y romero.....	53
<b>Tabla 3-3:</b>	Características organolépticas del extracto de arrayán y romero.....	54
<b>Tabla 4-3:</b>	Metabolitos secundarios en extracto etereo de arrayán y romero .....	55
<b>Tabla 5-3:</b>	Metabolitos secundarios en extracto alcohólico de arrayán y romero .....	56
<b>Tabla 6-3:</b>	Metabolitos secundarios en extracto acuoso de arrayán y romero.....	56
<b>Tabla 7-3:</b>	Metabolitos secundarios en extracto hidroalcohólico de arrayán y romero .....	57
<b>Tabla 8-3:</b>	Concentración de quercetina.....	58
<b>Tabla 9-3:</b>	Cuantificación de flavonoides por espectrofotometría UV-VIS.....	59
<b>Tabla 10-3:</b>	Concentraciones de ácido gálico .....	60
<b>Tabla 11-3:</b>	Cuantificación de fenoles por espectrofotometría .....	60
<b>Tabla 12-3:</b>	Excipientes empleados en la formulación .....	61
<b>Tabla 13-3:</b>	Composición de formulaciones.....	63
<b>Tabla 14-3:</b>	Control de calidad de formulaciones propuestas para crema en barra.....	67
<b>Tabla 15-3:</b>	Estudio de estabilidad acelerado .....	69
<b>Tabla 16-3:</b>	Estudio cualitativo de la actividad antibacteriana de los extractos vegetales .....	71
<b>Tabla 17-3:</b>	Parámetro de evaluación .....	74
<b>Tabla 18-3:</b>	Muestras a elegir.....	75
<b>Tabla 19-3:</b>	Escala de Likert .....	75

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1-1:</b>	Alcohol cetílico .....	6
<b>Figura 2-1:</b>	Miristato de isopropilo .....	7
<b>Figura 3-1:</b>	Alcohol cetearílico .....	7
<b>Figura 4-1:</b>	Cetearil sulfato de sodio .....	7
<b>Figura 5-1:</b>	Ácido esteárico .....	7
<b>Figura 6-1:</b>	Tween 80.....	8
<b>Figura 7-1:</b>	Trietanolamina .....	8
<b>Figura 8-1:</b>	Ácido láurico.....	9
<b>Figura 9-1:</b>	Monoestearato de glicerilo .....	9
<b>Figura 10-1:</b>	Compuestos activos del romero.....	10
<b>Figura 11-1:</b>	Agua.....	10
<b>Figura 12-1:</b>	Arrayán .....	16
<b>Figura 13-1:</b>	Estructuras del <i>M. hallii</i> con actividad antibacteriana .....	17
<b>Figura 14-1:</b>	Romero.....	18
<b>Figura 15-1:</b>	Estructuras del <i>R. officinalis</i> con actividad antibacteriana.....	19
<b>Figura 1-3:</b>	Curva de calibración de los estándares de quercetina .....	58
<b>Figura 2-3:</b>	Curva de calibración de los estándares de ácido gálico .....	60
<b>Figura 3-3:</b>	Etiqueta del envase primario .....	73
<b>Figura 4-3:</b>	Envase secundario .....	76

## ÍNDICE DE GRÁFICOS

<b>Gráfico 1-2:</b>	Lugar de recolección e identificación de arrayán y romero.....	24
<b>Gráfico 2-2:</b>	Obtención de extracto etéreo, acuoso, alcohólico .....	34
<b>Gráfico 3-2:</b>	Extracto etéreo .....	38
<b>Gráfico 4-2:</b>	Extracto alcohólico .....	38
<b>Gráfico 5-2:</b>	Extracto acuoso.....	39
<b>Gráfico 6-2:</b>	Formulación de la crema en barra.....	45
<b>Gráfico 1-3:</b>	Nivel de aceptación de las muestras de crema .....	74
<b>Gráfico 2-3:</b>	Crema de mayor elección.....	75
<b>Gráfico 3-3:</b>	Nivel de satisfacción de la presentación del producto.....	76
<b>Gráfico 4-3:</b>	Costo del producto .....	77

## **ÍNDICE DE ANEXOS**

- ANEXO A:** ENCUESTA APLICADA
- ANEXO B:** IDENTIFICACIÓN DE LAS ESPECIES VEGETALES
- ANEXO C:** ACONDICIONAMIENTO DEL ROMERO Y ARRAYÁN
- ANEXO D:** PREPARACIÓN DE LOS EXTRACTO
- ANEXO E:** ANÁLISIS CUALITATIVO DE LAS ESPECIES VEGETALES
- ANEXO F:** ANÁLISIS CUANTITATIVO DE LOS EXTRACTOS
- ANEXO G:** PROCESO DE LA FORMULACIÓN DEL PRODUCTO
- ANEXO H:** PARÁMETROS COMPLEMENTARIOS
- ANEXO I:** CERTIFICADO DE CUMPLIMIENTO DE NORMATIVA

## ÍNDICE DE ABREVIATURAS

<b>a<sub>1</sub></b>	Grado alcohólico de los extractos
<b>b<sub>1</sub></b>	Cantidad de los excipiente
<b>c<sub>1</sub></b>	Tipo de excipientes
<b>mg Eq Q</b>	Miligramos equivalentes de quercetina
<b>mg Eq GAE</b>	Miligramos equivalentes de ácido gálico
<b>W/O</b>	Agua en aceite
<b>O/W</b>	Aceite en agua
<b>TEA</b>	Trietanolamina
<b>BTMS</b>	Metosulfato de behentrimonio
<b>BPM</b>	Buenas prácticas de manufactura
<b>Hz</b>	Hercios
<b>ATCC25922</b>	Colección Americana de Tipos de Cultivos 25922
<b>NTE INEN</b>	Norma técnica ecuatoriana Instituto ecuatoriano de normalización
<b>ARCSA</b>	Agencia Nacional de Regulación, Control y Vigilancia Sanitaria
<b>AEMPS</b>	Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios
<b>USP</b>	Farmacopea de Estados Unidos
<b>UV-VIS</b>	Ultravioleta visible
<b>CMI</b>	Concentración mínima inhibitoria
<b>st</b>	Sólido totales
<b>mm</b>	Milímetros
<b>ppm</b>	Partes por millón
<b>Abs</b>	Absorbancia
<b>kg</b>	Kilogramos
<b>g</b>	Gramos
<b>mg</b>	Miligramos
<b>ml</b>	Mililitros
<b>l</b>	Litros
<b>v</b>	Volumen
<b>m</b>	Masa
<b>min</b>	Minutos
<b>uma</b>	Unidad de masa atómica

**RPM**           Revoluciones por minuto  
**PGE**           Polietilenglicol

## RESUMEN

El presente trabajo tuvo como finalidad formular una crema en barra con propiedades antibacterianas a base de *Myrcianthes hallii* (Arrayán) y *Rosmarinus officinalis* L. (Romero). Para lo cual, se realizó el control de calidad de las especies vegetales y extractos, a continuación en el tamizaje fitoquímico, se identificó la presencia de alcaloides, quinonas, flavonoides, mientras que en la cuantificación de metabolitos se obtuvo para el romero 1 874,892 mg Eq GAE / 100 g de fenoles y 3 256,568 mg Eq Q / 100 g de flavonoides y para el arrayán 4 972,254 mg Eq GAE / 100 g de fenoles y 1 283,546 mg Eq Q / 100 g de flavonoides, responsables de la actividad antibacteriana. Para la formulación de las cremas se consideró la modificación de parámetros como: grado alcohólico de los extractos, cantidad y tipo de excipientes. Además, se evaluó la actividad antibacteriana frente a *Staphylococcus aureus* de los extractos: hidroalcohólicos, concentrados y liofilizados, los cuales formaron halos de 20, 24 y 25 mm respectivamente, comparado frente a un control positivo de cefoxitina con 27 mm. Como resultado el extracto liofilizado al 70% presentó mejor actividad antibacteriana, sin embargo, no se utilizó en la crema, debido a la modificación del color blanco a verdoso. Se realizaron 9 formulaciones, la novena fue la mejor con la mezcla de extractos hidroalcohólicos al 70%, cumpliendo con lo establecido en el “*Instructivo externo código IE-C.2.2-COS-02, de las especificaciones fisicoquímicas, organolépticas y microbiológicas para los productos cosméticos de bajo riesgo, especificado por el ARCSA*” y el etiquetado según la NTE INEN 2867, por otro lado se realizó el estudio de estabilidad acelerada al producto terminado. Finalmente, se recomienda estudiar la efectividad antibacteriana de los extractos de *M. hallii* y *R. officinalis* frente a *S. aureus* para la aplicación en fitocosméticos y medicamentos.

**Palabras clave:** <BIOQUÍMICA Y FARMACIA>, <CREMA EN BARRA>, < FENOLES Y FLAVONOIDES>, <ROMERO (*Rosmarinus officinalis*)>, <ARRAYÁN (*Myrcianthes hallii*)>.

LEONARDO  
FABIO  
MEDINA  
NUSTE

Firmado digitalmente por  
LEONARDO FABIO MEDINA NUSTE  
Nombre de reconocimiento (DN):  
c=EC, o=BANCO CENTRAL DEL  
ECUADOR, ou=ENTIDAD DE  
CERTIFICACION DE INFORMACION-  
ECIBCE, i=QUITO,  
serialNumber=0000621485,  
cn=LEONARDO FABIO MEDINA  
NUSTE  
Fecha: 2022.04.22 12:41:35 -05'00'



0767-DBRA-UTP-2022



## ABSTRACT

The aim of this work was to formulate a stick cream with antibacterial properties based on *Myrcianthes hallii* (Myrtle) and *Rosmarinus officinalis L.* (Rosemary). Firstly a quality control of the plant species and extracts was carried out, then in the phytochemical screening, the presence of alkaloids, quinones, flavonoids was identified, while in the quantification of metabolites, 1,874,892 mg Eq GAE/100 g of phenols and 3,256.568 mg Eq Q/100 g of flavonoids was obtained for rosemary and for myrtle 4,972.254 mg Eq GAE/100 g of phenols and 1,283.546 mg Eq Q/100 g of flavonoids, responsible for the antibacterial activity. For the formulation of the creams, the modification of parameters was considered, such as: alcoholic strength of the extracts, quantity and type of excipients. In addition, the antibacterial activity of the extracts against *Staphylococcus aureus* was evaluated, these extracts were: the hydroalcoholic, concentrated and lyophilized, which formed halos of 20, 24 and 25 mm, respectively, compared to a positive control of cefoxitin with 27 mm. As a result, the 70% lyophilized extract presented better antibacterial activity, however, it was not used in the cream, due to the change of color from white to greenish. Nine formulations were made, the ninth was the best with the mixture of 70% hydroalcoholic extracts, complying with the “*Instructivo externo código IE-C.2.2-COS-02, de las especificaciones fisicoquímicas, organolépticas y microbiológicas para los productos cosméticos de bajo riesgo, especificado por el ARCSA*” and labeling according to NTE INEN 2867, on the other hand, the accelerated stability study was carried out on the finished product. Finally, it is recommended to study the antibacterial effectiveness of the extracts of *M. hallii* and *R. officinalis* against *S. aureus* for application in phytocosmetics and medicines.

**Keywords:** <BIOCHEMISTRY AND PHARMACY>, <CREAM BAR>, <PHENOLS AND FLAVONOIDS>, <ROSEMARY (*Rosmarinus officinalis*)>, < MYRTLE (*Myrcianthes hallii*)>.

EDISON  
HERNAN  
SALAZAR  
CALDER  
ON

Firmado digitalmente por EDISON HERNAN SALAZAR CALDERON  
Fecha: 2022.05.06 12:38:11 -05'00'

## INTRODUCCIÓN

La piel es uno de los órganos más grandes del cuerpo humano, cuya función principal es la de brindar protección. A la vez, forma una barrera física, que impide la salida de sustancias indispensables para la vida y evita el ingreso de sustancias perjudiciales como bacterias, hongos, parásitos y cuerpos extraños, no obstante, los cambios climáticos severos y otros factores llegan a afectar a la piel (Calle, 2016, p. 66).

Factores como: exposición a sustancias químicas, baja humedad como la contaminación, radiación solar y baja temperatura, llegan a afectar a la piel, ocasionando un prematuro y acelerado envejecimiento, entre otros efectos, como las enfermedades más comunes entre ellas: dermatitis atópica, acné, cuando no se toman en cuenta las medidas de protección apropiadas (Spadal, 2018, p. 491).

Desde hace varios años la industria cosmética ha desarrollado infinidad de productos para combatir los efectos de la edad, el sol y demás factores ambientales sobre la piel, sin embargo, usan una gran cantidad de compuestos sintéticos como lauril sulfato de sodio, triclosán, p-fenilendiamina, formaldehído, polietilenglicol, dietanolamina, *petrolatum*, parabenos, químicos a los que se le atribuyen propiedades peligrosas para la salud del ser humano (UNAM, 2017, p. 9).

Debido a lo antes mencionado distintos defensores y organizaciones no gubernamentales han levantado su voz para concientizar sobre el impacto que estos componentes pueden llegar a producir al medio ambiente, en este mismo sentido, en distintos países se han emitido varias alertas sanitarias para el retiro de productos cosméticos del mercado por contaminación microbiológica (Salas et al, 2018, p. 134).

Por ejemplo en España, la AEMPS, ordenó la retirada del mercado de productos cosméticos como máscaras de pestañas, por contaminación microbiológica, de la empresa Colour Make up, de igual forma de la empresa Dr. Schumacher GmbH, ordenó la retirada de toallitas limpiadoras, también retiraron del mercado lotes de desodorante *dermo roll-on*, por la presencia del microorganismo *P. aeruginosa*, de la empresa Laboratorios Byly, S.A (AEMPS, 2020, p. 1).

En Ecuador, la “Agencia Nacional de Regulación, Control y Vigilancia Sanitaria” (ARCSA) anunció sobre la contaminación por *Pluralibacter gergoviae*, de varios lotes de toallitas húmedas de la empresa Kimberly Clark Ecuador S.A, de igual forma indicó la contaminación de agua estéril para inyección *Ampoulepack* x 10 ml, del Laboratorio Ropsohn Therapeutics S.A.S y ordenó la retirada del mercado (ARCSA, 2020, p. 1).

Por lo tanto se recalca la importancia del control microbiológico en productos, ya que al encontrarse contaminados se ha reportado que ciertos cosméticos han producido infecciones en hospitales, algunos a nivel ocular e incluso llegando a producir ceguera, es importante la producción conforme a buenas prácticas de manufactura, con el objetivo de formular productos seguros y evitar efectos nocivos en la salud (ARCSA, 2020, p. 1).

Analizando los factores ya citados, se propuso la elaboración y control de calidad de un producto a base de extractos vegetales, que contenga una mínima cantidad de compuestos sintéticos que proporcione humectación. En función a lo mencionado se planteó la siguiente interrogante ¿Existe en el mercado un producto sólido humectante de calidad, a base de especies vegetales que satisfaga las necesidades del usuario y sea amigable con el medio ambiente?

Finalmente se buscó conservar las propiedades antibacterianas de la formulación de crema, por el empleo de los extractos hidroalcohólicos, concentrados y liofilizados de *Myrcianthes hallii* y *Rosmarinus officinalis* que a distintas concentraciones de 20, 70 y 96%, indicó la presencia de flavonoides y fenoles en su composición, siendo metabolitos reconocidos por sus efectos antimicrobianos, antiinflamatorios, antioxidantes, entre otros (Salas, et al, 2018, p. 134).

## **OBJETIVOS**

### **General**

- Elaborar una crema en barra con propiedades antibacterianas a base del extracto de *Rosmarinus officinalis* (Romero) y *Myrcianthes hallii* (Arrayán).

### **Específicos**

- Determinar la calidad de las especies vegetales y sus extractos mediante ensayos organolépticos y fisicoquímicos.
- Proponer una formulación innovadora a partir del extracto de *Rosmarinus officinalis* (Romero) y *Myrcianthes hallii* (Arrayán).
- Realizar el proceso de control de calidad de la crema en barra mediante ensayos organolépticos, fisicoquímicos y microbiológicos.
- Evaluar la aceptabilidad del producto final en una población determinada.

# CAPÍTULO I

## 1. MARCO TEÓRICO

### 1.1. La piel

La piel es una cubierta, de gran importancia por el tamaño y las funciones que cumple, entre ellas, la protección del organismo frente a agentes externos. Es una envoltura que, en los orificios naturales del organismo, se va transformando de forma paulatina a una mucosa. Desde el exterior se distinguen tres capas de tejidos diferentes como la epidermis, dermis e hipodermis o subcutis (Merino y Noriega, 2015, p. 1).

En la epidermis existen células llamadas melanocitos, que aportan el pigmento a los queratinocitos, además de células de *Langerhans* con propiedades inmunológicas y las células de *Merkel* con función en el sentido del tacto a nivel de la epidermis. Este epitelio no posee vasos ni nervios, sin embargo, se encuentra perforado por unos conductos glandulares y otros queratinizados como el pelo y las uñas (Buendía et al, 2018, p. 3).

La dermis está formada por tejido conectivo, es una estructura que da soporte a la piel al proporcionarle resistencia y mayor elasticidad, la matriz extracelular tiene alto contenido de fibras, no muy compactadas, con colágeno, reticulina y elastina. La hipodermis está conformada por tejido conectivo laxo y una serie de fibras que se fijan a la dermis, formando así franjas de anclaje (Merino y Noriega, 2015).

#### 1.1.1. Tipos de piel

La piel puede presentar diferentes tipos de acuerdo a las características de su cutis, como por ejemplo (Alma, 2015, p. 85):

- Normal: Cuando es de color uniforme y suave al contacto, se denomina “sana”.
- Grasa: Su apariencia tiende a ser gruesa, con poros dilatados cuya secreción sebácea y sudorípara resulta ser abundante, tiene un aspecto húmedo y brillante.
- Seca: Es una piel con falta de agua, se divide en alópica: ausencia de grasa y agua, y la piel deshidratada, por lo general se presenta en áreas a las que no se humectan como las rodillas, plantas de los pies y codos.
- Mixta: Tiene un área grasa en la parte de la frente, nariz o mentón, también conocida como zona “T”, mientras que las mejillas y el contorno de los ojos son resecos.

### ***1.1.2. Alteraciones de la piel***

La piel es el órgano del cuerpo que sufre mayor complejidad y cantidad de alteraciones, las cuales varía de una persona a otra y hay zonas cutáneas más susceptibles de perturbarse que otras. Los factores responsables pueden ser: intrínsecos como desequilibrio hormonal, trastornos nerviosos, herencia genética, edad, alimentación y extrínsecos como factores mecánicos como traumatismos, físicos como el frío, calor y químicos o biológicos (Mancilla, 2017, p. 64).

### ***1.1.3. Lesiones en la piel***

Dentro de las lesiones de la piel se pueden encontrar las primarias como mácula, pápula, ronchas, placa, nódulo, vesícula, ampolla, pústula, absceso y quistes. Otras lesiones especiales son el flemón, tumor, comedón, nevo y melanomas. Dentro de las lesiones secundarias se encuentran la costra, escama, cicatriz, queloide, excoriación, úlcera, fisura y atrofia (Mancilla, 2017).

## **1.2. Cremas**

Las cremas lesiones de la piel se pueden encontrar las primarias como mácula, pápula, ronchas, placa, nódulo, vesícula, ampolla, pústula, absceso y quistes Existen dos tipos de emulsiones base, la de aceite en agua O/W que emplean emulsificantes más solubles en agua y las de agua en aceite W/O con emulsificantes más solubles en aceite (Cobos, 2015, p. 18).

Las emulsiones de aceite en agua no son grasas y pueden eliminarse de forma fácil por la piel, generalmente se usan para producir un efecto refrescante, las emulsiones de agua en aceite son de consistencia grasa, no se lavan fácilmente con agua y se usan de forma externa para prevenir que se evapore la humedad en la piel y la fase externa es aceite mientras que la interna es agua (Lui, 2016, p. 9).

Dentro de los tipos de crema se pueden encontrar las siguientes (Burgos et al, 2020, p. 16):

- Crema para piel sensible
- Reafirmante
- Anticelulitis
- Exfoliante
- Antiestrías
- Hidratante/Humectante

### 1.2.1. Cremas en barra

Las cremas en barra han adquirido diferentes presentaciones en el mercado como pastillas semejantes a jabones en barra, en aplicadores de plástico tipo *roll on* o en forma de labial. Este tipo de crema se caracteriza por tener forma compacta, cuentan con una consistencia más sedosa y suave al tacto, para su fácil aplicación en la piel y logrando una mayor humectación e hidratación (Varon, 2019, p. 20).

La ventaja de este tipo de cremas humectantes es tratar zonas específicas del cuerpo, como codos, rodillas, plantas de los pies, por lo cual, en lugar de colocar gran cantidad de crema humectante líquida, este tipo de crema en barra se puede aplicar directamente en el área que quede afectada por la humedad, el viento o el frío. Además, se puede acompañar a la crema con aceite hidratante para un mayor efecto en la piel (Varon, 2019, p. 20).

Se caracterizan por:

- Tener forma cilíndrica.
- Estar compuestas por excipientes con actividad espesante, también por ceras o aceites.
- Aplicar por deslizamiento en la piel.

### 1.2.2. Excipientes utilizados en la crema sólida

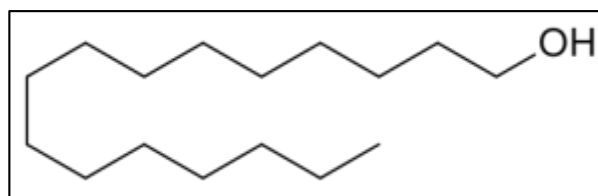
- Alcohol cetílico

INCI: *Cetyl alcohol*

Fórmula:  $C_{16}H_{34}O$ , su estructura se observa en la figura 1-1.

Función: emoliente, agente emulsionante, estabilizador de emulsiones, musgo sinergista, opaco, agente de enmascaramiento, tensioactivo y agente de control de viscosidad.

Estructura química:



**Figura 1-1.** Alcohol cetílico.

**Fuente:** Instituto dermocosmetista, 2019.

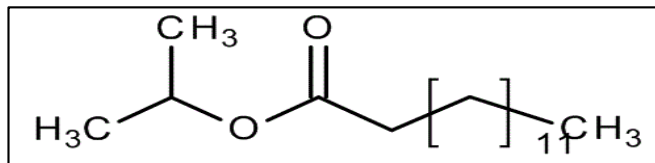
- Miristato de isopropilo:

INCI: *Isopropyl myristate*

Fórmula:  $C_{17}H_{34}O_2$ , su estructura se observa en la figura 2-1.

Función: agente de fijación, emoliente, agente de enmascaramiento, o agente fragante.

Estructura química:



**Figura 2-1.** Miristato de isopropilo.

Fuente: Acofarma, 2018.

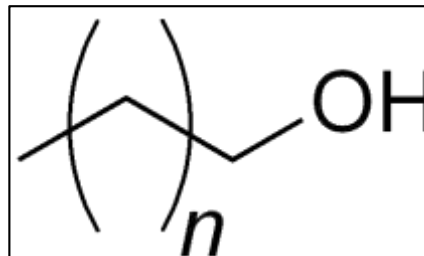
- Cera Lanette N

INCI: *Cetearyl alcohol, sodium cetearyl sulfat*

Fórmula: Alcohol cetearílico  $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_n\text{OH}$  y cetearil sulfato de sodio  $\text{C}_{34}\text{H}_{70}\text{NaO}_8\text{S}_2$ , cuyas estructuras se observan en las figuras 3-1 y 4-1.

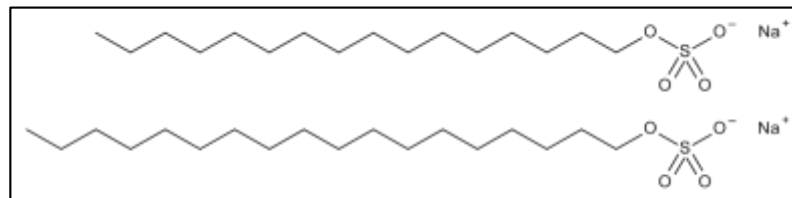
Función: agente de limpieza, agente emulsionante, estabilizador de emulsiones, espesante, agente de restauración de lípidos, tensioactivo.

Estructura química:



**Figura 3-1.** Alcohol cetearílico.

Fuente: Acofarma, 2019.



**Figura 4-1.** Cetearil sulfato de sodio.

Fuente: PubChem, 2019.

- Ácido esteárico

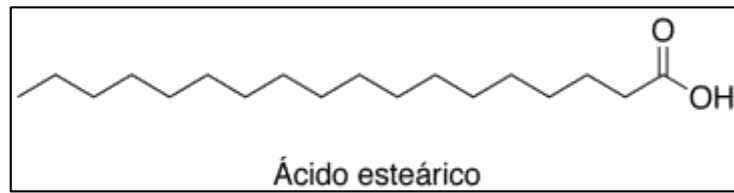
INCI: *Stearic acid*

Fórmula:  $\text{C}_{18}\text{H}_{36}\text{O}_2$ , su estructura se observa en la figura 5-1.

Función: agente emulsificante, espesante, base para cremas y desodorantes, previene la oxidación de los productos, tensioactivo, emoliente, sustituyente del aceite de palma.



Estructura química:



**Figura 5-1.** Ácido esteárico.

Fuente: FESNAD, 2015.

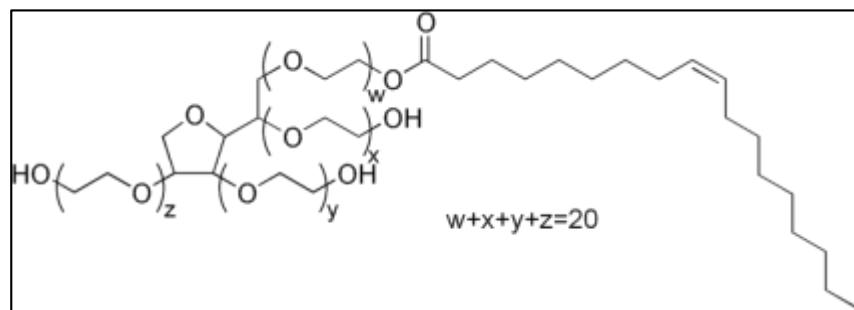
- Tween 80

INCI: *Polysorbate 80*

Fórmula:  $C_{64}H_{124}O_{26}$ , su estructura se observa en la figura 6-1.

Función: desnaturalizante, agente emulsionante y tensioactivo.

Estructura química:



**Figura 6-1.** Tween 80.

Fuente: PubChem, 2019.

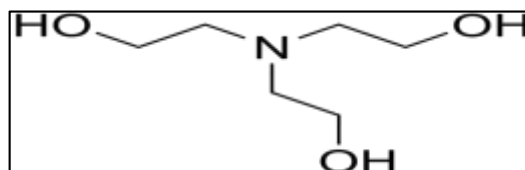
- Trietanolamina

INCI: *Triethanolamine*

Fórmula:  $C_6H_{15}NO_3$ , su estructura se observa en la figura 7-1.

Función: regulador de pH, agente emulsionante, agente de enmascaramiento y tensioactivo.

Estructura química:



**Figura 7-1.** Trietanolamina.

Fuente: PubChem, 2019.

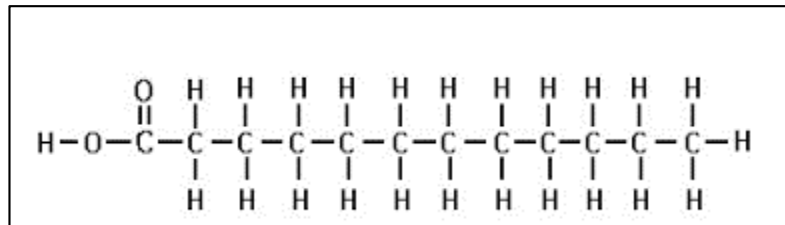
- Aceite de coco

INCI: *Cocos oil*

Fórmula: ácido láurico  $\text{CH}_3\text{-(CH}_2\text{)}_{10}\text{-COOH}$ , su estructura se observa en la figura 8-1.

Función: acondicionador para cabello, agente de enmascaramiento, agente fragante, agente de cuidado de la piel.

Estructura química:



**Figura 8-1.** Ácido láurico.

Fuente: PubChem, 2019.

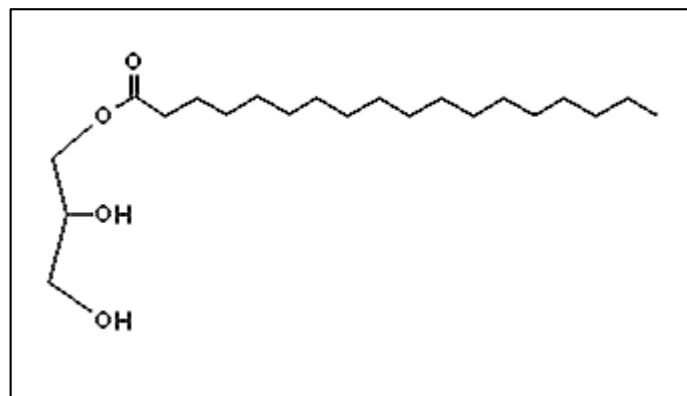
- Monoestearato de glicerilo

INCI: *Glyceryl stearate*.

Fórmula:  $\text{C}_{21}\text{H}_{42}\text{O}_4$ , su estructura se observa en la figura 9-1.

Función: agente estabilizante, emulsificante, da consistencia a emulsiones fluidas.

Estructura química:



**Figura 9-1.** Monoestearato de glicerilo.

Fuente: Sanchez y Pardo, 2012.

- Sharomix

INCI: *Benzoic acid, sorbic acid, dehydroacetic acid, benzyl alcohol*.

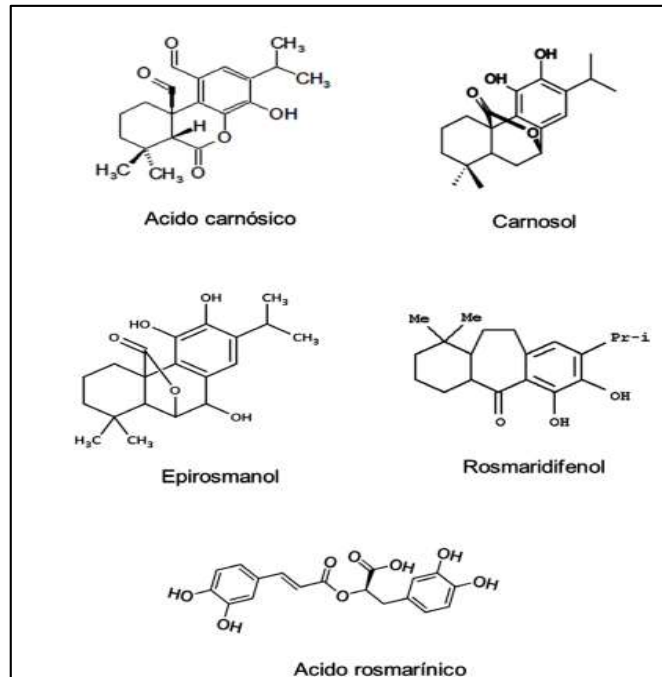
Función: conservante natural.

- Aceite esencial de romero

INCI: *Rosmarinus officinalis oil*

Función: agente de enmascaramiento, proporcionando fragancia, agente de cuidado de la piel, antioxidante.

Estructura química: en la figura 10-1, se observa las estructuras principales de los compuestos activos del romero.



**Figura 10-1.** Compuestos activos del romero.

Fuente: Ávila, R. *Rosmarinus officinalis*. 2011.

- Extracto hidroalcohólico de romero

INCI: *Rosmarinus officinalis extract*

Función: antimicrobiano, vigorizante, agente refrescante, antioxidante, efecto diurético y antipirético.

- Extracto hidroalcohólico de arrayán

Función: actividad antibacteriana frente a bacterias gram positivas y negativas, actividad antioxidante, antiinflamatoria.

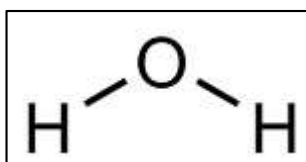
- Agua

INCI: Aqua

Fórmula: H<sub>2</sub>O

Función: solvente

A continuación en la figura 11-1, se observa la estructura química:



**Figura 11-1.** Agua.

Fuente: PubChem. 2019.

### **1.3. Impacto de los cosméticos en el medio ambiente**

Los principales impactos de los cosméticos en el medio ambiente son la contaminación del agua, suelo y atmósfera, causando un agotamiento de los recursos naturales no renovables y afectando en el modo de supervivencia de la fauna y flora. A esto suma, el uso no apropiado y exagerado de energía, agua, combustibles y agentes químicos en todo el ciclo de fabricación y comercialización de los productos (Zuluaga y Hernandez, 2016, p. 31).

Actualmente en el mundo se han desarrollado ecoetiquetas para bienes y servicios, que optimizan el uso de recursos durante el ciclo de vida de los productos y de acuerdo a la legislación y normas de los países se mejora la conservación y por ende existe un mayor cuidado del medio ambiente, cumpliendo con el desarrollo sostenible sin afectar la productividad (Zuluaga y Hernandez, 2016, p. 31).

#### ***1.3.1. Principales compuestos químicos usado en cosméticos que afectan al medio ambiente***

Los cosméticos emplean varias sustancias químicas para sus formulaciones, las cuales atribuyen un sinnúmero de propiedades positivas. Sin embargo, estos compuestos tienen un alto impacto a nivel ambiental, siendo los más peligrosos los siguientes (UNAM, 2017, p. 9):

- Lauril sulfato de sodio

Es utilizado como agente con gran poder espumante y detergente muy elevado, por tal motivo ha llegado a producir un efecto irritante, ocasionando resequedad sobre la piel, razón por la cual se encuentra cada vez menos en cosméticos de baño como por ejemplo en geles de ducha, es así que se ha tratado de reemplazar por la versión etoxilada que viene a ser menos abrasiva (*SLES = Sodium Laureth Sulfate*) u otros tensioactivos naturales (Lee y Maibach, 2006, p. 1).

Al tener en su estructura una cadena de 12 átomos, que se encuentran unidos al grupo sulfato, C<sub>12</sub>H<sub>25</sub>NaO<sub>4</sub>S, lo cual le confiere las propiedades anfífilas, propia de los productos de limpieza, que actúa retirando la fase lipídica de la dermis, este grupo sulfato puede producir hipersensibilidad crónica, además es considerado contaminante de medios acuáticos, a pesar de ello, está autorizado su uso de acuerdo a los límites de dosificación (Lee y Maibach, 2006, p. 1).

- Triclosán

Es utilizado como conservante y antibacteriano, en la industria cosmética alrededor de treinta años, en cremas corporales, jabones, champús, detergentes, desodorantes, lociones, entre otros, sin embargo existe controversia con respecto a los efectos adversos sobre la salud del consumidor, debido a que se pretende que presenta un efecto sobre la glándula tiroides como disruptor endócrino, alterando el correcto funcionamiento hormonal (Zuñiga y Lozano, 2017, p. 3).

Además se bioacumula en el agua al presentar una cadena larga de carbonos  $C_{12}H_7O_2Cl_3$ , ocasionando un efecto duradero, lo cual es difícil eliminarlo en su totalidad por tratamientos, quedando la mitad suelo, que a la vez se introduce al ambiente al ser utilizado en los cultivos, también llega a alterar el ciclo del nitrógeno, así lo afirma Zuñiga y Lozano en el 2017, por lo que recomiendan el uso esporádico o nulo (Zuñiga y Lozano, 2017, p. 3).

- P-fenilendiamina

Derivado del alquitrán de hulla, usado para dar color en formulaciones como maquillajes, tintes, rímel, los colorantes tienen aluminio y metales pesados, que al permanecer en la piel, se ha reportado casos de dermatitis de contacto y alergias. En su estructura  $C_6H_4(NH_2)_2$ , muestra la presencia de aminas alifáticas, las cuales forman compuestos nitrosos al reaccionar con nitritos y nitratos, responsables de patologías cancerígenas (Encabo et al, 2018, p. 1).

- Formaldehídos

Dentro de esta familia se encuentra el glutaraldehído, que es menos irritante que el formaldehído, utilizado en cosmética como antiséptico al 2% por vía tópica, al ser usado en cremas para tratar la hiperdosis palmar, plantar, dermomicosis y oniomycosis, puede llegar a producir irritaciones en la piel, dermatitis e incluso afectando a las mucosas, se ha reportado casos de aumento del riesgo de cáncer (Latorre et al, 2011, p. 1).

El formaldehído con su estructura  $H_2C=O$ , al entrar en descomposición libera al ambiente metanol y dióxido de carbono, lo cual una minúscula parte permanece en el aire, pero se degrada rápidamente, al disolverse fácilmente en el agua y suelo no es nocivo para la flora y fauna, por otro lado debido a la coloración fuerte, puede teñir de un color amarillento la piel (Latorre et al, 2011, p. 1).

- Polietilenglicol

Presenta un efecto solubilizante, potente regulador de la viscosidad, emulsificante y al ser usado en cosméticos de baño como shampoo, en detergentes y pastas como estabilizador de espuma, al ser un derivado del petróleo, trae consecuencias devastadoras para el ecosistema, clima, actualmente se ha visto muchas especies marinas amenazadas a causa de la presencia de éste en los mares, todos sus derivados son potenciales cancerígenos (Arévalo y Bravo, 2018, p. 45).

Debido al peso molecular de aproximadamente 400 uma que presenta su estructura  $H-(OCH_2CH_2)_n-OH$ , es difícil que se degrade, por lo tanto se ha realizado estudios *in-vitro* sobre el uso de microorganismos resistentes o el uso de biomasa adaptada al PGE, que disminuye el

peso molecular del mismo, ya que es uno de los compuestos identificados en aguas residuales, que difícilmente se biodegrada (Beltrán, Gómez, 2015, p. 1).

- Butilhidroxitolueno y butilhidroxianisol

El butilhidroxitolueno o BHT con estructura  $C_{15}H_{24}O$ , es usado como estabilizante, conservante, evita la oxidación de los cosméticos cuando están expuestos al aire, está presente en los jabones, cremas, serums, maquillaje, se le atribuye de producir alergias a nivel de la piel, y en condiciones extremas puede llegar a causar toxicidad en especies acuáticas debido a su bioacumulación (Jiménez, 2010, p. 36).

Butilhidroxianisol o BHA con estructura  $C_{11}H_{16}O_2$ , es un antioxidante en cosmética, retrasa el enranciamiento, además tiene actividad antimicrobiana, usado en labiales e hidratantes, pero a la vez en dosis excesivas puede causar hipersensibilización en la piel, ojos, y mucosas pudiendo llegar a producir irritación o despigmentación y al ser un derivado del alquitrán tiene efectos cancerígenos (Jiménez, 2010, p. 36).

- Dietanolamina

Su estructura  $C_4H_{11}NO_2$ , es utilizado en cosmética como un potente estabilizador de espuma, emulsionante, espesante y codisolvente, aumenta la viscosidad de shampoos y detergentes, en casos raros se ha reportado irritaciones sobre la piel, resequedad y comezón, además se ha presentado casos en los que difiere en la cicatrización de heridas, interfiriendo en la formación de la costra, debido a que al descomponerse libera dióxido de carbono (Lastra, Zuluaga, 2009, p. 2).

- Petrolatum

Vaselina líquida o parafina líquida, es usado en la industria cosmética, por ser un excipiente económico, además de poseer propiedades emolientes, lubricante, protector, disolvente, usado en pomadas, cápsulas, ungüentos, comprimidos, al ser un derivado del petróleo, en ciertos tipos de piel puede llegar a producir reacciones adversas como alergias e irritaciones, está contraindicado en personas que presenten dermatosis faciales agudas (Quimipur, 2012, p. 2).

Vaselina sólida o parafina sólida, al ser un emoliente oleoso y espeso, está contraindicado para personas con afecciones de acné, ya que conduce al aumento de la sensibilidad de la zona y obstrucción de los poros, al crear una película o capa oclusiva en la epidermis, evita la respiración y por ende la eliminación de toxinas, ocasionando una deshidratación de la piel, lo cual conlleva que persona a volver a usar, haciéndolo adictivo (Rada, 2019, p. 2).

Al ser un derivado del petróleo y de minerales como el carbón, es contaminante en todas sus fases, aún más en el proceso de extracción y al ser desechado, por lo tanto de acuerdo a la Agencia de Protección del Medio Ambiente, demuestra que la parafina contiene el tetracloruro de carbono, el tolueno, benceno y acetona siendo compuestos químicos peligrosos, lo cual han producido un impacto en el agua, aire y suelo (Álvarez et al., 2007, p. 3).

Los derivados del petróleo han modificado las poblaciones microbianas, además en el agua debido a su densidad evita el paso de los rayos del sol, por lo cual afecta a la fauna acuática, por

la reducción de oxígeno, en el suelo ha producido la incapacidad para biodegradar, inhibición de la fertilidad, aumenta la salinidad, en el aire emite gases al ambiente, ocasionando el efecto invernadero, generado toxicidad e incrementado del calentamiento global (Álvarez et al., 2007, p. 3).

- Parabenos

Dentro de ellos se encuentra el metilparabeno o nipagin  $C_8H_8O_3$ , el metilparabeno sódico o nipagin sódico  $C_8H_7NaO_3$ , el propilparabeno o nipasol  $C_{10}H_{12}O_3$  y el propilparabeno sódico  $C_{10}H_{11}NaO_3$ , estos son excipientes que presentan en su estructura ésteres del ácido p-hidroxibenzoico, utilizado en cosméticos como conservante, con acción bactericida y fungicida (Pérez, Esparza, 2015, p. 7).

En ciertas ocasiones puede causar dermatitis de contacto, alergias dérmicas, reacciones de hipersensibilidad y rosáceas, por lo tanto la detección de parabenos en fluidos humanos puede deberse al uso tópico, ya que se ha determinado que por vía oral, el organismo es capaz de metabolizar exitosamente para ser eliminados del organismo, mientras que la piel es más lenta y compleja (Pérez, Esparza, 2015, p. 7).

El etilparabeno, bencilparabeno, butilparabeno e isobutilparabeno, contienen en su estructura etanol y propanol, motivo por el cual se han reportado casos de reacciones de enrojecimiento, sequedad en la piel e inflamación, por lo tanto en el 2014 el Comité Científico de Seguridad de los Consumidores, prohibió el uso de parabenos de cadena larga, debido a la falta de información sobre la seguridad y su posible alteración endocrina (Molins, 2017, p. 37).

No existe evidencia científica de la relación de los parabenos y el cáncer, pero cabe recalcar el impacto ambiental que han tenido a lo largo del tiempo, encontrándose en concentraciones altas sobre el agua de ríos, por lo que se ha reportado restos de parabenos en los tejidos de animales acuáticos e incluso en sus huevos y en osos polares, por otro lado debido a su liberación en altas concentraciones a la atmósfera, aumenta la contaminación ambiental (Molins, 2017, p. 37).

#### **1.4. Extractos vegetales**

Es un producto líquido que se obtiene de las plantas o de alguna de sus partes a través del empleo de solventes con diferente polaridad, un ejemplo es la tintura que se obtiene luego de la maceración de un solvente orgánico con una especie vegetal, para la obtención de metabolitos de interés, los extractos pueden ser líquidos, semisólidos o secos y para su estudio se parte del material vegetal como las flores, semillas, hojas, corteza, frutos y raíces (Guffante, 2013, p. 5).

Los extractos vegetales pueden ser acuosos o polvos y se obtienen por procesos físicos, químicos y microbiológicos, a partir de una fuente vegetal y utilizable en cualquier campo de la industria química, cosmética y médico-farmacéutica, existen diversos medios de obtención de los extractos y tinturas de especies vegetales, entre los más importantes se mencionan a continuación (Amaguaña, 2018, p. 12):

- Extracción mecánica: por expresión, incisiones o calor.
- Destilación.
- Extracción por medio de fluidos supercríticos.
- Extracción por medio de solventes: continua como por soxhlet o percolación o discontinua por digestión, infusión, maceración y decocción.

Los parámetros que influyen en la obtención de los extractos vegetales es la naturaleza del vegetal, el tratamiento que se aplique a la especie vegetal durante su cosecha, secado y desinfección, también influye el tipo de solvente, tamaño de partícula, relación sólido-líquido, viscosidad, temperatura, velocidad de agitación y el tiempo de extracción en los equipos de laboratorio (Amaguaña, 2018, p. 3).

Según el medio donde se realice la maceración, los extractos pueden ser (Monardez, 2015, p. 9):

- Acuosa: si el medio de extracción es el agua.
- Glicólicos: principalmente se usa propilenglicol.
- Oleosos: macerado en aceite vegetal.

#### 1.4.1. *Myrcianthes hallii* (arrayán)

Es un árbol nativo de Ecuador, posee varios componentes fitoquímicos como aceites aromáticos, glucósidos de fenol, ramnosantina, antraquinónico, saponinas y taninos. Es usada para disminuir la inflamación de las vías respiratorias, dolores estomacales, cicatrices, reumatismos, caries, encías sangrantes, afecciones posparto, etc. Su floración se da en verano en el cual se produce la miel de bosque, en la tabla 1-1 su clasificación (Gómez, 2016, p. 15).

**Tabla 1-1:** Clasificación científica del arrayán

Nombre	Característica
Reino	Vegetal
División	Magnoliophyta
Clase	Magnoliopsida
Orden	Myrtales
Familia	Myrtaceae
Subfamilia	Myrtoideae
Tribu	Myrteae
Género	<i>Myrcianthes</i>
Especie	<i>hallii</i>

Fuente: Gómez, 2016.

Realizado por: Urgilés, Juana, 2022.



#### 1.4.1.1. Descripción botánica

El arrayán tiene árboles medianos y grandes, con una altura de 6 a 15 m, tiene diámetros de 30 a 40 cm, el tronco es irregular con nudosidades. Las hojas suelen ser pequeñas con forma ovalada, lisas, de base redonda, tienen el haz con coloración verde brillante. Las flores son medianas con sépalos de color blanco o amarillento, su fruto es de color negruzco de 1 cm de diámetro, es comestible y tiene un sabor dulce, a continuación sus hojas en la figura 12-1 (Jaramillo, 2015, p. 4).



**Figura 12-1.** Arrayán.

Fuente: MTH, 2016.

#### 1.4.1.2. Componentes

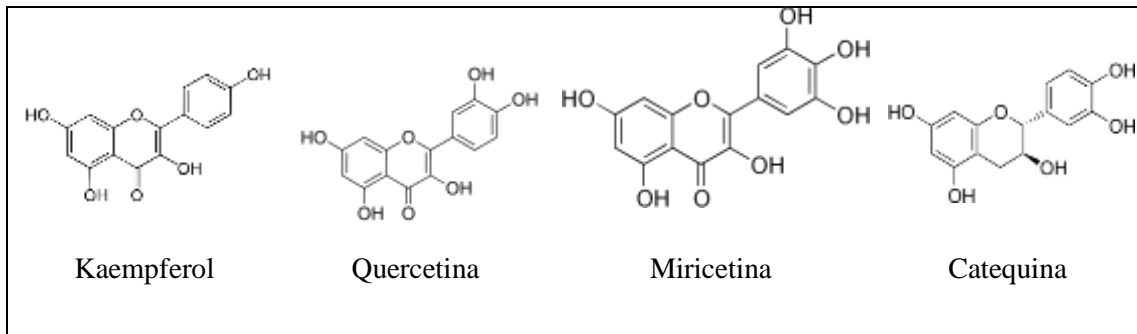
Las sustancias del arrayán que se encuentran en mayor cantidad son:  $\alpha$ - $\beta$  pineno, cineol y el mirtol, además, hay presencia de diferentes flavonoides como por ejemplo la quercetina, kaempferol, mircetina y glúcidos de miricetina. En el tamizaje fitoquímico de las hojas de *Myrcianthes hallii*, se ha determinado la presencia de distintos metabolitos secundarios como alcaloides, fenoles, flavonoides y taninos (Mirallas, 2018, p. 47).

En menor cantidad grupos del tipo lactonas, saponinas, azúcares reductores y principios amargos. Con la cuantificación espectrofotométrica se ha determinado valores apreciables de flavonoides y fenoles totales en el extracto hidroalcohólico, concentrado y liofilizado de hojas de arrayán, responsable de actividades antiinflamatorias, antioxidantes y antibacterianas (Mirallas, 2018, p. 47).

##### - Actividad antibacteriana

Dentro de los responsables de la actividad antibacteriana están los flavonoides que parten de la ruta del ácido shikímico y de los policétidos, tienen en su estructura 2 bencenos que están unidos por una cadena ciclada de 3 carbonos y a éste un oxígeno, son polifenoles debido a que poseen grupos OH unidos al anillo de benceno, pueden estar libres o combinados con éter, éster y heterósidos, los fenoles parten de las rutas del acetato y shikímico (Kuklinski., 2000, p. 98).

El *M. hallii* presenta 29 flavonoides, como flavonoles, flavona y flavononas, entre la quercetina, miricetina y kaempferol, compuestos fenólicos como la catequina y sus derivados como la epigalocatequina, además derivados de los taninos, antocianidinas, sus estructuras se observan en la figura 13-1, éstos actúan frente a bacterias gram – y gram +, como el *S. aureus*, *S. mutans*, *E. coli*, *Bacillus cereus*, *Perfringes de clostridium*, (Carvajal et al., 2016, p. 9).



**Figura 13-1.** Estructuras del *M. hallii* con actividad antibacteriana.

Fuente: Kukliski, 2000.

El mecanismo con la que actúan es mediante la monoaminoxidasa que inhiben los ácidos nucleicos, destruyen las paredes celulares e interfieren en la actividad de las bacterias antes mencionadas, generalmente los polifenoles son protectores, actúan a manera de enzimas, toxinas e incluso como receptores de distintas señales, ocasionando la autodestrucción de las bacterias (Carvajal et al., 2016, p. 9).

De acuerdo a Modak en el 2002, menciona que las flavononas presentan mayor actividad antibacteriana al no poseer dobles enlaces en la posición de C2-C3, como la catequina, menciona que mientras > cantidad de grupos hidroxilos y metoxilos, aumenta la lipofilia de los compuestos, lo que conlleva a aumentar la eficiencia en el desacoplamiento de la fosforilación oxidativa, bloqueando la síntesis del ATP en las bacterias (Modak et al., 2002, p. 5).

#### **1.4.2. *Rosmarinus officinalis* (romero)**

La planta de romero ha tenido gran importancia debido a propiedades como antiespasmódicas, antibacterianas, antiinflamatorias, diurético, antirreumático, presenta hojas de hasta de hasta 3,5 cm de longitud y flores azuladas agrupadas en racimos, se encuentra distribuida en la región caucásica y el Mediterráneo, además se ubican en suelos calcáreos, forman parte de matorrales en zonas soleadas y secas, su clasificación en la tabla 2-1 (Lax, 2015, p. 12).

**Tabla 2-1:** Clasificación científica del romero.

Nombre	Característica
Reino	Vegetal
División	Magnoliophyta
Clase	Magnoliopsida
Orden	Lamiales
Familia	Lamiaceae
Subfamilia	Nepetoideae
Tribu	Mentheae
Género	<i>Rosmarinus</i>
Especie	<i>Officinalis</i>

**Fuente:** Lax, 2015.

**Realizado por:** Urgilés, Juana, 2022.

#### 1.4.2.1. Descripción botánica

El romero es una planta de origen mediterráneo que significa “arbusto marino” debido a su crecimiento cerca a las costas y en zonas arenosas o rocosas, pero por su poca exigencia para cultivarse tiende a reproducirse en otras zonas. Es una planta arbustiva con tallos prismáticos, posee hojas estrechas, agudas y de tamaño pequeño, tienen una forma de espigas de tono verde brillante y con tallos ramificados leñosos, como se observa en la figura 14-1 (Ávila, 2014, p. 24).



**Figura 14-1.** Romero.

**Fuente:** López. “El romero: planta aromática”, 2010.

#### 1.4.2.2. Componentes

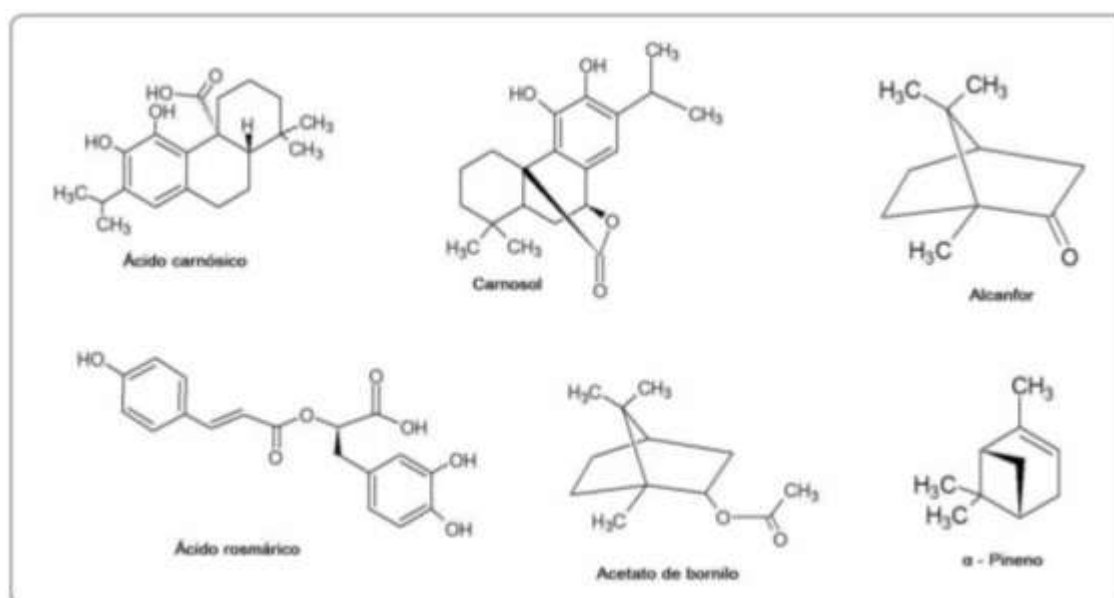
En la planta se han identificado varios compuestos como flavonoides, ácidos fenólicos, aceites esenciales, alcoholes triterpénicos y ácidos triterpénicos. Además, se ha determinado la

presencia de  $\alpha$ -pineno, canfeno,  $\beta$ -pineno, ésteres de tipo terpénicos como el 1,8-cineol, linalol, verbinal, alcanfor, terpineol, rosmanol, isorosmanol,  $\beta$ -cariofileno y 3-octanona, isobanilacetato, también los ácidos caféico, vanílico, rosmarínico y clorogénico (Ávila, 2014, p. 24).

- Actividad antibacteriana

La actividad antibacterina del *Rosmarinus officinalis* está dada principalmente por la presencia de flavonoides como el carnosólico, fegopoina, carnosol, cirsimarina, hesperina y el rosmanol, compuestos fenólicos como el cinámico y ferúlico, otros terpenoides, aceites esenciales como el alcanfor, verbenona y borneol y taninos actúan frente a bacterias gram (+): *S. aureus*, *Bacillus cereus*, y gram (-): *P. aeruginosa* y *E. coli* (Ávila, 2014, p. 3).

Estudios revelan que la actividad antibacteriana se debe a la presencia del 24% de monoterpenos y sesquiterpenos oxigenados, éstos tienen su origen en el isopreno, proceden de la ruta del ácido mevalónico, como el alcanfor, acetato de bornilo,  $\alpha$  y  $\beta$  cariofileno, estructuras que se observan en la figura 15-1, los polifenoles protegen frente a patógenos, retrasan el crecimiento bacteriano, interfieren en la membrana celular provocando la lisis, el ácido rosmarínico y los flavonoides inhiben la síntesis del ADN y ARN (Suárez, 2013, p. 40).



**Figura 15-1.** Estructuras del *R. officinalis* con actividad antibacteriana.

Fuente: Villa, 2012.

**Tabla 3-1:** Metabolitos del romero y su actividad biológica.

Metabolitos	Actividad biológica
Ácido carnósico, ácido rosmarínico	Antibacteriano, antioxidante, conservador de alimentos.
Carnosol	Aditivo en el tratamiento de la caspa, antimicrobiano.
$\alpha$ -pineno, $\beta$ -pineno	Antibacteriano, insecticida, antiinflamatorio, antiparasitario.

Acetato de bornilo, mirceno, ácido caféico	Insecticida, antimicrobiano, antioxidante, control de la caspa.
Alcanfor	Antimicrobiano, control de plagas, antiinflamatoria, antioxidante.
1,8-cineol	Tratamiento de enfermedades parasitarias, antimicrobiano.
Terpinoleno	Antifúngico, aditivo en jabones y antibacteriano.
Luteolina, apigenina, ácido $\rho$ -cumárico, $\alpha$ -terpineno	Conservador de alimentos, antiproliferativa y antimicrobianos.

---

**Fuente:** Villa, 2012.

**Realizado por:** Urgilés, Juana, 2022.

Los metabolitos responsables de la actividad antibacteriana se observan en la tabla 3-1, actúan directamente degradando la pared celular de las bacterias, consecuente a ello pierden la movilidad, pierden iones de potasio, también inhiben la síntesis de ATP, que a su vez estos procesos conllevan a su autodestrucción, lo que evita que las células causen daño e impiden que ataquen al sistema inmunológico (Ávila, 2014, p. 3).

### 1.5. Métodos de cuantificación de fenoles y flavonoides en extractos de plantas

Los compuestos fenólicos, entre los cuales se encuentran los flavonoides, tienen una amplia ubicuidad, además, son responsables del correcto funcionamiento de las plantas, mientras que en el ser humano presenta efectividad en los desórdenes cardiovasculares y ciertos tipos de cáncer. Igualmente, poseen una estructura química idónea para ejercer su actividad antioxidante, para extraer estos componentes se utilizan solventes polares y se concentran (Gracia, 2016, p. 2).

#### - Folin Ciocalteu

Es un método que se utiliza para medir el contenido en compuestos fenólicos totales en los productos vegetales, se basa en que los compuestos fenólicos que reaccionan con el reactivo de Folin-Ciocalteu, a un pH básico, donde se produce una coloración azul que se determina espectrofotométricamente a una longitud de 765 nm. El mecanismo es una reacción redox, método de medida de la actividad antioxidante total (García et al., 2015, p. 2).

#### - Espectrofotometría Uv-Vis

Presenta una serie de características que permiten su uso en el análisis químico debido a su simplicidad operacional, una elevada velocidad de análisis y de bajo costo, que permite el análisis de moléculas con distinta actividad y con diversos solventes. Sin embargo, su limitación es que presentan problemas de interferencia espectral (Pérez y Aguilema, 2014, p. 319).

### 1.6. Control de calidad de los productos cosméticos terminados

#### - Ensayos físicoquímicos

Se da un control del cumplimiento de la producción con las especificaciones adecuadas para los cosméticos a lo largo del tiempo como por ejemplo: pH, densidad, viscosidad, índice de peróxidos, índice de refracción, características organolépticas, estabilidad de emulsiones, acidez libre, humedad, residuo seco, punto de fusión y signo de la emulsión (Llevante, 2015, p. 1).

- Ensayos microbiológicos

Se realiza el análisis a las materias primas, los productos a granel y a los productos terminados, con el objetivo de garantizar el cumplimiento de la legislación actual o vigente, garantizando la seguridad del consumidor, mediante el recuento de aerobios mesófilos, mohos y levaduras, lo cual evita afecciones o patologías por contaminación de microorganismos (Llevante, 2015, p. 2).

- Estudios de compatibilidad

Este estudio se realiza en el envase final, con el fin de detectar interacciones entre el envase y el producto. El producto se analiza durante tres meses en el envase, en diversas condiciones de luz y temperatura, se realizan ensayos del producto (Llevante, 2015, p. 2).

### 1.7. Estudio de estabilidad en cosméticos

La estabilidad se refiere al tiempo durante el cual el producto no cambia en sus características organolépticas y en su actividad química o biológica. Las pruebas de estabilidad se realizan en su envase final, pudiendo identificarse dos tipos: la estabilidad acelerada y la estabilidad a largo plazo. Se somete a almacenamiento de 4 y 40 °C por un período de seis meses (Calero, 2019, p. 14). A 4 °C, se hace únicamente un estudio de propiedades sensoriales u organolépticas del producto, pero a 40 °C se hace estudio completo para valorar las propiedades sensoriales comprobando su densidad, pH, viscosidad, estudios de microscopía y en centrífuga. Para los estudios a largo plazo, se realizan en cámaras de estabilidad a temperaturas de 25 °C y 30 °C, siendo las pruebas suficientes para establecer el perfil de estabilidad establecido en la tabla 4-1 (Calero, 2019, p. 14).

**Tabla 4-1:** Condiciones de almacenamiento.

Estudio de estabilidad	Condiciones de almacenamiento	Tiempo mínimo permitido
Largo plazo	25 °C/60% HR 30 °C/65% HR	36 meses
Plazo acelerado	40 °C/75% HR	6 meses

**Fuente:** Calero, Gemma, 2019.

**Realizado por:** Urgilés, Juana, 2022.

## **1.8. Métodos para determinar de la actividad antibacteriana *in vitro* de la crema sólida**

Algunas materias primas y los productos cosméticos tienen una amplia gama de compuestos tanto orgánicos como inorgánicos que favorecen el crecimiento microbiano cuando hay presencia de agua. Esta proliferación ocurre en la fabricación o cuando el producto está terminado, para ello es necesario realizar un análisis microbiológico que garantice la calidad de los productos y seguir las BPM con la adición adecuada de conservantes (AEMPS, 2021, p. 3).

### - Técnica sacabocado con medición del halo de inhibición

La medición de la zona de inhibición de cada disco se hace contra una superficie oscura debajo de una luz reflejada. Se mide el diámetro de la zona donde se incluya 6 mm del disco, con una regla sobre la caja de petri sin retirar la tapa. La lectura de 6 mm o menos es un indicador que no existe zona de inhibición. En caso de usar agar sangre para la prueba, al medir la zona de inhibición se debe hacer sobre la superficie retirando la tapa (Bernal y Guzmán, 2014, p. 117).

### - Método de dilución

Es un método que permite medir cuantitativamente a nivel *in vitro* la actividad de un antimicrobiano respecto al cultivo bacteriano. Se basa en la preparación de una serie de tubos o placas con agar, a las cuales se añade el antibiótico en diferentes concentraciones. Luego se inoculan los tubos con una suspensión estandarizada del microorganismo de estudio. Se conserva a  $35 \pm 2$  °C, determinando la CMI del antimicrobiano (Malbrán, 2012, p. 2).

### - Método de antibiograma disco-placa

Es un método que consiste en depositar discos de papel secante que lleven impregnados los diferentes antibióticos, en la superficie del agar con microorganismos de interés previamente inoculados. Al entrar en contacto, el filtro absorbe agua y el antibiótico se difunde en el medio de cultivo. Después de 18-24 horas de incubación los discos se rodean de una zona de inhibición (Picazo, 2015, p. 4).

### - Método de épsilon test

Es un método con una base de agar que permite evaluar la susceptibilidad microbiana, ha sido desarrollado para tratar las desventajas de la difusión en el disco y de los clásicos métodos de dilución, se caracteriza porque mantiene los aspectos favorables de ambos procedimientos. Es un gradiente continuo de antibiótico precalibrado, el cual cubre 15 diluciones dobles, generando valores precisos de la concentración inhibitoria mínima (Jaramillo, 2016, p. 2).

### **1.8.1. Cepas contaminantes en cosméticos**

La contaminación microbiana de los productos cosméticos es un tema de interés porque los productos pueden contaminarse con hongos, levaduras y bacterias. En este sentido, la materia prima, los equipos, el agua, el aire, los operadores y el material de empaque son fuentes

potenciales de contaminación. La FDA reconoce tres categorías de microorganismos causantes de contaminación en cosméticos (Cerra et al., 2015, p. 16):

- Patógenos: aquellos microorganismos o toxinas que infectan al hombre como por ejemplo *Salmonella sp*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Clostridium spp*, *Candida albicans*, etc).
- Oportunistas: aquellos microorganismos que producen enfermedad en pacientes con inmunosupresión.
- Objetables: aquellos microorganismos con la capacidad de inactivar drogas activas o de deteriorar el producto causando la pérdida de seguridad en los cosméticos.

Un cosmético se considera contaminado si contiene algún tipo de microorganismo o si presenta deterioro ya sea físico o químico (Cerra et al., 2015).

### **1.9. Principios activos que se usan para infecciones bacterianas en la piel**

Ante una infección de la piel es necesario usar un antibiótico que cubra adecuadamente al *S. aureus* y *S. pyogenes*. En el caso de infecciones superficiales o poco extensas, se puede usar antibiótico tópico como el ácido fusídico o la mupirocina. De los antibióticos de uso a nivel sistémico más comunes, están las penicilinas para tratar a *S. aureus* y las cefalosporinas de primera y segunda generación (Saavedra et al., 2015, p. 163).

Generalmente, se administran antibióticos de menor espectro que tengan un mejor perfil farmacocinético. En casos de infecciones de gravedad se recomienda el uso de vancomicina o linezolid tienen mayor efectividad frente al *S. aureus*. Dentro de los antibióticos administrados con mayor frecuencia en infecciones de la piel o en tejidos se describen a continuación (Saavedra et al., 2015, p. 163):

- Amoxicilina
- Cloxacilina
- Cefazolina
- Cefalexina
- Cefadroxilo
- Cefoxitina
- Cefuroxima
- Clindamicina
- Claritromicina
- Vancomicina
- Rifampicina
- Linezolid



## CAPÍTULO II

### 2. MARCO METODOLÓGICO

#### 2.1. Lugar de recolección e identificación botánica

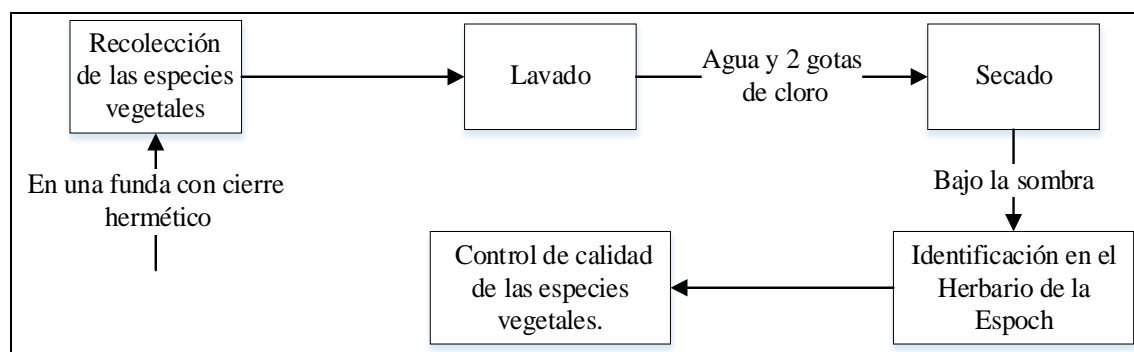
El Romero (*Rosmarinus officinalis*) fue recolectado, en la Provincia: Chimborazo, Cantón Guano, Parroquia San Andrés, a una altitud de 6 310 msnm. Con las siguientes coordenadas:

- Latitud: -1.6
- Longitud: -78.7

El Arrayán (*Myrcianthes hallii*) fue recolectada en la Provincia de Chimborazo, Cantón Pallatanga, Parroquia San Carlos, a una altitud promedio de 1 200 msnm. Con las siguientes coordenadas:

- Latitud sur: 1°50'
- Longitud oeste: 78°45'

La identificación se realizó mediante un bosquejo de información bibliográfica, de las características de las especies vegetales, comparando físicamente, los tallos, hojas y flores, posteriormente se llevó la droga cruda, al Herbario de la ESPOCH, para la identificación de la taxonomía y entrega del certificado para el uso legal de las especies, realizado por el Ing. Jorge Caranqui, encargado del mismo, para continuar con el proceso de acuerdo a la Figura 1-2:



**Gráfico 1-2.** Lugar de recolección e identificación botánica del arrayán y romero.

**Realizado por:** Urgilés, Juana, 2022.

#### 2.2. Lugar de la investigación

La investigación se realizó en los siguientes laboratorios:

- Control de calidad de las especies vegetales, extractos y formulaciones: en el laboratorio de Productos Naturales, carrera de Bioquímica y Farmacia de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.

- Elaboración de las formulaciones y estabilidad: Laboratorio de tecnología farmacéutica, carrera de Bioquímica y Farmacia de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.
- Cuantificación de fenoles y flavonoides: Laboratorio de investigación de la facultad de Ciencia de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo y Laboratorio Gujarro Lasa S.A. Quito-Ecuador.
- Análisis microbiológico de la formulación final: Laboratorio de Servicios Analíticos Químicos y Microbiológicos “SAQMIC”, Riobamba-Ecuador.
- Determinación antibacteriana de los extractos y formulación final: Centro de investigación microbiológica “CIMIC”, Riobamba-Ecuador.

### 2.3. Tipo y diseño de la investigación

La investigación propuesta fue de tipo longitudinal, prospectiva y el diseño cuasi – experimental.

**Longitudinal:** debido a que se realizó varias mediciones durante el proceso, correspondiente a las características organolépticas, fisicoquímicas y microbiológicas de los extractos del *Rosmarinus officinalis*, *Myrcianthes hallii*, y de las 9 opciones de cremas, éstos parámetros también se aplicaron a las tres formulaciones finales.

A estas últimas se realizó además el estudio de estabilidad acelerada considerando 4 mediciones a diferentes temperaturas.

**Prospectiva:** debido a que la recolección de los datos se obtuvieron luego de haber planificado todo el proceso de estudio, como resultado se determinó las características organolépticas, fisicoquímicas y microbiológicas de los extractos del *R. officinalis*, *M. hallii* y las opciones de crema, así mismo se manipuló variables como el grado alcohólico de los extractos, cantidad y tipo de los excipientes, los cuales conllevaron a la obtención de la formulación final óptima.

**Cuasi-experimental:** debido a que se manipuló variables independientes como grado alcohólico de los extractos, cantidad y tipo de excipientes, parámetros que permitieron observar el efecto sobre la variable dependiente que fue la formulación final. Se consideró cuasi experimental debido a que no se controló de forma absoluta todos los factores que podrían influir en la formulación.

### 2.4. Población de estudio, tamaño de muestra, método de muestreo

Para establecer la población, muestra y criterios de inclusión y exclusión se realizó tanto para el control de calidad de las especies vegetales como para las formulaciones de crema en barra, parámetros que se detallan a continuación en la tabla 1-2:

**Tabla 1-2:** Población, muestra y criterios de inclusión y exclusión.

Parámetros	Control de calidad para las especies vegetales	Control de calidad para las formulaciones de crema en barra
<b>Población</b>	Especies vegetales <i>Rosmarinus officinalis</i> (Romero) y <i>Myrcianthes hallii</i> (Arrayán).	Productos terminados a base de extractos de <i>Rosmarinus officinalis</i> y <i>Myrcianthes hallii</i> .
<b>Muestra</b>	Se recolectó 1 Kg de hojas de cada especie vegetal.	Formulación final óptima de la crema en barra con propiedades antibacterianas a base de extracto de <i>Rosmarinus officinalis</i> y <i>Myrcianthes hallii</i> .
<b>Criterios de inclusión</b>	Especies vegetales en buen estado tanto físico como microbiológico.	Formulación final que cumpla con las características organolépticas, físicas-químicas y microbiológicas óptimas.
<b>Criterios de exclusión</b>	Especies vegetales con contaminantes físicos, microbiológicos o en descomposición.	Formulaciones que no cumplan con las características organolépticas y físicoquímicas y microbiológicas establecidas por la norma pertinente.

Fuente: Gómez, 2016.

Realizado por: Urgilés, Juana, 2022.

**Método de muestreo:** Inspección al 100% de los productos formulados.

## 2.5. Hipótesis

### Hipótesis alternativa

La crema en barra con propiedades antibacterianas presenta las características organolépticas, físicoquímicas y microbiológicas apropiadas para las necesidades del usuario.

### Hipótesis Nula

La crema en barra con propiedades antibacterianas no presenta las propiedades organolépticas, físicoquímicas y microbiológicas apropiadas para las necesidades del usuario.

## 2.6. Identificación de variables

**Variable dependiente:** Formulación final de la crema en barra.

**Variable independiente:** Grado alcohólico de los extractos, cantidad y tipo de los excipientes.

## 2.7. Formulación de la crema

Para proceder a la formulación de la crema, se ocupó el diseño para comparar dos o más tratamiento, por lo tanto, se trabajó con distinto grado alcohólico de los extractos, diferente cantidad y tipo de los excipientes, como se observa en la tabla 2-2:

**Tabla 2-2:** Factores de estudio.

<b>FACTOR</b>	<b>DESCRIPCIÓN DEL FACTOR</b>	<b>DESCRIPCIÓN DEL NIVEL</b>	<b>NIVEL</b>
<b>A</b>	Grado alcohólico de los extractos	Concentración de los extractos al 20, 70, 96 ° de romero y arrayán.	a <sub>1</sub> a <sub>2</sub> a <sub>3</sub>
<b>B</b>	Cantidad de los excipiente	Variación del % de cada materia prima.	b <sub>1</sub> b <sub>2</sub> . . b <sub>9</sub>
<b>C</b>	Tipo de excipientes	Variación de las materias primas.	c <sub>1</sub> . . c <sub>30</sub>

Fuente: Márquez, 2014.

Realizado por: Urgilés, Juana, 2022.

## 2.8. Equipos, materiales y recursos

### - Equipos

#### **Control de calidad de las drogas, extractos, formulaciones y análisis físicoquímico**

- ✓ Balanza analítica “Radwag AS 220. R2”
- ✓ Espectrofotómetro “Thermo scientific”
- ✓ Sonicador “Branson 3510”
- ✓ Potenciómetro “Oaklon”
- ✓ Agitador magnético “C-MAG HS 7”
- ✓ Liofilizador “Thermo scientific”
- ✓ Rotavapor “Biobase RE 100-Pro”
- ✓ Molino “Thomas”
- ✓ Desecador “Dixon”
- ✓ Mufla “Thermo scientific”
- ✓ Cámara de estabilidad “Recor”
- ✓ Estufa “Thermo scientific”
- ✓ Bomba de vacío “Rocker Scientific 420”

#### **Análisis microbiológico y actividad antibacteriana de las formulaciones y extractos**

- ✓ Baño de María “Biobase”
- ✓ Autoclave “Sturdy”
- ✓ Cabina de Flujo Laminar “Biobase”
- ✓ Refrigerador “Techne”
- ✓ Estufa “Fanem”

- **Materiales**

**Material vegetal**

- *Rosmarinus officinalis* (Romero)
- *Myrcianthes hallii* (Arrayán)

**Control de calidad de las drogas, extractos, formulaciones y análisis físico-químico**

- Crisoles
- Cápsulas
- Vasos de precipitación
- Pipetas
- Pera
- Picnómetro
- Reverbero
- Embudo Buchner
- Kitasato
- Probeta
- Papel filtro
- Frascos de color ámbar
- Vaso de precipitación
- Pipeta
- Varilla de agitación
- Termómetro
- Envases de la crema
- Espátula
- Papel aluminio
- Tiras reactivas de pH

**Análisis microbiológico y actividad antibacteriana de las formulaciones y extractos**

- Tubos de ensayos esterilizados
- Pipetas graduadas estériles
- Hisopos
- Baja lenguas
- Pipeta automática
- Aza de platino
- Cajas Petri
- Micropipeta
- Erlenmeyer

- Placa compact dry para *S. aureus*, *E.coli*, *P.aeruginosa*, *Aerobios mesófilos*

- **Reactivos y soluciones**

**Control de calidad de las drogas, extractos y tamizaje fitoquímico**

- Éter de petróleo
- Etanol
- Ácido clorhídrico 10%
- Ácido nítrico
- Nitrato de plata 0,1 mol/L
- Sudan III
- Reactivo Dragendorff
- Reactivo Baljet
- ClNa en polvo
- Solución de Mayer
- Sol. ninhidrina al 2% en agua
- Cinta de mg metálico
- Alcohol amílico
- Rx Wagner
- Cloroformo
- Anhídrido acético
- H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>
- Carbonato de sodio
- Reactivo Fehling A y B
- Tricloruro férrico al 5% en solución de ClNa
- Cloruro de sodio
- Acetato de sodio
- NaOH o KOH al 5% en agua

**Análisis microbiológico y actividad antibacteriana de las formulaciones y extractos**

- *Agar Mueller Hinton*
- Agua peptonada
- Solución salina
- Agua destilada
- *S. aureus* ATCC25922

- **Recursos**

**Recursos humanos**

- Tutor de tesis

- Técnicos de los laboratorios de la ESPOCH.
- Botánico de la ESPOCH.

#### **Recursos físicos**

- Computadora
- Artículos científicos
- Microsoft Excel
- Mendeley
- Internet
- Hojas de papel bond, lápices, calculadora.

### **2.9. Pruebas de control de calidad de la especie vegetal**

Luego de haber recolectado las especies vegetales, libre de hojas en mal estado, se procedió al lavado, desinfección con hipoclorito de sodio 0,5% sumergido durante 5 minutos y secado a una temperatura de 35-40 °C, durante 1 día, luego se trituró en el molino, a continuación se procedió al control de calidad de la droga cruda, las distintas pruebas permitieron determinar adulteraciones o presencia de contaminantes en la droga cruda (De la Luz et al., 2012, p. 3).

### **2.10. Análisis fisicoquímico cuantitativo**

Se procedió a realizar la determinación de humedad, cenizas totales, solubles en agua y cenizas solubles en ácido clorhídrico en las especies vegetales de romero y arrayán.

#### **2.10.1. Determinación de humedad**

##### **Principio**

Método gravimétrico que consiste en la pérdida en masa de una muestra por desecación, una vez colocada en la estufa, es un parámetro importante debido a que ciertas especies vegetales presentan elevada humedad, lo que provoca el deterioro de la misma (INEN 382, 2013, pp. 2-3):

##### **Procedimiento**

En una cápsula previamente tarada, se colocó 2 g de la droga cruda triturada, posteriormente se colocó en la estufa a 105 °C durante 3 horas, luego se dispuso en el desecador para proceder a pesar, se repitió el proceso hasta obtener peso constante, se realizó por duplicado. Finalmente, se realizaron los cálculos aplicando la siguiente fórmula:

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

Hg = pérdida en masa por secado (%).

M = peso de la cápsula vacía.

M<sub>1</sub> = peso de la cápsula con la droga desecada (g).

M<sub>2</sub> = peso de la cápsula con la droga cruda (g).

100 = factor matemático necesario para el cálculo.

### **2.10.2. Determinación de cenizas totales**

#### **Principio**

Se trata de un proceso gravimétrico, que consiste en la incineración de las sustancias orgánicas de una muestra hasta obtener cenizas grises blanquecinas, quedando finalmente sales minerales conocidas como sustancias inorgánicas y CO<sub>2</sub>, todo el proceso se lleva a cabo a una temperatura de hasta 750 °C (Instituto Ecuatoriano de Normalización 401, 1985, p. 1):

#### **Procedimiento**

Una vez tarado los crisoles, se procedió a colocar 2 g de muestra pulverizada en cada crisol, se carbonizó en un reverbero, luego se colocó en la mufla de 700 a 750 °C de temperatura aproximadamente durante 2 horas, posteriormente se dispuso en el desecador y se pesó, se repitió el proceso de 2 a 3 veces hasta obtener peso constante, en caso de presentar residuos de carbón se puede colocar ácido nítrico o H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> concentrado, se realizó por duplicado. Finalmente se procedió a calcular el resultado mediante la siguiente fórmula:

#### **Cálculos**

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

#### **Donde:**

% C = porcentaje de cenizas totales.

M = peso en gramos del crisol vacío.

M<sub>1</sub> = peso en gramos del crisol con la muestra a analizar.

M<sub>2</sub> = peso en gramos del crisol con las cenizas finales.

100 = factor matemático necesario para el cálculo.

### **2.10.3. Determinación de cenizas solubles en agua**

#### **Principio**

Método gravimétrico, que parte de las cenizas totales, consiste en la extracción de las sustancias en agua, mediante la evaporación hasta la desecación (Márquez, 2014, p. 16):

#### **Procedimiento**

Se partió de las cenizas totales obtenidas previamente, a las cuales se añadió 15 ml de agua, se hirvió suavemente durante 5 minutos tapado el crisol, posteriormente, se filtró mediante papel



filtro; al cual se debió haber tomado el peso inicial, este papel filtro con el residuo se colocó en la mufla a una temperatura de 700-750 °C durante 2 horas, luego se colocó en el desecador y se pesó, este proceso se repitió hasta alcanzar un peso constante, finalmente se calculó los resultados, aplicando la siguiente fórmula:

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

Ca = porcentaje de cenizas solubles en agua en base hidratada.

M = peso en gramos del crisol vacío.

M<sub>1</sub> = peso en gramos del crisol con la muestra de ensayo.

M<sub>2</sub> = peso en gramos del crisol con las cenizas totales.

M<sub>a</sub> = peso en gramos del crisol con las cenizas insolubles en agua.

100 = factor matemático necesario para el cálculo.

#### ***2.10.4. Determinación de cenizas insolubles en ácido clorhídrico***

##### **Principio**

Método gravimétrico, que se obtiene a partir de las cenizas totales, luego de la adición de ácido clorhídrico al 10%, ácido nítrico y nitrato de plata, el residuo fue incinerado en la mufla, resultando en cenizas insolubles en ácido clorhídrico (Villacrés, 2019, p.31):

##### **Procedimiento**

A las cenizas totales se agregó 2 ml de ácido clorhídrico al 10%, se hirvió durante 10 minutos, tapado con un vidrio reloj, a continuación, se lavó el vidrio reloj con 5 ml de agua, y se filtró, al residuo del lavado se colocó ácido nítrico para acidularle, luego una gota de nitrato de plata 0,1 mol/L, posteriormente el residuo se colocó en la mufla a 700-750 °C durante 2 horas, para luego pesarlo, se volvió a colocar en la mufla hasta obtener peso constante. Finalmente se calculó el resultado de acuerdo con la siguiente fórmula:

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

B = porcentaje de cenizas insolubles en ácido clorhídrico en base hidratada.

M = peso en gramos del crisol vacío.

M<sub>1</sub> = peso en gramos del crisol con la porción de ensayos.

M<sub>2</sub> = peso en gramos del crisol con la ceniza.

100 = factor matemático necesario para el cálculo.

## 2.11. Tamizaje fitoquímico

### 2.11.1. Obtención del extracto etéreo, alcohólico y acuoso del arrayán y romero

Se procedió al análisis total de la especie vegetal, para ello se obtuvo los extractos etéreo, alcohólico y acuoso para el análisis cualitativo de los metabolitos presentes en el *R. officinalis* y *M. hallii*, este proceso permitió orientar y seleccionar el proceso de extracción, tipo de extracto y el solvente óptimo en función de los metabolitos de mayor interés para la formulación del producto final.

El tamizaje fitoquímico permitió determinar los principales grupos químicos constituyentes en las plantas, mediante distintos solventes adecuados, que reaccionan de acuerdo a la polaridad de los principios activos y mediante reacciones colorimétricas que permitieron obtener los metabolitos deseados, el proceso de obtención de los extractos se observan en la figura 2-2 (Guerrero, 2014, p. 33):

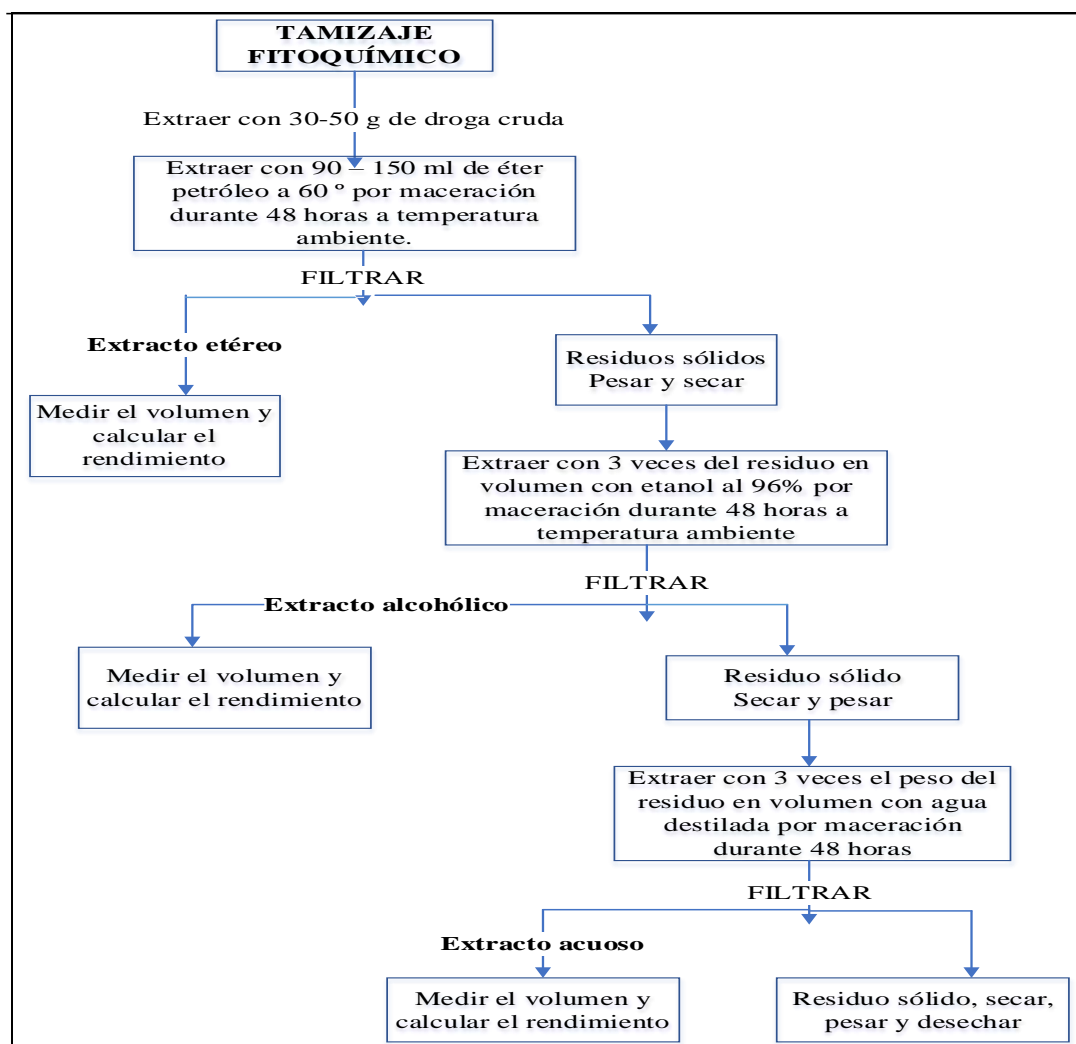


Gráfico 2-2. Obtención del extracto etéreo, acuoso, alcohólico.

Fuente: Guerrero, 2014.

### **2.11.2. Obtención del extracto hidroalcohólico, concentrado y liofilizado de *Myrcianthes hallii* (arrayán) y *Rosmarinus officinalis* (romero)**

#### **Principio**

El método de obtención aplicado fue la maceración, este es un proceso por el cual un sólido que son las especies vegetales, se coloca en un líquido que es el solvente, por un determinado tiempo, para la extracción de metabolitos de interés (Carrión y García, 2010, p. 28):

#### **Procedimiento:**

- Después de realizar el control de calidad a las especies vegetales, se procedió a pesar 100 g de planta triturada y se colocó en diferentes frascos ámbar.
- Se trabajó a distintas concentraciones de grado alcohólico, con el fin de determinar la relación v/v óptima y su influencia en las características organolépticas de la formulación de crema final, por lo tanto se preparó al 20, 70 y 96% de etanol, realizando el cálculo mediante la fórmula de  $C_1 \cdot V_1 = C_2 \cdot V_2$
- En cada frasco ámbar se agregó 1000 ml de etanol en proporción de 1:10, de acuerdo con las distintas concentraciones, se dejó macerar de 2 a 3 días.
- Una vez pasado el tiempo se procedió a sonicar durante 30 minutos, adicional a ello se dejó reposar un momento para proceder a filtrar.
- La filtración se realizó mediante el embudo buchner, depositando en el kitasato, y haciendo uso de la bomba de vacío, lo que permitió la extracción rápida del extracto, finalmente éste extracto se utilizó en la formulación final.
- A continuación se obtuvo el extracto concentrado y liofilizado para uso en las formulaciones de la crema.
- Para obtener el extracto concentrado, se colocó una parte del extracto hidroalcohólico en el rotavapor a una determinada temperatura, que depende del grado alcohólico de los extractos por ejemplo el extracto al 20% a 60 °C, mientras que el extracto al 70% a una temperatura de 56°C y el extracto al 96% a 50 °C.
- El rotavapor debió estar a una velocidad de 80 RPM durante 30 minutos, si se requiere de mayor concentración se deja más tiempo, hasta que se encuentre libre de agua y etanol.
- Una parte del extracto concentrado obtenido, se procedió a liofilizar, el mismo que se ocupó para la cuantificación de fenoles, flavonoides y para las formulaciones de crema.
- Por consiguiente para obtener el extracto liofilizado, se procedió a colocar el extracto concentrado en el frasco del liofilizador, posteriormente se agregó 30 g de nitrógeno líquido, se ajustó en el liofilizador, a continuación, cada 2 horas se agregó nitrógeno líquido, hasta observar que la muestra se encuentre totalmente seca, en forma de polvo.
- Una vez que la muestra estuvo en forma de polvo o lo más deshidratado posible se procedió

a sacar del frasco, se pesó para determinar el porcentaje de rendimiento y finalmente se colocó en un recipiente bien cerrado hasta usarlo, se calculó el rendimiento mediante la siguiente fórmula:

$$\% \text{ RE} = \frac{\text{PL}}{\text{P0}} \times 100$$

Donde:

**% RE** = porcentaje del rendimiento de extracción.

**PL** = peso obtenido del extracto liofilizado.

**P0** = peso de la planta inicial de la que se partió.

### **2.11.3. Control de calidad del extracto hidroalcohólico de romero y arrayán**

El extracto hidroalcohólico fue el que se usó en la formulación final, ya que mostró las características organolépticas favorables para la formulación y debido a su polaridad la mayoría de metabolitos de interés fueron extraídos en este medio. Por lo tanto a este extracto se realizó control de calidad, se evaluó las características organolépticas como el aspecto, color, olor, sabor, entre las físicoquímicas: densidad relativa, pH, sólidos totales e índice de refracción, su proceso se detalla a continuación:

#### **- Determinación de los parámetros organolépticos**

Para la determinación del olor, se introdujo un pedazo de papel secante en los extractos, y se percibió el olor característico, con respecto al color se colocó 10 ml de extracto en un tubo de ensayo, se observó la transparencia o la turbidez que presentaron, en cuanto al sabor se colocó una gota de extracto en la lengua, lo que permitió percibir el sabor astringente posiblemente por el solvente usado (Iza, 2018, p. 63).

#### **- Determinación de la densidad relativa**

##### **Principio**

Se define como la masa específica por unidad de volumen de una muestra a 25 °C, es decir la relación entre el peso del volumen de una muestra y el agua (González, 2007, p. 1):

##### **Procedimiento**

Primeramente se llenó el picnómetro con el extracto a una temperatura de 2 °C, previamente haber pesado el picnómetro vacío, una vez lleno se mantuvo a 25 °C durante 15 minutos, luego de transcurrir el tiempo, se pesó el picnómetro con los extractos, a continuación una vez limpio el picnómetro, se aplicó el mismo procedimiento con agua destilada a 25 °C, los resultados se calcularon con la siguiente fórmula:

$$D_{25} = \frac{M1-M}{M2-M}$$

$D_{25}$  = densidad relativa a una temperatura de 25 °C

M = peso en gramos del picnómetro vacío.

M<sub>1</sub> = peso en gramos del picnómetro con los extractos.

M<sub>2</sub> = peso en gramos del picnómetro con el agua destilada.

#### - ***Determinación del índice de refracción***

##### **Principio**

Es una constante de cada muestra, mide la velocidad a la que un haz de luz pasa a través de 2 medios, es decir sufre un cambio entre el seno del ángulo de incidencia de la luz y el seno del ángulo de refracción de la velocidad de onda, proceso que se da cuando la luz pasa a través de un medio a otro (Campaña, 2016, p. 39).

##### **Procedimiento**

Previo haber realizado el ajuste del refractómetro con agua destilada, se colocó una gota del extracto sobre el prisma, una vez cerrado el termoprisma, con ayuda del compensador cromático se enfocó de manera que la línea quede en el centro entre el campo oscuro y claro, finalmente se calculó el resultado de acuerdo a la siguiente fórmula (Campaña, 2016, p. 39).

$$N_d^{25} = N_d^t + 0,00044 (t - 25)$$

Donde:

N<sub>d</sub><sup>25</sup> = índice de refracción a 25 °C.

N<sub>d</sub><sup>t</sup> = valor leído en la escala del aparato a la temperatura.

t = valor de la temperatura en °C que se realiza la medición.

0.00044 = factor de corrección por grado Celsius.

Los valores se aproximan hasta las milésimas.

#### - ***Determinación del pH del extracto***

##### **Principio**

El valor del pH permite determinar la acidez o alcalinidad de una sustancia, es determinado a través de un potenciómetro o tiras reactivas de pH, dicha medición viene dada por el índice de hidrógeno, es decir va en función de los iones de hidrógeno presentes en la sustancia, la prueba se realizó por duplicado (Salinas, Zuñiga, et al., 2012, p. 4):

##### **Procedimiento**

Una vez ajustado el potenciómetro con la solución reguladora de pH, se colocó 15 ml de extracto en un vaso de precipitación, y se sumergió el electrodo indicador de pH en el extracto, y se procedió a la lectura el resultado, el mismo procedimiento se realizó con las tiras reactivas de pH.

#### - ***Determinación de los sólidos totales***

##### **Principio**

Una muestra es sometida a la acción del calor ocasionando una pérdida de sustancias volátiles, el método es realizado hasta obtener un peso constante, el secado se realiza a través de una estufa (INEN 382, 1985, pp. 1-3):

## Procedimiento

Una vez tarado las cápsulas de porcelana, se colocó en cada una, 5 ml de extracto y se sometió a baño María, hasta evaporación absoluta, posteriormente se colocó en la estufa por 3 horas, se tomó el peso y nuevamente se colocó en la estufa por 60 minutos, hasta obtener peso constante, los resultados se calcularon de acuerdo con la siguiente fórmula:

$$St = Pr - P \times 100 / V$$

Pr = peso en gramos de la cápsula más el residuo.

P = peso en gramos de la cápsula vacía.

V = volumen de la porción de extracto.

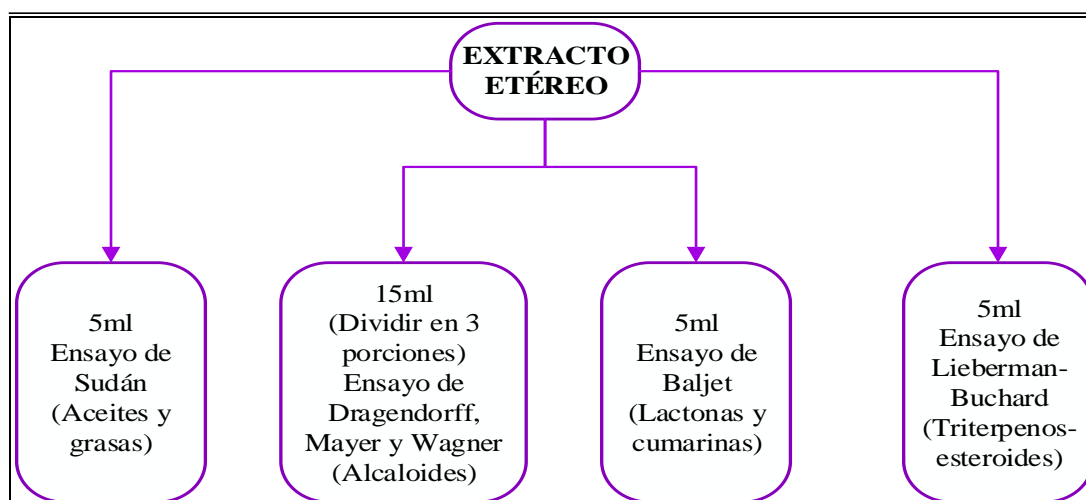
100 = factor matemático necesario para el cálculo.

## 2.12. Análisis fitoquímico

### 2.12.1. Reacciones de caracterización fitoquímica

#### 2.12.1.1. Tamizaje fitoquímico del extracto etéreo

En un frasco ámbar se colocó 30 g de especie vegetal, se agregó 125 ml de éter de petróleo, se dejó en maceración por 48 horas, posteriormente se procedió a filtrar, para finalmente realizar las pruebas cualitativas que se describen a continuación en la figura 3-2 (Guerrero, 2014, p. 51):



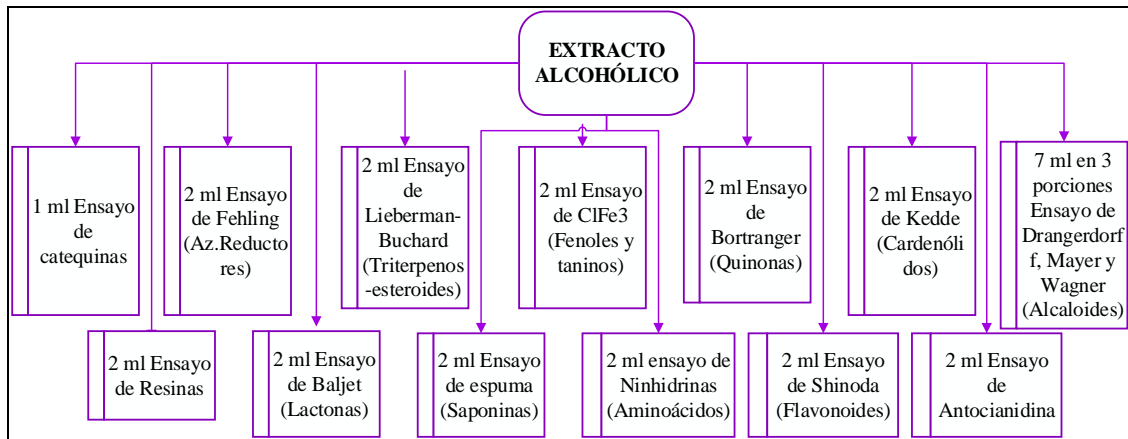
**Gráfico 3-2.** Extracto etéreo.

Fuente: Guerrero, 2014.

#### 2.12.1.2. Tamizaje fitoquímico del extracto alcohólico

El residuo sólido de la especie vegetal del extracto etéreo, se colocó en un frasco ámbar y se

agregó 3 veces el peso del residuo en volumen de etanol al 96%, se dejó por 48 horas macerando, luego se sonicó durante 30 minutos y finalmente se filtró para proceder a realizar las pruebas de carácter cualitativo e identificar metabolitos, se realizó los siguientes ensayos que se muestran en la figura 4-2 (Guerrero, 2014, p. 51):

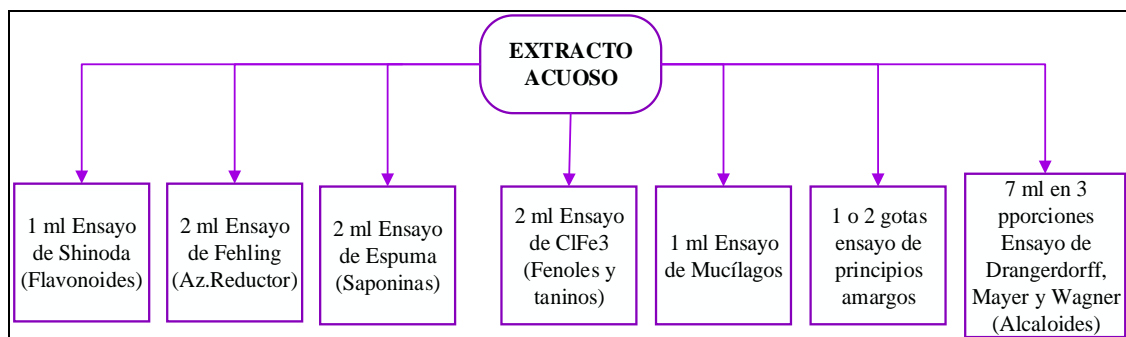


**Gráfico 4-2.** Extracto Alcohólico.

Fuente: Guerrero, 2014.

### 2.12.1.3. Tamizaje fitoquímico del extracto acuoso

Al residuo sólido del extracto alcohólico, se extrajo con agua destilada en un volumen de 3 veces el peso del residuo, durante 48 horas se dejó macerar, pasado el tiempo se sonicó y finalmente se filtró y se aplicó los siguientes ensayos que se muestran en la figura 5-2 (Guerrero, 2014, p. 51):



**Gráfico 5-2.** Extracto acuoso.

Fuente: Guerrero, 2014.

### 2.12.1.4. Tamizaje fitoquímico del extracto hidroalcohólico

Con el extracto hidroalcohólico se trabajó para las formulaciones de crema, por lo tanto en un frasco ámbar se colocó 100 g de especie vegetal y 1000 ml de etanol al 70%, a ésta

concentración se realizaron las diferentes pruebas de determinación cualitativa de metabolitos, que se detallan a continuación (Guerrero, 2014, p. 51):

- Catequinas
- Resinas
- Fehling
- Baljet
- Lieberman- Buchard
- Cloruro férrico
- Espuma
- Borntrager
- Antocianidinas
- Dragendorff
- Mayer
- Wagner
- Shinoda
- Mucílagos
- Principios amargos

### ***2.12.2. Reacciones cualitativas para la determinación de metabolitos secundarios***

#### *- Ensayo de Baljet*

**Fundamento:** Permite determinar en una muestra cetonas, cumarinas, metabolitos con agrupamiento lactónico.

**Procedimiento:** El extracto se encontraba en alcohol, por lo tanto, no fue necesario redissolver en este mismo solvente, en el caso del extracto acuoso se agregó 1 ml de alcohol. En estas condiciones se agregó a la alícuota de extracto 1 ml del reactivo, la prueba es positiva si aparece una coloración o precipitado rojo (++ y +++) (Miranda, 2001, p. 121).

#### *- Ensayo de Dragendorff*

**Fundamento:** Permite determinar la presencia de alcaloides en un extracto.

**Procedimiento:** Primero se evaporó en baño María ya que el extracto se encontraba disuelto en un solvente orgánico, el residuo se redisolvió en 1 ml de ácido clorhídrico al 1% en agua, en el caso del extracto acuoso se agregó 1 gota de HCl concentrado, se calentó suavemente, luego se dejó a temperatura ambiente hasta acidez, una vez lista la solución acuosa ácida, se agregó 3 gotas del reactivo de Dragendorff, se evaluó de la siguiente manera: si hay opalescencia, turbidez definida o precipitado se considera positivo (Miranda, 2001, p. 121).



- *Ensayo de Mayer*

**Fundamento:** Para determinar alcaloides en un extracto.

**Procedimiento:** se procedió de la misma forma que el ensayo de Drangendorff hasta obtener la solución ácida. Luego se agregó NaCl en polvo, se agitó y filtró, a continuación se agregó 3 de gotas del reactivo de Mayer, los resultados se reportaron de la siguiente manera: si se observa opalescencia, turbidez definida o precipitado se reportó de la siguiente manera (+, ++, +++) respectivamente (Miranda, 2001, p. 121).

- *Ensayo de Wagner*

**Fundamento:** mediante este ensayo se puede determinar alcaloides presentes en una muestra.

**Procedimiento:** Se parte de la misma manera que en los casos anteriores, hasta obtener la solución ácida, luego se agregó 2 o 3 gotas del reactivo de Wagner, los resultados se reportaron de la siguiente manera: opalescencia (+), turbidez definida (++) , precipitado coposo (+++) (Miranda, 2001, p. 122).

- *Ensayo de Liebermann – Burchard*

**Fundamento:** permite determinar compuestos esteroides y triterpenos.

**Procedimiento:** Primero el extracto se evaporó a Baño María ya que no se encontraba disuelto en cloroformo y el residuo se redisolvió en 1 ml de cloroformo, a continuación, se agregó 1 ml de anhídrido acético y se mezcló bien, luego se añadió 3 gotas de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> concentrado sin agitar, se dejó caer suavemente por las paredes, para evitar que la reacción salga a través del tubo, se considera positivo si se observa el cambio a los siguiente colores: rosado-azul muy rápido, verde intenso-visible rápido, y al final de la reacción un color verde oscuro-negro (Miranda, 2001, p. 123).

- *Ensayo de Shinoda*

**Fundamento:** Mediante este ensayo se puede determinar flavonoides en un extracto.

**Procedimiento:** el extracto que se encontraba en alcohol se diluyó en HCl concentrado, si se encuentra en agua se procede de igual forma, luego se colocó un pedazo de cinta de Mg<sup>2+</sup> metálico, se observó la reacción, como se desplazó a manera de espuma a través del tubo, posteriormente se agregó 1 ml de alcohol amílico, se mezcló bien y se dejó reposar, la prueba es positiva si el alcohol amílico se pone de color naranja, amarillo, rojo o carmelita (Miranda, 2001, p. 123).

- *Ensayo de Borntrager*

**Fundamento:** Ensayo que permite reconocer quinonas en un extracto.

**Procedimiento:** primero se evaporaron todos los extractos ya que ninguno se encontraba en cloroformo y el residuo se redisolvió en 1 ml de cloroformo. Se adicionó 1 ml de NaOH, KOH ó NH<sub>4</sub><sup>+</sup> al 5% en agua. Se mezcló y se dejó en reposo, la prueba es positiva si la fase superior pasa a formar una coloración rosada (++) o coloración roja (+++) (Miranda, 2001, p. 123).

- *Ensayo de Sudán*

**Fundamento:** Mediante esta prueba se puede determinar compuestos grasos en un extracto.

**Procedimiento:** a una alícuota del extracto se colocó en un tubo y se añadió 1 ml del colorante de Sudán III o IV, previamente diluido en agua, si aparecen gotas o una película de color rojo en el fondo del líquido o en las paredes, se considera positiva el ensayo (Miranda, 2001, p. 124).

- *Ensayo de catequinas*

**Procedimiento:** en un pedazo de papel filtro se colocó con un capilar una gota de extracto alcohólico, sobre la mancha se agregó una gota de carbonato de sodio, se procedió a leer en el ultravioleta, el color verde carmelita indica una muestra positiva (Miranda, 2001, p. 124).

- *Ensayo de resinas*

**Procedimiento:** se colocó 2 ml de cada extracto en un tubo de ensayo, se agregó 10 ml de agua destilada, la aparición de un precipitado en el fondo del tubo de ensayo indica que la prueba es positiva (Miranda, 2001, p. 124).

- *Ensayo de Fehling*

**Fundamento:** ensayo que permite determinar la presencia de azúcares reductores.

**Procedimiento:** el extracto que se encontraba en alcohol se evaporó a baño María, y el residuo se disolvió en 2 ml de agua, luego se añadió 2 ml de reactivo y se calentó durante 10 minutos, observando la formación del precipitado rojo que presenta en el fondo del tubo de ensayo lo que indica que el ensayo es positivo (Miranda, 2001, p. 124).

- *Ensayo de espuma*

**Fundamento:** indica la presencia de saponinas en un extracto.

**Procedimiento:** en un tubo se colocó el extracto y se agregó agua destilada, una porción 5 veces de su volumen, se agitó por 10 minutos, si la presencia de espuma permanecía por más de 2 minutos a una altura de 2 mm, el ensayo se considera positivo (Miranda, 2001, p. 125).

- *Ensayo de cloruro férrico*

**Fundamento:** el ensayo positivo indica la presencia de metabolitos como taninos y fenoles.

**Procedimiento:** si el extracto es alcohólico se agregó 3 gotas de  $\text{FeCl}_3$  en solución salina, si el extracto es acuoso, primero se neutraliza con acetato de sodio y luego se agrega  $\text{FeCl}_3$  al 5% en solución salina fisiológica, en este último se determina la presencia de taninos, con un color verde intenso, estos de tipo pirocatecólicos, el color azul indica la presencia de taninos de tipo pirogalotánicos, mientras que el color rojo-vino indica la presencia de compuestos fenólicos (Miranda, 2001, p. 126).

- *Ensayo de antocianidinas*

**Fundamento:** este ensayo permite determinar la presencia de flavonoides en secuencias de C6-C3-C6.

**Procedimiento:** en un tubo se agregó 2 ml de extracto etanólico, más 1 ml de ácido clorhídrico concentrado, se calentó por 10 minutos, y al enfriarse se agregó 1 ml de agua y 2 ml de alcohol

amílico, estos se mezclaron y se dejó reposar para observar la separación de las 2 fases, se considera positivo el ensayo si en la fase amílica se observa un color rojo-marrón (Miranda, 2001, p. 126).

- *Ensayo de principios astringentes*

**Procedimiento:** se colocó 1 ml de extracto en la lengua para saborear, y se determinó el sabor de cada uno de los extractos (Miranda, 2001, p. 171).

- *Ensayo de mucílagos*

**Fundamento:** permite determinar la presencia de metabolitos de tipo polisacárido, como un coloide hidrófilo.

**Procedimiento:** se colocó 2 ml de extracto en un tubo de ensayo este se llevó a 5 °C, la presencia gelatinosa del extracto indica positivo (Miranda, 2001, p. 128).

### 2.13. Proceso de cuantificación de fenoles totales

- *Método de Folin Ciocalteu*

#### Principio

Es un ensayo que permite la cuantificación de polifenoles en especies vegetales, los mismos que a pH alcalino reaccionan con el reactivo de Folin, éste contiene molibdato y wolframato sódico en ácido fosfórico, que reacciona con los compuestos fenólicos presentes en la muestra, ocasionando una reacción redox, como resultado de esta reacción se forma una coloración azul, la misma que es leída a través de un espectrofotómetro a 765 nm (García et al., 2015, p. 7):

#### Procedimiento

Primero se realizó la curva de calibración, para ello se preparó una solución madre de ácido gálico, de la cual se partió para la preparación de las diferentes concentraciones de 20, 40, 60, 80 y 100 ppm, se procedió de la siguiente manera: en un balón de 25 ml se colocó 250 µL de cada concentración de ácido gálico, se agregó 15 ml de agua destilada y 1,25 ml del reactivo de Folin.

A continuación, se homogenizó los balones por 30 segundos y se dejó en reposo durante 8 minutos, en un lugar oscuro, luego de haber pasado el tiempo, se colocó 3,75 ml de carbonato de sodio (Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>) al 7,5% y se aforó a 25 ml con agua destilada, nuevamente se homogenizó, se observó la coloración azul debido a la mezcla de los reactivos con los compuestos fenólicos, se dejó en reposo en la oscuridad durante 2 horas, y se leyó los estándares (Poveda, 2019, p. 31).

Para la muestra, se trabajó con el extracto liofilizado, previamente haber disuelto los 0,1 g del liofilizado en 1 L de etanol al 70%, es decir a 100 ppm de cada especie romero y arrayán, se realizó el mismo procedimiento que se aplicó en los estándares. Finalmente se procedió a leer las absorbancias de la muestras en el espectrofotómetro a 765 nm y a realizar los cálculos, los resultados se expresaron como mg GAE / g de extracto liofilizado (Poveda, 2019, p. 31).

## 2.14. Cuantificación de flavonoides

### - Espectrofotometría

#### Principio

Método cuantitativo que utiliza el paso o retención de luz para determinar la concentración de los metabolitos presentes en una muestra, mediante una reacción química que produce la quelación del  $AlCl_3$ , dando como resultado de una colocación rosa, la misma que es leída a través de un espectrofotómetro a 510 nm (Carrión y García, 2010, p. 69).

#### Procedimiento

Primero se preparó los estándares de quercetina para realizar la curva de calibración. Para lo cual se partió de la preparación de una solución madre de quercetina, de allí se tomó alícuotas en tubos de ensayos para las diferentes concentraciones de 20, 40, 60, 80, y 100 ppm, se tomó 1 ml de cada concentración, se agregó 4 ml de agua destilada y 0,3 ml nitrato de sodio ( $NaNO_3$ ) al 5 %, se homogenizó y se dejó reposar por 5 minutos a oscuridad (Poveda, 2019, p. 32).

Posteriormente, se colocó 0,3 ml de cloruro de aluminio ( $AlCl_3$ ) al 10%, se homogenizó, y nuevamente se dejó en reposo durante 5 minutos, al transcurrir el tiempo se agregó 2 ml de hidróxido de sodio 1 M, se homogenizó por 15 segundos, se observó la coloración rosada, por la reacción de los metabolitos con el aluminio, finalmente se dejó en reposo durante 15 minutos protegido de la luz (Poveda, 2019, p. 32).

Luego de haber transcurrido el tiempo se leyó las absorbancias de los estándares en el espectrofotómetro a 510 nm. Para la muestra se realizó una solución de 100 ppm en etanol al 70%, con el extracto liofilizado de las especies de romero y arrayán, se procedió de igual forma que con los estándares, se leyó las muestras en el espectrofotómetro y finalmente se calculó los resultados que se expresaron como mg EQ / g de extracto liofilizado (Poveda, 2019, p. 32).

## 2.15. Formulación de la crema

En la tabla 3-2 se observa los excipientes usados en la formulación final con la cantidad usada de acuerdo a los límites permitidos según las fichas técnicas y la “*Nomenclatura Internacional de Ingredientes Cosméticos*”:

**Tabla 3-2:** Formulación de la crema.

Excipientes	Cantidad Usada (%)	Límite permitido según las fichas técnicas (%)	INCI
Alcohol cetílico	20	0-21%	<i>Cetyl alcohol</i>

<b>Miristato de isopropilo</b>	15	1-20%	<i>Isopropyl myristate</i>
<b>Cera Lanette N</b>	5	5-20%	<i>Cetearyl alcohol, sodium cetearyl sulfate</i>
<b>Ácido esteárico</b>	10	0-20%	<i>Stearic acid</i>
<b>Tween 80</b>	6	1-15%	<i>Polysorbate 80</i>
<b>Trietanolamina</b>	3	1-5%	<i>Triethanolamine</i>
<b>Aceite de coco</b>	3	1-4%	<i>Cocos oil</i>
<b>Monoestearato de glicerilo</b>	0,5	1-20%	<i>Glyceryl stearate, PEG 100 stearate</i>
<b>Extracto hidroalcohólico de Arrayán al 70%</b>	1,5	1-5%	Principios activos
<b>Extracto hidroalcohólico de Romero al 70%</b>	1,5	1-5%	Principios activos
<b>Sharomix</b>	0,2	1-2%	<i>Benzoic acid, sorbic acid, dehydroacetic acid, benzyl alcohol</i>
<b>Aceite esencial de romero</b>	0,1	0-1%	<i>Rosmarinus officinalis oil</i>
<b>Agua</b>	34,2	-	<i>Aqua</i>

Realizado por: Urgilés, Juana, 2022.

- **Preparación fase oleosa**

En un vaso de precipitación se fundió y mezcló las siguientes materias primas, en este orden, a una temperatura 60-75 °C: ácido esteárico, cera lanette N, alcohol cetílico, monoestearato de glicerilo, aceite de coco, miristato de isopropilo, se verificó completa disolución.

- **Preparación fase acuosa**

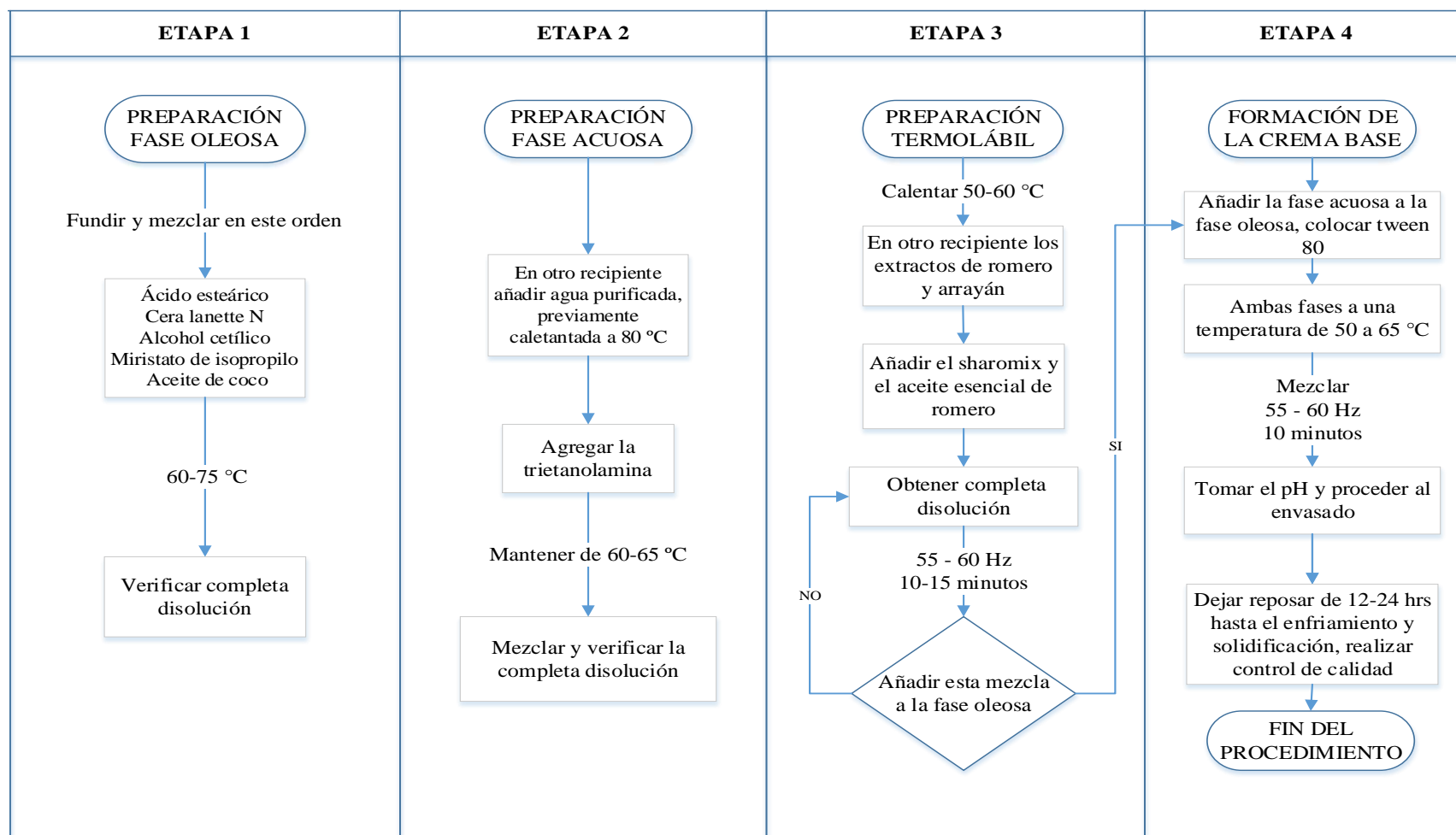
En otro recipiente se colocó agua destilada, previamente calentada a 80 °C, se añadió trietanolamina, manteniendo a una temperatura de 60-65 °C, se mezcló y se verificó completa disolución.

- **Preparación de la fase termolábil**

En un vaso de precipitación se colocó los extractos de arrayán y romero, a una temperatura de 50-60 °C, se añadió el conservante, y la fragancia, se agregó ésta mezcla a la fase oleosa, se mezcló de 10-15 minutos, hasta completa disolución.

- **Formación de la crema base**

Se añadió la fase acuosa a la oleosa, se colocó tween 80, precautelando que las dos fases se encuentren a una temperatura de 50-65° C, se mezcló aproximadamente por 10 minutos, se midió el pH, antes que solidifique se procedió al envasado, en estado semisólido, finalmente se dejó reposar de 12-24 horas, hasta completa solidificación. En la figura 6-2 se representa esquemáticamente el proceso de manufactura de la formulación final (Tello, 2013, pp. 63-67):



**Gráfico 6-2.** Formulación de la crema en barra.

Realizado por: Urgilés, Juana, 2022.

### 2.15.1. Control de calidad del producto final

Previo al control de calidad se determinó el nivel de riesgo del producto en la tabla 4-2, de acuerdo al “*Instructivo externo criterios de evaluación para la categorización del riesgo sanitario de productos cosméticos para sistemas de control y vigilancia sanitaria*”, éste establece distintos criterios para determinar si es de bajo, medio o alto riesgo, como se detallan en la tabla 4-2, cuyos resultados de las crema en barra se observan en la tabla 5-2:

**Tabla 4-2:** Nivel de riesgo del producto.

Valor	Nivel de riesgo del producto	Rango
3	Alto	13, 14, 15
2	Medio	9, 10, 11, 12
1	Bajo	5, 6, 7, 8

Fuente: ARCSA, 2017.

**Tabla 5-2:** Criterios de clasificación para cosméticos.

Criterios	Parámetro	Valoración del parámetro	Valor	Valor de la crema sólida
Clasificación de productos cosméticos por grado de información	Productos Cosméticos Grado 2	Alto	3	-
	Productos Cosméticos Grado 1	Bajo	1	1
Sustancias utilizadas	Sustancias permitidas con rango tolerable	Alto	3	-
	Sustancias permitidas en todos los casos	Bajo	1	1
Susceptibilidad a contaminación microbiológica	Cosméticos de uso en infantes	Alto	3	-
	Cosméticos que entran en contacto con las membranas mucosas	Alto	3	-
	Cosméticos para el área de los ojos	Alto	3	-
	Productos a ser utilizados en los órganos genitales externos	Alto	3	-
	Demás productos susceptibles a contaminación microbiológica	Medio	2	2
	Productos que no requieren análisis microbiológicos	Bajo	1	-
Tiempo de duración	Aplicación regular y prolongada	Alto	3	3
	Aplicación regular y no prolongada	Medio	2	-
	Aplicación ocasional	Bajo	1	-
Área de aplicación	Aplicación extensa sobre la piel	Alto	3	-
	Aplicación sobre mucosas	Alto	3	-
	Aplicación en el cabello	Medio	2	-
	Aplicación en las áreas específicas y limitadas de la piel	Bajo	1	1
<b>Total</b>				8 (Riesgo bajo)

Fuente: ARCSA, 2017.

Luego de haber determinado que el cosmético fue de riesgo bajo, con una valoración de 8, se procedió al control de calidad, por lo tanto para su evaluación se consideró el “*Instructivo externo de especificaciones fisicoquímicas, organolépticas y microbiológicas para los productos cosméticos de bajo riesgo*”, el cual establece los siguientes parámetros que se muestran en la tabla 6-2:

**Tabla 6-2:** Parámetros para formas sólidas.

Formas cosméticas	Análisis
Barra, lápiz, cera, polvos, pomadas.	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Punto de fusión</li> <li>• pH</li> <li>• Organolépticas</li> </ul>

Fuente: ARCSA, 2017.

Adicional a ello se realizó las pruebas microbiológicas, para comprobar que el producto final se encuentre libre de contaminación, cabe mencionar que en la normativa del ARCSA de especificaciones para productos cosméticos, se exceptúan de análisis microbiológico a los productos que presenten un  $\text{pH} \leq 3$  y  $\text{pH} \geq 10$ , por lo tanto las opciones de crema entran al análisis microbiológico debido a que se encuentran en un  $\text{pH} 4,5 - 6$ .

Finalmente los parámetros aplicados a la formulación final se detallan a continuación en la tabla 7-2:

**Tabla 7-2:** Control de calidad de los productos terminados.

PARÁMETROS	UNIDADES	MÉTODO
<b>Organolépticos</b>		
<b>Parámetros</b>	<b>Unidades</b>	Visual
Color	N/A	
Olor	N/A	
Aspecto	N/A	
Grumos	N/A	
Consistencia	N/A	
<b>Físico-químicos</b>		
pH	N/A	Potenciómetro
Punto de fusión	°C	Termómetro
Signo de la emulsión	N/A	Visual
<b>Microbiológico</b>		
<i>Aerobios mesófilos</i>	UFC	NTE INEN 2867
<i>Staphylococcus aureus</i>	UFC	NTE INEN 2867
<i>Escherichia coli</i>	UFC	NTE INEN 2867
<i>Pseudomona aeruginosa</i>	UFC	NTE INEN 2867

Fuente: Acurio, 2021.

#### - **Determinación del pH**

Mediante el potenciómetro y tiras reactivas se midió el pH de las formulaciones durante el



proceso de manufactura y estudio de estabilidad. En el proceso de elaboración se realizó la lectura a los 10 minutos de haber mezclado las dos fases, observando que no se encuentre a altas temperaturas y antes que solidifique. En este punto, es importante considerar el pH óptimo de la piel, el cual se encuentra entre 4,5 y 6 (Instituto de Dermocosmética, 2020, pp. 1-2).

#### - **Determinación del punto de fusión**

Indica la temperatura a la cual el sólido comienza a reblandecerse, conocida también como punto de deslizamiento, la metodología para la determinación, se realizó de acuerdo con el requisito de calidad y seguridad establecido por la “*Farmacopea Mercosur*” para insumos de la salud, y según lo establecido en la NTE INEN-ISO 6321, el cual menciona el método aplicable para cualquier producto con consistencia pastosa, sustancias grasas.

Método aplicable también aquellos productos que presenten vaselina en su composición. Para lo cual, se fundió la crema sólida en un vaso de precipitación hasta una temperatura de 90 a 92 °C, se enfrió el bulbo del termómetro hasta 5 °C, se procedió a sumergir el bulbo hasta la mitad de la muestra, se retiró inmediatamente y se esperó hasta que solidifique, sosteniendo en posición vertical.

A continuación, se procedió a acoplar el termómetro en el interior de un tubo de ensayo, a través de un tapón perforado, a 15 mm de distancia del fondo del tubo y éste se colocó en baño de agua a 16 °C y se fue elevando la temperatura cada minuto 2 °C, hasta alcanzar los 30 °C, la temperatura a la cual cae la primera gota del bulbo del termómetro al fondo de tubo de ensayo, es el punto de fusión, el ensayo se realizó por triplicado (Farmacopea Mercosur, 2015, p. 5).

#### - **Determinación del signo de la emulsión**

Para la determinación del signo de la emulsión, se realizó la prueba de colorante, en el cual se colocó una pequeña muestra de crema en estado semisólido en una cápsula, y se agregó unas gotas de colorante rojo sudan, éste para las muestras que tengan mayor cantidad de fase oleosa es decir liposoluble, si la fase externa de la crema se colorea uniformemente es agua en aceite W/O, si solo forma puntitos coloreados es aceite en agua O/W (Lavaselli y Rasia, 2004, p. 3).

#### - **Determinación Microbiológica**

Se realizó el análisis microbiológico de acuerdo a los requisitos microbiológicos para productos cosméticos que especifica en la NTE INEN 2867, en el cual menciona la determinación obligatoria de *Staphylococcus aureus*, *Aerobios mesófilos*, *Escherichia coli*, *Pseudomona aeruginosa*.

##### **a. *Staphylococcus aureus***

Previo a efectuar el análisis se procedió a desinfectar el área de trabajo, se colocó el mechero encendido, para mantener estéril el sitio de trabajo, posteriormente en un Erlenmeyer se preparó 90 ml de agua peptonada con una dilución de 1:10, a continuación, se colocó 10 g de la crema en el Erlenmeyer y se mezcló hasta observar completa disolución, a continuación se dejó reposar durante 5 minutos.

Luego con la ayuda de una micropipeta se colocó 1 ml de la muestra preparada sobre la placa. Cabe mencionar que la placa fue de compact dry para *S. aureus*, a continuación se incubó a 37 °C durante 24 horas. Luego de haber transcurrido el tiempo se leyeron los resultados de acuerdo a las colonias que crecen de color azul claro sobre la superficie, y se reportaron en función de la dilución (INEN-ISO, 2014, p. 6).

**b. *Aerobios mesófilos***

Se procedió de igual forma que el proceso para *S. aureus*, una vez preparada la muestra se colocó 1 ml de la muestra preparada en placas compact dry para *Aerobios mesófilos*, se incubó a 37 °C por un día, a continuación para interpretar los resultados, se observa las colonias que crecen de color rojizo en toda la superficie de la placa (INEN-ISO, 2014, p. 6).

**c. *Escherichia coli***

Luego de preparar la muestra en agua peptonada, se colocó 1 ml en placas compact dry para *E. Coli* y coliformes totales se incubó a 37 °C por 24 horas, los resultado se leen de la siguiente manera, si pinta de color lila son coliformes totales, y las de color azules son *E. coli*. Los resultados se reportan en 100 UFC / g en caso de haber contado 10 colonias, y así sucesivamente de acuerdo a la dilución  $10^{-1}$ , las colonias son de color negro azulado (INEN-ISO, 2014, p. 5).

**d. *Pseudomona aeruginosa***

Se procedió de la misma forma que las anteriores, únicamente que se colocó en placas compact dry para *P. aeruginosa*, previamente con una dilución de  $10^{-1}$ , y luego de las 24 horas a 37 °C se procedió a la lectura, forma colonias de color verdoso (INEN-ISO, 2014, p. 6).

**2.16. Determinación de la actividad antibacteriana del producto final frente al *S. aureus***

- Se realizó por el método de difusión en placa y sacabocado.
- Se pesó 7,6 g de agar Mueller Hinton, y se diluyó en 200 ml de agua destilada, se calentó, agitando frecuentemente hasta que hierva durante 1 minuto, posteriormente se colocó en el autoclave durante 15 minutos a 121 °C.
- A continuación, se retiró del autoclave y se colocó en la sorbona para proceder a plaquear, se colocó 25 ml de agar preparado en cada placa, cabe mencionar que se realizó 8 placas ya que fue por duplicado.
- Luego en un tubo de ensayo se realizó, una dilución a escala de 0,5 de MacFarland, éste es un estándar de referencia que se usa para realizar suspensiones bacteriológicas para comparar la turbidez.
- En otro tubo de ensayo se colocó 2,5 ml de solución salina estéril a temperatura ambiente, previamente suspendido con un hisopo la cepa ATCC25922 *S. aureus*, se comparó la

turbidez frente al tubo estándar de MacFarland, cabe recalcar que la cepa debe encontrarse máximo 1 día fresco.

- Mediante el método de difusión en placa se tomó un inóculo de la muestra preparada de *S. aureus* y se realizó estriaciones por toda la placa de agar.
- Se procedió a realizar pozos de 6 mm de diámetro en las placas de agar, se consideró el no colocar más de 6 muestras en cada placa, para facilitar su lectura.
- Se colocó el disco de control positivo fue Cefoxitina que es un medicamento de primera línea en el tratamiento frente a las infecciones bacterianas.
- Se procedió a colocar las muestras de crema a diferentes concentraciones en cada pozo, al igual que los diferentes tipos de extractos, hidroalcohólico, concentrado y liofilizado, a 20, 70 y 96% de grado alcohólico.
- Se incubó durante 24 horas de 22 a 25 °C, finalmente se procedió a la lectura de los resultados, midiendo el halo de inhibición en mm de cada muestra, comparando con el disco de control positivo, la prueba se realizó por duplicado con cada muestra (Cáceres, 2018, p. 43).
- Para determinar el nivel de la actividad antibacteriana se realizó de acuerdo al diámetro de los halos de inhibición de crecimiento del *S. aureus*: nula si  $\leq 8$  mm (-), sensibilidad límite de 9 - 14 mm (+), media de 15 - 19 mm (++) y sumamente sensible si  $\geq 20$  mm (+++) (Purca, 2013, p. 68).

## CAPÍTULO III

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

#### 3.1. Análisis de la especie vegetal

##### 3.1.1. Control de calidad de las especies vegetales

Previo a la obtención de los extractos, se realizó el control de calidad del Romero (*Rosmarinus officinalis*) y Arrayán (*Myrcianthes hallii*), se constató que se encuentren libres de impurezas, se desechó las hojas en mal estado, se comprobó que no existiera contaminación microbiana, de esta forma se garantizó que se encuentren en óptimas condiciones para la ejecución de los análisis.

##### 3.1.2. Comprobación taxonómica e identificación botánica

La identificación de las especies vegetales se realizó observando las características de las hojas, tallos y flores de las plantas descritas en bibliografía. Posteriormente, en el herbario de la Espoch se confirmó la taxonomía de las especies vegetales: *Myrcianthes hallii* (O.Berg) Mcvaugh., perteneciente a la Familia Myrtaceae es cultivada / nativa, y el *Rosmarinus officinalis* L., de la familia Lamiaceae es introducida / cultivada.

##### 3.1.3. Análisis físico-químico cuantitativo

Se empleó métodos físicoquímicos para el análisis de la planta cruda, lo que permitió determinar que todos los parámetros se encuentren dentro de las especificaciones según la USP # 28, los parámetros de análisis con los resultados se detallan en la tabla 1-3:

**Tabla 1-3:** Cenizas totales, humedad y cenizas solubles de romero y arrayán.

Determinación	Romero	Arrayán	Especificaciones USP # 28 (límite)
Humedad (%)	8,8184	8,0987	7-14%
Cenizas totales (%)	4,8144	7,5417	Max. 12%
Cenizas solubles en agua	0,1290	0,6580	Hasta 7%
Cenizas insolubles en ácido clorhídrico	0,8709	0,3668	Hasta 5%

Realizado por: Urgilés, Juana, 2022.

- ***Determinación del contenido de humedad***

En la tabla 1-3 se observa los resultados de estandarización de la droga cruda previo a la obtención de los extractos, se determinó mediante método gravimétrico. El valor de la humedad para el romero y arrayán fue de 8,8184 y 8,0987 respectivamente, los resultados se encuentran dentro de los límites establecidos por la USP # 28, valores similares se observaron en bibliografía, entre 7,9476 y 8,6493, garantizando el uso en la formulación (Universidad de Zaragoza, 2014, pp. 1-7).

El contenido de humedad es un parámetro importante, que garantiza la estabilidad de las especies vegetales, ya que en caso de exceder los límites se produce proliferación o crecimiento de microorganismos entre hongos y bacterias, proceso que se da mediante reacciones de hidrólisis, lo que conlleva a la pérdida de metabolitos con acción importante (Universidad de Zaragoza, 2014, pp. 1-7).

- ***Determinación de cenizas totales***

El ensayo de cenizas totales se determinó mediante gravimetría, luego de la incineración de la droga vegetal se obtuvieron valores de 4,8144 y 7,5417 para el romero y arrayán, los resultados se observan en la tabla 1-3, valores dentro de los límites establecidos por la USP # 28, este ensayo permite determinar los minerales de la planta entre ellos nitritos, sulfatos, carbonatos, fosfatos y cloruros, así como materia extraña (Márquez, 2014, pp. 3-10).

- ***Determinación de cenizas solubles en agua***

Mediante el método gravimétrico se determinó las cenizas solubles en agua, se obtuvo 0,1290 y 0,6580 para el romero y arrayán en la tabla 1-3 se observan los valores, los mismo que se encuentra bajo los límites establecidos por la USP # 28, parámetro que permite determinar compuestos como sales solubles, un elevado porcentaje indica una inadecuada recolección y almacenamiento de la droga vegetal (Márquez, 2014, pp. 3-10).

- ***Determinación de cenizas insolubles en ácido clorhídrico***

Como se observa en la tabla 1-3, el resultado obtenido fue de 0,8709 y 0,3668 para el romero y arrayán respectivamente, valores que se encuentran dentro de las especificaciones establecidas por la USP # 28, el método permite la determinación de compuestos silíceos de la droga, por lo tanto es aplicable en productos que contienen silicatos, por consiguiente representa un correcto manejo de las especies vegetales (Villacrés, 2019, p. 27).

**Tabla 2-3:** Extractos de arrayán y romero.

<b>Extracto</b>	<b>Arrayán</b>	<b>Romero</b>
<b>Etéreo</b>	65 ml	20 ml
<b>Acuoso</b>	150 ml	80 ml
<b>Alcohólico</b>	100 ml	90 ml

<b>Hidroalcohólico 20°</b>	500 ml	350 ml
<b>Hidroalcohólico 70°</b>	510 ml	450 ml
<b>Hidroalcohólico 96°</b>	480 ml	410 ml
<b>Concentrado 20°</b>	240 ml	105 ml
<b>Concentrado 70°</b>	130 ml	110 ml
<b>Concentrado 96°</b>	90 ml	18 ml
<b>Liofilizado 70°</b>	35 g	30 g

Realizado por: Urgilés, Juana, 2022.

En la tabla 2-3 se especifica la cantidad de extracto hidroalcohólico concentrado y liofilizado a diferentes grados alcohólicos de 20, 70 y 96%, que se obtuvo para el análisis, en el cual se observó mayor rendimiento en el arrayán presentando una diferencia de 33,33% respecto al romero éste en el extracto hidroalcohólico, posiblemente se deba a que las hojas de romero absorben mayor cantidad de solvente, debido a que son pequeñas y abundantes.

De acuerdo a Estrada en el 2010, menciona que el tamaño de la partícula incide en la obtención del extracto, mientras más pequeña sea existe mayor contacto con el solvente, en este caso el romero presentó hojas pequeñas lo que facilitó la molienda, haciendo el tamaño de la partícula más pequeña, por lo cual absorbió mayor cantidad de solvente y por ende se obtuvo menor rendimiento de los extractos (Estrada, 2010, pp. 55-60).

### 3.1.4. Control de calidad del extracto hidroalcohólico de romero y arrayán

Determinación de las características organolépticas de los extractos de *Rosmarinus officinalis* y *Myrcianthes hallii*.

**Tabla 3-3:** Características organolépticas del extracto de romero y arrayán.

<b>Parámetros</b>	<b>Extracto hidroalcohólico del romero</b>	<b>Extracto hidroalcohólico del arrayán</b>
Aspecto	Líquido	Líquido
Color	Café oscuro	Verde oscuro
Olor	Característico	Característico
Sabor	Amargo, ligeramente astringente	Amargo, astringente
Densidad Relativa	0,899	0,973
pH	5,59	5,42
Sólidos Totales	1,53	1,51
Índice de refracción	1,379	1,670

Realizado por: Urgilés, Juana, 2022.

En la tabla 3-3, se puede observar el control de calidad para el extracto hidroalcohólico de romero y arrayán, se seleccionó este extracto para trabajar debido a que el etanol al 70% fue el solvente adecuado para extraer la mayor cantidad de metabolitos con actividad antibacteriana, así lo afirma Santizo en el 2004, que los flavonoides con mayor cantidad de grupos hidroxilos son solubles en alcoholes como el etanol, el n-butanol y el metanol (Santizo, 2004, p. 30).

La polaridad del etanol le otorga el grupo hidroxilo, debido a la separación de cargas en los enlaces químicos, ya que el oxígeno es negativo y el hidrógeno es positivo, lo que facilita la formación de enlaces de hidrógeno fuertes, además los flavonoides son afines a sustancias alcalinas o bases fuertes, mientras que en el extracto acuoso, el agua no forma los enlaces necesarios para la extracción de solventes (Santizo, 2004, p. 30).

Cabe mencionar que los flavonoides con menor cantidad de grupos hidroxilos son solubles en acetato de etilo, éter etílico y acetona, de igual forma para los flavonoides de con grupos metoxilos de tipo agliconas, son solubles en el éter de petróleo y cloroformo, siendo solventes menos polares. Además el extracto hidroalcohólico favoreció en las características organolépticas para la formulación final de la crema (Santizo, 2004, p. 30).

Por lo tanto en la tabla 3-3 se puede observar los distintos parámetros que se evaluaron en el extracto hidroalcohólico como la densidad relativa, para el romero fue de 0,899, para el arrayán de 0,973, comparando con bibliografía son valores cercanos a los obtenidos, este parámetro es fundamental ya que permite determinar la presencia de metabolitos disueltos en el extracto (NTE INEN 857, 2010, p. 3).

Para sólidos totales, el romero presentó 1,53, y el arrayán de 1,51, con una diferencia de 0,11, esta prueba permite comprobar que los metabolitos secundarios han sido extraídos con el solvente adecuado. A continuación, en el índice de refracción se observó un resultado de 1,379 para el romero, mientras que para el arrayán fue de 1,670, con una diferencia de 0,302, este parámetro confirmó la presencia de sustancias diluidas en el extracto (Ndo et al., 2009, pp. 1-6).

Finalmente, el valor de pH para el romero fue de 5,59, mientras que para el arrayán fue de 5,42, este es un indicador elemental para evaluar la estabilidad de los extractos, los valores de pH obtenidos tienden a ser ligeramente ácidos, lo que podría deberse a la presencia de compuestos ácidos en los extractos vegetales, como taninos, fenoles, flavonoides (Salinas et al., 2012, p. 9).

## **3.2. Análisis fisicoquímico cualitativo**

### **3.2.1. Reacciones de caracterización**

Se realizó el tamizaje fitoquímico, de acuerdo a lo establecido en el “*Manual de estandarización de los parámetros de calidad de especies vegetal, extractos y tinturas*”, (Rodríguez y Moran, 2008, pp. 5-6):

**Tabla 4-3:** Metabolitos secundarios del extracto etéreo de *Myrcianthes hallii* y *Rosmarinus officinalis*.

Determinación	Grupo Fitoquímico	Extracto etéreo de arrayán	Extracto etéreo de romero
Sudán	Aceites y grasas	Película coloreada de rojo	Película coloreada de rojo
Baljet	Lactonas y cumarinas	+++	+++
Dragendorff	Alcaloides	+++	+++
Mayer	Alcaloides	+	+
Wagner	Alcaloides	++	++
Lieberman- Buchard	Triterpenos- esteroides	+	+

+++ Muy positivo o evidente, ++ Positivo, + Ligeramente positivo. - Negativo.

Realizado por: Urgilés, Juana, 2022.

En la tabla 4-3, se observa los resultados obtenidos en el tamizaje fitoquímico del extracto etéreo, se determinó la presencia de aceites, grasas, lactonas, cumarinas, alcaloides y triterpenos, tanto para el romero como para el arrayán, corroborando con la investigación de Estrada en el 2010, sobre el reporte de lactonas y alcaloides en ambas especies vegetales (Estrada, 2010, pp. 60-63).

El extracto etéreo no se usó en la formulación, debido a que el éter de petróleo presenta en su composición una mezcla de compuestos inflamables, hidrocarburos saturados como el heptano, hexano y pentano, al ser compuestos muy volátiles, alcanzan elevadas concentraciones en el ambiente, originando inflamación a nivel del sistema respiratorio, mucosas y pulmones, además conlleva a la formación del ozono troposférico (Fittema., 2012, p. 6).

Interfiere en el crecimiento de las plantas, en el metabolismo, fotosíntesis, haciéndolos más sensibles a ser afectados por el calor, las heladas y la sequía, suponiendo pérdidas importantes en la agricultura, entre un 5-10%, en el caso de contacto directo con la piel, provoca resequedad y grietas, que a largo plazo puede producir toxicidad debido a las trazas de residuo orgánico, los mismos que pueden llegar hasta la sangre (Fittema., 2012, p. 6).

Es mucho más inflamable al ser inhalado, ya que una vez dentro del organismo no se disuelve fácilmente por su afinidad con los ácidos grasos, por lo que está relacionado con afecciones neurológicas en el feto, interfiriendo en el desarrollo de diversos órganos, es así que un estudio afirma que al encontrarse en concentraciones elevadas en el ozono ocasiona un aumento de la mortalidad entre un 2-12% (Fittema., 2012, p. 7).



**Tabla. 5-3:** Metabolitos secundarios del extracto alcohólico de *Myrcianthes hallii* y *Rosmarinus officinalis*.

Determinación	Grupo Fitoquímico	Arrayán	Romero
Catequinas	Catequinas	-	+
Resinas	Resinas	-	-
Fehling	Azúcares reductores	+	+
Baljet	Lactonas	+++	+++
Lieberman- Buchard	Triterpenos- esteroides	Verde intenso-visible aunque rápido	Verde intenso-visible aunque rápido
Cloruro férrico	Fenoles – taninos	Verde intenso	Verde intenso
Espuma	Saponinas	-	+
Ninhidrina	Aminoácidos	-	-
Borntrager	Quinonas	-	-
Shinoda	Flavonoides	++	++
Antocianidinas	Antocianos	+	-
Dragendorff	Alcaloides	+++	+++
Mayer	Alcaloides	+	+
Wagner	Alcaloides	++	++
+++ Muy positivo o evidente, ++ Positivo, + Ligeramente positivo. - Negativo.			

Realizado por: Urgilés, Juana, 2022.

En la tabla 5-3, se encuentran los resultados del extracto alcohólico, se identificaron compuestos como azúcares reductores, lactonas, triterpenos, esteroides, fenoles, taninos, flavonoides, antocianos y alcaloides para el arrayán y romero. Estos resultados se compararon con la información bibliográfica reportada por Carvajal en el 2016, en el cual además se menciona la presencia de polifenoles y ácidos grasos en el arrayán (Carvajal et al., 2016, pp. 1-10).

No se utilizó el extracto alcohólico en la formulación, debido al alto grado de alcohol 96°, puede llegar a causar irritación en la piel, ya que de acuerdo a Soto y Rosales en el 2016, mencionan que para el uso de un extracto en formulaciones cosméticas, las especies vegetales deben macerarse en soluciones hidroetanólicas, mezcla de etanol + agua, a concentraciones entre el 30 y 70 %, considerándose el punto de extracción seguro y eficiente debido a su baja toxicidad para la piel y eficaz extracción de metabolitos activos (Soto y Rosales, 2016, p. 2).

**Tabla 6-3:** Metabolitos secundarios del extracto acuoso de *Myrcianthes hallii* y *Rosmarinus officinalis*.

Determinación	Grupo Fitoquímico	Extracto acuoso de arrayán	Extracto acuoso de romero
Fehling	Azúcares reductores	+	+
Cloruro férrico	Fenoles – taninos	-	-

Espuma	Saponinas	+	+
Shinoda	Flavonoides	++	+
Dragendorff	Alcaloides	+++	+++
Mayer	Alcaloides	+	+++
Wagner	Alcaloides	+++	++
Mucílagos	Mucílagos	-	-
Ensayo de principios amargos	Ensayo de principios amargos	Amargo, ligeramente astringente	Amargo, astringente
+++ Muy positivo o evidente, ++ Positivo, + Ligeramente positivo. - Negativo.			

Realizado por: Urgilés, Juana, 2022.

De acuerdo a la tabla 6-3, se observan los resultados del extracto acuoso, en el cual se identificaron compuestos como azúcares reductores, saponinas, flavonoides y alcaloides para el arrayán y el romero, coincidiendo de igual forma con el estudio de Carvajal en el 2016, cabe mencionar que cuantativamente el porcentaje de metabolitos específicamente de fenoles y flavonoides en este extracto no se extraen en un porcentaje activo.

En el extracto acuoso, no se usó en la formulación de crema, debido a que las especies vegetales al estar disueltas solo en agua, no forman los enlaces necesarios para la extracción de metabolitos activos, ya que el etanol es el principal responsable de la extracción de compuestos, porque presenta en su composición el grupo OH que le confiere mayor polaridad de formar enlaces fuertes, siendo la polaridad muy importante en la solubilidad y elución fenoles y flavonoides (Carvajal et al., 2016, pp. 1-10).

**Tabla 7-3:** Metabolitos secundarios del extracto hidroalcohólico de *Myrcianthes hallii* y *Rosmarinus officinalis*.

Determinación	Grupo Fitoquímico	Extracto hidroalcohólico de arrayán	Extracto hidroalcohólico de romero
Catequinas	Catequinas	-	Verde carmelita
Resinas	Resinas	-	-
Fehling	Azúcares reductores	++	++
Baljet	Lactonas	++	++
Lieberman-Buchard	Triterpenos-esteroides	Verde oscuro	Verde intenso
Cloruro férrico	Fenoles – taninos	Verde intenso	Verde intenso
Espuma	Saponinas	+	+
Borntrager	Quinonas	+++	+++
Antocianidinas	Antocianos	+	+
Dragendorff	Alcaloides	+++	+++
Mayer	Alcaloides	+++	+++
Wagner	Alcaloides	+++	+++

Shinoda	Flavonoides	-	+
Mucílagos	Mucílagos	-	-
Principios amargos	Principios amargos	Amargo, ligeramente astringente	Amargo, astringente
+++ Muy positivo o evidente, ++ Positivo, + Ligeramente positivo. - Negativo.			

Realizado por: Urgilés, Juana, 2022.

En la tabla 7-3, se observa los resultados del análisis cualitativo de metabolitos del extracto hidroalcohólico, en el cual se identificó azúcares reductores, lactonas, triterpenos, esteroides, fenoles, taninos, saponinas, quinonas, antocianos, alcaloides, metabolitos en las dos especies, además se evidenció en el extracto de romero la presencia de catequinas, metabolito importante para prevenir el daño oxidativo así lo menciona Ardilla (Ardila et al., 2009, pp. 2-8).

Finalmente el extracto hidroetanólico al 70%, se consideró para las formulaciones de crema, por dos razones, primero ya que al estar disuelto en etanol al 70% + agua, no causa toxicidad a la piel, que a la vez fue el grado alcohólico óptimo, que por su polaridad permitió extraer mayor cantidad de fenoles y flavonoides con actividad antibacteriana, además el extracto hidroalcohólico favoreció las características organolépticas deseadas en la formulación de crema, brindando estabilidad a la misma.

### 3.3. Cuantificación de fenoles y flavonoides

Se realizó la cuantificación de fenoles y flavonoides debido a que poseen actividad antibacteriana, metabolitos que actúan en procesos de defensa frente a patógenos, además tienen la habilidad de quelar metales, atrapar radicales libres, considerados como potentes inhibidores de enzimas como la lipoxigenasa, debido a su gran actividad biológica, a continuación se realizó la cuantificación de fenoles y flavonoides (Muñoz et al., 2017, pp. 2-6).

La determinación de fenoles se realizó por el método de Folin-Ciocalteu, tomando como referencia el ácido gálico ya presenta en su estructura el benceno y grupos hidroxilados, los mismos que tienen la capacidad de reaccionar con agentes oxidantes, como sales en medio ácido de color amarillento, que al ser reducido por los polifenoles forman un complejo de color azul intenso, medido en el espectro UV (Muñoz et al., 2017, pp. 2-6).

De igual forma los flavonoides presentan en su estructura grupos hidroxilos y carbonilos, para lo cual se eligió la quercetina como referencia ya que es un flavonol principal que presenta los grupos químicos antes mencionados, éstos reaccionan con el  $AlCl_3$ , formando un complejo de color rosado, la formación de este color ocasiona un desplazamiento batocrómico en el espectro UV, lo que permite determinar el contenido de flavonoides en una muestra (Muñoz et al., 2017, pp. 2-6).

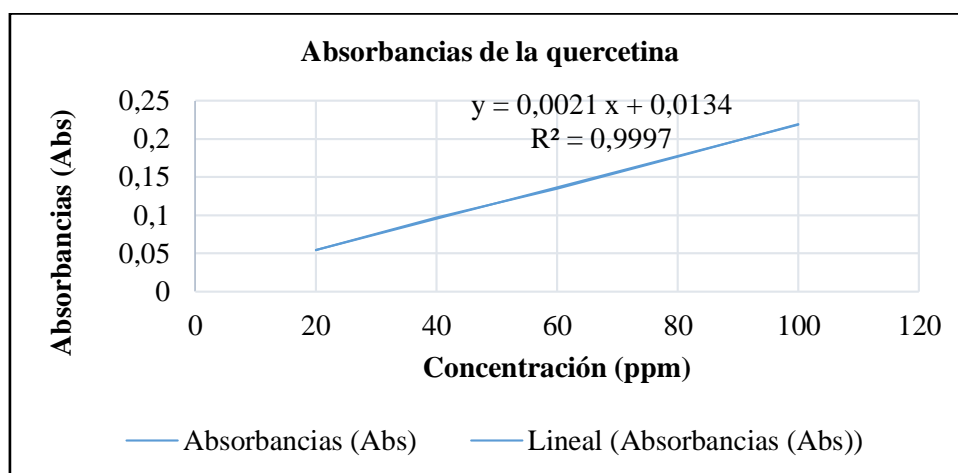
### - Análisis de flavonoides

La cuantificación de flavonoides se realizó mediante espectrofotometría, lo cual permitió determinar por un proceso colorimétrico la quelación del  $\text{AlCl}_3$ , dando como resultado una coloración rosa. A continuación, en la figura 1-3 se observa la ecuación de la recta  $Y = 0,0021 x + 0,0134$ , y el coeficiente de determinación fue de 0,9997, obtenido a partir de los estándares de quercetina especificados en la tabla 8-3, realizadas a diferentes concentraciones de 20, 40, 60, 80 y 100 partes por millón.

**Tabla 8-3:** Concentraciones de quercetina

Concentración de quercetina (ppm)	Absorbancias (Abs)
20	0,054
40	0,097
60	0,135
80	0,177
100	0,219

Realizado por: Urgilés, Juana, 2022.



**Figura 1-3.** Curva de calibración de los estándares de la quercetina.

Realizado por: Urgilés, Juana, 2022.

Una vez que se obtuvo la curva de calibración, se procedió a realizar el cálculo de la cantidad de flavonoides totales por cada 100 g de muestra, para lo cual de la ecuación de la recta  $y = 0,0021 x + 0,0134$ , se obtuvo la concentración de flavonoides en ppm, los cuales se transformaron a miligramos equivalente de quercetina por cada 100 g de extracto liofilizado, valores que se observan a continuación en la tabla 9-3:

**Tabla 9-3:** Cuantificación de flavonoides totales por espectrofotometría UV-VIS.

Muestra a analizar	Flavonoides Totales
	mg Eq Q / 100 g de extracto liofilizado
Hojas de <i>Myrcianthes hallii</i>	1 283,546
Hoja de <i>Rosmarinus officinalis</i>	3 256,568

Realizado por: Urgilés, Juana, 2022.

En la tabla 9-3, se observa el resultado para el arrayán, se obtuvo 1 283,546 mg Eq Q / 100 g de extracto liofilizado, mientras que según Mirallas, en el 2018, indicó un valor de 1 164,6095 mg Eq Q / 100 g, siendo el valor de bibliografía menor al resultado obtenido, podría deberse a factores como temperatura, solvente, tamaño de la partícula, viscosidad del medio, naturaleza química de las especies, velocidad y tiempo de agitación (Mirallas, 2018, p. 59).

No obstante el valor obtenido muestra la presencia de flavonoides en el *M. hallii*, de acuerdo a Carvajal en el 2016, afirma que de los 38 compuestos que presenta, algunos derivados de los flavonoles tienen actividad antibacteriana con evidencia científica comprobada, entre ellos se encuentra la quercetina, kaempferol y la miricetina, con efectividad frente a bacterias gram positivas y gram negativas (Carvajal et al., 2016, p. 8).

La actividad antibacteriana es principalmente frente al *S. aureus*, *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella melaninogenica* y *Lactobacillus acidophilus*. De igual forma en la tabla 9-3 se observa resultados de flavonoides para el romero con 3 256,568 mg Eq Q / 100 g extracto, mientras que en bibliografía se encontró un valor de 3 047 mg Eq Q / 100 g extracto, con una pequeña variación de acuerdo a un estudio realizado por Bautista en el 2007, mediante el mismo método de espectrofotometría (Bautista, et al, 2007, p. 1).

De acuerdo a Purca en el 2013 los flavonoides presentes en *R. officinalis* como diosmina, carnosólico, carnosol, rosmanol fegopoina, cirsimarina, hesperina, inhiben el crecimiento de las cepas bacterianas como *S. aureus*, *E coli*, *P. aeruginosa* y actúan degradando la membrana citoplasmática de las bacterias, inhibiendo la motilidad, lo cual conlleva a su autodestrucción (Purca, 2013, p. 28).

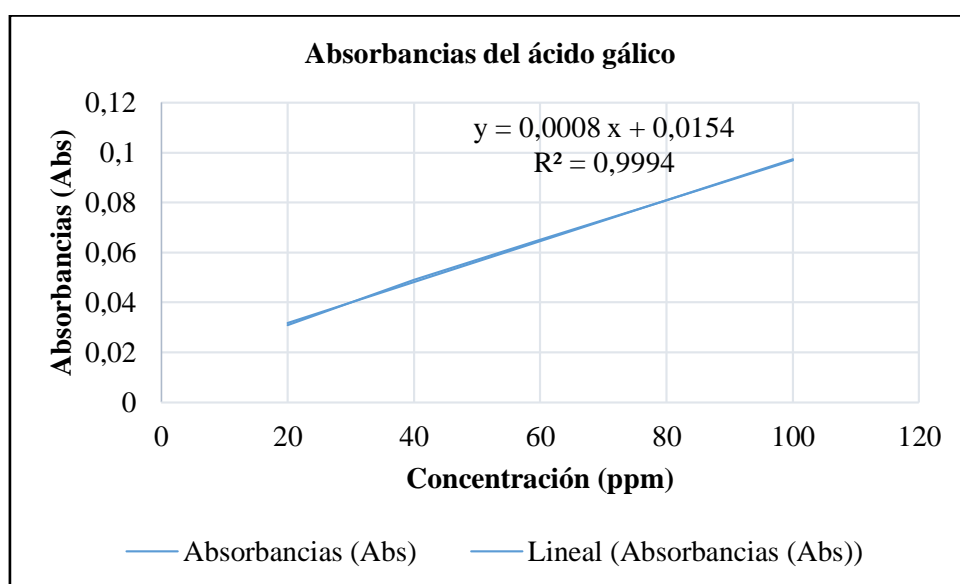
#### - **Cuantificación de fenoles totales**

Para el análisis de fenoles totales se empleó el método de Folin-Ciocalteu, en el cual se da una reacción redox, presentando una coloración azulada. Se realizó la curva de calibración de los estándares a diferentes concentraciones de ácido gálico, como se observa en la tabla 10-3, luego se obtuvo la ecuación de la recta  $Y = 0,0008 x + 0,0154$ , y el coeficiente de determinación fue de  $R^2 = 0,9994$ , representado en la figura 2-3.

**Tabla 10-3:** Concentraciones de ácido gálico.

Concentración de ácido gálico (ppm)	Absorbancias (Abs)
20	0,031
40	0,049
60	0,065
80	0,081
100	0,097

Realizado por: Urgilés, Juana, 2022.



**Figura 2-3.** Curva de calibración de los estándares del ácido gálico.

Realizado por: Urgilés, Juana, 2022.

Una vez que se obtuvo la curva de calibración del ácido gálico, se procedió a determinar la concentración de fenoles totales, a partir de la ecuación de la recta  $y = 0,0008 x + 0,0154$ , los valores que se obtuvieron en ppm, se transformaron a mg equivalentes de ácido gálico por cada 100 g de extracto liofilizado, como se observa en la tabla 11-3:

**Tabla 11-3:** Cuantificación de fenoles totales por espectrofotometría.

Muestra analizada	Fenoles Totales
	mg Eq GAE / 100 g de extracto liofilizado
Hojas de <i>Myrcianthes hallii</i>	4 972,254
Hoja de <i>Rosmarinus officinalis</i>	1 874,892

Realizado por: Urgilés, Juana, 2022.

Como se puede observar en la tabla 11-3, se obtuvo 4 972,254 mg Eq GAE / 100 g de extracto liofilizado para el arrayán, a diferencia de lo que señala Mirallas en el 2018, un valor de 4 563,333 mg Eq GAE / 100 g, la diferencia es de 408,921 mg Eq GAE / 100 g, lo que podría deberse al proceso metodológico para la cuantificación de fenoles, así mismo influiría el manejo y manipulación que se aplica a la especie de acuerdo a la zona crecimiento (Mirallas, 2018, p. 59).

El valor obtenido asevera la presencia de fenoles, así lo afirma Carvajal en el 2016, como la catequina y sus derivados entre ellos la epigalocatequina, galocatequina galato, epigalocatequina galato, los cuales ejercen actividad antibacteriana comprobada desde 1990, frente al *Streptococcus mutans*, *Bacillus cereus* y *Perfringes de Clostridium*, siendo menos activo frente a *E. coli* (Carvajal et al., 2016, p. 9).

En el mismo estudio afirma la presencia de polifenoles que actúan a través de mecanismos de las monoaminoxidasas, mediante el daño de las paredes celulares y de la membrana citoplasmática frente a *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *Enterococcus*, *S. pyogenes*, los fenoles y flavonoides actúan a manera de toxinas, enzimas y receptores de señales frente a factores de virulencia bacteriana (Carvajal et al., 2016, p. 9).

Para el romero se obtuvo 1 874,892 mg Eq GAE / 100 g de extracto liofilizado, como se observa en la tabla 11-3, sin embargo Bautista en el 2007 señaló un valor mayor de 3 890 mg Eq GAE / 100 g de extracto por lo que posiblemente se deba al tipo de solvente, metodología de obtención, cultivo y tratamiento de la especie, el autor afirma que los ácidos fenólicos como el cinámico y ferúlico, actúan de forma efectiva sobre las bacterias gram positivas mientras que sobre la gram negativas tienen menor efectividad (Bautista, et al, 2007, p. 1).

### 3.4. Formulación de la crema en barra

A continuación, en la tabla 12-3 se observa la formulación final de la crema en barra, excipientes usados en formulaciones cosméticas solidas de acuerdo al “*Instituto Europeo de Dermocosmética Natural*”, el mismo que especifica los límites permitidos de cada excipiente de acuerdo a las fichas técnicas de cada uno de los componentes utilizados (Instituto de Dermocosmética, 2018, p. 1):

**Tabla 12-3:** Excipientes empleados en la formulación.

Excipientes	Cantidad Usada (%)	Límite permitido según las fichas técnicas (%)	Función
Alcohol cetílico	20	0-21%	Co-Emulsionante, espesante
Miristato de isopropilo	15	1-20%	Humectante

<b>Cera Lanette N</b>	5	5-20%	Espesante
<b>Ácido esteárico</b>	10	0-20%	Brinda dureza
<b>Tween 80</b>	6	1-15%	Emulsionante
<b>Trietanolamina</b>	3	1-5%	Regulador del pH
<b>Aceite de coco</b>	3	1-4%	Emoliente
<b>Monoestearato de glicerilo</b>	0,5	1-20%	Estabilizante
<b>Extracto hidroalcohólico de Arrayán al 70%</b>	1,5	1-5%	Principio activo
<b>Extracto hidroalcohólico de Romero al 70%</b>	1,5	1-5%	Principio activo
<b>Sharomix</b>	0,2	1-2%	Conservante
<b>Aceite esencial de romero</b>	0,1	0-1%	Aroma
<b>Agua</b>	34,2	-	Vehículo

Realizado por: Urgilés, Juana, 2022.

De acuerdo con la tabla 12-3 la formulación final cumplió con los parámetros establecidos por el “*Instructivo externo de especificaciones fisicoquímicas, organolépticas y microbiológicas para los productos cosméticos de bajo riesgo de la ARCSA*” y NTE INEN 2867. La formulación apropiada se seleccionó considerando y analizando las características organolépticas debido a que todas las formulaciones cumplieron con las propiedades fisicoquímicas y microbiológicas. La formulación seleccionada presentó aspecto homogéneo, color blanco, consistencia ideal sólida, se desliza a través de la piel, proporciona untuosidad y suavidad. Se usó mayor porcentaje de componentes, con acción espesante entre ellos alcohol cetílico, cera lanette N y ácido esteárico, compuestos responsables de proporcionar dureza con el fin de obtener un producto sólido.

**Tabla 13-3:** Composición de formulaciones.

<b>Composición</b>									
<b>Formulación</b>	<b>F1</b>	<b>F2</b>	<b>F3</b>	<b>F4</b>	<b>F5</b>	<b>F6</b>	<b>F7</b>	<b>F8</b>	<b>F9</b>
<b>Fase oleosa</b>									
<b>BTMS</b>	20	23	20	15	-	-	-	-	-
<b>Manteca de cacao</b>	20	23	-	20	-	-	-	-	-



<b>Manteca de Karité</b>	26	31	46	20	-	-	-	-	-
<b>Alcohol cetílico</b>	10	10	10	10	8	8	17	15	20
<b>Aceite de oliva</b>	6	6	18	6	-	-	-	-	-
<b>Cera de abeja</b>	-	-	-	11	-	2	-	-	-
<b>Cera lanette N</b>	-	-	-	-	-	-	-	26	5
<b>Lanolina</b>	-	-	-	-	-	5	-	-	-
<b>Aceite de coco</b>	-	-	-	-	2	2	3	3	3
<b>Aceite mineral</b>	-	-	-	-	0,5	0,5	-	-	-
<b>Ácido esteárico</b>	-	-	-	-	-	-	20	-	10
<b>Vaselina</b>	-	-	-	-	-	-	1	1	-
<b>Miristato de isopropilo</b>	-	-	-	-	5	5	15	15	15
<b>Monoestearato de glicerilo</b>	-	-	-	-	-	-	-	-	0,5
<b>Fase acuosa</b>									
<b>Agua</b>	-	-	-	8	71,7	62,7	37,5	37,7	34,2
<b>Glicerina</b>	5	-	-	5	5	5	-	-	-
<b>Trietanolamina</b>	-	-	-	-	1	1	3	3	3
<b>Hidrolato de rosas</b>	6	-	-	-	-	-	-	-	-
<b>Ex. hidroalcohólico concentrado de Arrayán</b>	-	-	2,5 (20%)	-	-	-	-	-	-
<b>Ex. hidroalcohólico concentrado de Romero</b>	-	-	2,5 (20%)	-	-	-	-	-	-
<b>Ex. hidroalcohólico de Arrayán</b>	2,5 (70%)	2,5 (96%)	-	-	2,5 (70%)	2,5 (70%)	1 (70%)	1 (70%)	1,5 (70%)
<b>Ex. hidroalcohólico de Romero</b>	2,5 (70%)	2,5 (96%)	-	-	2,5 (70%)	2,5 (70%)	1 (70%)	1 (70%)	1,5 (70%)
<b>Extracto liofilizado de Arrayán</b>	-	-	-	1,5 (96%)	-	-	-	-	-
<b>Extracto liofilizado de Romero</b>	-	-	-	1,5 (96%)	-	-	-	-	-

Fase termolábil									
Sharomix	0,4	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,2	0,2
Aroma de romero	0,7	0,7	0,7	0,7	0,5	0,5	0,1	0,1	0,1
Vitamina E	1	1	1	1	-	-	-	-	-
Tween 80	-	-	-	-	1	1	6	3	6
<b>TOTAL</b>	<b>100%</b>	<b>100%</b>	<b>100%</b>	<b>100%</b>	<b>100%</b>	<b>100%</b>	<b>100%</b>	<b>100%</b>	<b>100%</b>

Realizado por: Urgilés, Juana, 2022.

En la tabla 13-3 se puede observar las 9 opciones realizadas, para la obtención de la formulación óptima, las características que presentaron son las siguientes: opción 1 no se disolvió la fase acuosa con la oleosa, no tuvo consistencia sólida posiblemente a la presencia de la glicerina e hidrolato de romero, obteniendo una formulación grasosa para la piel; opción 2 se retira el hidrolato y glicerina, por lo tanto forma una fase homogénea, presenta forma sólida consistente, pero menor untuosidad.

Por otro lado, la opción 3 es más untuosa con sensación grasosa debido a la incorporación de manteca de karité, esta formulación se desliza fácilmente a través de la piel, presentó consistencia sólida, pero con el pasar de los días aumentó la dureza y disminuyó la untuosidad; en la opción 4, para disminuir la sensación grasa, se usó la combinación de cera de abeja y mantecas, de esta manera se obtuvo una apariencia lisa y color verde debido al uso del extracto liofilizado.

La consistencia de la opción 4 fue sólida y untuosa, sin embargo, el color no es agradable a la vista, tampoco se mezclaron las 2 fases oleosa y acuosa, lo que probablemente se deba a la inferencia del extracto con los componentes de la formulación, al pasar los días aumentó la dureza y disminuyó la untuosidad. Por lo tanto, en función de los resultados iniciales, se modificó los componentes a partir de la opción 5.

Para corregir el problema que se repetía en las formulaciones anteriores, que es la dureza, se reemplazó el uso de aceites y mantecas con el miristato de isopropilo, ya que tiene las mismas características de los aceites pero menos oleoso así lo afirma en Acofarma en el 2013, debido a que los aceites vegetales, conllevan a formar sensación grasa en la piel, obteniendo finalmente una formulación con consistencia semisólida que emulsiona con el agua (Acofarma, 2013, pp. 1-2).

Es así que la opción 5 fue de color blanco, pero no solidificó en su totalidad, por lo tanto para la opción 6 se colocó: cera de abeja y lanolina, con el objetivo de brindarle solidez, pero se obtuvo una crema de color café con sensación viscosa y densa sobre la piel.

La presencia excesiva de lanolina es responsable de producir viscosidad y densidad exagerada sobre la piel; por lo tanto en la opción 7 se reemplazó la lanolina por ácido esteárico.

Obteniendo inicialmente untuosidad pero posteriormente se endureció el producto, esto como consecuencia de la transformación que sufre el ácido esteárico a temperatura ambiente. Posteriormente, en la opción 8 se reemplazó con cera lanette N, por presentar menor grado de dureza en comparación con el ácido esteárico, pero por la consistencia que presenta, conllevó a un deslizamiento complicado sobre la piel (Roth, 2019, p. 2).

De esta manera la opción 8 formó grumos debido a la alta cantidad de cera lanette N, al colocar en la piel ésta no se disolvió en su totalidad, sino hasta llevar a cabo un masaje vigoroso, requirió de mayor tiempo hasta esparcirse en su totalidad sobre la piel.

El color no es agradable tiende a ser plomo debido a cierta interacción que presentó principalmente entre los extractos, excipientes y la cera lanette N.

Finalmente, en la opción 9 se combinó alcohol cetílico con cera lanette N y se agregó ácido esteárico, éste último se añadió con el objetivo que soporte mayor temperatura y conserve la formulación en barra, procurando que la dureza no sea excesiva, además el extracto hidroalcohólico al 70% fue el óptimo, debido a que éste no alteró el color, mientras que el liofilizado podría ser usado en jabones, shampoos, mascarillas faciales debido a su coloración verdosa.

Así pues, la opción 9 fue la óptima, de color blanco, agradable a la vista, desliza fácilmente a través de la piel, proporcionó humectación, pH óptimo, solidez en barra, óptima y principalmente cumplió con los parámetros del *“Instructivo externo de especificaciones fisicoquímicas, organolépticas y microbiológicas para los productos cosméticos de bajo riesgo establecidos por la ARCSA”* y NTE INEN 2867.

**Tabla 14-3:** Control de calidad para formulaciones propuestas de crema en barra.

Parámetros organolépticos									
Parámetro	F1	F2	F3	F4	F5	F6	F7	F8	F9
Color	Crema	Crema	Verde	Verde	Blanca	Café claro	Blanca	Plomo	Blanca
Olor	Romero	Romero	Romero	Romero	Coco	Coco	Coco	Coco	Coco
Aspecto	Dispar	Homogéneo	Homogéneo	Dispar	Homogéneo	Homogéneo	Homogéneo	Homogéneo	Homogéneo
Grumos	Presencia	Ausencia	Ausencia	Presencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia
Consistencia	Semisólida	Blando	Sólida	Blando/Semisólida	Semisólida	Sólida	Sólida	Sólida	Sólida
Parámetros físicos									
pH	5,95	5,24	4,5	5,42	5,68	4,49	5,35	5,67	5,10
Punto de fusión	44	42	39	41	48	41	46	43	44
Parámetros químicos									
Signo de la Emulsión	W/O	W/O	W/O	W/O	W/O	W/O	W/O	W/O	W/O
Parámetros microbiológicos									
	F7			F8			F9		
<i>Escherichia Coli</i>	Ausencia			Ausencia			Ausencia		
<i>Aerobios mesófilos</i>	Ausencia			Ausencia			Ausencia		
<i>Staphylococcus aureus</i>	Ausencia			Ausencia			Ausencia		
<i>Pseudomona aeruginosa</i>	Ausencia			Ausencia			Ausencia		

Realizado por: Urgilés, Juana, 2022.

En la tabla 14-3 se observa los resultados del control de calidad realizado a las distintas formulaciones. El objetivo inicial era seleccionar 3 propuestas considerando las características organolépticas, fisicoquímicas y microbiológicas más apropiadas, sin embargo todas las formulaciones cumplieron con los parámetros establecidos por la “*Normativa para los productos cosméticos de bajo riesgo de ARCSA*” y NTE INEN 2867.

Por lo tal motivo, para la formulación final se consideró la que presentaba las mejores características organolépticas, como: aspecto homogéneo, color blanco, consistencia sólida, sin ruptura al deslizarse sobre la piel, pH ideal, que brinde untuosidad y sea suave. Al analizar el pH, que se observa en la tabla 14-3, fue uno de los parámetros más estrictamente controlado, para evitar que los productos causen irritaciones en la piel (Jos, 2008, p. 1-3).

Considerando que la piel grasa se encuentra entre 4,9 y 5,0, la piel seca entre 5,7 y 5,9, y la piel normal va de 5,2 a 5,5. A continuación otra prueba de relevancia fue el punto de fusión, el cual permitió determinar la temperatura a la que la crema sólida empieza a reblandecerse, conocido también como punto de deslizamiento, lo que a su vez conllevó a determinar qué tan estable es la crema a temperaturas extremas de 4 y 40 °C (Ayala y Méndez, 2005, p. 50).

En función a los resultados del punto de fusión, se estableció el tipo de envase apropiado, el mismo que debe ser compatible con el producto terminado y no causar modificaciones en la estructura física y química, por lo que inicialmente se probó en un envase biodegradable de cartón, al no ser compactible y modificar las características organolépticas de la crema, se vio obligado a reemplazar por un envase plástico que además facilitó su uso (Ayala y Méndez, 2005, p. 50).

La metodología para el punto de fusión se llevó a cabo de acuerdo a la NTE INEN-ISO 6321. También se determinó el carácter de la formulación, es decir, si la crema es W/O u O/W, como se observa en la tabla 14-3, todas las formulaciones fueron W/O, debido a que existe mayor cantidad de la fase oleosa respecto a la acuosa, para la prueba se usó rojo Sudán, ensayo que permitió determinar cuál de los dos líquidos inmiscibles, está disperso en el seno del otro en forma de finas gotas o glóbulos (Czetsch, 2013, p. 15).

Finalmente, se realizó el análisis microbiológico de acuerdo a la norma NTE INEN 2867, se evaluó la presencia o ausencia de: *Escherichia Coli*, *Aerobios mesófilos*, *Staphylococcus aureus* y *Pseudomona aeruginosa*, se determinó ausencia de estos microorganismos en las formulaciones, indicando que el proceso de elaboración y envase se llevó a cabo cumpliendo las medidas de higiene apropiadas y siendo apto para el uso humano (Cáceres, 2018, p. 23).

**Tabla 15-3:** Estudio de estabilidad acelerada

Parámetros organolépticos												
Parámetro	F7				F8				F9			
Temperatura	40 °C	23 °C	4 °C		40 °C	23 °C	4 °C		40 °C	23 °C	4 °C	
Untuosidad	+++	+++	++		+++	++	++		+++	+++	++	
Color	Blanca	Blanca	Blanca		Café claro	Plomo	Café claro		Blanca	Blanca	Blanca	
Olor	Coco	Coco	Coco		Sin fragancia	Coco	Sin fragancia		Coco	Coco	Coco	
Aspecto	Homogéneo	Homogéneo	Homogéneo		Homogéneo	Homogéneo	Homogéneo		Homogéneo	Homogéneo	Homogéneo	
Presencia de Impurezas	Ausencia	Ausencia	Ausencia		Ausencia	Ausencia	Ausencia		Ausencia	Ausencia	Ausencia	
Grumos	Ausencia	Ausencia	Ausencia		Ausencia	Ausencia	Ausencia		Ausencia	Ausencia	Ausencia	
Consistencia	Semisólida	Sólida	Sólida		Semisólida	Sólida	Sólida		Semisólida	Sólida	Sólida	
- No existe untuosidad, ++ Poca untuosidad, +++ Mucha untuosidad												
Parámetros Físicosquímicos												
Parámetro	F7				F8				F9			
Temperatura extrema a las que se sometió	40 °C	38 °C	4 °C	Temp. ambiente 15-22 °C	40 °C	38°C	4°C	Temp. ambiente 15-22 °C	40 °C	38 °C	4 °C	Temp. 15-22 °C
pH	5,10	5,35	6,50	5,35	5,31	5,10	6,33	5,67	5,22	5,77	6,48	5,10
Punto de fusión	-	-	39 °C	38 °C	-	-	40 °C	38 °C	-	-	39 °C	38 °C

<b>Signo de la emulsión</b>	W/O	W/O	W/O	W/O	W/O	W/O	W/O	W/O	W/O	W/O	W/O	W/O
-----------------------------	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----

Realizado por: Urgilés, Juana, 2022.

En la tabla 15-3 se observa las características obtenidas en la prueba de estabilidad acelerada, el estudio se realizó durante 60 días y permitió conocer las condiciones de almacenamiento para que el producto conserve sus propiedades, por lo tanto, se estableció mantener en un lugar fresco y seco, el envase bien cerrado, a una temperatura no mayor a 38 °C, cabe recalcar que durante los 60 días analizados no presentó alteraciones en sus propiedades.

Por lo tanto las características organolépticas, fisicoquímicas y microbiológicas, mantuvo estable los 5 meses desde su elaboración. Las formulaciones fueron sometidas a diferentes temperaturas 40, 38 y 4 °C, y a temperatura ambiente 15-22 °C, ya que según la USP # 30, menciona que se considera "frío" a toda temperatura que no exceda de 8 °C, hace referencia a un refrigerador como un lugar frío con una temperatura entre 2 y 8 °C (Tobergte y Curtis, 2013, p. 20).

Es importante recordar que para el almacenamiento, en el caso de que un producto presente en la etiqueta la frase mantener en "fresco" hace referencia a toda temperatura entre 8 y 15 °C, ambiente "cálido" a toda temperatura entre 30 y 40 °C, y finalmente el término "calor excesivo" es toda temperatura por > 40 °C, temperaturas fundamentales para determinar la estabilidad de un cosmético (Tobergte y Curtis, 2013, p. 20).

En la cámara de estabilidad se determinó a medida que aumentó la temperatura, el pH bajó significativamente, debido a que las moléculas de la solución tienden a separarse como los ácidos, bases y sales, produciendo más iones en la solución, disminuyendo la viscosidad, que a su vez afecta al pH, ya que éste mide la concentración de protones, lo cual se ve alterado por efectos de la temperatura (Barrera et al., 2012, p. 3).

Sin embargo se puede realizar correcciones de pH con ácido cítrico o láctico, en caso de tener un pH alcalino y con hidróxido de sodio o potasio, bicarbonato de sodio, carbonato potásico o sódico, arginina, en caso de que el pH se encuentre ácido, así lo menciona el Instituto de Dermocosmética, respecto al punto de fusión, es una prueba que normalmente se usa para determinar el grado de pureza en ciertas sustancias (Instituto de Dermocosmética, 2020, pp. 1-2)

En este caso debido a los múltiples excipientes, el punto de fusión no es uno fijo, sino que puede verse alterado por la interacción o las características que presentan entre los componentes, en este caso se usó para determinar el punto eutéctico, por lo que la temperatura óptima fue de 13 a 30 °C, a partir de los 38 °C, la formulación empezó a reblandecerse, mientras que a 4 °C, la crema fundió a mayor temperatura (Ayala y Méndez, 2005, p. 50).



**Tabla 16-3:** Estudio cualitativo de la actividad antibacteriana de los extractos y las formulaciones

CAJA N° 1			CAJA 2		
Parámetro	Tamaño del halo de inhibición (mm)	Efecto antibacteriano frente a <i>S. aureus</i>	Parámetro	Tamaño del halo de inhibición (mm)	Efecto antibacteriano frente a <i>S. aureus</i>
Cefoxitina	28	(+++)	Cefoxitina	28	(+++)
Extracto hidroalcohólico de romero y arrayán al 20 %.	13	(+)	Extracto concentrado de romero y arrayán al 20 %.	21	(+++)
Extracto hidroalcohólico de romero y arrayán al 70 %.	20	(+++)	Extracto hidroalcohólico de arrayán al 70 %.	20	(+++)
Extracto hidroalcohólico de romero y arrayán al 96 %.	22	(+++)	Extracto hidroalcohólico de romero al 70 %.	20	(+++)
Extracto concentrado de romero y arrayán al 70 %	24	(+++)			
Extracto concentrado de romero y arrayán al 96 %.	24	(+++)			
CAJA N° 3			CAJA N° 4		
Parámetro	Tamaño del halo de inhibición (mm)	Efecto antibacteriano frente a <i>S. aureus</i>	Parámetro	Tamaño del halo de inhibición (mm)	Efecto antibacteriano frente a <i>S. aureus</i>
Cefoxitina	27	(+++)	Cefoxitina	30	(+++)
Extracto liofilizado de arrayán al 70 %.	25	(+++)	Crema con el extracto hidroalcohólico al 70 %.	10	(+)
Extracto liofilizado de romero al 70 %.	24	(+++)	Crema con el extracto concentrado al 96 %.	12	(+)
			Crema con el extracto liofilizado al 96 %.	23	(+++)

Realizado por: Urgilés, Juana, 2022.

En la tabla 16-3, se observa la determinación cualitativa de la actividad antibacteriana de los productos frente al *S. aureus* responsable de las infecciones bacterianas más comunes en la piel, la técnica que se usó fue el método de sacabocado y difusión en placa tanto para las formulaciones sólidas como para el extracto liofilizado, concentrado e hidroalcohólico, las muestras se compararon frente a un control positivo de cefoxitina.

Se usó la cefoxitina ya que es un antibiótico de primera línea para el tratamiento frente a infecciones bacterianas causada por el *S. aureus*. La formulación de crema, con mayor halo de inhibición del 23 mm, fue con el extracto liofilizado, y el menor diámetro de inhibición de 10 mm, con el hidroalcohólico, con respecto al grado alcohólico en los extractos solos, hubo > inhibición con el liofilizado al 70% de 25 mm, y < con el hidroalcohólico al 20% con 13 mm.

En las cremas hubo menor halo de inhibición frente a los extractos solos, debido a las características e interacción entre los excipientes usados, por lo que se determinó que para posteriores formulaciones de cosméticos se debería obtener el principio activo de estas especies vegetales, para que pueda ejercer una función farmacológica específica ya que al ser extractos hidroalcohólicos de agua + etanol, por lo que tienen menor efectividad sobre un área determinada.

Comparando los extractos se determinó que un grado alcohólico al 70% y liofilizado presenta > potencia antibacteriana que uno de < grado alcohólico al 20%, ya que la cantidad de agua disminuye la concentración de etanol, los fenoles y flavonoides extraídos están en función directa a la concentración del etanol, a > concentración de solvente, > contenido de metabolitos, hasta un punto máximo, después del cual comienza a disminuir (Flor y Parra, 2017, p. 58).

Con respecto al diámetro del halo formado de acuerdo a Estrada en el 2010, menciona que el extracto hidroalcohólico de romero al 40%, es parcialmente activo frente a *S. aureus*, a una concentración de 10000 µg / ml y al 70% a una concentración de 5000 µg / ml formó un halo de 20 mm mediante el método de Mitscher, mientras que por el método de difusión en pocillos a una concentración de 75 mg / ml formó halos de 20,56 mm (Estrada, 2010, pp. 66-67).

Por lo que se puede evidenciar una actividad antimicrobiana leve del extracto hidroalcohólico de romero. Respecto al arrayán no existen estudios de la eficacia frente a *S. aureus*, sin embargo en una investigación del 2016, de acuerdo a Carvajal determinó que el extracto hidroalcohólico de *M. hallii*, mostró una modesta actividad antibacteriana frente a *S. aureus*, lo cual menciona que se podría usar como un nuevo agente antiséptico (Carvajal et al., 2016, pp. 1-10).

### **3.5. Envasado y etiquetado de la crema en barra**

El envase plástico de la crema en barra es de 45 g, con un sistema denominado “twist-up”, que permitió que salga la barra al momento de girar el disco de la parte inferior, facilitando el uso de la crema sólida, con un envase secundario de cartón. El envase fue compatible con los

componentes, lo que permitió la conservación del producto. El etiquetado de la crema se realizó bajo los parámetros establecidos en la norma NTE INEN 2867, como se puede observar en las figuras 3-3 la etiqueta del envase primario, mientras que en la figura 4-3, se observa el envase secundario:



**Figura 3-3:** a) Etiqueta anterior del envase primario, b) Etiqueta posterior, c) Etiqueta de la tapa.

**Realizado por:** Urgilés, Juana, 2022.



organolépticas del producto y su presentación, a continuación se presenta la tabulación de las mismas:

### 3.6.1. Tabulación de las encuestas

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

Nombre: \_\_\_\_\_

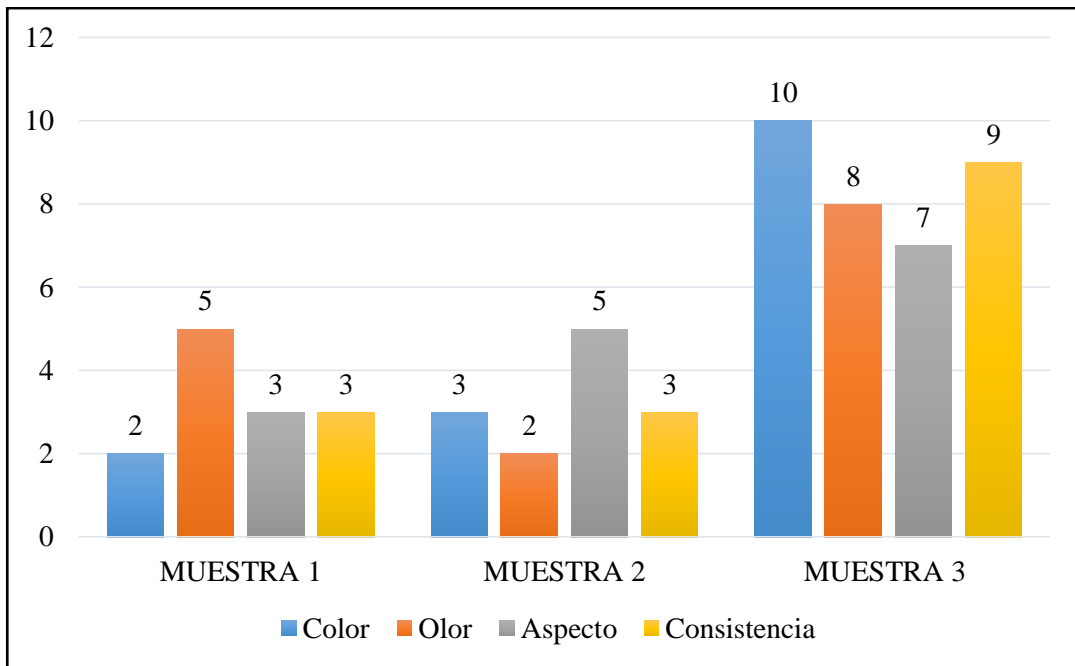
1.- Exprese el nivel de aceptación de acuerdo a las siguientes características, después de usar las muestras de la crema en barra según la escala de Likert:

- Insatisfecho: 1
- Neutral: 2
- Satisfecho: 3
- Muy Satisfecho: 4

**Tabla 17-3:** Parámetro de evaluación.

Parámetros	Muestra 1				Muestra 2				Muestra 3			
	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
Escala de Likert												
Color												
Olor												
Aspecto												
Consistencia												

Realizado por: Urgiles, Juana, 2022.



**Gráfico 1-3.** Nivel de aceptación de las muestras de crema.

Realizado por: Urgilés, Juana, 2022.

**Análisis:**

En la tabla 17-3, se evaluó las características organolépticas según la escala de Likert, en las muestras de crema, cuyos resultados se representan en el gráfico 1-3, por lo que se determinó que la muestra 3 presentó mayor aceptación, evidenciando una preferencia por el color blanco agradable a la vista, de aspecto homogéneo liso, que proporcionó suavidad a la piel, fragancia a romero y consistencia sólida.

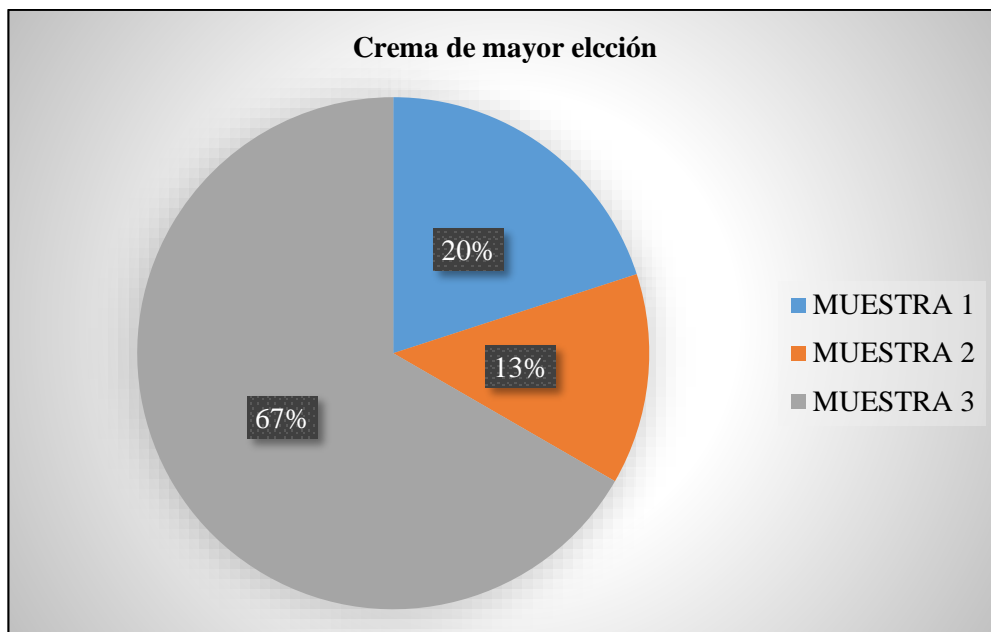
**2.- ¿Cuál de las tres muestras elegiría para su uso y por qué?**

**Tabla 18-3:** Muestras a elegir.

Muestra 1	
Muestra 2	
Muestra 3	

Realizado por: Urgilés, Juana, 2022.

Por qué: \_\_\_\_\_



**Gráfico 2-3.** Crema de mayor elección.

**Realizado por:** Urgilés, Juana, 2022.

**Análisis:**

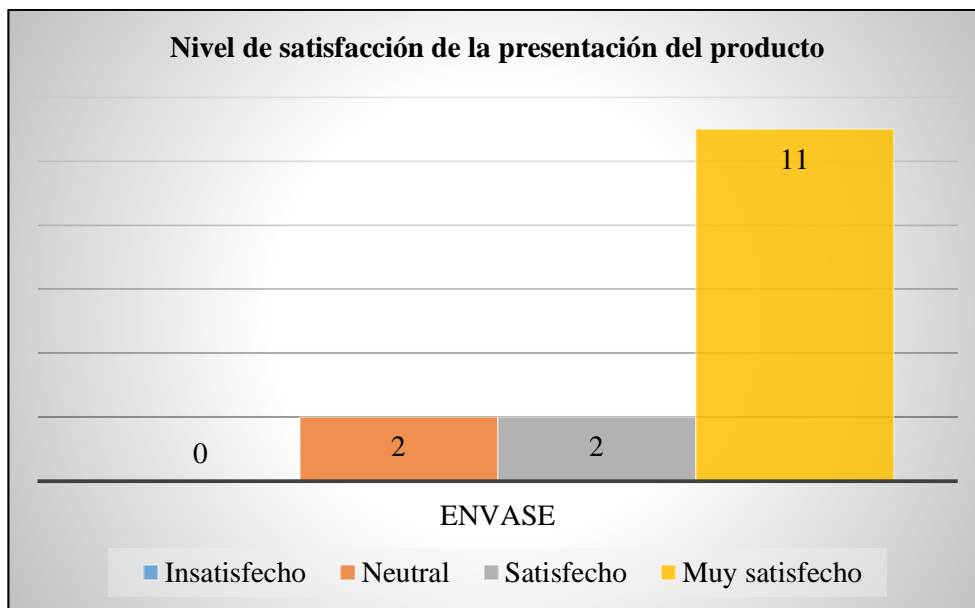
En la tabla 18-3 se presentó tres muestras de crema para su elección, de los cuales los resultados se representan en la gráfico 2-3, se determinó que el 67% eligió la crema número 3 para su uso, mientras que el 20% prefirió la número uno y el 13% la muestra 2, concordando con la pregunta número 1 de acuerdo con las características organolépticas que presentaron las diferentes formulaciones, la principal razón fue la suavidad y consistencia de la crema.

**3.- De acuerdo al envase y presentación del producto elija su nivel de satisfacción**

**Tabla 19-3:** Escala de Likert.

Escala de Likert	
Insatisfecho	
Neutral	
Satisfecho	
Muy Satisfecho	

**Realizado por:** Urgiles, Juana, 2022.



**Gráfico 3-3.** Nivel de satisfacción de la presentación del producto.

Realizado por: Urgilés, Juana, 2022.

**Análisis:**

En la tabla 19-3, se evaluó el nivel de satisfacción de la presentación del producto, los resultados se observan en la gráfico 3-3, el cual muestra que el 73% de las personas estuvieron muy satisfechas, el 20% satisfecho y el 20% neutral, por lo tanto, se concluyó que el envase, va de la mano con el uso de la crema y satisface las necesidades de gran parte de la población encuestada, posiblemente influya en la preferencia, el sistema *twist up* facilitando su uso.

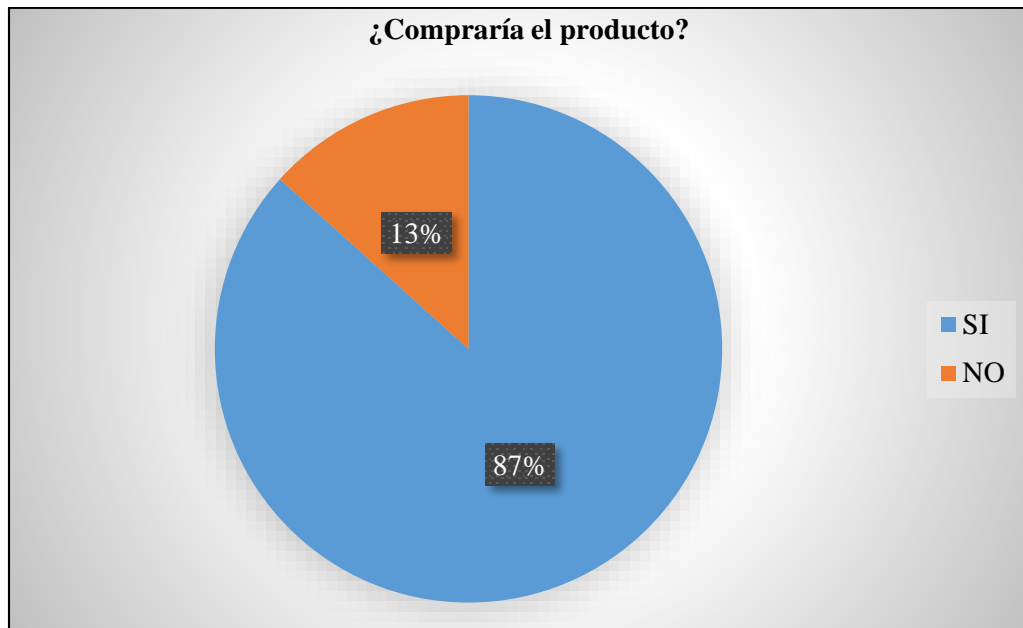
**4.- La crema en forma sólida es un producto innovador, elaborado con la menor cantidad de excipientes, que podrían llegar a causar daño al medio ambiente, por consiguiente ¿Compararía el producto por un valor de \$ 4,60?**

Si ( )

No ( )

Por que \_\_\_\_\_





**Gráfico 4-3.** Costo del producto.

Realizado por: Urgilés, Juana, 2022.

**Análisis:**

En el gráfico 4-3, se observan los resultados sobre el costo del producto, mediante el cual el 87% aseveró que adquiriría el producto por el costo propuesto, manifestaron que les pareció interesante e innovador y que les gustaría usar algo diferente, que tenga las mismas características de una crema habitual, además por las propiedades antibacterianas y humectantes para áreas específicas de la piel.

**5.- ¿Qué sugerencia puede hacer de acuerdo a las características observadas en el producto?**

Con respecto a las observaciones, algunos sugirieron que se podría mejorar el envase, manifestaron que debería ser un envase de material biodegradable, ya que al ser un producto con menor cantidad de compuestos sintéticos que causen alteración en la piel o daño a la flora y fauna, el envase también debería ir acorde. Sin embargo, inicialmente se probó con un envase biodegradable de cartón pero presentó inconvenientes.

La principal desventaja del envase de cartón fue que influyó en la estabilidad del producto en barra ya que no soportó temperaturas mayores a 37 °C, de estado sólido pasó a semisólido, así mismo al no presentar un sistema *twisp up*, la barra no se deslizó fácilmente hacia la superficie, a no ser que se aplique una fuerza mayor, lo que ocasionó la ruptura de la crema sólida, por lo tanto se optó por usar un envase que facilite su uso, reemplazando por uno de plástico.

## CONCLUSIONES

- Se realizó el control de calidad de las especies vegetales de *Myrcianthes hallii* y *Rosmarinus officinalis*, encontrándose todos los parámetros dentro de los valores especificados por la USP # 28, concluyéndose que se llevó a cabo un adecuado tratamiento de las especies, y garantizando de esta forma la calidad del producto final. Respecto al tamizaje fitoquímico se identificó la presencia de alcaloides, quinonas, flavonoides, azúcares, saponinas, mientras que en la cuantificación de fenoles y flavonoides, se determinó la presencia de 1 874,892 mg Eq GAE / 100 g de fenoles y 3 256,568 mg Eq Q / 100 g de flavonoides para el romero y para la planta de arrayán se obtuvo 4 972,254 mg Eq GAE / 100 g de fenoles y 1 283,546 mg Eq Q / 100 g de flavonoides, que son compuestos responsables de la actividad antibacteriana.
- Se obtuvo la formulación óptima con la combinación de los extractos hidroalcohólicos al 70% de *R. officinalis* y *M. hallii*, la formulación final presentó propiedades humectantes, ideales para la aplicación en las partes más reseca de la piel, siendo un producto innovador y libre de compuestos que puedan llegar a causar efectos adversos en la piel y medio ambiente.
- Se comparó la actividad antibacteriana de los extractos hidroalcohólico, concentrado y liofilizado frente a *S. aureus* presentando halos de inhibición de 20, 24 y 25 mm respectivamente, comparado frente a un control positivo de cefoxitina con un halo de 27 mm, mostrando gran potencial antibacteriano los 3 extractos, siendo más efectivo el liofilizado, sin embargo, se determinó que el extracto hidroalcohólico fue el óptimo para la formulación final, debido a las características organolépticas favorables para la crema en barra.
- La formulación final cumplió con las normas establecidas en el “Instructivo de especificación de parámetros organolépticos, fisicoquímicos y microbiológicos para los productos cosméticos de bajo riesgo establecidos por la ARCSA” y NTE INEN 2867, además de presentar estabilidad por su bajo contenido de agua, siendo la temperatura óptima de almacenamiento entre 13 - 30 °C, lo cual garantiza su uso.
- Los resultados de las encuestas aplicadas de las 3 formulaciones finales, demostró que la opción número tres tuvo el 87% de aceptabilidad, esto posiblemente se deba a las características organolépticas agradables percibidas por el usuario, como resultado de la mezcla de distintos excipientes con los principios activos, su compactibilidad con el envase y presentación del producto.

## RECOMENDACIONES

- Realizar estudios de la formulación para evaluar la efectividad antibacteriana de manera cuantitativa, para determinar la cantidad exacta a la que puede producir un efecto terapéutico.
- Se recomienda realizar estudios profundos sobre la efectividad antibacteriana frente al *S. aureus* de los extractos de *M. hallii* y *R. officinalis* para la aplicación en otro tipo de productos cosméticos como jabones, shampoos de uso fitoterapéutico.
- Se recomienda realizar ensayos *in vivo* sobre el potencial antibacteriano de los tres tipos de extractos hidroalcohólico, concentrado y liofilizado del *M. hallii* y *R. officinalis*.
- Profundizar el estudio de formulaciones cosméticas sólidas, con gran uso de productos químicos y su impacto en el medio ambiente.
- Para posterior manufactura de cosméticos a partir de *M. hallii* y *R. officinalis*, se debería obtener los principios activos para obtener mayor efectividad farmacológica.

## GLOSARIO

**Maceración:** proceso de extracción de metabolitos de interés, de una especie vegetal a través de un solvente, luego de reposar por un tiempo determinado (Carrión y García, 2010, p. 28).

**Extracto hidroalcohólico:** mezcla de una especie vegetal con un solvente por ejemplo el etanol a cierto grado alcohólico, mediante el proceso de maceración, permite la extracción de metabolitos de interés (Rebollo, 2016, p. 3).

**Extracto concentrado:** sustancia libre del etanol con mayor concentración de principios activos, parte del extracto hidroalcohólico luego de pasar a través del rotavapor (Rebollo, 2016, p. 3).

**Extracto liofilizado:** sustancia pura en forma de polvo o pasta, libre de solventes, con abundante concentración de principios activos, obtenida a presión atmosférica baja, mediante la deshidratación a través de un liofilizador para conservación o cuantificación de metabolitos (Neus, 2020, p. 1).

**Actividad antibacteriana:** es la capacidad de un compuesto para inhibir el crecimiento bacteriano o suprimir en su totalidad, se puede determinar cuantitativamente es decir a través de la concentración mínima inhibitoria, mediante pruebas *in vitro*, con el objetivo de comparar entre diferentes compuestos (Lagos, 2012, p. 18).

**Crema en barra:** forma farmacéutica de consistencia sólida, homogénea, destinada a hidratar en zonas específicas del cuerpo, que se caracteriza por su presentación compacta y fácil de transportar (Osto, 2020, p. 3).

**Crema humectante:** emulsión cuya función es atrapar o retener la humedad, forma una barrera protectora sobre la piel para que mantenga su humedad natural, ejemplo la piel seca no mantiene su nivel óptimo de humedad ya que no es capaz de producir suficientes aceites naturales y necesita un aporte de ello (Codina, 2001, p. 1).

**Crema hidratante:** emulsión cuya función es hidratar a la piel o aportar agua que necesita, por ejemplo una piel deshidratada necesita es hidratación ya que pierde agua de forma excesiva (Codina, 2001, p. 1).

**Tensioactivo:** es una sustancia activa, cuya función es disminuir la tensión superficial entre la fase hidrofílica y lipofílica o la dispersa y continua, se clasifican en iónicos, no iónicos y anfóteros (Morales, 2009, p. 25).

**O/W:** Agua es la fase de externa y el aceite es la fase interna, son emulsiones no grasas, que se usan en la piel para producir efecto refrescante y se pueden se eliminadas fácilmente de la piel (Lendínez, 2016, p. 112).

**W/O:** Aceite es la fase externa y agua es la fase interna, son emulsiones grasas que se usan en la piel para prevenir la evaporación de humedad, y no se pueden eliminar fácilmente con agua (Lendínez, 2016, p. 112).

**Dermatitis atópica:** también denominado eczema, es un trastorno cutáneo, patología compleja

de carácter inflamatorio que puede llegar a ser crónico, se deriva de varias causas como factores ambientales, genéticos, alteración de la barrera inmunitaria y epidérmica, ocasionando prurito (Gonzalez, 2019, p. 1).

**Punto de fusión:** temperatura a la cual una muestra pasa de un estado sólido a líquido, es decir cuando la sustancia empieza a subir a través de un capilar abierto por deslizamiento con una presión hidrostática, al calentarse en condiciones definidas, sirve como control de calidad de los cosméticos (NTE INEN-ISO 6321, 2013, p. 3).

**Musgo sinergista:** propiedad que mejora la calidad de la espuma producida en un cosmético, lo que conlleva a aumentar cualquiera de las siguientes propiedades como estabilidad, volumen y textura (INCI Beauty, 2020, p. 1).

## **BIBLIOGRAFÍA**

**ACOFARMA.** *Fichas de información técnica miristato de isopropilo de Acofarma.* 2013. [en línea], pp. 3. Disponible en: [http://www.acofarma.com/admin/uploads/descarga/4167-ab8da0f0e3915d95870268660f970c3b869987a5/main/files/Benzo\\_\\_lo\\_per\\_\\_xido.pdf](http://www.acofarma.com/admin/uploads/descarga/4167-ab8da0f0e3915d95870268660f970c3b869987a5/main/files/Benzo__lo_per__xido.pdf).

**AEMPS.** *Cosméticos microbiológicamente seguros,* 2021, pp. 1-10.

**AGENCIA NACIONAL DE REGULACIÓN CONTROL Y VIGILANCIA SANITARIA.** *Instructivo Externo.* 2017, [en línea], pp. 3-11. Disponible en: [https://www.controlsanitario.gob.ec/wp-content/uploads/downloads/2017/04/IE-C.2.1-PLA-01\\_V1\\_criterios\\_categorizacion\\_de\\_plaguicidas.pdf](https://www.controlsanitario.gob.ec/wp-content/uploads/downloads/2017/04/IE-C.2.1-PLA-01_V1_criterios_categorizacion_de_plaguicidas.pdf).

**ALMA, G.** *Cuidados: Tipos de piel, ego y salud,* 2015, pp. 84-86.

**ALONSO, I.** *Contraindicaciones de la valeriana.* 2017, [en línea], pp. 1-8. Disponible en: <https://www.webconsultas.com/belleza-y-bienestar/plantas-medicinales/contraindicaciones-de-la-valeriana-4740>.

**ÁLVAREZ, N, et al.** *Impacto ambiental de la industria petrolífera de Santiago de Cuba.* Caracterización Tecnología Química, vol. XXVII, no. 2, , 2007, pp. 83-91.

**AMAGUAÑA, F.** *Estandarización fitoquímica del extracto de Caléndula.* Vol. 1, 2018, pp. 141.

**ARCSA.** *Productos cosméticos de bajo riesgo,* 2017, [en línea], Disponible en: <https://www.controlsanitario.gob.ec/wp-content/uploads/downloads/2017/03/Instructivo-Externo-especificaciones-físico-químicas-organolépticas-y-microbiológicas-cosméticos-de-bajo-riesgo.pdf>.

**ARCSA.** *Control de productos sanitarios.* 2017, pp. 22-24: Disponible en: <https://www.controlsanitario.gob.ec>.

**ARDILA Q, et al.** *Ensayo preliminar de la actividad antibacteriana de extractos de Allium sativum, Coriandrum sativum, Eugenia Caryophyllata, Origanum vulgare, Rosmarinus officinalis Y Thymus vulgaris frente a Clostridium perfringens.* Biosalud, vol. 8, no. 1, 2009, pp. 47-57.

**ARÉVALO, V. y BRAVO, C.** *Extractos de plantas*. Universidad politécnica salesiana unidad de posgrados maestría en ciencias y tecnologías cosméticas, 2018.

**ÁVILA, R.** *Romero (Rosmarinus officinalis L.)*. Ceska a Slovenska Psychiatrie, vol. 106, no. 1, 2014, pp. 22-29.

**AYALA, C. y MÉNDEZ, M.** *Recopilación de las formas de aplicación de los cosméticos faciales, capilares y sus controles de calidad*, 2005.

**AZIMOVA, S. y GLUSHENKOVA, A.** *Rosmarinus officinalis, lipids, lipophilic components and essential oils from plant sources*, 2012, pp. 472-472.

**BERNAL, M. y GUZMÁN, M.** *El Antibiograma de discos*. Normalización de la técnica de Kirby-bauer. Biomédica, vol. 4, no. 3-4, 2014, pp. 112.

**BLUE, V, et al.** *Identificación del producto y la compañía*. [en línea], no. 3, 2009, pp. 1-12. Disponible en: [https://duwest.com/latam/user\\_files/uploads/images/LANNATE\\_90\\_SP3.pdf](https://duwest.com/latam/user_files/uploads/images/LANNATE_90_SP3.pdf).

**BUENDÍA, A, et al.** *Manual de dermatología*. Journal of the American Medical Association, vol. 135, no. 4, 2018, pp. 258.

**BURGOS, L, et al.** *Formulación de una crema facial antiarrugas y cicatrizante a base de manzanilla, té verde y ácido hialurónico*. Journal of Chemical Information and Modeling, vol. 53, no. 9, 2020, pp. 1689-1699.

**CÁCERES, M.** *Determinación de la calidad microbiológica de cosméticos capilares elaborados a base de compuestos naturales comercializados*, 2018, pp. 70.

**CALERO, G.** *Estudio de estabilidad de productos y homologación de materias primas en una empresa cosmética*, 2019.

**CALLE, E.** *Calidad microbiológica de alimentos elaborados a base de maíz y harina de trigo en la fábrica delicias mexicanas delmex's de la ciudad de Cuenca*, 2016, [en línea]. Disponible en: <http://dspace.ucuenca.edu.ec/bitstream/123456789/26202/1/Tesis.pdf>.

**CAMPAÑA, M.** *Cosmetología en Universidad Politécnica Salesiana Sede Quito*. [en línea],

2016, pp. 1-100. Disponible en: <http://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/5081/1/UPS-CYT00109.pdf>.

**CARO, A. y ESPARZA, I.** *Parabenes¿Alarma O Realidad?*, 2015, pp. 20-22.

**CARRIÓN, A. y GARCÍA, C.** *Preparación de extractos vegetales: determinación de eficiencia de metódica. [en línea]*, 2010, pp. 27-31. Disponible en: <http://dspace.ucuenca.edu.ec/bitstream/123456789/2483/1/tq1005.pdf>.

**CARVAJAL, P, et al.** *Chemical characterization and in vitro antibacterial activity of myrcianthes hallii (O. Berg) mcVaugh (Myrtaceae), a traditional plant growing in Ecuador*, vol. 9, no. 6, 2016.

**CERRA, H,** *Manual de microbiología aplicada a las industrias farmacéutica, cosmética y de productos médicos*, 2015.

**COBOS, D.** *Elaboración de una crema nutritiva facial a base de la pulpa de Chirimoya*, vol. 3, no. 7, 2015, pp. 59-78.

**CODINA, A.** *Hidratación cutánea y sustancias hidratantes - Dialnet*. Dermofarmacia [en línea], vol. 20, 2001, pp. 93-96. Disponible en: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=5325723>.

**CURIER, H.** *Emulsionen*. Pharmazeutische Technologie, 1953, pp. 64-89.

**DE LA LUZ, et al.** *Quality control of vegetable drugs: washing and disinfection of artemisia annua l. and tagetes lucida cav.* Revista Cubana de Plantas Medicinales, vol. 17, no. 1, 2012, pp. 101-107.

**EDITION, F.** *Norma técnica ecuatoriana nte inen-iso 6321*, vol. 2002, 2013.

**ELEONORA, M, et al.** *Metales pesados (Cd, Cr y Hg): su impacto en el ambiente y posibles estrategias biotecnológicas para su remediación Heavy metals (Cd, Cr and Hg): impact on environment and possible biotechnological strategies for remediation Alida Marcela Gómez Rodriguez*. No. 2, 2015, pp. 82-113.



**ENCABO, B, et al.** *Actualización en la dermatitis de contacto alérgica por parafenilendiamina*, *Actas Dermo-Sifiliográficas*, vol. 109, no. 7, 2018, pp. 602-609.

**ESTRADA, S.** *Determinación de la actividad antibacteriana in vitro de los extractos de romero (Rosmarinus officinalis) y Tomillo (Thymus vulgaris)*. Tesis de Grado, 2010, pp. 87.

**ETAN, T.** *Contro de cosméticos*, 2014, pp. 1-8.

**ETO, O.** *Norma Técnica conservas vegetales determinacion del extrato seco (solidos totales) INEN 382*. Primera Revisión, 1985.

**FARMACOPEA MERCOSUR.** *Mercosul/Gmc/Res. N° 12/15 Farmacopea Mercosur: Rango o temperatura de fusión*, pp. 1-17.

**FITTEMA, P.** *Disolventes. Proyecto Fittema- Antena de transferencia de tecnologia* [en línea], 2012, pp. 1-37. Disponible en: <http://istas.net/descargas/Doc de FITTEMA - DISOLVENTES.pdf>.

**GARCÍA E, et al.** *Determinación de polifenoles totales por el método de Folin- Ciocalteu. Etsiamn*, 2015, pp. 9-11.

**GMBH, S.** *La AEMPS informa de la retirada del mercado de un producto cosmético*. 2020, pp. 2-3.

**GÓMEZ, C.** *Evaluación de la actividad antimicrobiana y antimicótica de los extractos de Myrciantes hallii (arrayán), Amaranthus asplundii (ataco), Peperomia peltigera (pataku yuyo), especies reportadas en peguche – Imbabura, sobre Streptococcus mutans, Klebsiella pn.* *Repositorio Espe*, 2016, pp. 167.

**GONZÁLEZ J.** *Densidad relativa specific gravity, para instrumentistas y lingüistas*. [en línea], no. 1, 2007, p. 1. Disponible en: <http://www.tiemporeal.es/archivos/densidadrelativa.pdf>.

**GONZALEZ, P.** *Dermatitis atópica (Eccema)*, 2019, pp. 1-5.

**GRACIA, M.,** *Cuantificación de fenoles y flavonoides totales en extractos naturales.* *Universidad Autonoma de Querétaro*, 2016, pp. 1-4.

**GUERRERO, N.** *Estudio de estabilidad en Universidad Politécnica Salesiana Sede Quito.* [en línea], 2014, pp. 1-118. Disponible en: <http://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/5081/1/UPS-CYT00109.pdf>.

**GUFFANTE, I.** *Screening de Actividad Antioxidante y Citotóxica en Artemia salina de: Arcythophillum thymifolium, Salvia squalens, Justicia chlorostachya, Mycianthes rhopaloides, Dalea mutisii,* vol. Bachelor, 2013, pp. 128-129.

**INEN.** *Norma técnica ecuatoriana nte inen 184.* [en línea], vol. 1184, no. 2, 2013, 2013, pp. 1-9. Disponible en: [http://www.acuaculturaypesca.gob.ec/wp-content/uploads/2018/09/nte\\_inen\\_184-2013-atun-y-bonito-en\\_conseerva.requisitos.pdf](http://www.acuaculturaypesca.gob.ec/wp-content/uploads/2018/09/nte_inen_184-2013-atun-y-bonito-en_conseerva.requisitos.pdf).

**INSTITUTO DE DERMOCOSMÉTICA.** *Cómo se ajusta el PH de los cosméticos naturales.* [en línea], 2020, pp. 1-27. Disponible en: <https://www.institutodermocosmetica.com/como-se-ajusta-el-ph-de-los-cosmeticos-naturales/>.

**INSTITUTO ECUATORIANO DE NORMALIZACIÓN.** *INEN 401 de Determinación de cenizas en conservas vegetales.* Vol. 13, 1985, pp. 15-38.

**IZA, M.** *Evaluacion de estabilidad de fármacos de la Universidad Politécnica Salesiana Sede Quito. Tesis* [en línea], vol. 1, 2018, pp. 141-143. Disponible en: <http://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/5081/1/UPS-CYT00109.pdf>.

**JARAMILLO, K.** *Evaluación de medios de cultivo para la micropropagación de arrayán (Myrcianthes Hallii) (O. Berg) Mc Vaugh.* Quito, Pichincha. Universidad Central Del Ecuador, 2015, pp. 4-6.

**JIMÉNEZ, D.** *Análisis del comportamiento de los antioxidantes BHT, BHA y vitamina E, por medio del estudio fisicoquímico y sensorial de un aroma de limón en polvo en la empresa SYMRISE LTDA.* 2010.

**LAGOS, R.** *Determinación de la actividad antibacteriana in vitro del aceite esencial Thymus Vulgaris "Tomillo" frente a Porphyromonas gingivalis ATCC 33277 causante de gingivitis.* Univerisidad Nacionan Jorge Basadre Grohmann - Tacna [en línea], 2012, pp. 114. Disponible en: [http://www.tesis.unjbg.edu.pe/bitstream/handle/UNJBG/2304/38\\_2012\\_lagos\\_la\\_rosa\\_er\\_fa cs\\_farmacia\\_y\\_bioquimica.pdf?sequence=1&isAllowed=y](http://www.tesis.unjbg.edu.pe/bitstream/handle/UNJBG/2304/38_2012_lagos_la_rosa_er_fa cs_farmacia_y_bioquimica.pdf?sequence=1&isAllowed=y).

**LATORRE, et al.** *Dermatitis de contacto alérgica por formaldehído y liberadores de formaldehído*. Actas Dermo-Sifiliográficas, vol. 102, no. 2, 2011, pp. 86-97.

**LAVASELLI, S. y RASIA, R.** *Reología y estabilidad de excipientes para productos dermatológicos, elaborados con concentraciones variables del mismo emulgente*. Acta Farmaceutica Bonaerense, vol. 23, no. 1, 2004, pp. 59-66.

**LAX, V.** *Estudio de la variabilidad química de Rosmarinus officinalis*, 2015.

**LEE, C. y MAIBACH, H.** *Sodium lauryl sulfate. Irritant Dermatitis*, 2006, pp. 257-267.

**LENDÍNEZ, C.** *Estudio de emulsiones altamente concentradas de tipo W/O: relación entre tamaño de gota y propiedades*. TDX (Tesis Doctorals en Xarxa) [en línea], 2016, pp. 257. Disponible en: <http://www.tdx.cat/handle/10803/301276>.

**LTLEVANTE,** *Control de la calidad de cosméticos*. Guía del Exportador de Café, 2015, pp. 239-260.

**LUI, D.** 2016. *Emulsiones of Pharmazeutische Technologie*. pp. 64-89.

**MALBRÁN, C.** *Manual of antimicrobial susceptibility testing*, vol. 32, no. 2, 2012, pp. 53-62.

**MANCILLA, M.** *Cosmetología y patologías de la piel*. 2017.

**MÁRQUEZ, M.** *Cenizas Y Grasas*. Universidad Nacional de Sn Agustín, 2014, pp. 3-45.

**MERINO, J. y NORIEGA, M.** *La piel: Estructura y Funciones*. Open Course Ware, Universidad de Cantabria, 2015, pp. 1-7.

**MIRALLAS, E.** *Evaluación de la actividad antioxidante y antiinflamatoria in vitro de extractos hidroalcohólicos de hojas de Myrcianthes hallii*, 2018, pp. 85-88.

**MODAK, B, et al.** *Actividad antibacteriana de flavonoides aislados del exudado resinoso de Heliotropium sinuatum: Efecto del tipo de estructura*. Boletín de la Sociedad Chilena de Química, vol. 47, no. 1, 2002, pp. 19-23.

**MOLINS, D.** *Productos de cuidado personal y medioambiente: presencia, destino y efectos*.

[en línea], 2017, pp. 1-184. Disponible en: <https://upcommons.upc.edu/handle/2117/115992>.

**MONARDEZ, S.** *Uso de extractos vegetales acuosos como estrategia alternativa para el control poscosecha de monilinia fruticola, agente responsable de la podredumbre morena de los frutales de carozo*, 2015, pp. 52-55.

**MORALES L, et al.** *Estudio del proceso de transferencia de calor convectivo en nanofluidos*. [en línea], 2009, pp. 77. Disponible en: <http://manglar.uninorte.edu.co/handle/10584/113>.

**MULT, D.** *Cetearyl Alcohol*. Common Contact Allergens, 2020, pp. 317-320.

**MUÑOZ, O, et al.** *Nuevo acercamiento a la interacción del reactivo de folin-ciocalteu con azúcares durante la cuantificación de polifenoles totales*. [en línea], vol. 20, no. 2, 2017, pp. 23-28.

**NED, R.** *Relación entre índice de refracción y sólidos totales en extractos acuosos de Calendula officinalis L. (caléndula) y Ocimum sanctum L. (albahaca morada)*. Revista Cubana de Plantas Medicinales [en línea], vol. 14, no. 3, 2009, pp. 23-28. Disponible en: <http://scielo.sld.cu>.

**NEUS E.** *¿Son saludables los liofilizados?*, 2020, pp. Disponible en: <https://soycomocomo.es/abc/son-saludables-los-alim>.

**NTE INEN 857.** *Áridos. Determinación de la Densidad Relativa (Gravedad Específica) y Absorción del Arido Grueso en INEN 857*. [en línea], vol. 1, no. Primera Edición, 2010, pp. 1-14. Disponible en: <http://apps.normalizacion.gob.ec>.

**OSTO, A.** *Cremas en barra: la tendencia más práctica para lucir una piel hidratada La cremas hidratantes líquidas no son la única manera de consentir*, 2015, pp. 1-7.

**PAPA, A y SOLANUM, C.** *Precipitación y rendimiento de almidón de papa*. 2012.

**PÉREZ, I. y AGUILEMA, I.** *Evaluación mediante espectrofotometría UV-VIS derivativa de la degradación del 2-clorofenol*. Revista Cubana de Química, vol. XXV, no. 3, 2014, pp. 318-327.

**PICAZO, J.** *Serotypes and antibiotic susceptibility patterns of Salmonella spp. Isolates from*

*spur-thighed tortoise, Testudo graeca illegally introduced in Italy*. Human and Veterinary Medicine, vol. 4, no. 2, 2015, pp. 76-81.

**POVEDA, M.** *Formulación de un protector solar en la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo*, 2019.

**PURCA, T.** *Efectividad antibacteriana "in vitro" del extracto etanólico de Rosmarinus officinalis (romero) sobre flora salival*. 2013, pp. 97-99.

**RAM, E, et al.** *Determinación de la actividad biológica in vitro del romero (Rosmarinus Officinales) y la Chaya (Jatropha ureas)*, 2007, pp. 1-2.

**REBOLLO M.** *Sanidad*. Revista Andaluza de Administración Pública, vol. 14, no. 94, 2016, pp. 13-56.

**RENATO, I, et al.** *Análisis microbiológico de cosméticos*. 2017, pp. 93-96.

**RODRÍGUEZ, P. y MORAN, M.** *Calidad de la tintura*. Revista Cubana de Química, vol. 20, no. 1, 2008, pp. 19-23.

**ROTH, L.** *Información de seguridad voluntaria apoyándose en el formato de ficha de datos de seguridad conforme al Reglamento (CE) nº 1907 / 2006 (REACH) SECCIÓN 1: Identificación de la sustancia o la mezcla y de la sociedad o la empresa*, vol. 2006, no. 1272, 2019, pp. 1-11.

**SAAVEDRA, J, et al.** *Infecciones bacterianas de la piel y tejidos blandos, Protocolos diagnóstico-terapéuticos de la AEP: Infectología pediátrica*, vol. 5, 2015, pp. 17.

**SALAS, L, et al.** *Cita sugerida (APA, sexta edición)*. Universidad y Sociedad, vol. 10, no. 3, 2018, pp. 134-141.

**SALINAS, Y, et al.** *Color en cálices de Jamaica (Hibiscus sabdariffa l.) y su relación con características fisicoquímicas de sus extractos acuosos*. Revista Chapingo, Serie Horticultura, vol. 18, no. 3, 2012, pp. 395-407.

**SANCHEZ, J.E. y PARDO, C.A.,** *Purificación de monoésteres del glicerol por extracción en fase líquida*, 2012, pp. 3-6.

**SANTIZO M.** *Identificación de familias de metabolitos secundarios en Myrica cerifera*, 2004, pp. 1-134.

**SORIA D.** *Rendimiento de extractos vegetales en la Universidad Politécnica Salesiana Sede Quito*. Tesis [en línea], 2017, pp. 1-100. Disponible en: <http://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/5081/1/UPS-CYT00109.pdf>.

**SOTO, M. y ROSALES, M.** *Efecto del solvente y de la relación masa/solvente, sobre la extracción de compuestos fenólicos y la capacidad antioxidante de extractos de corteza de Pinus durangensis y Quercus sideroxyla*. *Ciencia y tecnología*, vol. 18, no. ahead, 2016, pp. 10-18.

**SPADA, F, et al.** *Skin hydration is significantly increased by a cream formulated to mimic the skin's own natural moisturizing systems*. *Clinical, Cosmetic and Investigational Dermatology*, vol. 11, 2018., pp. 491-497.

**SUÁREZ, I.** *Actividad antimicrobiana in vitro del extracto etanólico de Rosmarinus officinalis (romero) sobre cultivos de bacterias anaerobias frecuentes en pacientes con bolsa periodontal* Isabel de María San Román Suárez. Repositorio de Tesis - UNMSM [en línea], 2013, pp. 1-85. Disponible en: <http://cybertesis.unmsm.edu.pe/handle/cybertesis/3093>.

**SOCIEDAD, D.E.L.A.** *Ficha de datos de seguridad vaselina líquida 1. identificación de la sustancia y de la sociedad: identificador del producto*, 2012.

**TELLO, M.** *“Formulación de una crema hidratante elaborada con ingredientes orgánicos a base de Sábila”*. Repositorio institucional [en línea], 2013, pp. 1-154. Disponible en: <http://repositorio.uisek.edu.ec/handle/123456789/709>.

**TOBERGTE, D. y CURTIS, S.** *Farmacopea de los Estados Unidos de América*, 2013.

**UNAM**, *Cosméticos en la mira: los parabenos y el cáncer*. *Materiales Avanzados*, vol. 8, 2017, pp. 1-51.

**UNIVERSIDAD DE ZARAGOZA.** *Determinación de la humedad en alimentos. Planta Piloto de Ciencia y Tecnología de los Alimentos* [en línea], 2014, pp. 1-7. Disponible en: [https://ppcta.unizar.es/sites/ppcta.unizar.es/files/users/archivos/videos\\_y\\_otros/documentos/practicas\\_analisis/practica\\_1\\_humedad.pdf](https://ppcta.unizar.es/sites/ppcta.unizar.es/files/users/archivos/videos_y_otros/documentos/practicas_analisis/practica_1_humedad.pdf).

**VARON, E.** *Elaboración, caracterización y evaluación de mercado de crema hidratante artesanal a base de ulluco (Ullucus tuberosus)*, vol. 53, no. 9, 2019, pp. 1689-1699.

**VILLACÍS, C.** *Tema: Elaboración y comprobación de la eficacia in vivo de crema humectante con extracto de tomate*, Maestría en Ciencias y Tecnologías Cosméticas Tesis previa a la obtención del Título de magíster en ciencias y tecnologías cosméticas, 2014, p 1.

**VILLACRÉS, G.** *Evaluación de la actividad insecticida del extracto acuoso de Molle (Schinus molle L.) frente al gusano blanco de la papa*. Universidad técnica de Ambato, vol. 53, no. 9, 2019, pp. 1689-1699.

**ZULUAGA, N. y HERNANDEZ, T.** *Perfil técnico ambiental para cosméticos*, 2016, pp. 8-10.

LEONARDO MEDINA  
13-05-2022



## ANEXOS

### ANEXO A. ENCUESTA APLICADA

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

**Nombre:** \_\_\_\_\_

**1.- Exprese el nivel de satisfacción de acuerdo a las siguientes características, después de usar las muestras de la crema en barra según la escala de Likert:**

- Insatisfecho: 1
- Neutral: 2
- Satisfecho: 3
- Muy Satisfecho: 4

Parámetros	Muestra 1				Muestra 2				Muestra 3			
	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
Escala de Likert												
Color												
Olor												
Aspecto												
Consistencia												

**2.- ¿Cuál de las tres muestras elegiría para su uso y por qué?**

<b>Muestra 1</b>	
<b>Muestra 2</b>	
<b>Muestra 3</b>	

Por qué: \_\_\_\_\_

**3.- De acuerdo al envase y presentación del producto elija su nivel de satisfacción**

<b>Escala de Likert</b>	
Insatisfecho	
Neutral	
Satisfecho	
Muy Satisfecho	



**4.- La crema en forma sólida es un producto innovador, elaborado con la menor cantidad de excipientes, que podrían llegar a causar daño al medio ambiente, por consiguiente ¿Compararía el producto por un valor de \$ 3?**

Si ( )

No ( )

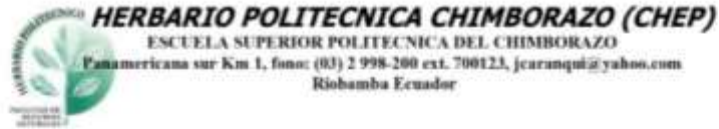
Por que \_\_\_\_\_

**5.- Que sugerencia puede hacer de acuerdo a las características observadas en el producto:**

---

---

## ANEXO B. IDENTIFICACIÓN DE LAS ESPECIES VEGETALES



Ofc.No.021.CHEP.2021

13 de julio del 2021

A QUIEN CORRESPONDA:

Reciba un atento y cordial saludo, por medio de la presente certifico que la señorita Urgilés Guamán Juana Maricela con CI: 0605079466, tesista de la carrera Bioquímica y Farmacia, se identificó especímenes infértiles: *Myrcianthes halli* (O.Berg) Mcvaugh., pertenece a la Familia Myrtaceae [cultivada/nativa]; *Rosmarinus officinalis* L (Lamiaceae) [introducidas/cultivada], esta información se revisó en el herbario y registros, se archivará en el lapso de un año para los fines pertinentes. Es todo cuanto puedo decir en honor a la verdad y la interesada puedo usar el presente certificado como crea conveniente.

Atte.

JORGE  
MARCELO  
CARANQUI  
ALDAZ

Firmado digitalmente  
por JORGE MARCELO  
CARANQUI ALDAZ  
Fecha: 2021.07.13  
09:01:02 -05'00'

Ing. Jorge Caranqui Msc.  
BOTANICO  
HERBARIO ESPOCH

HERBARIO POLITECNICO  
FACULTAD DE  
RECURSOS  
NATURALES

## ANEXO C. ACONDICIONAMIENTO DEL ROMERO Y ARRAYÁN



Arrayán



Romero



Secado



Molienda



Control de calidad de las especies vegetales

## ANEXO D. PREPARACIÓN DE LOS EXTRACTOS



Maceración



Sonicado



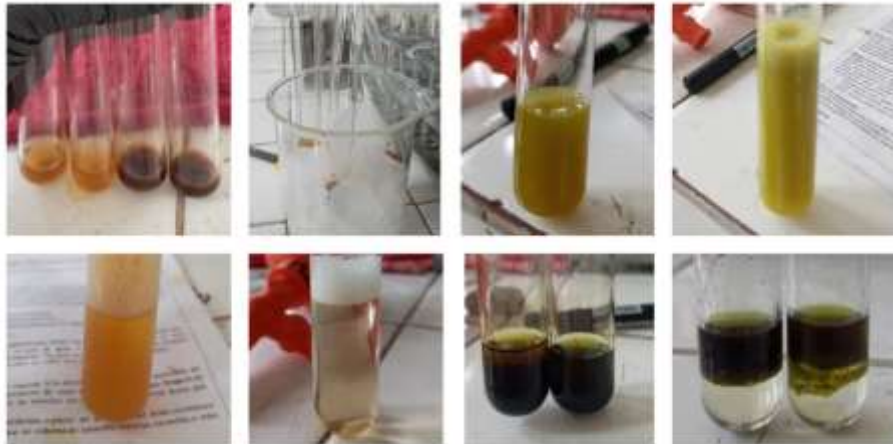
Filtración



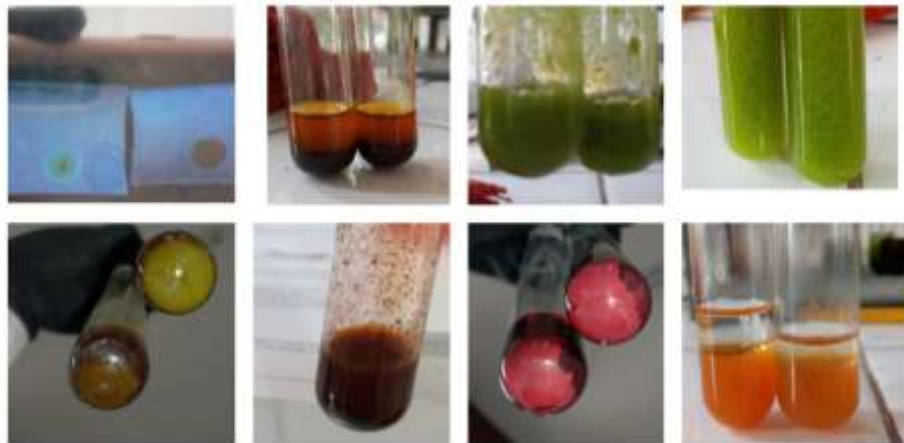
Control de calidad de los extractos



## ANEXO E. ANÁLISIS CUALITATIVO DE LAS ESPECIES VEGETALES



Extracto etéreo y acuoso



Extracto alcohólico



Extracto hidroalcohólico



## ANEXO F. ANÁLISIS CUANTITATIVO DE LOS EXTRACTOS



Concentración de los extractos



Liofilizado



Cuantificación de fenoles



Cuantificación de flavonoides

## ANEXO G. PROCESO DE FORMULACIÓN DEL PRODUCTO



Excipientes




Formulación



Control de calidad de la formulación

## ANEXO H. PARÁMETROS COMPLEMENTARIOS

	
<p>Evaluación microbiológica de las formulaciones</p>	<p>Estabilidad a distintas temperaturas</p>
	
<p>Actividad antibacteriana de la crema y de los extractos</p>	<p>Evaluación de la aceptabilidad</p>
	
<p>Etiqueta producto orgánico</p>	<p>Etiqueta producto químico</p>



## ANEXO I. CERTIFICADO DE CUMPLIMIENTO DE NORMATIVA



esPOCH

Dirección de Bibliotecas y  
Recursos del Aprendizaje

### UNIDAD DE PROCESOS TÉCNICOS Y ANÁLISIS BIBLIOGRÁFICO Y DOCUMENTAL

### REVISIÓN DE NORMAS TÉCNICAS, RESUMEN Y BIBLIOGRAFÍA

Fecha de entrega: 10 / 05 / 2022

<b>INFORMACIÓN DEL AUTOR/A (S)</b>
<b>Nombres – Apellidos:</b> <i>Juana Maricela Urgilés Guamán</i>
<b>INFORMACIÓN INSTITUCIONAL</b>
<b>Facultad:</b> <i>Ciencias</i>
<b>Carrera:</b> <i>Bioquímica y Farmacia</i>
<b>Título a optar:</b> <i>Bioquímica Farmacéutica</i>
<b>f. Analista de Biblioteca responsable:</b> <i>Ing. Leonardo Medina Ñuste MSc.</i>



13-05-2022

0767-DBRA-UTP-2022