



ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO

FACULTAD DE CIENCIAS

CARRERA DE INGENIERÍA QUÍMICA

“DISEÑO DE UN PROCESO PARA LA OBTENCIÓN DE UNA CREMA ANTIBIÓTICA A PARTIR DEL EXTRACTO DE LAS HOJAS DE CHURIYUYO (*Kalanchoe pinnata*)”

Trabajo de Titulación

Tipo: Proyecto Técnico

Presentado para optar el grado académico de:

INGENIERO QUÍMICO

AUTOR: JONATHAN EDUARDO LEGUISAMO COSTALES

DIRECTOR/A: ING. CRISTINA GABRIELA CALDERÓN TAPIA

Riobamba – Ecuador

2019

©2019, Jonathan Eduardo Leguisamo Costales

Yo, Jonathan Eduardo Leguisamo Costales se autoriza la reproducción total o parcial, con fines académicos siempre y cuando se reconozca el Derecho de Autor.

Yo, Jonathan Eduardo Leguisamo Costales, declaro que el presente Trabajo de Titulación es de mi autoría y que los resultados del mismo son auténticos. Los textos en el documento que provienen de otras fuentes están debidamente citados y referenciados.

Como autor asumo la responsabilidad legal y académica de los contenidos de este trabajo de titulación; El patrimonio intelectual pertenece a la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo-

Riobamba, 16 de noviembre de 2019

Jonathan Eduardo Leguisamo Costales
150089611-1

ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO
FACULTAD DE CIENCIAS
CARRERA DE INGENIERÍA QUÍMICA

El Tribunal del trabajo de titulación certifica que: que le presente trabajo de Titulación “DISEÑO DE UN PROCESO PARA LA OBTENCIÓN DE UNA CREMA ANTIBIOTICA A PARTIR DEL EXTRACTO DE LAS HOJAS DE CHURIYUYO (*Kalanchoe pinnata*)” tipo de trabajo de titulación: proyectos técnicos, de responsabilidad de: ha sido minuciosamente revisado por los Miembros del Tribunal de titulación, quedando autorizada así su presentación.

FIRMA

FECHA

Dr. Bolívar Edmundo Flores Humanante

.....

.....

PRESIDENTE DE TRIBUNAL

Ing. Cristina Gabriela Calderón Tapia

.....

.....

**DIRECTORA DEL TRABAJO
DE TITULACIÓN**

Ing. Rosa Elena Pinos Neira

.....

.....

**MIEMBRO DEL TRIBUNAL
DEL TRABAJO DE TITULACIÓN**

DEDICATORIA

Dedico esta tesis en primer lugar a todas las personas que me apoyaron en el transcurso de este viaje, de este ciclo que acaba, pero empieza uno mayor con mejores metas y sueños por cumplir. A mi padre Bolívar Leguisamo, quien con su ejemplo de perseverancia y disciplina me ayudó a culminar uno de mis más grandes sueños. A mi madre Rosa Costales, quien me ha apoyado e inculcado valores los cuales hacen posible esta meta, guiándome y aconsejándome para ser una gran persona y un profesional de bien. A mis dos hermanas que me ayudaron con su apoyo incondicional y amor, las cuales siempre confiaron que podría lograrlo las amo con todo el corazón.

Jonathan

AGRADECIMIENTO

Quiero agradecer en primer lugar a la ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO por abrirme las puertas de su honorable institución y poder llegar a culminar mis estudios y ser un gran profesional.

A mis padres, quienes fueron un pilar fundamental en este logro, por apoyarme y estar siempre junto a mí.

A la Ingeniera Cristina Calderón, directora del Trabajo de Titulación quien siempre estuvo apoyándome con sus conocimientos y su paciencia para poder culminar este proyecto y ser un profesional.

A todos los docentes que formaron parte de mi formación académica que supieron brindarme su consejo y su conocimiento.

A todos mis amigos y amigas, les agradezco por unos años maravillosos de grandes sueños que ahora se ven culminados, gracias por su amistad, consejo y apoyo en momentos difíciles siempre serán parte de mi vida.

Jonathan

TABLA DE CONTENIDO

RESUMEN.....	xiv
SUMMARY	xv
CAPITULO I.....	1
1. DIAGNÓSTICO Y DEFINICIÓN DEL PROBLEMA	1
1.1 Identificación del Problema	1
1.2 Justificación del proyecto	2
1.3 Línea base del proyecto	3
1.3.1 <i>Marco Teórico</i>	3
1.3.2 <i>Fundamento botánico y taxonómico de las hojas Kalanchoe pinnata</i>	8
1.3.3 <i>Crema Antibiótica</i>	14
1.3.4 <i>Análisis microbiológico</i>	19
1.4 Beneficiarios Directos e Indirectos	20
1.4.1 <i>Los beneficiarios Directos</i>	20
1.4.2 <i>Los beneficiarios Indirectos</i>	20
CAPITULO II	21
2. OBJETIVOS	21
2.1 Objetivo General	21
2.2 Objetivos Específicos.....	21
CAPITULO III.....	22
3. MARCO METODOLÓGICO.....	22
3.1 Localización del Proyecto.....	22
3.2 Ingeniería del Proyecto	23
3.2.1 <i>Obtención a escala de laboratorio del extracto de las hojas de churiyuyo (Kalanchoe pinnata).</i>	23
3.2.2 <i>Tipo de trabajo</i>	23
3.2.3 <i>Nivel de investigación para el trabajo técnico</i>	24
3.2.4 <i>El proyecto se dividió en 5 etapas.</i>	25
3.2.4.5 <i>Etapas 5. Control microbiológico</i>	35
CAPITULO IV.....	36
4. RESULTADOS.....	36
4.1 <i>Etapas 1. Extracción de las hojas frescas de Kalanchoe Pinnata</i>	36

4.2	<i>Etapa 2. Tamizaje fitoquímico</i>	36
4.3	<i>Etapa 3. Antibiograma</i>	37
4.4	<i>Etapa 4. Control de calidad</i>	37
4.5	<i>Etapa 5. Control microbiológico.</i>	39
4.6	<i>Proceso de producción</i>	40
4.7	Análisis del costo/beneficio del proyecto.....	68
4.8	Análisis de costos de equipos e instrumentos de laboratorio.....	69
4.9	Análisis de costos de producción	71
4.10	Inflación	72
4.10.1	<i>Egresos</i>	72
4.10.1.1	<i>Abono a capital</i>	73
4.10.1.2	<i>Salario</i>	73
4.10.1.3	<i>Salario total a pagar.</i>	75
4.10.1.4	<i>Egreso total</i>	75
4.10.1.5	<i>Ingresos totales</i>	76
4.10.1.6	<i>Análisis del B/C, VAN y TIR</i>	77
	ANÁLISIS DE RESULTADOS	79
	CONCLUSIONES	81
	BIBLIOGRAFÍA	83
	ANEXOS	

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1-1: Aplicaciones de algunos Alcaloides	6
Tabla 1-2: Taxonomía planta Kalanchoe pinnata	10
Tabla 1-3: Variables del proceso	17
Tabla 1-4: Condiciones físico químicas.....	18
Tabla 1-5: Requisitos microbiológicos de los productos cosméticos	18
Tabla 3-1: Localización del proyecto técnico.....	22
Tabla 3-2: Actividad antimicrobiana de varios extractos de hojas de kalanchoe pinnata.....	24
Tabla 3-3: Proceso de obtención de la crema antibiótica.....	28
Tabla 3-4: Formulación de la crema cicatrizante con	28
Tabla 3-5: Formulación de la crema cicatrizante con 10 %	29
Tabla 3-6: Tamizaje fitoquímico.....	30
Tabla 3-7: Determinación de pH.....	33
Tabla 3-8: Determinación de la extensibilidad	34
Tabla 3-9: Extracción de las hojas frescas de Kalanchoe Pinnata	36
Tabla 3-10: Tamizaje fitoquímico.....	36
Tabla 3-11: Antibiograma.....	37
Tabla 3-12: Control de calidad.....	37
Tabla 3-13: Variación de Ph	38
Tabla 3-14: Datos experimentales de extensibilidad	38
Tabla 3-15: Datos del radio promedio	39
Tabla 3-16: Datos del área de extensibilidad.....	39
Tabla 3-17: Control microbiológico	39
Tabla 3-18: Características y descripción de los equipos.	62
Tabla 3-19: Características y descripción de equipos de análisis	66
Tabla 3-20: Características y descripción de instrumentos de análisis	67
Tabla 3-21: Costo de la materia prima e insumos.....	68
Tabla 3-22: Costo de la materia prima e insumos para un lote de 100 litros	69
Tabla 3-23: Costo de equipos e instrumentos	69
Tabla 3-24: Costos de materiales para el control de calidad	70
Tabla 3-25: Costos de envases para la crema antibiótica.....	70
Tabla 3-26: Costos de la infraestructura de una planta de producción de cremas antibióticas..	71
Tabla 3-27: Costos de implementación de una planta de producción de cremas antibióticas. ..	71
Tabla 3-28: Costo de producción mensual de crema antibiótica.	72
Tabla 3-29: Inflación.....	72

Tabla 3-30: Egresos	72
Tabla 3-31: Abono a capital.....	73
Tabla 3-32: <i>Gastos de producción.</i>	73
Tabla 3-33: Salario.....	74
Tabla 3-34: Salario total a pagar a los operarios.....	75
Tabla 3-35: Egreso total.....	76
Tabla 3-36: Ingresos Totales.....	76
Tabla 3-37: Análisis del B/C, VAN y TIR.....	77

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1-1. Elementos del metabolismo primario y metabolismo	4
Figura 1-2. Compuestos Nitrogenados Paternina.....	6
Figura 1-3. Taxonomía Kalanchoe pinnata.....	9
Figura 1-4. Tallo y hojas.....	11
Figura 1-5. Flores.....	11
Figura 1-6. Composición química de las hojas de Churiyuyo.	12
Figura 1-7. Antibiograma de disco	19
Figura 3-1. Localización del proyecto	22
Figura 3-2. Lavado de hojas de Kalanchoe Pinnata.....	26
Figura 3-3. Triturado de las hojas de Kalanchoe pinnata.....	26
Figura 3-4. Filtración de solvente con extracto.....	27
Figura 3-5. Separación de extracto y disolvente en el rotavapor	27
Figura 3-6. Tamizaje fitoquímico	30
Figura 3-7. Halo de inhibición contra Staphilococos.....	32
Figura 3-8. Tanque de macerado.....	42
Figura 3-9. Tanque de Cocción.....	44
Figura 3-10. Tanque mezclador	49
Figura 3-11. Molienda para hojas	63
Figura 3-12. Tanque de macerado.....	63
Figura 3-13. Tanque de cocción.....	64
Figura 3-14. Tanque de agitación de 500.....	65
Figura 3-15. Envasadora de cremas	65
Figura 3-16. Barril contenedor de 600	66

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico 1-1. Diagrama del proceso de la elaboración de la crema.....	16
Gráfico 3-1. Diagrama del proceso de obtención del extracto	25

ÍNDICE DE ANEXOS

ANEXO A: Información de la planta Churiyuyo (*kalanchoe pinnata*)

ANEXO B: Certificado Ambiental emitido por el GAD de NAPO

ANEXO C: Permiso de Investigación emitido por el MAE.

ANEXO D: Materia prima

ANEXO E: Obtención del Extracto

ANEXO F: Obtención del Extracto

ANEXO G: Caracterización del extracto de Churiyuyo

ANEXO H: Elaboración de la crema cicatrizante

ANEXO I: Control de calidad de la crema antibiótica.

ANEXO J: Etiqueta y Caja para la Crema Antibiótica.

ANEXO K: Halos de Inhibición del extracto de Churiyuyo

ANEXO L: Halos de Inhibición de la Crema antibiótica.

ANEXO M: Control Microbiológico del extracto

ANEXO N: Control Microbiológico de la crema

ANEXO O: Dimensionamiento de los Equipos

ANEXO P: Dimensionamiento de los Equipos

ANEXO Q: Dimensionamiento de los Equipos

ANEXO R: Tabla de Calor Específico, Calor Latente de Vaporización y de Fusión

ANEXO S: Norma INEN 2867:2015. Productos Cosméticos. Requisitos

RESUMEN

El objetivo fue diseñar un proceso para la obtención de una crema antibiótica a partir del extracto de las hojas de churiyuyo (*Kalanchoe pinnata*) para el uso antibiótico en infecciones superficiales de la piel. Las hojas frescas de la planta de Churiyuyo se utilizaron como materia prima para luego ser trituradas y así poder romper las paredes celulares y obtener un extracto activo, luego mediante una maceración en un medio alcohólico en este caso metanol al 60 %. Con lo cual se procede hacer una filtración que me facilitara la concentración del extracto en un rotavapor. Se realizó ensayos a escala de laboratorio con el fin de obtener el mejor resultado en inhibición bacteriana al 5 % y al 10% tanto en el extracto como en la crema dando los resultados siguientes para la prueba de antibiograma para las cepas: *Staphylococcus aureus* 1.25 cm de halo de inhibición, *escherichia coli* 1.6 cm de halo de inhibición, *klebsiella pneumoniae* 1.1 cm de halo de inhibición. En las pruebas de termo resistencia en el control de calidad nos dio en los Factores organolépticos el color amarillento blanquecino, en el aspecto sólido viscoso, en el olor característico, en los Factores Físicoquímicos el pH nos dio 6.5. En la prueba de extensibilidad cumple con los parámetros especificados de la norma INEN 2867. En la prueba microbiológica la crema tuvo AUSENCIA en coliformes totales, 20 UFC/mL en aerobios mesófilos y AUSENCIA en mohos y levaduras. Con estos resultados se pudo diseñar el proceso para la obtención de la crema a partir del extracto de hojas de Churiyuyo, comprobando la actividad antimicrobiana frente a diferentes cepas bacterianas además cumple todos los parámetros establecidos por la norma INEN 2867 para productos cosméticos, se recomienda realizar estudios adicionales para aislar componentes específicos para aumentar la eficiencia del proceso.

Palabras Clave: <INGENIERÍA Y TECNOLOGÍA QUÍMICA>, <EXTRACTO MEDICINAL>, <ANTIBIÓTICA>, <DISEÑO DE PROCESOS>. <CHURIYUYO (*kalanchoe pinnata*)>, <CREMA ANTIBIÓTICA>, <METANÓL>, <*Staphylococcus aureus*>.

SUMMARY

The objective was to design a process for obtaining an antibiotic cream from the extract of Churiyuyo leaves (*Kalanchoe pinnata*) for antibiotic use in superficial skin infections. The fresh leaves of the Churiyuyo plant were used as raw material to then be crushed and thus be able to break the cell walls and obtain an active extract, then through maceration in an alcoholic environment in this case methanol on a 60%. With which we proceed to make a filtration that will facilitate the concentration of the extract in a rotary evaporator. Laboratory scale tests were performed in order to obtain the best result in bacterial inhibition to the 5% and 10% in both as in the extract and the cream, giving the following results for the antibiogram test for the strains: *Staphylococcus aureus* 1.25 cm of halo of inhibition, *Escherichia coli* 1.6 cm of halo of inhibition, *Klebsiella pneumoniae* 1.1 cm of halo of inhibition. In the thermo-resistance tests in the quality control it gave us in the organoleptic Factors the whitish yellowish color, in the viscous solid aspect, in the characteristic smell, in the Physicochemical Factors the pH gave us 6.5. In the extensibility test it complies with the specified parameters of the technical standards regulations INEN 2867. In the microbiological test the cream had ABSENCE in total coliforms, 20 CFU / mL in aerobis mesophiles and ABSENCE in molds and yeasts. With these results it was possible to design the process to obtain the cream from Churiyuyo leaf extract, checking the antimicrobial activity against different bacterial strains and also meets all the parameters established by the technical standards regulations INEN 2867 for cosmetic products, it is recommended to perform additional studies to isolate specific components to increase efficiency process.

Keywords: <CHEMICAL ENGINEERING AND TECHNOLOGY>, <MEDICINAL EXTRACT>, <ANTIBIOTICS>, <PROCESS DESIGN>. <CHURIYUYO (*Kalanchoe pinnata*)>, <ANTIBIOTIC CREAM>, <METANÓL>, <*Staphylococcus aureus*>

CAPITULO I

1. DIAGNÓSTICO Y DEFINICIÓN DEL PROBLEMA

1.1 Identificación del Problema

La historia del hombre está estrechamente ligada con las plantas medicinales, a las cuales hasta hoy recurre para la curación de sus males y dolencias.

En la actualidad el deterioro ambiental y la evidencia de que los fármacos sintéticos provocan efectos negativos colaterales han estimulado el consumo de productos naturales.(Palacios Lozada 2014)

Una de las necesidades básicas del ser humano es la salud, la cual está relacionada para su satisfacción con el acceso a las medicinas. Pero gran parte de la población por acceso o precio no puede adquirir los fármacos sintéticos. (Palacios Lozada 2014)

El uso de las plantas medicinales para tratar ciertas enfermedades viene desde épocas ancestrales y han sido utilizadas especialmente por nuestros campesinos y por la clase indígena como una tradición cultural que ha pasado de generación en generación, ha sido tanta la fe y el poder de sanación, que la ciencia se fue interesando en estas bondades de las plantas medicinales y han realizado investigaciones que han desarrollado una gran industria de medicina alternativa que hoy por hoy son utilizadas con bastante frecuencia por la humanidad, con ello la medicina alternativa ha desarrollado una estructura socio económica y profesional que contribuye al desarrollo económico del país, y actualmente incluso en hospitales de primer y segundo nivel se cuenta con personal especializado en medicina alternativa, tomando en consideración que la medicina tradicional utiliza los fármacos que en su gran mayoría son resultados de investigaciones basados en las mismas plantas medicinales. Incluso el estado a través de la Constitución ha desarrollado el siguiente articulado, “en la actualidad en Ecuador el uso, preparación y comercio de las plantas medicinales y sus preparaciones farmacéuticas se rige por el Acuerdo 0244 del Ministerio de Salud Pública, publicado en el Registro Oficial 385

del 26 de octubre de 2006”, en el cual se establecen las normas y procedimientos para el registro sanitario y control de productos naturales de uso medicinal y de los establecimientos en donde se fabrican, almacenan y comercializan dichos productos (Dehesa 2009). Y así garantizar la utilización de medicina alternativa. (Agronegocios, s.f.).

La planta *Kalanchoe Pinnata* puede llegar a medir los 2 metros de altura su forma es de un arbusto perenne, con tallos rectos y ramificados. Las hojas son opuestas y sus bordes son crenados. Las hojas de las inflorescencias son similares a las hojas del follaje, pero más pequeñas. La inflorescencia es particulado y los pedicelos son delgados, las flores son colgantes (UK 2014). Su habitat está en climas moderados como cálidos y templados desde los 2600 metros de altura hasta el nivel del mar, puede habitar desde rocas hasta bosques tropicales y de montaña (Método de Evaluación Rápida de Invasividad (MERI) para especies exóticas en México 2015).

En el Instituto Sanjivani de Farmacia e Investigación, Kopargaon-423601, Maharashtra, India, se comprobó y comparó la actividad antibacteriana de las hojas frescas de Churiyuyo (*Kalanchoe pinnata*) mediante extracción metanólica 60% y etanólica 95%, donde se recomienda dar una presentación en crema (Pattewar, Patil y Dahikar 2013) para poder industrializarla con los conocimientos que se fueron adquiriendo mediante el transcurso de la carrera de Ingeniería Química, para así poder obtener un producto a base del extracto de las hojas de Churiyuyo (*Kalanchoe pinnata*), (Pattewar, Patil y Dahikar 2013).

Estudios realizados por (Akinpelu 2000) comprobó que en el extracto metanólico del 60% de las hojas es el más viable por su excelente resultado ya que inhibe el crecimiento de las bacterias evaluadas, a una concentración de 25 mg / ml. *B. subtilis*, *E. coli*, *P. vulgaris*, *S. dysentriae*, *S. aureus*, mientras que *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa* y *C. albicans*.

Por la información expuesta, este proyecto tendrá como finalidad recrear el diseño de un proceso para la obtención de una crema con poder antibacteriano a partir del extracto de las hojas de Churiyuyo (*Kalanchoe Pinnata*).

1.2 Justificación del proyecto

En Tena, cantón amazónico ecuatoriano, las plantas medicinales son una herramienta importante para la atención primaria de salud en las comunidades, ya que constituyen una alternativa viable y económica. El conocimiento etnobotánica, es el resultado de un proceso cultural, derivado principalmente de la etnia quichua.(Lalama Aguirre, Montes Cruz y Zaldumbide Verdezoto 2016)

La Medicina Tradicional se utiliza globalmente y tiene una importancia económica que está creciendo rápidamente. En los países en vías de desarrollo la Medicina Tradicional a menudo es el único modo de tratamiento accesible y económicamente factible. (Bussmann 2015)

Además tiene sus raíces en los conocimientos profundos sobre la salud y la enfermedad que los distintos pueblos indígenas y mestizos del Ecuador han acumulado a través del tiempo y se fundamenta en su “cosmovisión” que a lo largo de la historia ha funcionado como “cultura madre”, incorporando y ordenando elementos de otras culturas a su propio sistema. (Lalama Aguirre, Montes Cruz y Zaldumbide Verdezoto 2016).

La curiosidad por conocer la utilidad de las plantas medicinales y su importancia al momento de curar dolencias ha sido de interés de la humanidad desde su existencia. La investigación científica de las diferentes plantas medicinales en el Ecuador empezó en el año 1995, realizando colecciones botánicas y encuestas etnobotánicas en diferentes regiones naturales del país, pero solamente el 50% de las plantas medicinales han sido identificadas, por lo cual no se tiene conocimiento del otro 50% tanto de sus beneficios como dolores y enfermedades que pueden llegar a curar. (Cerón Martínez 2006).

La planta Churiyuyo es una planta poco estudiada, no obstante, se la usa en medicina ancestral, y según los trabajos publicados en la revista internacional de ciencias farmacéuticas e investigación muestran que su extracto tiene actividad antibacteriana e incluso anti fúngica, sin embargo para la población es complicado realizar los procesos de extracción para utilizar la planta, e incluso para personas que vivan fuera de los sectores donde crece la planta, por lo que sería importante diseñar un proceso para la producción de una crema a base de dicho extracto, con ello los consumidores tendrían fácil acceso a las mismas, y el presente estudio servirá como base para que una industria o empresa farmacéutica pueda reproducir el proceso y obtener los permisos para su difusión en el mercado.

Por lo expuesto se justifica el realizar el diseño del proceso de obtención de un producto natural a base de esta planta para un producto antibiótico.

1.3 Línea base del proyecto

1.3.1 Marco Teórico

1.3.1.1 Metabolitos de las plantas

El metabolismo es el conjunto de procesos y reacciones químicas anabólicas (requieren energía) y catabólicas (liberan energía); donde un microorganismo obtiene la energía y los nutrientes que

necesita para vivir y reproducirse. (Reservados 2006). Las plantas aparte de tener el metabolismo primario que todos los seres vivos poseen, manejan un metabolismo secundario que les permite producir y acumular compuestos de naturaleza química. Estos compuestos se denominan metabolitos secundarios, se distribuyen diferencialmente entre grupos taxonómicos, presentan propiedades biológicas, muchos desempeñan funciones ecológicas y algunas de las funciones que lo caracterizan son: medicamentos, insecticidas y herbicidas etc.(Ávalos García Elena Pérez-Urria Carril 2009)

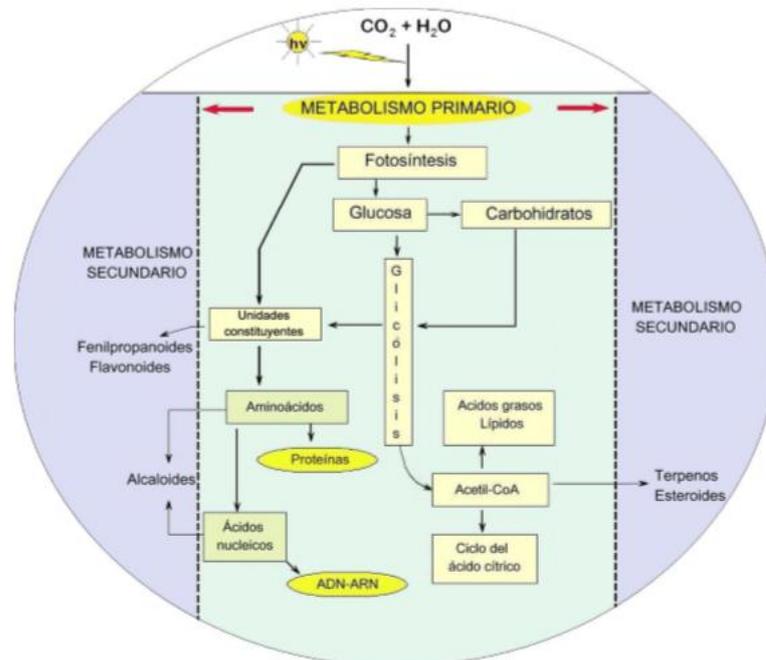


Figura 1-1. Elementos del metabolismo primario y metabolismo secundario de las plantas.

Fuente: (Ávalos García, A., & Perez Urria, E., 2009)

1.3.1.1.1 *Metabolitos primarios*

Los metabolitos primarios, muy abundantes en la naturaleza, son indispensables para el desarrollo fisiológico de la planta; se encuentran presentes en grandes cantidades, son de fácil extracción y su explotación es relativamente barata (Bustamante et al. 2010). Además conducen a la síntesis de los metabolitos secundarios. Entre los metabolitos primarios se encuentran aminoácidos proteicos, proteínas, carbohidratos, lípidos, ácidos grasos, algunos ácidos carboxílicos, etc.

1.3.1.1.2 Metabolitos secundarios

Las plantas producen una amplia gama de compuestos orgánicos que no están involucrados en el metabolismo primario, es decir, que no poseen roles reconocidos en los procesos de asimilación, respiración, transporte y diferenciación y que también difieren de los metabolitos primarios, por tener una distribución restringida en el reino vegetal, lo que significa que un producto secundario en particular, el metabolito secundario, generalmente se halla solo en una especie o en un grupo de especies taxonómicamente relacionadas (Raikhel 2003). A través del tiempo, el hombre ha hecho uso de los metabolitos secundarios con diversos propósitos, entre los que pueden mencionarse el uso como saborizantes, colorantes, fragancias, insecticidas, drogas medicinales y adictivas, y cosméticos (Lincoln Taiz 2010). El principal rol metabólico atribuido a estos grupos de sustancias es la protección frente al ataque de herbívoros y las infecciones microbianas o virales, aunque también funcionan como atrayentes de insectos polinizadores y como agentes de competición planta-planta (Azcon 2008).

Siendo el metabolismo secundario una característica de la especialización celular que indica la formación de compuestos secundarios en relación con el primario no incide en la importancia para la célula productora, a pesar de esto un compuesto secundario puede poseer un buen significado para el organismo productor de un todo, porque su implicación es directa en las relaciones ecológicas. Es decir que hay una relación directa con los organismos de su entorno natural.

Siguiendo la clasificación de (Lincoln Taiz 2010) los metabolitos secundarios se clasifican en: productos nitrogenados, productos fenólicos y terpenoides.

1.3.1.2 Productos nitrogenados

Los compuestos nitrogenados son principalmente los alcaloides y glucósidos cianogénicos. Los alcaloides son un diverso grupo de compuestos con cerca de 4 000 estructuras conocidas. Estos son fisiológicamente activos en humanos (cocaína, nicotina, morfina) y por supuesto de gran interés para la industria farmacológica.(Kairuz, Pérez-Alonso y Chong-Pérez 2018).

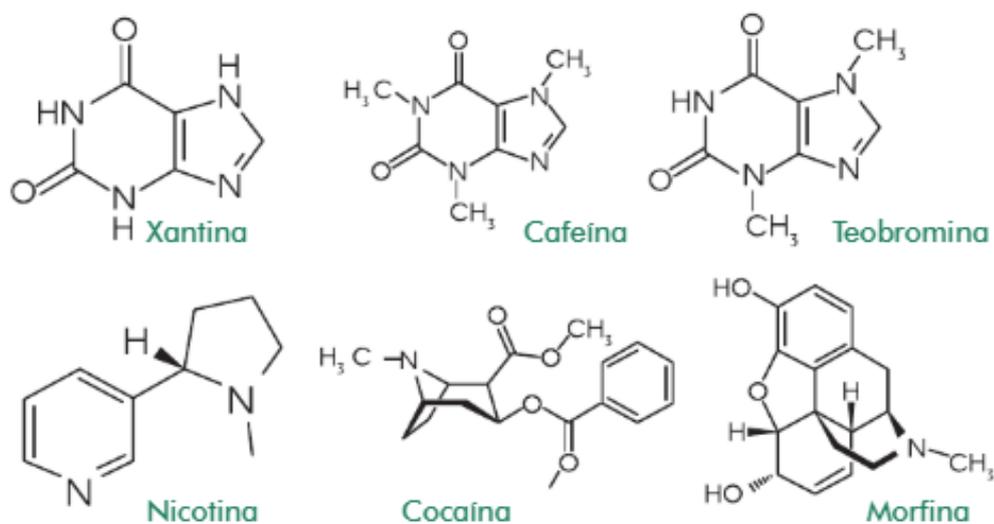
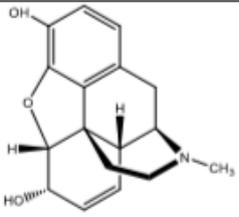
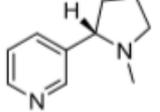
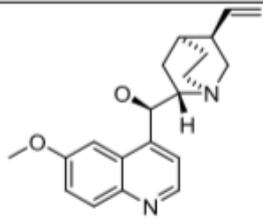


Figura 1-2. Compuestos Nitrogenados Paternina

Fuente: (Gómez. (2018). PRODUCTOS NATURALES: METABOLITOS SECUNDARIOS Y ACEITES ESENCIALES.)

Tabla 1-1: Aplicaciones de algunos Alcaloides

Alcaloide	Formula	Planta	Uso
Atropina		<i>Hyoscyamus</i>	Anticolinérgico, antídoto del gas nervioso
Cafeína		<i>Coffea arábica</i>	Estimulante del sistema nervioso
Cocaína		<i>Erythroxylon coca</i>	Anestésico tópico, estimulante del sistema nervioso central, droga de abuso.
Coniina		<i>Conium maculatum</i>	Parálisis del sistema nervioso central

Morfina		<i>Papaver somniferum</i>	Analgésico, narcótico, droga de abuso
Nicotina		<i>Nicotiana tabacum</i>	Tóxico, insecticida en horticultura, droga de abuso.
Quinina		<i>Cinchona officinalis</i>	Tratamiento de la malaria

Fuente: (Ávalos García, A., & Perez Urria, E., 2009)

Realizado por: Leguisamo Costales Jonathan Eduardo, 2019

1.3.1.3 Fenoles

El fenol es muy utilizado en la industria química, farmacéutica y clínica como: potente fungicida, antiséptico, bactericida, desinfectante, preparación de explosivos, síntesis de la aspirina.

1.3.1.4 Terpenoides

Los terpenos o terpenoides son el grupo más numeroso de metabolitos secundarios. La ruta biosintética de estos compuestos da lugar tanto a metabolitos primarios como secundarios de gran importancia para el crecimiento y supervivencia de las plantas. Entre los metabolitos primarios se encuentran hormonas (giberelinas, ácido abscísico y citoquininas), carotenoides, clorofilas y plastoquinonas (fotosíntesis), ubiquinonas (respiración) y esteroides (de gran importancia en las estructuras de membranas). La mayoría son insolubles en agua con excepciones y derivan todos ellos de la unión de unidades de isopreno (cinco átomos de carbono). Se sintetizan a partir de metabolitos primarios por dos rutas: la del ácido mevalónico, activa en el citosol, en la que tres moléculas de acetil-CoA se condensan para formar ácido mevalónico que reacciona hasta formar isopentenil difosfato (IPP), o bien la ruta del metileritritol fosfato (MEP) que funciona en cloroplastos y genera también IPP (Ávalos García Elena Pérez-Urria Carril 2009).

1.3.2 Fundamento botánico y taxonómico de las hojas *Kalanchoe pinnata*

1.3.2.1 *Kalanchoe Pinnata*

Kalanchoe pinnata común mente llamada hoja del aire o ***Bryophyllum pinnatum (L.f.)***, es una planta nativa de la India que ha sido introducida en diferentes regiones, en la región amazónica del Ecuador es llamada como Churiyuyo es una planta muy utilizada en medicina ancestral debido a sus múltiples usos terapéuticos esta se reproduce con gran facilidad. Se ha investigado que el extracto de esta planta tiene efectos positivos sobre la salud de las personas y sobre sus lesiones. (Muñoz 2014).

La ***Kalanchoe pinnata (Lam.) Pers.***, es considerada como una panacea por los pobladores de Sudamérica quienes la emplean con diferentes propósitos. Los Creoles, también llamados caracoles o negros ingleses, utilizan las hojas ligeramente tostadas contra el cáncer y las inflamaciones, y en infusión como un remedio popular para aliviar la fiebre. Los Palikur o Palikuyennes, pertenecientes también al grupo arahucano, fueron de los primeros amazónicos en entrar en contacto con los europeos, mezclan su jugo con aceite de coco y aceite de Andiroba, luego la esparcen sobre la frente para curar la migraña y el dolor de cabeza. Los indígenas Siona la conocen como la “medicina de los forúnculos”, calientan las hojas y las aplican tópicamente sobre los forúnculos y úlceras de la piel. (Muñoz 2014).

A lo largo del río Pastaza en Ecuador, los nativos utilizan una infusión de hoja para huesos rotos y contusiones internas. En Perú, tribus indígenas mezclan la hoja con aguardiente (ron de caña de azúcar) y aplican la mezcla a las sienes para el dolor de cabeza; sumergen las hojas y tallos durante la noche en agua fría y luego la beben para la acidez estomacal, la uretritis y las fiebres. La raíz también es preparada como infusión y es utilizada para la epilepsia. Otras tribus en el Amazonas exprimen el zumo de hojas frescas y la mezclan con la leche de las madres lactantes. (Muñoz 2014).

1.3.2.2 Taxonomía de la planta *Kalanchoe pinnata*.

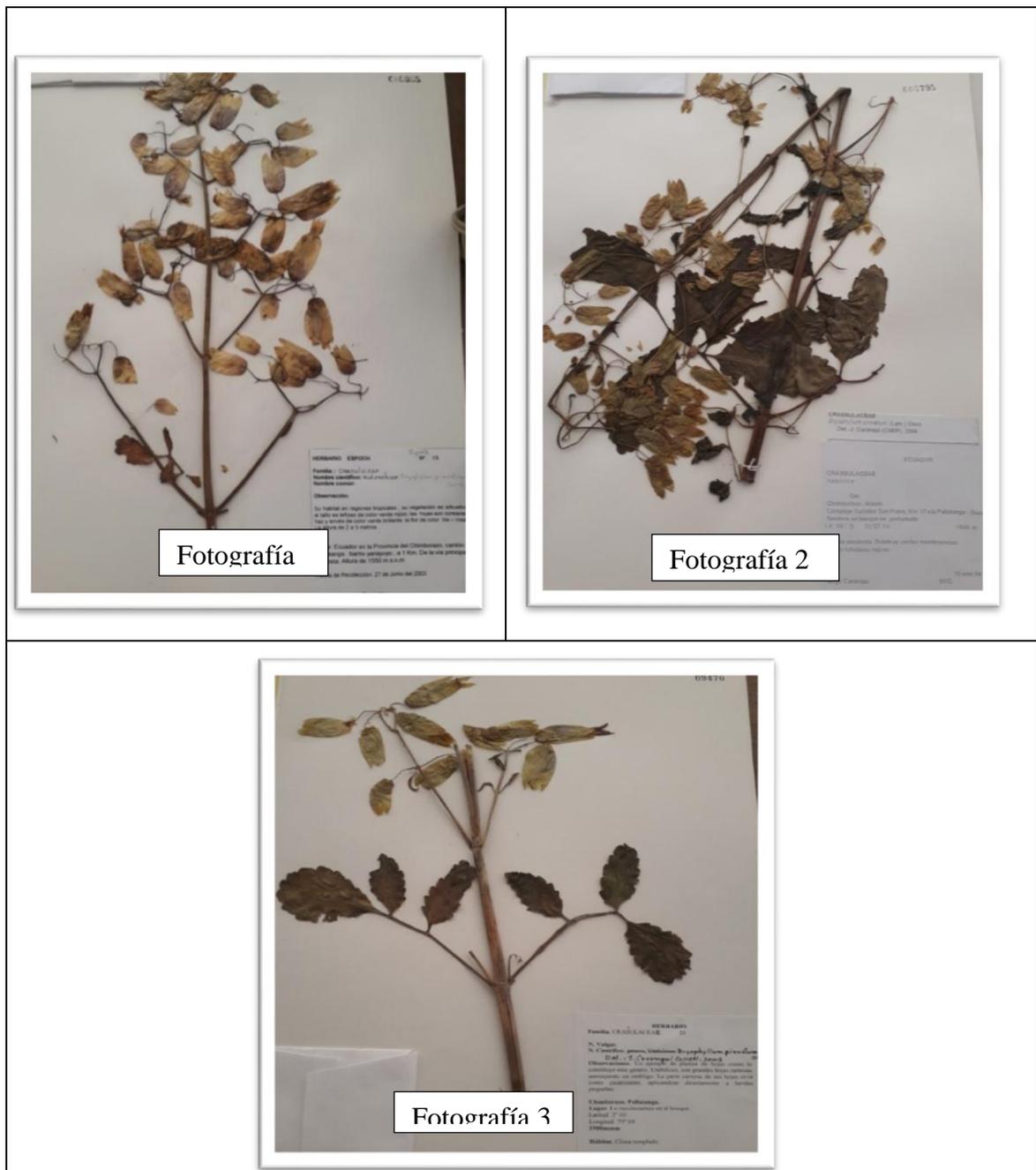


Figura 1-3. Taxonomía *Kalanchoe pinnata*

Fuente: Herbario ESPOCH, taxonomía de la planta (*kalanchoe pinnata*)

Descripción:

- Fotografía 1: Su hábitat en regiones tropicales, su vegetación es arbustiva, el tallo es leñoso de color verde rojizo, las hojas son coriáceas, haz y envés de color verde brillante, la flor de color lila – rosada. La altura de 2 a 3 metros.

- Fotografía 2: Bracteas verdes membranosas. Flores tubulares rojizas.
- Fotografía 3: Un ejemplo de las plantas de hojas crasas lo constituye este género, *Umbilicus*, con grandes hojas carnosas asemejando un ombligo. La parte carnosa de sus hojas sirve como cicatrizante, aplicándose directamente a heridas pequeñas.

Tabla 1-2: Taxonomía planta *Kalanchoe pinnata*

Taxonomía	Planta
Clase	<i>Equisetopsida C. Agardh</i>
Subclase	<i>Magnoliidae Novák ex Takht.</i>
Superorden	<i>Myrothamnanae Takht.</i>
Orden	<i>Saxifragales Bercht. & J. Presl</i>
Familia:	<i>Crassulaceae J. St.-Hil.</i>
Género	<i>Kalanchoe Adans.</i>
Especie	<i>Kalanchoe pinnata (Lam.) Pers.</i>

Fuente: Tropicos.org. Jardín Botánico de Missouri. 27 agosto 2019

Realizado por: Leguisamo Costales Jonathan Eduardo, 2019

Sinónimos

Bryophyllum calycinum, *B. germinans*, *B. pinnatum*, *cotyledon calycina*, *C. Calyculata*, *c. pinnata*, *C. rhizophilla*, *Crassuvia floripendia*, *Crassula pinnata*, *Sedum Madagascar Cariense*, *Verea pinnata* (Khurshid 2015).

Kalanchoe es una planta medicinal utilizada en gran medida en la medicina popular para el tratamiento de cálculos renales, úlcera gástrica, infección pulmonar, artritis reumatoide, etc. *Kalanchoe pinnata* se ha naturalizado en regiones templadas de Asia, Australia, Nueva Zelanda, Indias occidentales, Macaronesia, Mascarenas, Galápagos, melanesia, Polinesia y Hawái. (Khurshid 2015).

1.3.2.3 Descripción botánica

La *Kalanchoe pinnata (Lam.) Persoon* es una planta suculenta perenne, que crece de 3 a 5 pies de altura. Es comúnmente conocida como "planta del aire", porque tiene altos tallos huecos y hojas carnosas de color verde oscuro que son claramente onduladas y adornadas en rojo; sus flores están agrupadas en panículas terminales; la corola es campaneada y rojiza, con cuatro lóbulos, con estambres en dos series de cuatro semillas numerosas. (Kirkpatrick y Kirkpatrick 2008).



Figura 1-4. Tallo y hojas

Fuente: (Kirkpatrick y Kirkpatrick 2008).



Figura 1-5. Flores

Fuente: (Kirkpatrick y Kirkpatrick 2008).

1.3.2.4 *Distribución Geográfica*

La Kalanchoe pinnata (Lam.) Persoon = Bryophyllum pinnatum (Lamarck) S. Kurz, es una planta nativa de África tropical y Madagascar, según (Paredes y Prometeo 2015) introducida en los trópicos de América la cual es muy verla común, tanto cultivada, como escapada de otros cultivos. Está presente en Colombia, Ecuador, Panamá y Venezuela. (Khurshid 2015). En el Ecuador el Churiyuyo (*Kalanchoe Pinnata*) nombre científico es una planta que se ha adaptado apropiadamente en todas las regiones naturales de Ecuador, cuya producción es abundante, fácil de cultivar, y subsiste su producción durante todo el año.

1.3.2.5 *Composición química*

Se han identificado los constituyentes químicos del género *Kalanchoe*, los cuales pueden ser clasificados principalmente en: glucósidos de flavonoides, antocianinas, cumarinas, bufadienólidos, tripenos esteroides, fenantrenos y ácidos grasos. (Dér 2014).

Flavonoides: Los compuestos que destacan son patuletina, quercetina y kamferol los cuales tienen actividad antimicrobiana, en hojas y flores del género *Kalanchoe*. Quercetina, kapinnatósido, quercetina-3-O- α -L-arabonosil-(1-2) α -L-ramnopiranosido de hojas frescas de *K. pinnata* (Muzitano et al. 2006).

Bufadienolidos: Se ha reportado que el género *Kalanchoe* contiene bufadienolidos. Brofilina B de hojas de *Bryophyllum pinnatum* (Yamagushi y 1989), Brofilina A de hojas de *K pinnata* (Supratman et al. 2000).

Ácidos grasos: El ácido palmítico (C16), ácido esteárico (C18) y trazas de ácidos araquídico (C20) y behenico (C22) se identificaron a partir del extracto etanólico de *Kalanchoe pinnata* (Almeida et al. 2000).

Esteroles, triterpenos y fenantrenos: Se han aislado varios compuestos de hojas frescas de *Kalanchoe pinnata*, llamados briofilol, briofolona y briofolenona, briofinol y oleanano $18\alpha - \psi$ -taraxasterol, junto con una mezcla de α - y β -amirinas y sus acetatos (Siddiqui, S., Faizi, S., Siddiqui, B. S., Sultana, N., 1989). De la partes aéreas enteras se han identificado: 5α -estigmast-24-en- 3β -ol; 25-metil- 5α -ergost-24 (28) - en- 3β -ol; (24R) -stigmasta-5, de 25 dien 3β -ol (24-epiclerosterol) y (24R) - 5α - estigmasta-7, 25-dien- 3β -ol fueron aislados (Akihisa et al. 1991).

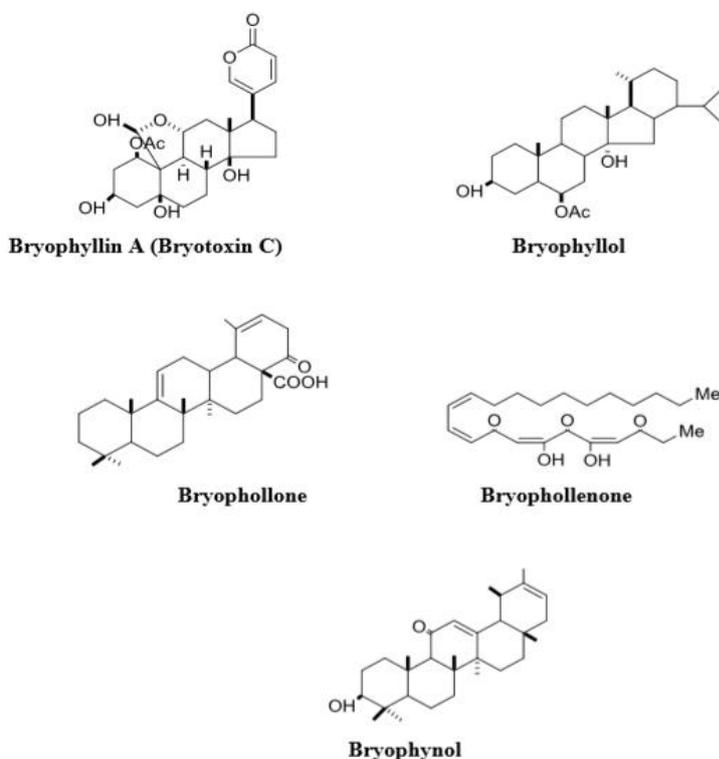


Figura 1-6. Composición química de las hojas de Churiyuyo.

Fuente:(Pattewar 2012)

Las hojas de *Kalanchoa Pinnata* (churiyuyo), en estudios realizados en el año 2012 en la India, muestran un contenidos de diferentes compuestos como fenoles, fenilpropanoides y flavonoides los cuales son: ácido siríngico, ácido 4-hidroxi-3-metoxi-cinámico, ácido caféico, ácido 4-hidroxibenzoico, ácido paracumárico, ácido ferúlico, kaempferol, ácido p-hidroxicinámico, quercetina también triterpenoides y esteroides los cuales son: α -amirina, α -amirinacetato, β -amirina, β amirinacetato y Ácidos grasos, minerales y otros: como ácido palmítico (89,3 %), ácido esteárico (10,7 %) y restos de ácido araquídico. Es también rica en vitaminas y aminoácidos; ácido ascórbico, riboflavina, tiamina, niacina, piridoxina, glicina. Ricas en nutrientes, carbohidratos y proteínas, también cuenta con elementos minerales como: Sodio, calcio, potasio, fosforo, Magnesio, Manganeso, hierro, cobre, zinc. Además de los azúcares que incluyen rafinosa, lactosa, sacarosa, glucosa, galactosa, fructosa.(Pattewar 2012)

1.3.2.5.1 *Composición química de la actividad antimicrobiana*

Ácidos fenólicos: p-metoxi benzoico, p-hidroxibenzaldehido, ácido vanílico, ácido p-hidroxibenzoico, ácido cinámico y ácido nicotínico se identificaron en extractos metanólicos los cuales tienen actividad antimicrobiana y antioxidante.(Corylus, Máthé y Sc 2014).

1.3.2.6 *Actividad Farmacológica*

Kalanchoe pinnata presenta algunas propiedades y acciones documentadas por Investigación: analgésica (calmante del dolor), anti-alérgica, anti-anafiláctica (reduce las reacciones alérgicas), anti-inflamatoria, antitumoral, anti ulcerosa, antibacteriana, antihistamínica, anti fúngica, antiviral, depresora del sistema nervioso central, febrífuga (reduce la fiebre) gastroprotectora (protege el tracto gástrico), inmunosupresora (suprime algunas células inmunes), inmunomoduladora (modula algunas células inmunes hiperactivas), relajante insecticida, muscular y sedante. (Muñoz 2014).

1.3.2.6.1 *Actividad Antibacteriana*

Actividad antibacteriana: La presencia de compuestos fenólicos indica que la planta posee actividad antimicrobiana. Ofokansi et al. (2005) informaron que la planta es eficaz en el tratamiento de la fiebre tifoidea y otras infecciones bacterianas, particularmente las causadas por *S. aureus*, *E. coli*, *B. subtilis*, *P. aeruginosa*, *K. aerogenes*, *K. pneumoniae* y *S. typhi*. En su estudio, las actividades antibacterianas de la infusión y los extractos metanólicos contra *S.*

aureus ATCC 13709, *E.coli* ATCC 9637, *Bacillus*, *P. aeruginosa*, *K. pneumonia* y *S. typhi* utilizando el método de difusión en agar; también contra *S. aureus*, *E. coli*, *S. typhi*, *Klebsiella spp.* y *P. aeruginosa* utilizando una modificación del método de tablero de ajedrez. Estos hallazgos apoyaron su uso en el tratamiento de la placenta y el ombligo del bebé recién nacido, que no solo cura rápido sino que también previene la formación de infecciones.(Pattewar 2012).

Los alcaloides aislados puros y sus derivados sintéticos se utilizan como agentes medicinales básicos por sus efectos analgésicos, antiespasmódicos y bactericidas. Obaseiki-Ebor et al investigaron la actividad antibacteriana in vitro del jugo de la hoja. Se encontró que el extracto a 5% v / v era bactericida para un amplio espectro de bacterias grampositivas y gramnegativas tales como *B. subtilis*, *S.aureus*, *S. pyogenes*, *S.faecalis*, *E. coli*; *Proteus spp*; *Klebsiella spp*; *Shigella spp*; *Salmonella spp*; *S. marcescens*; y *P. aeruginosa*, incluidos los aislamientos clínicos de estos organismos que poseen resistencia a múltiples antibióticos. Schmitt et al mostraron la actividad antimicrobiana del decocto de hojas contra bacterias gram-positivas por el método de tubo de dilución.(Pattewar 2012).

Estudios realizados por (Akinpelu 2000) comprobó que en el extracto metanólico del 60% de las hojas es el más viable por su excelente resultado ya que inhibe el crecimiento de las bacterias evaluadas, a una concentración de 25 mg / ml. *B. subtilis*, *E. coli*, *P. vulgaris*, *S. dysenteriae*, *S. aureus*, mientras que *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa* y *C. albicans*.

1.3.3 Crema Antibiótica

1.3.3.1 Antibióticos

Se ha definido a los antibióticos como “aquellas sustancias químicas producidas por varias especies de microorganismos (bacterias, ascomicetos y hongos) o sintetizados químicamente, que tienen la capacidad de inhibir el crecimiento de microorganismos y producir su destrucción, a partir de ellas se han elaborado otras sustancias para uso sistémico y tópico cuya indicación se ajusta a las necesidades terapéuticas determinadas por la naturaleza del cuadro infeccioso del paciente y el criterio médico. Cuando hablamos de agentes antimicrobianos se incluye a varias sustancias que van desde agentes antibacterianos (antibióticos), antituberculosos, antimicóticos, antisépticos hasta agentes antivirales. (Sáenz y Sánchez 2005).

1.3.3.2 *Antibióticos tópicos*

Los antibióticos tópicos tienen un rol importante en dermatología y constituyen una alternativa útil frente a agentes sistémicos en infecciones cutáneas muy localizadas y sin compromiso sistémico, tanto para pacientes ambulatorios como hospitalizados.

Dentro de los actuales antibióticos tópicos, dos son los que se acercan al cumplimiento de estas condiciones del antibiótico tópico ideal: la mupirocina y el ácido fusídico, los cuales vienen siendo utilizados ampliamente en dermatología. Quizá los nuevos antibióticos tópicos puedan superar a éstos y convertirse en mejores alternativas de tratamiento pero a bajo costo.(Sáenz y Sánchez 2005).

La presencia de una disrupción de la piel (solución de continuidad) lleva a la pérdida de la función de barrera epidermal, predisponiendo a las infecciones por microorganismos del medio ambiente, entre ellos, los patógenos comunes de las infecciones de piel y tejidos blandos; los reportados recientemente involucran a: *Staphylococcus aureus*, estreptococos del grupo A, *Enterococcus spp*, *estafilococo coagulasa* negativo, *Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa*.(Sáenz y Sánchez 2005).

Los antibióticos tópicos no se diferencian en forma evidente de los antisépticos. Sin embargo, la ausencia de efectos irritantes en el caso de los antibióticos tópicos es un rasgo importante que los diferencia.(Sáenz y Sánchez 2005).

1.3.3.3 *Elaboración de un producto medicinal a base del extracto de las hojas de churiyuyo (Kalanchoe pinnata) para el uso antibiótico en heridas infectadas.*

Después de haber obtenido el extracto de las hojas de churiyuyo (*Kalanchoe pinnata*) se procede a la elaboración de la crema antibiótica, los materiales y el procedimiento para la elaboración de la misma son: Agua destilada, metanol, agua destilada, ácido esteárico, ácido cítrico, extracto metanólico de churiyuyo, glicerina, lanolina, propilenglicol y trietanolamina.

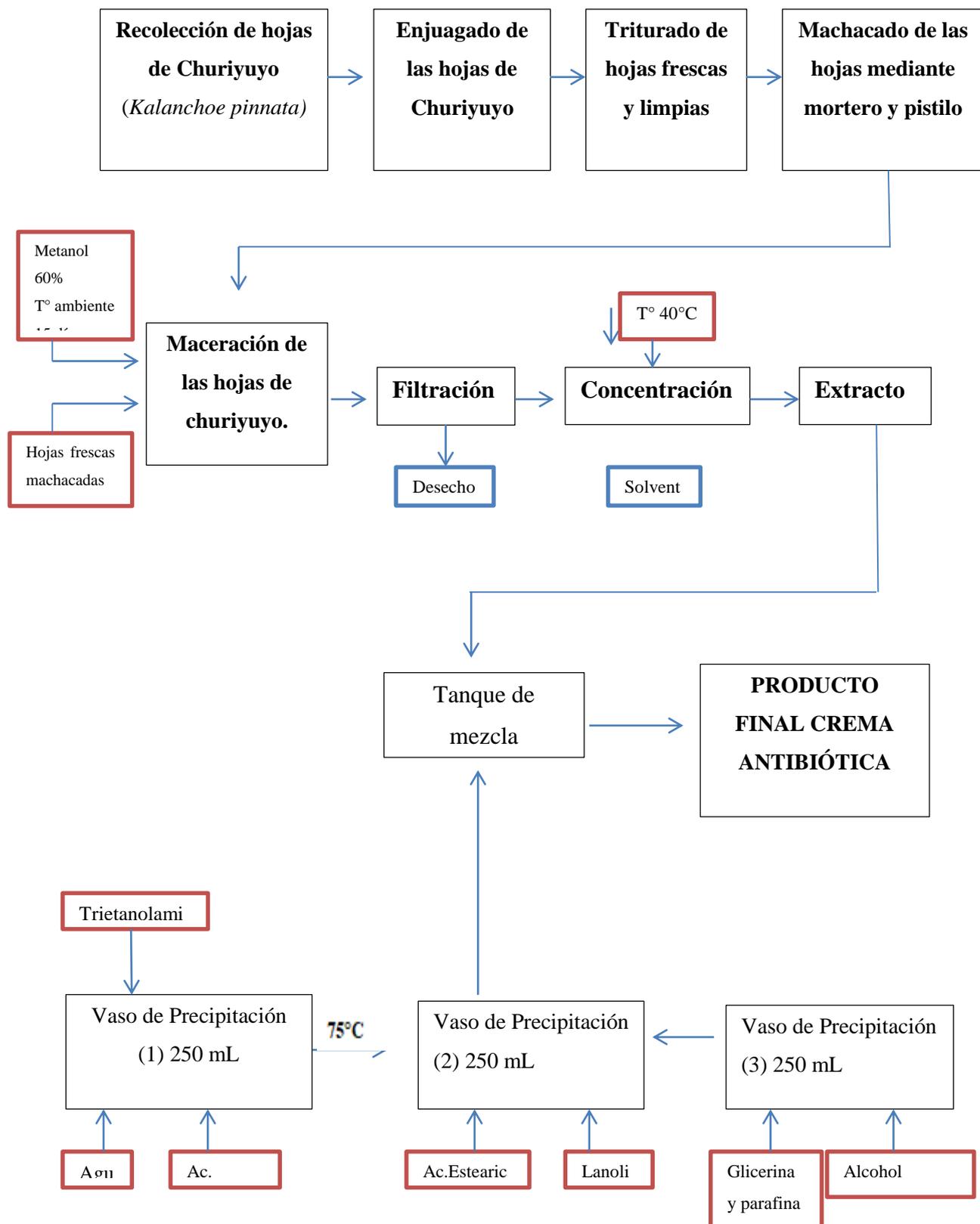


Gráfico 1-1. Diagrama del proceso de la elaboración de la crema

Realizado por: Leguisamo Costales Jonathan Eduardo, 2019

PROCEDIMIENTO

Extracción del crudo de las hojas *Kalanchoe pinnata*

- ✓ Usar hojas frescas trituradas y dejar en maceración con metanol al 60% con una duración de 15 días, en un lugar cerrado a una temperatura de 25 °C. (Pattewar, Patil y Dahikar 2013).
- ✓ Utilizar un equipo de rota vapor a 40°C para la eliminación de disolvente y poder obtener el extracto puro de la *kalanchoe pinnata*.
- ✓ En un vaso de precipitación (1) de 500 mL se procede a mezclar el Alcohol cetílico, la Glicerina y la Parafina a fuego lento hasta que llegue a 75 °C.
- ✓ En otro vaso de precipitación (2) se funde el ácido esteárico y la lanolina
- ✓ En otro vaso de precipitación (3) se calienta agua destilada.
- ✓ En el vaso de precipitación (1) se agrega el vaso (2)
- ✓ En la mezcla anterior se agrega la mezcla del vaso de precipitación (1) y se agita hasta que comience a cuajar a fuego lento.
- ✓ Se procese a retirar del fuego, se espera que la mezcla se enfríe sin dejar de agitar.
- ✓ Finalmente se agrega el extracto de churilyuyo (*Kalanchoe pinnata*).
- ✓ Se envasa y etiqueta. (Azuara 2018)

Al terminar el producto se somete a pruebas de control de calidad de acuerdo a la Norma INEN 2867 con los parámetros físico-químicos y microbiológicos, y su posterior análisis en un laboratorio certificado.

Tabla 1-3: Variables del proceso

TIPOS DE VARIABLES	VARIABLE	INDICADOR
DEPENDIENTES	Rendimiento	%
INDEPENDIENTES	Temperatura	° C
	pH	H ⁺
	Velocidad de agitación	Rpm
INTERVINIENTES	Tiempo	Horas

Fuente: (INEN, 2015)

Realizado por: Leguisamo Costales Jonathan Eduardo, 2019

Tabla 1-4: Condiciones físico químicas.

CONDICION	RANGO
pH ácido	≤ 3
pH alcalino	≥ 10
Soluciones hidroalcohólicas.	≥ 20 %
Temperatura de llenado	≥ 65, 0 °C
Actividad del agua (a _w)	≤ 0,75
Productos de base solventes	Sin límite
Productos oxidantes	Sin límite
Clorhidrato de aluminio y sales relacionadas	del 15 % al ≥ 25 %

Fuente: (INEN, 2015)

Realizado por: Leguisamo Costales Jonathan Eduardo, 2019

Tabla 1-5: Requisitos microbiológicos de los productos cosméticos

Área de aplicación y fase Etaria	Requisito	Límites de aceptabilidad	Método de ensayo de referencia
<ul style="list-style-type: none"> Cosméticos para niños (hasta 3 años) Cosméticos para el área de los ojos Cosméticos que entran en contacto con las membranas mucosas 	Microorganismos mesófilos aerobios totales	Recuento de microorganismos mesófilos aerobios totales. Límite máximo 5 x 10 ² ufc*/g o ml	NTE INEN-ISO 21149
	<i>Pseudomona aeruginosa</i>	Ausencia de <i>Pseudomona aeruginosa</i> en 1 g ó ml	NTE INEN-ISO 22717
	<i>Staphylococcus aureus</i>	Ausencia de <i>Staphylococcus aureus</i> en 1 g o ml	NTE INEN ISO 22718
	<i>Escherichia coli</i>	Ausencia de <i>Escherichia coli</i> en 1 g o ml	NTE INEN-ISO 21150
Demás productos cosméticos susceptibles a contaminación microbiológica	Microorganismos mesófilos aerobios totales	Recuento de microorganismos mesófilos aerobios totales. Límite máximo 5 x 10 ² ufc*/g o ml	NTE INEN-ISO 21149
	<i>Pseudomona aeruginosa</i>	Ausencia de <i>Pseudomona aeruginosa</i> en 1 g o ml.	NTE INEN-ISO 22717
	<i>Staphylococcus aureus</i>	Ausencia de <i>Staphylococcus aureus</i> en 1 g o ml.	NTE INEN-ISO 22718
	<i>Escherichia coli</i>	Ausencia de <i>Escherichia coli</i> en 1 g o ml.	NTE INEN-ISO 21150
Productos cosméticos a ser utilizados en los órganos genitales externos	<i>Candida albicans</i> .	Ausencia	NTE INEN-ISO 18416

*ufc = unidades formadoras de colonias

NOTA. En el caso de que sean usados otros métodos alternativos a los considerados en la tabla 2, estos deben ser oficiales. En el caso de no ser un método oficial, este debe ser documentadamente validado.

Fuente: (INEN, 2015)

Realizado por: Leguisamo Costales Jonathan Eduardo, 2019

1.3.4 Análisis microbiológico

1.3.4.1 Antibiograma

El antibiograma tiene como objetivo evaluar en el laboratorio la respuesta de un microorganismo a uno o a varios antimicrobianos, y traducir, en una primera aproximación, su resultado como factor predictivo de la eficacia clínica. (Poupard, Rittenhouse y Walsh 1994)



Figura 1-7. Antibiograma de disco

Fuente: Maye Bernal R., Miguel Guzmán U. El Antibiograma de Discos.

Normalización de la técnica de Kirby-Bauer

1.3.4.2 Método del antibiograma disco-placa

El antibiograma disco-placa consiste en poner agar rico en nutrientes en la caja Petri que debe estar inoculada con el microorganismo, discos en blanco impregnados con los antibióticos para colocarlos en la superficie del agar los cuales difundirán el antibiótico. El antibiótico se difunde a través del espesor del agar a partir del disco formándose un gradiente de concentración.

Transcurridas 24 horas de incubación los discos en blanco han formado un halo de inhibición según la potencia del antibiótico frente a la sepa bacteriana. La concentración de antibiótico en la interface entre bacterias en crecimiento y bacterias inhibidas se conoce como concentración crítica y se aproxima a la concentración mínima inhibitoria (CMI) obtenida por métodos de dilución. (De et al. 2015).

Estas pruebas de sensibilidad también son útiles en estudios epidemiológicos ya que el resultado del antibiograma puede ser considerado como el primer marcador epidemiológico de que se dispone. El

método de disco-placa es fácil de realizar, rápido y barato. Es una metodología aplicable a una amplia variedad de bacterias, fundamentalmente bacterias aerobias no exigentes de crecimiento rápido como *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas spp.*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Burkholderia cepacia*, *Acinetobacter spp.*, *Staphylococcus spp.* y *Enterococcus spp.* Además, con ligeras modificaciones, puede ser aplicado a *Haemophilus spp.*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Streptococcus pneumoniae* y *Streptococcus spp.* (De et al. 2015).

1.3.4.3 *Materiales*

- Tubos con suero fisiológico (0,85 g de NaCl en 100 ml de agua destilada estéril).
- Escobillones estériles.
- Medio de cultivo. Generalmente se utiliza agar Mueller-Hinton
- Discos de antibióticos.

(De et al. 2015)

1.4 Beneficiarios Directos e Indirectos

1.4.1 *Los beneficiarios Directos*

Los beneficiarios directos son las empresas farmacéuticas las cuales se benefician del desarrollo de procesos para la obtención de la crema a mayor escala.

1.4.2 *Los beneficiarios Indirectos*

Los beneficiarios indirectos son los consumidores o población que necesita de productos con estas características.

CAPITULO II

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo General

- Diseño de un proceso para la obtención de un crema antibiótica a partir del extracto de las hojas de Churiyuyo (*Kalanchoe pinnata*).

2.2 Objetivos Específicos

- ✓ Obtener a escala de laboratorio el extracto de las hojas de Churiyuyo (*Kalanchoe pinnata*), mediante extracción sólido – líquido modificando los valores de temperatura.
- ✓ Identificar variables de proceso en la obtención del extracto.
- ✓ Elaborar un producto medicinal a base del extracto y su actividad antimicrobiana de las hojas de churiyuyo (*Kalanchoe pinnata*) para el uso antibiótico en infecciones superficiales de la piel.
- ✓ Diseñar el proceso de obtención de una crema antibiótica a partir del extracto de las hojas de churiyuyo (*Kalanchoe pinnata*).
- ✓ Comprobar la actividad antibiótica en extracto y crema mediante antibiogramas en cultivo microbiano frente a la cepa (*Staphylococcus aureus*).

CAPITULO III

3. MARCO METODOLÓGICO

3.1 Localización del Proyecto

El siguiente proyecto pretende ser realizado en los laboratorios pertenecientes a la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.

Tabla 3-1: Localización del proyecto técnico.

UBICACIÓN	Cantón Riobamba, perteneciente a la provincia de Chimborazo, Ecuador.
LATITUD	-1.67098 m
LONGITUD	-78.6471176 m
ALTITUD	2758 msnm
CLIMA	Temperatura máxima: 19 °C
	Temperatura mínima: 9 °C

Fuente: (GeoDatos, 2018)

Realizado por: Leguisamo Costales Jonathan Eduardo, 2019

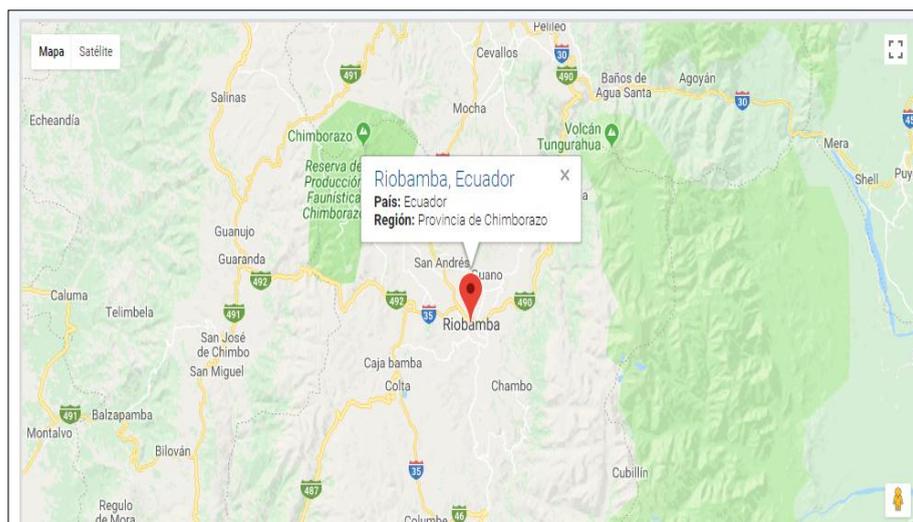


Figura 3-1. Localización del proyecto

Fuente: Google Maps

3.2 Ingeniería del Proyecto

3.2.1 *Obtención a escala de laboratorio del extracto de las hojas de churisyuyo (Kalanchoe pinnata).*

Se desarrollará a escala de laboratorio la obtención del extracto de las hojas de churisyuyo su desarrollo será el siguiente:

- ❖ **Contar con un permiso de recolección del MAE**
- ❖ **Recolección, selección y limpieza de la materia prima**

Las hojas de la planta “siempre viva” o *Kalanchoe pinnata* se encuentran en zonas cálidas-húmedas las cuales crecen en forma de arbustos posteriormente se seleccionan las hojas que estén más sanas, las cuales se limpian con agua fría y posteriormente con agua destilada.

- ❖ **Maceración**

En el proceso, se requiere 3 kilogramos de hojas de *Kalanchoe pinnata* o siempreviva se machacan mediante un mortero para poder extraer su jugo el cual se mezcla con 3 litros de metanol al 60% o etanol al 95% para una posterior maceración, la cual se dará a temperatura ambiente de (Pattewar, Patil,& Dahikar, 2013) “20 a 25 °C”, dicho proceso tiene una duración de 7 días en adelante, en este tiempo se agita la mezcla 3 veces al día y se coloca en un lugar oscuro.

- ❖ **Filtración**

Mediante un filtro se separa el desecho del solvente con el extracto, el cual se prepara para la extracción en un rota vapor o equipo soxhlet.

- ❖ **Extracción Sólido – Líquido**

Se controlará la temperatura óptima de “80 - 90 °C” (Peredo, 2009), el tiempo de extracción y la cantidad de extracto obtenido.

3.2.2 *Tipo de trabajo*

Tesis modalidad tipo técnico “**Diseño de un proceso para la obtención de una crema antibiótica a partir del extracto de las hojas de churisyuyo (*kalanchoe pinnata*)**”

3.2.3 Nivel de investigación para el trabajo técnico

3.2.3.1 Estudio de intervención

Según estudios de la revista científica “**revista internacional de ciencias farmacéuticas e investigación**” (Pattewar, Patil y Dahikar 2013) se ha demostrado en diferentes tipos de obtención del extracto, el más eficiente es el de la maceración de la planta con metanol al 60 % con mayor porcentaje de inhibición en cepas como *S. aureus*, *E. coli*, *B. subtilis*, *P. aeruginosa*.

Según los siguientes resultados:

Tabla 3-2: Actividad antimicrobiana de varios extractos de hojas de *kalanchoe pinnata*

Patógenos	Extracto etanólico	Extracto metanólico	Extracto metanólico al 60%	Extracto acuoso
<i>S. aureus</i>	15	21	21	18 años
<i>P. aeruginosa</i>	18 años	21	21	18 años
<i>E. coli</i>	18 años	25	27	20
<i>C. Albicans</i>	15	18 años	20	18 años

Fuente: (Pattewar, Patil y Dahikar 2013)

Realizado por: Leguisamo Costales Jonathan Eduardo, 2019

Entre los cuatro extractos anteriores, el extracto metanólico al 60% muestra un mejor resultado.

3.2.3.2 Muestreo

Las muestras de las hojas se obtuvieron en la provincia de Napo parroquia Misahualli en la comunidad Atahualpa las cuales fueron trasladadas a la provincia de Chimborazo para su posterior estudio de humedad, ceniza y solubilidad.

3.2.3.3 Tamaño de la muestra

Se ha tomado una muestra de 3 kilogramos de la planta *kalanchoe pinnata* y 3 litros de metanol al 60 % para su posterior maceración.

3.2.4 El proyecto se dividió en 5 etapas.

3.2.4.1 Etapa 1. Extracción de las hojas frescas de *Kalanchoe Pinnata*

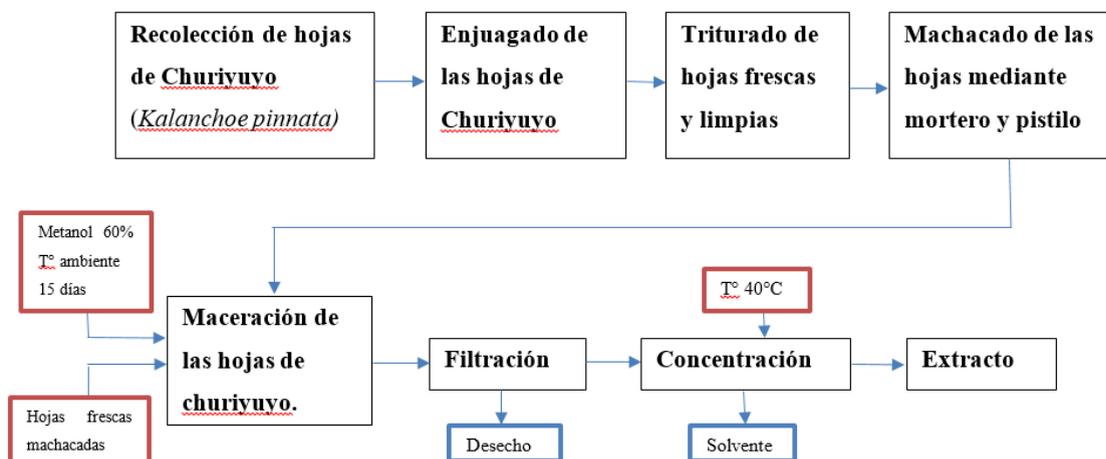


Gráfico 3-1. Diagrama del proceso de obtención del extracto

Realizado por: Leguisamo Costales Jonathan Eduardo, 2019

Sustancias y Reactivos

- Metanol (CH₃OH)
- Agua Destilada

Materiales y Equipos

- Hojas de Churiyuyo (*Kalanchoe Pinnata*)
- Tina
- Balanza analítica
- Mortero
- Pistilo

- Cuidando de seleccionar las hojas más verdes evitando las hojas marchitas para obtener el mayor rendimiento de las mismas, se recolecto 5 kilogramos de hojas de *kalanchoe pinnta*.
- Se pasó las hojas de Churiyuyo al laboratorio de procesos industriales donde se seleccionaron 3 kilogramos de las hojas en mejor estado y se lavaron cuidadosamente evitando la ruptura de alguna de estas.



Figura 3-2. Lavado de hojas de Kalanchoe Pinnata.

Fuente: Leguisamo Costales Jonathan Eduardo, 2019

- Se rompieron las hojas de forma gruesa según los estudios realizados por (Pattewar, Patil y Dahikar 2013) para posteriormente trituraron las hojas con un mortero, con ello abrir más las paredes celulares de las hojas.



Figura 3-3. Triturado de las hojas de Kalanchoe pinnata

Fuente: Leguisamo Costales Jonathan Eduardo, 2019

- Mediante papel filtro y matraces de 250 mL se filtró el solvente con el extracto retirando así el desecho de las hojas con ello obtuvimos una mezcla de solvente con extracto de color amarillo.



Figura 3-4. Filtración de solvente con extracto

Realizado por: Leguisamo Costales Jonathan Eduardo, 2019

- Para la separación del extracto y el disolvente se utiliza un rotavapor RVO 400 SD a una temperatura de 40 °C y una presión en la bomba de vacío de 130 bar, al final del proceso se obtiene un líquido amarillo viscoso.



Figura 3-5. Separación de extracto y disolvente en el rotavapor

Realizado por: Leguisamo Costales Jonathan Eduardo, 2019

- *Proceso de elaboración de la Crema Antibiótica a partir del extracto concentrado de Churiyuyo (Kalanchoe Pinnata)*

Se elaboró la crema antibiótica a partir del extracto de las hojas de Churiyuyo a una escala de laboratorio, el extracto utilizado fue en relación 1:1.

Tabla 3-3: *Proceso de obtención de la crema antibiótica*

DESARROLLO	DETALLE
Materia prima	Los compuestos solidos (lanolina, alcohol cetílico, ácido esteárico y parafina sólida) se llevaron a punto de fusión mediante Baño María, para posteriormente calentar el propilenglicol, aceite de ricino y la glicerina para adicionarlos a agua destilada previamente calentada a 80°C.
Agitación y Mezclado	Se realizó la agitación y mezclado de manera constante de la fase oleosa (lanolina, alcohol cetílico, ácido esteárico, parafina sólida, propilenglicol, aceite de ricino y la glicerina) con la fase acuosa (agua destilada) para finalmente colocar el Dehyquart, extracto, conservante y perfume.
Envasado y Etiquetado	Se efectuó el envasado de la crema en recipientes plásticos a una temperatura de 67 °C para evitar la proliferación de microorganismos, posteriormente se procede a etiquetar correctamente.

Realizado por: Leguisamo Costales Jonathan Eduardo, 2019

Proceso de Agitación y Mezclado

Para el proceso de agitación y mezclado se realizó 2 formulaciones de la crema al 5 % y al 10%. Para evaluar la formulación que cumple con todas las especificaciones requeridas.

Tabla 3-4: *Formulación de la crema cicatrizante con 5 % de extracto*

INGREDIENTE	CANTIDAD (g)
Lanolina	20
Alcohol cetílico	20
Ácido esteárico	4
Parafina	6

Glicerina	6
Propilenglicol	2
Agua destilada	210
Dehyquart	20
Extracto de Churiyuyo	5

Realizado por: Leguisamo Costales Jonathan Eduardo, 2019

Tabla 3-5: *Formulación de la crema cicatrizante con 10 % de extracto*

INGREDIENTE	CANTIDAD (g)
Lanolina	20
Alcohol cetílico	20
Ácido esteárico	4
Parafina	6
Glicerina	6
Propilenglicol	2
Agua destilada	210
Dehyquart	20
Extracto de Churiyuyo	10

Realizado por: Leguisamo Costales Jonathan Eduardo, 2019

3.2.4.2 Etapa 2. Tamizaje fitoquímico

El tamizaje fitoquímico se dio en el laboratorio de alimentos con la colaboración de la Bioquímica Karen Tobar en los cuales se dio la caracterización de taninos, flavonoides, fenoles.

El tamizaje se realizó mediante 4 ensayos:

- Para la presencia de Flavonoides o reacción de Shinoda cuando su coloración y fase organica se presenta amarilla.
- Para la determinación de Fenoles y taninos se realizó con $FeCl_3$ la coloración cambia a verde.
- Para la presencia de Alcaloides se utilizan 3 soluciones:Wagner, Mayer y Dragendorff.

Tabla 3-6: Tamizaje fitoquímico

Objetivo de Identificación	Reacción	Insumos
Alcaloides	Dragendorff	-1 mL de Extracto acuoso -1 mL de HCl al 1% (calor) -3 gotas reactivo Dragendorff (en frio)
	Wagner	-1 mL de Extracto acuoso -1 mL de HCl al 1% (calor) -3 gotas reactivo Wagner (en frio)
	Mayer	-1 mL de Extracto acuoso -1 mL de HCl al 1% (calor) -1 pizca de NaCl (en frio) -3 gotas reactivo Mayer
Flavonoides	Shinoda	-1 mL de Extracto acuoso -1 mL HCl concentrado -1 pedacito de cinta de Mg -1 mL de alcohol amilico
Fenoles	.	-1 mL de extracto etanólico -3 gotas de gelatina salada
Taninos	.	-1 mL de extracto etanólico -3 gotas de Cloruro férrico

Fuente: (Pattewar, Patil y Dahikar 2013)

Realizado por: Leguisamo Costales Jonathan Eduardo, 2019



Figura 3-6. Tamizaje fitoquímico

Realizado por: Leguisamo Costales Jonathan Eduardo, 2019

3.2.4.3 Etapa 3. Antibiograma

Para saber si las cepas bacterianas escogidas y más comunes son sensibles al extracto de *Kalanchoe pinnata*, se siembra una muestra del cultivo puro en un medio en el que conocemos la capacidad de difusión de cada una de las sustancias a testar. Este es el medio de Mueller Hinton.

Material

- Cultivo Puro de un microorganismo
- Placa con medio de Mueller-Hinton
- Pinzas metálicas
- Discos de antibióticos

La siembra se realiza mediante un hisopo estéril que se empapa con el cultivo líquido de las cepas siguientes: *staphylococcus aureus*, *escherichia coli*, *klebsiella pneumoniae*.

El hisopo se empapa en el cultivo en 3 direcciones diferentes para así tener la seguridad de que el cultivo quede totalmente empapado en la placa y extendiéndola. Una vez sembrada la placa se colocan los discos blancos absorbentes que se sacan con pinzas metálicas esterilizadas mediante su flameo tras inmersión en alcohol para posteriormente empapar con 20 ppm de la muestra asignada (*kalanchoe pinnata*).

Los discos se depositan en la superficie del medio de cultivo inoculado, realizando una ligera presión para que queden adheridos al mismo. Quedan suficientemente separados unos de otros para poder leer los resultados y no haya interferencias entre la acción de unas sustancias y otras.

La placa preparada con el inóculo y los antibióticos se invierte y se lleva a incubar durante 24 horas a 37°C. Tras este tiempo, se leen los resultados midiendo el diámetro de los halos de inhibición del crecimiento que aparecen alrededor de los discos de papel. Se valora la efectividad de los mismos consultando la tabla correspondiente en la que, según el antibiótico, tenemos la capacidad de difusión en el medio y, por tanto, la medida de halo que corresponderá a una bacteria sensible, moderadamente sensible/de sensibilidad intermedia, o resistente.



Figura 3-7. Halo de inhibición contra *Staphylococcus*
Aureus.

Realizado por: Leguisamo Costales Jonathan Eduardo, 2019

3.2.4.4 Etapa 4. Control de calidad

Criterios para la aprobación de las cremas en estabilidad preliminar o estrés térmico:

Para evaluar la estabilidad se aplicó el siguiente procedimiento:

1. Por 24 horas se colocaron las muestras a temperatura de $45^{\circ}\text{C} \pm 20^{\circ}\text{C}$.
 2. Luego por 24 horas se colocaron las muestras a temperatura de $-5^{\circ}\text{C} \pm 20^{\circ}\text{C}$.
 3. Se dejaron las muestras al ambiente por cinco horas y luego se procede a realizar los respectivos controles organolépticos y fisicoquímicos.
 4. Este procedimiento corresponde a un ciclo, se repite durante 12 días (6 ciclos).
- Evaluación de la calidad de las cremas: para asegurarnos del buen estado de la crema se usan los siguientes factores:
- a) **Factores Organolépticos:** una vez elaborada la crema se han registrado los datos como el color, aspecto y olor.
 - b) **Factores Fisicoquímicos:** dentro de los factores fisicoquímicos se midió el pH de las cremas, utilizando las franjas de medidor de pH.

Los equipos que se utilizaron para este procedimiento fueron los siguientes:

- Refrigerador.
- Incubadora.

Tabla 3-7: Determinación de pH

FUNDAMENTO	MATERIALES	PROCEDIMIENTO
<p>El pH es el coeficiente que indica el grado de acidez o basicidad de una solución acuosa.</p> <p>Método potenciométrico</p> <p>Implica la medición de una diferencia de potencial entre dos electrodos diseñados a tal efecto. Desde el punto de vista analítico se intenta que esta diferencia de potencial tenga una relación proporcional con la concentración de algún analito de interés.</p>	<ul style="list-style-type: none">• Potenciómetro• Vaso de precipitación de 250 mL	<ul style="list-style-type: none">• Encender el equipo y calibrar con las soluciones buffer de 4, 7 y 10.• Colocar 100 ml de muestra en un vaso de precipitación de 250 ml.• Introducir el electrodo en el vaso que contiene la muestra.• Presionar leer y esperar hasta que se estabilice.• Registrar el valor.

Realizado por: Leguisamo Costales Jonathan Eduardo, 2019

Tabla 3-8: *Determinación de la extensibilidad*

FUNDAMENTO	MATERIALES	PROCEDIMIENTO	CÁLCULO
<p>La extensibilidad es el incremento de superficie que experimenta una cantidad de emulsión cuando se la someta a la acción de pesos crecientes.</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Placas de vidrio • Cronómetro • Papel milimetrado • Pesas 	<ul style="list-style-type: none"> • Colocar la placa inferior de vidrio sobre una hoja de papel milimetrado. • Trazar las diagonales. • Colocar $1 \pm 0,1$ g de muestra sobre el punto de intersección. • Poner la otra placa de vidrio sobre la muestra de crema. • Después de 1 minuto medir el diámetro (mm) inicial de la circunferencia formada. • Comprimir con peso de 50, 100, 200, 1000, 1500 o 2000 g, medir el diámetro de extensibilidad de la crema cicatrizante. 	<p>$AE = \pi(rp)^2$</p> <p>Dónde:</p> <p>rp= radio promedio de las mediciones (mm)</p> <p>Con los resultados registrados se gráfica las masas (g) vs el área de extensibilidad.</p>

Realizado por: Jonathan Leguisamo, 2019

3.2.4.5 Etapa 5. Control microbiológico

El control Microbiológico se realizó tanto en el extracto y en la crema con los siguientes parámetros:

- Coliformes totales UFC/mL
- Aerobios mesofilos UFC/mL
- Mohos y levaduras UFC/mL

Mediante el método siembra en masa. Ver en Anexos

CAPITULO IV

4. RESULTADOS

4.1 Etapa 1. Extracción de las hojas frescas de *Kalanchoe Pinnata*

Después de triturar, mezclar con metanol al 60 %, macerar la mezcla durante 15 días y concentrar el extracto los resultados fueron:

Tabla 3-9: *Extracción de las hojas frescas de Kalanchoe Pinnata*

Peso de hojas frescas	Volumen metanol 60%	Extracto obtenido
3050 gr	3000 mL	1058.94 g/mL

Realizado por: Leguisamo Costales Jonathan Eduardo, 2019

Datos adicionales del extracto:

Densidad: 1.02 g/mL

PH: 4.2

4.2 Etapa 2. Tamizaje fitoquímico

Posteriormente la muestra de concentrado se sometió a una prueba de tamizaje fitoquímico para observar la presencia o ausencia de ciertas sustancias:

Tabla 3-10: *Tamizaje fitoquímico*

Tamizaje fitoquímico	
Determinación de taninos/fenoles	+++
Prueba de Shinoda (Flavonoides)	+++
Determinación de alcaloides	
Wagner	+
Mayer	-
Dragendorff	+

Realizado por: Leguisamo Costales Jonathan Eduardo, 2019

Dónde:

Un “+”: Muy poca presencia

Dos “++”: Presencia

Tres “+++”: Abundante

Un “-“: Ausencia

Dónde:

Un “+”: Muy poca presencia

Dos “++”: Presencia

Tres “+++”: Abundante

Un “-“: Ausencia

4.3 Etapa 3. Antibiograma

En la prueba de antibiograma los resultados fueron favorables para las 3 sepas de bacterias sometidas al extracto que son *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* con los siguientes halos de inhibición:

Tabla 3-11: Antibiograma

Antibiograma	
<i>Cepas bacterianas (20ppm)</i>	<i>Halos de inhibición</i>
<i>Staphylococcus aureus</i>	1-1.5 cm
<i>Escherichia coli</i> ,	1.6 cm
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	0.8-1.4 cm

Realizado por: Leguisamo Costales Jonathan Eduardo, 2019

Con resultados favorables después de 3 repeticiones.

4.4 Etapa 4. Control de calidad

Luego de los 6 ciclos de termo resistencia de la crema se lleva a cabo los factores organolépticos y fisicoquímicos los cuales dieron los siguientes resultados.

Tabla 3-12: Control de calidad

Control de calidad		
Factores Organolépticos	Color	Amarillo blanquecino
	Aspecto	Solido viscoso
	Olor	característico
Factores Fisicoquímicos	pH	6-6.5

Realizado por: Leguisamo Costales Jonathan Eduardo, 2019

Tabla 3-13: Variación de Ph

Variación de Ph				
Día	Muestra		Temperatura	Ph
1-8	5%	10%	(40°C, -5°C) (45°C, -2°C) (50°C, 2°C)	6
8-16	5%	10%	(40°C, -5°C) (45°C, -2°C) (50°C, 2°C)	6.3
16-24	5%	10%	(40°C, -5°C) (45°C, -2°C) (50°C, 2°C)	6.5
24-32	5%	10%	(40°C, -5°C) (45°C, -2°C) (50°C, 2°C)	6.4
32-41	5%	10%	(40°C, -5°C) (45°C, -2°C) (50°C, 2°C)	6.5

Realizado por: Leguisamo Costales Jonathan Eduardo, 2019

Se puede ver que después de los 6 ciclos la crema mantuvo su olor característico y su color y aspectos intactos.

En los datos de extensibilidad tenemos los siguientes:

Tabla 3-14: Datos experimentales de extensibilidad

No	MUESTRA	P (g)	Ø (mm)
1	5%	500	59
		1000	65
2	10%	500	62
		1000	70

Realizado por: Leguisamo Costales Jonathan Eduardo, 2019

Ecuación Cálculo del radio

$$r = \frac{\emptyset}{2}$$

$$r = \frac{59 \text{ mm}}{2}$$

$$r = 29.5 \text{ mm}$$

Ecuación. Cálculo del área de extensibilidad

$$AE = \pi(rp)^2$$

$$AE = (3,14159)(29.5 \text{ mm})^2$$

$$AE = 2733,96 \text{ mm}^2$$

Tabla 3-15: Datos del radio promedio

No	MUESTRA	P (g)	∅ (mm)	r (mm)	\bar{x}
1	5%	500	59	29.5	31
		1000	65	32.5	
2	10%	500	62	31	33
		1000	70	35	

Realizado por: Leguisamo Costales Jonathan Eduardo, 2019

Tabla 3-16: Datos del área de extensibilidad

No	MUESTRA	P (g)	r (mm)	AE (mm) ²	PROMEDIO AE (mm) ²
1	5%	500	29.5	2733.96	3026.13
		1000	32.5	3318.3044	
2	10%	500	31	3019.067	3433.757
		1000	35	3848.447	

Realizado por: Leguisamo Costales Jonathan Eduardo, 2019

4.5 Etapa 5. Control microbiológico.

- Los resultados del control microbiológico para el extracto de *kalanchoe pinnata* fue el siguiente:

Tabla 3-17: Control microbiológico

PARAMETROS	METODO	RESULTADO
Coliformes torales UFC/mL	Siembra en masa	AUSENCIA
Aerobios mesofilos UFC/mL	Siembra en masa	10
Mohos y levaduras	Siembra en masa	AUSENCIA

Fuente: Saqmic

Realizado por: Leguisamo Costales Jonathan Eduardo, 2019

- Los resultados del control microbiológico para la crema antibiótica a partir del extracto de *Kalanchoe pinnata* fue el siguiente:

PARAMETROS	METODO	RESULTADO
Coliformes torales UFC/mL	Siembra en masa	AUSENCIA
Aerobios mesofilos UFC/mL	Siembra en masa	20
Mohos y levaduras	Siembra en masa	AUSENCIA

Fuente: Saqmic

Realizado por: Leguisamo Costales Jonathan Eduardo, 2019

4.6 Proceso de producción

Diseño para el Tanque Macerador

- Densidad del extracto

$$\rho = 1.02 \text{ Kg/L}$$

- Cálculos para dimensionar un Tanque macerador

Volumen real de materia prima a utilizar

$$V_r = \frac{m}{\rho}$$

$$V_r = \frac{100 \text{ Kg}}{1.02 \text{ Kg/L}}$$

$$V_r = 98.039 \text{ L}$$

Dónde:

V_r : Volumen real (L)

m : Peso de la materia prima (Kg)

ρ : Densidad del extracto (Kg/L)

Volumen de seguridad

$$V_s = f_s * V_r$$

$$V_s = 0.15 * 98.039$$

$$V_s = 14.70 \text{ L}$$

Dónde:

V_s : Volumen de seguridad (L)

f_s : Factor de seguridad

V_r : Volumen real (L)

Volumen total

$$V_t = V_r + V_s$$

$$V_t = 98.039 + 14.70$$

$$V_t = 112.7448 L$$

Dónde:

V_t : Volumen total

V_r : Volumen real (L)

V_s : Volumen de seguridad (L)

Altura del tanque macerado

$$h = \frac{V_t}{\pi(0.35)^2}$$
$$h = \frac{0.1127448 m^3}{\pi(0.25m^2)}$$

$$h = 0.62 m$$

$$h = 62 cm$$

Dónde:

h : Altura del tanque

V_t : Volumen total

r : radio del tanque

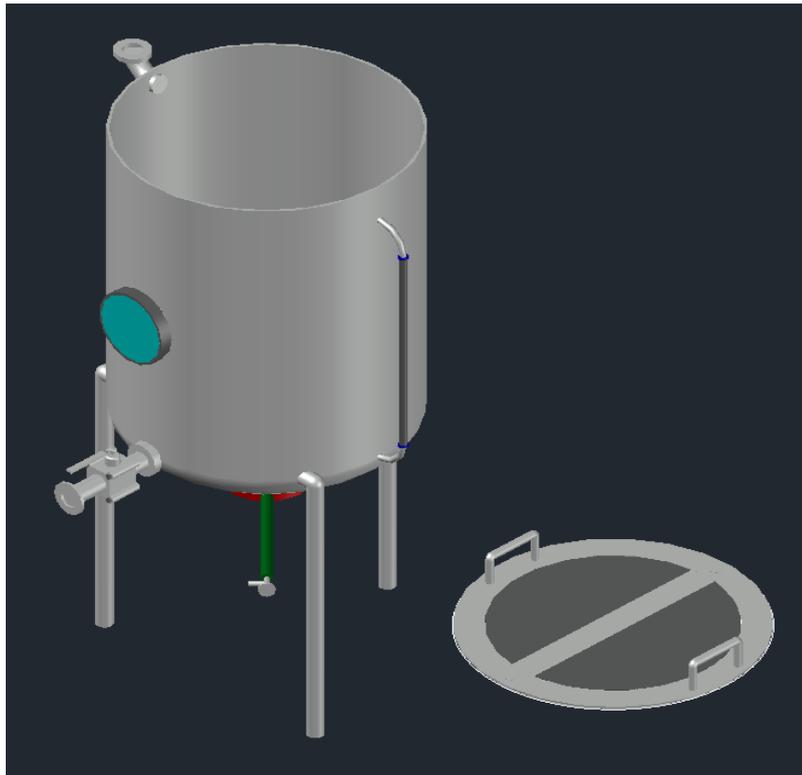


Figura 3-8. Tanque de macerado

Realizado por: Leguisamo Costales Jonathan Eduardo, 2019

- **Cálculos para dimensionar un tanque de cocción.**

Volumen real de materia prima a utilizar

$$V_r = \frac{m}{\rho}$$

$$V_r = \frac{100 \text{ Kg}}{1.02 \text{ Kg/L}}$$

$$V_r = 98.039 \text{ L}$$

Dónde:

V_r : Volumen real (L)

m : Peso de la materia prima (Kg)

ρ : Densidad del extracto (Kg/L)

Volumen de seguridad

$$V_s = f_s * V_r$$

$$V_s = 0.15 * 98.039$$

$$V_s = 14.70 L$$

Dónde:

V_s : Volumen de seguridad (L)

f_s : Factor de seguridad

V_r : Volumen real (L)

Volumen total

$$V_t = V_r + V_s$$

$$V_t = 98.039 + 14.70$$

$$V_t = 112.7448 L$$

Dónde:

V_t : Volumen total

V_r : Volumen real (L)

V_s : Volumen de seguridad (L)

Altura del tanque de cocción.

$$h = \frac{V_t}{\pi(0.35)^2}$$
$$h = \frac{0.1127448 m^3}{\pi(0.25m^2)}$$

$$h = 0.5742 m$$

$$h = 57.42 cm$$

Dónde:

h : Altura del tanque

V_t : Volumen total

r : radio del tanque

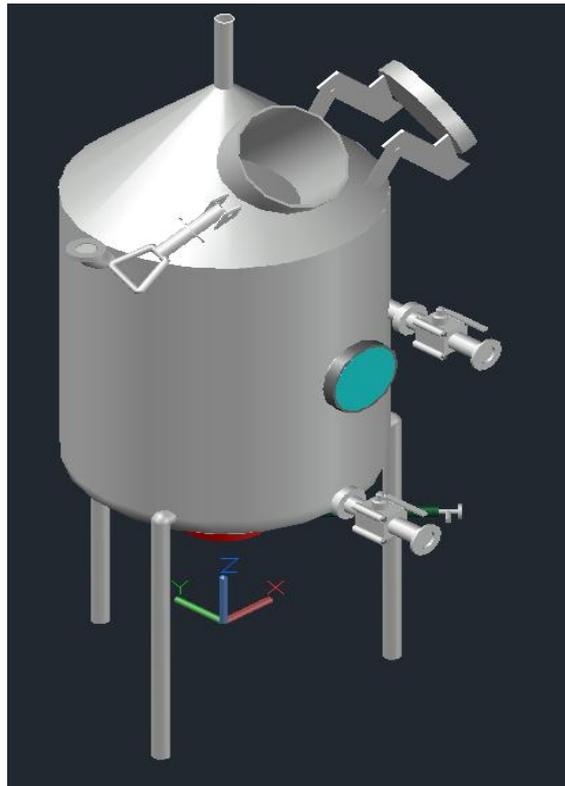


Figura 3-9. Tanque de Cocción

Realizado por: Leguisamo Costales Jonathan Eduardo, 2019

Cálculos para dimensionar un tanque de agitación

Volumen real de materia prima a utilizar

$$V_r = \frac{m}{\rho}$$

$$V_r = \frac{300 \text{ Kg}}{1.02 \text{ Kg/L}}$$

$$V_r = 294.117 \text{ L}$$

Dónde:

V_r : Volumen real (L)

m : Peso de la materia prima (Kg)

ρ : Densidad del extracto (Kg/L)

Volumen de seguridad

$$V_s = f_s * V_r$$

$$V_s = 0.15 * 294.117$$

$$V_s = 44.11 L$$

Dónde:

V_s : Volumen de seguridad (L)

f_s : Factor de seguridad

V_r : Volumen real (L)

Volumen total

$$V_t = V_r + V_s$$

$$V_t = 294.117 + 44.11$$

$$V_t = 338.23 L$$

Dónde:

V_t : Volumen total

V_r : Volumen real (L)

V_s : Volumen de seguridad (L)

Altura del tanque de agitación

$$h = \frac{V_t}{\pi(0.35)^2}$$
$$h = \frac{0.33823 m^3}{\pi(0.35m^2)}$$

$$h = 0.8789 m$$

$$h = 87.89 cm$$

Dónde:

h : Altura del tanque

V_t : Volumen total

r : radio del tanque

Altura de la chaqueta para ingreso de vapor

$$h_{chaqueta} = \frac{h}{1 + f}$$

$$h_{chaqueta} = \frac{0.8789}{1 + 0.10}$$

$$h_{chaqueta} = 0.799$$

Dónde:

$h_{chaqueta}$: Altura de la chaqueta

h : Altura del tanque

f : Factor de seguridad

Área del tanque de agitación

$$A = 2\pi r(h + r)$$

$$A = 2\pi * 0,35 * (0.8789 + 0,35)$$

$$A = 2.702 \text{ m}^2$$

Dónde:

A : Área del tanque

h : Altura del tanque

r : radio del tanque

Longitud entre el brazo y el fondo del tanque (L_f)

$$L_f = \frac{1}{2} * \emptyset_t$$

$$L_f = \frac{1}{2} * 0.7$$

$$L_f = 0.35 \text{ m}$$

Dónde:

L_f : Longitud de separación entre el brazo y el fondo.

\emptyset_t : Diámetro tanque.

Longitud del brazo de agitación

$$Lb = h - Lf$$
$$Lb = 0.8789 - 0,35$$
$$Lb = 0.5289 \text{ m}$$

Dónde:

Lb: Longitud del brazo.

h : Altura del tanque.

Lf: Longitud de separación entre el brazo y el fondo.

Espesor del rodete

$$Er = \frac{1}{10} (Lb)$$
$$Er = \frac{1}{10} (0.5289)$$
$$Er = 0.05289m$$

Dónde:

Er: Espesor del rodete

Lb: Longitud del brazo.

Diámetro del rodete

$$\varnothing_r = \frac{2}{3} \varnothing_t$$
$$\varnothing_r = \frac{2}{3} (0,70)$$
$$\varnothing_r = 0,47m$$

Dónde:

\varnothing_r : Diámetro del rodete

\varnothing_t : Diámetro tanque.

Número de Reynolds

$$N_{Re} = \frac{\phi_r^2 * N * \rho}{\mu}$$

$$N_{Re} = \frac{(0,47)^2 * (1,67) * 1100}{0,00116} = 349821,8$$

Dónde:

ϕ_r : Diámetro del rodete

N : Velocidad del fluido

μ : Viscosidad dinámica.

ρ : Densidad (Kg/L)

Potencia

$$P = \left(\frac{k}{gc}\right) * (\rho * N^3 * \phi_r^5)$$

$$P = \left(\frac{1,00}{1}\right) * (1100 * 1,67^3 * 0,47^5)$$

$$P = 117,49W$$

Dónde:

P : Potencia

ϕ_r : Diámetro del rodete

N : Velocidad del fluido

ρ : Densidad (Kg/L)

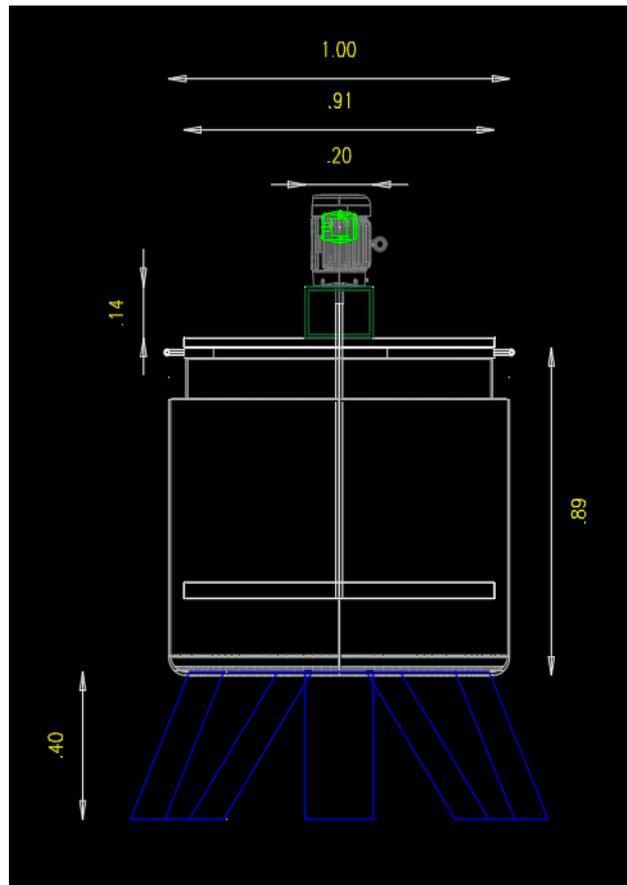


Figura 3-10. Tanque mezclador

Realizado por: Leguisamo Costales Jonathan Eduardo, 2019

4.6.1 Balance de masa

Balance de masa en la etapa de triturado



A= 3050 g Hojas Frescas

B= 3000 g Hojas trituradas

Para la etapa de triturado se recogió las hojas de churiyuyo y se redujo el tamaño; para el balance de masa se parte de la ecuación de conservación de la materia de acuerdo a lo siguiente.

$$\{Entrada\ de\ materia\ prima\} + \{Generación\} = \{Salida\ de\ producto\} + \{Acumulación\}$$

Ec. 1-4

Dado que el proceso de trituración es un cambio físico, no existirá interacción química entre las sustancias por lo que no habrá generación ni acumulación de las sustancias; de acuerdo con esto se anulan estos dos parámetros y la ecuación 4-1 se obtiene igual a:

$$\{Entrada\ de\ materia\ prima\} = \{Salida\ de\ producto\}$$

Ec 4-2

Con esto el balance de masa para la etapa de molido de las hojas de churiyuyo se tiene igual a:

$$E_C = S_p + S_r$$

Ec 4-2

Dónde:

E_C : Entrada de hojas de Churiyuyo, g/h.

S_p : Salida de hojas molidas, g/h.

S_r : Salida de residuos, g/h.

Se reemplaza los valores obtenidos en la etapa experimental en la ecuación 4-2 para determinar la cantidad de hojas molidas.

$$S_p = E_C - S_r$$

$$S_p = 3050 - 50$$

$$S_p = 3000\ g$$

Para el cálculo del flujo de salida de producto molido se utilizará la siguiente ecuación:

$$S_m = \frac{S_c}{t}$$

Dónde:

S_m : Salida de solido molido, g.

T : Tiempo necesario para la molienda, h.

$$S_m = \frac{3000 \text{ g}}{0.75 \text{ h}}$$

$$S_m = 4000 \frac{\text{g}}{\text{h}}$$

Con estos resultados se calcula el rendimiento del proceso de triturado de acuerdo a la siguiente ecuación:

$$\text{Rendimiento} = \frac{\text{Salida de hojas trituradas}}{\text{Entrada de hojas de churiyiyo}} * 100$$

Ec 5-2

Se reemplaza los valores obtenidos en la ecuación 5-2 y el rendimiento es igual a:

$$\text{Rendimiento} = \frac{3000}{3050} * 100$$

$$\text{Rendimiento} = 98.4\%$$

3.2.5.2. Balance de masa en la etapa de macerado



A=3000 g Hojas Trituradas

B= 3000 ml de metanol al 60%

C= 5613.24 g

La etapa de maceración consiste en la extracción sólido líquida de los componentes principales de las hojas de Churiyuyo; por lo que el balance de materia se muestra en la ecuación 6-2.

$$S_p = E_{ht} + E_e - S_i$$

Ec 6-2

Dónde:

S_p : Salida de producto extraído, g.

E_{ht} : Entrada de hojas trituradas, g.

E_e : Entrada de metanol, g.

S_i : Salida de impurezas, g.

- **Cálculo de la masa de entrada de metanol**

$$E_e = \rho_e * Q_e * C_e$$

Ec 7-2

Dónde:

E_e : Entrada de metanol, g.

ρ_e : Densidad de metanol, g/cm³.

Q_e : Flujo masico de metanol, cm³/h

C_e : Concentración de metanol, %.

De acuerdo a los valores obtenidos a escala de laboratorio la masa de metanol añadida es igual a:

$$E_e = 1.6 * \frac{3000}{0.25} * 0.6$$

$$E_e = 11520 \text{ g}$$

Sustituyendo los valores obtenidos a nivel de laboratorio y la ecuación 7-2 en la ecuación 6-2; la masa de salida de hojas maceradas, de acuerdo a esto se tiene:

$$S_p = 3000 + 11520 - 266.80$$

$$S_p = 14253.2 \frac{\text{g}}{\text{h}}$$

Para determinar el porcentaje de extracción de los componentes activos es necesario determinar el porcentaje de sólidos extraídos de acuerdo al balance por componentes que se muestre en la ecuación 8-2.

$$X_{se}E_{ht} = X_{ss}S_p$$

Ec 8-2

Dónde:

E_{ht} : Entrada de hojas trituradas, g.

X_{se} : Porcentaje de sólidos a la entrada, %.

S_p : Salida de producto extraído, g.

X_{ss} : Porcentaje de sólidos a la salida, %.

Se reemplaza los datos en la ecuación 8-2; para determinar la cantidad de sólidos presentes en el compuesto extraído.

$$X_{ss} = \frac{X_{se}E_{ht}}{S_p}$$

$$X_{ss} = \frac{3000 * 0.25}{5613.24}$$

$$X_{ss} = 0.13 \frac{g \text{ Sólido}}{g \text{ Macerado}}$$

Para el cálculo del rendimiento en el proceso de extracción se utiliza la ecuación 9-2.

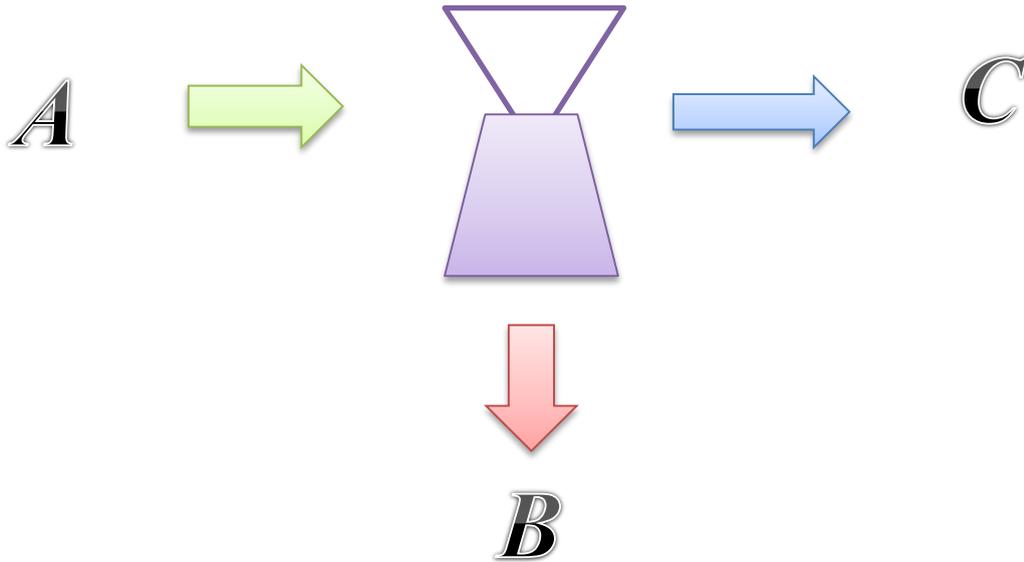
$$\text{Rendimiento} = \frac{X_{ss}S_p}{X_{se}E_{ht}} * 100$$

Ec 8-2

$$\text{Rendimiento} = \frac{0.13 * 5613.24}{0.25 * 3000} * 100$$

$$\text{Rendimiento} = 97.30\%$$

3.2.5.2. Balance de masa en la etapa de filtrado



A= 5613.24 g de Mezcla

B=1540.38 g de Residuos de hojas

C=3993 mL o 4072.86 g de Mezcla filtrada

En la etapa de filtrado se da por efecto de fuerzas físicas, con lo que el balance de materia no tendrá transformación química; siendo solo un proceso de entrada y salida de corrientes sin acumulación ni transformación; para el balance se utiliza la ecuación 9-2 como se muestra a continuación.

$$S_f = E_m - S_i$$

Ec 9-2

Dónde:

S_f : Salida de producto filtrado, g.

E_m : Entrada de hojas maceradas, g.

S_i : Salida de impurezas, g.

Se reemplaza los valores obtenidos para en la etapa experimental y la cantidad de producto filtrado es igual a:

$$S_f = 5613.24 - 1534.38$$

$$S_f = 4078.86 \text{ g}$$

Para el cálculo del flujo de salida de producto filtrado se utilizará la siguiente ecuación:

$$S_f = \frac{S_c}{t}$$

Dónde:

S_f : Salida de solido filtrado, g.

T: Tiempo necesario para la filtración, h.

$$S_f = \frac{4078.86g}{1h}$$

$$S_f = 4078.86 \frac{g}{h}$$

El cálculo del rendimiento para la etapa de filtrado se tiene de acuerdo a la ecuación 10-2.

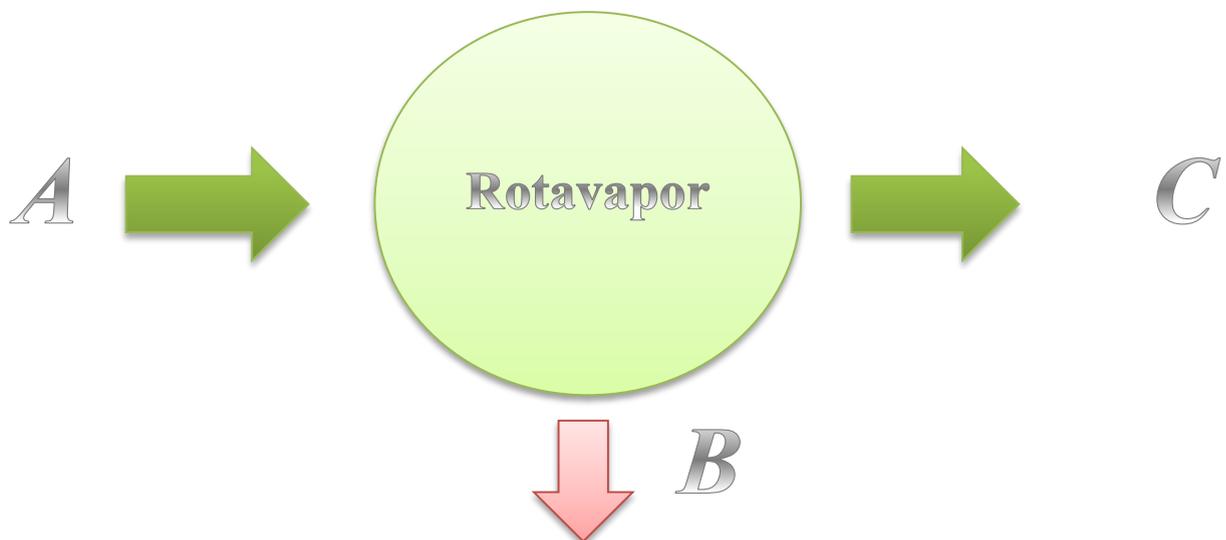
$$\text{Rendimiento} = \frac{\text{Salida de filtrado}}{\text{Entrada de producto macerado}} * 100$$

Ec 10-2

$$\text{Rendimiento} = \frac{4078.86}{5613.24} * 100$$

$$\text{Rendimiento} = 72.66\%$$

3.2.5.2. Balance de masa en la etapa de concentrado



A= 3993 ml de Mezcla filtrada

B= 2954.82 ml de metanol recuperado

C= 1038.18 ml de extracto concentrado

En la etapa de concentrado se elimina la humedad de la solución para aumentar la cantidad de sólidos presentes en la muestra, por lo que es necesario realizar un balance de masa global y un balance de masa por componentes de acuerdo a lo que se muestra en la ecuación 11-2 y 12-2.

$$E_f = S_c + S_i$$

Ec 11-2

Dónde:

E_f : Entrada de filtrado, g.

S_c : Salida de concentrado, g.

S_i : Salida de impurezas, g.

$$X_{sf}E_f = X_{sc}S_c + X_{si}S_i$$

Ec 12-2

Dónde:

E_f : Entrada de filtrado, g.

S_c : Salida de concentrado, g.

S_i : Salida de impurezas, g.

X_{sf} : Cantidad de sólidos en el filtrado, g.

X_{sc} : Cantidad de sólidos en el concentrado, g.

La ecuación 11-2 se despeja la cantidad de concentrado a la salida.

$$E_f - S_i = S_c$$

Se reemplaza los valores obtenidos en la ecuación 12-2; con lo que se tiene:

$$X_{sf}E_f = (E_f - S_i)X_{sc} + X_{si}S_i$$

Resolviendo la ecuación; la concentración de sólidos en el concentrado es igual a:

$$X_{sc} = \frac{X_{sf}E_f - X_{si}S_i}{E_f - S_i}$$

$$X_{sc} = \frac{0.13 * 4078.86 - 0.10 * 3019.92}{4078.86 - 3019.92}$$

$$X_{sc} = 0.22 \frac{g \text{ Solido}}{g \text{ Concentrado}}$$

Para el cálculo de la cantidad de concentrado se reemplaza los valores obtenidos en la ecuación 11-2.

$$S_c = 4078.86 - 3019.92$$

$$S_c = 1058.94 \text{ g}$$

Para el cálculo del flujo de salida de producto concentrado se utilizará la siguiente ecuación:

$$S_p = \frac{S_c}{t}$$

Dónde:

Sc: Salida de solido concentrado, g.

T: Tiempo necesario para el concentrado, h.

$$S_p = \frac{1058.94}{6}$$

$$S_p = 176.49 \frac{g}{h}$$

Con estos valores el rendimiento para el proceso de concentrado se calcula de acuerdo a la ecuación 13-2.

$$\text{Rendimiento} = \frac{\text{Salida de concentrado}}{\text{Entrada de filtrado}} * 100$$

Ec 13-2

$$\text{Rendimiento} = \frac{1058.94}{4078.86} * 100$$

$$\text{Rendimiento} = 25.96\%$$

3.2.5.2. Balance de masa en la etapa de mezclado



A= Extracto de Kalanchoe pinnata

B= Crema Base

R= Residuo Generado

C= Crema Antibiotica 5%

La etapa de mezclado se consigue por acción de las fuerzas físicas; por lo que el balance de masa solo se tendrá entrada y salida de procesos; sin acumulación ni generación de productos; de acuerdo con esto el balance de masa para determinar la cantidad de crema obtenida se muestra en la ecuación 14-2.

$$S_c = E_c + E_{ac} + E_p + E_g + E_w + E_d$$

Ec 14-2

Dónde:

S_c: Salida de crema, g.

E_c: Entrada de concentrado, g.

E_{ac}: Entrada de alcohol cetilico, g.

E_p: Entrada de parafina, g.

E_g: Entrada de glicerina, g.

E_w: Entrada de agua destilada, g.

E_d: Entrada de dehyquart, g.

- **Calculo de la masa de agua destilada**

$$E_w = V_w * \rho_w$$

Dónde:

E_w : Masa de entrada de agua destilada, g.

V_w : Volumen de entrada de agua destilada, g.

ρ_w : Densidad de agua destilada, g/cm³.

Se reemplaza los valores obtenidos en la ecuación 15-2; con lo que la masa de agua destilada es igual a:

$$E_w = 800 * 0.98$$

$$E_w = 784 \text{ g}$$

Obtenida la cantidad de agua adicionada, se calcula la cantidad de crema obtenida; reemplazando los valores en la ecuación 14-2.

$$S_c = 1058.56 + 60 + 60 + 60 + 784 + 20$$

$$S_c = 2042 \text{ g}$$

Para el cálculo del flujo de salida de producto mezclado se utilizara la siguiente ecuación:

$$S_p = \frac{S_c}{t}$$

$$S_p = \frac{1058.56 + 60 + 60 + 60 + 784 + 20}{1h}$$

$$S_p = \frac{2042 \text{ g}}{1h}$$

$$S_p = 2042 \frac{\text{g}}{h}$$

- **Calculo del volumen de crema obtenido**

$$V_c = \frac{S_c}{\rho_c}$$

Dónde:

V_c : Volumen de crema obtenido, ml.

ρ_c : Densidad de la crema, mg/ml.

$$V_c = \frac{2042}{2.042}$$

$$V_c = 1000 \text{ ml}$$

3.2.5.2. Rendimiento global del proceso

Para el cálculo del rendimiento global se toma en cuenta la salida de crema obtenida y la entrada de hojas de churiyuyo además de la entrada de los aditivos en la etapa de mezclado; de acuerdo con esto el rendimiento global es igual a:

$$\text{Rendimiento} = \frac{\text{Salida de crema}}{\text{Entrada de hojas} + \text{Entrada de aditivos}} * 100$$

Ec 17-2

$$\text{Rendimiento} = \frac{2042}{3050 + 60 + 60 + 60 + 20} * 100$$

$$\text{Rendimiento} = 62.83\%$$

4.6.2 Balance de energía

- **Rotavapor**

Balance de masa

$$m_{\text{hoja}} + m_{\text{metanol}} = m_{\text{mezcla}}$$

Balance de energía

$$m_{\text{hoja}}h_{\text{hoja}} + m_{\text{metanol}}h_{\text{metanol}} = Q + m_{\text{mezcla}}h_{\text{mezcla}}$$

Datos:

$$T_f = 55^\circ\text{C} + 273 = 328^\circ\text{K}$$

$$T_o = 25^\circ\text{C} + 273 = 298^\circ\text{K}$$

$$C_p = 4178,1 \text{ J/Kg}^\circ\text{K}$$

Tomado de: (Moreno, 2015) valor de referencia

$$m_{\text{mezcla}} = 4072,86 \text{ gr} * \frac{1\text{kg}}{1000\text{gr}} = 4,0728\text{kg}$$

$$Q = mc_p \Delta t$$

$$Q = 4,0728\text{Kg} * 4178,1 \text{ J/Kg}^\circ\text{K} * (328 - 298)^\circ\text{K}$$

$$Q = 510496,97J * \frac{1KJ}{1000J} = 510,49KJ$$

- **Fundición**

Balance de masa

$$m_{alcohol} + m_{glicerina} + m_{parafina} = Q + m_{mezcla}$$

Balance de energía

$$m_{alcohol}h_{alcohol} + m_{glicerina}h_{glicerina} + m_{parafina}h_{parafina} = Q + m_{mezcla}h_{mezcla}$$

Datos:

$$T_f = 80^\circ C + 273 = 353^\circ K$$

$$T_o = 18^\circ C + 273 = 291^\circ K$$

$$C_p = 739,86 J/Kg^\circ K$$

Tomado de: (GARCIA, 2013) valor de referencia.

$$m_{mezcla} = m_{glicerina} + m_{parafina} + m_{alcohol}$$

$$m_{mezcla} = 60gr + 60gr + 20gr$$

$$m_{mezcla} = 140 gr * \frac{1kg}{1000gr} = 0,14kg$$

$$h_{cambiofase} = m \int_{18}^{80} C_p * dT$$

$$h_{cambiofase} = 0,14kg * C_p \int_{18}^{80} t$$

$$h_{cambiofase} = 0,14kg * 739,86 J/Kg^\circ K * (353 - 291)^\circ K$$

$$h_{cambiofase} = 6421,98J * \frac{1kJ}{1000J} = 6,42198KJ$$

- **Mezclador para calentar el H₂O**

Datos:

$$T_f = 80^\circ C$$

$$T_o = 25^\circ C$$

$$C_p = 4,18 J/gr^\circ C$$

Cp del agua

$$m_{agua} = 800ml * \frac{1l}{1000ml} * \frac{1m3}{1000l} * 1000 \frac{kg}{m3} = 0,8kg = 800gr$$

$$Q = mc_p \Delta t$$

$$Q = 800gr * 4,18 J/gr^\circ C * (80 - 25)^\circ C$$

$$Q = 183920J * \frac{1KJ}{1000J} = 183,92KJ$$

4.6.3 Requerimientos de tecnología, equipos y maquinaria

4.6.3.1 Equipos para el proceso

Los equipos tecnológicos y maquinaria requerida en este proyecto son los siguientes;

Tabla 3-18: Características y descripción de los equipos.

EQUIPOS	CARACTERÍSTICAS	DESCRIPCIÓN
Molienda	<input type="checkbox"/> Automático <input type="checkbox"/> Fácil utilización <input type="checkbox"/> Alimentación eléctrica	<ul style="list-style-type: none"> • Fabricado en acero inoxidable • 340 • Sistema automatizado • Funciona en base a una bomba de 1/5 HP
Tanque de Macerado	<input type="checkbox"/> Automático <input type="checkbox"/> Fácil utilización <input type="checkbox"/> Alimentación eléctrica <input type="checkbox"/> Fácil de limpiar	<ul style="list-style-type: none"> • Fabricado en acero inoxidable <ul style="list-style-type: none"> ○ 340 • Capacidad 100L • Sistema automatizado • Termómetro
Tanque de cocción	<input type="checkbox"/> Fácil instalación <input type="checkbox"/> Generador de vapor	<ul style="list-style-type: none"> • Fabricado en acero inoxidable <ul style="list-style-type: none"> ○ 340 • Capacidad 100L • Sistema automatizado • Termómetro <input type="checkbox"/> • Chimenea
Tanque de agitación	<input type="checkbox"/> Automático <input type="checkbox"/> Fácil utilización <input type="checkbox"/> Alimentación eléctrica <input type="checkbox"/> Fácil de limpiar	<ul style="list-style-type: none"> • Fabricado en acero inoxidable <ul style="list-style-type: none"> ○ 340 • Capacidad 100L • Sistema automatizado • Agitador tipo axial • <input type="checkbox"/> Termómetro
Barril-contenedor	<input type="checkbox"/> Hermético <input type="checkbox"/> Fácil de limpiar	<ul style="list-style-type: none"> • Acero inoxidable • Capacidad de 1000 L
Embazadora	<input type="checkbox"/> Capacidad de llenar frascos de varios volúmenes <input type="checkbox"/> Fácil y de práctico funcionamiento <input type="checkbox"/>	<ul style="list-style-type: none"> • Acero inoxidable • Capacidad para cuatro frascos de llenado • Funciona en base a una bomba de 1/5 HP • <input type="checkbox"/> Cuenta con un boya para delimitar la entrada de caudal

Fuente: Tomado de cotización de equipos
Realizado por: Leguisamo Costales Jonathan Eduardo, 2019

4.6.3.2 Molienda

Molienda. Es una operación unitaria que reduce el volumen promedio de las partículas de una muestra sólida. Generalmente se habla de molienda cuando se tratan partículas de tamaños inferiores a 1" (1" = 2.54 cm) siendo el grado de desintegración mayor al de trituración.

La reducción se lleva a cabo dividiendo o fraccionando la muestra por medios mecánicos hasta el tamaño deseado. Los métodos de reducción más empleados en las máquinas de molienda son compresión, impacto, rotamiento de cizalla y cortado.



Figura 3-11. Molienda para hojas

Fuente: Tomado de brightsail.

4.6.3.3 *Tanque de macerado*

Olla para acero inoxidable con falso fondo, Válvula de 1/2 NTP. Termómetro de 0 a 150°C, Motor para la agitación con aspas con botón de paro y arranque y quemador de alta presión.



Figura 3-12. Tanque de macerado

Fuente: Tomado de Inoxt México

4.6.3.4 Tanque de cocción

Tienen un sistema de quemadores atmosféricos que se encargan del calentamiento indirecto del agua, dicho sistema posee una chimenea para la salida de los gases de combustión, además, poseen un sistema de control de temperatura que mantiene el agua en el valor determinado de calentamiento.



Figura 3-13. Tanque de cocción

Fuente: Tomado de Klarstein

4.6.3.5 Tanque de agitación

Reactor de tanque con agitación continua, es un reactor que generalmente se usa en procesos industriales, también se conoce como reactor de retro mezcla. Este reactor opera estacionariamente y de modo que se dé una buena mezcla, generalmente se realiza su modelización sin variaciones de concentración, temperatura o velocidades de reacción en todos los puntos del recipiente. Debido a que la temperatura y la concentración son idénticas en todos los puntos del reactor, son las mismas también a la salida. En los sistemas en el que el mezclado se aleja mucho de lo ideal, el modelo de bien mezclado no es adecuado, y se debe recurrir a otros sistemas de modelamiento como tiempos de residencia para obtener resultados satisfactorios. (Fogler, 2008, p.10)



Figura 3-14. Tanque de agitación de 500 litros de capacidad

Fuente: Tomado de cotización de equipos

4.6.3.6 Envasadora de crema.

La envasadora para productos densos Inicia 5, está indicada para el envasado y dosificado de productos muy densos, por ejemplo, la pasta de dientes.

No necesita compresor de aire para funcionar, y es de muy fácil limpieza. Opcionalmente dispone de platos giratorios para depositar los envases y que se vayan llenando, mientras el operario puede ir cerrando.

También tiene la opción del llenado por peso con báscula, para poder dosificar dos productos diferentes en un mismo envase.



Figura 3-15. Envasadora de cremas

Fuente: Tomado de sistematic.

4.6.3.7 Tanque de depósito.

Artefacto de acero inoxidable de 600 L de capacidad, con revestimiento alisado en su interior, ideal para almacenamiento de líquidos, sustancias, etc., consta con un orificio de entrada en la parte inferior de su base, dos orificios de escape y control de variables (temperatura, pH, etc.) en la parte superior del contenedor se encuentra una tapa hermética y una parte adaptable para un equipo de succión como una bomba, mediante la cual se puede extraer el contenido.



Figura 3-16. Barril contenedor de 600 litros de capacidad

Fuente: Tomado de cotización de equipos.

4.6.4 Equipos para controlar la calidad del proceso

Para el control de la calidad del proceso se necesitan controlar diferentes parámetros como la temperatura, el pH, la densidad, la viscosidad etc. Para ello se emplean diferentes equipos.

Tabla 3-19: Características y descripción de equipos de análisis

EQUIPO	CARACTERÍSTICA/DESCRIPCIÓN
Balanza analítica	<ul style="list-style-type: none">• Equipo de sobremesa• Platillo de acero inoxidable• El dispositivo display puede situarse en diferentes lugares.• Cable de 1,5 m. de longitud.• Tamaño del display: 200x100x55 mm.• Tamaño del dígito: 25 mm.• Otras unidades de pesaje: lb, oz, ozt, tLH, tLT• Puede funcionar también mediante baterías (9 V)• Función de auto desconexión (AUTO-OFF) para ahorrar energía tras un lapso de 3 minutos.• • Adaptador RS 232 C bidireccional para conexión al ordenador o impresora.

Densímetro alcoholímetro	<ul style="list-style-type: none"> • ALCOHOLIMETRO 0-100% + VIDRIO TUBO de ENSAYO + Termómetro - Ideal para medir el grado alcohólico en su destilado • Rango de medición: 0-100% 24cm de largo • No utilice para el alcohol que contienen azúcar • Este alcoholímetro determina el nivel de alcohol presente en su destilado y no debería faltar en ningún proceso de destilación. • Este alcoholímetro trabaja exactamente a una temperatura de 20 grados. • Marca AlcoFermBrew
Medidor de pH	<ul style="list-style-type: none"> • Equipo de sobremesa • Modelo HI 2211 • Simplicidad en el diseño • Muestra simultanea de pH y T° • Cinco tampones estándar • Compensación automática de temperatura • Calibración automática • LCD extra amplio • Rango de mV ampliado
Rotavapor	<ul style="list-style-type: none"> • Equipo de sobremesa • Modelo RVO 400 SD • Funcionamiento por electricidad

Realizado por: Leguisamo Costales Jonathan Eduardo, 2019

Tabla 3-20: Características y descripción de instrumentos de análisis

INSTRUMENTO	CARACTERÍSTICAS
Probeta	<ul style="list-style-type: none"> • Material de vidrio o plástico • Varias dimensiones • Medida exacta
Reverbero	<ul style="list-style-type: none"> • Fabricada en acero inoxidable • 1100 watts de potencia • Control de temperatura ajustable • Luz indicadora de encendido • Base antideslizante
Varilla de agitación	<ul style="list-style-type: none"> • Material de vidrio • Útil para agitar cualquier sustancia
Tubos de ensayo	<ul style="list-style-type: none"> • Material de vidrio • Necesario para tomar muestras
Matraz Erlenmeyer	<ul style="list-style-type: none"> • Fabricados con vidrio de borosilicato Pyrex™ para ofrecerla más alta resistencia a choques térmicos y corrosión química • Graduaciones y zona de rotulación en esmalte blanco • Graduados en toda su capacidad • Impresos con código de trazabilidad para consulta de certificado de lote descargable
Termómetro	<ul style="list-style-type: none"> • Material de vidrio • Control de temperatura • Diferentes tamaños

Pipetas	<ul style="list-style-type: none"> • Material de vidrio • Diferentes volúmenes • Ideal para toma de volúmenes
Micropipetas	<ul style="list-style-type: none"> • Material plástico de medición. • Volúmenes en micro litros. • Ideal para toma de mediciones de pequeñas muestras.
Espátula	<ul style="list-style-type: none"> • Metálicas
Gra dilla	<ul style="list-style-type: none"> • Material de plástico y metal • Practico para colocar tubos de ensayo
Piseta	<ul style="list-style-type: none"> • Material de plástico • Diferentes tamaños • Practico para lavar materiales

Fuente: Tomado de presupuesto de materiales de laboratorio, mercado libre ecuador.

4.7 Análisis del costo/beneficio del proyecto.

4.7.1 Análisis de costo de la materia prima e insumos

- Costos de materia prima, insumos y otros componentes para obtención de una crema antibiótica a partir del extracto de *Kalanchoe pinnata*.

Tabla 3-21: Costo de la materia prima e insumos

Materias Primas	Costos (\$)	Unidad
Hojas de <i>kalanchoe pinnata</i>	3,00	Kg
Metanól	7,00	Litro
Alcohol cetílico	12,00	Kg
Parafina	4,50	Kg
Glicerina	10,50	Kg
Dehyquart	4,00	Kg
Agua destilada	1,50	Litro

Realizado por: Leguisamo Costales Jonathan Eduardo, 2019

Costos de materia prima, insumos y otros componentes para elaboración de un lote de 100 L de una crema antibiótica a partir del extracto de *kalanchoe pinnata*.

Tabla 3-22: Costo de la materia prima e insumos para un lote de 100 litros

Materias Primas	Cantidad	Unidad	Costo/Lote(\$)
Hojas de <i>kalanchoe pinnata</i>	10	Kg	30,00
Metanól	10	Lt	70,00
Alcohol cetílico	6	Kg	72,00
Parafina	6	Kg	27,00
Glicerina	2	Kg	21,00
Dehyquart	6	Kg	24,00
Agua destilada	100	Lt	150,00
Total			\$394

Realizado por: Leguisamo Costales Jonathan Eduardo, 2019

4.8 Análisis de costos de equipos e instrumentos de laboratorio

- Costos de producción para la elaboración de la crema antibiótica.

Tabla 3-23: Costo de equipos e instrumentos

Equipos para la producción		
EQUIPOS	CANTIDAD	COSTO \$
Molienda	1	\$ 2.782,00
Tanque de maceración	1	\$ 5.755,86
Tanque de cocción	1	\$ 6.969
Tanque de mezclado	2	\$ 27.600,00
Depósito o contenedor	1	\$ 2.800,00
Envasadora de cremas	1	\$ 150,00
Total		\$ 46.056,86

Realizado por: Leguisamo Costales Jonathan Eduardo, 2019

Equipos para el control de procesos		
EQUIPOS	CANTIDAD	COSTO \$
Medidor de pH	1	544,50
Picnómetro	1	75,17
Balanza Analítica	1	348,46
Total		968,13

Realizado por: Leguisamo Costales Jonathan Eduardo, 2019

Tabla 3-24. Costos de materiales para el control de calidad

MATERIALES	Volumen	Costo (\$/unidad)	Cantidad	Total (\$)
Vasos de Precipitación	50 ml	3,00	2	6,00
	250 ml	8,00	4	32,00
	500 ml	12,00	2	24,00
	1000 ml	14,80	1	14,80
Probeta	50 ml	7,80	1	7,80
	100 ml	12,50	1	12,50
	1000 ml	14,80	1	44,45
Matraz aforado	500 ml	22,60	1	22,60
Varilla de agitación		5,00	1	5,00
Tubos de ensayo		0,80	6	4,80
Espátula		3,50	1	3,50
Gradilla		11,00	1	11,00
Termómetro		18,00	1	18,00
Caja Petri		2,50	24	60,00
Costo total				\$266.45

Realizado por: Leguisamo Costales Jonathan Eduardo, 2019

Tabla 3-25: Costos de envases para la crema antibiótica.

ENVASE	COLOR	VOLUMEN (ml)	COSTO \$/unidad
PET	Blanco	50	0,45
PET	Transparente	30	0,10
<i>Nota: Todos los envases incluyen tapa rosca</i>			

Fuente: Tomado de cotización de envases

Realizado por: Leguisamo Costales Jonathan Eduardo, 2019

4.9 Análisis de costos de producción

Análisis de costo para la implementación de una planta productora de cremas antibióticas.

Tabla 3-26: Costos de la infraestructura de una planta de producción de cremas antibióticas.

Parámetro	Cantidad	COSTO (\$)
Mano de obra	10 obreros	15000,55
Cemento	1000 quintales	7250,00
Arena	10 volquetas	800,00
Ripio	10 volquetas	1000,00
Ladrillos	9000 unidades	1700,00
Hierro	200 quintales	9000,00
Agua	100000 litros	1000,00
Transporte	Varios	1000,00
Otros	Varios	2000,00
Presupuesto total requerido		38750.55

Realizado por: Leguisamo Costales Jonathan Eduardo, 2019

Análisis de costo de producción de cremas antibióticas.

Tabla 3-27: Costos de implementación de una planta de producción de cremas antibióticas.

INGENIERÍA DE PLANTA	COSTOS (\$)
Equipos de producción	46056,86
Equipos de control de proceso	968,13
Instrumentos de laboratorio	266.45
Infraestructura	38750.55
Instalaciones	1000,00
Otros	1000,00
TOTAL de costo de una planta productora de cremas antibióticas.	\$88041,99

Realizado por: Leguisamo Costales Jonathan Eduardo, 2019

Tabla 3-28: Costo de producción mensual de crema antibiótica.

# Lotes	Volumen (L)	Tiempo (días)	Costo (\$)
1 Lote	100	17	394
6 lotes	600	30	2364,00

Realizado por: Leguisamo Costales Jonathan Eduardo, 2019

4.10 Inflación

Para el análisis financiero se utilizaron valores de inflación del país desde (2010-2018) para posteriormente aplicar el método porcentual y calcular una proyección de la inflación en los próximos años.

Tabla 3-29: Inflación

Inflación del Ecuador (2010-2018)									
Año	2010	2011	2012	2013	2014	2015	2016	2017	2018
Inflación	3.33	5.41	4.16	2.7	3.67	3.8	1.12	-0.2	0.39

Fuente: Instituto Nacional de Estadísticas y censo

Realizado por: Leguisamo Costales Jonathan Eduardo, 2019

Inflación estimada: 2.66%

El proyecto está diseñado para un tiempo de 5 años por lo cual se toma la misma inflación por año.

4.10.1 Egresos

Tabla 3-30: Egresos

Materiales	COSTOS (\$)	Vida útil	Depreciación Anual
Equipos de producción	46056,86	12	3838,071
Equipos de control de proceso	968,13	10	96,813
Instrumentos de laboratorio	266,45	5	53,29
Infraestructura	38750,55	25	1550,022
Envases y etiquetas	1170,00	5	234
TOTAL (dólares)	87211,99		5772,196

Realizado por: Leguisamo Costales Jonathan Eduardo, 2019

4.10.1.1 Abono a capital

Tabla 3-31: Abono a capital

Año	Cuota	Saldo
0		87211,99
1	17442,398	69769,592
2	17442,398	52327,194
3	17442,398	34884,796
4	17442,398	17442,398
5	17442,398	0

Realizado por: Legisamo Costales Jonathan Eduardo, 2019

Gastos de producción.

Tabla 3-32: Gastos de producción.

Detalle	Años				
	1	2	3	4	5
Electricidad (KW/h)	1010,00	1036.866	1063.732	1090.598	1117.464
Agua	750,00	769.95	789.9	809.85	829.8
Mantenimiento	2120,00	2176.392	2232.784	2289.176	2345.568
Total	3880,00	3983.208	4086.416	4189.624	4292.832

Realizado por: Legisamo Costales Jonathan Eduardo, 2019

4.10.1.2 Salario

Para la producción de la crema antibiótica se necesitan de 3 técnicos-operarios para el procesamiento de la materia prima, para la elaboración de la crema y para el control de calidad del producto.

Tabla 3-33: Salario

Operario 1						
Concepto	Frecuencia	Año1	Año 2	Año 3	Año 4	Año 5
Salario Acorde	Mensual	800	810	820	830	840
IESS empleado	Mensual	75.6	76.545	77.49	78.435	79.38
Salario a recibir	Mensual	724.4	733.455	742.51	75.565	760.62
Décimo tercero	Anual	800	810	820	830	840
Décimo cuarto	Anual	544.00	550.80	557.60	564.60	571.20
Total	Anual	10036.80	10162.26	10287.72	10413.18	10538.64

Realizado por: Leguisamo Costales Jonathan Eduardo, 2019

Operario 2						
Concepto	Frecuencia	Año1	Año 2	Año 3	Año 4	Año 5
Salario Acorde	Mensual	800	810	820	830	840
IESS empleado	Mensual	75.6	76.545	77.49	78.435	79.38
Salario a recibir	Mensual	724.4	733.455	742.51	75.565	760.62
Décimo tercero	Anual	800	810	820	830	840
Décimo cuarto	Anual	544.00	550.80	557.60	564.60	571.20
Total	Anual	10036.80	10162.26	10287.72	10413.18	10538.64

Realizado por: Leguisamo Costales Jonathan Eduardo, 2019

Operario 3						
Concepto	Frecuencia	Año1	Año 2	Año 3	Año 4	Año 5
Salario Acorde	Mensual	800	810	820	830	840
IESS empleado	Mensual	75.6	76.545	77.49	78.435	79.38
Salario a recibir	Mensual	724.4	733.455	742.51	75.565	760.62
Décimo tercero	Anual	800	810	820	830	840
Décimo cuarto	Anual	544.00	550.80	557.60	564.60	571.20
Total	Anual	10036.80	10162.26	10287.72	10413.18	10538.64

Realizado por: Leguisamo Costales Jonathan Eduardo, 2019

4.10.1.3 Salario total a pagar.

Tabla 3-34: Salario total a pagar a los operarios

Salarios/Año	Numero de Operarios	Total
10036.80	3	30110.4
10162.26	3	30486.78
10287.72	3	30863.16
10413.18	3	31239.54
10538.64	3	31615.92

Realizado por: Leguisamo Costales Jonathan Eduardo, 2019

4.10.1.4 Egreso total

En la siguiente tabla se muestran los egresos totales en un periodo de 5 años.

Tabla 3-35: Egreso total

Variables	Año 1	Año 2	Año 3	Año 4	Año 5
Materiales e insumos	394	404.4804	414.9608	425.4412	435.9216
Gastos de Producción	3880,00	3983.208	4086.416	4189.624	4292.832
Depreciación	5772,196	5772,196	5772,196	5772,196	5772,196
Abono a Capital	17442,398	17442,398	17442,398	17442,398	17442,398
Salario	30110.4	30486.78	30863.16	31239.54	31615.92
Total	57598.994	58089.0624	58579.1308	59069.1992	59559.2676

Realizado por: Leguisamo Costales Jonathan Eduardo, 2019

4.10.1.5 Ingresos totales

Para el análisis del ingreso se toma la capacidad de producción de (100 kg/mes), proyectando a una escala semanal y mensual, valorando el producto al precio que se estima en otras farmacéuticas. Y calculando anualmente el beneficio económico de la crema.

Tabla 3-36: Ingresos Totales

Meses	Día/Mes	Año 1	Año 2	Año 3	Año 4	Año 5
Enero	30	12367.46	12367.46	12367.46	12367.46	12367.46
Febrero	30	12367.46	12367.46	12367.46	12367.46	12367.46
Marzo	30	12367.46	12367.46	12367.46	12367.46	12367.46
Abril	30	12367.46	12367.46	12367.46	12367.46	12367.46
Mayo	30	12367.46	12367.46	12367.46	12367.46	12367.46
Junio	30	12367.46	12367.46	12367.46	12367.46	12367.46
Julio	30	12367.46	12367.46	12367.46	12367.46	12367.46
Agosto	30	12367.46	12367.46	12367.46	12367.46	12367.46
Septiembre	30	12367.46	12367.46	12367.46	12367.46	12367.46
Octubre	30	12367.46	12367.46	12367.46	12367.46	12367.46
Noviembre	30	12367.46	12367.46	12367.46	12367.46	12367.46
Diciembre	30	12367.46	12367.46	12367.46	12367.46	12367.46
Total		148409.52	148409.52	148409.52	148409.52	148409.52
Precio de la crema				3.50		
Capacidad de producción Kg (mensual)				3533.56		
Capacidad de producción Kg (semanal)				824.6		
Capacidad de producción Kg –día				117.8		
Tiempo de producción				18 horas		

Realizado por: Leguisamo Costales Jonathan Eduardo, 2019

4.10.1.6 Análisis del B/C, VAN y TIR

Tabla 3-37: Análisis del B/C, VAN y TIR

Año	Ingresos	Egresos	Flujo neto actual
0			-87211.99
1	148409.52	57598.994	90810.526
2	148409.52	58089.0624	90320.4576
3	148409.52	58579.1308	89830.3892
4	148409.52	59069.1992	89340.3208
5	148409.52	59559.2676	88850.2524
Ingreso total por el proyecto (dólares americanos)			361939.956

Realizado por: Leguisamo Costales Jonathan Eduardo, 2019

Valores del B/C, VAN y TIR

VAN	\$ 214368,76
TIR	100.47 %
B/C	1.757

Realizado por: Leguisamo Costales Jonathan Eduardo, 2019

ACTIVIDAD	TIEMPO																							
	ENERO				FEBRERO				MARZO				ABRIL				MAYO				JUNIO			
	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
Revisión bibliográfica																								
Muestreo y caracterización de la materia prima																								
Obtención del extracto de las hojas de <u>churuyuyo</u>																								
Elaboración de la crema antibiótica																								
Diseño del proceso de elaboración de la crema antibiótica																								
Elaboración y Corrección de Borradores, Tipiado del trabajo final																								
Empastado y presentación del trabajo final																								
Auditoría académica																								
Defensa del trabajo																								

Realizado por: Leguisamo Costales Jonathan Eduardo, 2019

ANÁLISIS DE RESULTADOS

Para obtener una crema antibiótica a partir del extracto de las hojas de *kalanchoe pinnata*, primero debe pasar la materia prima en este caso las hojas frescas a una trituradora para así romper las paredes celulares de la hoja con lo cual extraeremos más extracto activo, luego mediante una maceración en un medio alcohólico en este caso metanol al 60%.

Al estar en contacto con metanol es posible aumentar la concentración de compuestos fenólicos los cuales son los responsables del poder antimicrobiano del extracto. Se determinó que las variables a considerar en el proceso de concentración son la temperatura; (60°C +/- 5) la temperatura a la cual el metanol comienza a separarse de la mezcla por la diferencia de los puntos de ebullición dejando un extracto libre de metanol y con una concentración por encima del 70 % de pureza.

Esto forma un antibiótico de origen natural, el cual mediante antibiogramas se comprobó la actividad al inhibir las cepas utilizadas para la investigación como fueron: *Staphylococcus aureus*, *escherichia coli*, *klebsiella pneumoniae* las cuales presentaron halos de inhibición de 1.5, 1.6, 1.4 respectivamente.

Luego se coloca en el mezclador donde se añade Alcohol cetílico que se utiliza como agente co-emulsionante para dar consistencia, emoliencia y estabilidad a las emulsiones, nos permite espesar las cremas y proporciona una sensación suave y nutritiva que se mezcla con glicerina la cual tiene la propiedad más importante que es la de hidratar la piel y parafina que forma una finísima capa sobre la superficie que tapona los poros evitando la transpiración y la penetración de nutrientes, posteriormente se coloca el dehyquart, este compuesto de amonio cuaternario se usa preferiblemente como un aditivo acondicionador, luego de formar la base crema se añade el porcentaje adecuado de extracto de *kalanchoe pinnata* para que tenga actividad antibiótica. Se comprobó con 2 formulaciones de concentraciones de extracto diferentes para obtener el mejor resultado para la crema, obtuvimos resultados similares en las cremas al 5 % y al 10 % ya que al comparar los halos de inhibición, los resultados no presentaron cambios considerables.

Se determinó el procedimiento más adecuado para la obtención a escala industrial de crema antibiótica a partir de 3 Kg de Hojas frescas y 3 litros de metanol al 60%, generando un proceso de concentración por diferencia de puntos de ebullición, donde se realizó varias pruebas de ensayo a diferentes temperaturas y diferentes presiones, posteriormente en el mezclado modificando la concentración de los reactivos y el tiempo de agitación, todo esto basado en métodos de operaciones unitarias relacionados con la agitación y mezclado, proceso que se da lugar en el interior de un reactor de agitación de mezcla continua diseñado apropiadamente

considerando ciertos parámetros como capacidad, hermeticidad, eficiencia, rendimiento y automatización.

Se realizó la validación del proceso en base a análisis fisicoquímicos y biológicos del producto obtenido y comparado con los valores requeridos por lo dictado en la Norma INEN 2867 para el control de pH, soluciones hidroalcohólicas, temperatura de llenado, actividad del agua, productos de base solventes, productos oxidantes y clorhidrato de aluminio.

Al realizar el análisis de costo beneficio se obtuvo un proyecto viable en 5 años ya que al tener en cuenta los costos de inflación de 2.66% en los próximos años el resultado del Valor actual neto (VAN) fue de \$ 214368,76 y la Tasa Interna de Retorno (TIR) es del 100 % por lo cual el proyecto es rentable. De igual manera la relación costo beneficio (B/C) fue de 1.75 ya que la relación es mayor a 1 el proyecto debe ser considerado.

CONCLUSIONES

- Se obtuvo a escala de laboratorio el extracto de la mezcla de hojas de churuyuyo (*Kalanchoe pinnata*) y metanol al 60 % mediante un proceso térmico el cual se basa en la diferencia de puntos de ebullición, la temperatura ideal para el proceso son 60 °C +/-5°.
- Las variables que más rigen en el proceso son la temperatura y la presión ya que a más presión y menos temperatura es mejor el rendimiento.
- Se elaboró la crema antibiótica dentro de los parámetros de las normas INEN correspondientes para este tipo de productos, al cual se le hicieron pruebas microbiológicas y de calidad exitosas.
- Se diseñó el proceso a escala industrial mediante tanques los cuales fueron creados con el fin de soportar un lote de 100 Litros de crema antibiótica (*Kalanchoe pinnata*), luego de pasar por una serie de procesos de calidad.
- Se comprobó la actividad antimicrobiana en 3 cepas diferentes como fueron *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* las cuales resultaron exitosas tanto en extracto como en crema.

RECOMENDACIONES

- Analizar las instrucciones y tomar las medidas de precaución necesarias para el proceso en la cocción para evitar evaporación de compuestos fenólicos.
- Asegurar que todos los materiales, componentes y reactivos a utilizar se encuentren en óptimas condiciones a fin de garantizar un producto de calidad y un buen rendimiento durante su aplicación.
- Garantizar que la materia prima este en óptimas condiciones para asegurar un proceso sin contaminación y de buena calidad.
- Aplicar estudios adicionales para aislar componentes específicos para aumentar la eficiencia del proceso.
- El producto es de fácil aplicación, no toxico por lo que se recomienda una aplicación en la zona afectada como protección para infecciones y su posterior cicatrización.
- Se recomienda dar un seguimiento de pruebas de antibiograma luego de las pruebas de estabilidad para confirmar que no pierda sus componentes activos

BIBLIOGRAFÍA

AKIHISA, T., KOKKE, W.C.M.C., TAMURA, T. y MATSUMOTO, T.,. Sterols of *Kalanchoe pinnata*: First report of the isolation of both C-24 epimers of 24-alkyl- Δ 25-sterols from a higher plant. *Lipids*, vol. 26, no. 8, (1991) pp. 660-665. ISSN 00244201. DOI 10.1007/BF02536432.

AKINPELU, D.A.,. Antimicrobial activity of *Bryophyllum pinnatum* leaves. *Fitoterapia*, vol. 71, no. 2, (2000). pp. 193-194. ISSN 0367326X. DOI 10.1016/S0367-326X(99)00135-5.

ALMEIDA, A.P., DA SILVA, S.A.G., SOUZA, M.L.M., LIMA, L.M.T.R., ROSSI-BERGMANN, B., GONÇALVES DE MORAES, V.L. y COSTA, S.S.. Isolation and chemical analysis of a fatty acid fraction of *Kalanchoe pinnata* with a potent lymphocyte suppressive activity. *Planta Medica*, vol. 66, no. 2,(2000) pp. 134-137. ISSN 00320943. DOI 10.1055/s-2000-11131.

ÁVALOS GARCÍA ELENA PÉREZ-URRIA CARRIL, A.. Metabolismo secundario de plantas. *Reduca (Biología). Serie Fisiología Vegetal*, vol. 2, no. 3,(2009) pp. 119-145. ISSN 1989-3620.

AZCON, 2008. *Fundamentos de fisiología vegetal*. S.l.: s.n. ISBN 9788448192938.

AZUARA, S.. MÓDULO DE "COSMETOLOGÍA" [en línea],(2018) pp. 11. Disponible en: <https://espanol.free-ebooks.net/ebook/Cosmetologia-Estetica/pdf?dl&preview>.

BUSSMANN, R.W.. *PLANTAS MEDICINALES DE LOS ANDES Y LA AMAZONIA-La Flora mágica y medicinal del Norte del Perú Medicinal plants and their ecology in Northern Peru and Southern Ecuador View project Ethnobotany and livelihoods in Madagascar and Eastern Africa View project* (2015) [en línea]. S.l.: s.n. ISBN 9780996023139. Disponible en: <https://www.researchgate.net/publication/283355334>.

BUSTAMANTE, J.L., MIQUELINI, L.A., D'AGUSTINI, M. y FONTANA, A.M.. Anatomía aplicada de las fontanelas. *Neurocirugia*, vol. 21, no. 3,(2010) pp. 253-259. ISSN 11301473. DOI 10.1016/s1130-1473(10)70085-3.

CERÓN MARTÍNEZ, C.E.,. Plantas Medicinales de los Andes Ecuatorianos. *Botánica Económica de los Andes Centrales* [en línea], (2006) Disponible en:

<http://www.beisa.dk/Publications/BEISA Book pdfer/Capitulo 18.pdf>.

CORYLUS, L., MÁTHÉ, I. y SC, D.. LC-ESI-MS / MS methods in profiling of flavonoid glycosides and phenolic acids in traditional medicinal plants : *Sempervivum tectorum* L . and Ágnes Alberti - Dér Chair of final examination committee : Members of final examination committee : *Disertation*, (2014) DOI 10.14753/SE.2014.1933.

DE, R., ESPAÑOLA, S., PICAZO, E.J.J., CANTÓN, R., GÓMEZ-LUS, M.L. y RODRÍGUEZ-AVIAL, C., 2015. Métodos básicos para el estudio de la sensibilidad a loa antimicrobianos SEEIMC. [en línea], Disponible en: <https://www.seimc.org/contenidos/documentoscientificos/procedimientosmicrobiologia/seimc-procedimientomicrobiologia11.pdf>.

DEHESA, M.. La legislación vigente en Ecuador para la fabricación , uso y comercialización de plantas medicinales y fitomedicamentos . [Current legislation in Ecuador for the manufacture , use and commercialization of medicinal plants and. *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromaticas* [en línea], vol. 8, no. 1, (2009) pp. 52-57. Disponible en: <http://www.redalyc.org/pdf/856/85680109.pdf>.

DÉR, Á.A., 2014. LC-ESI-MS / MS methods in profiling of flavonoid glycosides and phenolic acids in traditional medicinal plants : *Sempervivum tectorum* L. and *Corylus avellana* L. *Disertation*, pp. 98. DOI 10.14753/SE.2014.1933.

KAIRUZ, E., PÉREZ-ALONSO, N. y CHONG-PÉREZ, B., 2018. Estrategias para la selección in vitro de plantas transgénicas de *Digitalis L.* *18*, ISSN 2074-8647.

KHURSHID, M.. The miracle plant (*Kalanchoe pinnata*): A phytochemical and pharmacological review ISSN 2229-3566. , no. May 2011, (2015).

KIRKPATRICK, J.L. y KIRKPATRICK, J.L., 2008. Gene in Apical Meristems of *Kalanchoe pinnatum* Thesis title. , vol. 1.

LALAMA AGUIRRE, J., MONTES CRUZ, S. y ZALDUMBIDE VERDEZOTO, M.,. Etnobotánica de plantas medicinales en el cantón Tena, para contribuir al conocimiento, conservación y valoración de la diversidad vegetal de la región Amazónica. *Dominio de las Ciencias*, vol. 2, no. 2,(2016) pp. 26-52. ISSN 2477-8818.

LINCOLN TAIZ, E.Z., 2010. Fisiología vegetal. *Cell*, ISSN 19898886. DOI

10.4995/WRS.2010.7744.

MÉTODO DE EVALUACIÓN RÁPIDA DE INVASIVIDAD (MERI) PARA ESPECIES EXÓTICAS EN MÉXICO. *Bryophyllum pinnatum* (Lam.) Oken 1841; *Kalanchoe pinnata* (Lam.) Pers. 1805. [en línea], vol. 1841, (2015) pp. 1-3. Disponible en: https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/220982/Bryophyllum_pinnatum.pdf.

MUÑOZ, P.B.. Hierba de bruja *Kalanchoe pinnata*. [en línea], (2015) pp. 25. Disponible en: https://www.google.com.ec/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=1&cad=rja&uact=8&ved=0ahUKEwjksnmpMXRAhXJbiYKHWdABPUQFggYMAA&url=http%3A%2F%2Fwww.biocomerciocolombia.com%2Fdocs%2Fbiocomercio_andino%2FComponente%25201%2FMonografias%2FMonografia%2520Kalan.

MUZITANO, M.F., TINOCO, L.W., GUETTE, C., KAISER, C.R., ROSSI-BERGMANN, B. y COSTA, S.S.. The antileishmanial activity assessment of unusual flavonoids from *Kalanchoe pinnata*. *Phytochemistry*, vol. 67, no. 18, (2006) pp. 2071-2077. ISSN 00319422. DOI 10.1016/j.phytochem.2006.06.027.

PALACIOS LOZADA, E., 2014. Economía y Plantas Medicinales. *Pensamiento Crítico*, vol. 3, pp. 011. ISSN 1728-502X. DOI 10.15381/pc.v3i0.9048.

PAREDES, D.J. y PROMETEO, I.. Use of Medicinal Plants in the San Jacinto Community - Ventanas Municipality , Los Ríos – Ecuador. *Rev. U.D.C.A Act. & Div. Cient*, vol. 18, no. 1, (2015) pp. 39-50.

PATTEWAR, S. V. KALANCHOE PINNATA: PHYTOCHEMICAL AND PHARMACOLOGICAL PROFILE Seema V. Pattewar Sanjivani Institute of Pharmacy and Research, Kopargaon- 423603, Maharashtra, India. , vol. 3, no. 04, (2012) pp. 993-1000.

PATTEWAR, S. V, PATIL, D.N. y DAHIKAR, S.B.. Antimicrobial potential of extract from leaves of *kalanchoe pinnata*. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research* [en línea], vol. 4, no. 12, (2013) pp. 4577-4580. [Consulta: 20 noviembre 2019]. DOI 10.13040/IJPSR.0975-8232.4(12).4577-80. Disponible en: [http://www.embase.com/search/results?subaction=viewrecord&from=export&id=L370529206%0Ahttp://dx.doi.org/10.13040/IJPSR.0975-8232.4\(12\).4577-80](http://www.embase.com/search/results?subaction=viewrecord&from=export&id=L370529206%0Ahttp://dx.doi.org/10.13040/IJPSR.0975-8232.4(12).4577-80).

POUPARD, J.A., RITTENHOUSE, S.F. y WALSH, L.R., 1994. *The evolution of antimicrobial susceptibility testing methods*. 1994. S.I.: s.n. DOI 10.1007/978-1-4757-9206-5_2

RAIKHEL, N. V., 2003. *Plant Physiology's Best Paper award 2002*. S.l.: s.n. ISBN 0878938230. DOI 10.1104/pp.900074

SÁENZ, E. y SÁNCHEZ, L.. Antibióticos Tópicos. *Dermatol Peru* [en línea], vol. 15, no. 1, (2005) pp. 7-20. Disponible en: http://sisbib.unmsm.edu.pe/BVRevistas/dermatologia/v15_n1/PDF/a02.pdf.

SUPRATMAN, U., FUJITA, T., AKIYAMA, K. y HAYASH, H.. New insecticidal bufadienolide, bryophyllin C, from *kalanchoe pinnata*. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*, vol. 64, no. 6, (2000) pp. 1310-1312. ISSN 13476947. DOI 10.1271/bbb.64.1310.

UK, C.I., 2014. *Kalanchoe daigremontiana* (Raym.-Hamet & H. Perrier), devil's backbone. [invasive species]. *Kalanchoe daigremontiana* (Raym.-Hamet & H. Perrier), *devil's backbone*. [invasive species]., no. AQB ISC record.

ANEXOS

ANEXO A: Información de la planta Churiyuyo (*Kalanchoe pinnata*)

NOMBRE LOCAL	Churiyuyo
NOMBRE CIENTÍFICO	<i>Kalanchoe pinnata</i>
FAMILIA	<i>Crassulaceae J. St.-Hil.</i>
ORIGEN	Tropical
CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS	
Hábito de crecimiento	Erecto
Densidad de ramificación	Alto
Forma de la hoja	Coreaceas
	
PARTE DE LA PLANTA UTILIZADA	Hojas y tallo.
USO MEDICINAL	<i>Kalanchoe pinnata</i> presenta algunas propiedades y acciones documentadas por Investigación: analgésica (calmante del dolor), anti-alérgica, anti-anafiláctica (reduce las reacciones alérgicas), anti-inflamatoria, antitumoral, anti ulcerosa, antibacteriana, antihistamínica, anti fúngica, antiviral, depresora del sistema nervioso central, febrífuga (reduce la fiebre) gastroprotectora (protege el tracto gástrico), inmunosupresora

	(suprime algunas células inmunes), inmunomoduladora (modula algunas células inmunes hiperactivas), relajante insecticida, muscular y sedante.
FORMA DE USO	Tomar una infusión de las hojas de la planta para dolores estomacales, trituración de la hoja y colocarlas en la zona afectada para evitar infecciones en heridas expuestas.

ANEXO B: Certificado Ambiental emitido por el GAD de NAPO



CERTIFICADO AMBIENTAL

GOBIERNO AUTÓNOMO DESCENTRALIZADO PROVINCIAL DE NAPO

Dado en NAPO, el 28 de enero del 2019

CERTIFICADO AMBIENTAL No.490-GPN-2019-CA-SUIA

La / el GOBIERNO AUTÓNOMO DESCENTRALIZADO PROVINCIAL DE NAPO, en cumplimiento a las disposiciones contenidas en la Constitución de la República del Ecuador, la normativa ambiental aplicable y vigente; así como los requerimientos previstos para esta actividad:

CONFIERE EL PRESENTE CERTIFICADO AMBIENTAL a favor de :

RECOLECCIÓN E INVESTIGACIÓN DE HOJAS DE CHIRIYUYO Ubicado en :

Provincia	Cantón	Parroquia
NAPO	TENA	PUERTO MISAHUALLI

A nombre de LEGUISAMO COSTALES JONATHAN EDUARDO, considerando que ha cumplido en forma adecuada con el proceso de registro de su proyecto, obra o actividad; debiendo su representada aplicar durante todas las fases de su actividad la Guía de Buenas Prácticas Ambientales emitida por la Autoridad Ambiental Nacional, la misma que debe ser descargada de la página web del SUIA de forma obligatoria.

DETALLES DEL PROYECTO, OBRA O ACTIVIDAD:

Datos Técnicos

Actividad:

SERVICIOS DE INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA Y DESARROLLO

Ubicación Geográfica

Dirección:

Barrio Dos Ríos		
Provincia	Cantón	Parroquia
NAPO	TENA	PUERTO MISAHUALLI

Datos Administrativos

Nombre del representante legal: LEGUISAMO COSTALES JONATHAN EDUARDO

Email: leguicost@gmail.com

Teléfono: 062313962

Código de registro del proyecto: MAE-RA-2019-399207

Dirección: Av. Jumandy y Juan Masquío

El presente Certificado Ambiental no es de carácter obligatorio, siendo importante la aplicación de las Buenas Prácticas Ambientales en el desarrollo de su actividad.

Atentamente,

CHACON PADILLA SERGIO ENRIQUE
GOBIERNO AUTÓNOMO DESCENTRALIZADO PROVINCIAL DE NAPO

Yo, LEGUISAMO COSTALES JONATHAN EDUARDO con Cédula/RUC N° 1500896111 declaro bajo juramento que la información que consta en el presente certificado es de mi absoluta responsabilidad. En caso de forzar, falsificar, modificar, alterar o introducir cualquier corrección al presente documento, asumo tácitamente las responsabilidades y sanciones determinadas por la ley.

Atentamente,

Sr.LEGUISAMO COSTALES JONATHAN EDUARDO (Firma)

ANEXO C: Permiso de Investigación emitido por el MAE.

MINISTERIO DEL AMBIENTE			EL GOBIERNO DE ECUADOR
-------------------------	---	---	------------------------

AUTORIZACIÓN DE INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA
N° 27- 19-IC-FAU/FLO-DPAN/MA

FLORA X FAUNA VARIOS

El Ministerio del Ambiente, en uso de las atribuciones que le confiere La Codificación a la Ley Forestal y de Conservación de Áreas Naturales y Vida Silvestre autoriza a:

Investigador/es	C.I./C.C./ Pasaporte	Nacionalidad
Jonathan Eduardo Leguisamo	1500896111	Ecuatoriano

Para que lleven a cabo la investigación "DICEÑO DE UN PROCESO PARA LA OBTENCIÓN DE UNA CREMA ANTIBIÓTICA A PARTIR DEL EXTRACTO DE LAS HOJAS DE CHURIYUYO (kalanchoe pinnata)".

De acuerdo a las siguientes especificaciones

Solicitud de: Jonathan Eduardo Leguisamo. **Egresado de la politécnica de Chimborazo**
Auspicio de Institución Científica Nacional: **ESPOCH**
Auspicio de Institución Científica Internacional: Ninguna
Institución que financia la investigación: **ESPOCH**
Contraparte del Ministerio del Ambiente: Asistente de Vida Silvestre de la Dirección Provincial.
Inicio y final de investigación: 03 de Octubre de 2019 al 30 de Marzo de 2019.
Entrega de informe final: 30 de Marzo de 2019.
Valoración técnica del proyecto: Dr. José Onofa Guayasamin M.S.c

Esta Autorización **NO HABILITA LA MOVILIZACIÓN DE FLORA/FAUNA**, previa autorización de la Dirección Provincial del Ambiente de Napo.
Esta Autorización **NO HABILITA EXPORTACIÓN DE FLORA/FAUNA O MICROORGANISMOS**. Sin la correspondiente autorización de la Dirección Provincial del Ambiente de Napo.

Los especímenes no podrán ser utilizados en cualquier actividad de bioprospección ni **ACCESO A RECURSO GENÉTICO**, la competencia de Acceso a Recurso genético es exclusiva del MAE, Unidad de Recursos Genéticos.

De los resultados que se desprenda de la investigación, no podrán ser utilizados para estudios posteriores de Acceso a Recurso Genéticos sin la previa autorización del Ministerio del Ambiente.

Complementos autorizados para llevar a cabo la Investigación en campo

- En el desarrollo de la investigación se recolecta hojas de churiyuyo (Kalanchoe pinnata)
- Se procede a triturar las hoja mediante mortero y pistilo
- Maceración de las hojas y el filtrado

Obligaciones del investigador

1. Entregar al Ministerio del Ambiente-Direcciones Provinciales correspondientes, (02) dos copias del informe final impreso en formato PDF, (incluyendo una versión digital), de los resultados de la autorización otorgada, y adjuntar el o los certificados originales del depósito o recibo de las muestras, emitidas por las instituciones científicas ecuatorianas como internacionales depositarias de material biológico.
2. Citar en las publicaciones científicas, tesis o informes técnicos científicos el número de Autorización de Investigación Científica otorgada por el Ministerio del Ambiente, con el que se colectó el material biológico.
3. Entregar copias de las publicaciones a la Dirección Provincial del Ambiente de Napo.

MINISTERIO DEL AMBIENTE



COLOMBIA
CORPORACIÓN
DEL AMBIENTE

4. Entregar copias del material fotográfico que puedan ser utilizados para difusión. (se respetarán los derechos de autoría).
5. Entregar la lista taxonómica de las especies de flora y fauna debidamente identificadas, objeto de la autorización con sus respectivas coordenadas.
6. Los holotipos y ejemplares únicos sólo pueden llevarse fuera del país en calidad de préstamo por un período de hasta 12 meses. (en caso de requerir más tiempo se deberá realizar la solicitud y entregar informes preliminares).
7. Las muestras biológicas se entregarán en un Centros de Tenencia de Vida Silvestre con autorización del Ministerio del Ambiente. Herbario de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo

Del incumplimiento de las obligaciones dispuestas en los numerales, 13, 14, 15, 16, 17, 18, se responsabilizan: al solicitante e investigador; Jonathan Eduardo Leguisamo. Favor verificar los numerales que se incluyen.

SE AUTORIZA LA INVESTIGACIÓN EN LAS PROVINCIAS, CANTONES.

Provincia	Cantón	Parroquia	Área
Napo	Tena	Misahualli	

SE AUTORIZA EL ESTUDIO DE MUESTRAS BIOLÓGICAS CON EL PROPÓSITO DE:

- Se espera tener un extracto de las hojas de las especies en estudio.
- Conocer sus características antibiogramas positivos para producir la crema antibiótica.

SE AUTORIZA LA UTILIZACIÓN DE LOS SIGUIENTES MATERIALES Y/O EQUIPOS PARA LA REALIZACIÓN DE ESTA INVESTIGACIÓN.

Materiales y Equipos	
Agua destilada, Ácido esteárico, ácido cítrico, extracto metanólico de Churiyuyo, glicerina, lanolina	GPS, Cámara fotográfica

OBLIGACIONES Y CONDICIONES PARA LA VIGENCIA DE ESTA AUTORIZACIÓN:

- ESTA AUTORIZACIÓN NO FACULTA LA COLECCIÓN/ MANIPULACIÓN DE ESPECIMENES VIVOS, MISMOS QUE **NO PODRÁN** SER UTILIZADOS COMO MATERIAL PARENTAL PARA MANEJO COMERCIAL.
- ESTA AUTORIZACIÓN ES EMITIDA BAJO LOS TÉRMINOS EXPRESADOS EN LA PROPUESTA DE INVESTIGACIÓN, EN TAL SENTIDO HABILITA LA COLOCACIÓN DE EQUIPO COMO REDES DE NIEBLA Y EQUIPOS DE SONIDO ACÚSTICO PARA GRABAR IMÁGENES Y SONIDOS DE LA VIDA SILVESTRE.
- LOS INVESTIGADORES DEBERÁN REALIZAR SUS INTERVENCIONES EN CAMPO BAJO UN MANEJO RESPONSABLE Y ÉTICO CON LOS ESPECÍMENES ASÍ COMO CON LOS EQUIPOS Y MATERIALES UTILIZADOS DURANTE LA INVESTIGACIÓN.
- PARA EL INGRESO A ÁREAS DE PROPIEDAD PRIVADA LOS INVESTIGADORES DEBERÁN CONTAR CON LA AUTORIZACIÓN DEL RESPECTIVO PROPIETARIO.
- PARA EL INGRESO A ÁREAS NATURALES PROTEGIDAS LOS INVESTIGADORES DEBERÁN CONTAR CON LA AUTORIZACIÓN DEL RESPECTIVO RESPONSABLE DE ÁREA.
- NO SE AUTORIZA LA UTILIZACIÓN DE ARMAS DE FUEGO, EXPLOSIVOS O

MINISTERIO DEL AMBIENTE



GOBIERNO DE ECUADOR

- SUBSTANCIAS VENENOSAS COMO METODOLOGIA DE ESTA INVESTIGACION.
- SE PROHÍBE EL INGRESO A LAS ÁREAS NATURALES DEL ESTADO ETILICO, PORTANDO ARMAS, EXPLOSIVOS, TÓXICOS, CONTAMINANTES, MATERIAL VEGETATIVO, ESPECIES ANIMALES Y EN GENERAL TODO AQUELLO QUE ATENTE A LA INTEGRIDAD DEL ÁREA.
- ESTA AUTORIZACIÓN DE INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA PODRÁ SER RENOVADA ANUALMENTE PREVIO AL CUMPLIMIENTO DE LAS OBLIGACIONES CONTRAIDAS POR EL INVESTIGADOR, ENTREGA Y APROBACIÓN DE INFORMES PARCIALES O FINALES EN LAS FECHAS INDICADAS.
- SE SOLICITARÁ PRÓRROGA QUINCE DÍAS ANTES DE LA FECHA DE VENCIMIENTO QUE INDICA ESTE DOCUMENTO.
- TODO USO INDEBIDO DE ESTA AUTORIZACIÓN, ASÍ COMO EL INCUMPLIMIENTO DE ASPECTOS LEGALES, ADMINISTRATIVOS O TÉCNICOS ESTABLECIDOS EN LA MISMA, SERÁN SANCIONADOS DE ACUERDO A LA CODIFICACIÓN A LA LEY FORESTAL Y DE CONSERVACIÓN DE ÁREAS NATURALES Y VIDA SILVESTRE Y AL TEXTO UNIFICADO DE LA LEGISLACIÓN AMBIENTAL SECUNDARIA, Y DEMAS NORMATIVA PERTINENTE.
- EL INCUMPLIMIENTO DE CUALQUIERA DE ESTAS DISPOSICIONES ASÍ COMO EL USO INDEBIDO DE ESTE DOCUMENTO, O EL INCUMPLIMIENTO DE LAS DISPOSICIONES LEGALES, ADMINISTRATIVAS O TÉCNICAS ESTABLECIDAS EN LA MISMA, SERÁN SANCIONADOS CONFORME A LA LEY FORESTAL Y DE CONSERVACIÓN DE ÁREAS NATURALES Y VIDA SILVESTRE CODIFICADA, TEXTO UNIFICADO DE LA LEGISLACIÓN AMBIENTAL SECUNDARIA Y CON LA SUSPENSIÓN INMEDIATA DE LA PRESENTE AUTORIZACIÓN.
- TASA POR AUTORIZACIÓN 20 VEINTE DÓLARES NO REEMBOLSABLES DEPOSITADOS EN LA CUENTA 0010000785, CÓDIGO SUBLÍNEA 89159961 CON DEPÓSITO CON REFERENCIA N° 897461285 DE FECHA 19 DE SEPTIEMBRE DE 2019, EN EL BANCO BANECUADOR.

Ing. Jimmy Guerrero.
Coordinador Zonal-Zona 2 (Napo-Pichincha y Orellana)
Director Provincial del Ambiente de Napo



JO.02/10/19

El presente documento es una autorización para la realización de actividades de investigación científica en las áreas naturales del Estado Etilico, en el territorio de la provincia de Napo, Ecuador, con el fin de contribuir al conocimiento científico y técnico de la biodiversidad y el medio ambiente, de acuerdo a lo establecido en el Texto Unificado de la Legislación Ambiental Secundaria, Ley Orgánica del Ambiente, Ley Orgánica de la Función Pública y demás normativa pertinente.

Esta autorización es otorgada por el Director Provincial del Ambiente de Napo, en virtud de sus facultades conferidas por el artículo 10 de la Ley Orgánica del Ambiente, y el artículo 10 de la Ley Orgánica de la Función Pública, en concordancia con el artículo 10 de la Ley Orgánica del Ambiente, y el artículo 10 de la Ley Orgánica de la Función Pública.

Esta autorización es otorgada por el Director Provincial del Ambiente de Napo, en virtud de sus facultades conferidas por el artículo 10 de la Ley Orgánica del Ambiente, y el artículo 10 de la Ley Orgánica de la Función Pública, en concordancia con el artículo 10 de la Ley Orgánica del Ambiente, y el artículo 10 de la Ley Orgánica de la Función Pública.

ANEXO D: *Materia prima*



a.



b.

NOTAS a. Planta de Churiyuyo b. Hojas de Churiyuyo lavadas y desinfectadas.	CATEGORIA DEL DIAGRAMA <input type="checkbox"/> CERTIFICADO <input checked="" type="checkbox"/> APROBADO <input type="checkbox"/> POR APROBAR <input type="checkbox"/> POR CALIFICAR <input type="checkbox"/> POR VERIFICAR		ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO FACULTAD DE CIENCIAS ESCUELA DE INGENIRÍA QUÍMICA REALIZADO POR: Jonathan Eduardo Leguisamo Costales	Proceso Experimental		
				ESCALA 1:1	FECHA 06/20/2019	LÁMINA 1

ANEXO E: Obtención del Extracto



a.



b.



c.

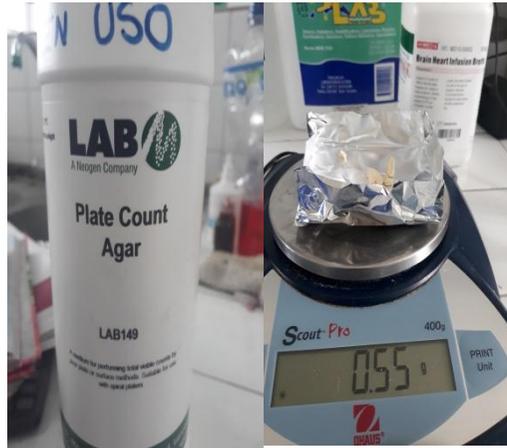
NOTAS	CATEGORIA DEL DIAGRAMA	ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO FACULTAD DE CIENCIAS ESCUELA DE INGENIRÍA QUÍMICA REALIZADO POR: Jonathan Eduardo Leguisamo Costales	Proceso Experimental		
			ESCALA	FECHA	LÁMINA
<p>a. Trituración de las hojas de Churiyuyo.</p> <p>b. Maceración de las hojas de Churiyuyo.</p> <p>c. Filtración de las hojas de Churiyuyo.</p>	<input type="checkbox"/> CERTIFICADO <input checked="" type="checkbox"/> APROBADO <input type="checkbox"/> POR APROBAR <input type="checkbox"/> POR CALIFICAR <input type="checkbox"/> POR VERIFICAR		1:1	06/20/2019	1

ANEXO F: Obtención del Extracto



NOTAS a. Concentración del extracto por medio de un Rotavapor.	CATEGORIA DEL DIAGRAMA <input type="checkbox"/> CERTIFICADO <input checked="" type="checkbox"/> APROBADO <input type="checkbox"/> POR APROBAR <input type="checkbox"/> POR CALIFICAR <input type="checkbox"/> POR VERIFICAR	ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO FACULTAD DE CIENCIAS ESCUELA DE INGENIERÍA QUÍMICA REALIZADO POR: Jonathan Eduardo Leguisamo Costales	Proceso Experimental		
			ESCALA	FECHA	LÁMINA
			1:1	06/20/2019	1

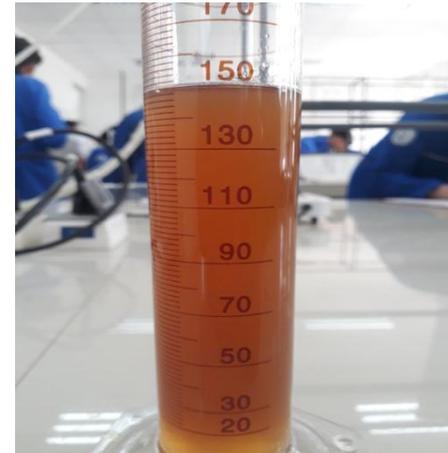
ANEXO G: Caracterización del extracto de Churiyuyo



a.



b.



c.

NOTAS a. Pesaje de agar para caracterización. b. Esterilización de cajas Petri y agares. c. Extracto caracterizado	CATEGORIA DEL DIAGRAMA		ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO FACULTAD DE CIENCIAS ESCUELA DE INGENIERÍA QUÍMICA REALIZADO POR: Jonathan Eduardo Leguisamo Costales	Proceso Experimental				
	<input type="checkbox"/> CERTIFICADO <input checked="" type="checkbox"/> APROBADO <input type="checkbox"/> POR APROBAR <input type="checkbox"/> POR CALIFICAR <input type="checkbox"/> POR VERIFICAR	ESCALA		FECHA	LÁMINA	1:1	06/20/2019	1

ANEXO H: Elaboración de la crema cicatrizante



a.



b.



c.



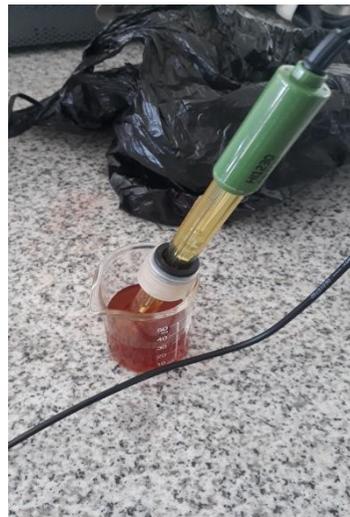
d.

NOTAS a. Materiales para la crema antibiótica. b. Elaboración de crema base. c. Elaboración de crema antibiótica. d. Recipiente de la crema antibiótica.	CATEGORIA DEL DIAGRAMA		ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO FACULTAD DE CIENCIAS ESCUELA DE INGENIERÍA QUÍMICA REALIZADO POR: Jonathan Eduardo Leguisamo Costales		Proceso Experimental			
	<input type="checkbox"/> CERTIFICADO <input checked="" type="checkbox"/> APROBADO <input type="checkbox"/> POR APROBAR <input type="checkbox"/> POR CALIFICAR <input type="checkbox"/> POR VERIFICAR					ESCALA 1:1	FECHA 06/20/2019	LÁMINA 1

ANEXO I: Control de calidad de la crema antibiótica.



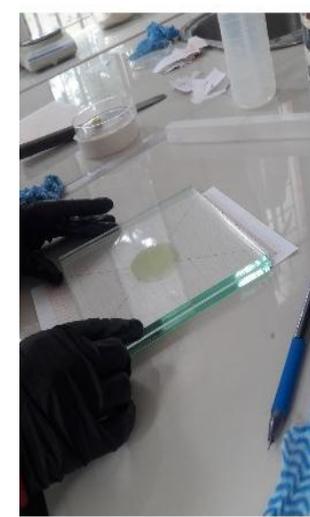
a.



b.



c.



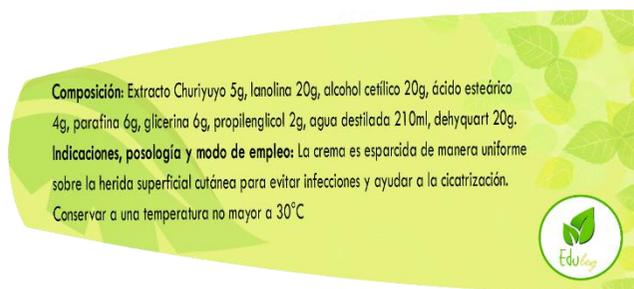
d.

NOTAS	CATEGORIA DEL DIAGRAMA	ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO FACULTAD DE CIENCIAS ESCUELA DE INGENIERÍA QUÍMICA REALIZADO POR: Jonathan Eduardo Leguisamo Costales	Proceso Experimental		
			ESCALA	FECHA	LÁMINA
			1:1	06/20/2019	1
a. Dos formulaciones distintas de la crema al 5% y al 10%	<input type="checkbox"/> CERTIFICADO				
b. Medición de pH.	<input checked="" type="checkbox"/> APROBADO				
c. Prueba de estabilidad.	<input type="checkbox"/> POR APROBAR				
d. Pruebas de extensibilidad.	<input type="checkbox"/> POR CALIFICAR				
	<input type="checkbox"/> POR VERIFICAR				

ANEXO J: Etiqueta y Caja para la Crema Antibiótica.



a.



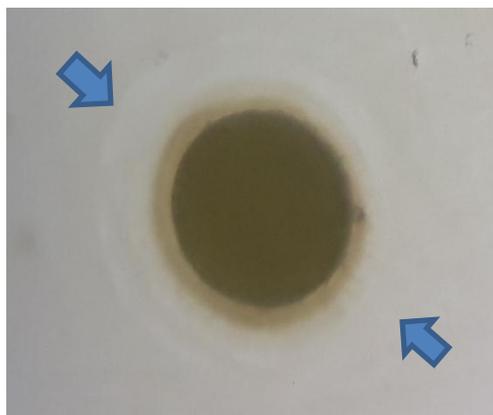
b.



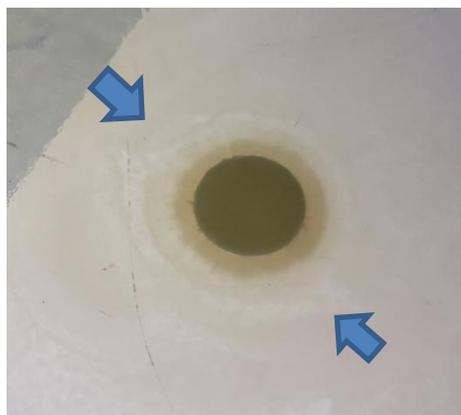
c.

NOTAS	CATEGORIA DEL DIAGRAMA	ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO FACULTAD DE CIENCIAS ESCUELA DE INGENIRÍA QUÍMICA REALIZADO POR: Jonathan Eduardo Leguisamo Costales	Proceso Experimental		
			ESCALA	FECHA	LÁMINA
a. Etiqueta parte frontal	<input type="checkbox"/> CERTIFICADO		1:1	06/20/2019	1
b. Etiqueta parte posterior	<input checked="" type="checkbox"/> APROBADO				
c. Logotipo	<input type="checkbox"/> POR APROBAR				
	<input type="checkbox"/> POR CALIFICAR				
	<input type="checkbox"/> POR VERIFICAR				

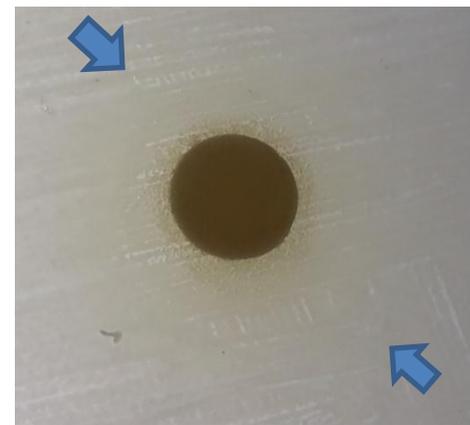
ANEXO K: Halos de Inhibición del extracto de Churiyuyo.



a.



b.



c.

NOTAS	CATEGORIA DEL DIAGRAMA	ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO FACULTAD DE CIENCIAS ESCUELA DE INGENIRÍA QUÍMICA REALIZADO POR: Jonathan Eduardo Leguisamo Costales	Proceso Experimental		
			ESCALA	FECHA	LÁMINA
a. Halo de inhibición contra de <i>escherichia coli</i>	<input type="checkbox"/> CERTIFICADO		1:1	06/20/2019	1
b. Halo de inhibición contra de <i>staphylococcus aureus</i>	<input checked="" type="checkbox"/> APROBADO				
c. Halo de inhibición contra de <i>pseudomona klebsiella</i>	<input type="checkbox"/> POR APROBAR				
	<input type="checkbox"/> POR CALIFICAR				
	<input type="checkbox"/> POR VERIFICAR				

ANEXO L: Halos de Inhibición de la Crema antibiótica.



a.



b.



c.

NOTAS	CATEGORIA DEL DIAGRAMA	ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO FACULTAD DE CIENCIAS ESCUELA DE INGENIRÍA QUÍMICA REALIZADO POR: Jonathan Eduardo Leguisamo Costales	Proceso Experimental		
			ESCALA	FECHA	LÁMINA
a. Halo de inhibición contra de <i>escherichia coli</i> b. Halo de inhibición contra de <i>staphylococcus aureus</i> c. Halo de inhibición contra de <i>pseudomona klebsiella</i>	<input type="checkbox"/> CERTIFICADO <input checked="" type="checkbox"/> APROBADO <input type="checkbox"/> POR APROBAR <input type="checkbox"/> POR CALIFICAR <input type="checkbox"/> POR VERIFICAR		1:1	06/20/2019	1

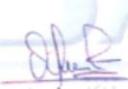
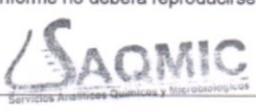
ANEXO M: Control Microbiológico del extracto.



Servicios Analíticos Químicos y Microbiológicos
en Aguas y Alimentos

EXAMEN MICROBIOLÓGICO

CÓDIGO 141-19

CLIENTE: Sr. Jonathan Leguísamo		
DIRECCIÓN: Av. 11 de Noviembre y Milton Reyes		TELÉFONO:
TIPO DE MUESTRA: Extracto de planta Kalanchoe Pinnata		
FECHA DE RECEPCIÓN: 12 de junio del 2019		
FECHA DE MUESTREO: 12 de junio del 2019		
EXAMEN FÍSICO		
COLOR: Amarillento		
OLOR: Característico		
ASPECTO: Normal, libre de material extraño		
PARÁMETROS	MÉTODO	RESULTADO
Coliformes totales UFC/ ml	Siembra en masa	AUSENCIA
Aerobios mesófilos UFC/ ml	Siembra en masa	10
Mohos y levaduras UFC/ ml	Siembra en masa	AUSENCIA
FECHA DE ANÁLISIS: 12 de junio del 2019		
FECHA DE ENTREGA: 18 de junio del 2019		
RESPONSABLE:		
		
Dra. Gina Álvarez R.		
El informe sólo afecta a la muestra solicitada a ensayo, el informe no deberá reproducirse sino en su totalidad previo autorización de los responsables.		
		

Dirección: Av. 11 de Noviembre y Milton Reyes
Contáctanos: 0998580374 - 032 942 322
Riobamba - Ecuador

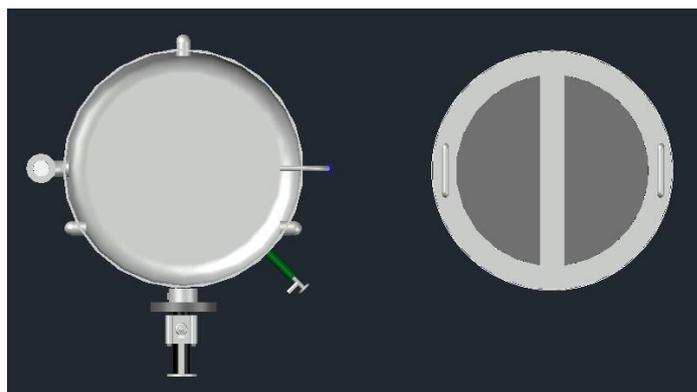
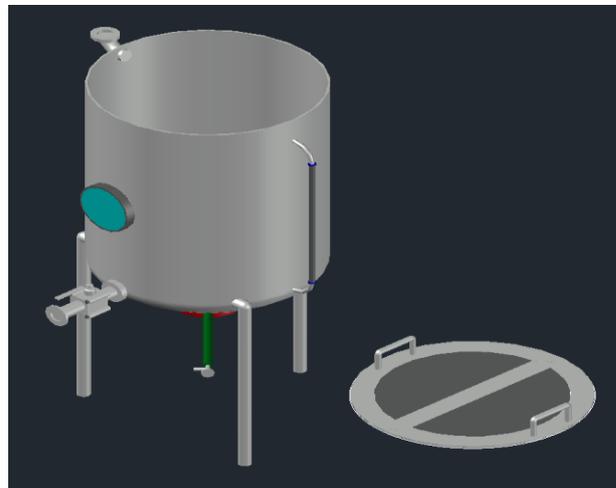
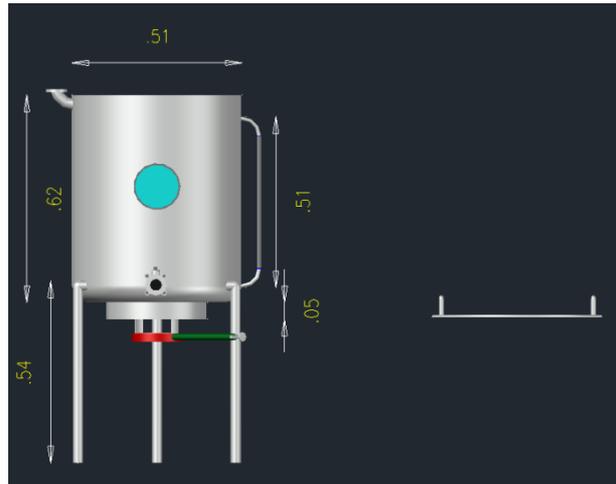
ANEXO N: Control Microbiológico de la crema.

CÓDIGO 227-19

CLIENTE: Sr. Jonathan Leguisarno		
DIRECCIÓN: Av. 11 de Noviembre y Milton Reyes		TELÉFONO:
TIPO DE MUESTRA: Crema de planta Kalanchoe Pinnata		
FECHA DE RECEPCIÓN: 25 de octubre del 2019		
FECHA DE MUESTREO: 25 de octubre del 2019		
EXAMEN FISICO		
COLOR: Amarillento		
OLOR: Característico		
ASPECTO: Normal, libre de material extraño		
PARÁMETROS	METODO	RESULTADO
Contiformes totales UFC/ ml	Siembra en masa	AUSENCIA
Aerobios mesófilos UFC/ ml	Siembra en masa	20
Mohos y levaduras UFC/ ml	Siembra en masa	AUSENCIA
FECHA DE ANÁLISIS: 25 de octubre del 2019		
FECHA DE ENTREGA 30 de octubre del 2019		
RESPONSABLE:		
 		
Dra. Gina Álvarez R.		
El informe sólo afecta a la muestra solicitada a ensayo, el informe no deberá reproducirse sino en su totalidad previo autorización de los responsables.		

Dirección: Av. 11 de Noviembre y Milton Reyes
Cantón: Ibarra; 0998580374 / 032 942 322
Móvil: 099 942 322

ANEXO O: Dimensionamiento de los Equipos



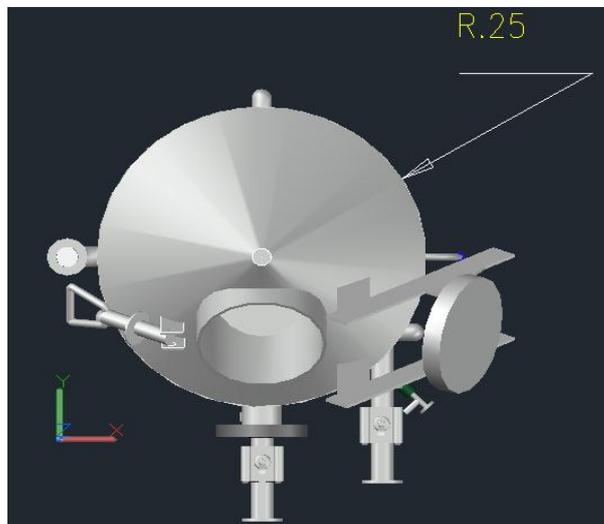
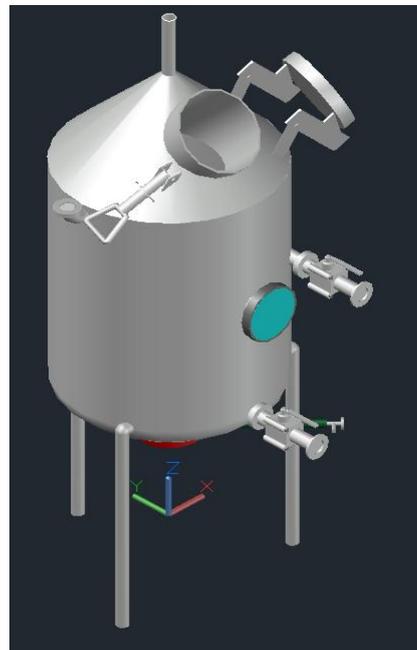
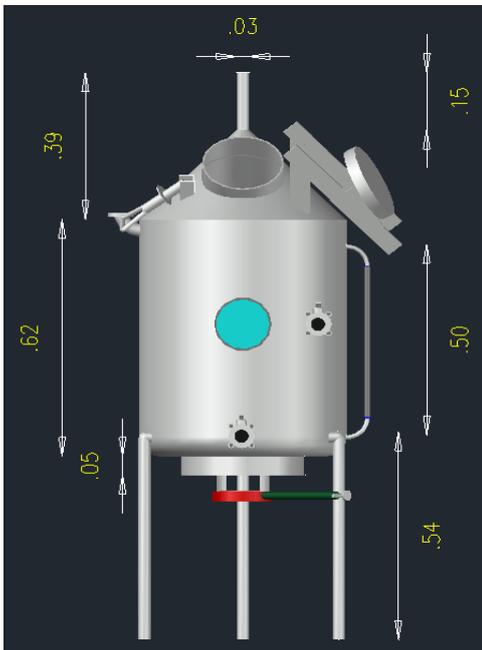
Jonathan Eduardo Leguisamo Costales

Tanque de Macerado

ESCALA : 1:1

**ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA
DE CHIMBORAZO**

ANEXO P: Dimensionamiento de los Equipos



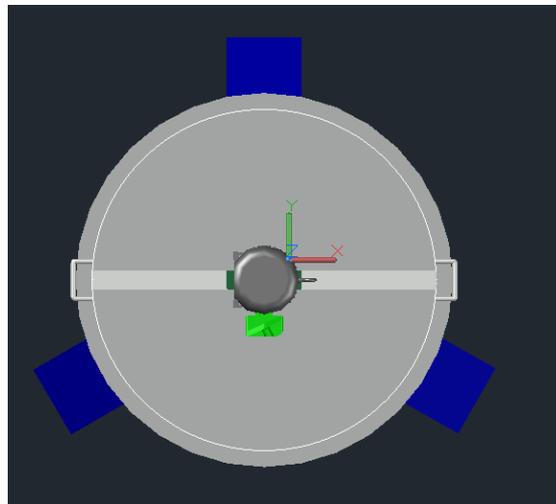
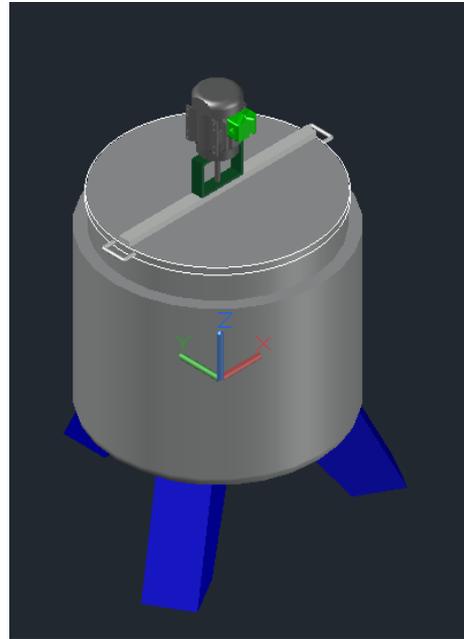
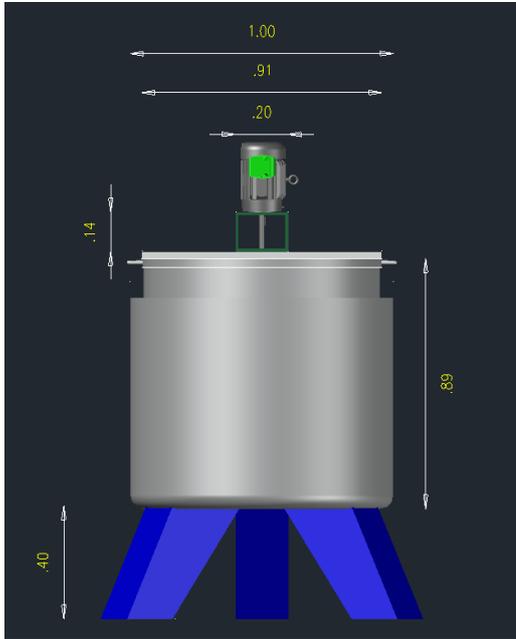
Jonathan Eduardo Leguisamo Costales

Tanque de Cocción

ESCALA : 1:1

**ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA
DE CHIMBORAZO**

ANEXO Q: Dimensionamiento de los Equipos



Jonathan Eduardo Leguisamo Costales

Tanque Mezclador

ESCALA : 1:1

**ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA
DE CHIMBORAZO**

ANEXO R: *Tabla de Calor Específico, Calor Latente de Vaporización y de Fusión*

Material	Específico (C _e)		Fusión (l _f)		Vaporización (l _v)	
	kcal/kg.°C	kJ/kg.K	kcal/kg	kJ/kg	kcal/kg	kJ/kg
Aceite de Oliva	0,400	1,675	-	-	-	-
Acero	0,110	0,460	104	25	204	854
Acetona	0,510	2,136	22,9	96	125	524
Agua líquida	1,000	4,180	-	-	-	-
Agua sólida (hielo)	0,500	2,094	79,7	333	-	-
Agua vapor	0,482	2,018	-	-	539	2260
Aire seco	0,240	1,005	-	-	-	-
Alcohol etílico	0,600	2,513	24,9	104,2	203,9	854
Aluminio	0,215	0,900	77-94	322-394	2202	9220
Amoníaco (líquido)	0,112	0,470	108	452	327	1370
Antimonio	0,049	0,205	39,4	165	134	561
Azufre	0,179	0,750	5,9	35	208	870
Benceno	0,042	0,175	30,3	127	95	396
Berilio	0,470	1,970	-	-	-	-
Bronce	0,086	0,360	-	-	-	-
Cadmio	0,056	0,234	13,6	57	212	886
Calcio	0,155	0,650	-	-	-	-
Carbón Mineral	0,310	1,300	-	-	-	-
Carbón Vegetal	0,201	0,840	-	-	-	-
Carbono	0,121	0,507	-	-	-	-
Cinc	0,093	0,389	24	100	475	1990
Cobalto	0,109	0,456	62,8	263	1550	6490
Cobre	0,0923	0,386	51,1	214	1292	5410
Cromo	0,124	0,518	62,1	260	1571	6580
Estaño	0,060	0,250	14	59	721	3020
Eter etílico	0,540	2,261	27	113	-	-
Fenol	-	-	26	109	-	-
Glicerina	0,580	2,430	42	176	-	-
Hierro	0,113	0,473	70	293	1504	6300
Ladrillo Refractario	0,210	0,880	-	-	-	-
Latón	0,094	0,394	40,1	168	-	-
Manganeso	0,114	0,477	63,8	267	1005	4207
Mercurio	0,033	0,138	2,8	11,8	64,9	272
Mica	0,210	0,880	-	-	-	-
Naftalina	0,411	1,720	36,1	151	-	-
Níquel	0,106	0,444	69,7	292	1523	6378
Oro	0,031	0,130	15,4	64,5	377	1578
Parafina	0,778	3,260	35,1	147	-	-
Plata	0,0564	0,236	21,1	88,3	559	2340
Platino	0,032	0,133	24,1	101	574	2405
Potasio	0,019	0,080	14,5	60,8	497	2080
Sodio	0,029	0,123	27	113	1008	4220
Tolueno	0,380	1,590	-	-	87	365
Vidrio (típico)	0,200	0,838	-	-	-	-



Quito – Ecuador

**NORMA
TÉCNICA
ECUATORIANA**

NTE INEN 2867
2015-03

PRODUCTOS COSMÉTICOS. REQUISITOS

COSMETIC PRODUCTS. REQUIREMENTS

Norma Técnica Ecuatoriana Voluntaria	PRODUCTOS COSMÉTICOS REQUISITOS	NTE INEN 2867:2015 2015-03
---	--	----------------------------------

1. OBJETO

Esta norma establece los requisitos que deben cumplir los productos cosméticos de uso humano.

2. REFERENCIAS NORMATIVAS

Los siguientes documentos, en su totalidad o en parte, son referidos y son indispensables para su aplicación. Para referencias fechadas, solamente aplica la edición citada. Para referencias sin fecha, aplica la última edición del documento de referencia (incluyendo cualquier enmienda).

NTE INEN-ISO 22717, *Cosméticos. Microbiología. Detección de pseudomonas aeruginosa*

NTE INEN-ISO 22718, *Cosméticos. Microbiología. Detección de staphylococcus aureus*

NTE INEN-ISO 21150, *Cosméticos. Microbiología. Detección de Escherichia coli*

NTE INEN-ISO 21149, *Cosméticos. Microbiología. Detección y recuento de bacterias aerobias mesófilas*

NTE INEN-ISO 18416, *Cosméticos. Microbiología. Detección de candida albicans*

NTE INEN-ISO 22716, *Productos cosméticos. Buenas prácticas de fabricación (BPF). Guía de buenas prácticas de fabricación*

3. DEFINICIONES

Para los efectos de esta norma, se adoptan las siguientes definiciones:

3.1 Cosmético o producto cosmético. Toda sustancia o formulación de aplicación local a ser usada en las diversas partes superficiales del cuerpo humano: epidermis, sistema piloso y capilar, uñas, labios y órganos genitales externos o en los dientes y las mucosas bucales, con el fin de limpiarlos, perfumarlos, modificar su aspecto y protegerlos o mantenerlos en buen estado y prevenir o corregir los olores corporales.

3.2 Forma cosmética. Ingrediente o combinación de ingredientes que da como resultado un producto con ciertas características físicas para su adecuado uso, aplicación y conservación.

3.3 Grupo cosmético. Productos cosméticos con la misma composición básica cualicuantitativa, uso y denominación genérica, que poseen diferentes propiedades organolépticas (color, olor y sabor). También se consideran grupos cosméticos, los tintes con la misma composición cualitativa de sus colorantes, los cosméticos de perfumería con la misma fragancia y los productos cosméticos para maquillaje de la misma composición básica y diferente tonalidad.

3.4 Ingrediente. Toda sustancia que interviene en la formulación de un producto cosmético.

4. CLASIFICACIÓN

Los productos cosméticos se clasifican en:

- 4.1 Cosméticos para niños,
- 4.2 Cosméticos para el área de los ojos,
- 4.3 Cosméticos para la piel,
- 4.4 Cosméticos para los labios,
- 4.5 Cosméticos para el aseo e higiene corporal,
- 4.6 Productos desodorantes y antitranspirantes,
- 4.7 Cosméticos capilares,
- 4.8 Cosméticos para las uñas,
- 4.9 Cosméticos de perfumería,
- 4.10 Cosméticos para higiene bucal y dental,
- 4.11 Productos para y después del afeitado,
- 4.12 Productos para el bronceado, protección solar y autobronceadores,
- 4.13 Depilatorios,
- 4.14 Productos para el blanqueo de la piel.

5. REQUISITOS

5.1 Generalidades

5.1.1 La fabricación de los productos cosméticos se debe efectuar de conformidad con las Buenas prácticas de manufactura.

5.2 Requisitos microbiológicos

5.2.1 Los productos cosméticos que cumplan las condiciones físico-químicas establecidas en la tabla 1 estarán exentos de ensayo microbiológicos.

TABLA 1. Condiciones físico químicas que exceptúan los análisis microbiológicos

CONDICIÓN	RANGO
pH ácido	≤ 3
pH alcalino	≥ 10
Soluciones Hidroalcohólicas	$\geq 20 \%$
Temperatura de llenado	$\geq 65,0 \text{ } ^\circ\text{C}$
Actividad del agua (a_w)	$\leq 0,75$
Productos de base solventes	Sin límite
Productos oxidantes	Sin límite
Clorhidrato de aluminio y sales relacionadas	del 15 % al $\geq 25 \%$

5.2.2 Los métodos de ensayo necesarios para la evaluación microbiológica se detalla en la tabla 2.

TABLA 2. Requisitos microbiológicos de los productos cosméticos

Área de aplicación y fase Etaria	Requisito	Límites de aceptabilidad	Método de ensayo de referencia
<ul style="list-style-type: none"> • Cosméticos para niños (hasta 3 años) • Cosméticos para el área de los ojos • Cosméticos que entran en contacto con las membranas mucosas 	Microorganismos mesófilos aerobios totales	Recuento de microorganismos mesófilos aerobios totales. Límite máximo 5×10^2 ufc*/g o ml	NTE INEN-ISO 21149
	<i>Pseudomona aeruginosa</i>	Ausencia de <i>Pseudomona aeruginosa</i> en 1 g o ml	NTE INEN-ISO 22717
	<i>Staphylococcus aureus</i>	Ausencia de <i>Staphylococcus aureus</i> en 1 g o ml	NTE INEN ISO 22718
	<i>Escherichia coli</i>	Ausencia de <i>Escherichia coli</i> en 1 g o ml	NTE INEN-ISO 21150
Demás productos cosméticos susceptibles a contaminación microbiológica	Microorganismos mesófilos aerobios totales	Recuento de microorganismos mesófilos aerobios totales. Límite máximo 5×10^3 ufc*/g o ml	NTE INEN-ISO 21149
	<i>Pseudomona aeruginosa</i>	Ausencia de <i>Pseudomona aeruginosa</i> en 1 g o ml.	NTE INEN-ISO 22717
	<i>Staphylococcus aureus</i>	Ausencia de <i>Staphylococcus aureus</i> en 1 g o ml.	NTE INEN-ISO 22718
	<i>Escherichia coli</i>	Ausencia de <i>Escherichia coli</i> en 1 g o ml.	NTE INEN-ISO 21150
Productos cosméticos a ser utilizados en los órganos genitales externos	<i>Candida albicans</i> .	Ausencia	NTE INEN-ISO 18416

*ufc = unidades formadoras de colonias

NOTA. En el caso de que sean usados otros métodos alternativos a los considerados en la tabla 2, estos deben ser oficiales. En el caso de no ser un método oficial, este debe ser documentadamente validado.

5.3 Requisitos complementarios

5.3.1 Para efectos de esta norma se deben aplicar los listados internacionales sobre ingredientes que pueden incorporarse o no a los cosméticos y sus correspondientes restricciones de uso.

5.3.2 Se reconocen para este efecto la lista de aditivos de colores permitidos por la Food & Drug Administration de los Estados Unidos de Norte América (FDA), los listados de ingredientes de The Personal Care Products Council y de Cosmetics Europe – The Personal Care Association, así como las Directivas de la Unión Europea.

6. ETIQUETADO

6.1 El envase o en el empaque de los productos cosméticos debe figurar con caracteres indelebles, fácilmente legibles y visibles, y debe contener:

- a) Nombre y marca del producto,

- b) Nombre o razón social del fabricante o del responsable de la comercialización del producto cosmético. Podrán utilizarse abreviaturas, siempre y cuando puedan identificarse fácilmente en todo momento a la empresa,
- c) Nombre del país de origen,
- d) El contenido nominal en peso, volumen o unidades cuando aplique en el Sistema Internacional de Unidades,
- e) Las precauciones particulares de empleo establecidas en las normas internacionales sobre ingredientes y las restricciones o condiciones de uso, incluidas en las listas internacionales,
- f) El número de lote o la referencia que permita la identificación de la fabricación,
- g) El número de Notificación sanitaria obligatoria (NSO) con indicación del país de expedición,
- h) La lista de ingredientes precedida de la palabra "ingredientes" en nomenclatura INCI.

NOTA 1. En el caso que las precauciones particulares del literal "d)" excedan el tamaño del envase o empaque, estas deberán figurar en un prospecto que el interesado incorporará al envase.

NOTA 2. INCI es una nomenclatura codificada internacional reconocida que debe ser utilizada como tal, por lo tanto no puede ser objeto de traducción.

6.2 En los envases o empaques de los productos que se expenden en forma individual que sean de tamaño muy pequeño, y en los que no sea posible colocar todos los requisitos previstos en el numeral anterior, debe figurar como mínimo:

- a) El nombre del producto,
- b) El número de notificación sanitaria obligatoria,
- c) El contenido nominal,
- d) El número de lote, y,
- e) Las sustancias que impliquen riesgo sanitario de conformidad con el numeral 5.3.2 de esta norma.

6.3 Las frases explicativas que figuren en los envases o empaques deberán estar en idioma español. Para los productos importados de terceros países deberá figurar la traducción al idioma español incorporando al menos el modo de empleo y las precauciones particulares, si las hubiere, puede estar incluido por cualquier mecanismo o metodología para acondicionar el rótulo.

6.4 El titular de la NSO podrá recomendar en el envase, etiqueta o prospecto, el plazo adecuado de consumo de acuerdo a la vida útil del producto cosmético, cuando estudios científicos así lo demuestren.

6.5 Para el caso de productos importados el código de NSO y los datos del importador o del titular de la NSO, puede estar incluidos en una etiqueta adicional firmemente adherida de manera indeleble al envase o empaque, o a su vez mediante otro sistema de impresión de tal forma que no comprometa la información primaria emitida por el fabricante.