



ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO

FACULTAD DE CIENCIAS

ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA

**“ELABORACION Y CONTROL DE CALIDAD DE UN GEL ASTRINGENTE A
BASE DE Costus spicatus, Ficus carica, Salvia officinalis”**

TESIS DE GRADO

PREVIA LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE

BIOQUÍMICO FARMACÉUTICO

PRESENTADO POR

EDISON PATRICIO VILLALBA CARDENAS

RIOBAMBA – ECUADOR

2013

DEDICATORIA

A mi más grande tesoro mi pequeño Christopher que día tras día ha motivado con el perseguir un gran ideal como es la de la superación.

A mis padres José Humberto y Mery Estelita que con su amor y dedicación han sido mi mayor inspiración de lucha, constancia, para culminar mi formación académica.

A mi hermana Diana quien es cómplice de alentarme y ser una amiga incondicional para poder alcanzar el objetivo.

A mi familia que con sus consejos me motivaron a no decaer y llegar a cumplir mis metas pese a las adversidades.

A todas las personas que de una u otra manera me brindaron su ayuda para concluir este trabajo.

AGRADECIMIENTO

En el camino que es muy largo y la vida corta agradezco a mi Dios por ser el pastor de mi vida y depositar en mi valores como lo ha realizado paciencia, perseverancia y sapiencia para salir adelante sin quebrantar mis valores y fortaleza.

Un agradecimiento muy infinito a mis padres por el gran amor, apoyo y comprensión que me han brindado sin escatimar sacrificio alguno; por sus noches de desvelos y sus días de anhelos.

A la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo por la gran contribución en la formación Académica y Profesional.

A la Escuela de Bioquímica y Farmacia ya que gracias a la misma fui formado e inculcando mis valores, y que día a día me fueron impartiendo sus conocimientos científicos, con el fin de trabajar en servicio a la comunidad.

A la Dra. Cumandá Játiva por su invaluable colaboración como directora de tesis cuya dirección, consejos, conocimientos y opiniones fueron de gran importancia en la culminación de este proyecto.

A el B.Q.F. German Toapanta por su valiosa colaboración como Miembro del Tribunal de Tesis por el gran aporte brindado en la ejecución de este trabajo

A todas las personas que colaboraron de alguna manera para la culminación con éxito de este trabajo de investigación.

ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO

FACULTAD DE CIENCIAS

ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA

El Tribunal de Tesis certifica que: El trabajo de investigación: “**ELABORACIÓN Y CONTROL DE CALIDAD DE UN GEL ASTRINGENTE A BASE DE Costus spicatus, Ficus carica, Salvia**”, de responsabilidad del señor egresado Edison Patricio Villalba Cárdenas, ha sido prolijamente revisado por los Miembros del Tribunal de Tesis, quedando autorizada su presentación.

FIRMA

FECHA

Dr. Silvio Álvarez
DECANO FAC. CIENCIAS

Dr. Iván Ramos
DIRECTOR DE ESCUELA

Dra. Cumandá Játiva
DIRECTORA DE TESIS

B.Q.F. German Toapanta
MIEMBRO DE TRIBUNAL

Tc. Carlos Rodríguez
DIRECTOR CENTRO
DE DOCUMENTACIÓN

NOTA DE TESIS ESCRITA

Yo, (Edison Patricio Villalba Cárdenas), soy responsable de las ideas, doctrinas y resultados expuestos en esta Tesis; y el patrimonio intelectual de la Tesis de Grado, pertenece a la ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO

(EDISON PATRICIO VILLALBA CARDENAS)

ÍNDICE DE ABREVIATURAS.

mL	mililitros
L	Litros
g	Gramos
Kg	Kilogramo
%	Porcentaje
°C	Grados Celsius
V	Volumen
η	Índice de refracción
HR	Humedad Relativa
UFC	Unidades Formadoras de Colonia
E	Efecto del gel
N°	Numero
CA	Caña Agria
H	Higo
S	Salvia
AE	Aceites Esenciales
UE	Unidades Experimentales
PC	Prueba Control (Temptation Yanbal)
m.o	Microorganismos

ÍNDICES

ÍNDICE DE ABREVIATURAS

ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE DE TABLAS

ÍNDICE DE CUADROS

ÍNDICE DE GRÁFICOS

ÍNDICE DE FIGURAS

ÍNDICE DE ANEXOS

INTRODUCCIÓN

CAPÍTULO I.....	1
1. MARCO TEÓRICO.....	1
1.1. Que es un estudio farmacológico.....	1
1.1.1. Estudios clinicos : ensayos clinicos farmacológicos. ¡Error! Marcador no definido.	2
1.1.2. Animales de experientación..... ¡Error! Marcador no definido.	3
1.1.2.1. Conejos	5
1.2. LA PIEL.....	7
1.2.1. Vello Facial.....	7
1.2.2. Estructura del Vello Facial	7
1.3 FITOCOSMÉTICA.....	11
1.3.1. Beneficios.....	12
1.3.2. Precauciones.....	12
1.4. LAS PLANTAS DE USO COSMÉTICO.....	13
1.4.1. SALVIA REAL.....	13
1.4.1.1. Clasificación taxonómica de la Salvia Real.....	14
1.4.1.2. Descripción.....	14
1.4.1.3. Clima.....	15
1.4.1.4. Composición química.....	15
1.4.1.5. Usos.....	17

1.4.2.	CAÑA AGRIA.....	21
1.4.2.1.	Clasificación taxonómica de la Caña Agria.....	21
1.4.2.2.	Descripción.....	22
1.4.2.3.	Clima.....	22
1.4.2.4.	Usos.....	23
1.4.3	HIGO.....	24
1.4.3.1	Clasificación taxonómica del HIGO.....	24
1.4.3.2.	Descripción.....	25
1.4.3.3.	Hábitat.....	25
1.4.3.4.	Composición química.....	26
1.4.3.5.	Usos.....	26
1.5.	METABOLITOS SECUNDARIOS EN LOS VEGETALES DE ESTUDIO..	28
1.5.1.	ACEITES ESENCIALES.....	28
1.5.2.	FUROCUMARINAS.....	29
1.5.3.	FLAVONOIDES.....	30
1.5.4.	TERPENOS.....	31
1.6.	MACERACIÓN.....	32
1.6.1.	Definición.....	32
1.6.2.	Tipos de maceración.....	33
1.7.	EXTRACTOS VEGETALES.....	34
1.7.1.	OBTENCIÓN DE EXTRACTOS.....	35
1.7.2.	CONTROL DE CALIDAD DE LOS EXTRACTOS.....	36
1.7.3.	TAMIZAJE FITOQUÍMICO.....	40
1.8.	GELES.....	45
1.8.1.	Definición.....	45
1.8.2.	MÉTODOS PARA COAGULAR UN GEL.....	45

1.8.3.	VENTAJAS Y DESVENTAJAS DE LOS GELES.	47
1.8.4.	TIPOS DE GELES.....	47
1.8.4.1.	Dependiendo de su comportamiento frente al agua.	48
1.8.4.2.	Según el número de fases en que están constituidos.....	49
1.8.4.3.	Clasificación de los geles por su viscosidad.....	50
1.8.4.4.	Clasificación de los geles por su estructura.	50
1.8.5.	CARACTERÍSTICAS DE LA FORMULACIÓN DEL GEL.....	51
1.9.	ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE COSMÉTICOS MÉTODO BAM.	52
1.9.1.	PREPARACIÓN DE LA UNIDAD DE MUESTRA COSMÉTICA PARA EL ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO.....	54
1.9.2.	INFORME DE RESULTADOS.	55
	CAPÍTULO II.....	59
2.	PARTE EXPERIMENTAL.	59
2.1.	LUGAR Y PRUEBAS DE ENSAYO.....	59
2.2.	FACTORES DE ESTUDIO.	59
2.3.	MATERIALES, EQUIPOS Y REACTIVOS.....	59
2.3.1.	Material biológico y vegetal.....	59
2.3.2.	Equipos.....	60
2.3.3.	Materiales de laboratorio.....	60
2.3.4.	Reactivos.....	61
2.4.	TÉCNICAS.....	62
2.4.1.	PREPARACIÓN POR MACERACIÓN DE LAS PLANTAS.....	62
2.4.2.	TAMIZAJE FITOQUÍMICO DE LOS EXTRACTOS DE CAÑA AGRIA, HIGO, Y SALVIA.....	63
2.4.3.	CONTROL DE CALIDAD DE LOS EXTRACTOS.....	67
2.5.	ELABORACIÓN DEL GEL CON CAÑA AGRIA, HIGO Y SALVIA.....	69

2.6.	CONTROL DE CALIDAD DEL GEL	70
2.7.	ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE COSMÉTICA MÉTODO BAM	71
2.7.1.	Preparación de la muestra cosmética para el análisis microbiológico.....	71
2.7.2.	Procedimiento.....	71
2.7.3.	ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO.....	72
2.7.4.	RECUENTO DE AEROBIOS EN PLACA DE SIEMBRA POR EXTENSIÓN EN SUPERFICIE	73
2.7.5.	RECUENTO DE STAPHYLOCOCCUS SPP EN PLACA DE SIEMBRA POR EXTENSIÓN EN SUPERFICIE	73
2.7.6.	PREPARACIÓN DE LAS DILUCIONES EN BASE 10	73
2.7.7.	SIEMBRA	73
2.7.8.	RECUENTO.....	74
2.7.9.	INTERPRETACIÓN DE PRUEBAS MICROBIOLÓGICAS	74
2.8.	ESTABILIDAD DEL GEL POR MEDIO DE TERMORESISTENCIA	75
2.9.	METODOLOGÍA.....	76
2.9.1.	FASE DE CAMPO.....	76
2.9.2.	PRECAUCIÓN.....	78
2.9.3.	EXIGENCIAS DE LOS ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN PARA ALMACENARLOS.	80
2.10.	FASE DE LABORATORIO	81
2.10.1.	DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD ASTRINGENTE	82
2.10.2.	TIPO DE DISEÑO EXPERIMENTAL.....	82
2.10.3.	NOMENCLATURA.....	83
2.11.	ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	84
2.11.1.	Test de anova.....	84
2.11.2.	Descripción del problema.....	84
2.11.3.	Análisis de varianza.....	85

2.11.4.	Prueba de separación de medias prueba de tukey al 5%	86
2.11.5.	Coeficiente de variación	87
CAPÍTULO III		88
3.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	88
3.1.	CONTROL DE CALIDAD DEL GEL	90
3.2.	ESTABILIDAD DEL GEL POR MEDIO DE TERMORESISTENCIA	91
3.3.	BIOENSAYO.	92
3.3.1.	Exposición de los conejos al producto	92
3.3.2.	Aplicación del gel en la piel de los conejos	93
3.3.3.	Prueba de sensibilidad	94
3.3.4.	Prueba control con temptation de yanbal	95
3.4.	RESULTADOS DE LA ACTIVIDAD ASTRINGENTE DEL GEL CON EXTRACTOS DE HIGO, ACEITE ESENCIAL DE SALVIA Y JUGO DE CAÑA AGRIA	96
3.5.	ANÁLISIS DE VARIANZA DE LA ACTIVIDAD ASTRINGENTE DEL GEL ELABORADO A BASE DE EXTRACTOS DE HIGO, JUGO DE CAÑA AGRIA Y ACEITE ESENCIAL DE SALVIA OFFICINALIS	98
3.6.	PRUEBA DE TUKEY AL 5% PARA DETERMINAR LA ACTIVIDAD ASTRINGENTE ELABORADA A BASE DE EXTRACTOS DE HIGO, ACEITE ESENCIAL DE SALVIA Y JUGO DE CAÑA AGRIA EN CONEJOS EXPERIMENTALES	99
CAPÍTULO IV		102
4.	CONCLUSIONES	102
CAPÍTULO V		104
5.	RECOMENDACIONES	104
CAPÍTULO VI		105
6.	RESUMEN Y SUMMARY	105

6.1.	Resumen.....	105
6.2.	Summary.....	107
CAPÍTULO VII.....		108
7.	BIBLIOGRAFÍA.....	108
CAPÍTULO VIII.....		114
8.	ANEXOS.....	114

ÍNDICE DE TABLAS

TABLA N.1	Fase de campo de los análisis de experimentación	79
TABLA N.2	Exigencias de los animales de experimentación.....	79
TABLA N.3	Datos del tiempo de absorción del gel en sus diferentes formulaciones.....	96

ÍNDICE DE CUADROS

CUADRO N. 1	Características de la formulación del gel.....	51
CUADRO N. 2	Control de calidad del gel.....	70
CUADRO N. 3	Aplicación del gel con caña agria, higo y aceite esencial de salvia y control (temptation yambal).....	83
CUADRO N. 4	Resultado de las propiedades físicas, químicas y bibliográficas del jugo de caña agria, higo y salvia.....	89
CUADRO N. 5	Resultado del análisis organoléptico, físico y microbiológico del gel con caña agria, higo y salvia.....	90
CUADRO N. 6	Resultado de la estabilidad del gel a condiciones de temperatura de 37 +/- 2 por 12 horas en la estufa.....	91
CUADRO N. 7	Análisis de varianza de la actividad astringente del gel elaborado a base de extracto de higo, aceite esencial de salvia y jugo de caña agria.....	98
CUADRO N. 8	Prueba de Tukey al 5 % para determinar la actividad astringente del gel y control (temptation yambal).....	99

ÍNDICE DE GRÁFICOS

GRÁFICO N.1	Comparación entre las diferentes formulaciones del gel.....	100
GRÁFICO N.2	Actividad del gel da Caña Agria, Higo y salvia con el menor tiempo de Absorción y el gel control (Temptation Yanbal).....	100
GRÁFICO N.3	Desviación entre las diferentes formulaciones del gel en función.....	101

ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA N.1	Conejos experimentales.....	5
FIGURA N.2	Estructura de la Piel.....	7
FIGURA N.3	Estructura del Vello Facial.....	9
FIGURA N.3	Estructura del Vello Facial.....	9
FIGURA N.4	Fitocosmética.....	11
FIGURA N.5	Planta de Salvia Real.....	13
FIGURA N.6	Saficinolido.....	16
FIGURA N.7	Salvigenina.....	16
FIGURA N.8	Ácido Rosmárico.....	17
FIGURA N.9	Caña Agria (costus spicatus).....	21
FIGURA N.10	Higo (ficus carica).....	24
FIGURA N.11	Psoraleno.....	26
FIGURA N.12	Furocumarinas.....	29
FIGURA N.13	Flavonoides.....	30
FIGURA N.14	Terpenos.....	31

ÍNDICE DE FOTOGRAFÍAS

FOTOGRAFÍA N. 1	Análisis Microbiológico del gel (Aerobios Mesófilos, Coliformes T y E Coli.....74
FOTOGRAFÍA N. 2	Realización de Rasurado de la piel de los conejos92
FOTOGRAFÍA N.3	Aplicación del gel elaborado con caña agria, higo y salvia en los Conejos.....93
FOTOGRAFÍA N. 4	Prueba de Sensibilidad negativa en los conejos usado en la experimentación.....94
FOTOGRAFÍA N. 5	Prueba control con el gel control Temptation Yanbal.....95
FOTOGRAFÍA N. 6	Aplicación del gel con Actividad Astringente en conejos usados para la experimentación.....97
FOTOGRAFÍA N. 7	Efecto del gel elaborado a base de Caña Agria, Higo y Salvia.....97

ÍNDICE DE ANEXOS

ANEXO N.1	Tabla de valores de la aptitud total estudentizada q 0.05, para una prueba de Tukey (valor de interpolación).....	114
ANEXO N. 2	Fotografías de los conejos antes y después del tratamiento con el gel elaborado a base de Extractos Puros de Higo, jugo de Caña Agria y aceite esencial de Salvia Frente al control (Temtation Yanbal) para el efecto astringente.....	115
ANEXO N. 3	Fotografías de los materiales y equipos usados en el desarrollo del trabajo de investigación.....	116
ANEXO N. 4	Fotografías del análisis microbiológico aplicado al gel elaborado con caña agria, higo y aceite esencial de salvia para la función astringente.....	118

INTRODUCCIÓN

En la actualidad el culto de lo que es imagen personal es una de las prioridades en todas las edades y sexo y uno de los tratamientos es la aplicación de geles y de sustancias que ayuden en el control de irritación después del afeitado del vello, entre los más comunes están la avena, el aloe vera, el aceite de jojoba, el aceite salvia real con sus componentes como son los monoterpenos y los sesquiterpenos, la quercetina un flavonoide que se encuentra en la caña agria y en el higo como son aminoácidos, azúcares, enzimas, vitaminas entre otros.

Actualmente se incluyen extractos de plantas que poseen cualidades específicas y usándolas como una alternativa para enfrentar los procesos de deterioro de la piel, práctica que se ve reforzada por el hecho de ser productos de eficacia comprobada. No obstante en el uso de éstos existe un gran desconocimiento sobre como emplearlos, sus principios activos y su concentración para lograr los efectos requeridos y lograr que no sean tóxicos.

En las últimas décadas el auge por las plantas medicinales ha incrementado notablemente no solo en nuestro país sino también a nivel mundial. Por este motivo, la Organización Mundial de la Salud (OMS) incentiva la obtención de productos a partir de los recursos naturales. En este marco, algunos laboratorios de Farmacología se han dedicado a la obtención de subproductos y de extractos de plantas medicinales como la manzanilla, higo, caña agria, romero, salvia, etc.

Dentro de este contexto, los aceites esenciales (AE) son productos naturales de gran valor e importancia económica. La bioactividad de los AE se investiga a partir de los efectos farmacológicos que son producidos por sus metabolitos, los cuales son obtenidos por arrastre de vapor de agua si es necesario aplicarlo un Deanstark.

En cosmética la elaboración de geles es un proceso cotidiano porque las formulaciones de estos productos están establecidas. Esta investigación se enfoca al estudio de las características de los vegetales empleados como son el higo, la salvia y caña agria con el fin de otorgar las características de aspecto, untuosidad, y los demás parámetros que los describa como un gel; sustituyendo alguno de los componentes del gel por los subproductos que proponemos.

Los vegetales en su biosíntesis producen metabolitos secundarios con estructuras específicas como furano cumarinas y enzimas en el Higo (*Ficus carica*); Flavonoides taninos las familias juglandaceae y laminaceas a la que pertenece la Salvia (*Salvia officinalis*) que posee aceite esencial, glucósidos de luteol y apigenol y ácidos fenólicos.

La caña agria es originaria de México, es una planta, que pertenece al género *Citrus*, crece en lugares cálidos, semicálidos y templados, contiene cianidin, camfenol, delphinidin, flavonoides y quercetina. Para los cuales son usados medicinalmente para afecciones de la piel en alergias, son antiinflamatorios antioxidantes y polivalentes.

Las propiedades del gel son evaluadas mediante pruebas físicas, químicas y microbiológicas que ya están establecidas en normas mexicanas que se las empleo para el desarrollo de la investigación con la adición de un tamizaje fitoquímico necesario para la determinación de los componentes químicos que cumplan con la propiedad destinada.

Esta investigación fue desarrollada en el Laboratorio de Fitoquímica de la Facultad de Ciencias Escuela de Bioquímica y Farmacia de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo este estudio tiene por objeto preparar los extractos vegetales mediante método de maceración, y poder definir la actividad astringente del gel con los extractos de Higo (*Ficus carica*), Caña Agria (*Costus spicatus*) y Salvia (*Salvia officinalis*), en si la elaboración del gel con la ayuda de los principios activos presentes en los extractos vegetales y evaluar estadísticamente el efecto astringentes del gel.

Los resultados que se obtuvieron en el estudio son positivos en el efecto que se destinó como es la propiedad de la astringencia.

CAPÍTULO I

1. MARCO TEÓRICO.

1.1. QUE ES UN ESTUDIO FARMACOLÓGICO

El desarrollo de una nueva sustancia, fármaco o cualquier forma farmacéutica utilizada en la cosmética debe incluir diferentes fases de que la investigación preclínica permita su uso en humanos. Este desarrollo clínico tiene como objetivos generales determinar la pauta de administración más adecuada; confirmar su eficacia en la afección de la piel que sea de interés y establecer la seguridad de su uso, determinando la naturaleza de los efectos adversos más frecuentes.

Los ensayos farmacológicos con frecuencia demuestran tener beneficios reales. Los investigadores realizan estudios sobre nuevos tratamientos y productos para conocer su utilidad, si la efectividad es mayor que otros productos ya disponibles, los efectos secundarios y si estos son mayores o menores que el convencional, si supera los beneficios a los efectos secundarios. (7)

Un estudio farmacológico es una investigación en donde se emplea animales de experimentación con el fin de estudiar el origen, composición, propiedades físicas y químicas, mecanismo de acción, efectos, biológicos, absorción, destino y excreción, biotransformación, usos clínicos y toxicidad de los componentes químicos consideradas como tales a todas aquellas sustancias químicas capaces de modificar el comportamiento

de una función biológica como cutánea y en su virtud ser útiles para la curación y la prevención. (31)

Podemos decir que el estudio farmacológico consiste en un estudio experimental y prospectivo en el cual el investigador provoca y controla las variables y los sujetos (animales de experimentación, la mayoría de los casos) son asignados de forma aleatoria a las distintas intervenciones que se comparan. El elemento esencial del ensayo es la existencia de un grupo de comparación o grupo de control, que permite probar si la nueva intervención o las sustancias a aplicar es mejor que las ya existentes o convencionales(31)

En cualquier investigación en animales de experimentación esta siempre dirigida a descubrir o verificar los efectos farmacológicos y otros efectos de un producto en la investigación y a identificar una reacción adversa al producto así como al estudio de la absorción, distribución, metabolismo y su excreción de un producto en investigación con el objeto de determinar su seguridad y eficacia. En toda evaluación experimental de una sustancia o medicamento si es el caso se necesita conocer la forma que actúan las sustancias. (31)

1.1.1. ESTUDIOS CLÍNICOS: ENSAYO CLÍNICO FARMACOLÓGICO

Dado que los animales de laboratorio se presentan como cepas con variabilidad biológica limitada, los estudios realizados con ellos no pueden ser suficientes para determinar sin dudas que una sustancia determinada tendrá las características deseadas de eficacia y seguridad en poblaciones humanas; esto no solo depende de las diferencias entre las especies, sino también de la posibilidad de reacciones que no pueden ser adecuadamente determinadas en animales (cefalea, depresión, etc.). (4)

La posibilidad de simular padecimientos de irritabilidad en los animales proporciona el sustento teórico de una gran parte de la investigación que se realiza en esta área. Sin embargo, la complejidad del fenómeno hace necesario revisar algunos aspectos relacionados con este importante instrumento de investigación como pueden ser las diferentes razas, sistemas fisiológicos es decir modelos animales diferentes. (3)

1.1.2. ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN

La experimentación con animales es uno de los temas más polémicos y que levanta algunas de las discusiones más acaloradas y apasionadas, ya que implicaciones que se derivan no se reducen al ámbito animalista, sino que extienden a científicos, legisladores, estudiantes, industrias, opinión pública y medios de comunicación. (18)

Es decir la experimentación con animales in vivo es el uso de animales no humanos en experimentos científicos. (18)

Se calcula que aproximadamente cada año se utiliza entre 50 a 100 millones de vertebrados como pueden ser los ratones, ratas, ranas, conejos y otros animales.

Los experimentos con animales tienen su base en el hecho de considerar a otras especies animales como modelos en miniatura de los problemas humanos. Es obvio que la comunidad científica no se plantearía la experimentación con animales si no hubiera estudios como este que hacen tambalear algunas de las ideas clásicas de la Ciencia, las cuales se perpetúa, no por su valor científico, sino por la tradición, la inercia y el miedo al cambio, tan inherente al ser humano.

Se realiza experimentos con animales básicamente en tres campos: la docencia, la industria y la investigación.

En las prácticas docentes y de investigación con animales tienen como objeto el aprender y comprobar ciertos procesos fisiológicos, características anatómicas o adquirir habilidades clínicas quirúrgicas y la comprobación de las propiedades establecidas en ciertas sustancias que se las utilice para el análisis y posterior aplicación en humanos.

Respecto a la industria cosmética, merece la pena destacar los avances que se han producido con la aplicación de animales de experimentación en donde los laboratorios testan sus productos en animales. Entonces los análisis de laboratorio con la aplicación de los animales están destinados a comprobar una hipótesis que se hayan planteado para que estas puedan ser comprobadas. (18)

Para el análisis de laboratorio se usan diferentes animales y sus diferentes razas que en algunos casos tienen que ser de razas específicas como:

RATAS

Durante años las ratas se han usado en multitud de experimentos y estudios, lo que nos ha ayudado a entender más sobre su genética, enfermedades, etc. Por lo que llegan a convertirse en el modelo de estudio más popular para hacer según qué tipo de pruebas científicas. Y existen razas como Sprague - Dawley, Wistar, Long Evans, Fisher F 344, SHR y WKY.

RATONES

Los ratones por norma general, son más pequeños que las ratas, también más domésticos y toleraran mejor la presencia y manipulación humana. Por lo que existe razas diferentes como la CD, NMRI entre los más usados.

COBAYOS

Los cobayos también conocidos como conejillos de Indias debido a su procedencia andina, puede llegar a pesar un kilo y es un animal ampliamente usado en la experimentación científica. Las cepas más comunes son la Hartley (albina) y la BFA (tri-color).

CONEJOS

Es otro popular grupo de roedores usados en modelos experimentales científicos debido a su buen temperamento, a su fácil manejo, cuidado y reproducción. La cepa más usada y estudiada es la New Zealand White, que como bien indica su nombre, es albina.

PERROS

La raza Beagle es la más utilizada en investigaciones, que abarcan la medicina aplicada a humanos, medicina aplicada a la veterinaria y a la investigación biológica en general. Se usa esta raza y no otra por su particular naturaleza pasiva y su reducido tamaño. (19)

1.1.2.1. CONEJOS (New Zealand)



FIGURA N. 1 CONEJO DE RAZA NEW ZEALAND

Conejo New Zealand fue primero una variedad roja y fue conocido en Estados Unidos alrededor de 1912. Se cree que es un cruce entre un Belgian Hare y un conejo blanco. La

variedad blanca se consiguió de un cruce de diversas razas, como el Flemish, American, Blancos y Angoras. También se desarrolló una variedad negra de varios cruces incluyendo el Chinchilla.

El New Zealand se ha estado seleccionando por cientos de generaciones, porque tiene buena personalidad y son fáciles para trabajar. (33)

Nombre científico: *Oryctolagus cuniculus*

Reino: Animalia

Filo: Chordata

Orden: Lagomorpha

Familia: Leporidae

Hábitat: Doméstica

Los Conejos de esta raza son Fuertes y de buen carácter, es uno de los Conejos de gran tamaño, además esta raza necesita una zona más grande para vivir. Necesita hacer ejercicio regularmente ya que son propensos a la obesidad, tiene un peso de alrededor de 5 Kg.

El New Zealand se presenta generalmente en blanco con ojos rojos, pero también se encuentra en rojizo o negro.

1.2. LA PIEL

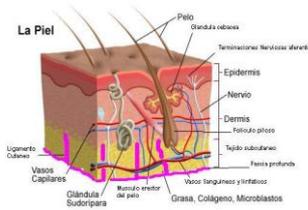


FIGURA N. 2 ESTRUCTURA DE LA PIEL

Es el mayor órgano del cuerpo humano o animal. Ocupa aproximadamente 2 m², y su espesor varía entre los 0,5 mm (en los párpados) a los 4 mm (en el talón). Su peso aproximado es de 5 kg. Actúa como barrera protectora que aísla al organismo del medio que lo rodea, protegiéndolo y contribuyendo a mantener íntegras sus estructuras, al tiempo que actúa como sistema de comunicación con el entorno, y éste varía en cada especie. Anatómicamente se toma como referencia las medidas estándar dentro de la piel humana. También es conocido como sistema tegumentario. (29)

La biología estudia tres capas principales que, de superficie a profundidad, son:

- ✚ la epidermis,
- ✚ la dermis y
- ✚ la hipodermis

1.2.1. VELLO FACIAL

El vello facial es más común en el área del bigote, las sienes, la barbilla y, a veces, en las mejillas. Generalmente es genético y, en pocos casos, puede estar relacionado con desórdenes hormonales. (33)

1.2.2. ESTRUCTURA DEL VELLO FACIAL

El vello humano es un sistema vivo que nace, crece, se desarrolla y muere ante nuestros ojos. Su naturaleza y su dinámica son la base de la depilación láser moderna. Si nos

acompaña haremos un recorrido por su anatomía, por su naturaleza, para descubrir la funcionalidad de un proceso complejo y único, de las raíces a las puntas. (34)

El vello humano está compuesto por una estructura muy resistente de proteínas estructurales que se denomina queratina. Se trata del mismo tipo de proteínas que forman las uñas y la capa externa de la piel. (34)

A pesar de su aspecto compacto, el vello humano está formado por tres capas distintas, la médula, la corteza y la cutícula. La parte interna o médula sólo está presente en el vello grueso, como el que podemos encontrar en el hombre. El vello del hombre, precisamente, es fácil de tratar por la depilación láser con los aparatos adecuados que podemos encontrar en cualquier centro de depilación láser de, muy especialmente en los que atienden al público masculino. (33)

Pero seguimos, con la estructura del vello humano, la capa media se conoce con el nombre de corteza. La corteza proporciona tanto la fuerza del pelo como el color, como la textura del vello que le es tan característica. En depilación láser, el color del vello es fundamental para el tratamiento adecuado, los tonos oscuros, sobre piel clara, son los ideales para la aplicación de la técnica. (33)

La última de las capas del vello es la cutícula. Es fina e incolora y sirve como protectora de la corteza. Si descendemos hasta la base del vello, descubriremos otras estructuras de interés. La más importante es la raíz que está contenida en el llamado folículo piloso. El folículo piloso, que tiene una forma vagamente parecida a la de un saco, descansa sobre la papila dérmica. (34)

La papila dérmica se alimenta del torrente sanguíneo que es el responsable de llevar el alimento para producir el vello y para regenerarlo en su ciclo natural. La papila dérmica

es una estructura básica para el crecimiento del vello porque contiene secciones en las que se albergan las hormonas masculinas, especialmente los andrógenos. Los andrógenos son los responsables de la regulación del crecimiento del vello en la piel. El vello, que no hay que confundir con cabello, aunque sean términos intercambiables, es el que cubre el cuerpo, el cabello sólo cubre la cabeza. Para referirse a ambos, hay que hablar de pelo, pelo de la cabeza, pelo corporal, que más propiamente sería, vello corporal. (33)

El vello corporal que es el que se relaciona con la depilación láser tiene como todo el pelo, tres fases en su evolución natural. La fase anágena, o periodo de crecimiento, la fase catágena, o de transición, y la fase talógena o periodo de reposo. Lo curioso de este proceso es que cada vello, cada pelo corporal, pasa por cada una de las fases de forma independiente con respecto a sus vecinos. Puede ocurrir que sobre una misma superficie de piel haya masas de vello en un estado y otras en otro, o que las hormonas alteren todo el proceso. (34)



FIGURA N. 3 ESTRUCTURA DEL VELLO FACIAL

En medicina, en histoanatomía y dermatología, a fines prácticos se estudian dos de las capas; la epidermis y la dermis. De la piel dependen ciertas estructuras llamadas anexos cutáneos, como son los pelos, las uñas, las glándulas sebáceas y las sudoríparas (28)

Fases de crecimiento

El pelo no crece de manera indefinida, sino que tiene un crecimiento cíclico, al que se le llama ciclo piloso. Cada folículo posee su propio ciclo, independiente de los que haya a su alrededor.

- + **Fase anágena o Anagen:** En esta fase el pelo está pegado a la papila, nace y crece. Dura entre 4 y 6 años, aunque normalmente se toma como valor medio tres años. La forma del folículo en esta fase es similar a la de una cebolla, más ancha en la base que en el tallo. El pelo crece sin cesar debido a que las células de la matriz del folículo se dividen por mitosis constantemente.
- + **Fase catágena o Catagen:** Es una fase de transición. Se extiende unas 3 semanas, durante las cuales el crecimiento se detiene y se separa de la papila, cesando la actividad de las células de la matriz, incluido los melanocitos. El bulbo toma un aspecto cilíndrico.
- + **Fase Telógena o Telogen:** Es la fase del descanso y de caída del pelo, dura unos 3 meses. La raíz del pelo toma un aspecto de cerilla y permanece insertado en el folículo.

Tipo de pelo	Duración de la fase anágena
Cabello	3-5 años (1095-1825 días)
Barba	1 año (365 días)
Vello corporal	13-15 semanas (91-105 días)

Cejas 1 mes (30 días)

Bigote 4-14 semanas (28-98 días)

Cada 2 días y 9 horas $\frac{1}{2}$, el Cabello crece al menos un milímetro más.

1.3. FITOCOSMÉTICA



FIGURA N. 4 FITOCOSMÉTICA

La Fitocosmética hace hincapié en el estudio y la utilización de plantas para el tratamiento, además está basada en la aplicación de principios activos vegetales, una práctica que se remonta cientos de años en el tiempo y de la que hay ejemplos significativos en la botánica de los cinco continentes.

Los ingredientes utilizados por la Fitocosmética se obtienen de las distintas partes de las plantas, tallos, hojas, frutos, flores, bulbo y son seleccionados, purificados y tratados durante delicados procesos de elaboración. (10)

Entonces se consideran como productos cosméticos elaborados a partir de sustancias vegetales. El valor de los Fitocosméticos deriva precisamente de su origen natural: no

solo son eficaces en sus funciones estéticas y de higiene, sino que además reduce cualquier tipo de efecto secundario y suman beneficios relacionados con la salud. (10)

1.3.1. BENEFICIOS

- ✚ Las plantas medicinales suelen tener un efecto mucho más lento que los productos farmacéuticos.
- ✚ Las plantas medicinales preparadas a partir de la planta completa tiene pocos efectos secundarios.
- ✚ Son más seguras cuando se utilizan en dosis terapéuticas adecuadas determinadas y son menos costosos que los productos químicos aislados, los fármacos o cosméticos de prescripción sistémica.

1.3.2. PRECAUCIONES

- ✚ Muchas plantas tienen contraindicaciones específicas para su uso cuando existe determinados trastornos médicos.
- ✚ No todos los cosméticos se pueden administrar a niños pequeños, lactantes y embarazadas.
- ✚ Algunas pueden ser tóxicas y existe pocas investigaciones sobre la toxicidad crónica que puede derivar del uso prolongado.
- ✚ El autodiagnóstico y el autotratamiento con productos medicinales botánicos pueden ser peligrosos. Siempre es necesario consultar con un Fitoterapeuta clínico, un médico naturopata, cosmetólogo, dermatólogo, cosmeatra u otro profesional experto en el tema antes de seguir una pauta de tratamiento. (17)

1.4. LAS PLANTAS DE USO COSMÉTICO

El uso de una u otras plantas viene determinado por su actividad fisiológica, que varía de unas plantas a otras, de modo que encontramos plantas para casi todas las necesidades estéticas. Las propiedades dermatológicas son muchas y muy variadas: tonificantes, astringentes, antiinflamatorias, antisépticas, cicatrizantes, detergentes, suavizantes, calmantes emolientes, descongestionantes, refrescantes, etc. (19)

Hay una serie de plantas que son especialmente interesantes en medicina estética las que habitualmente se pueden utilizar en consulta o bien en preparaciones, en forma pura o formulaciones farmacéuticas, pues las encontramos citadas a continuación. (19)

Algunas de las materias primas naturales usadas en cosmética:

Avena, Aloe vera, Manteca de karité, Aceite de Jojoba, Centella asiática, Helianthus, Annus, Origanum mejorana, Cáñamo, Rosa mosqueta, Salvia real, Caléndula, Tomate, Romero, Caña agria, Higo (tallo). (11)

1.4.1. SALVIA REAL



FIGURA N. 5 PLANTA DE SALVIA REAL

1.4.1.1. CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA DE LA SALVIA REAL

- **Nombre común o vulgar:** Castellano selima, hierba del mudo, hormigón de España, madreSelva, salima, salima fina, salvia, salvia blanca, salvia con hojas de espliego, salvia de Aragón, salvia de Aragón de hojas estrechas con orejuelas, salvia de Cataluña, salvia de granada, salvia de hoja angosta, salvia de hoja estrecha, salvia de la Alcarria, salvia de Moncayo, salvia de Trillo, salvia fina, salvia fina de la Sierra, salvia hortense menor, salvia menor, salvia menuda de España, salvia officinal, salvia real, salvia salvaje, salvia silvestre, savia, salima fina, selvia, té indígena, verdecillo
- **Nombre científico o latino:** *Salvia officinalis*
- **Género :** *Salvia*
- **Especie :** *Officinalis*
- **Reino :** Plantae
- **División :** Magnoliophyta
- **Clase :** Magnoliopsida
- **Familia:** Lamiaceae.
- **Subfamilia:** Nepetoidea.
- **Orden:** Lamiales.

1.4.1.2. DESCRIPCIÓN

Es una planta perenne aromática de hasta 70 cm de altura. Tallos erectos y pubescentes. Hojas pecioladas, oblongas y ovales, más raramente lanceoladas, con la nervadura bien marcada. Flores blanco-violáceas en racimos, con corola de hasta 3 cm, cuyo labio

superior es casi recto; el cáliz es más pequeño que la corola con tonalidades púrpuras (32).

1.4.1.3. CLIMA

Se encuentra en la Europa mediterránea, en sitios rocosos y herbazales secos, desde el nivel del mar hasta zonas montañosas. Tiene preferencia por los terrenos poco productivos y poco fértiles. En España predomina la variedad *lavandulifolia*.

Salvia officinalis fue descrita por Carl Linnaeus en 1753. Ha sido cultivada por siglos en el Viejo Mundo por sus propiedades culinarias y medicinales y muchas veces ha sido descrita con propiedades curativas milagrosas. El epíteto específico *officinalis*, se refiere al uso medicinal, officina, el cual fue una hierba tradicional en expendios medievales de los monasterios. *S. officinalis* ha sido clasificada con varias denominaciones taxonómicas (32)

1.4.1.4. COMPOSICIÓN QUÍMICA

El aceite esencial de *Salvia officinalis* cambia su composición de acuerdo a la época del año, la naturaleza del suelo y el estado de estrés de la planta. Muchos componentes, sobre todo monoterpénicos y sesquiterpenos, se encuentran de manera regular tales como canfeno, pinenos α y β , limoneno, β -ocimeno (E y Z), terpinoleno, α -copaeno, β -bourboneno, linalol, acetatos de linalilo y bornilo, aromadendreno, terpinen-4-ol, terpinenos α y γ , α -humuleno, δ -cadineno, óxido de cariofileno, manol, sabineno, felandrenos α y β , alcanfor, humuleno, p-cimen-8-ol, cariofileno, acetato de α -terpililo, p-cimeno, borneol, isoborneol, triciclono, sabinol, acetato de isobornilo, acetato de sabinilo, α -gurjuneno, alo-aromadendreno, viridiflorol, α -tuyeno, tuyonas α y β , óxido de

humuleno, cadinoles α y δ , salvenos cis y trans, mirceno, β -cubeneno, farneseno, carvona, fencona, α -malieno, β -copaeno y calameneno.

Se han identificado diterpenos abietánicos tales como saficinólido, sageona, ácido carnósico, carnosol, rosmadial, rosmanol y epi-rosmanol

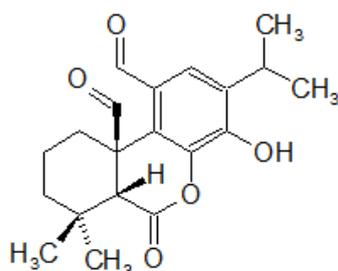


FIGURA N. 6 SAFICINÓLIDO

Tres compuestos con esqueleto terpenoide de apianano fueron identificados como rel-(5S, 6S, 7S, 10R, 12S, 13R)-7-hidroxiapiana-8,14-dieno-11,16-dion-(22,6)-ólido, rel-(5S, 6S, 7R, 10R, 12S, 13R)-7-hidroxiapiana-8,14-dieno-11,16-dion-(22,6)-ólido y rel-(5S, 6S, 7S, 10R, 12R, 13S)-7-hidroxiapiana-8,14-dieno-11,16-dion-(22,6)-ólido. Otros componentes aislados son la salvigenina, lupeol, β -sitosterol, estigmasterol, columbaridiona, atuntzensina A y miltirona.

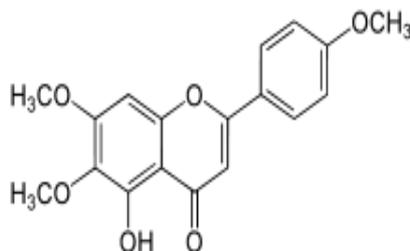


FIGURA N. 7 SALVIGENINA

También se han reportado glucósidos, tales como (1S,2R,4R)-1,8-epoxi-p-mentan-2-il-O-β-D-glucopiranosido, (6R,9S)-3-oxo-R-ionol-β-D-glucopiranosido, (6R,9R)-3-oxo-R-ionol-β-D-glucopiranosido, eugenilglucósido, 6-O-cafeoil-β-D-fructofuranosil-(2→1)-R-D-glucopiranosido, 1-O-cafeoil-β-D-apiofuranosil-(1→6)-β-D-glucopiranosido, y 1-O-p-hidroxibenzoil-β-D-apiofuranosil-(1→6)-β-D-glucopiranosido.

Varios complejos de polisacáridos compuestos principalmente de galactosa (17.9%), 3-O-metil-galactosa (3.0%), glucosa (15.5%), manosa (8.3%), arabinosa (30.4%), xilosa (7.6%), fucosa (2.6%), ramnosa (6.7%), y ácidos urónicos (8.0%) de los cuales se han investigado su actividad inmunomoduladora (8).

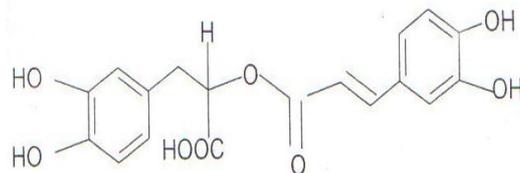


FIGURA N. 8 ÁCIDO ROSMÁRICO

1.4.1.5. USOS

Tiene muchas propiedades medicinales como antisudorífica, hipoglucemiante, emenagoga, estimulante, antiespasmódica, astringente y antiséptica. Por ello es cultivada como planta medicinal.

La salvia, junto con el romero, el espliego y el tomillo ha formado parte tradicionalmente de lo que se conoce como " El vinagre de los cuatros ladrones". Se cuenta que cuatro ladrones son cogidos en Tolouse mientras saqueaban las casas de los vecinos afectados por la peste. Se les condena a muerte pero se les ofrece la posibilidad de salvarse si explican cual el su secreto para sobrevivir entre la peste sin contagiarse. Su secreto era

macerar las cuatro plantas mencionadas en vinagre y frotarse luego todo el cuerpo. Esta historia viene a demostrar las propiedades principales de todas las salvias: su valor vulnerario y bactericida.

En general posee las mismas propiedades fundamentales vulnerables que la Salvia verbenaca y la Salvia pratensis, pero con principios activos superiores, de ahí que, como vemos por su nombre, es la especie que siempre se ha utilizado como medicinal. Bactericidas: Contra las afecciones respiratorias en general, garganta, gripe etc. Decocción de una cucharada de hojas secas por taza. Tomaremos dos tazas al día. (Gargarismos con esta decocción para el tratamiento de las anginas, faringitis, laringitis, ronquera o afonía)

Cicatrizante y bactericida: (úlceras, cortes, heridas, etc.) Para sanar las heridas y las úlceras, favoreciendo la cicatrización o impidiendo que ésta herida pudiera infectarse. Compresas con la maceración de 20 gr. de hojas secas en 3/4 de litro de agua o bien la planta fresca aplicada sobre las heridas.

Resulta interesante realizar una infusión de cucharada y media de hierba seca para el tratamiento de las úlceras de la boca (Realizar enjuagues bucales con esta preparación. No tragar el líquido)

Las propiedades bactericidas de la salvia pueden aprovecharse para combatir las intoxicaciones alimentarias, estomacales, anti-diarreica y antivomitiva: Contra las digestiones pesadas, la diarrea y los vómitos es un buen remedio tomarse tres tazas repartidas a lo largo del día de la infusión de 15 gr. de hojas secas por litro de agua. Esta

infusión ayuda a eliminar la acidez por lo que resulta adecuado en casos de gastritis o hernia de hiato.

Emenagogo: Rebaja ligeramente los dolores de la menstruación y facilita el vaciado, evitando los problemas colaterales que origina como dolores de cabeza, estómago, retención de líquidos e irritabilidad general. (Infusión de una cucharada de sumidades floríferas. 2 tazas diarias durante una semana antes de la menstruación)

Hipoglucemiante: Su uso disminuye la cantidad de azúcar en la sangre. Deben utilizarla los diabéticos. Para ello tomarán un vaso pequeño al día de la maceración con 100g. de hojas en un litro de vino de jerez durante 10 días.

Relajante muscular: Muy útil como relajante muscular, en dolores producidos por estiramientos o esfuerzos demasiado grandes sin preparación previa. (Frotar la zona dolorida con una mezcla de 10 gotas aceite esencial en dos cucharadas de aceite de oliva. No beber el aceite esencial.) (Añadir 20 gotas al agua de baño. tomar un baño durante 15 o 20 minutos) (Añadir al agua del baño la Infusión de 3 cucharadas de planta seca en un litro de agua. Tomar un baño durante 15 o 20 minutos) Este último remedio resulta muy útil para combatir el insomnio, ya que, cuando nos relajamos, podemos conciliar mejor el sueño.

Para los excursionistas resulta ideal para desinflamar, relajar y descansar los pies, después de una larga marcha.(Realizar una infusión de 50 gr. de salvia y 50 gr. de romero y tomar un baño de pies durante 15 minutos.)

Bucales: Con el vino mencionado anteriormente podemos realizar enjuagues bucales para fortalecer las encías. También podemos utilizar las hojas frescas para frotar las encías y los dientes y conseguir el mismo resultado.

Fertilidad: Por su riqueza en zinc que influye en la producción de testosterona (Infusiones de las sumidades florales.)

Alzheimer: La salvia ayuda a la conservación de la acetilcolina, uno de los principales neurotransmisores, por lo que las infusiones de esta planta podrían ayudar al mejor funcionamiento de la mente en los enfermos de Alzheimer.

Capilares: La infusión de sus hojas, mezcladas con las del romero y tomillo, da vigor y brillo al cabello. Para el tratamiento de la caspa se puede utilizar la siguiente loción: Mezclar 5 gotas de aceite de salvia con una cucharadita de aceite de almendras y masajear la cabeza con los dedos en movimientos circulares después de haber lavado el cabello.

Mal olor: Reduce la sudoración excesiva por lo que resulta útil para combatir el mal olor corporal. (Infusión de una cucharadita de planta seca por vaso de agua. Tomar un par de vasos al día) Esta misma preparación puede utilizarse para realizar enjuagues bucales con los que se puede combatir la halitosis o mal aliento en la boca.

En cosméticos:

La utilización de hojas de salvia con el agua tibia del baño, vigoriza la piel y da energía a todo el cuerpo. Para el tratamiento de la piel grasa realizar una mascarilla con la infusión de esta planta diluida en un yogur. (Dos cucharadas de la infusión mezcladas con el

yogur. Enfriar y aplicar sobre el rostro hasta que se seque bien. Limpiar con agua fría)

Canas: Esta planta se utilizan como uno de los tintes naturales para el cabello (9).

Aperitivo eupéptico (principios amargos y aceite esencial).

Antirradicalar (ácidos fenólicos y flavonoides).

Anti-hidrótico en uso externo: paraliza las terminaciones nerviosas de las glándulas sudoríparas.

Estimulante del cuero cabelludo (ácido rosmarínico y principio estrogénico).

Astringente vulnerario (aceite esencial)

Antiséptico en uso tópico (aceite esencial).

Mucolítico, expectorante (aceite esencial) (30)

1.4.2. CAÑA AGRIA



FIGURA N. 9 CAÑA AGRIA (*Costus spicatus*)

1.4.2.1. CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA DE LA CAÑA AGRIA

- **Nombre común o vulgar:** Caña amarga, Caña cimarrona, Cañahuate, Costo de Arabia, Caña agria, Caña santa, Cañuela, Limoncillo, Yerba del limón
- **Familia:** *Zingiberaceae*.
- **Género :** *Citrus*
- **Especie:** *spicatus*.
- **Reino:** *Plantae*.
- **División :** Magnoliophyta
- **Subclase :** Commelinidae
- **Orden :** Zingiberales

1.4.2.2. DESCRIPCIÓN

Sus características más particulares se ven en sus hojas la cuales son ligeramente ovaladas, grandes, lisas, de 10 a 30 cm de longitud. Dispuestas sobre el tallo en forma alterna. Entre las hojas superiores crece una flor blanca, anaranjada o amarilla. Puede alcanzar hasta 3 metros de altura. Su tallo es carnoso, el cual es utilizado para sacar el zumo. La parte utilizable la caña agria es el tallo. Los tallos de esta planta se usan como diurético eficaz en forma de cocimiento. (11)

1.4.2.3. CLIMA

Es originaria de México, se da en climas cálidos, semicálidos, y templados, se desarrolla y crece con una mejor apariencia estando en la sombra y que solo dé un poco de sol (11)

1.4.2.4. USOS

Es útil en afecciones e inflamaciones de las vías urinarias y para la eliminación de cálculos renales. Se recomienda su uso en caso de nefritis, cálculos urinarios e inflamación de la vejiga (cistitis); otros usos importantes son: Tomar el zumo de esta planta, mezclado con agua es utilizado para bajar la fiebre. Diurética: además de aumentar la producción de orina y por la eliminación de sustancias de desecho, desarrolla una interesante acción antiinflamatoria sobre los órganos urinarios. Se recomienda su uso en caso de nefritis, cálculos urinarios e inflamación de la vejiga (cistitis).Emenagoga: aumenta la menstruación cuando es escasa. Es calmante de los dolores menstruales (dismenorrea).Músculos en los que tiene efecto: recto anterior del abdomen. Huesos en los que tiene efecto: columna dorsal, esternón, sacro, costillas, vertebra.

Modo de preparación: Se pone a hervir dos varitas de caña agria en 2L litros de agua y se toma durante todo el día y así se continua los demás días. (11)

Ayuda también a aliviar ojos irritados y para bajar la fiebre. (19)

Además cumple con la función de astringencia utilizando el zumo de la caña agria y empleándola como una loción con lo que ayuda que los poros se cierran con facilidad evitando inflamación e infección de la piel.

Es decir al conocer muy poco acerca de la fitoquímica de esta planta, los estudios que se han realizado sobre la química de *C. spicatus* han reportado presencia de cianidín, camferol, delfinidín, flavonoides y quercetina en las hojas.

La quercetina es un flavonoide antioxidante utilizado desde hace más de 30 años para reforzar la resistencia a las alergias alimentarias y respiratorias. Sus defectos biológicos

se explican principalmente por su actividad antioxidante, por una sinergia específica con la vitamina C (la quercetina y la vitamina C se protegen y se regeneran mutuamente) y por una actividad antiinflamatoria diversificada y polivalente.

También se ha probado que protege los riñones de la toxicidad de los medicamentos. Por su amplio espectro se recomienda para todas las afecciones inflamatorias. Otro componente como el camferol actúa como: antioxidante, antiinflamatorio, antiepiléptico, anti cancerígeno, antiespasmódico, diurético. (19)

1.4.3. HIGO



FIGURA N. 10 HIGO (*Ficus carica*)

1.4.3.1. CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA DEL HIGO

Nombre común: higueras, breveras, higos, brevas.

Clase: Magnoliopsida

Orden: Rosales

Familia: Moraceae

Subfamilia: Ficeae

Género: Ficus

Sub género: Ficus

Especie: *F. carica*

Reino: Plantae

1.4.3.2. DESCRIPCIÓN

El higo es un fruto obtenido de la higuera *Ficus carica*. Desde el punto de vista botánico el higo no es un fruto sino una infrutescencia (o sea un conjunto de frutos). Existen más de 750 especies de higos diferentes entre las que hay comestibles y no comestibles.

Los higos miden 6 ó 7 cm de largo y 4,5 a 5,5 cm de diámetro.

Algunas higueras, llamadas breveras, bíferas o reflorcientes, producen dos cosechas al año: las brevas en junio y los higos entre finales de agosto y principios de septiembre.

Las brevas son higos que no han llegado a madurar en otoño, conservándose en estado latente sobre la madera durante el invierno, alcanzando su madurez en la primavera siguiente.

1.4.3.3. HÁBITAT

Son muy estacionales y se pueden encontrar fácilmente en los meses de agosto y septiembre en el hemisferio norte, o febrero y marzo en el hemisferio sur.

1.4.3.4. COMPOSICIÓN QUÍMICA

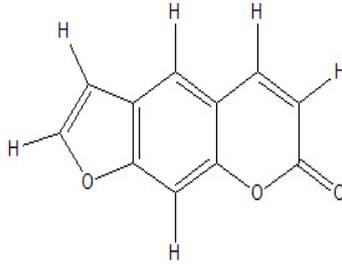


FIGURA N. 11 PSORALENO

Aminoácidos (Alanina, aspartina, arginina, cistina, glicina, lisina, lipasa, felinanina).

Enzimas (Esterasa, ficina, fucomarina).

Azúcares (Glucosa, galactosa).

Vitaminas (Beta-caróteno- (A), ácido ascórbico (C), ácido fólico, B-1, B-2).Ácido linolénico, niacina, metionina, ácido málico, ácido oleico, pectina.

Minerales (Potasio, fósforo, magnesio, manganeso, cobre, calcio, hierro)

Las hojas y siconos verdes poseen un látex con una mezcla de enzimas: ficina, con actividad proteolítica; contienen furocumarinas (psoraleno, bergapteno).

Las semillas contienen abundantes mucílagos.

1.4.3.5. USOS

- ✚ Para enfermedades de la boca: para ello basta comerlo cocido en leche, descascarado y picado.
- ✚ En heridas: se aplica localmente el jugo de hojas de higo o pasta de higo.
- ✚ En inflamaciones en general: se cocina, descascarado y picado en agua.

- ✚ Como un remedio casero y natural para aliviar la tos a través de infusiones.
- ✚ Los higos tienen un efecto estrogénico que, a veces, alivia los dolores de la menstruación.
- ✚ Los higos secos son ricos en fibra, que nos ayuda a reducir los niveles de colesterol en sangre.
- ✚ Muy buenos para problemas de tránsito intestinal, estreñimiento, pues son laxantes.
- ✚ Ayuda al sistema inmunológico, pues aumenta las defensas.
- ✚ Es anticancerígeno, principalmente para el colón.
- ✚ Muy recomendado para problemas cardiovasculares y enfermedades degenerativas.
- ✚ Excelente en cuestiones de hipertensión arterial.
- ✚ Ayuda en situaciones de estrés.
- ✚ Colágeno.
- ✚ Ayuda a los huesos y dientes.
- ✚ Especial para embarazadas y mujeres en periodo de lactancia.
- ✚ Muy recomendado para diabetes.
- ✚ Ayuda a reforzar la transmisión y generación del impulso nervioso y muscular.(4)
- ✚ Estreñimiento.
- ✚ Afecciones respiratorias: resfriados, gripe, faringitis, bronquitis; enfisema, asma.
- ✚ Irritaciones gastrointestinales: gastritis, colitis.
- ✚ Inflamaciones locales: estomatitis, gingivitis, faringitis, abscesos, forúnculos, quemaduras.
- ✚ El látex se emplea popularmente como antiverrucoso.

- ✚ Para aquellas personas que realizan esfuerzos físicos o para los niños, el fruto ofrece un gran aporte de azúcar. (17)

1.5. METABOLITOS SECUNDARIOS EN LOS VEGETALES DE ESTUDIO

1.5.1. ACEITES ESENCIALES

Los aceites esenciales son mezclas de varias sustancias químicas biosintetizadas por las plantas que dan el aroma característico a algunas flores, arboles, frutos, hierbas, especias, semillas y a ciertos extractos de origen animal (almizcle, civeta, ámbar gris). Se trata de volátiles por naturaleza y livianos. Son insolubles en agua, levemente solubles en vinagre, y solubles en alcohol, grasas, ceras y aceites vegetales. Se oxidan por exposición al aire. Se han extraído más de 150 especies pues uno con aroma propio y “virtudes curativas únicas “. Proceden de plantas tan comunes como el perejil y tan exquisitas como el jazmín. Para que den lo mejor de sí, deben proceder de ingredientes naturales brutos y quedar lo más puro posible.

El término esencia o aceite esencial se aplica a las sustancias sintéticas similares preparadas a partir del alquitrán de hulla, y a las sustancias semisintéticas preparadas a partir de los aceites naturales esenciales.

El término aceites esenciales puros se utiliza para resaltar la diferencia entre naturales y los sintéticos.

Se los puede obtener por destilación y extracción ya sea por aplicación del calor o por presión en frío para obtenerlo. (25)

1.5.2. FUROCUMARINAS

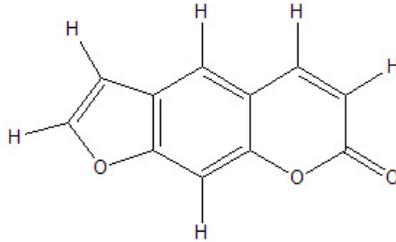


FIGURA N. 12 FUROCUMARINAS

Las furocumarinas son metabolitos secundarios de las plantas, los compuestos fenólicos cuya estructura química es la de una cumarina a la que se le adiciono un anillo furano.

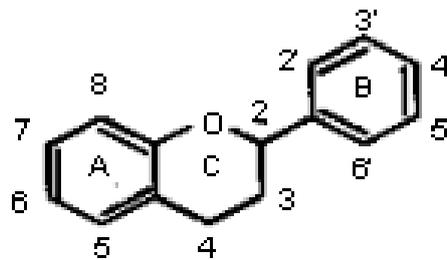
Las furocumarinas son fototóxicas: son compuestos tóxicos solo en presencia de luz. Cumple un rol importante en la defensa de las plantas ante los herbívoros y los hongos patógenos.

Algunas furanocumarinas estudiadas son activadas por luz ultravioleta en la región de 320 a 400 nm. Las furocumarinas fototóxicas son especialmente abundantes en la familia de las umbelíferas.

Las furocumarinas cumplen con la función de incluirse en la formación de entrecruzamientos entre las hebras del DNA, que tienen el inconveniente de no poder ser reparados con facilidad por los mecanismos de reparación del material genético, resultando ser mutagénicos y carcinogénicos. Pero estudios posteriores revelaron que ciertas furocumarinas monofuncionales presentaban una efectividad fotosensibilizadora del mismo orden que las furocumarinas bifuncionales.

Las furocumarinas presentan, intervención en los mecanismos de fotosensibilización, que consiste en la formación de especies radicales tóxicas del oxígeno ($O_2^{\cdot-}$; $HO_2^{\cdot-}$), por interacción entre la furocumarina en estado triplete y el oxígeno molecular. (27)

1.5.3. FLAVONOIDES



Flavonoide

IGURA N. 13 FLAVONOIDES

Los flavonoides son de bajo peso molecular comparten un esqueleto común de difenilpiranos (C6-C3-C6), compuesto por dos anillos de fenilos (A y B) ligados a través de un anillo C de pirano (heterocíclico). Los átomos de carbono en los anillos C y A se numeran del 2 al 8, y los del anillo B desde el 2' al 6'. La actividad de los flavonoides como antioxidantes depende de las propiedades redox de sus grupos hidroxifenólicos y de la relación estructural entre las diferentes partes de la estructura química. (30)

Son compuestos orgánicos constituyentes de alimentos de origen vegetal, que no son nutrientes y que proporcionan al alimento propiedades fisiológicas que van más allá de las nutricionales propiamente dichas. Estas sustancias son responsables, del papel beneficioso para la salud y para la piel de quien los consume. (28)

Los flavonoides contienen en su estructura química un número variable de grupos hidroxilo fenólicos y excelentes propiedades de quelación del hierro y otros metales de

transición, lo que les confiere una gran capacidad antioxidante. Por ello, desempeñan un papel esencial en la protección frente a los fenómenos de daño oxidativo, y tienen efectos terapéuticos en un elevado número de patologías.

Sus propiedades anti-radicales libres se dirigen fundamentalmente hacia los radicales hidroxilo y superóxido, especies altamente reactivas implicadas en el inicio de la cadena de peroxidación lipídica y se ha descrito su capacidad de modificar la síntesis de eicosanoides (con respuestas anti-prostanoide y antiinflamatoria), de prevenir la agregación plaquetaria (efectos antitrombóticos) y de proteger a las lipoproteínas de baja densidad de la oxidación.

Pueden unirse a los polímeros biológicos, tales como enzimas, transportadores de hormonas, y ADN; quelar iones metálicos transitorios, tales como Fe, Cu, Zn, catalizar el transporte de electrones, y depurar radicales libres.

1.5.4. TERPENOS

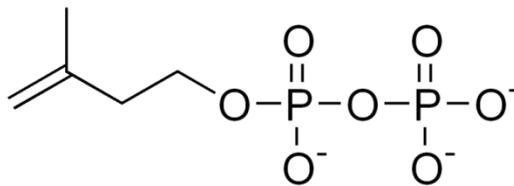


FIGURA N. 14 TERPENOS

Se llaman terpenos a los principales componentes de la resina de los aceites esenciales. Químicamente, forman una amplísima y muy diversa familia de sustancias naturales. Son producidos principalmente por una gran variedad de plantas, particularmente las coníferas, aunque algunos insectos también emiten terpenos y existen terpenos que pueden obtenerse de forma sintética.

Tradicionalmente se han considerado como derivados del 2-metil-1,3-butadieno, más conocido como isopreno y el verdadero precursor de los terpenos es el ácido mavalónico, el cual proviene del acetil coenzima A. (4)

Los terpenos dan la coloración a los órganos vegetales y participan en la síntesis de las vitaminas A, K y E.

La formación de terpenos en plantas, animales y microorganismos es hecha por enzimas muy similares, pero hay importantes diferencias en los procesos. Estas estructuras especializadas secuestran a los metabolitos secundarios lejos de los procesos metabólicos sensibles y así previenen la autotoxicidad. Muchos de estos se consideran como nutrimentos como: retinaldehído, el retinol, los carotenos, los tocoferoles, las quinonas y las ubiquinonas. (4) (1)

1.6. MACERACIÓN

1.6.1. DEFINICIÓN

La maceración es un proceso de extracción sólido-líquido. El producto sólido (materia prima) posee una serie de compuestos solubles en el líquido extractante que son los que se pretende extraer.

En general en la industria química se suele hablar de *extracciones*, mientras que cuando se trata de alimentos, hierbas y otros productos para consumo humano se emplea el término *maceración*. En este caso el agente extractante (la fase líquida) suele ser agua, pero también se emplean otros líquidos como vinagre, jugos, alcoholes o aceites aderezados con diversos ingredientes que modificarán las propiedades de extracción del medio líquido.

A veces el producto obtenido es el extracto propiamente dicho y otras el sólido sin los citados compuestos o incluso ambas partes.

La naturaleza de los compuestos extraídos depende de la materia prima empleada así como del líquido de maceración. En los casos en que se utilice el producto extraído se suele emplear una etapa de secado bien al sol, con calor o incluso una liofilización.

1.6.2. TIPOS DE MACERACIÓN

Existen, básicamente, dos tipos de maceración:

MACERACIÓN EN FRÍO

Consiste en sumergir el producto a macerar en un líquido y dejarlo una determinada cantidad de tiempo, para transmitir al líquido características del producto macerado. Los productos a macerar son varios, y en la gastronomía se puede destacar la infusión de especias variadas en aceite de oliva extra virgen, concediendo a estos últimos aromas y paladares propios de las especias maceradas. Son especialmente recomendados para ensaladas y platos fríos.

También se podrá añadir a un recipiente con la menor cantidad de solvente posible, sólo lo suficiente como para cubrir totalmente lo que se desea macerar. Esto se hace por un lapso más o menos largo, dependiendo de lo que se vaya a macerar.

La ventaja de la maceración en frío consiste en que al ser sólo con agua se logran extraer todas las propiedades de lo que se macera, es decir, toda su esencia sin alterarla en lo más mínimo.

MACERACIÓN CON CALOR

El proceso a ejecutar en este tipo de maceración es el mismo que en la maceración en frío, sólo que en este caso puede variar el medio por el cual se logra la maceración. El tiempo que se desea macerar varía mucho de la maceración en frío ya que al utilizar calor se acelera el proceso tomando como referencia que 3 meses de maceración en frío, es igual a 2 semanas en maceración con calor, esto es en el caso de las plantas y hierbas medicinales.

La desventaja de la maceración en calor es que no logra extraer totalmente pura la esencia del producto a macerar, ya que siempre quema o destruye alguna pequeña parte de esta (muchas veces se trata de compuestos termolábiles).

Pero muchas veces, para acortar más los tiempos de extracción y que las sustancias pasen el menor tiempo posible a elevadas temperaturas, se hacen extracciones con corriente de vapor. (25)

1.7. EXTRACTOS VEGETALES

Se define como extracto vegetal el producto líquido obtenido a partir de plantas o parte de ellas con varios procedimientos y con varios solventes.

Entre las diferentes preparaciones galénicas, la Tintura Madre espagórica (extracto hidroalcohólico en el cual se encuentra toda la fuerza de la planta fresca) es el más elevado nivel cualitativo/cuantitativo. 22..

1.7.1. OBTENCIÓN DE EXTRACTOS.

Es importante establecer los parámetros de extracción para lograr la estandarización del proceso, esto garantizará la calidad, rendimiento, seguridad y eficacia del producto medicinal. Por ejemplo: (2) (5)

- ✚ **Naturaleza química de la materia prima vegetal:** conocer las características del metabolito o compuesto químico a extraer.
- ✚ **Selección del solvente:** definir la selectividad del solvente a emplear, el solvente óptimo será el que logre extraer un mayor rendimiento del compuesto de interés.
- ✚ **Relación sólido-líquido:** la proporción más conveniente de trabajo será aquella con la que se alcancen los mayores rendimientos de extracción.
- ✚ **Tamaño de partícula del sólido:** de la forma y dimensión de los sólidos depende en gran medida el éxito de la lixiviación, a menor tamaño de partícula, mayor superficie de contacto entre la droga y el disolvente, y por tanto, mayor acceso de los principios activos al medio líquido; no obstante, tamaños de partícula muy pequeños conducen a la formación de polvos demasiado finos, que pueden causar problemas en el proceso de extracción.
- ✚ **Temperatura:** el aumento de la temperatura favorece la extracción, hay que prestar especial atención cuando la sustancia de interés es termolábil o el menstruo es volátil, además, temperaturas elevadas pueden conducir a lixiviar cantidades excesivas de solutos indeseables.
- ✚ **Velocidad de agitación y tiempo de extracción:** los óptimos valores de estos parámetros serán aquellos que logren extraer un mayor rendimiento del producto. A mayor tiempo de contacto, mayor capacidad tendrá el disolvente para alcanzar el equilibrio de concentraciones.

✚ **Viscosidad del medio:** no deben seleccionarse solventes de viscosidad relativamente alta.

El extracto vegetal obtenido se debe caracterizar en cuanto a: sustancias activas y marcadores como, densidad, solventes residuales, sólidos totales, pH, control microbiológico y volumen total. (27)

1.7.2. CONTROL DE CALIDAD DE LOS EXTRACTOS.

El control de calidad se realiza con la determinación de las propiedades organolépticas y físicas de los extractos de Caña Agria, Higo y Salvia.

Apariencia.

Análisis visual del aspecto de los extractos vegetales.

Color.

Se toma un tubo de ensayo bien limpio y seco y se llena hasta las tres cuartas partes con la muestra de ensayo y se observa el color, la transparencia, la presencia de partículas y si existe la separación de capas. Se anota los resultados.

Olor.

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

Determinación del pH

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

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

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

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

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

Densidad Relativa.

Se entiende por densidad relativa a la relación entre masa y un volumen de la sustancia a ensayar a 25 °C y la masa de un volumen igual de agua a la misma temperatura. Este término equivale a peso específico.

$$D(25^{\circ}\text{C}) = \frac{(M2 - M) - (M1 - M)}{VOLUMEN}$$

Dónde:

M1: Peso de picnómetro con la muestra (g)

M2: Peso del picnómetro con agua (g)

M: Peso del picnómetro vacío (g)

Determinación del Índice de Refracción.

El índice de refracción es una constante característica de cada sustancia, la cual representa la relación entre seno del ángulo de incidencia de la luz y el seno del ángulo de refracción cuando la luz pasa oblicuamente a través del medio.

Esta relación viene dada por la ecuación siguiente:

$$\eta = \frac{\text{Sen } i}{\text{Sen } r}$$

Así los refractómetros utilizan como principio de medición, la determinación del ángulo límite el cual presenta en el campo visual un contraste claro y otro oscuro. La línea de separación entre ambos campos establece el ángulo límite de la luz incidente.

Determinación de Humedad

Es una determinación que se caracteriza por determinar la cantidad en porcentaje de agua en una muestra o en este caso en los extractos de diferentes vegetales empleados en la elaboración de la investigación.

$$\% \text{ SS} = \frac{m_1 - m_2}{m_1 - m} * 100$$

Siendo:

P_c = pérdida por calentamiento en porcentaje de masa

m_1 = masa del pesa filtro vacío con tapa en g

m_2 = masa del pesa filtro y tapa, con la muestra sin secar, en g

m_3 = masa del pesa filtro y tapa, con la muestra seca, en g

Determinación de Cenizas

Se determina el porcentaje de cenizas que se encuentran en las muestras con la finalidad de determinar la presencia de minerales presentes o que en los productos se encuentre presente resto de sustancias insolubles o puede ser el caso de arena, etc.

$$\% \text{ ceniza} = \frac{m_1 - m}{m_2 - m} * 100$$

Siendo:

C= contenido de cenizas en base seca en porcentaje de masa

m_1 = masa de la cápsula vacía en g

m_2 = masa de la cápsula con la muestra en g

m_3 = masa de la cápsula con las cenizas en g

H = porcentaje de humedad en la muestra

Expresión de resultados.

Se realizaron tres lecturas y se calculó el promedio de las mismas; dos o más lecturas no difieren en más de 0.002.

Las determinaciones no se efectuaron a la temperatura de referencia y se empleó la fórmula siguiente:

$$N_d^{25} = N_d^t + 0.00044(t - 25)$$

N_d^{25} = Índice de refracción a 25°C

N_d^t = Valor leído en la escala del refractómetro a la temperatura t

t = valor de la temperatura a que se realiza la medición (°C)

0.00044= Factor de corrección por grado Celsius

1.7.3. TAMIZAJE FITOQUÍMICO

ENSAYO DE DRAGENDORFF.

Utilizado para detectar la presencia de alcaloides se basa en tomar en cuenta que si el extracto esta disuelto en solvente orgánico, este debe evaporarse en baño de agua y el residuo, redisolver en 1 ml de ácido clorhídrico al 1 % en agua. Si se trata de un extracto acuoso, a la alícuota se le añade 1 gota de ácido clorhídrico concentrado, (calentar suavemente y dejar enfriar hasta acidez).

Para el ensayo, a la solución acuosa acida se le añade 3 gotas del reactivo de Dragendorff, y se observa:

- Opalescencia : (+)
- Turbidez definida : (++)
- Precipitado : (+++)

ENSAYO DE WAGNER.

Se parte de la solución ácida, de igual forma que en los casos anteriores. A esta solución, se le adiciona 2 o 3 gotas del reactivo de Mayer y se reporta los resultados de igual forma que en la reacción anterior.

ENSAYO DE MAYER.

Se parte de la solución ácida, de igual forma que en los casos anteriores. A esta solución se le adiciona 2 o 3 gotas del reactivo de Mayer y se reporta los resultados de igual forma que en la reacción anterior.

ENSAYO DE LIBERMAN - BUCHARD.

Permite reconocer en un extracto la presencia de triterpenos y/o esteroides, en ambos tipos de productos debe poseer un núcleo del androstano, generalmente insaturado en el anillo B y la posición 5-6.

Para ello, si la alícuota no se encuentra en cloroformo debe evaporarse el solvente en baño de agua y el residuo redisolverse en 1 ml de cloroformo. Se adiciona 1ml de anhídrido acético y se mezcla bien. Un ensayo positivo se tiene por un cambio rápido de coloración.

- Rosado – azul muy rápido.
- Verde intenso – visible aunque rápido.
- Verde oscuro – negro – final de la reacción.

El tercer cambio generalmente ocurre cuando el material evaluado tiene cantidades importantes de estos compuestos. Para realizar este ensayo no puede haber agua en el medio de reacción pues esta con el ácido sulfúrico reacciona de forma violenta y puede ocurrir un accidente.

La reacción de Lieberman – Burchard es también utilizada para diferenciar las estructuras esteroidales de los triterpenoides, las primeras producen coloraciones azul o azul verdoso, mientras que para las segundas se observa rojo, rosado o púrpura. Estas coloraciones pueden variar por interferencias producidas por carotenos, xantofilas y esteroides saturados que puedan estar presentes.

ENSAYO DE BORNTRAGER

Es útil para detectar la presencia de quinonas.

Si la alícuota no está en cloroformo debe evaporarse el solvente en baño de agua y el residuo redisolverse en 1 ml de cloroformo. Se adiciona 1 ml de hidróxido de sodio, hidróxido de potasio o amonio al 5 % en agua. Se agita mezclando las fases y se deja en reposo hasta su anterior separación.

El ensayo es positivo cuando la fase acuosa alcalina (superior) se colorea de rosado, en este caso se reporta (++), o, rojo para lo cual se reporta (+++).

ENSAYO DE BALJET.

Es útil para reconocer la presencia de compuestos con agrupamiento lactónico, en particular Cumarinas, aunque otros compuestos lactónicos pueden dar resultados positivos. Si la alícuota de la muestra a probar no está en alcohol, debe evaporarse el solvente en baño de agua y redisolverse en 1 ml de alcohol. Seguidamente, se añade 1 ml del reactivo. La prueba es positiva, cuando aparece una coloración o precipitado de color rojo (++) y (+++) respectivamente.

ENSAYO DE SUDAN III.

Permite conocer en un extracto la presencia de compuestos grasos, para ello cuando un extracto etéreo se evapora a sequedad en presencia de una solución de Sudan III al 0.6 % en glicerina – agua (1:1).

La aparición de gotas oleosas de color rojo oscuro, indica la presencia de Lípidos y/o aceites esenciales.

ENSAYO DE CATEQUINAS.

Para ello, tomar de la solución alcohólica obtenida, una gota con la ayuda de un capilar y aplique la solución sobre papel filtro. Sobre la mancha aplique una solución de Carbonato de Sodio.

La aparición de una mancha verde carmelita a la Luz UV, indica positiva la prueba.

ENSAYO DE RESINAS.

Para detectar este tipo de compuestos, adicione a 2 ml de la solución alcohólica, 10 ml de agua destilada. La aparición de un precipitado, indica un ensayo positivo.

ENSAYO DE ESPUMA.

Permite reconocer en un extracto la presencia de saponinas, tanto del tipo esterooidal como triterpénica. De modo que si la alícuota se encuentra en alcohol, se diluye con 5 veces su volumen en agua y se agita la mezcla fuertemente durante 5 – 10 minutos.

El ensayo se considera positivo si aparece espuma en la superficie del líquido de más de 2 mm de altura y es persistente por más de 2 minutos.

ENSAYO DEL CLORURO FÉRRICO.

Permite reconocer la presencia de compuestos fenólicos y/o taninos en un extracto vegetal. Si el extracto de la planta se realiza con alcohol, el ensayo determina tanto fenoles como taninos. A una alícuota del extracto alcohólico se le adiciona 3 gotas de una solución de tricloruro férrico al 5 % en solución salina fisiológica (cloruro de sodio al 0.9 % en agua). Si el extracto es acuoso, el ensayo determina fundamentalmente taninos. A una alícuota del extracto se añade acetato de sodio para neutralizar y tres gotas de una

solución de tricloruro férrico al 5 % en solución salina fisiológica, un ensayo positivo puede dar la siguiente información general:

- Desarrollo de una coloración rojo – vino, compuestos fenólicos en general.
- Desarrollo de una coloración verde intensa, taninos del tipo pirocatecolicos.
- Desarrollo de una coloración azul, taninos del tipo pirogalotánicos.

ENSAYO DE NINHIDRINA.

Permite reconocer en los extractos vegetales la presencia de aminoácidos libres o de aminas en general.

A la fracción disuelta en 1 ml de Etanol se le adiciona 1 ml de solución de Ninhidrina al 5 %. Se calienta en baño de agua de 5 a 10 minutos.

Si aparece una coloración azul o violeta el ensayo es positivo.

ENSAYO DE SHINODA.

Permite reconocer la presencia de flavonoides en un extracto de un vegetal. Si la alícuota del extracto se encuentra en alcohol, se diluye con 1 ml de ácido clorhídrico concentrado y un pedacito de cinta de magnesio metálico. Después de la reacción se espera 5 minutos, se añade 1 ml de alcohol amílico, se mezcla las fases y se deja reposar hasta que se separen.

Si la alícuota del extracto se encuentra en agua, se procede de igual forma, a partir de la adición del ácido clorhídrico concentrado.

El ensayo se considera positivo, cuando el alcohol amílico se colorea de amarillo, naranja, carmelita o rojo; intenso en todos los casos.

ENSAYO DE ANTOCIANIDINAS.

Permite conocer en los extractos vegetales la presencia de estas estructuras de secuencia C6 – C3 – C6 del grupo de los flavonoides.

Se calienta 2 ml del extracto etanólico por 10 minutos con 1 ml de HCl concentrado. Dejar enfriar y luego adicionar 1 ml de agua y 2 ml de alcohol amílico. Agitar y dejar separadas las 2 fases.

La aparición de color rojo a marrón en la fase amílica, indica ensayo positivo.

ENSAYO DE FEHLING.

Permite reconocer en un extracto la presencia de azúcares reductores. Para ello, si la alícuota del extracto no se encuentra en agua, debe evaporarse el solvente en baño de agua y el residuo redisolverse en 1 – 2 ml de agua. Se adiciona 2 ml del reactivo y se calienta en baño de agua 5 – 10 minutos la mezcla. El ensayo se considera positivo si la solución se colorea de rojo o aparece precipitado rojo.

1.8. GELES

1.8.1. DEFINICIÓN.

Se denominan geles a coloides transparentes; sistema de dos componentes, rico en líquido, de naturaleza semisólida. La característica común de ellos es la presencia de un tipo de estructura continua que les proporciona las propiedades de los semisólidos. (31)

1.8.2. MÉTODOS PARA COAGULAR UN GEL.

Este producto obtenido se llama **Gel**.

- ✚ **Por enfriamiento**, evaporación, agregado de solventes y acción de grandes cantidades de electrólitos (salazón o salting out) sobre coloides hidrofílicos, bajo determinadas condiciones, se puede lograr la gelificación porque se produce una desolvatación. (31)
- ✚ **Por enfriamiento:** es el caso típico de la gelatina, se obtiene por enfriamiento del sol liófilo. (31)
- ✚ **Por evaporación:** al reducirse la vaina de hidratación de las cadenas poliméricas se produce la gelificación.(31)
- ✚ **Por agregado de solventes:** si se agrega alcohol o acetona a un sol liófilo en el agua, el sistema se hace sensible a los electrólitos, comportándose como un sol liófilo. Esta acción se atribuye a la eliminación por el alcohol o la acetona de la capa estabilizante de moléculas de agua; la estabilidad de las partículas no hidratadas “desnudas” depende del potencial Z , y por consiguiente los electrólitos pueden efectuar la coagulación. (31)
- ✚ **Por electrólitos:** el agregado de grandes cantidades de electrólitos (salazón o salting out) a soles liófilos provoca la coagulación o precipitación de las sustancias dispersadas. Esta coagulación se debe a la deshidratación de las partículas dispersas.(31)

Las cadenas poliméricas de un coloide liófilo están protegidas por vainas de moléculas de agua, que solvata sus grupos funcionales; estas moléculas de agua se unen por puente de hidrógeno a los grupos hidroxilos. La envoltura de agua de hidratación impide que los segmentos de las cadenas se toquen. Los factores que disminuyen la hidratación de moléculas reducen la vaina de hidratación que separan las cadenas poliméricas. Cuando la hidratación es poca, las cadenas contiguas tienden a atraerse mutuamente por fuerzas

de Van der Waals. En el proceso de formación de un **Gel** las partículas en el sol se unen gradualmente para formar cadenas cortas y filamentosas (todo este proceso es totalmente dinámico), se entrecruzan, se entrelazan, de modo que la viscosidad del sistema aumenta, llegando finalmente a un estado semisólido, semirrígido gelatinoso. Parte del medio dispersante puede existir como agua de hidratación de las cadenas de partículas, pero se supone que la mayor parte es retenida entre los filamentos por fuerzas de capilaridad, y se obtiene de esta forma un **Gel** a partir de un sol. La gelificación va a depender de la temperatura, la concentración y del peso molecular de la sustancia gelificante. (31)

1.8.3. VENTAJAS Y DESVENTAJAS DE LOS GELES

VENTAJAS

1. Son bien tolerados.
2. Fácilmente lavables
3. Producen frescor

DESVENTAJAS

1. Incompatibilidad con numerosos principios activos.
2. Tendencia a la desecación.
3. Bajo poder de penetración (indicados para tratamientos superficiales)

1.8.4. TIPOS DE GEL.

Podemos clasificar los geles atendiendo a diversos aspectos:

1.8.4.1. DEPENDIENDO DE SU COMPORTAMIENTO FRENTE AL AGUA

✚ **Geles hidrófilos o hidrogeles:** constituido por agua, glicerina, propilenglicol u otros líquidos hidrofílicos. Gelificados por sustancias de tipo poliméricas, goma tragacanto, almidón, derivados de la celulosa, polímeros carboxílicos o silicatos de aluminio y magnesio. (12)

✚ **Geles hidrófobos o lipogeles:** llamados también **oleogeles**. Son geles constituidos por parafina líquida adicionada de polietileno o por aceites grasos gelificados por anhídrido silícico coloidal o por jabones de aluminio y zinc. Los lipogeles son vehículos oleosos oclusivos, de muy diversa consistencia, que los hace aptos para el tratamiento de dermatosis crónica, por su acción emoliente-lubricante. Estos vehículos son de elección debido a su inercia química, especialmente utilizados en los preparados oftálmicos, ya que los principios activos por sus características intrínsecas producen en el paciente un excesivo reflejo de lagrimeo, lo que lleva a un tiempo de permanencia muy corto en el lugar de aplicación. La formulación en el seno de un excipiente oleoso permite solventar este hecho. (12)

A las bases hidrocarbonadas se les puede adicionar sustancias como ceras, lanolina, derivados de la lanolina y alcoholes grasos (cetílico y cetoestéarílico). (16)

Merecen especial mención dentro de este tipo de preparados los denominados Plastibases (N.R.), vehículos de consistencia de gel y reología plástica obtenidos por fusión a elevada temperatura de parafina líquida y polietileno, seguida de un enfriamiento rápido. Estos preparados presentan características muy aceptables de extensibilidad y adherencia a la piel. (12)

1.8.4.2. SEGÚN EL NÚMERO DE FASES EN QUE ESTÁN CONSTITUIDOS

- ✚ **Geles monofásicos:** el medio líquido lo constituye una sola fase o líquidos miscibles; agua-alcohol, solución hidroalcohólica, aceite, etc.
- ✚ **Geles bifásicos:** constituidos por dos fases líquidas inmiscibles, formándose una estructura transparente con propiedades de semisólido. (12)

Clasificación de los geles bifásicos: se subdividen en dos grupos

- Los **TOW gels**
- Los **TAS gels**

En los **TOW gels** el lípido se incorpora a la micela que forma el emulgente, el cual se comporta como agente solubilizante. Los **TOW gels** son geles bifásicos micelares O / W; se presentan en forma de un sistema de cristales líquidos, transparentes, y viscosos. Son sonoros o vibrantes a la percusión, también se les denomina con el nombre de **ringing gels**. A estos geles se les puede incorporar sustancias tanto lipó como hidrosolubles. (13)

Esta formulación es simple en cuanto a ejecución y comprende:

- ✚ Uno o más emulgentes hidrófilos de elevado HLB, capaz de formar micelas.
- ✚ Un cosolvente que facilita la micelación del líquido.
- ✚ Un lípido fluido.
- ✚ Agua.

Los **TAS gels** son geles transparentes basados en emulsiones de siliconas W / S (agua / silicona). Se consideran como una crema transparente de agua en siliconas, de gran aplicación cosmética. (13)

Modus operandi: Mezclar la fase acuosa sobre la fase oleosa lentamente y con agitación.

Se elaboran en frío.

A esta formulación pueden incorporarse diversas sustancias como clorhidrato de aluminio, filtros solares. Se aplican cuando hay que formular geles hidrorrepelentes.

1.8.4.3. CLASIFICACIÓN DE LOS GELES POR SU VISCOSIDAD

- ✚ Geles fluidos
- ✚ Geles semisólidos
- ✚ Geles sólidos (formulación de los sticks desodorantes y colonias sólidas)

1.8.4.4. CLASIFICACIÓN DE LOS GELES POR SU ESTRUCTURA

Pueden ser geles elásticos y no elásticos.

✚ Geles elásticos

Un gel típico elástico es el de gelatina, se obtiene por enfriamiento del sol liófilo que resulta cuando se calienta esta sustancia con agua. Otros soles dan geles elásticos, por ejemplo: agar, almidón, pectina, siempre que no sean demasiado diluidos. El gel elástico por hidratación se regenera. Cuando un gel elástico ha tomado mucho líquido, por ejemplo agua, de la fase vapor, todavía puede adsorber cantidades considerables cuando se lo coloca en el líquido, aumentando notablemente el volumen del gel; este fenómeno se llama imbibición o hinchamiento o swelling. (31)

El pasaje de GEL a SOL y de SOL a GEL es gradual para los geles elásticos.

Imbibición y Sinéresis

Imbibición: es la capacidad de adsorber líquido. El disolvente penetra en la matriz del gel y aumenta su volumen.

Sinéresis: el líquido intersticial es expulsado quedando en la superficie del gel y el sistema se contrae.

Geles no elásticos

El gel no elástico más conocido es el del ácido silícico o gel de sílice. Se obtiene mezclando soluciones de silicato de sodio con ácido clorhídrico en concentraciones apropiadas. Un gel no elástico (sílice) se hace vítreo o se pulveriza y pierde su elasticidad por secado. Los geles no elásticos no tienen imbibición o hinchamiento, pueden tomar líquido sin cambio de volumen. (31)

1.8.5.1. CARACTERÍSTICAS DE LA FORMULACIÓN DEL GEL

Ingrediente	Función.
Extractos:	Vehículo.
Alcohol Etílico	Antiséptico
Carbopol:	Gelificante
Glicerina:	Humectante
TEA:	Espesante.

CUADRO N. 1 CARACTERÍSTICAS DE LA FORMULACIÓN DEL GEL

1.9. ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE COSMÉTICOS MÉTODO BAM

OBJETO

El propósito de este procedimiento específico es, establecer el procedimiento para determinar microorganismos en cosméticos.

ALCANCE

Este procedimiento se aplica para el análisis microbiológico de cosméticos.

RESUMEN DEL PROCEDIMIENTO

Determinar los principales microorganismos que crecen y se reproducen en los productos cosméticos. Los microorganismos pueden causar cambios y deterioro químico en los productos cosméticos y daños para el usuario. Los Métodos para el aislamiento de microorganismos de los productos cosméticos son: el recuento directo de colonias y el cultivo de enriquecimiento. Los productos que no son solubles en agua son tratados inicialmente para hacerlos miscibles antes de los procedimientos de aislamiento.

Los microorganismos aislados son identificados por los métodos microbiológicos de rutina o por pruebas de identificación comercial.

El esquema de estos análisis se resume en la figura 1.

Fig. 1: Esquema para el recuento, aislamiento e identificación de microorganismos en cosméticos.

- ♣ Preparación de la muestra.

- ♣ Diluir la muestra preparadas en MLB.

- ▲ Distribuir uniformemente 0.1 ml de muestra por duplicado en placas de:

(a)	(b)	(c)	(d)
MLA 48 horas, 30 ° C	(PDA o MEA) con clortetraciclina 7 días, 30 ° C	BP (o VJ) agar 48 horas, 35 ° C (opcional)	Agar para anaerobios MLA 2-4 días, 35 ° C

- ▲ Enriquecer diluciones MLB durante 7 días, a 30 ° C. Aislar de las diluciones que muestren crecimiento sólo si no hay colonias en las placas de MLA.
- ▲ Contar las colonias y aislar las colonias de interés de MLA y agar Mc Conkey (y BP o agares VJ si se utiliza en (c), arriba). De los hongos aislados.
- ▲ Determinar la reacción de Gram, forma de la célula, y la producción de catalasa de los aislamientos purificados.
- ▲ Proceder a la identificación de los aislamientos bacterianos como se describe en el texto, o utilizar pruebas de identificación.

Abreviaturas: MLB, modified letheen broth; MLA, modified letheen agar; PDA, potato dextrose agar; MEA, malt extract agar; BP, Baird-Parker; VJ, Vogel-Johnson.

PRINCIPIO DEL MÉTODO

Los Métodos para el aislamiento de microorganismos de los productos cosméticos se basan en:

- ▲ El recuento directo de colonias y el cultivo de enriquecimiento.

- ♣ Los productos que no son solubles en agua son tratados inicialmente para hacerlos miscibles antes de los procedimientos de aislamiento.

TÉRMINOS Y DEFINICIONES

Cosmético: objetos destinados a ser frotados, vertidos, rociados, o aplicados en aerosol, introducidos a, o de lo contrario se aplica al cuerpo humano o parte de ella para limpiar, embellecer, fomentar la atracción, o alterar la apariencia, y (2) objetos de uso como un componente de tales artículos, excepto que dicho término no se incluyen jabón.

1.9.1. PREPARACIÓN DE LA UNIDAD DE MUESTRA COSMÉTICA PARA EL ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO

Desinfectar la superficie del envase de la muestra con la mezcla acuosa de etanol al 70% (v / v) y HCl al 1% (v / v) u otro desinfectante antes de la apertura y la toma de muestra. Use campana de flujo laminar, si es posible. Seque la superficie del envase con una gasa estéril antes de la apertura. Tomar una muestra representativa para el análisis microbiológico, por ejemplo, 1 g (ml) de la muestra. Para productos que pesen menos de 1 g (ml), analizar todo el contenido. Si sólo hay una unidad de muestra para diversos análisis, (tales como microbiológico, toxicológico y químico), primero tomar la submuestra para el análisis microbiológico, antes que para los otros análisis. En esta situación, la cantidad de sub-muestra utilizada para el análisis microbiológico dependerá del número de análisis a realizarse en la muestra. Por ejemplo, si el contenido total de la muestra es de 5 ml, usar de 1 o 2 ml para los análisis microbiológicos.

1.9.2. INFORME DE RESULTADOS

Reporte el resultado como Recuento de Aerobios en Placa / g (ml) de muestra. Si las placas no contienen colonias de 25 a 250, registrar la dilución y el número de colonias presentes.

Para placas de BP, contar las colonias típicas (convexas, de color negro brillante, con o sin halo transparente que rodea la colonia). (NOTA: las colonias coagulasa positivos producen un halo transparente, pero las colonias coagulasa negativos pueden o no producir este halo. Si las colonias coagulasa negativa presentan el halo, esta irregularidad se reporta distinguiéndolas de las colonias coagulasa positivas.)

Si no hay desarrollo de colonias en las placas de la dilución más concentrada, presentar el resultado como número estimado de UFC menor que ($<$) 1,0 multiplicado por el respectivo factor de dilución. De la misma forma reportar en el caso de que en la dilución menos concentrada presente más de 250 colonias.

De cada placa de crecimiento de BP demuestra, escoger una o más colonias típicas para confirmar su reacción coagulasa. La transferencia de las colonias de agar inclinado de cualquier medio de mantenimiento adecuado, por ejemplo, trypticasa (tríptico) agar de soja (TSA), la infusión de cerebro-corazón (BHI) agar. Incubar se inclina hasta que el crecimiento es evidente.

Calcular el número de organismos *Staphylococcus aureus* presente en primer lugar la determinación de la fracción de las colonias de prueba que son coagulasa positivos. Multiplique esta fracción por el número promedio de colonias de *Staphylococcus* conta

con las placas de BP. Multiplicar el número obtenido por el factor de dilución y reportar el número de *S. aureus* / g (ml) de muestra.

Si no se obtienen en las colonias de MLA o BP medios de comunicación, observamos que ya prepara diluciones MLB mientras que enriquecer a 30 ± 2 ° C durante 7 días. Examine enriquecimientos diariamente para crecer. Después de 7 días de incubación, o cuando el crecimiento se sospecha, la subcultura todos los enriquecimientos en los dos ejes de acción de las placas de agar Mc Conkey. Incubar las placas 48 horas a 30 ± 2 ° C.

Hongos, levaduras, mohos y recuento en placa. La transferencia de 0,1 ml de diluciones seriadas (HI, más arriba) debidamente etiquetados para placas duplicadas de cualquiera de agar extracto de malta (MEA) o la patata dextrosa agar (PDA), ambos con 40 ppm de clortetraciclina. Corre el inculó sobre la superficie del medio con la barra de esparcidor de vidrio estéril. Después de inculó es absorbida por el medio, invertir las placas e incubar a 30 ± 2 ° C, y observar al día durante 7 días. La media de los recuentos obtenidos en las placas de duplicar, multiplicar por 10 para permitir el volumen plateado (0,1 ml), se multiplica por el factor de dilución, y el informe como la levadura o el moho contar / g (ml) de muestra. De enriquecimiento por hongos (opcional), diluir la muestra preparada decimalmente en caldo Sabouraud dextrosa e incubar como se describió anteriormente para las diluciones de las Grandes Ligas. Si se produce el crecimiento, la racha en agar glucosado de Sabouraud, MEA, o PDA. Los últimos dos agares que contienen 40 ppm de clortetraciclina.

Recuento en placa anaeróbico (uso sólo para talcos y polvos). El objetivo principal de este procedimiento es detectar el bacilo tetánico (*Clostridium tetani*), lo que puede ocurrir en estos productos. Según lo descrito anteriormente para APC, utilizando agar

MLA, antes de la reducción de agar anaerobio, y el 5% de agar sangre de oveja defibrinada para la siembra. Incubar las placas de agar sangre en la atmósfera de dióxido de carbono (frasco de vela o una incubadora de CO₂), y las placas de agar anaerobio en la marmita de anaerobios. Incubar ambos durante 48 horas antes del conteo. Incubarlo durante 2 días más si no aparecen colonias a las 48 h. Pre-reducir las placas de agar anaeróbico antes de la inoculación, colocándolos en una atmósfera anaerobia durante la noche (16.12 h). Incubar las placas de agar anaerobio en un ambiente anaeróbico (frasco anaeróbico, incubadora, o en la guantera) por 2 días a 35 ± 2 ° C, incubar las placas aeróbicamente MLA durante 2 días a 35 ± 2 ° C como el control de aeróbicos. Anaerobios estrictos sólo crecerá en la marmita de anaerobios. Se recomienda que una pequeña cantidad (0,1 ml) de inóculo se utiliza para disminuir la expansión del crecimiento causado por la humedad, y que las placas inoculadas se colocan en una atmósfera anaerobia en cuestión de minutos después de la inoculación para reducir al mínimo la exposición al oxígeno.

Organismos anaeróbica sospecha se subcultivaron aeróbicamente (en CO₂) y anaeróbica para establecer su relación oxígeno cierto. Compruebe si hay esporas terminales situados en el caldo de carne cocida se incuba a 35 ° C durante 2 días. El uso de una tinción diferencial de esporas para detectar las esporas es obligatorio.

Si un microorganismo anaeróbico obligado está aislado, consulte AD Hitchins, FDA, Washington, DC 20204, para obtener información sobre cómo proceder. Prueba de detección para el número total de microorganismos presentes en los cosméticos utilizados y no utilizados. Medios sólidos, temperaturas de incubación y tiempos descritos en H 3.1 se puede aplicar, según proceda, a las muestras preparadas como se muestra en 1.5 G a los cosméticos de pantalla para el recuento total antes de

realizar las evaluaciones microbiológicas completa como se describe en H 1-3 arriba. Si la muestra contiene <10 ufc por ml o gramos de producto, una prueba de detección con 1 ml de la dilución de 10^{-1} en la técnica de placa verter debería dar resultados negativos de crecimiento. Si la muestra contiene <100 UFC por ml o gramos de producto, una prueba de detección con 0,1 ml de la dilución de 10^{-1} en la técnica de placas diseminaron debe producir un resultado un crecimiento negativo.

CAPITULO II

2. PARTE EXPERIMENTAL

2.1. LUGAR Y PRUEBAS DE ENSAYO.

La presente investigación se desarrolló:

- Laboratorio de Fitoquímica de la Facultad de Ciencias de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.
- Barrio el Batan (área adaptada para la investigación)

2.2. FACTORES DE ESTUDIO.

Se consideraron como factores de estudio de esta investigación:

- Actividad astringente del gel con Caña agria, Higo y Salvia.

2.3. MATERIALES, EQUIPOS Y REACTIVOS

2.3.1. MATERIAL BIOLÓGICO Y VEGETAL.

- Piel de los conejos New Zealand albinos debido a su similar sensibilidad a la piel humana.
- Caña agria (*Costus spicatus*), Higo (*Ficus carica*) y Salvia (*Salvia officinalis*), recolectado el 02 de Febrero del 2013 en el Mercado de productos naturales en la ciudad del Puyo y en la parroquia Bolívar del Cantón Pelileo Provincia del Tungurahua.

2.3.2. EQUIPOS.

- ✚ Balanza técnica o analítica (ELB 300),
- ✚ pH metro (JENWAY 430),
- ✚ Reverbero Eléctrico,
- ✚ Viscosímetro,
- ✚ Rota Vapor,
- ✚ Centrifuga,
- ✚ Estufa,
- ✚ Mufla,
- ✚ Refrigeradora,
- ✚ Computadora,
- ✚ Cámara Digital,
- ✚ Sorbona.

2.3.3. MATERIALES DE LABORATORIO

- ✚ Pipetas 1, 5, 10 ml,
- ✚ Pera de succión,
- ✚ Varilla de agitación,
- ✚ Ollas,
- ✚ Cuchillos,
- ✚ Frascos de vidrio,
- ✚ Gradilla,
- ✚ Tubos de ensayo,
- ✚ Pinzas para tubos,
- ✚ Toallas absorbentes,
- ✚ Embudos,
- ✚ Cajas petris,
- ✚ Picnómetro,
- ✚ Capsulas
- ✚ Pinza para capsulas
- ✚ Vasos de precipitación 25,50, 100, 500 y 10

2.3.4. REACTIVOS

- ✚ Alcohol Etílico,
- ✚ Reactivo de Cloruro férrico,
- ✚ Cloruro de Sodio,
- ✚ Reactivo de Shinoda,
- ✚ Reactivo de Dragendorff,
- ✚ Reactivo de Wagner,
- ✚ Reactivo de Meyer,
- ✚ Reactivo de Baljet,
- ✚ Reactivo de Sudan III
- ✚ Cloroformo,
- ✚ Carbonato de Sodio,
- ✚ Solución de Ninhidrina,
- ✚ Ácido Clorhídrico,
- ✚ Alcohol Amílico,
- ✚ Hidróxido de Potasio,
- ✚ Reactivo de Libermann Buchard,
- ✚ Reactivo de Fehling,
- ✚ Agua Destilada,
- ✚ Tricloruro de Antimonio

✚ Alcohol etílico,

2.4. TÉCNICAS

2.4.1. PREPARACIÓN POR MACERACIÓN DE LAS PLANTAS

PREPARACIÓN POR MACERACIÓN DEL TALLO SIN CORTEZA DE HIGO

(Ficus carica)

Se extrae de la planta de Higo una parte considerable del tallo sin corteza, se procede a lavar con agua con cloro el mismo que se pondrá en una cantidad de 5 mL por cada litro de agua y se lo deja sumergido por 5 min, luego se le lava con abundante agua y se procede a cortar en pedazos pequeños, después se procede a pesar 398,5 g de tallo sin corteza y se lo vierte en un envase de vidrio de boca ancha se añade 240 mL de alcohol etílico al 75% se le tapa herméticamente y se lo coloca en un lugar oscuro por 7 días, se lo agita de vez en cuando. Filtrar, el filtrado concentrar a $\frac{1}{4}$ de su volumen colocar en frascos de vidrio herméticamente sellados, etiquetar, dejar en un lugar fresco y oscuro.

PREPARACIÓN POR PENSADO DE TALLOS DE CAÑA AGRIA (*Costus*

spicatus)

Se adquiere una cantidad considerable de la planta de caña agria fresca, separar las hojas de los tallos lavar con abundante agua para eliminar restos de tierra y de impurezas que no corresponden al vegetal, retirar la corteza de la caña agria retirando la menor cantidad del tallo posible, trocear la caña para facilitar la extracción prensar los pequeños trozos de caña hasta que termine de salir el líquido contenido en la caña con el fin de que se mantenga solo el bagazo de la caña, filtrar para evitar restos en el líquido, se vierte en un envase de vidrio de boca ancha se lo tapa herméticamente y para posterior colocar en un lugar fresco y oscuro hasta su utilización.

ACEITE ESENCIAL DE LA SALVIA (*Salvia officinalis*).

Se adquirió el aceite esencial puro de Salvia (*Salvia officinalis*) de origen Turco.

2.4.2. TAMIZAJE FITOQUÍMICO DE LOS EXTRACTOS DE CAÑA AGRIA, HIGO Y SALVIA.

Para determinar cualitativamente los metabolitos presentes en el Higo (*Ficus carica*), caña agria (*Costus spicatus*) y Salvia Real (*Salvia officinalis*), se prepararon extractos etanólicos y jugo de caña en donde se utilizaron los solventes apropiados y la aplicación de reacciones de coloración.

Reacción Para Identificación de Triperpenoides**Ensayo de Libermann-Buchard.-**

A 1 mL del extracto etanólico de Higo, se le añade 1 gota de reactivo, la reacción se determina como positiva ya que la mezcla se torna, azul verdoso indica que tiene esteroides con doble enlace.

A 1 mL del aceite esencial de salvia, se le añade 1 gota de reactivo, la reacción se determina como positiva ya que la mezcla se torna, verde oscuro negro como el final de la reacción.

Reacción Para Identificación de Flavonoides**Ensayo de Shinoda.-**

A 1 mL del extracto etanólico de Higo, se diluye con 1 mL de ácido clorhídrico concentrado y un pedacito de cinta de magnesio metálico. Después de la reacción se espera 5 minutos, se añade 1 mL de alcohol amílico, se mezclan las fases y se deja

reposar hasta que se separen. El ensayo se consideró positivo, ya que el alcohol amílico se colorea de amarillo y en otro caso rojo.

A 1 mL del aceite esencial de Salvia, se diluye con 1 mL de ácido clorhídrico concentrado y un pedacito de cinta de magnesio metálico. Después de la reacción se espera 5 minutos, se añade 1 mL de alcohol amílico, se mezclan las fases y se deja reposar hasta que se separen. El ensayo se consideró positivo, ya que el alcohol amílico se colorea de rojo.

Reacción Para Identificación de Alcaloides

Ensayo de Dragendorff.-

A 1 mL del extracto etanólico de Higo, por la pared del tubo de ensayo se deja resbalar 1 mL del reactivo y se agita. Da como positivo ya que tiene la aparición de un precipitado.

A 1 mL del jugo de caña se le añade 1 gota de ácido clorhídrico concentrado, por la pared del tubo de ensayo se deja resbalar 1 mL del reactivo y se agita. Da como positivo ya que tiene por un cambio rápido de coloración y presenta la aparición de un precipitado.

Reacción Para Identificación de Cumarinas

Ensayo de Balget.-

A 1 mL del extracto etanólico de Higo, por la pared del tubo de ensayo se deja resbalar 1 mL del reactivo y se agita. Da como positivo ya que aparece un precipitado de color rojo.

A 1 mL del jugo de caña se le añade 1 mL de alcohol etílico, por la pared del tubo de ensayo se deja resbalar 1 mL del reactivo y se agita. Da como positivo ya que presenta la aparición de un precipitado de color rojizo.

A 1 mL del aceite esencial de Salvia se le añade 1 mL de alcohol etílico, por la pared del tubo de ensayo se deja resbalar 1 mL del reactivo y se agita. Da como positivo ya que presenta la aparición de un precipitado de color rojizo.

Reacción Para Identificación de Compuestos Grasos

Ensayo de Sudan III.-

A 1 mL del extracto etanólico de Higo, por la pared del tubo de ensayo se deja resbalar 1 mL del reactivo y se evapora a sequedad. Da como positivo ya que aparecen gotas oleosas ya que indican presencia de aceites esenciales.

A 1 mL del aceite esencial de Salvia, por la pared del tubo de ensayo se deja resbalar 1 mL del reactivo y se evapora a sequedad. Y da un resultado como positivo ya que presenta la aparición de gotas oleosas rojizas lo que da la presencia de aceites esenciales.

Reacción Para Identificación de Catequinas

Ensayo de Catequinas.-

A una gota del extracto etanólico de Higo colocado en una hoja de papel filtro, se coloca una gota solución de Carbonato de Sodio sobre la muestra. Da como positivo ya que aparece una coloración azul frente a la luz UV ya que indican presencia de catequinas en la muestra.

A una gota del aceite esencial colocado en una hoja de papel filtro, se coloca una gota solución de Carbonato de Sodio sobre la muestra. Da como positivo ya que aparece una coloración verde carmelina frente a la luz UV ya que indican presencia de catequinas en la muestra del aceite esencial.

Reacción Para Identificación de Saponinas

Ensayo de Espuma.-

A 1 mL del extracto etanólico de Higo se le añade 5 ml de agua destilada, se agita fuertemente por 5 a 10 minutos. Da como positivo ya que aparece espuma en la superficie del líquido de más de 2 mm de altura y persiste por más de 2 minutos con lo que indica presencia de saponinas tanto del tipo esterooidal como triterpénicas.

Reacción Para Identificación de Compuestos Fenólicos y/o Taninos

Ensayo de Cloruro Férrico.-

A 1 mL del extracto etanólico de Higo de color café oscuro, se le adicionan 3 gotas de una solución de tricloruro férrico al 5% en solución salina fisiológica (Cloruro de sodio al 0,9 % en agua) se determinó que es positivo porque presenta un cambio de color a verde por lo que indica la presencia de taninos del tipo pirocatecólicos.

A una alícuota de aceite esencial de salvia de una coloración transparente, se le adicionan 3 gotas de una solución de tricloruro férrico al 5% en solución salina fisiológica (Cloruro de sodio al 0,9 % en agua) se determinó que es positivo porque presenta un cambio de color a rojo vino indicando la presencia de compuestos fenólicos en general.

Reacción Para Identificación de Compuestos con Estructura de secuencia C6 - C3 - C6 del grupo de los Flavonoides.

Ensayo de Antocianidinas.-

A 2 mL del aceite esencial aplicar calor por 10 minutos con 1 ml de HCl concentrado. Dejar enfriar y luego adicionar 1 ml de agua y 2 ml de alcohol amílico. Agitar y dejar

separar las dos fases se determinó que es positivo porque presenta un cambio de color a rojo en la fase amílica compuestos de estructura C6 – C3 – C6 del grupo de los flavonoides.

Reacción Para Identificación de Azúcares Reductores.

Ensayo de Fehling.-

A 1 mL del extracto etanólico de Higo se le evapora en baño de agua y el residuo se redisuelve en 1 – 2 ml de agua. Se le adicionan 2 ml del reactivo y se calienta en baño de agua de 5 a 10 minutos la mezcla se determinó que es positivo porque se presenta un precipitado de color rojo lo que indica la presencia de azúcares reductores en el extracto.

A 1 mL del jugo de caña agria se adicionar 2 ml del reactivo y se calienta en un baño de agua de 5 a 10 minutos la mezcla se determinó que es positivo porque presenta un precipitado de color rojo lo que nos indica la presencia de azúcares reductores en el jugo.

2.4.3. CONTROL DE CALIDAD DE LOS EXTRACTOS.

El control de calidad se realiza con la determinación de las propiedades organolépticas y físicas de los extractos de Caña agria, Higo y Salvia.

Apariencia.

Análisis visual del aspecto colocando en un tubo de ensayo las muestras de extractos etanólicos de Higo, jugo de Caña Agria y aceite esencial Salvia respectivamente.

Color.

Se toma un tubo de ensayo bien limpio y seco y se llena hasta las tres cuartas partes con la muestra de ensayo y se observa el color, la transparencia, la presencia de partículas y si existe la separación de capas. Se anota los resultados.

Olor.

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

Determinación del pH

Se ajustó el equipo con la solución reguladora de pH adecuada al rango que se realizó la determinación. Posteriormente se determinó el valor del pH de la muestra. Los resultados dieron apreciando hasta la décima.

Densidad Relativa.

Primeramente se pesó el picnómetro vacío y seco a 25 °C y se llenó con la porción de ensayo, se mantuvo a temperatura de 25 °C (+/- 1 °C) durante 15 min. Y se ajustó el líquido al nivel empleado, con una tira de papel se extrajo el exceso y secó exteriormente el picnómetro.

Se pesó cuidadosamente el picnómetro con la porción de ensayo y se repitió la operación con el agua destilada a 25 °C, y después se limpió el picnómetro.

Es el coeficiente del peso de un volumen determinado para el volumen g/mL o Kg/L.

2.5. ELABORACIÓN DEL GEL CON CAÑA AGRIA, HIGO Y SALVIA

Formulación del gel

Procedimiento de la Elaboración del Gel con Extractos en Mezcla:

- ✚ En un recipiente, colocar 1000 mL de agua destilada hervida por 15 min enfriada añadir los 10 g de Carbopol y proceder a mezclar con varillas de agitación hasta que la mezcla quede homogénea y gelificada.
- ✚ Luego añadir 10 mL del antiséptico y también como aroma que es el extracto etanólico de Higo y con una paleta de madera mezclar hasta que quede bien diluido.
- ✚ Después se le añade 03 ml de aceite esencial de salvia y que cumple con la función también de aroma se le mezcla bien hasta obtener homogeneidad.
- ✚ En una probeta añadir 550 ml de agua y mezclar bien.
- ✚ Esta mezcla ya completa se mezclar muy bien hasta que no presente grumos.
- ✚ Finalmente a la mezcla añadir el TEA que es el espesante y mezclar muy bien por unos minutos hasta que la preparación tenga la consistencia de un gel siempre en cada adición se hace necesario agitar constantemente y enérgicamente.
- ✚ Envasado del producto en frascos estériles con el fin de evitar contaminación externa y deterioro manteniendo así un control microbiológico adecuado y necesario.

2.6. CONTROL DE CALIDAD DEL GEL

Se inicia la evaluación analizando sus propiedades organolépticas y físicas del gel de Caña Agria, Higo y Salvia como producto final.

PARÁMETRO	MÉTODO	RESULTADO
COLOR	Visual	Cristalino
OLOR	Olfato	Herbal
ASPECTO	Visual	Homogéneo
pH	pHmetro	6.75

CUADRO N. 2 CONTROL CALIDAD DEL GEL

Determinación de untuosidad al tacto

Se aplica una pequeña cantidad de gel en el dorso de la mano y determinar si existe presencia o ausencia de grumos.

Determinación de extensibilidad

Se aplica 2g de gel en el centro de una placa de vidrio, poner encima otra placa.

Colocar una masa de 2 kg sobre estas placas durante 3 minutos. Seguidamente se mide 8 radios y se calcula el promedio

Finalmente se halla el área de extensibilidad usando la formula $A = \pi * r^2$.

Determinación de la viscosidad

Se aplica una pequeña cantidad de gel en un viscosímetro y se procede a la medición.

2.7. ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE COSMÉTICOS MÉTODO BAM

2.7.1. PREPARACIÓN DE LA UNIDAD DE MUESTRA COSMÉTICA PARA EL ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO

Desinfectar la superficie del envase de la muestra con la mezcla acuosa de etanol al 70% (v / v) y HCl al 1% (v / v) u otro desinfectante antes de la apertura y la toma de muestra. Use campana de flujo laminar, si es posible. Seque la superficie del envase con una gasa estéril antes de la apertura. Tomar una muestra representativa para el análisis microbiológico, por ejemplo, 1 g (ml) de la muestra. Para productos que pesen menos de 1 g (ml), analizar todo el contenido. Si sólo hay una unidad de muestra para diversos análisis, (tales como microbiológico, toxicológico y químico), primero tomar la submuestra para el análisis microbiológico, antes que para los otros análisis. En esta situación, la cantidad de sub-muestra utilizada para el análisis microbiológico dependerá del número de análisis a realizarse en la muestra. Por ejemplo, si el contenido total de la muestra es de 5 ml, usar de 1 o 2 ml para los análisis microbiológicos.

2.7.2. PROCEDIMIENTO

La cantidad de muestra y el volumen de diluyente se ajustan de acuerdo a la cantidad de muestra disponible. Para incrementar la representatividad de la muestra a usarse tomar varias sub-muestras aleatoriamente y mezclarlas, de aquí tomar la muestra representativa para el análisis. Los analistas deben usar su mejor juicio para determinar cuándo y la cantidad de muestra a ser combinada previo a su análisis.

1. **Líquidos.** Colocar 1 ml de muestra en 9 ml de caldo modificado Letheen (MLB), en un tubo de ensayo de 20 x 150 mm, para obtener la dilución 10^{-1} .

2. **Sólidos y en polvo.** Asépticamente pesar 1 g de muestra en un tubo de ensayo de 20 x 150 mm, que contiene 1 ml de Tween 80 estéril. Mezclar la muestra con el Tween 80 usando una espátula estéril. Añadir 8 ml de MLB estéril y mezclar bien. Esta será la dilución 10^{-1} .
3. **Crema y productos a base de aceite.** Asépticamente pesar 1 g de muestra en un tubo de ensayo de 20 x 150 mm que contiene 1 ml de Tween 80 estéril, más cinco-siete perlas de vidrio de 5 mm de diámetro (o diez-quince perlas de vidrio de 3 mm). Mezclar el contenido total con mezclador Vortex o por agitación manual. Ajustar el volumen total de 10 ml con MLB estéril (8 ml) para la dilución 10^{-1} .
4. **Polvos, jabones líquidos y otros materiales en aerosol.** Descontaminar la boquilla de la lata del aerosol tanto como sea posible con una gasa humedecida con etanol al 70% (v / v). Presionar la boquilla para eliminar una porción inicial de muestra y luego rociar la cantidad apropiada de muestra en un envase estéril tarado, por ejemplo, 1 g de muestra en 9 ml de MLB estéril. Mezclar bien la muestra y el caldo, y pesar de nuevo. Esta será la dilución de 10^{-1} si se obtuvo exactamente 1 g de la muestra.
5. **Materiales anhidros.** Seguir el procedimiento (n) numeral 2 o 3, según corresponda.

2.7.3. ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO

No todos los análisis se describe a continuación necesariamente se llevará a cabo, sin embargo, el recuento de microorganismos aerobios mesófilos, enriquecimiento del cultivo y el recuento de hongos se debe realizar de forma rutinaria.

2.7.4. RECUENTO DE AERÓBIOS EN PLACA DE SIEMBRA POR EXTENSIÓN EN SUPERFICIE.

Preparar y etiquetar por duplicado placas Petri que contienen agar modificado Letheen (MLA) para la siembra de las diluciones de la muestra desde 10^{-1} a 10^{-6} .

2.7.5. RECUENTO DE STAPHYLOCOCCUS SPP EN PLACA DE SIEMBRA POR EXTENSIÓN EN SUPERFICIE.

Preparar y etiquetar por duplicado placas Petri que contienen agar BP o Agar Vogel-Johnson (VJ) para la siembra de las diluciones de la muestra desde 10^{-1} a 10^{-6} , si se sospecha la presencia de *Staphylococcus spp.*

2.7.6. PREPARACIÓN DE LAS DILUCIONES EN BASE 10.

Añadir 5 ó 10 ml de la preparación de cosméticos (véase n, arriba) a 45 o 90 ml, respectivamente, de MLB estéril, de esta manera se obtiene la dilución 10^{-2} .

Diluir las muestras en forma decimal en MLB estéril (NOTA: conservar las diluciones para el paso de enriquecimiento), para obtener la serie completa de dilución de 10^{-1} a 10^{-6} (Comience con 10^{-2} si toda la dilución 10^{-1} se agota.)

2.7.7. SIEMBRA

Mezclar bien las diluciones y colocar 0,1 ml de cada dilución en las superficies de las placas previamente preparadas con los medios indicados. Sembrar por duplicado. Se propaga el inóculo sobre toda la superficie usando una con varilla de vidrio doblada, que se esteriliza por primera vez por la inmersión en etanol al 95% y flameado rápido para eliminar el etanol. Dejar que el medio absorba el inóculo antes de invertir e incubar las placas durante 48 horas a 30 ± 2 ° C (35 ° C para las placas BP). Use un esparcidor nuevo para cada dilución (en diluciones bajas), ya que algunos residuos del producto

puede llevar a más y afectar negativamente el procedimiento de esterilización en la llama. Para una efectiva absorción del inóculo, asegúrese que superficie del agar este seca (30 min a 35 ° C) cuando el agar este recién hecho.

2.7.8. RECUENTO

Contar todas las colonias en las placas que contienen de 25 a 250 colonias, y registre los resultados de cada dilución dentro del rango indicado. Obtenga un promedio de los recuentos obtenido por duplicado, y multiplicar este promedio por 10 y luego por el factor de dilución correspondiente ($10^{-1} - 10^{-6}$).



FOTOGRAFÍA N. 1 ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DEL GEL (AEROBIOS MESÓFILOS, COLIFORMES T. Y *E. COLI*).

FUENTE: EDISON VILLALBA

2.7.9. INTERPRETACIÓN DE PRUEBAS MICROBIOLÓGICAS

Limites Microbianos CTFA (The Cosmetics, Toiletry, and Fragrance Association)

Cuantitativos

Productos para bebe menos de 100 ufc/g o mL

Productos para el área de los ojos menos de 100 ufc/g o mL

Resto de productos menos de 1000 ufc/g o mL

Cualitativos

Ausencia de *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, y *Pseudomonas aeruginosa*.

Limites microbianos European comission

Definen dos categorías de cosméticos

Categoría 1: Productos dirigidos a niños menores de 3 años, área de los ojos y membranas mucosas.

Categoría 2: Otros productos

Límites cuantitativos

Categoría 1: Total de m.o. aeróbico mesófilos viables menos de 100 ufc/g o mL en 0.5 g o mL de producto.

Categoría 2: Total de m.o. aeróbico mesófilos viables menos de 1000 ufc/g o mL en 0.1 g o mL de producto.

Límites cualitativos

Pseudomonas aeruginosa, *Staphylococcus aureus* y *Candida albicans* son considerados los principales patógenos potenciales en productos cosméticos. Las pruebas específicas para estos patógenos no deben ser detectadas en 0.5 g o mL en productos cosméticos de la categoría 1 y en 0.1 g o mL en cosméticos de categoría 2.

2.8. ESTABILIDAD DEL GEL POR MEDIO DE TERMORRESISTENCIA.

Se aplica una muestra de 10 g de gel se deja por 12 horas o más a una temperatura de 37 °C, no se debe evidenciar ningún cambio químico o físico.

2.9. METODOLOGÍA

2.9.1. FASE DE CAMPO

La recolección del material vegetal se lo hizo en el Mercado de productos naturales en ciudad del Puyo y en la Parroquia Bolívar Cantón Pelileo Provincia de Tungurahua y el aceite esencial proveniente de Turquía.

Los mismos que fueron etiquetados y se trasladados al Laboratorio de Farmacognosia de la Facultad de Ciencias. Previamente estuvo definido el grupo de conejos a utilizarse para las pruebas de sensibilidad.

Dichos conejos atravesaron varias fases en el proceso de experimentación que se detallan a continuación:

1. Primera etapa o etapa de adaptación

- Ambiente

Una vez adquiridos los animales de 1-3 Kg., de la misma camada de máximo tercera generación, que sean de edad aproximada a dos meses, de cualquiera que esta sea la forma, se los adapta al ambiente y al lugar donde permanecerán durante el período de los análisis, esto será en jaulas o cepos que resulte lo más cómodo posible para que el animal pueda movilizarse sin ningún inconveniente para no causarle estrés innecesario al conejo. El cambio de camas se lo realizará cada pasando un día ya que se tendrá al animal en condiciones asépticas para evitar enfermedades innecesarias.

- **Alimentación**

Al animal se lo adaptará de acuerdo al tipo de comida que nosotros deseemos como será en este caso pellets y agua en cantidad suficiente de acuerdo al tamaño del animal. Se debe alternarla con su comida hasta lograr la sustitución de la misma y no provocar un cambio brusco en el conejo y mucho menos que este se muera por falta de alimentación.

2. Segunda etapa o preparación del animal

- **Ambiente**

En esta fase el animal se encuentra completamente adaptado y cómodo en su hábitat, no es necesario moverlo de su espacio a menos que sea completamente necesario o para aseo.

- **Alimentación**

Se le proporcionará la cantidad suficiente de comida al animal ya que no se verá un efecto interno.

Aquí se realiza la rasurada de la lana del animal 24 horas antes de iniciarse la experimentación, la cual se realiza a los dos lados de la columna vertebral y limpiando la zona para posterior aplicación del producto.

3. Tercera etapa o experimental

Es la etapa misma de la experimentación en la cual el animal debe ser tratado de la manera más humana posible y cuidadosa para no provocarle un sufrimiento más allá de lo necesario.

La calidad de las pruebas no se prestan como para ocasionarle muerte al animal ya que son fácilmente recuperados.

La aplicación del producto se lo realizará cada 1, 2, 4, 18, 24, y 48 horas a partir de la primera aplicación, de esta manera se podrá evaluar con mayor claridad los efectos del producto.

4. Cuarta etapa o recuperación

Representa la recuperación propia del animal en la cual puede ser incluso liberado o utilizada para pruebas posteriores sin ningún posible daño. Si se desea volver a utilizarlo se lo someterá nuevamente a su preparación desde la primera etapa como si este hubiese sido adquirido por primera vez.

2.9.2. PRECAUCIÓN:

En caso de presentar laceraciones profundas en la piel y sin solución al animal se prefiere un sacrificio lo más humano posible al conejo para evitar su sufrimiento.

Los conejos utilizados para comprobar la eficacia y seguridad del producto elaborado atraviesan varias etapas descritas anteriormente y resumidas a continuación:

ETAPA	CARACTERISTICAS
1° Etapa ADAPTACIÓN	Ambiente: jaulas o cepos que resulte lo más cómodo posible al conejo Alimentación: Alternada para lograr una adaptación progresiva.
2° Etapa PREPARACIÓN	Ambiente: jaulas o cepos completamente limpios. Alimentación: Pellets y agua suficiente Rasurada del animal a los lados de la columna vertebral y limpieza de la zona
3° Etapa EXPERIMENTACIÓN	Análisis de irritabilidad dérmica en donde se realiza la experimentación misma y se obtendrá resultados requeridos para la comprobación de la calidad del producto.
4° Etapa RECUPERACIÓN	Recuperación del animal o si es el caso el sacrificio del mismo.

TABLA N. 1 FASE DE CAMPO DE LOS ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN

2.9.3. EXIGENCIAS DE LOS ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN PARA ALMACENARLOS.

CONDICIONES DE ALMACENAMIENTO DE LOS ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN			
ESPECIE	Conejos Albinos	CEPOS	Metálicos o plásticos individuales
PESO	Entre 1-3 Kg.	TIEMPO DE LA PRUEBA	Máximo 10 min.
SEXO	Indistinto	EVALUACIÓN	30 o 60 minutos después de remover el parche, a las 24 horas y a las 72 horas de iniciada la prueba.
VALIDACIÓN	Por triplicado	TEMPERATURA	22± 1 °C
PIEL	Sin laceraciones	CALIFICACIÓN	Presencia o ausencia de edema e irritación.
HUMEDAD	50±5%	ALIMENTACIÓN	Agua y pellets en cantidad suficiente

TABLA N. 2 EXIGENCIAS DE LOS ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN

En donde:

Cepo: Es el aparato que sirve para sujetar e inmovilizar animales para experimentación.

Edema: Inflamación producida por acumulación excesiva de líquido seroalbuminoso en el tejido celular, debida a diversas causas.

Eritema, enrojecimiento difuso o en manchas de la piel, producido por la congestión de los capilares, debido a diversas causas.

Hemólisis, desintegración de los corpúsculos sanguíneos con liberación de hemoglobina.

Inducción, acción y efecto de inducir o causar una reacción por aplicación de un agente.

Irritación dérmica, alteración fisiológica de la piel provocada por algún agente físico, químico o biológico.

2.10. FASE DE LABORATORIO

En el laboratorio se realizó el siguiente procedimiento para la determinar la actividad astringente y antiinflamatoria del gel.

- Ensayo de control de calidad del gel astringente.
- Determinación de la actividad astringente con la aplicación del gel directamente en la piel de los conejos experimentales.

Además se realizó un tratamiento estadístico de los datos:

- Análisis estadístico usando pruebas Anova
- Separación de medias utilizando la prueba de Tukey al 5%.

2.10.1. DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD ASTRINGENTE.

- Una vez ya elaborado el gel con higo, caña agria, y salvia procedemos a realizar pruebas in vivo en animales de experimentación que son los conejos experimentales para comprobar su actividad.
- Luego el gel elaborado con la mezcla del extracto, aceites y jugo, de igual forma se procedió a realizar pruebas in vivo en los conejos con cuatro formulaciones diferentes, realizadas de la misma manera pero con concentraciones variables de la mezcla de los extractos y aceite quien de la propiedad final al producto, esto se hizo cada 1, 2, 4, 24, 48 horas para comprobar la actividad a diferentes dosis.
- Se registra el número de veces que se aplica el producto y las reacciones o el diámetro de enrojecimiento que presenta el área expuesta al producto, de la misma manera se comprueba con producto control que en este caso fue una Loción de Yanbal (Temptation) a las mismas dosis.

2.10.2. TIPO DE DISEÑO EXPERIMENTAL.

Se realizó 2 tratamientos con el gel y un control (Temptation) con una dosificación cada 1, 2, 4, 24,48 horas determinando en 8 conejos para el producto y sus diferentes mezclas y 2 para el control.

Formulaciones	Intervalos de Aplicación
F1 MLH	1,2,4,24,48
F2 MLH	1,2,4,24,48
F3 MLCA	1,2,4,24,48
F4 MLCA	1,2,4,24,48
F5 MLS	1,2,4,24,48
F6 MLS	1,2,4,24,48
F7MLM	1,2,4,24,48
F8MLM	1,2,4,24,48
F9MLC	1,2,4,24,48
F10MLC	1,2,4,24,48

**CUADRO N.3 APLICACIÓN DEL GEL CON CAÑA AGRIA, HIGO Y ACEITE
ESENCIAL DE SALVIA Y CONTROL (Temptation Yanbal)**

2.10.3. NOMENCLATURA

F: Formulaci3n

MLH: Muestra gel con higo

MLCA: Muestra gel con caña agria

MLS: Muestra gel con Salvia

MLM: Muestra gel en mezcla

MLC: muestra gel control

2.11. ANÁLISIS ESTADÍSTICO.

2.11.1. TEST DE ANOVA.

Es el más simple de todos los diseños ya que se puede comparar cualquier número de tratamientos que se aplican a las unidades experimentales al azar con cualquier número de repeticiones es posible, mejor estimación del error experimental que otro diseño.

Procedimiento estadístico que sirve para medir la variación total de las observaciones a la que se divide para sus componentes quedando el residuo como error experimental. (12)

2.11.2. DESCRIPCIÓN DEL PROBLEMA

Identificar la variable respuesta

Identificar el factor de interés

Identificar las unidades experimentales

Identificar el modelo

Variable respuesta: Porcentaje de efectividad del tratamiento

Factor de interés: Tratamiento

Unidades experimentales: niños

Modelo: $Y_{ij} = \mu + \alpha_i + e_{ij}$

μ : es la media global, asociada con un parámetro desconocido

α_i : efecto debido al tratamiento utilizado

e_{ij} : error asociado a la observación Y_{ij}

$$H_0: \mu_1 = \mu_2 = \mu_3 = \mu$$

$$H_1: \mu_i \neq \mu_j \text{ para } i \neq j$$

TABLA DE ANOVA				
FUENTE DE VARIACIÓN	SUMA DE CUADRADOS	GRADOS DE LIBERTAD	CUADRADO MEDIO	PRUEBA F

TRATAMIENTO	$= \sum_{i=1}^k \frac{SC_{TRAT}}{n_i} - \frac{(Y_{..})^2}{N}$	$k - 1$	$SC_T = \sum_{i=1}^k \frac{(Y_i)^2}{n_i} - \frac{(Y_{..})^2}{N}$	$\frac{SC_T}{SC_E}$
ERROR	$SC_E = SC_T - SC_{TRAT}$	$N - k$	$SC_E = (SC_T - SC_{TRAT})/N - k$	
TOTAL	$= \sum_{i=1}^k \sum_{j=1}^{n_i} (Y_{ij})^2 - \frac{(Y_{..})^2}{N}$	$N - 1$		

n: número de observaciones por tratamiento

k: número de tratamientos

N: número total de observaciones en el diseño

Y_{ij} : observación j – ésima del tratamiento i – ésimo

Y_i : suma de las observaciones en el tratamiento i

\bar{Y}_i : promedio de las observaciones en el tratamiento i

$Y_{..}$: suma de todas las observaciones

$\bar{Y}_{..}$: promedio de todas las observaciones (12)

2.11.3. ANÁLISIS DE VARIANZA

Es el procedimiento estadístico que nos sirve para medir la variación total de las observaciones, la que se divide para sus componentes, quedando el residuo como error experimental. Este análisis nos indica la relación entre una variable dependiente (actividad astringente, cambios en la presentación de la mancha) y los factores independientes (concentraciones y tiempos de aplicación del gel con mezcla de Caña Agria, Higo y Salvia).

El análisis de varianza es un método en el que se puede comparar dos o más medias de las observaciones o de los tratamientos, además nos permite medir la variación de las respuestas numéricas como valores de evaluación de diferentes variables nominales. (50)

2.11.4. PRUEBA DE SEPARACIÓN DE MEDIAS PRUEBA DE TUKEY AL 5%

La prueba de Tukey es el procedimiento empleado para determinar las diferencias que existen entre las medias de los tratamientos realizados. (50) (12)

$$T_{\alpha} = q_{\alpha}(k, N - k)S_{\bar{Y}_i}$$

Donde

$$S_{\bar{Y}_i} = \sqrt{\frac{1}{d} * CME \left(\frac{1}{n_i} + \frac{1}{n_{i'}} \right)}$$

n # de observaciones por tratamiento ; $n_i \neq n_{i'}$

d # de observaciones diferentes por tratamiento

N-k grados de libertad del error

α Nivel de significancia

$q_{\alpha}(k, N - k)S_{\bar{Y}_i}$ Son los puntos porcentuales de la distribución de rango estudentizada.

Se declaran significativamente diferentes los pares de medias cuya diferencia muestral en valor absoluto sea mayor que T_{α}

Rechazar H_0 : si $|\bar{Y}_i - \bar{Y}_j| > T_{\alpha}$

Aceptar H_0 : de otra manera

2.11.5. COEFICIENTE DE VARIACIÓN

Este método indica el nivel de confianza que se puede tener en los datos, un valor bajo indica que el ensayo ha sido bien realizado, planificado ya que ha tenido un buen manejo, en tanto que un valor alto puede ser indicador en ciertos casos de lo contrario con respecto al nivel de confianza. (50) (12)

CAPÍTULO III

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se resumen los resultados obtenidos en un cuadro de datos y valores, para luego discutir los mismos.

PARÁMETRO	MÉTODO	RESULTADO	RESULTADO	RESULTADO
		CAÑA AGRIA	HIGO	SALVIA
ASPECTO	Visual.	Líquido de color amarillo verdoso.	Líquido de color café oscuro, olor característico.	Líquido de color transparente, olor característico.
pH	Potenciómetro.	4,95	6,28	1.056
DENSIDAD g/ml	Picnometría.	0,987	0,825	1.525
ÍNDICE DE REFRACCIÓN	Refractómetro de ABBYE.		1,409	
TAMIZAJE FITOQUÍMICO	Olga Locck de UgazSolis.	Dragendorff (+) Balget (+) Fehling (+)	Cloruro férrico (+) Shinoda (+) Espuma (+) Dragendorff (+) Lieberman Buchard (-) Balget (+) Sudan III (+) Catequinas (+) Fehling (+)	Cloruro férrico (+) Shinoda (+) Lieberman Buchard (+) Balget (+) Sudan III (+) Catequinas (+) Antocianidinas (+)
COMPOSICIÓN QUÍMICA	Bibliografía	Cianidin Camferol Delfinidin Quercetina Vitamina C.	Aminoácidos Enzimas Psoraleno, Furano cumarinas, Azucares, Ácido cítrico, Fisina, Vitaminas: A, B,C y D	Flavonoides, Terpenos, Glucósidos, Ácidos fenólicos, Taninos, Catequinos,
USO TRADICIONAL	Bibliografía	Antiinflamatorio Afecciones Diurético Enemagogo Calmante Antiepiléptico Antiespasmódico Antioxidante Anticancerígeno Antipirético Astringente.	Cicatrizante Anticancerígeno Estrogenico Antimicótica, Elimina verrugas, Antiinflamatorias, Afecciones digestivas	Antiespasmódico, Astringente, Tónico, Carminativo, Reducción de la transpiración, Dolor de estómago, Antisudoríficas Hipoglucemiante, Estimulante, Antiséptica.
HUMEDAD	Estufa	69.47 %	39.92 %	NA

CENIZAS	Mufla	0.67 %	0.82 %	NA
---------	-------	--------	--------	----

CUADRO N. 4 RESULTADOS DE LAS PROPIEDADES FÍSICAS, QUÍMICAS Y BIBLIOGRÁFICAS DEL JUGO DE LA CAÑA AGRIA, HIGO Y SALVIA.

Por medio del análisis de resultados de cada vegetal se indica las propiedades organolépticas, físicas, químicas y bibliográficas determinadas en la Caña Agria, Higo y Salvia:

El aspecto en la Caña Agria presenta un color amarillo verdoso, con olor característico (olor cítrico), un pH de 4,95 próximo a la basicidad, la densidad de 0,987 g/mL siendo por lo tanto menos denso pero más cercano al agua, mientras que en el Tamizaje fotoquímico dio la presencia de compuestos, flavonoides, alcaloides, cumarinas, y azúcares reductores, que están presentes en el tallo de las cañas agrias sin corteza en su composición química propia del vegetal como Camfenol, Delfinidin, Quercetina, Vitamina C.

El Higo presenta un color café obscuro, olor característico (amaderado), su pH de 6,28 de que significa próximo a la alcalinidad, una densidad menor al agua de 0,825g/mL y el índice de refracción de 1,409, en el Tamizaje fitoquímico dio positivo la presencia de cumarinas, compuestos grasos, catequinas, presencia de saponinas, alcaloides, compuestos fenoles, azúcares reductores, flavonoides y triterpenoides y en su composición química se destaca la presencia de Psoraleno, Furano cumarinas, Azúcares, Ácido cítrico, ácido fólico, cantidad considerable de minerales como la Fisina, que tiene actividad antimicótica y antiinflamatorias se usa en heridas y para eliminar verrugas.

El Aceite de Salvia presenta un color trasparente y un olor característico del vegetal es por es utilizado como tónico, astringente de la piel, cicatrizante, emenagogo, bactericida, con una densidad 1.056g/mL superior a la densidad del agua y su índice de refracción de 1.525, en el Tamizaje fitoquímico dio la presencia de compuestos tales como fenoles, flavonoides, alcaloides y glucósidos; ya que en la composición química del vegetal esta la tujona, luteol, ácidos oxálicos, málico y ácido rosmarinico.

3.1. CONTROL DE CALIDAD DEL GEL.

PARÁMETRO	METODO	RESULTADOS
		GEL
ASPECTO	Visual	Cristalino transparente
pH	Potenciómetro. Valor Referencia (5,0 – 7,5)	6,75
VISCOSIDAD	Viscosímetro.	3841.38 cp – 93.96%
DETERMINACIÓN DE MICROORGANISMOS AERÓBIOS MESÓFILOS UFC/G	Método AOAC (990.12 Recuento de aerobios, film seco rehidratable) 35±1 °C/ 48±2h	6 x 10 ^6
DETERMINACIÓN DE MICROORGANISMOS COLIFORMES TOTALES Y E. COLI. UFC	Método AOAC (991.14 Recuento de coliformes y <i>Escherichia coli</i> , film seco rehidratable) 35±1 °C/ 48±2h	< 1
DETERMINACIÓN DE LEVADURAS Y HONGOS UFC	Método AOAC (997.02 Recuento de levaduras y mohos, film seco rehidratable) 20-25±1 °C/ 5 días	< 1

CUADRO N.5 RESULTADOS DEL ANÁLISIS ORGANOLÉPTICO, FÍSICO Y MICROBIOLÓGICO DEL GEL CON CAÑA AGRIA, HIGO Y SALVIA.

Es indispensable indicar que los parámetros de calidad como color, olor textura y viscosidad no poseen estándares de referencia con los que se puedan comparar, por lo que tienen sus propias características.

El gel con el jugo de caña agria, el extracto de Higo y Salvia presenta un color transparente cristalino, homogéneo, un olor característico agradable y su textura gelatinosa, con un pH de 6,75 que está dentro de las especificaciones y una viscosidad de 3841.38 cp – 93.96 % característica de un gel.

El control de calidad microbiológico se lo realizó con una muestra de gel con la mezcla de extractos, aceite esencial y jugo de caña en el que nos dió como resultado la ausencia de microorganismos como es el caso de *Stafilococcus aureus* y de hongos y levaduras pero con la presencia de aerobios mesófilos ya que en su formulación no están presentes conservantes, y que en su constitución química existen compuestos que van a ayudar al crecimiento de los mismos aunque los mismos se encuentran dentro de los rangos microbiológicos publicados en la Norma Oficial Mexicana NOM-039-SSA1-1993 para cosméticos < 1 UFC/g tanto para Microorganismos Coliformes Totales y *E coli* y Levaduras y hongos.

3.2. ESTABILIDAD DEL GEL POR MEDIO DE TERMORESISTENCIA.

PARÁMETROS	MÉTODO	RESULTADO		
		Tiempo inicial. 2012-01-11	A las 6 horas. 2012-01-11	A las 12 horas. 2012-01-12
Olor	Organoléptico	Característico	Característico	Característico
Color	Visual	Transparente cristalino	Transparente cristalino	Transparente cristalino
Aspecto	Visual	gelatinoso	gelatinoso	gelatinoso
Volumen de llenado	Capsula	8 g	5 g	3 g

CUADRO N.6 RESULTADO DE LA ESTABILIDAD DEL GEL A CONDICIONES DE TEMPERATURA DE 37° C ± 2 POR 12 HORAS EN LA ESTUFA. RIOBAMBA. MAYO 2013.

En el Cuadro se detallan los resultados de la estabilidad del gel por medio de Termoresistencia con extractos de Higo, jugo de caña agria y aceite esencial de Salvia con actividad astringente realizados por 12 horas a $37^{\circ} \text{C} \pm 2$ en la estufa, siendo este la forma acelerada de ver el tiempo de vida útil del gel.

Se pudo evidenciar que el gel durante este tiempo no sufre ningún cambio ni se ve alterado en sus propiedades como el color trasparente cristalino con una ligera opalescencia, el olor característico propio de los vegetales, aspecto viscoso característico de todo gel volumen de llenado inicial de la prueba de 10g y finalizó a las 12 horas con 3g,

3.3. BIOENSAYO

3.3.1. EXPOSICIÓN DE LOS CONEJOS AL PRODUCTO



FOTOGRAFÍA N. 2 RASURADO DE LOS CONEJOS

En este procedimiento todos los conejos dieron la pauta de la piel que presentan los animales y el área donde se colocará el producto. Lo cual nos brindó información preliminar o presuntiva al ser una técnica rápida en un estudio cosmético.



3.3.2. APLICACIÓN DEL GEL EN LA PIEL DE LOS CONEJOS



FOTOGRAFÍA N. 3 APLICACIÓN DEL GEL EN CONEJOS

Al realizar la aplicación del gel se determina claramente que no causa malestar en los conejos la aplicación de la loción, más bien nos da una sensación de relajación y frescura el comportamiento de los conejos.

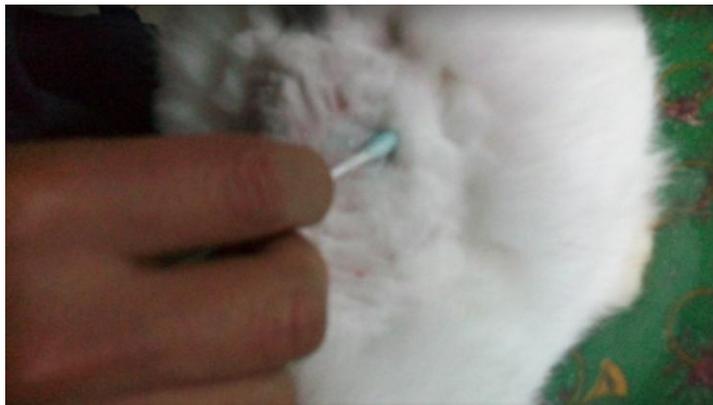
3.3.3. PRUEBA DE SENSIBILIDAD

En esta prueba se determinó la sensibilidad que presenta el producto en los conejos, fue negativa ya que no se presentó ningún cambio de coloración, así como ninguna irritación en la piel de los conejos, más bien se determinó que los tiempos de absorción van dentro de lo esperado siendo menor al producto control.



FOTOGRAFÍA N.4 PRUEBA DE SENSIBILIDAD NEGATIVA EN LOS CONEJOS.

3.3.4. PRUEBA CONTROL CON TEMPTATION DE YANBAL



FOTOGRAFÍA N.5 PRUEBA CONTROL CON GEL CONTROL TEMPTATION.

Al colocar el gel control (temptation) no se aprecia ningún cambio de coloración en la piel de los conejos así como en la apariencia de la misma, la diferencia es que aquí se

presenta un malestar en los conejos al aplicar la loción, nos da la sensación de ardor en los animales.

3.4. RESULTADOS DE LA ACTIVIDAD ASTRINGENTE DEL GEL CON EXTRACTOS DE HIGO, ACEITE ESENCIAL DE SALVIA Y JUGO DE CAÑA AGRIA.

Para determinar la actividad Astringente se procedió a aplicar el gel en los conejos experimentales en dosis de 0,5g cada 1, 2, 4, 24 y 48 horas y de la misma manera el gel control (Loción Yanbal) y se evaluó la astringencia e irritabilidad.

F1Salvia (minutos)	F2Higo (minutos)	F3Caña (minutos)	F3Mezcla (minutos)	FC Control (minutos)
1,2	1,4	1,25	1	1,45
1,23	1,34	1,3	1,12	1,5
1,43	1,46	1,36	1,05	1,55
1,23	1,5	1,37	1	1,48

TABLA N.3 DATOS DEL TIEMPO DE ABSORCIÓN DEL GEL EN SUS DIFERENTES FORMULACIONES.

Con los datos obtenidos se pudo determinar que el gel elaborado a base de higo, salvia y caña agria tiene diferente absorción al gel usado como control, siendo inferiores.

Al conocer que el gel con las diferentes formulaciones de los extractos se absorbe completamente en la piel y ese es el propósito de nuestra investigación se comprueba que el producto posee actividad astringente.



**FOTOGRAFÍA N.6 APLICACIÓN DEL GEL CON ACTIVIDAD
ASTRINGENTE**



**FOTOGRAFÍA N.7 EFECTO DEL GEL ELABORADO A BASE DE CAÑA
AGRIA, HIGO Y SALVIA**

**3.5. ANÁLISIS DE VARIANZA DE LA ACTIVIDAD ASTRINGENTE DEL GEL
ELABORADO A BASE DE EXTRACTO DE HIGO, JUGO DE CAÑA AGRIA
Y ACEITE ESENCIAL DE SALVIA REAL**

ANÁLISIS DE VARIANZA						
Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	0,48203	4	0,1205	24,847	1,8E-06	3,0556
Dentro de los grupos	0,07275	15	0,0049			
Total	0,55478	19				

CUADRO N.7 ANÁLISIS DE VARIANZA DE LA ACTIVIDAD ASTRINGENTE DEL GEL ELABORADO A BASE DE EXTRACTO DE HIGO, ACEITE ESENCIAL DE SALVIA Y JUGO DE CAÑA AGRIA.

Al analizar las variaciones que existen entre las distintas dosis del gel con Higo, caña agria y *salvia officinalis* se determinó la efectividad por medio de la reducción del tiempo en la absorción en la piel de los conejos y por ende de la irritación luego del afeitado ocasionado para comprobar su acción. Siendo este menor incluso q la loción control para después del afeitado.

Con estos datos se procede a elaborar Tukey al 5% para determinar las diferencias existentes entre las medias de las formulaciones de extractos de higo, caña agria y salvia.

3.6. PRUEBA DE TUKEY AL 5% PARA DETERMINAR LA ACTIVIDAD ASTRINGENTE ELABORADA A BASE DE EXTRACTO DE HIGO, ACEITE ESENCIAL DE SALVIA Y JUGO DE CAÑA AGRIA EN CONEJOS EXPERIMENTALES.

Absorción					
HSD de Tukey ^a					
Formulación	N	Subconjunto para alfa = 0.05			
		1	2	3	4
Gel en mezcla de	4	1.0425			
Gel salvia	4		1.2725		
Gel caña	4		1.3200	1.3200	
Gel higo	4			1.4250	1.4250
Gel control	4				1.4950
Sig.		1.000	0.867	0.257	0.624
Se muestran las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.					
a. Usa el tamaño muestral de la media armónica = 4.000.					

CUADRO N.8 PRUEBA DE TUKEY AL 5% PARA DETERMINAR LA ACTIVIDAD ASTRINGENTE DEL GEL Y CONTROL (TEMPTATION YANBAL)

En el Cuadro N.8 Podemos observar que la formulación del gel control resulta ser mucho menor en cuanto a absorción ya que el tiempo es mayor y su acción astringente inferior a la del gel elaborado a base de higo, caña agria y salvia.

Demostrándose que con la formulación realizada en base a la mezcla de los extractos y aceites la eficacia resulta ser mucho mayor a la prueba realizada con la loción control.

Mientras que en la aplicación del gel control los tiempos son mayores, con el gel elaborado, en los conejos se observa claramente que la penetrabilidad es superior al control, así como la actividad comprobada y la irritabilidad disminuye de manera totalmente visible en un intervalo de tiempo inferior.

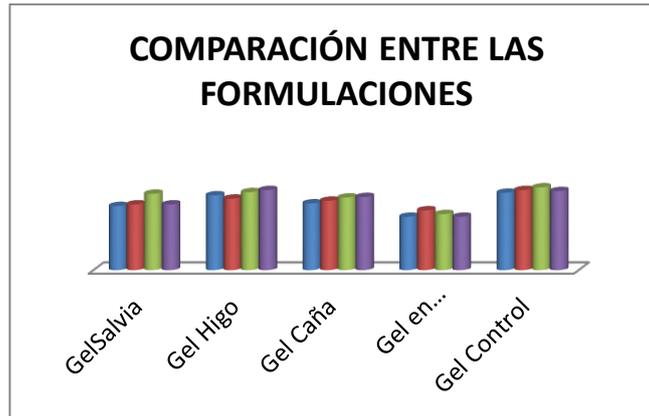


GRÁFICO N.1 COMPARACIÓN ENTRE LAS DIFERENTES FORMULACIONES DEL GEL

En el gráfico N.1 se considera que la actividad astringente entre las diferentes formulaciones no se observa gran variación entre cada uno de ellos, pero se logra observar que el gel en mezcla con los diferentes vegetales es el mejor en cuanto a absorción y a la función específica para la que está destinada la investigación.

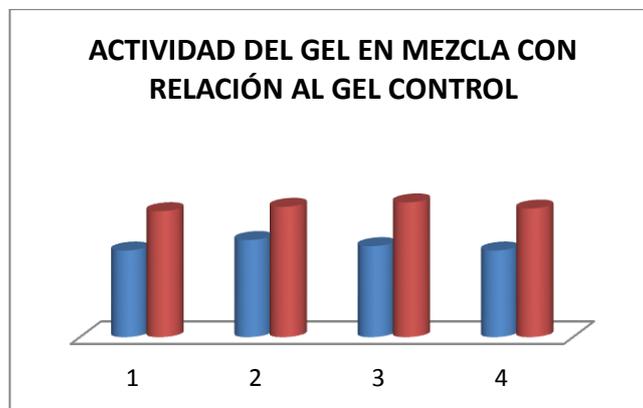


GRÁFICO N. 2 ACTIVIDAD DEL GEL DE CAÑA AGRIA, HIGO Y SALVIA CON EL MENOR TIEMPO DE ABSORCIÓN Y EL GEL CONTROL

En el Grafico N.2 se relaciona directamente la mezcla en gel que es la mejor en función de absorción y de función astringente con el gel control (Temptation Yanbal) y se determina que la mezcla se da en menor tiempo de absorción y mejor acción que se nota claramente en el gráfico.

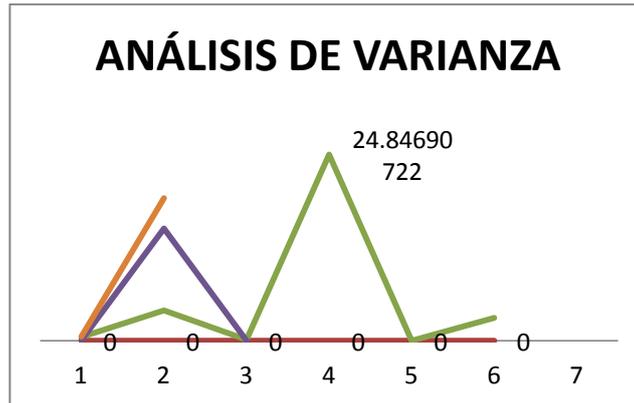


GRAFICO N.3 DESVIACIÓN ENTRE LAS DIFERENTES FORMULACIONES DEL GEL.

En el gráfico N.3 la curva existente en el gel con extractos en mezcla es pronunciada encontrándose con un valor de dispersión de 24,84 lo que nos indica que los datos se diferencian entre sí a pesar de no ser pronunciados, se puede diferenciar sus valores ya que del gel con mezcla de extractos y el gel control poseen diferencia y de mucho valor en lo que es su función complementando así el trabajo de investigación.

CAPÍTULO IV.

4. CONCLUSIONES.

1. El gel con la mezcla de extracto de Higo, jugo de caña agria y aceite esencial de Salvia tuvo efecto astringente sobre la piel rasurada de los conejos usados para el análisis en donde se elimina la irritabilidad de la piel de los animales, planteándose que se acepta la hipótesis planteada.
2. El gel elaborado a partir de caña, salvia e higo, tiene un olor agradable, masculino, herbal, sin color, características propias como penetrabilidad, consistencia y además el efecto buscado.
3. Las concentraciones usadas para la elaboración del gel son de 20% para los extractos de higo y caña mientras que para el aceite esencial de salvia real se utilizó un 5% .
4. El jugo de caña agria tiene un pH de 4.95, densidad 0.987 g/mL, los grupos fitoquímico son alcaloides, cumarinas, y azucres reductores. El Higo tuvo pH de 6.28, densidad 0.825 g/mL, índice de refracción de 1.409 contiene alcaloides, cumarinas, compuestos grasos, catequinas, taninos, flavonoides, cierto tipo de azucres reductores; el aceite de la salvia presentó una densidad 1.056 g/mL, índice de refracción de 1.525 presencia de, triterpenos, cumarinas, compuestos grasos, catequinas, taninos, flavonoides y antocianidinas.

5. Se evaluó el efecto astringente o cierre del poro de la piel rasurada de los conejos, control positivo (gel Yanbal) con aplicación en la 1, 2, 4, 24, 48 horas que la piel toma una apariencia natural o normal propia del conejo y que la irritabilidad que se presentó luego del afeitado desaparece cumpliendo así con la actividad planteada

6. La extensibilidad, homogeneidad del producto control con el producto realizado son similares la variación se da en la absorción de los dos geles ya que el control tiene un valor de 1.49 y el realizado tiene un valor de 1.04 siendo mucho menor al valor anteriormente mencionado, esto usando lotes de 4 individuos..

7. El análisis de varianza nos arroja un valor de 3.05 para el gel elaborado a base de caña, higo y salvia real.

CAPÍTULO V.

5. RECOMENDACIONES.

1. Realizar comprobaciones de diferentes actividades del gel como por ejemplo actividad tópica antiinflamatoria o cicatrizante.
2. Comprobado el efecto astringente con varias concentraciones y cual resulta tóxica
3. Para la elaboración del gel se recomienda hacerlo bajo las condiciones más asépticas posibles, esto para evitar que tenga un deterioro acelerado ya que no posee conservantes por ser un producto natural, esto para alargar el período de vida útil del producto y se pueda almacenar sin inconvenientes.
4. Se recomienda tratar a los conejos de experimentación de la manera más ética posible, ya que son animales muy propensos al estrés y al realizar la práctica se podría salir herido por las uñas de los conejos.
5. En la formulación del producto se debe tener cuidado de colocar las cantidades especificadas para tener finalmente un producto con la consistencia y las características deseadas.

CAPÍTULO VI

6. RESUMEN Y SUMMARY

6.1. RESUMEN

La investigación tiene como objetivo elaboración y control de calidad del gel para después del afeitado con caña agria (*Costus spicatus*), higo(*ficus carica*) y salvia real(*Salvia officinalis*) como extractos vegetales, el método usado para la elaboración y control de calidad fue experimental, buscando formulaciones más adecuadas para un producto apropiado y comprobar su efecto. Para elaborar el gel se usó materia prima cosmética de calidad, conejos donde se comprobó la actividad y extractos vegetales sustituidos en la formulación.

El extracto etanólico por maceración, jugo de caña prensado y aceite esencial adquirido. El gel se obtiene por mezcla de carbopol al 15% en agua destilada caliente y 0,2% extracto de higo, jugo de caña agria y aceite esencial de salvia.

Se seleccionó conejos(10) del tipo New Zealand que previo al análisis se rasuró su pelaje. Una vez aplicado el gel se midió a 1,2,4,24,48 horas, al mismo grupo de conejos, igual en el producto control(Temptation-Yanbal), observándose los resultados positivos con disminución progresiva de irritabilidad y actividad astringente en zonas seleccionadas.

Se determino que la aplicación es adecuada siendo el mejor resultado el gel mezcla de extractos dando un valor de 1,0425 y las otras formulaciones varían de 1,2 a 1,4

confirmándose mejor formulación en la experimentación. Incluyendo el gel control(Temptation Yambal).

Se recomienda un posterior estudio de los extractos para comprobar sus propiedades y evaluar su actividad en animales de experimentación, interpolar el uso en personas reconociendo sus efectos para la aceptación del producto.

6.2. SUMMARY

The objective of this research is to elaborate and control the gel quality after shaving with sour cane (*Costus spicatus*), fig (*Ficus carica*) and sage (*Salvia officinalis*) as vegetable extracts, the experimental method was used to manufacture and quality control, looking for the best formulations for an appropriate product and test its effect.

In order to manufacture the gel was used quality cosmetic raw material, rabbits where were checked the activity and vegetable extracts replaced in the formulation.

The ethanolic extract by maceration, cane juice pressed and acquired essential oil. The gel is obtained by mixing of carbopol at 15% in hot distilled water and 0,2% extracts of fig, sour cane juice and sage essential oil.

10 rabbits were selected previous analysis its fur was shaved. Once applied the gel was measured at 1,2,4,24,48 hours, to the same group of rabbits, same as the control product (Temptation- Yanbal) observing the positive results with a progressive decreasing irritability and astringent activity in selected areas

It is determined that the application is adequate being the best results the mixture gel of extract getting a value of 1,0425 and the other formulation vary from 1,2 to 1,4 confirming a better formulation in the experimentation, including the control gel (Temptation – Yanbal))

It is recommended a further study about the extracts to test its properties and evaluate its activity in laboratory animals, interpolate the use of people recognizing its effects for the product acceptance.

CAPÍTULO VII.

BIBLIOGRAFIA

1. **ACOSTA, M.**, Vademécum de plantas medicinales del Ecuador., Quito – Ecuador., FESO – Abya- Yala., 1992., Pp. 45-50.
2. **ARIKAN.**, Microdilution susceptibility testing of amphotericin B., Quito – Ecuador., Abya – Yala., 1999., Pp. 37 – 51.
3. **ARMIJO, JA.**, Farmacología Clínica: Objetivos y Metodología., 4 ed., Barcelona – España., Masson., 2003., Pp. 191-218.
4. **ARMIJO, M.**, Dermatitis por hongos., 2ª ed., Barcelona – España., Médica Internacional S.A., 1989., Pp. 45.
5. **AVILÁN.**, Medicamentos “naturales” o convencionales., Caracas – Venezuela., Grupo Latino Pp. 112.
6. **BERKOWITZ, BA.**, Basic & Clinical Evaluation of New Drugs., 8 ed., New York – Estados Unidos., Basic & Clinical Pharmacology LANGE., 2001., Pp. 64-74.

7. **BRUNEAU, SM.**, Quantitative immunoelectrophoretic.,
Sabouraud. Mykosen., Ankara – Turquía., 1984., Pp.
27, 124-136.
8. **BRUNETON, J.**, Farmacognosia, Fitoquímica, Plantas
Medicinales., 2ª ed., Barcelona – España., Alambra.,
2001., Pp. 1094.
9. **CLANCY, C.**, In vitro efficacy and species., Paris –
Francia., Eur J., 1998., Pp. 17,573.
10. **CLIMOC, A.**, Elaboración de fórmulas magistrales,
preparados oficinales, dietéticos y cosméticos., Bogota
– Colombia ., Cep., 2011., Pp. 112- 128.
11. **CODEMPE.**, Manual de la medicina de los
pueblos Kichwas del Ecuador., Quito – Ecuador.,
Ecuadorunari., 1999., Pp. 79.
12. **DOMINGUEZ, X.**, Métodos de Investigación Fitoquímica.,
México DF – México., Limusa., 1973., Pp. 73.
13. **GONZALES, G.**, Métodos Estadísticos y Principios de
Diseño Experimental., 2ª ed., Quito – Ecuador.,
Universidad Central del Ecuador., 1985., Pp.181 - 198.
14. **JAMBI KIWA.**, La Magia de las Plantas, Guía Práctica Para
Conocer las Plantas Medicinales y sus Propiedades
Curativas., Riobamba – Ecuador., 2000., Pp. 84 - 88.

15. **JÁTIVA, C.**, Texto Básico de Farmacognosia de los Vegetales a las Medicinas., Riobamba- Ecuador., ESPOCH., 2004., Pp. 97.
16. **NEUHAUS, IM .**, Hypopigmented mycosis., Washington DC – Estados Unidos., *Pediatric Dermatol.*, 2000., Pp. 17, 403- 406.
17. **RANDJANDICHE, M.**, Chalmers in vivo et in vitro. *Bull Soc Fr Mycol Med.*, Washington DC – Estados Unidos., 1976., Pp. 5, 79 - 84.
18. **MIRANDA, M., HUACUJA., L .**, Revista de Investigación en Salud., Fitoterapia Molecular como parte de la medicina alternativa complementaria en las enfermedades., Universidad de Guadalajara., México – DF-México., 2005., Pp. 64 – 70.
19. **AHKAMI, RN.**, Investigacion Cientifica., *Nevus anemicus. Dermatology.*, Colorado – Estados Unidos., 1999., Pp. 198, 327-329.
20. **BARRAGAN, R.**, Principios de Diseño Experimental., Buenos Aires – Argentina., Lange., 1997., Pp. 10 – 21.
21. **GROSS, E.**, Introducción al estudio de los Productos Naturales., Barcelona – España., Alambra., 1985., Pp. 78 – 90.

22. **LOCK, O.**, Métodos de Estudio de productos Naturales.,
Pontificia Universidad Católica de Perú., Lima – Perú.,
Fondo Editorial., 1999., Pp. 2 – 16.
23. **NARANJO, P.**, Plantas del Ecuador., Quito – Ecuador.,
Universidad Central., 2000., Pp. 42, 256, 257.
24. **WEBB & HELDR.**, Aceite esencial de Salvia Real., Ankara
– Turquía., Cavanilles., 1967., Pp. 309,170.
25. **ESPAÑA., AGENCIA ESPAÑOLA DE MEDICAMENTOS Y
PRODUCTOS SANITARIOS.**
Real Farmacopea Española., Madrid - España., 2003.,
Pp. 3337 – 3934.

BIBLIORAFIA INTERNET

- 26. CAÑA AGRIA**
http://www.tlahui.com/medic/medic31/cana_de_jabali.htm
2013 – 03 – 26.
- 27. ELABORACIÓN DE UN GEL PARA TRATAMIENTOS FACIALES**
<http://www.medicina.usmp.edu.pe/congresomundial/000data/temlib.htm>
2013 – 04 – 13.
- 28. CONTROLDE FORMULACIONES**
<http://www.ffyb.uba.ar/farmacocinetica%2014/controlformulaciones%5B4tm>
2013 – 05 – 04.
- 29. DESCRIPCIÓN BOTÁNICA DEL HIGO**
<http://www.ecoaldea.com/plmd/higo.htm>
2013 – 06 – 17.
- 30. MACERACIÓN**
<http://www.wordreference.com/definicion/maceraci%C3%B3n>
2013 – 05 – 25.
- 31. PELO**
<es.wikipedia.org/wiki/Pelo>
2013 – 03 – 27.
- 32. PIEL**

<http://es.wikipedia.org/wiki/Piel>

2013 – 04 – 13.

33. VELLO FACIAL Y DEPILACION

http://www.depilacionlaser.com/noticias/el_ciclo_de_vida_del_vello_la_base_de_la_depilacion_laser/

2013 – 04 – 20.

34. VELLO FACIAL ESTRUCTURA

<http://www.depilacion.com.mx/el-vello/estructuravello.htm>

2013 – 06 – 22.

CAPÍTULO VIII.

8. ANEXOS.

ANEXO N. 1 Valores de la amplitud total estudentizada, q 0.05, para uso de la prueba de Tukey (valor de interpolación).Valores de la amplitud total estudentizada, q 0.05, para uso en la prueba de Tukey

glee	Número de tratamientos																		
	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
1	17.97	26.98	32.82	37.08	40.41	43.12	45.40	47.36	49.07	50.59	51.96	53.20	54.33	55.36	56.32	57.22	58.04	58.83	59.56
2	6.08	8.33	9.80	10.88	11.74	12.44	13.03	13.54	13.99	14.39	14.75	18.08	15.38	15.65	15.91	16.14	16.37	16.57	16.77
3	4.50	5.91	6.82	7.50	8.04	8.48	8.85	9.18	9.46	9.72	9.95	10.15	10.35	10.53	10.69	10.84	10.98	11.11	11.24
4	3.93	5.04	5.76	6.29	6.71	7.05	7.35	7.60	7.83	8.03	8.21	8.37	8.52	8.66	8.79	8.91	9.03	9.13	9.23
5	3.64	4.60	5.22	5.67	6.03	6.33	6.58	6.80	6.99	7.17	7.32	7.47	7.60	7.72	7.83	7.93	8.03	8.12	8.21
6	3.46	4.34	4.90	5.30	5.63	5.90	6.12	6.32	6.49	6.65	6.79	6.92	7.03	7.14	7.24	7.34	7.34	7.51	7.59
7	3.34	4.16	4.68	5.06	5.36	5.61	5.82	5.82	6.16	6.30	6.43	6.55	6.66	6.76	6.85	6.94	7.02	7.10	7.17
8	3.26	4.04	4.53	4.89	5.17	5.40	5.60	6.00	5.92	6.05	6.18	6.29	6.39	6.48	6.57	6.65	6.73	6.80	6.87
9	3.20	3.95	4.41	4.76	5.02	5.24	5.43	5.77	5.74	5.87	5.98	6.09	6.19	6.28	6.36	6.44	6.51	6.58	6.64
10	3.15	3.88	4.33	4.65	4.91	5.12	5.30	5.59	5.60	5.72	5.83	5.93	6.03	6.11	6.19	6.27	6.34	6.40	6.47
11	3.11	3.82	4.26	4.57	4.82	5.03	5.20	5.46	5.49	5.61	5.71	5.81	5.90	5.98	6.06	6.13	6.20	6.27	6.33
12	3.08	3.77	4.20	4.51	4.75	4.95	5.12	5.35	5.39	5.51	5.61	5.71	5.80	5.88	5.95	6.02	6.09	6.15	6.21
13	3.06	3.73	4.15	4.45	4.69	4.88	5.05	5.27	5.32	5.43	5.53	5.63	5.71	5.79	5.86	5.93	5.99	6.05	6.11
14	3.03	3.70	4.11	4.41	4.64	4.83	4.99	5.19	5.25	5.36	5.46	5.55	5.64	5.71	5.79	5.85	5.91	5.97	6.03
15	3.01	3.67	4.08	4.37	4.59	4.78	4.94	5.08	5.20	5.31	5.40	5.49	5.57	5.65	5.72	5.78	5.85	5.90	5.96
16	3.00	3.65	4.05	4.33	4.56	4.74	4.90	5.03	5.15	5.26	5.35	5.44	5.52	5.59	5.66	5.73	5.79	5.84	5.90
17	2.98	3.63	4.02	4.30	4.52	4.70	4.86	4.99	5.11	5.21	5.31	5.39	5.47	5.54	5.61	5.67	5.73	5.79	5.84
18	2.97	3.61	4.00	4.28	4.49	4.67	4.82	4.96	5.07	5.17	5.27	5.35	5.43	5.50	5.57	5.63	5.69	5.74	5.79
19	2.96	3.59	3.98	4.25	4.47	4.65	4.79	4.92	5.04	5.14	5.23	5.31	5.39	5.46	5.53	5.59	5.65	5.70	5.75
20	2.95	3.59	3.96	4.23	4.45	4.62	4.77	4.90	5.01	5.11	5.20	5.28	5.36	5.43	5.49	5.55	5.61	5.66	5.71
30	2.92	3.53	3.90	4.17	4.37	4.54	4.68	4.81	4.92	5.01	5.10	5.18	5.25	5.32	5.38	5.44	5.49	5.55	5.59
40	2.89	3.49	3.85	4.10	4.30	4.46	4.60	4.72	4.82	4.92	5.00	5.08	5.15	5.21	5.27	5.33	5.38	5.43	5.47
50	2.86	3.44	3.79	4.04	4.23	4.39	4.52	4.63	4.73	4.82	4.90	4.98	5.04	5.11	5.16	5.22	5.27	5.31	5.36
60	2.83	3.40	3.74	3.98	4.16	4.31	4.44	4.55	4.65	4.73	4.81	4.88	4.94	5.00	5.06	5.11	5.15	5.20	5.24
120	2.80	3.36	3.68	3.92	4.10	4.24	4.36	4.47	4.56	4.64	4.71	4.78	4.84	4.90	4.95	5.00	5.04	5.09	5.13
	2.77	3.31	3.63	3.86	4.03	4.17	4.29	4.39	4.47	4.55	4.62	4.68	4.74	4.80	4.85	4.89	4.93	4.97	5.01

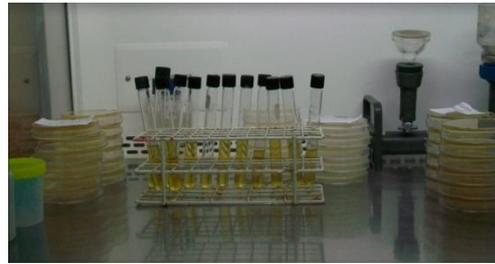
ANEXO N. 2 FOTOS DE LOS CONEJOS ANTES Y DESPUÉS DEL TRATAMIENTO CON EL GEL.





ANEXO N. 3 FOTOS DE LOS MATERIALES Y EQUIPOS USADOS EN EL DESARROLLO DEL TRABAJO DE INVESTIGACION.





ANEXO N. 4 FOTOS DEL ANALISIS MICROBIOLÓGICO APLICADO AL GEL.

