

82  
2ej.

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE QUIMICA

EL COLAGENO Y SU APLICACION EN PRODUCTOS COSMETICOS.

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO

P R E S E N T A

DALIA SOTO GAVIDIA

1988

**TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN**



Universidad Nacional  
Autónoma de México



## **UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso**

### **DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

## INDICE

CAPITULO I	
INTRODUCCION .....	1
CAPITULO II	
ANTECEDENTES	
a) PROTEINAS .....	3
b) TEJIDO CONJUNTIVO .....	4
CAPITULO III	
ESTRUCTURA QUIMICA DEL COLAGENO	
a) CARACTERISTICAS FISICAS .....	5
b) COMPOSICION QUIMICA .....	11
c) TIPOS DE COLAGENO .....	14
d) PROPIEDADES FISICOQUIMICAS .....	16
e) COLAGENO EN DIFERENTES TEJIDOS .....	22
f) ENFERMEDADES RELACIONADAS CON EL COLAGENO ...	24
g) COLAGENASA .....	26
CAPITULO IV	
IMPORTANCIA DEL COLAGENO DESDE EL PUNTO DE VISTA COSMETICO	
a) ENVEJECIMIENTO CUTANEO .....	28
b) ACCION COSMETICA DEL COLAGENO .....	29
c) PREPARACIONES COMERCIALES DE COLAGENO PARA USO COSMETICO .....	33
d) PROPIEDADES DE LOS COLAGENOS COMERCIALES ....	39
e) OTRAS APLICACIONES DEL COLAGENO .....	41
f) COLAGENO INYECTADO .....	42
CAPITULO V	
PARTE EXPERIMENTAL	
a) FORMULACIONES .....	43

b) DISEÑO DEL EXPERIMENTO .....	47
c) PARTE ESTADISTICA .....	50
CAPITULO VI	
CONCLUSIONES .....	69
ANEXO .....	71
CAPITULO VII	
BIBLIOGRAFIA .....	73

## CAPITULO I

### INTRODUCCION

Desde tiempos remotos la gente se ha preocupado por su apariencia con la idea fundamental de tener aceptación general; así en las primeras culturas como es la egipcia encontramos ya indicios de lo anterior teniendo como ejemplo mascarillas de lodo obtenido del Nilo, o bien, baños de leche de burra. A través del tiempo observamos que esta preocupación se ha venido incrementando, por lo que se han desarrollado nuevos tratamientos cosméticos especialmente para el cuidado de la piel. La idea de una piel maltratada y con arrugas es una moderna espada de Damocles en la sociedad actual, por lo que se ha buscado en la naturaleza un sustituto nutriente que retarde la aparición de las mismas.

Teniendo como base que el ser humano tiende a buscar lo bello y que muchas veces la apariencia personal de la gente que cuida su aspecto físico le sirve como un medio para salir adelante en la sociedad actual tan competitiva se ha desarrollado la industria cosmética moderna, la cual ya no se limita a buscar minimizar el envejecimiento cutáneo sino, de ser posible, detenerlo.

En relación con el cuidado del cutis, aunque hay fórmulas similares a las que se usaban desde hace muchos años, han surgido otras que incorporan nuevos agentes activos; así por ejemplo tenemos algunas que adquieren popularidad temporal poniéndose de moda como es el caso de la jalea real; actualmente el colágeno se encuentra en esa posición, y se siguen estudiando otras fuentes nutrientes como

lo son el DNA y el RNA por ejemplo.

Como se mencionó anteriormente el colágeno se encuentra en primer plano actualmente y está en fuerte competencia con la elastina y los derivados de la planta Aloe vera y se encuentran solos o combinados como ingredientes activos en formulaciones cosméticas.

Debido a que no existe un amplio soporte científico en cuanto al empleo de compuestos de naturaleza bioquímica y sus posibles mecanismos de acción se hace necesario efectuar estudios de este tipo - para que nos aporten mayor información sobre los efectos obtenidos con su uso como ingrediente cosmético activo. Por esta razón el presente trabajo va encaminado a realizar un estudio bibliográfico de la información que hasta el momento se dispone del colágeno y reforzarla con pruebas de aplicación de cremas formuladas a base del mismo en diferentes tipos de piel.

## CAPITULO II

### ANTECEDENTES

#### a) PROTEINAS

Las proteínas son moléculas complejas que se encuentran en todas las células vivas y en la sangre. Su composición es muy variable, pero todas contienen carbono, hidrógeno, oxígeno y nitrógeno; la mayoría contiene azufre y algunas fósforo. Se forman mediante la unión de moléculas sencillas llamadas aminoácidos, de los cuales hay más de 20 variedades.

Se clasifican en simples y conjugadas; las proteínas simples están constituidas exclusivamente por aminoácidos y entre éstas se encuentran las albúminas, las globulinas, las glutelinas, los albuminoides, las protaminas y las histonas. Las proteínas conjugadas -- están unidas a un grupo no proteico o prostético.

También se pueden clasificar en base a su estructura tridimensional. Las dos divisiones en esta clasificación son las proteínas fibrosas y las proteínas globulares; las fibrosas tienen una forma -- elongada, generalmente son muy grandes y están compuestas de 2 ó más cadenas polipeptídicas. Las proteínas globulares tienen una estructura mucho más compacta, pueden tener una cadena polipeptídica simple o más. Las globulares son mucho más solubles en agua que las fibrosas, este último tipo de proteínas se caracteriza por su insolubilidad en agua y en la mayor parte de los disolventes comunes (polares y no polares); su misión fundamental es formar parte de la --

estructura corporal y se localizan en el tejido conjuntivo, óseo, - piel, lana, seda y estructuras análogas. (2)

Dentro de este tipo de proteínas se encuentra el colágeno que es la proteína mas abundante en los mamíferos y se encuentra en la piel, los tendones, los huesos, los cartilagos, los vasos sanguíneos y los dientes, siendo el mayor elemento fibroso. (6) Representa alrededor del 33% de las proteínas totales, o sea aproximadamente el 6% del - peso corporal. (5)

#### b) TEJIDO CONJUNTIVO

El colágeno es el principal constituyente del tejido conjuntivo ( 2, 5 y 6 ). Los tejidos son estructuras formadas por conjuntos de células que tienen características morfológicas y funciones similares. El tejido conjuntivo está caracterizado morfológicamente por - la presencia de algunos tipos de células inmersas en abundante material intercelular, sintetizado por las mismas.

Los fibroblastos son las células más comunes encontradas en el - tejido conjuntivo, son responsables de la síntesis de fibras y substancia intercelular amorfa. Hay tres tipos de fibras de tejido conjuntivo: colagenosas, elásticas y reticulares. (3)

En el tejido conjuntivo, la mayor parte del agua extracelular - no existe en estado libre, sino en forma de agua de solvatación.

El tejido conjuntivo tiene funciones de soporte, almacén, transporte, defensa y reparación. (3)



## CAPITULO III

ESTRUCTURA QUIMICA DEL COLAGENO

## a) CARACTERISTICAS FISICAS DEL COLAGENO

Se ha visto con el microscopio electrónico que las moléculas del colágeno están constituidas por pequeñas fibrillas que miden de 200 a 2500 Å de ancho y muchos micrómetros de largo, con estrías entrecruzadas características cada 640 a 700 Å.

El ancho que posean estas fibrillas depende del origen del que es extraído el colágeno; por ejemplo las fibras gruesas son características en el tendón, mientras que las fibrillas estrechas se encuentran en la córnea y en el humor vítreo. (5)

Estas fibrillas se unen entre sí entrecruzándose dando lugar a una fibra que es la estructura final que se conoce como colágeno. La unidad básica de esta estructura fibrosa es el tropocolágeno, el cual consiste de tres cadenas polipeptídicas del mismo tamaño. La extensión de una molécula de tropocolágeno es de 3000 Å, mientras que su diámetro es solamente de 15 Å, esto ha sido determinado por medio del microscopio electrónico y estudios de rayos X. (8)

Cada una de las cadenas polipeptídicas del tropocolágeno tiene una conformación individual de acuerdo a la regla de la mano izquierda, es decir se enrolla hacia la izquierda, mientras que al unirse las tres cadenas (que es el arreglo espacial del tropocolágeno) forman una triple hélice enrollándose una sobre otra -

hacia la derecha. (6) ( figura no. 1 ,

Esta estructura es diferente a la  $\alpha$  hélice, pues ésta se encuentra constituida solamente por una cadena peptídica y todos los enlaces de hidrógeno son intracadena ( entre diferentes partes de la -- misma cadena ); además en la  $\alpha$  hélice existen enlaces disulfuro, -- mientras que en el colágeno no existen estos enlaces. En el tropocolágeno los enlaces de hidrógeno son entre cadenas uniendo las tres cadenas entre sí, estabilizándose además con fuerzas de Van der Waals interaccionando entre residuos de cadenas diferentes. (7)

La estructura de la fibra colágena tiene una forma escalonada; al unirse entre sí las moléculas de tropocolágeno lo hacen en forma de hileras; con un ordenamiento espacial muy organizado. (6) ( figura no. 2 ). Este ordenamiento escalonado es responsable de las bandas características con periodicidad de  $640 \text{ \AA}$  propias del colágeno. (3) ( figura no. 3).

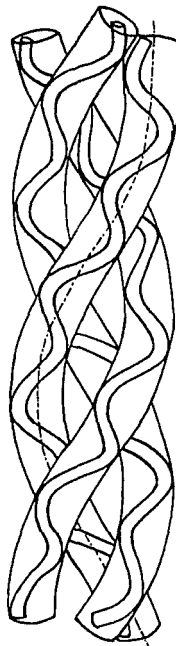
Estas estructuras ordenadas de tropocolágeno forman una fibrilla de colágeno y varias fibrillas unidas entre sí entrecruzándose dan por resultado una fibra de colágeno.

Las microfibrillas de colágeno están unidas en fibrillas y éstas en fibras por una sustancia cementante que contiene carbohidratos, esta sustancia también se encuentra cuando las fibras se unen para formar paquetes de fibras. (3) ( figura no. 4 )

pro  
gli  
x  
pro  
gli  
x  
hipro  
gli  
pro  
hipro  
x  
pro



-- 15 A° --

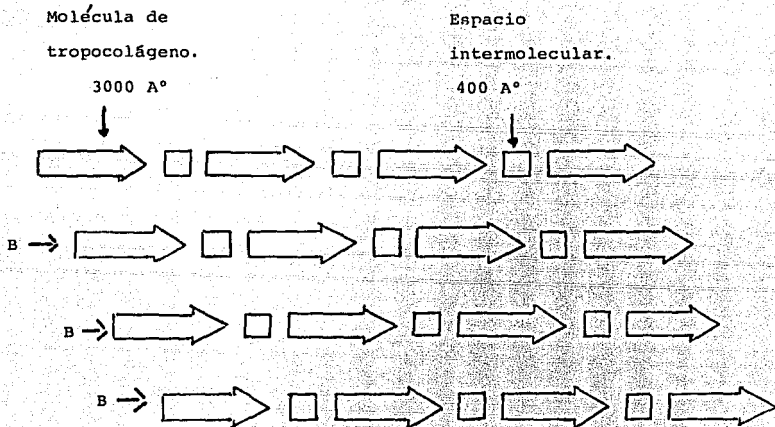


Secuencia de amino-ácidos en una cadena. ( cada tercer residuo es glicina ; x es cualquier aminoácido diferente )

Enrollamiento helicoidal hacia la izquierda en una cadena.

Las 3 cadenas se enrollan entre si hacia la derecha para formar la triple hélice. ( tropocolágeno ).

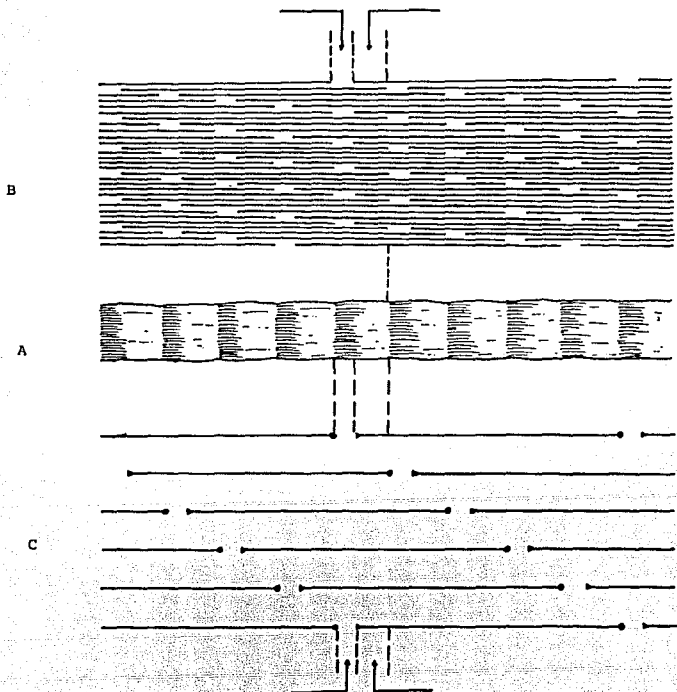
FIGURA NO. 2



Representación esquemática del Tropocolágeno.

B : Nótese que las moléculas del tropocolágeno se acomodan a un cuarto de su longitud con relación a la hilera anterior y dejan un hueco una tras de otra de aproximadamente --  $400 \text{ \AA}^\circ$ . (6)

FIGURA NO. 3

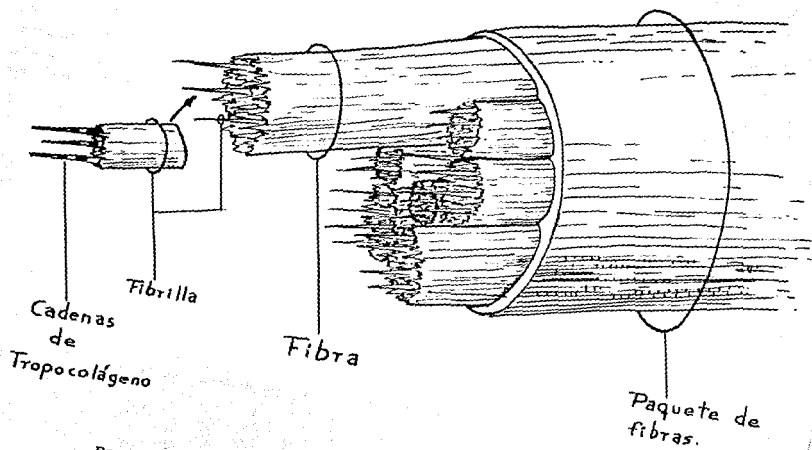


A.- Bandas características del colágeno.

B.- Las bandas características son resultado del ordenamiento espacial escalonado.

C.- Ampliación de B donde se aprecia que el espacio intermolecular del tropocolágeno coincide regularmente cuando se unen varias hileras, formándose así las bandas características.

FIGURA NO. 4



Formación de paquetes de tropocolágeno.

## b) COMPOSICION QUIMICA DEL COLAGENO

La insolubilidad de las fibras de colágeno fue por muchos años un impedimento para su caracterización química; el problema fue resuelto cuando se encontró que el colágeno extraído de tejidos de animales jóvenes es soluble, debido a que su entrecruzamiento aún es limitado; es decir, que conforme pasa el tiempo la formación de enlaces entrecruzados aumenta, haciendo insoluble la fibra y a ese proceso se llama maduración de la protefina. La ausencia de enlaces entrecruzados en el colágeno inmaduro hace posible la extracción de la estructura básica unitaria ( tropocolágeno ) en forma intacta.

La composición de cada una de las tres cadenas del tropocolágeno depende del sitio del que son extraídas, o sea del tipo del colágeno al que corresponden, ( en el inciso C de este capítulo se mencionan los diferentes tipos de colágeno ). Las cadenas están formadas por aproximadamente 1000 residuos de aminoácidos -- por lo que la estructura básica unitaria es muy larga.

Como se ha mencionado, una de las características principales del colágeno es su ordenamiento espacial, pero esta característica corresponde también a su estructura peptídica, debido a su composición poco usual en cuanto a aminoácidos y su secuencia en las cadenas del colágeno. La proporción de residuos de glicina en todas las moléculas de colágeno es muy alta ( cerca de un tercio del total ), al igual que la prolina que representa también un alto porcentaje.

El colágeno contiene además dos clases de aminoácido que se encuentran presentes en muy pocas proteínas, ellos son hidrox-

prolina e hidroxilisina, las cuales se forman por la acción de dos hidroxilasas distintas.

Contiene también pequeñas cantidades de tirosina y no contiene triptofano ni cistina. ( Cuadro No.1 ) (6)

La secuencia de aminoácidos en el colágeno es sumamente regular; cada tercer residuo es glicina, es decir contiene repetidamente un triplete de aminoácidos: gli-aa<sub>1</sub>-aa<sub>2</sub>. La prolina y la 4-hidroxiprolina se encuentran comúnmente en las posiciones aa<sub>1</sub> y aa<sub>2</sub>. (7)

Por ello es frecuente encontrar la secuencia glicina-prolina-hidroxiprolina. (6) ( Cuadro no. 2 )

La frecuencia de la glicina tiene además significancia a nivel espacial, ya que el interior de la triple hélice es muy estrecho, en realidad el único residuo que puede ser adecuado en una posición interior es la glicina. Los dos residuos de aminoácidos a cada lado de la glicina se localizan fuera del centro del tropocolágeno donde los anillos voluminosos de prolina e hidroxiprolina pueden acomodarse fácilmente, como se muestra en el modelo siguiente:

Corte de una sección de un modelo de colágeno. Cada cadena está enlazada a las otras dos por puentes de hidrógeno (.....). El carbón del átomo de glicina en cada cadena se denomina G. Los anillos de pirrolidona quedan fuera. (6)





CUADRO NO. 1

Alanina	106.9	Arginina	49.4
Ac. Aspártico	47.3	Cistina	0
Cisteína	0	Ac. Glutámico	77.0
Glicina	363.0	Histidina	4.8
Hidroxilisina	6.8	Hidroxiprolina	107.0
Isoleucina		Lisina	30.7
Leucina	42.8	Fenilalanina	15.2
Metionina	5.4	Serina	32.3
Prolina	131.4	Triptofano	0
Treonina	19.2	Valina	29.1
Tirosina	5.5		

Residuos de aminoácidos por 10000 g de proteína ( colágeno ). (8)

CUADRO NO.2

13 gli-pro-met-gli-pro-ser-gli-pro-arg-
22 gli-leu-hip-gli-pro-hip-gli-ala-hip-
31 gli-pro-gln-gli-phe-gln-gli-pro-hip-
40 gli-glu-hip-gli-glu-hip-gli-ala-ser-
49 gli-pro-met-gli-pro-arg-gli-pro-hip-

Secuencia de aminoácidos de la cadena 1(I) de colágeno ( cada tercer residuo es glicina ). (6)

### c) TIPOS DE COLAGENO

Como se mencionó anteriormente el colágeno puede adquirir diversas características de acuerdo al sitio de donde se extrae.

Inicialmente se había considerado un solo tipo de colágeno, - que es el más común, y es el que se encuentra en piel, tendón, - hueso y córnea. Actualmente se ha encontrado una diversidad muy amplia en tipos de colágeno, pero como no están bien definidos - generalmente se agrupan dentro de los tipos ya existentes.

Con el descubrimiento del colágeno de cartilago, se le asignó a este el número romano II y sus cadenas se asignaron como  $\alpha_1$ .

El colágeno convencional previamente conocido se designó entonces como tipo I y sus cadenas como  $\alpha_1$  y  $\alpha_2$  ( correspondiendo 2 cadenas a  $\alpha_1$  y una a  $\alpha_2$  ). Subsecuentemente el colágeno de piel fetal humana y otros tejidos se identificó como tipo III y los colágenos de membrana basamental como tipo IV.

Los tipos de colágeno que se clasifican como "tipos nuevos" por algunos investigadores (9) pueden agruparse con tipos ya existentes, tomando en cuenta funciones estructurales y relaciones existentes entre ellos.

El criterio para designar un nuevo tipo de colágeno consiste - en que debe contener cadenas que sean codificadas por un locus genético que no haya sido asignado previamente a otro tipo de esta molécula. El tipo V corresponde a Amnios y Corión.

La tabla 1 resume las cadenas y la composición molecular de los cinco tipos de colágeno que están bien definidos.

TABLA NO. 1

## TIPOS DE COLAGENO

Tipo	Cadenas	Composición Molecular	Distribución
I	$\alpha_1, \alpha_2$	$[\alpha_1(1)]_2 \alpha_2(1)$ $[\alpha_1(1)]_3$ (tipo I trímero).	Piel, tendón hueso y córnea.
II	$\alpha_1$	$[\alpha_1(II)]_3$	Cartilago, cuerpo vítreo.
III	$\alpha_1$	$[\alpha_1(III)]_3$	Piel fetal, sistema cardio- vascular.
IV	$\alpha_1, \alpha_2$	No establecida	Membrana basa- mental, memb. sinovial, pla- centa.
V	$\alpha_1, \alpha_2, \alpha_3$	No establecida	Amnios y corión.

#### d) PROPIEDADES FISICOQUIMICAS DEL COLAGENO

El colágeno es una protefna estructural que está presente -- hasta cierto punto en todos los organismos y sirve para unir las células en unidades discretas (6), siendo su mayor función - la de proveer tensión y mantener la integridad estructural de - tejidos y órganos (7).

Su mayor característica es su alta resistencia a la tensión (5), tiene una firmeza como la de un cable de acero del mismo peso (2), la fuerza de una fibra de colágeno es notable: se necesita una - carga de al menos 10 Kg para romper una fibra de 1 mm de diáme- tro (6).

Dependiendo del lugar en que se encuentren las fibras colágenas son más o menos rígidas; por ejemplo, en el hueso por su asocia- ción con la hidroxiapatita son poco flexibles, mientras que en el tendón son mucho más flexibles. En el cuadro 3 se muestra la e- lasticidad del colágeno con respecto a otras protefnas.

El colágeno en ausencia de cualquier desnaturalización o de- gradación es insoluble (7), y en medio ácido o alcalino aumenta de volumen (5).

Si se calienta una solución de tropocolágeno a una temperatura de aproximadamente  $37^{\circ}\text{C}$  ocurren cambios en sus propiedades ff- sicoquímicas, por ejemplo: la viscosidad de la solución indica -- que las moléculas tienen una pérdida de su apariencia rígida, - las propiedades ópticas rotatorias se alteran, indicando que la - estructura helicoidal de las cadenas ha sido destruida. Esto - parece indicar que el movimiento térmico puede vencer las fuer- zas que estabilizan la triple hélice, originando una estructura

CUADRO NO. 3

Proteínas	E L A S T I C I D A D	
	← disminuye	aumenta →
Colágeno	Hueso	Tendón
Keratina y derivados	Casco, uña, pezuña.	Cabello
Estructuras hoja plegada		Seda
Escleroproteínas.	Caparachos de insectos	
Estructuras tipo-elastinas		Elastina, Rétilina.

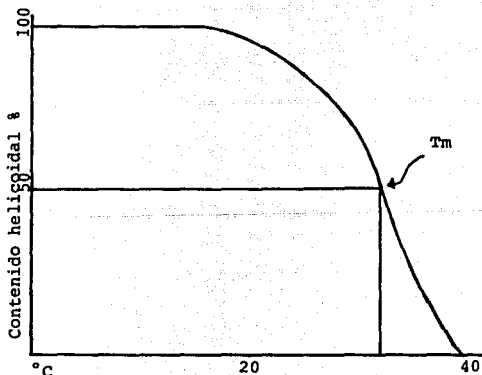
Elasticidad del colágeno con respecto a otras proteínas estructurales.  
(10)

desenrollada llamada gelatina, que consiste en un enrollamiento casual; esta transición estructural ocurre súbitamente a  $-37^{\circ}\text{C}$  aproximadamente, de una manera análoga al punto de fusión de un cristal. Lo súbito de la transición por aumento de temperatura revela que la triple hélice se estabiliza por interacciones cooperativas; en otras palabras la forma helicoidal es consecuencia de muchos enlaces que se refuerzan entre sí, aunque cada uno de ellos es relativamente débil. (6)

La temperatura a la cual la mitad de la estructura helicoidal se pierde, se llama temperatura de fusión ( $T_m$ ).

La  $T_m$  de tropocolágeno es un criterio de la estabilidad de esta estructura helicoidal. (6)

#### CURVA DE FUSION DE UNA MOLECULA DE COLAGENO



Para fibras de colágeno intacto la referencia comparable es la temperatura de encogimiento  $T_s$ , (6) .

El colágeno de diferentes especies tiene diferentes valores de  $T_m$  y  $T_s$ , relacionándose con la temperatura corporal, como se muestra en la tabla No. 2.

El colágeno de pescado tiene la menor  $T_m$ , mientras que los animales de sangre caliente tienen el valor mas alto. Esta diferencia de estabilidad térmica se correlaciona con el contenido de iminoácidos ( prolina mas hidroxiprolina ). El mayor contenido de iminoácidos hace más estable la hélice. (6)

La  $T_m$  de poli ( pro-pro-gli ) es  $24^\circ\text{C}$ , mientras que la de poli ( pro-hip-gli ) es  $58^\circ\text{C}$ , lo cual muestra que la triple hélice es estabilizada por hidroxilación. (6)

TABLA NO. 2

Fuente	Prolina más hidroxip. ( por 1000 residuos )	Estabilidad térmica °C		Temperatura Corporal °C
		Ts	Tm	
Piel de ternero.	232	65	39	37
Piel de tiburón.	191	53	29	24-28
Piel de bacalao	155	40	16	10-14

Dependencia de la estabilidad térmica sobre el contenido de  
iminoácidos. (6)



La importancia de los enlaces entrecruzados es significativa, ya que se ha visto que son éstos precisamente los que le dan -- firmeza a la molécula de colágeno y el nombre de fibra de colágeno; este producto es insoluble bajo muchas condiciones, a menos que haya degradación o denaturalización. (7)

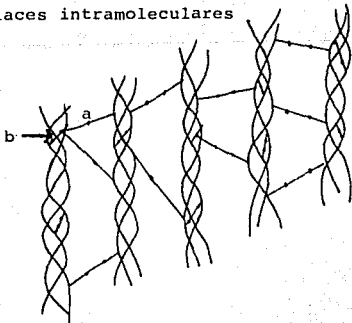
La extensión y tipo de enlaces entrecruzados varía con la - función fisiológica y la edad del tejido; por ejemplo en la rata madura el tendón de aquiles está saturado fuertemente de enlaces entrecruzados, mientras que el tendón flexible de la cola lo está mucho menos (6).

Estos enlaces son covalentes y se forman dos clases de ellos en la fibra colágena : intramoleculares ( entre diferentes partes de una unidad de tropocolágeno ) e intermoleculares ( entre diferentes unidades de tropocolágeno ) Figura 5.

FIGURA 5

Representación de la formación de enlaces entrecruzados.

- a) enlaces intermoleculares
- b) enlaces intramoleculares



## e) COLAGENO EN DIFERENTES TEJIDOS.

### I.- Colágeno en piel

La piel consiste de dos capas completamente diferentes: la epidermis y la dermis, la epidermis es la más superficial y está compuesta de escamas estratificadas de keratina; no contiene capilares, sino que está nutrida por difusión de los capilares que se encuentran en la capa inferior de la piel ( la dermis ), contiene también las células que producen la melanina ( el pigmento oscuro que protege al cuerpo de los efectos de la luz U.V ).

Algunas fibras elásticas se encuentran con las fibras de colágeno.

La dermis está compuesta por el tejido conjuntivo, sirviendo de soporte a la epidermis; es aquí donde se encuentra una gran cantidad de fibras colágenas, las cuales se hacen mas espesas con la edad y por lo mismo su síntesis decrece. ( 3,17,18,19 y 29 ).

### II.- Colágeno en hueso

El hueso está compuesto de material intercelular calcificado, - la matriz del hueso y diferentes tipos de células.

La materia inorgánica está constituida por fibras colagenosas - (95%) y de sustancia fundamental amorfa, que contiene mucopolisacáridos neutros y ácidos asociados con proteínas.

La asociación de la hidroxapatita con fibras colágenas es responsable de la dureza y resistencia característica del hueso.

Después de que el hueso se descalcifica, su aspecto se conserva, pero adquiere la flexibilidad de un tendón, mientras que removiendo por incineración la parte orgánica de la matriz, que es básicamente

colágeno, el aspecto del hueso también se conserva pero se vuelve frágil y se rompe fácilmente al tocarlo. (3)

Como se mencionó entre cada fin e inicio de una molécula de tropocolágeno hay aproximadamente  $400 \text{ \AA}$ , es posible que estos espacios sean los sitios de nucleación para la fase mineral del hueso. (6)

### III.- Colágeno en dientes

El diente está compuesto de una porción no mineralizada ( la -- pulpa ) y tres porciones mineralizadas: el esmalte, dentina y cemento, las cuales son tejidos similares al hueso.

La pulpa consiste de un tejido conjuntivo compuesto de fibras - colágenas y sustancia fundamental conteniendo mucopolisacáridos ácidos. (3)

### IV.- Colágeno en ojo

La esclerótica y la conjuntiva son grandes estructuras de fibras colágenas y mucopoliproteínas.

La esclerótica contiene condroitin sulfatos y es opaca, porque las fibras de colágeno están entretejidas y laminadas, mientras que en la córnea transparente todas las fibras tienen una disposición paralela. (5)

## f) ENFERMEDADES RELACIONADAS CON EL COLÁGENO.

La importancia de la hidroxilación del colágeno es evidente en el escorbuto; el cual es causado por una dieta insuficiente de ácido ascórbico (vitamina C), el cual debe ser incluido en la dieta, ya que el ácido ascórbico es un agente reductor efectivo: mantiene a la prolil hidroxilasa en una forma activa, por mantener su átomo de hierro en el estado ferroso. En ausencia de ácido ascórbico el colágeno sintetizado es hidroxilado insuficientemente y por consiguiente tiene una baja  $T_m$ ; este colágeno anormal no puede formar fibras y entonces causa lesiones en la piel y vasos sanguíneos frágiles que son sintomáticos en el escorbuto. (6)

Otra enfermedad se origina por defectos en la conversión de la cadena precursora pro  $\alpha$  en cadenas  $\alpha_1$  y  $\alpha_2$ ; por ejemplo, los pacientes que sufren síndrome de Ehlers-Danlos tienen la piel distendida, articulaciones hipermóviles y son de baja estatura, estos pacientes tienen cantidades apreciables de procolágeno en extractos de piel y tendones, además sus fibroblastos tienen niveles decrementados de peptidasa de procolágeno. (7)

La dermatosparaxis es una enfermedad transmitida generalmente por el ganado vacuno y causada por la ausencia de peptidasa de procolágeno; la dermis del animal enfermo es muy frágil, porque contiene paquetes de colágeno desorganizado; una proporción apreciable de su colágeno demuestra que las cadenas han retenido el telopéptido. Esta enfermedad confirma que la escisión de las terminales es importante para la formación ordenada de fibras.

Una enfermedad relacionada con los enlaces entrecruzados es lathyrismo, una enfermedad causada por la ingestión de *lathyrus adoratus*, que es un chícharo dulce, el agente tóxico es  $\beta$  aminopropionitrilo que inhibe la transformación de la lisina en aldehído, como resultado el colágeno contenido es extremadamente -- frágil. (7)

Por una deficiencia en la lisil oxidasa, sólo se formarán -- unos pocos enlaces entrecruzados en la molécula de colágeno, -- pudiendo conducir a aumentar la destrucción de colágeno, ésto es lo que ocurre en el síndrome de Marfans.

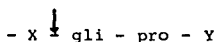
Se han observado enlaces entrecruzados defectuosos en la -- homocisteinuria debido a cantidades excesivas de homocisteína presente en el tejido conjuntivo. La homocisteína reacciona -- con el grupo aldehído, haciendo imposible la formación de enlaces entrecruzados.

En la enfermedad escleroderma, hay una cantidad excesiva del colágeno depositado en el tejido, debido a una deficiencia en -- el mecanismo regulador de su síntesis o a la destrucción defectuosa por parte de la colagenasa. (7)

## g) COLAGENASA

Una colagenasa es una enzima que hidroliza enlaces peptídicos - localizados en las regiones helicoidales características del colágeno. Las moléculas del mismo son de otro modo muy resistentes a la acción enzimática. Se conocen dos tipos de colagenasa:

1.- Colagenasa de origen microbiano, producida por ciertos microorganismos. Clostridium histolyticum, una bacteria que causa gangrena secreta una colagenasa que actúa sobre más de 200 sitios en cada una de las cadenas peptídicas. El enlace hidrolizado por esta enzima bacteriana es :



Esta enzima contribuye a la agresión de este clostridium altamente patógeno, por destrucción de las barreras del tejido conjuntivo del huésped.

2.- Colagenasa de tejido, ha sido encontrada en tejido anfibio y de mamífero bajo crecimiento o en reconstrucción. Esta actividad enzimática fué demostrada primero en la cola-aleta de renacuajos bajo metamorfosis. En ese tejido se reabsorben cantidades grandes de colágeno en el curso de unos cuantos días.

La actividad colagenolítica fué experimentada cultivando pequeños trozos de cola-aleta sobre un medio de colágeno fibroso, que es opaco, la formación de una zona clara en el transcurso de unas horas revela la presencia de un alto nivel de colagenasa.

También se encontró alta actividad enzimática en tejido de mamífero bajo rápida reorganización como en el útero preñado. (6)

En el hueso aparentemente existe una colagenasa que actúa sobre la matriz del hueso, que es secretada por los osteoclastos. Esta cola-

genasa es diferente de las otras dos y se cree que existe --  
porque en el tejido óseo en remodelación el número de osteo-  
clastos aumenta considerablemente. (3)

IMPORTANCIA DEL COLAGENO DESDE EL PUNTO DE VISTA COSMETICO.

## a) ENVEJECIMIENTO CUTANEO.

Algunos aspectos irreversibles de la apariencia de la piel que se observan en el curso del envejecimiento corresponden a las modificaciones en el contenido de macromoléculas en la dermis.

Mc Gavac y Tang Kao (30), estudiaron como varía el contenido de proteínas solubles y elastina con la edad del tejido conjuntivo de ratas y observaron :

- Una disminución de la concentración en proteínas solubles.
- Un aumento del colágeno total a expensas del colágeno soluble, el cual sufre una fuerte disminución, mientras que el colágeno insoluble aumenta progresivamente.

Esta evolución del producto colágeno soluble/ colágeno insoluble refleja según Bjorksten (31), un aumento progresivo en la abundancia de enlaces entrecruzados intermoleculares, lo cual significa:

- Una mayor resistencia a los agentes químicos y una disminución de la solubilidad del colágeno . (18,19)
- Una reducción de la capacidad de absorción de agua (32,33)
- Una rigidez estructural con pérdida de la elasticidad cutánea. (34)

En un estudio hecho por Bottoms y Shuster (14), encontraron que el colágeno soluble se pierde principalmente en la piel expuesta a la luz y el sol. Se sabe que la luz y el sol son ele--



mentos que aceleran los procesos de envejecimiento de la piel; estos investigadores demostraron que bajo luz ultravioleta el colágeno se sintetiza de la misma manera como aparece normalmente en pieles envejecidas. Determinaron que los enlaces entrecruzados intermoleculares de las fibrillas de colágeno aumentan en tejido irradiado, con el resultado de que el colágeno se hace insoluble y sobreviene la pérdida de elasticidad. ( 13,14,15 y 16 )

#### b) ACCION COSMETICA DEL COLAGENO

La absorción del colágeno no desnaturalizado es difícil de considerar si se toman en cuenta sus dimensiones, la barrera epidermica juega en último caso un papel preponderante en el control de la penetración de las sustancias exógenas.

Los trabajos de Nagelschmidt y Struck (52) confirman la no penetración del colágeno soluble, los cuales realizaron un experimento en piel de cobayo con un colágeno radiactivo marcado en la prolina con  $^{14}\text{C}$  y los resultados muestran que la penetración dérmica de esta macromolécula es virtualmente cero.

Todo lo anterior indica que la acción del colágeno es más superficial contribuyendo a mejorar la hidratación del estrato córneo, o sea que la principal función del colágeno en preparaciones cosméticas es su gran eficiencia para la retención del agua y por lo tanto mejora de la humectación de la piel, ya que al madurar la proteína y formar enlaces entrecruzados disminuye la capacidad de retención de agua y esto se manifiesta en la forma de piel seca y árida, originándose de este modo las arrugas. (35)

Es importante subrayar que aunque la formación de enlaces entrecruzados está asociada al envejecimiento, la presencia de éstos son necesarios como se vió en la parte correspondiente a enfermedades relacionadas con el colágeno. Esto puede parecer paradójico si se confunde el concepto de "envejecimiento" o maduración de la protefina con el aspecto externo de la piel, que básicamente está dado por la humectación adecuada de la misma.

Al aplicar una crema conteniendo colágeno se forma una capa fina sobre la piel, y gracias a la estructura del colágeno se logra mantener una humectación adecuada, con la consiguiente mejora en el aspecto y suavidad de la piel, esta capa presenta una gran resistencia que se debe a la estructura helicoidal de las cadenas - proteficas. (53)

Los trabajos de Cooperman (50) confirman la fijación del colágeno y sus hidrolizados sobre el estrato córneo, ya que muestra en una prueba realizada con callos humanos que al ser tratados con una crema conteniendo colágeno, el contenido de humedad aumentó.

En otra determinación Winkler (24) encontró que la superficie de la piel se suaviza por el colágeno; las líneas finas son suavizadas, establecido por el método de microscopía de sección luminosa, después de la aplicación de una crema con colágeno.

La funcionalidad de los capilares de la piel también mejora, - ello se ha establecido por determinación de la temperatura de la piel humana viva, después de la aplicación de una crema conteniendo colágeno. (25)

La acción hidratante del colágeno soluble está confirmada por los trabajos de Garber y Nightingale (42). Estos autores estudiaron la calidad de una piel testigo y de una piel tratada con colágeno, y observaron en el microscopio electrónico un barrido numeroso de células descamativas, observando una clara mejoría del aspecto de la piel después de aplicar colágeno. Estos investigadores atribuyen el efecto hidratante del colágeno a su capacidad de retención de agua.

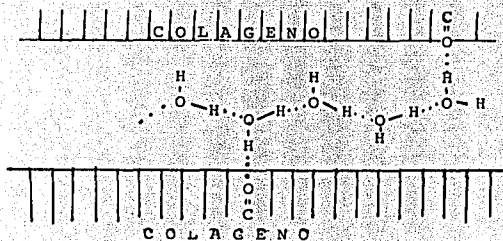
Las relaciones existentes entre el agua y el colágeno a nivel molecular son establecidas especialmente por Rougvie y Bear (43), mediante estudios de difracción de rayos X, y por Hoeve y Lue (44) por medida de las propiedades dieléctricas del agua absorbida en el colágeno.

Las moléculas de agua están ligadas entre ellas por puentes de hidrógeno, formando así largas cadenas en zig zag en el interior de su canal, formado por dos macromoléculas de colágeno, las cuales son enlazadas a nivel de los grupos peptídicos por puentes de hidrógeno. ( Figura NO. 6 )

Los trabajos de Riemschneider y Chik (45) y de Luscher (46), permiten afirmar que la fijación de agua se da a dos niveles:

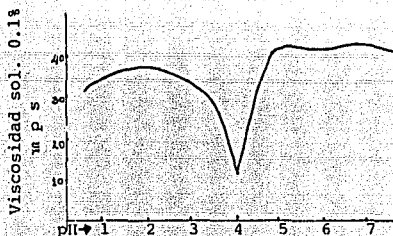
- A nivel de la estructura helicoidal.
- A nivel de las interfibrillas.

FIGURA NO. 6



Lloyd (47) muestra por otra parte que las fibras de colágeno obtienen su máxima captura de agua en medio ácido, acompañando - este fenómeno con un aumento en el volumen de anchura de las fibras y una disminución de su longitud, resultante de la presencia de sitios " cargados " en la cadena polipeptídica; de modo que - el grado de captura de agua depende del pH, el cual será cercano o superior a 5 , recomendado para obtener un efecto hidratante - máximo, (36) , ésto determinado por la medida de la viscosidad - de una solución al 0.1%, ya que la solubilidad y la viscosidad - están directamente relacionadas en este caso.

La gráfica siguiente muestra esta interacción:



A este pH se obtiene el mínimo valor de viscosidad, lo que indica que la humectación llegó a su máximo nivel.

Una viscosidad inferior a 10 se traduce en una modificación de la forma de la macromolécula. (36)

c) PREPARACIONES COMERCIALES DE COLÁGENO PARA USO COSMÉTICO.

La importancia del colágeno en el fenómeno de envejecimiento cutáneo ha llamado la atención de los cosmólogos, por consiguiente se han desarrollado numerosas preparaciones comerciales:

- Colágenos solubles
- Hidrolizados de colágeno
- Complejos polipeptídicos a base de colágeno

Los colágenos solubles:

Existen numerosas preparaciones comerciales de colágeno soluble que se encuentran prácticamente en todos los grandes mercados, incluyendo a México.

Algunas se presentan en forma ácido-soluble como el colágeno CLR de los laboratorios Richter ( extraída de la piel de animales jóvenes, el Collasol de la firma americana Croda, ( extraído de huesos de ternera ). Otros como el Collagenon, de la firma italiana Vevy, se presentan en forma neutra soluble.

Se utilizan clásicamente dos grandes métodos de extracción que originan el tipo colágeno ácido-soluble y el tipo colágeno neutro soluble. El colágeno ácido-soluble puede ser solubilizado por ácido acético diluido o por amortiguadores de citratos pH 3 a 4.5, y el colágeno neutro soluble puede ser extraído por una solución salina neutra. ( 35 )

La composición de aminoácidos de los colágenos solubles es característica.

Todd (36), hizo una comparación de colasol extraído de huesos de ternera, colágeno extraído de piel de becerro y colágeno extraído de granuloma de cobayo.

Nótese la cantidad de prolina e hidroxiprolina en la siguiente tabla:

TABLA NO. 3  
COMPOSICION EN AMINOACIDOS DE COLAGENOS SOLUBLES (36)

Aminoácidos	% de aminoácidos en :		
	Huesos de ternera	Piel de becerro	Granuloma de cobayo
Alanina	107.3	112	100.7
Glicina	310.3	330	324
Valina	22.9	19	20.5
Leucina	25.6	22	25.5
Isoleucina	11.9	11	11.8
Prolina	144.8	141	115.6
Fenilalanina	10.7	15	12.4
Tirosina	1.8	3	3.2
Serina	28.3	32	44.1
Treonina	15.2	16	20.2
Metionina	3.9	2	8.3
Arginina	46.5	47	51.6
Histidina	4.8	7	6.2
Lisina	27.7	29	25.8
Ac. glutámico	75.4	70	68.3
Hidroxiprolina	105.8	93	104.4
Hidroxisilina	8.3	10	8.8

Todd realizó igualmente el análisis fisicoquímico de los tres colágenos comerciales usados en cosméticos; collasol, colágeno - CLR y collagenon. El análisis químico de estas preparaciones demuestra las diferencias derivadas del pH ( tabla no. 4 ); el collasol y el colágeno CLR están a pH ácido, mientras que el collagenon esta a pH neutro. Este estudio muestra los respectivos contenidos en nitrógeno, en hidroxiprolina y en cenizas, y este análisis de la pureza química se complementa por un análisis físico, - ( medidas del poder rotatorio y de la viscosidad intrínseca ), - por lo cual se puede apreciar la integridad del colágeno. ( tabla no. 5 ). En lo que concierne a los poderes rotatorios, las tres preparaciones tienen un ángulo de polarización de alrededor de - 400° a 25° C e igualmente de -130° después de su desnaturalización, convirtiéndose en gelatina por la acción del calor, ( aprox. 42° C ), las viscosidades intrínsecas del collasol y del collagenon son muy cercanas a 12 .

Por los resultados encontrados Todd concluye que la estructura helicoidal se conserva y que hay una ausencia de estructuras desnaturalizadas. (36)

TABLA NO. 4  
ANALISIS QUIMICO DE LOS COLAGENOS SOLUBLES

ANALISIS	COLLASOL	COLAGENO CLR	COLLAGENON
pH	4.5	3.7	7.3
N <sub>2</sub>	0.72%	-	1.6%
Hidroxi- prolina.	0.46%	0.039%	2.46%
Cenizas	0.36%	1.14%	-

TABLA NO. 5  
ANALISIS FISICO DE LOS COLAGENOS SOLUBLES

ANALISIS	COLLASOL	COLAGENO CLR	COLLAGENON
Poder rotatorio $[\alpha]_D^{25}$	-367 a -394	-370 a -401	-380 a -408
$[\alpha]_D^{42}$	-135°	-130°	-120 a -136°
$\Delta[\alpha]_D$	-250	-260	-275
Viscosidad intrínseca 20°C	11.0-12.2	-	9 - 15



De los análisis realizados por Huc y Bartholin (37), sobre diferentes productos comerciales, se pudieron observar diferentes categorías de colágenos, que van desde colágenos nativos hasta colágenos más o menos desnaturalizados que presentan modificaciones en la estructura helicoidal y la masa molecular de las cadenas proteicas.

- Hidrolizados de colágeno

Además de los colágenos solubles se hallan los hidrolizados de colágeno igualmente ricos en glicina, prolina e hidroxiprolina. ( tabla no. 6 )

TABLA NO. 6

PORCIENTO DE AMINOACIDOS DE HIDROLIZADOS DE COLAGENO

AMINOACIDOS	HIDROLIZADOS g%	COLAGENO g%
Alanina	10.32	9.5
Glicina	27.10	26.2
Valina	2.34	3.4
Leucina-Isoleu.	4.65	5.6
Prolina	13.53	15.1
Fenilalanina	2.19	4.2
Tirosina	0.53	1.4
Treonina	1.79	2.4
Arginina	8.19	8.8
Histidina	0.68	0.8
Lisina	3.79	4.5
Ac. Aspártico	5.13	6.3
Ac. glutámico	10.09	11.3
Hidroxiprolina	11.10	14.0

Los hidrolizados de colágeno desarrollados para su uso en cosméticos son esencialmente de bajo peso molecular y consisten básicamente de cadenas cortas y sencillas formadas por polipéptidos cuyo número varía desde 10 hasta más de 300 unidades de aminoácidos. Estos hidrolizados son asequibles para aplicaciones cosméticas y se usan más en shampoos, acondicionadores y productos para el cuidado de la piel, ya que básicamente su acción es similar a la del colágeno intacto, formando capas retentivas de humedad en el cabello y en la piel (48, 49).

Estas versiones de peso molecular bajo activan los estratos cutáneos de la piel y se ha demostrado que causan proliferación celular (50).

Se pueden usar en mascarillas faciales utilizando la formación de capas retentivas de humedad, pueden incorporarse a productos para el cuidado y arreglo de las uñas, en lápices labiales, sombras y otros cosméticos hechos a base de ceras. (28)

También se pueden usar en depilatorios para disminuir los efectos severos e irritantes debido a su acción emoliente, en lociones y cualquier producto que involucre aplicación directa a la piel o cabello.

Existen numerosos reportes sobre la actividad cosmética de los hidrolizados de colágeno y están en variación de su peso molecular. Sin embargo la gelatina, que químicamente es colágeno hidrolizado, no ofrece la misma actividad.

Es importante esta aclaración porque con el término colágeno se designa una gran cantidad de sustancias como por ejemplo; colágeno insoluble, colágeno microcristalino, fibrilla y fibra de -- colágeno, colágeno ácido-soluble, tropocolágeno, etc.

Y aunque químicamente se refieren a una estructura bien definida no presentan las mismas características. (54)

#### d) PROPIEDADES DE LOS COLÁGENOS COMERCIALES

Las propiedades principales de los colágenos comerciales son - las siguientes:

El colágeno soluble es miscible con agua, pero no forma una - solución clara, es miscible con mezclas de agua alcohol, pero no forma soluciones claras, con altas concentraciones de alcohol el colágeno se desnaturaliza y precipita. Es insoluble en aceites y ceras (25).

Se debe almacenar a una temperatura entre 5 y 25 °C y protegerse de la luz; el oxígeno del aire no lo afecta, pero de todos modos se debe tener cuidado con los agentes de descomposición.

La experiencia ha demostrado que el colágeno tiene un tiempo de vida media de 9 meses a poco menos de un año. Los envases no deben ser expuestos a la luz directa, por lo que es recomendable que se almacene en la oscuridad. (26)

Por ser el colágeno una solución que se presenta en forma coloidal no se pueden manufacturar lociones acuosas claras con este -- agente, por sus propiedades de solubilidad. Se usa principalmente en la manufactura de cremas, emulsiones líquidas, etc. que pueden ser aceite en agua, donde el colágeno está contenido en la - fase externa de las preparaciones.

En la manufactura de productos emulsionados el colágeno se disuelve en la fase final del proceso, después de haberse realizado

la emulsión y además por ser termolábil, sólo puede ser adicionado a temperaturas menores a 35° C.

En vista de que la solubilidad-viscosidad del colágeno es mínima a pH 4, para lograr máximas propiedades humectantes las formulaciones que contengan colágeno deben tener un pH de alrededor de 5.0, y aunque se puede usar un amortiguador en la formulación, éste no es esencial.

El colágeno es prácticamente inodoro e incoloro y por tanto no afecta el color ni el olor del producto al que se quiera incorporar.

El colágeno no debe ser procesado con productos que posean -- propiedades de rompimiento de enlaces de hidrógeno como urea, cloruro de guanidina, etc. , ni con materiales capaces de precipitación proteica como ácido cloroacético, etc. o que causen formación de enlaces entrecruzados como formaldehído o preservativos capaces de liberar formaldehído.

Para su preservación es adecuado el uso de ácido parahidroxibenzoico con fenoxetol al 0.3% , y/o parahidroxibenzoatos. (25)

La determinación del contenido de colágeno en formulaciones cosméticas se da por la medición del contenido de hidroxiprolina, que da una medida directa del contenido de colágeno.

## e) OTRAS APLICACIONES DEL COLAGENO

Los hidrolizados de fibras de colágeno tienen gran uso como recubrientes; en alimentos y emulsiones, así como en preparaciones - cosméticas y farmacéuticas.

La gelatina tiene uso como gelante de alimentos, sus propiedades le dan gran valor en la manufactura de los mismos; es tal vez la - proteína animal más ampliamente usada como ingrediente en estos - productos. Se obtiene a partir del tejido conjuntivo de los huesos por medio de extracciones alcalinas sucesivas a temperaturas elevadas, seguidas de filtración, concentración y secado del extracto.

La característica mas importante de la gelatina es que forma geles termoreversibles a bajas concentraciones, lo que la hace de mucha utilidad en diferentes aplicaciones industriales. (12)

El cuadro siguiente muestra la diferencia entre colágeno y gelatina :

CUADRO NO. 4  
DIFERENCIA ENTRE COLAGENO Y GELATINA

PROPIEDAD	COLAGENO ACIDO-SOL.	GELATINA HIDROSOL.	COLAGENO ALC. SOL.
Rotación óptica	-380 a -408	- 120	-367 a -394
Viscosidad intrínseca	9 a 15 dl/mg	0.3 dl/mg	11 a 13 dl/mg
Temperatura desnaturación.	31 a 36 °C	-	31 a 36 °C
Ultracentrifugación	1.615	-	1.875

Otra aplicación del colágeno que ha ganado importancia desde - el punto de vista médico es su uso en inyección como cicatrizante de heridas, ya que en un experimento con cobayos la formación de una cicatriz dérmica va acompañada por un incremento en la síntesis de colágeno. (9)

También en las cicatrices acnéicas se ha usado en inyección subcutánea con el fin de eliminar dichas cicatrices. (58)

## CAPITULO V

PARTE EXPERIMENTAL

## a) FORMULACIONES

A pesar de encontrar que el uso del colágeno para aplicaciones cosméticas resulta benéfico de acuerdo a la revisión bibliográfica se decidió realizar una formulación para el cuidado de la piel -- conteniendo colágeno, en vista del poco soporte técnico existente, y evaluar los resultados obtenidos por métodos estadísticos; para lo cual se consultaron formulaciones típicas de cremas, escogiéndose - las dos que se detallan más adelante, por su gran contenido de agua que sirve para humectar la piel, haciendo más propicia la formulación para el cuidado de la piel, que es básicamente donde se utiliza el colágeno. Se formularon dos productos uno para usarse durante la noche y uno para usarse en el día ya que es la forma de aplicación que los consumidores prefieren y el presente estudio se llevo a cabo en personas que son consumidoras habituales de cremas.

El estudio se realizó en los laboratorios Christian Dior de México S.A.

CREMA NUTRITIVA DE NOCHE

## FASE A

Monoestearato de propilenglicol .....	1.5 %
Cera de abejas .....	1.5 %
Palmitato estearato de glicerilo .....	1.5 %
Lanolina .....	1.0 %

Parahidroxibenzoatos.....	0.01%
Escualeno .....	3.0%
Aceite mineral .....	3.5%
Acido esteárico .....	4.0%
Alcohol cetílico .....	1.0%
Alcohol estearílico .....	0.5%
Palmitato de cetilo .....	1.0%
Miristato de butilo .....	1.0%
Monoestearato de glicerol polioxietilado .....	1.0%
Aparte se mezclan: ( FASE B )	
Miristato de isopropilo .....	4.0%
Aceite de germen de trigo .....	1.0%
Palmitato de vitamina A .....	0.5%
Y se tiene a mano para agregar justo antes de la emulsión:	
trietanolamina .....	1.0%
En reactor aparte se calienta a ebullición	
Agua destilada .....	59.0%
A la que se le agrega	
Glicerina .....	3.5%
Propilen glicol .....	2.0%
Alantofina .....	0.3%
D Pantenol .....	0.3%
Se hace la emulsión, se homogeniza, se inicia el enfriamiento y a 70°C se agrega solución acuosa de polímero de ácido acrílico.	
Agua destilada .....	5.0%
Trietanolamina .....	1.0%
Se continúa el enfriamiento y a 30 °C se agrega colágeno...	
para concluir con la adición de perfume cuanto sea ( c.s )	1.0%



## CREMA DE DIA (base para maquillaje )

## FASE A:

Parahidroxibenzoatas .....	0.01%
Alcohol cetílico .....	0.5%
Alcohol estearílico .....	0.5%
Monoestearato palmitato de glicerol .....	1.0%
Acido esteárico .....	1.5%
Monoestearato de glicerol polioxietilado .....	1.5%
Aceite de lanolina .....	1.5%
Aceite mineral .....	3.0%
Aceite de almendras .....	2.0%
Aparte se mezclan:	
Miristato de isopropilo .....	3.0%
Aceite de germen de trigo .....	1.0%
Palmitato de vitamina A .....	0.5%

Justo antes de la emulsión se agrega

Trietanolamina .....	0.5%
----------------------	------

## FASE B:

Se calienta a ebullición agua destilada .....

65%
-----

A la que se añade

Glicerina .....	3.0%
Propilenglicol .....	2.0%
Alantofina .....	0.6%
D Pantenol .....	0.3%

Se hace la emulsión de B sobre A, se homogeniza y se enfría a 70°C

Se adiciona solución de polímero de ácido acrílico .....

1.0%
------

Agua destilada .....	105
Trietanolamina .....	0.5%

Se sigue enfriando y cerca de 30°C se agrega colágeno al 1% y se concluye con la adición de perfume cuanto sea.

Se debe mantener el producto ya solo con agitación de planetario durante una hora, para lograr un producto con viscosidad adecuada ( para llenarse en un tarro de boca ancha que invertido no caiga pero que, a la vez, no se sienta demasiado pesada.)

De ambos lotes se conservaron muestras como testigos que se mantuvieron en observación para realizar con ellas las pruebas de -- envejecimiento acelerado que la Secretaría de Salud exige para todo tipo de cosméticos, ya que permiten evaluar el comportamiento - del producto durante su vida de anaquel y de utilización.

**b) DISEÑO DEL EXPERIMENTO**

A los sujetos que participaron se les dijo que la aplicación del producto debería de ser aproximadamente cada doce horas ( en la mañana y en la noche ); se les dijo que evaluarían un nuevo producto a base de sustancias naturales sin decir cuales. Se les dió una -- dotación que duró aproximadamente un mes, renovándose hasta completar seis meses.

Al inicio del tratamiento se realizó una sesión en el salón de maquillaje donde se mostró objetivamente la forma ideal de aplicación de una crema facial. Se aclaró el termino absorción entendiendo que en la crema de noche aunque deje el rostro brillante, no debe dejar manchas grasosas en sábanas o almohadones, por lo que respecta a la crema de día esta debe absorberse en los hombres en su totalidad entre 1 y 2 minutos sin dejar un rostro brillante y para las mujeres la prueba es que al aplicarse el maquillaje éste no se debe de emplastar, ni dejar el rostro brillante.

Al finalizar el experimento se les dió un cuestionario para que fuera contestado individualmente.

Las personas que participaron en la evaluación del producto fueron seleccionadas por medio de una clasificación de tipos de piel realizada por una persona experimentada para evitar variabilidad en la selección.

Se tomaron 10 personas por cada tipo de piel y 5 de estos últimos siendo por tanto un total de 50 personas a evaluar el producto.

Los tipos de piel se clasificaron de la siguiente manera:

Tipo 1 ..... Pielles maduras sanas

Tipo 2 ..... Pielles maduras maltratadas

Tipo 3 ..... Pielles maduras secas y delicadas

Tipo 4 ..... Pielles jóvenes acnéicas

Tipo 5 ..... Pielles jóvenes sanas

El objeto de tener una clasificación con respecto al tipo de piel fue el tratar de establecer si existe alguna diferencia en el comportamiento de la crema con respecto a los diferentes tipos de piel por medio de comparaciones de los resultados obtenidos entre éstos; para lo cual se les entregó un cuestionario \* al terminar el tratamiento ( 6 meses ).

El tipo de cuestionario del experimento se basa en los planteamientos de análisis sensorial y más específicamente en las pruebas de preferencia-aceptación(55) (las cuales están basadas en la medida de la preferencia o una medición desde la cual la preferencia relativa puede ser determinada por medio de una calificación dada al cuestionario ), y la observación directa de la persona en la cual se está evaluando el producto; es posible pensar que en algunos -

\* El cuestionario y su explicación se encuentran en el anexo final.

casos estas personas tomen opinión de algún observador independiente que influya en su opinión personal, por lo que la calificación otorgada a las preguntas del cuestionario debe ser individual y no colectiva, por lo tanto la resolución del cuestionario se hizo separadamente y no hubo intercambio de comunicación.

Este tipo de pruebas basadas en el análisis sensorial deben ser controladas cuidadosamente, ya que por estar fundadas en la preferencia del participante son influenciadas a ciertos factores que pueden afectar el resultado del experimento.

Larmond (55) señala como factores importantes a controlar los siguientes, a los cuales ha llamado :

- a) expectación.- consiste en no dar ningún tipo de información sobre el producto a evaluar, ya que el saber algo puede afectar el resultado.
- b) simulación.- consiste en entregar el producto lo más homogéneamente posible siempre, ya que si hay variación puede influir en el juez ( denominación dada al participante que evalúa el producto ).
- c) sugestión.- no debe existir comunicación entre los diferentes participantes porque las reacciones de uno pueden influenciar a los otros.
- d) lógico.- consiste en asociar la información que se pueda deducir por un elemento extraño al producto como podría ser un color amarillento asociarlo con oxidación por ejemplo.
- e) motivación.- este factor es muy importante debido a que un --

juez es más eficiente siendo motivado, el interés de ellos se debe mantener constante y hacerlos sentir que su participación es importante, lo cual fué muy satisfactorio en el presente experimento ya que ninguna persona abandonó el tratamiento. Igualmente los anteriores factores se tomaron en cuenta para no incurrir en ellos.

Posteriormente se procedió a agrupar la información obtenida de los cuestionarios para tratarla estadísticamente .

Por lo que respecta a las preguntas no. 1 y 2 todos los jueces las calificaron de agradables ( aspecto y sensación al tacto ); - las preguntas 3 a la 7 se designaron de la siguiente manera:

- Absorción ..... I
- Untuosidad .... II
- Mejoria ..... III
- Tiempo de mejoría .. IV
- Influencia del tiempo..V

#### c), PARTE ESTADISTICA

Se plantea la hipótesis de que existe independencia en los tipos de piel y entre las respuestas o características a medir por medio de una tabla de contingencia, la cual se muestra mas adelante.

Y por medio del estadístico

$$\chi^2 = \frac{(d_{ij})^2}{E_{ij}}$$

donde:

- $E_{ij}$  son los valores esperados en la celda  $ij$
- $d_{ij}$  las diferencias entre  $O_{ij}$  y  $E_{ij}$
- $O_{ij}$  los valores observados en la celda  $ij$

$$E_{ij} = \frac{N_i}{N} \cdot N_j$$

donde:

$N_i$  es el valor de la sumatoria por renglón.  
 $N$  es el valor de la sumatoria total de  $N_i$   
 $N_j$  es el valor de la sumatoria por columna

cón grados de libertad = ( r-1 ) ( c-1 )

donde

r = tipos de piel

c = característica a medir

Se hace una comparación a los niveles de confianza de 95 y 99 % para rechazar la hipótesis propuesta; es decir que si  $\chi^2$  obtenida es mayor que  $0.95 \chi^2_{(4,4)}$  ó  $0.99 \chi^2_{(4,4)}$  se dice que es significativa o altamente significativa la prueba y se rechaza la hipótesis.

TABLA DE CONTINGENCIA

Tipo de piel	CARACTERÍSTICAS:				
	Absorción	Untuosidad	Mejoría	Tiempo de Mejoría	Influencia del tiempo
Maduros sanos	36	37	32	26	28
Maduros maltratados.	35	36	33	35	24
Maduros de piel seca y delicada	36	37	38	35	29
Jóvenes acnéicos.	33	32	25	25	27
Jóvenes sanos	36	36	18	17	15

Esta tabla contiene toda la información del experimento.

Los números son los totales a las respuestas o características a medir.

Hipótesis planteada: Existe independencia entre los tipos de piel y las características a medir.

$$\chi^2 = \frac{\sum (d_{ij})^2}{E_{ij}} = 13.4237$$

$$0.95 \chi^2_{(16)} = 26.3$$

13.42 < 26.3      No se puede rechazar la hipótesis.



Como las preguntas no están relacionadas se consideró por hipótesis la independencia entre ellas. ( El tipo de información bajo esta hipótesis fué considerado como subgrupos dentro de la experimentación por tener la información agrupada . )

Posteriormente se aplicó la prueba de Freedman que es una prueba no paramétrica de métodos con categorías, la cual es posible usar cuando se supone que la interacción carece de importancia. (56)

Esta prueba considera una asignación de rangos la cual le da una mejor estructura a la información obtenida en los cuestionarios al darle una repartición de valores de una forma más uniforme.

El estadístico de prueba es para  $K \geq 4$  y  $N \geq 10$

$$\chi^2 = \frac{12}{N(K)(K+1)} \sum_{j=1}^K T_j^2 - 3N(K+1)$$

donde:

N = número de grupos

K = número de categorías

T<sub>j</sub> = suma de rangos en los j grupos

El cual tiene una aproximación con una distribución  $\chi^2_{K-1}$ . (56)

La hipótesis de esta prueba es ver si el comportamiento de la característica a medir ( untuosidad, absorción, mejoría, etc. ) se comportó de manera similar para todos los tipos de piel.

La toma de decisión es :

si  $\chi^2$  obtenida  $>_{0.95} \chi^2_{(4)}$   $>_{0.99} \chi^2_{(4)}$  se rechaza la hipótesis.

La información recopilada aparece en el análisis adjunto.

PRUEBA DE FREEDMAN  
PARA LA CARACTERISTICA ABSORCION

Partículas	TIPOS DE PIEL									
	1		2		3		4		5	
	Valor	Rango	Valor	Rango	Valor	Rango	Valor	Rango	Valor	Rango
1	3	1.5	3	1.5	4	4	4	4	4	4
2	4	3	4	3	4	3	4	3	4	3
3	4	4	4	4	4	4	3	1.5	3	1.5
4	4	1.5	3	4	3	4	3	4	4	1.5
5	4	1.5	3	4	3	4	3	4	4	1.5
6	3	1	4	3.5	4	3.5	4	3.5	4	3.5
7	4	4.5	3	2	3	2	4	4.5	3	2
8	4	4	4	4	3	1.5	3	1.5	4	4
9	3	2	4	4.5	4	4.5	3	2	3	2
10	3	3	3	3	4	5	2	1	3	3

$$\chi^2 = \frac{12}{10(5)(6)} 457.5 - 3(10)(6)$$

$$= 3.02$$

$$0.95 \chi^2(4) = 9.49$$

$$0.99 \chi^2(4) = 13.3$$

$$3.02 < 9.49 < 13.3$$

TIPOS DE PIEL:

(MADUROS)

1.- SANOS

2.- MALTRATADOS

3.- SECA Y DELI-  
CADA.

(JOVENES)

4.- ACNEICOS

5.- SANOS

## PRUEBA DE FREEDMAN

## PARA LA CARACTERISTICA UNTUOSIDAD

Participantes	TIPOS DE PIEL									
	1		2		3		4		5	
	Valor	Rango	Valor	Rango	Valor	Rango	Valor	Rango	Valor	Rango
1	3	2	4	4.5	4	4.5	3	2	3	2
2	4	4	4	4	4	4	3	1.5	3	1.5
3	4	4	3	1.5	3	1.5	4	4	4	4
4	3	2	4	4.5	3	2	4	4.5	3	2
5	4	4	3	1.5	4	4	3	1.5	4	4
6	4	4	3	2	4	4	2	1	4	4
7	4	3.5	3	1	4	3.5	4	3.5	4	3.5
8	4	4	4	4	3	1.5	3	1.5	4	4
9	3	2	4	4.5	4	4.5	3	2	3	2
10	4	3.5	4	3.5	4	3.5	3	1	4	3.5

$$\chi^2 = \frac{12}{10(5)(6)} 457.5 - 3(10)(6) = 3.02$$

$$0.95 \chi^2_{(4)} = 9.49$$

$$0.99 \chi^2_{(4)} = 13.3$$

$$3.02 < 9.49 < 13.3$$

## PRUEBA DE FREEDMAN

PARA LA CARACTERISTICA MEJORIA

Participantes	TIPOS DE PIEL									
	1		2		3		4		5	
	Valor	Rango	Valor	Rango	Valor	Rango	Valor	Rango	Valor	Rango
1	4	4	4	4	4	4	3	2	2	1
2	4	4	4	4	4	4	2	1.5	2	1.5
3	3	3	3	3	4	5	3	3	2	1
4	3	4	2	2	3	4	3	4	1	1
5	3	4	2	2	4	5	2	2	2	2
6	3	3.5	3	3.5	4	5	2	1.5	2	1.5
7	4	4	4	4	4	4	3	2	2	1
8	3	4	3	4	3	4	2	1.5	2	1.5
9	3	2.5	4	4.5	4	4.5	3	2.5	1	1
10	2	2	4	4.5	4	4.5	2	2	2	2

$$\chi^2 = \frac{12}{10(5)(6)} 5087.5 - 3(10)(6) = 23.5$$

$$0.95 \chi^2(4) = 9.49$$

$$0.99 \chi^2(4) = 13.3$$

$$23.5 > 9.49 > 13.3$$

## PRUEBA DE FREEDMAN

PARA LA CARACTERISTICA TIEMPO DE MEJORIA

Participantes.	TIPOS DE PIEL									
	1		2		3		4		5	
	Valor	Rango	Valor	Rango	Valor	Rango	Valor	Rango	Valor	Rango
1	3	2.5	4	4.5	4	4.5	3	2.5	2	1
2	3	3.5	4	5	3	3.5	2	1.5	2	1.5
3	2	1.5	4	4.5	4	4.5	3	3	2	1.5
4	2	2.5	3	4.5	3	4.5	2	2.5	1	1
5	2	2	4	4.5	4	4.5	2	2	2	2
6	3	4.5	2	2	3	4.5	2	2	2	2
7	3	3	3	3	4	5	3	3	1	1
8	3	3	4	5	3	3	3	3	2	1
9	3	3.5	3	3.5	3	3.5	3	3.5	1	1
10	2	2	4	4.5	4	4.5	2	2	2	2

$$\chi^2 = \frac{12}{10(5)(6)} (4942 - 3(10)(6)) = 17.68$$

$$0.99\chi^2(4) = 13.3$$

$$0.95\chi^2(4) = 9.49$$

$$17.68 > 13.3 > 9.49$$

## PRUEBA DE FREEDMAN

PARA LA CARACTERISTICA INFLUENCIA DEL TIEMPO

Participantes:	TIPOS DE PIEL									
	1		2		3		4		5	
	Valor	Rango	Valor	Rango	Valor	Rango	Valor	Rango	Valor	Rango
1	3	3.5	3	3.5	3	3.5	3	3.5	1	1
2	3	4	2	1.5	3	4	3	4	2	1.5
3	3	4	2	1.5	3	4	3	4	2	1.5
4	3	4.5	2	2.5	2	2.5	3	4.5	1	1
5	3	3.5	3	3.5	4	5	2	2	1	1
6	2	3	1	1.5	3	4.5	3	4.5	1	1.5
7	2	2	2	2	3	4.5	3	4.5	2	2
8	3	4	3	4	3	4	2	1.5	2	1.5
9	3	4	2	2	3	4	3	4	1	1
10	3	4	4	5	2	2	2	2	2	2

$$\chi^2 = \frac{12}{10(5)(6)} 4891.5 - 3(10)(6) = 15.66$$

$$0.99\chi^2(4) = 13.3$$

$$0.95\chi^2(4) = 9.49$$

$$15.66 > 13.3 > 9.49$$

CUADRO RESUMEN DE LA PRUEBA DE FREEDMAN

CARACTERIS- TICA.	$\chi^2$ OBTENIDA	$0.95\chi^2$	$0.99\chi^2$	CONCLUSION
ABSORCION	3.02	9.49	13.3	NO SE RECHAZA HO.
UNTUOSIDAD	3.02	9.49	13.3	NO SE RECHAZA HO.
MEJORIA	23.5	9.49	13.3	SE RECHAZA HO.
TIEMPO DE MEJORIA	17.68	9.49	13.3	SE RECHAZA HO.
INFLUENCIA DEL TIEMPO	15.66	9.49	13.3	SE RECHAZA HO.

H0: El comportamiento de la característica a medir es igual para todos los tipos de piel.

Bajo el supuesto de que la asignación de rangos nos da una mejor idea de la calificación ( a causa de la tendencia de los encuestados a determinadas respuestas ) se maneja esta nueva escala la cual también es ordinal con la cual se calcula el cuadrado medio del error para la prueba de Scheffé de comparaciones múltiples para determinar el comportamiento de la crema en los diferentes tipos de piel; la intención de realizar estas comparaciones múltiples es que después de rechazar la hipótesis de que cada característica se comporta igual para todos los tipos de piel intentamos saber cuales son las que son diferentes en su comportamiento.

$$\text{Aplicando } A = \sqrt{\frac{2(t-1)}{r} F_{[(t-1), (rt-t)]}^{CM \text{ error}}}$$

donde:

t = número de tipos de piel

r = número de observaciones en cada tipo de piel

Para  $F_{(4,45)}^{0.95}$  y  $F_{(4,45)}^{0.99}$

La regla de decisión es :

Si  $|\bar{y}_i - \bar{y}_{i'}| >$  que el valor constante A obtenido para  $F_{[(t-1), (rt-t)]}$  entonces se rechaza la hipótesis  $t_i = t_{i'}$ , es decir la piel i es igual a la piel i'. ( 57 )

Aquí la hipótesis es la igualdad entre las parejas de tipos de piel a comparar, lo que nos arroja 10 comparaciones por cada característica o pregunta. Siguiendo este análisis llegamos a las discusiones:



Como las preguntas I y II no fueron rechazadas en la hipótesis de la prueba de Freedman, las comparaciones para la prueba de --- Scheffe se realizan a partir de la pregunta III.

PREGUNTA III MEJORIA

$T_1$  = piel madura sana

$T_2$  = piel madura maltratada

$T_3$  = piel madura seca y delicada

$T_4$  = piel joven acneica

$T_5$  = piel joven sana

Promedios de valores obtenidos:

$T_1 = 3.5$     $T_2 = 3.55$     $T_3 = 4.4$     $T_4 = 2.2$     $T_5 = 1.35$

Comparaciones de diferencias en valor absoluto:

$T_1 - T_5$		$F_{0.95}$	$F_{0.99}$
$3.5 - 1.35 = 2.15$	$>$	$0.9929$	$1.2028^{**}$
$T_1 - T_4$			
$3.5 - 2.2 = 1.3$	$>$	$0.9929$	$1.2028^{**}$
$T_1 - T_3$			
$3.5 - 4.4 = 0.9$	$<$	$0.9929$	$1.2028$
$T_1 - T_2$			
$3.5 - 3.55 = 0.05$	$<$	$0.9929$	$1.2028$

Encontramos una diferencia altamente significativa entre la piel madura sana y las pieles jóvenes; mientras que las pieles maduras - entre sí no tuvieron diferencia.

\* ( Diferencia significativa )

\*\* ( Diferencia altamente significativa )

	F <sup>0.95</sup>	F <sup>0.99</sup>
$T_2 - T_5$		
$3.55 - 1.35 = 2.2 >$	$0.9929 >$	$1.2028^{**}$
$T_2 - T_4$		
$3.55 - 2.2 = 1.35 >$	$0.9929 >$	$1.2028^{**}$
$T_2 - T_3$		
$3.55 - 4.4 = 0.85 <$	$0.9929 <$	$1.2028$

Encontramos una diferencia altamente significativa entre la piel madura maltratada y las pieles jóvenes; nuevamente no hubo diferencia entre las pieles maduras.

	F <sup>0.95</sup>	F <sup>0.99</sup>
$T_3 - T_5$		
$4.4 - 1.35 = 3.05 >$	$0.9929 >$	$1.2028^{**}$
$T_3 - T_4$		
$4.4 - 2.2 = 2.2 >$	$0.9929 >$	$1.2028^{**}$

Encontramos que la piel madura seca y delicada tuvo también una diferencia altamente significativa con respecto a las pieles jóvenes.

	F <sup>0.95</sup>	F <sup>0.99</sup>
$T_4 - T_5$		
$2.2 - 1.35 = 0.85 <$	$0.9929 <$	$1.2028$

No hubo diferencia entre las pieles jóvenes.

Discusión : podemos apreciar una diferencia de pieles maduras con respecto a las jóvenes, no así entre las maduras, ni entre las jóvenes, lo cual era de esperarse al considerar la característica mejoría.

## PREGUNTA IV TIEMPO DE MEJORIA

$T_1$  = piel madura sana

$T_2$  = piel madura maltratada

$T_3$  = piel madura seca y delicada

$T_4$  = piel joven acneica

$T_5$  = piel joven sana

Promedios de valores obtenidos:

$T_1=2.6$     $T_2=4.1$     $T_3=4.2$     $T_4=2.1$     $T_5=1.4$

Comparaciones de las diferencias en valor absoluto:

$T_1 - T_5$		$F^{0.95}$		$F^{0.99}$
$2.6-1.4 = 1.2$	<	1.2797	<	2.4034

$T_1 - T_4$		$F^{0.95}$		$F^{0.99}$
$2.6-2.1 = 0.5$	<	1.2797	<	2.4034

$T_1 - T_3$		$F^{0.95}$		$F^{0.99}$
$2.6-4.2 = 1.6$	>	1.2797	<	2.4034 *

$T_1 - T_2$		$F^{0.95}$		$F^{0.99}$
$2.6-4.1 = 1.5$	>	1.2797	<	2.4034 *

Hubo una diferencia significativa entre la piel madura sana y la piel madura seca y delicada, e igualmente con la piel madura maltratada; mientras que con las pieles jóvenes no hubo diferencia.

$T_2 - T_5$		$F^{0.95}$		$F^{0.99}$
$4.1-1.4 = 2.7$	>	1.2797	>	2.4034 **

$T_2 - T_4$		$F^{0.95}$		$F^{0.99}$
$4.1-2.1 = 2$	>	1.2797	<	2.4034 *

$T_2 - T_3$		$F^{0.95}$		$F^{0.99}$
$4.1-4.2 = 0.1$	<	1.2797	<	2.4034

En este caso hubo una diferencia altamente significativa entre la piel madura maltratada y la joven sana, y una diferencia significativa con la piel joven acneica, mientras que no la hubo con la piel madura seca y delicada.

$T_3 - T_5$		$F^{0.95}$		$F^{0.99}$
$4.2-1.4 = 2.8$	$>$	1.2797	$>$	2.4034 **
$T_3 - T_4 = 2.1$	$>$	1.2797	$<$	2.4034 *

Hubo una diferencia significativa entre la piel madura seca y - delicada y la piel joven acneica, y una diferencia altamente significativa con la piel joven sana.

$T_4 - T_5$		$F^{0.95}$		$F^{0.99}$
$2.1-1.4 = 0.7$	$<$	1.2797	$<$	2.4034

No hubo diferencia entre las pieles jóvenes.

Discusión; las diferencias fueron muy heterogéneas, indicando que dependiendo del estado de humectación de las pieles se mejoró en un tiempo más o menos largo, sin depender del tipo de piel.

## PREGUNTA V INFLUENCIA DEL TIEMPO

$T_1$  = piel madura sana

$T_2$  = piel madura maltratada

$T_3$  = piel madura seca y delicada

$T_4$  = piel joven acneica

$T_5$  = piel joven sana

Promedios de valores obtenidos:

$T_1=3.65$     $T_2=2.7$     $T_3=3.8$     $T_4=3.45$     $T_5=1.4$

Comparaciones de diferencias en valor absoluto:

$T_1 - T_5$                        $F^{0.95}$                        $F^{0.99}$   
 $3.65-1.4 = 2.25 > 1.3512 < 2.6791^*$

$T_1 - T_4$   
 $3.65-3.45 = 0.2 < 1.3512 < 2.6791$

$T_1 - T_3$   
 $3.65-3.8 = 0.15 < 1.3512 < 2.6791$

$T_1 - T_2$   
 $3.65-2.7 = 0.96 < 1.3512 < 2.6791$

Solamente hubo diferencia significativa entre la piel madura - sana y la piel joven sana.

$T_2 - T_5$                        $F^{0.95}$                        $F^{0.99}$   
 $2.7-1.4 = 1.3 < 1.3512 < 2.6791$

$T_2 - T_4$   
 $2.7-3.45 = 0.75 < 1.3512 < 2.6791$

$$T_2 - T_3 \quad F^{0.95} \quad F^{0.99}$$

$$2.7-3.8 = 1.1 < 1.3512 < 2.6791$$

No hubo ninguna diferencia entre la piel madura maltratada con las pieles jóvenes ni con la piel madura seca y delicada.

$$T_3 - T_5 \quad F^{0.95} \quad F^{0.99}$$

$$3.8-1.4 = 2.4 > 1.3512 < 2.6791 *$$

$$T_3 - T_4 = 0.35 < 1.3512 < 2.6791$$

Hubo diferencia significativa entre la piel madura seca y delicada y la piel joven sana unicamente.

$$T_4 - T_5 \quad F^{0.95} \quad F^{0.99}$$

$$3.45-1.4 = 2.05 > 1.3512 < 2.6791 *$$

Hubo diferencia significativa entre la piel joven acneica y la piel joven sana.

Discusión ; la influencia del tiempo sobre la mejoría obtenida se noto solamente entre la piel madura sana y la piel joven sana y entre la piel madura seca y delicada y la piel joven sana, lo que indica que hay una tendencia a mejorar con el tiempo en las pieles maduras.

Las cremas guardadas como testigos se dividieron en dos grupos, cinco se quedaron como referencia y cinco se metieron a calentamiento en una estufa a 45 °C por espacio de 15 días. Terminado este plazo se compararon con las originales y se hicieron las siguientes determinaciones :

	ANTES	DESPUES
Aspecto	Crema blanca, brillante ligeramente untuosa, que se esparce fácilmente dejando una ligera capa sobre la piel que se absorbe rápidamente.	No hay cambio
Olor	Conforme a estándar ( ligeramente floral )	No hay cambio, no hubo aparición de olores rancios.
Apariencia	La superficie es lisa, sin burbujas de aire.	La superficie se aprecia lisa, sin gotas de agua o aceite.
Peso	Tara del producto lleno superando el contenido neto que se declararía en la etiqueta, mas el peso del tarro, disco cubrecrema y tapa.	El peso no varió ni en 0.1%, lo que indicó que el sellado del producto es perfecto y no hay evaporación.
Contenido de sólidos	Evaporación durante 24 h a 100 °C.	El porcentaje no varió ni en 0.2 %.

Como se aprecia en lo anterior, no hubo alteración notoria entre las cremas, las cuales se mantuvieron cerradas y protegidas de la luz, mientras que una se dejó abierta durante el tiempo de la prueba de envejecimiento ( 15 días ). Al finalizar se encontró con que estaba amarillenta debido al contacto con el aire lo que provoca mayor oxidación, además como se evaporó algo del perfume la crema adquirió un olor ligeramente rancio, que no indicaba que la crema estuviera descompuesta ( se observó al microscopio y la emulsión no se había roto ), sino que esta desaparición había hecho aflorar los olores de las grasas constituyentes, los cuales no son siempre agradables. El análisis microbiológico demostró una contaminación debida a el tiempo que permaneció abierta.

En cuanto a las cremas de prueba se realizó el análisis microbiológico antes y después encontrándose en ambos casos menos de 10 col./g.

En el caso de las que se metieron a la estufa a calentamiento a  $-45^{\circ}\text{C}$  el resultado nos indica que los conservadores sí están actuando.

En este aspecto microbiológico cabe aclarar que aunque la Secretaría de Salud autoriza hasta 1000 col./g, cada laboratorio fabricante tiene diferentes niveles de contaminación aceptable, los cuales son frecuentes en menos de 200 col./g



## CAPITULO VI

CONCLUSIONES

Con respecto a las características Absorción y Untuosidad ( I y II respectivamente ), estas se comportaron igual con los diferentes tipos de piel, lo cual era de esperarse ya que las respuestas están en función de los conceptos explicados acerca de las mismas y corresponden básicamente a la aceptación del producto como tal.

Mientras que las características restantes no se comportaron igual con los diferentes tipos de piel, por lo que se procedió a determinar entre que tipos de piel estuvo la diferencia y se -- encontró lo siguiente:

Característica III - Mejoría: se encontró una diferencia entre - las pieles de tipo maduro y las jóvenes, lo que demuestra que el - producto si tuvo un efecto cosmético en las pieles maduras.

Característica IV - Tiempo de Mejoría: las diferencias fueron - muy heterogéneas lo que demuestra que el tiempo de mejoría depende del grado de humectación que tenga la piel, independientemente del tipo a que pertenezca.

Característica V - Influencia del tiempo sobre la mejoría obser- vada; nos dice que son las pieles maduras nuevamente las que obtie- nen mejores resultados, confirmando su efecto cosmético.

Se puede decir que si una piel recibe desde un principio una - dosis adecuada de elementos emolientes y humectantes reducirá o amortiguará los efectos del tiempo, pero sin lograr evitarlos en su totalidad. Los productos conteniendo colágeno poseen esos -

elementos de ayuda, sin embargo como se mencionó anteriormente los cosmetólogos siguen buscando elementos novedosos que logren detener los efectos del tiempo, principalmente a base de compuestos de naturaleza bioquímica.

## CUESTIONARIO

=====

1.- Aspecto de la crema

Agradable		Regular	Malo
-----------	--	---------	------

2.- Sensación al tacto

Agradable		Regular	Mala
-----------	--	---------	------

3.- Absorción

Muy buena	Buena	Regular	Mala
-----------	-------	---------	------

4.- Untuosidad

Muy buena	Buena	Regular	Mala
-----------	-------	---------	------

5.- Al aplicar la crema notó mejoría

Muy buena	Buena	Regular	Nada
-----------	-------	---------	------

6.- Si notó mejoría en cuanto tiempo

1 semana	2 semanas	1 mes	más de 1 mes
----------	-----------	-------	--------------

7.- Al seguir usando la crema, se apreciaron efectos positivos mayores con el tiempo. ( conteste solo en el caso de que la respuesta a la pregunta 5 haya sido afirmativa. )

Muy buenos	Buenos	Regulares	Ninguno
------------	--------	-----------	---------

8.- ¿ Noto efectos irritantes ?, especiffiquelos

9.- Si suspendió el tratamiento, ¿ se conserva la mejoría lograda ?

Use las siguientes columnas para las preguntas 8 y/o 9 aclarando de cual se trata.

-----  
 -----  
 -----  
 -----

En el cuestionario las preguntas se calificaron de acuerdo a una escala ordinal correspondiendo a:

Muy buena .....4

Buena .....3

Regular .....2

Mala o nada .....1

En el tiempo de mejoría equivale a:

1 semana ..... 4

2 semanas ..... 3

1 mes ..... 2

mas de 1 mes ..... 1

La información recopilada de estos cuestionarios aparece con el análisis de la prueba de Freedman.

## CAPITULO VII

BIBLIOGRAFIA

- 1.- Harper Harold A.  
Manual de Química Fisiológica  
Editorial el Manual Moderno 5a. Edición  
México, D.F. 1976
- 2.- Bohinski Robert C.  
Modern concepts in Biochemistry  
Editorial Allyn and Bacon Inc. 3a. Edición
- 3.- Junqueira L.G., Carneiro J., Contopoulos A.  
Basic Histology  
Lange Medical publications 2a. Edición  
Canada 1977
- 4.- Enciclopedia de la ciencia y de la técnica  
Editorial Danae
- 5.- White Abraham, Handler Philip, Smith Emil.  
Principles of Biochemistry  
Editorial Mc Graw-Hill Book company 4a. Edición
- 6.- Stryer Lubert  
Biochemistry  
Editorial Freeman and Company 2a. Edición  
U.S.A. 1981
- 7.- Bhagavan N. V.  
Biochemistry A Comprehensive review  
Editorial J. Lippincott Company  
1974
- 8.- Meister Alton  
Biochemistry of the aminoacids  
Editorial Academia Press Inc. Publishers  
New York 1957
- 9.- Bornstein Paul  
Estructurally distinct collagen types.  
Annual Review Biochemistry 49, (1980) 957  
Annual Reviews Inc.  
U.S.A.

- 10.- Yudkin Michael, Offord Robin  
Comprehensible Biochemistry  
Editorial Longman 1a. Edición  
Great Britain 1973
- 11.- Fessler John  
Biosynthesis of Procollagen  
Annual Review of Biochemistry 47, (1978) 129  
Annual Reviews Inc.
- 12.- Badui Bergal Salvador  
Química de los Alimentos  
Editorial Alhambra Mexicana 2a. Edición  
1982
- 13.- Bottoms, E., Cater, C.W. and Shuster, S.  
Effect of Ultra-violet Irradation on Skin Collagen  
Nature 211 (1966) 97
- 14.- Bottoms, E. and Shuster, S.  
Effect of Ultra-violet light on skin Collagen  
Nature 199 (1963) 192
- 15.- Shuster, S. and Bottoms, E.  
Senile Degeneration of skin Collagen  
Clin. Sc. 25 (1963) 487
- 16.- Shuster, S. and Bottoms, e.  
Effect of Ultra-violet Radation on skin Collagen  
of intact Living mice.  
Nature 214 (1967) 599
- 17.- Flesh, P.  
Some Chemicals Aspects of Aging Skin.  
Toilet Goods Assoc. 41 (1964) 23
- 18.- Hill, F.  
The Solubility of intramuscular Collagen in Meat  
Animals of Various Ages.  
J. Food Sci. 31 (1966) 161
- 19.- La Bella, F.S. and Paul, G.  
Structure of Collagen from Human Tendon as Influenced  
by Age and Sex.  
J. Geront. 20 (1965) 54
- 20.- Struck, H. Schink, W. Hernández-Richter, J. and Moll, W.  
Eine Apparatur zur Bestimmung der Wundfestigkeit in vivo.  
Z. ges. exp. Med. 142 (1967) 87

- 21.- Kment, A. Leibetseder, J. and Summer, E.  
Weitere versuche zur tiereezperimenteller Objektivierung  
des Revitalisierungs effektes nach Zellinjektionen  
Therapiewoche 11 (1962) 419
- 22.-Hernández-Richter, J. and Struck, H.  
Experimentelle Untersuchungen über die Beeinflussung  
der Wundheilung durch lösliches Kollagen  
Münch med. Wschr. 106 (1964) 310
- 23.- Hernández-Richter, H. J. and Struck, H.  
Nevere Probleme der Wundheilung.  
Internat. Surgery 48 (1967) 385
- 24.- Winkler, A and Wagener, N.H.  
Untersuchungsergebnisse mit dem  
Dermatometer nach Bingmer  
Fette, Seife, Anstrichmittel 70 (1968) 895
- 25.- Dr. Richter  
Soluble collagen vs insoluble collagen  
Information no. 328  
Collagen CLR Berlin
- 27.- Dereck, F. Parrish  
Difference between soluble collagen and hydrolysed  
collagen ( gelatin ) proteins  
Cosmetic and Toiletries. 93 (1978)
- 28.- Geoffrey Brooks  
Collagen and its applications  
Cosmetic. Technology 5 (1981)
- 29.- Orekhovich, V.N. et al.,  
Soluble Collagens  
Biochemistry, 13 (1948) 55
- 30.- Mc Gavack T.H. , K. Y. Kao  
The influence of age and sex on the soluble collagen,  
insoluble collagen and elastin of rat tissues.  
Exp-med. surg. 18 (1960) 104
- 31.- Bjorksten J. .  
The crosslinkage theory of aging  
J. Amer. Geriat. Soc. 16 (1960) 408

- 32.- Banfield W. G.  
Age changes in the swelling capacity of the human Achilles tendon.  
J. Geront. 11 ( 1956 ) 372
- 33.- Kohn R. , E. Rollerson  
Relationship of age to swelling properties of human diaphragm tendon in acid and alkaline solutions.  
J. Geront. 13 ( 1958 ) 421
- 34.- Kment A. Leibetseder J. , E. Summer  
Weitere versuche zur tierexperimentellen objektivierung des Revitalisierungseffektes nach Zellinjektionen.  
Therapiewoche 11 ( 1962 ) 419
- 35.- Pinon Christine  
Intéree du collagène en cosmétologie  
Labo-Pharma Probl. tech. 26 ( 1978 ) 299
- 36.- Todd R. D. , L. I. Biol.  
Drug Cosmet. Ind. 117 (1975) 50
- 37.- Huc A. , Bartholin  
Congres de Dermocosmetologia de Lyon Janvier 1977  
( citado en referencia no. 35 )
- 38.- Benfer J. Z.  
Accelerated healing of a fracture through soluble collagen.  
Klin chem. Klin Biochem. 9 ( 1971 ) 86
- 39.- Benfer J. , H. Struck  
Förderung der Frakturheilung durch lokale Kollagenapplikation.  
Dtsch. med Wochenschr. 97 ( 1972 ) 523
- 40.- Benfer J. , H. Struck  
Experimental Studies on fracture healing  
Arch. Surg. 106 ( 1973 ) 838
- 41.- Chvapil M. Kronenthal R.L.  
Medical and Surgical applications of collagen.  
International Review of connective tissue research.  
Ed. by Hall D. A., Tackson D. S. Academic. Press, N. Y.  
6 (1973) 1
- 42.- Garber C.A., C.T. Nightingale  
Characterizing cosmetic effects and skin morphology by scanning electron microscopy.  
J. Soc. Cosmet. Chem. 27, 509-531
- 43.- Rougvie M.A. and R.S. Bear  
An x-ray diffraction investigation of swelling by Collagen.  
J. Amer leather chemists assoc. 48 (1953) 735



- 44.- Hoeve C.A. , P. C. Lue  
Biopolymers 13, ( 1974 ) 1961
- 45.- Riemschneider R. , W. H. Chick  
Riechst, Aromen Kosmet 7 (1977) 171  
( citado en referencia no. 35 )
- 46.- Lüscher M. , Giovanoli R, P. Hirter.  
Untersuchungen der hydratation von collagen sorptionsmessungen  
und Röntgenwetwinkeldiffraktion an tropocollagen.  
Chimia, 27, (1973) 112
- 47.- Lloyd D. J. Marriot E.H., W.B. Pleass  
The swelling of collagen  
Trans. Faraday soc. 29 (1933) 554
- 48.- Karjala S.S. Williamson J. , A. Karler  
Studies on the substantivity of collagen-derived polypeptides  
to human hair.  
J. Soc. Cosmet. Chem. 17 (1966) 513
- 49.- Karjala.S. , F.T. Bouthilet, J.E. Williamson  
Some factors effecting the substantivity of proteins to hair.  
Proc. Sci. Soc. Toilet Goods Ass. 43 ( 1966) 6
- 50.- Cooperman E.S.  
Protein hydrolysates as skin moisturizers.  
Am. Cosmet. Perfum. 87 (1972) 65
- 51.- Bowes J.H. y col.  
The aminoacid composition and titration curve of collagen.  
Biochem J. 41 (1948) 358
- 52.- Nageschmidt N. ,H. Struck  
Kollagen als cosmeticum ?  
Arch. Derm. Forsch. 250 (1974) 237
- 53.- A. Huc  
Le collagène: propriétés mécaniques des films et thermostabi-  
lité de la molécule.  
Labo-pharma problemes et techniques 26 (1978) 307
- 54.- G. F. Secchi  
Il controllo e la classificazione dei derivati proteici  
per uso cosmetico  
Prodotto Chimico 2 (1985) 20
- 55.- Elizabeth Larmond  
Laboratory methods for sensory evaluation of food  
Research Branch  
Canada department of agriculture 1977

- 56.- Blalock Hubert M.  
Estatística social pág. 367  
Fondo de cultura económica 1960
- 57.- Ostle B.  
Estatística aplicada pág. 345  
Editorial Limusa 1963
- 58.- C.K. Varnavides, R.A. Forster  
The role of bovine collagen in the treatment of acne scars.  
British journal of Dermatology 116 (1987) 199