



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE QUÍMICA

“EVALUACIÓN FÍSICOQUÍMICA Y MICROBIOLÓGICA
DE JABONES HECHOS DE PRODUCTOS NATURALES:
KIWI (*Actinidia chinensis*), AMARANTO (*Papaver roheas L.*)
Y AVENA (*Avena sativa L.*)”

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO

P R E S E N T A :

CARLOS GUILLERMO SÁNCHEZ FIGUEROA



MÉXICO D.F.

2004



EXAMENES PROFESIONALES
FACULTAD DE QUÍMICA



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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 esta 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.

ESTA TESIS NO SALE
DE LA BIBLIOTECA



JURADO ASIGNADO

PROFESORES

Presidente	Prof. Ma Elsa Escudero García
Vocal	Prof. Carolina Muños Padilla
Secretario	Prof. Ruth Bustamante García
1º suplente	Prof. Maria Josefa Bernard Bernard
2º suplente	Prof. Raul Lugo Villegas

Sitio en donde se desarrollo el tema:

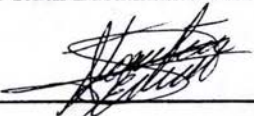
Este trabajo se realizo en el Bioterio 4º Piso Edificio "A" y en la sección de Farmacología, Laboratorio 1-E de la Facultad de Química, Ciudad Universitaria.

Asesor del Tema



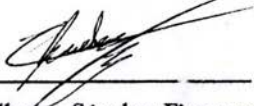
Q.F.B Ruth Bestamante García

Supervisor Técnico



M.V.Z. Atonatiu Edmundo Gómez Martínez

Sustentante



Carlos Guillermo Sánchez Figueroa

Autorizo a la Direccion General de Bibliotecas de la UNAM a difundir en formato electronico e impreso el contenido de mi trabajo recepcional.

NOMBRE: Carlos Guillermo

Sánchez Figueroa

FECHA: 25 de Junio de 2009

FIRMA: 





CONTENIDO

INDICE

1. INTRODUCCIÓN.....	1
2. ANTECEDENTES.....	2
2.1 Definición de Cosmético.....	2
2.2 Definición de Jabón.....	2
2.2.1 Acción detergente debido a las sales de Na y K de ácidos grasos.....	4
2.2.2 Tipos de jabón.....	4
2.2.3 Componentes químicos de los jabones.....	5
2.3 Productos Naturales utilizados en la fabricación de Jabones.....	6
2.3.1 Avena	6
2.3.2 Kiwi	7
2.3.3 Amaranto.....	10
2.4 Características de la piel	12
2.4.1 La Piel	12
2.4.1.1 Estructura de la piel	12
2.4.1.2 Mecanismo de irritación y alergia en piel debido a cosméticos.....	14
2.4.1.3 Alergenos encontrados en cosméticos.....	15
2.4.1.4 Agentes irritantes encontrados en cosméticos	16
2.4.1.5 Penetración de cosméticos	17
2.5 Pruebas basadas en Normas Oficiales Mexicanas	19
2.5.1 NOM-039	19
2.5.2 NOM-089	20
2.6 Monitoreo de pH	21
2.6.1 Definición de pH	21
2.6.2 Fundamento de la prueba	21
2.6.3 Importancia del pH en los jabones de producto natural	22
2.6.4 ICH	22
2.6.5 Control de las condiciones de almacenamiento	23





3. OBJETIVO GENERAL	24
4. HIPÓTESIS	24
5. MATERIAL Y MÉTODOS	25
6. RESULTADOS	34
7. ANÁLISIS DE RESULTADOS	43
8. CONCLUSIONES	47
9. ANEXOS	48
10. BIBLIOGRAFÍA	53



**ABREVIATURAS**

Am:	Amaranto
ANOVA:	Análisis de Varianza
AST:	agar soya tripticaseína
AS:	agar Saboraud
Av:	Avena
CDS:	Caldo dextrosa Saboraud
CST:	Caldo soya tripticaseína
<i>F_{Calc.}</i> :	Distribución <i>F</i> de Fischer calculado
<i>F_{Teo.}</i> :	Distribución <i>F</i> de Fischer teórico
FD&C :	Ley Federal de Alimentos, Drogas y Cosméticos
<i>H₀</i> :	Hipótesis nula
ICH:	Conferencia Internacional de Armonización
IIP :	Índice de irritación primaria
Kg:	kilogramo
Kw:	Kiwi
LGS :	Ley General de Salud
µoos:	Microorganismos
NOM:	Norma Oficial Mexicana
OMS:	Organización Mundial de la Salud
ppm:	partes por millón
p/v:	relación peso - volumen
SSA:	Secretaría de Salud
SSI:	solución salina isotónica
TEWL:	Pérdida de agua transepidermal
UFC:	Unidades Formadoras de Colonias





1. INTRODUCCIÓN.

En los últimos años los productos de origen natural han ganado importancia en el gusto del consumidor. No solo han tenido éxito al usarse como complementos alimenticios o bien con fines terapéuticos; sino también en la industria cosmética. En la elaboración de jabones, acondicionadores y mascarillas, se emplea a gran escala estos productos naturales. En el caso de los jabones, estos presentan una mayor facilidad para incorporar a la formulación los productos de origen natural, además de tener un proceso más sencillo en su fabricación y un menor costo en su producción.

A pesar del gran uso de los cosméticos, toda la normatividad existente alrededor de estos productos suele no ser tan estricta como la aplicada a los productos farmacéuticos. Además, estas normas no se aplican en muchos casos de forma estricta.

El problema principal es que muchos de estos productos cosméticos no cumplen con los estudios que puedan sustentar su seguridad y calidad, lo cual puede desembocar en un efecto negativo en la salud del consumidor. Sin embargo, en nuestro país se cuenta con un conjunto de normas que especifican las pruebas a realizarse; estas incluyen pruebas de irritación y sensibilidad *in vivo* e *in vitro*, así como pruebas microbiológicas. Por otro lado, para realizar pruebas fisicoquímicas a los productos cosméticos (monitoreo de pH), no existe en nuestro país una norma que establezca las condiciones necesarias bajo las cuales puedan llevarse a cabo estos estudios. Condiciones como temperatura, % de humedad y tiempo de almacenamiento, son importantes para este tipo de análisis. Por tal razón, nos hemos basado en una adecuación por parte de la Conferencia Internacional de Armonización (ICH) para productos cosméticos. La Norma Oficial Mexicana 039 (NOM-039-SSA1-199. *Productos de Perfumería y Belleza. Determinación de los índices de Irritación ocular, primaria dérmica y Sensibilización*), estipula las pruebas, condiciones y respuestas dérmicas alérgicas que se pueden presentar con el uso de estos productos ³³. Con respecto a los análisis microbiológicos, tenemos que contemplar a la Ley General de Salud en su artículo 192 y la Norma Oficial Mexicana 089 (NOM-089-SSA1-1994. *Métodos para la determinación del contenido microbiano en Productos de Belleza* ³⁴). Estas dos normas son de carácter obligatorio. Todos estos estudios son requeridos para asegurar la obtención de un producto de calidad y que garanticen la seguridad de los mismos.





2. ANTECEDENTES

2.1 Definición de Cosmético

Los cosméticos se definen como artículos para ser aplicados en el cuerpo humano para limpiar, embellecer, aumentar el atractivo físico o alterar la apariencia sin afectar la estructura del cuerpo o sus funciones (FD&C Act)²⁰. En México, la Ley General de Salud; trata de los productos de perfumería, belleza y aseo definiéndolos como productos de cualquier origen destinados a modificar el olor natural del cuerpo y preparaciones destinadas a preservar o mejorar la apariencia personal; así como también el conjunto de estudios que deben de aplicárseles para asegurar su inocuidad.

Existen diferentes presentaciones para los cosméticos como son: crema, barra (stick o roll-on), gel, aerosol, spray, mousse, pasta, polvo, hilo dental, enjuague bucal, talco, lápiz, shampoo, acondicionador y jabón, entre otros¹⁹. Para fines de este trabajo definiremos las características del jabón así como su composición y el conjunto de estudios que deben de aplicárseles para asegurar su inocuidad.

2.2 Definición de Jabón.

La hidrólisis alcalina del grupo éster de un triglicérido, da la sal de un ácido graso de cadena larga, que es un jabón. Este fenómeno se le conoce como saponificación. El jabón esta constituido por un grupo carboxilato con carga negativa de carácter hidrofílico; y una cadena larga de hidrocarburo con características lipofílicas (fig.1). En el agua, el jabón forma una solución opaca de micelas que son grupos de 100 a 200 moléculas de jabón con sus "cabezas" polares (grupos carboxilato) en la superficie del agrupamiento y sus "colas" hidrofóbicas (cadenas de hidrocarburo) en el interior. Una micela es una partícula energéticamente estable porque los grupos hidrofílicos están unidos por puentes de hidrógeno al agua que los rodea, mientras que los grupos hidrofóbicos están protegidos en el interior de la micela²⁶ (fig.2)



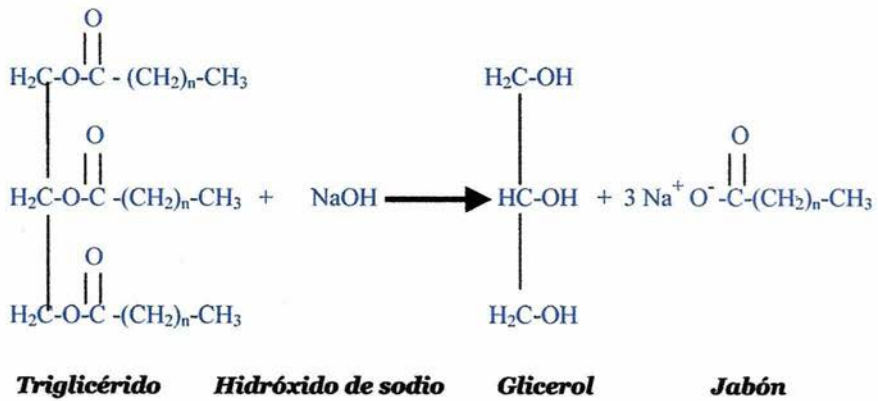


Fig 1. Estructura química del jabón

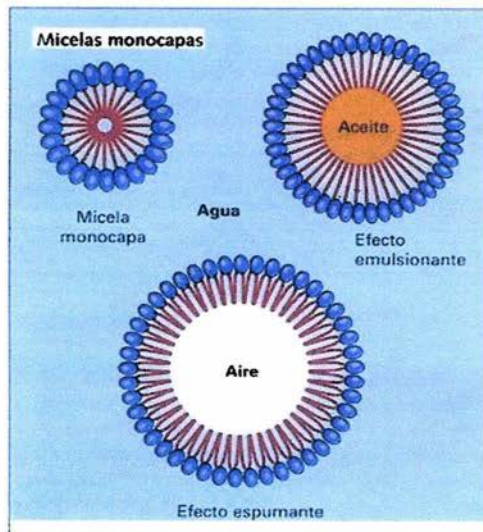


Fig 2. Estructura Micelar





2.2.1 Acción detergente debido a las sales de Na o K de ácidos grasos.

Las sales de sodio o potasio de un ácido graso de cadena larga actúan de la siguiente forma:

- 1) La cadena de hidrocarburo de la molécula de jabón (parte lipofílica), se disuelve en la sustancia grasosa (de característica no polar).
- 2) El extremo polar de la molécula de jabón queda en la superficie de la sustancia.
- 3) Una vez que se añade agua, ésta disuelve la parte hidrofílica del jabón y los iones de Na^+ y K^+ se separan de la cadena.
- 4) El extremo aniónico de la cadena (grupo carboxilato) se orienta hacia el agua formando puentes de hidrógeno. Al mismo tiempo se forma la micela con una diminuta gotita de grasa en el centro; esta se suspende en el agua y es fácilmente arrastrada.

La mezcla resultante de dos fases insolubles (grasa y agua), con una fase dispersa en la otra en forma de gotas, se llama **emulsión** y decimos que la grasa se ha emulsificado permitiendo la fácil remoción de esta ²⁶.

2.2.2 Tipos de Jabón

Existen diversos tipos de jabones en el mercado y se clasifican de la siguiente forma:

- ❑ Jabones duros: Son las comunes pastillas de jabón, obtenidos por saponificación con NaOH de mezclas grasas, que contienen aproximadamente 1.8% de ácidos grasos.
- ❑ Jabones transparentes: Se obtienen por empaste, saponificando con NaOH mezclas de sebo, de aceite de coco, de ricino, de colofonia y disolviendo la masa en solución de sacarosa, en glicerina (jabones de glicerina), en etanol y otros aditivos.
- ❑ Jabones flotantes: Son jabones de empaste a base de grasas consistentes, que llegan a hacerse espumosos por agitación mecánica en caliente. Contienen el 55% de ácidos y resultan mas porosos, y, por tanto, mas flotantes en agua. Incluyen hidrocoloides.
- ❑ Jabones en pasta: Son jabones de empaste, obtenidos con hidróxido potásico, con base de aceite de coco y de sebo.
- ❑ Jabones líquidos: Son jabones potásicos de empaste a base de aceite de coco y de ricino. Contienen el 35-40% de ácidos grasos.





2.2.3 Componentes químicos de los jabones.

Tabla 1. Componentes químicos usados en la elaboración de jabones:

Componente	Función
Glicerina	Ingrediente que se deriva del glicerol, producto de la saponificación. Tiene la habilidad de absorber agua lo que lo hace un aditivo ideal para el cuidado de la piel y su humectación ²⁴ .
Aceites vegetales	Participan en el proceso de micelización al favorecer la formación de gotitas que contienen las partículas grasosas. También confieren una mayor sensación de suavidad al momento del lavado ¹⁷ . Entre los aceites mas usados tenemos: aceite de almendras, jojoba, coco, etc.
Tensoactivos	Disminuyen la tensión superficial que se presenta entre dos fases una acuosa y otra lipídica ayudando a que exista un mayor contacto entre ambas superficies (emulsificación) y facilitando el arrastre de las micelas por parte del agua. Entre los principales surfactantes están: lauril sulfato de sodio, polisorbatos o Tween 20, 40, 60 y 80 ¹⁴ , principalmente.
Antioxidantes	Tienen la función de evitar la oxidación de los ácidos grasos del jabón por parte de la acción del O ₂ atmosférico y conferirle al jabón una mayor estabilidad y evitar su rancidez . Se usan agentes quelantes como el tetracetato de etilendiamina (EDTA), pentacetato de dietilentriamina (DTPA), ácido cítrico y silicato de magnesio ¹⁷ .
Agentes Antimicrobianos	Son aquellos que permiten la reducción o remoción de la flora microbiana que puede encontrarse en la piel ayudándonos a preservar el producto por un periodo de tiempo mayor. En los últimos años el número de estos agentes se ha reducido a solo tres los cuales son: triclorocarbanilida (TCC), triclorodifenilhidroxiéter (triclosan) y el p-cloro-m-xilenol(PCMX) ¹⁸ .
Colorantes	Su función es dar una buena apariencia visual. Algunos de los aditivos mas usados incluyen pigmentos de origen vegetal y animal, agentes opalescentes como el dióxido de titanio y el óxido de zinc; compuestos azo como las toluidinas, naftol, pirazolonas, nitranilinas, dianizidinas ¹⁶ , etc.
Fragancias	Dan un aroma atractivo y enmascaran el olor característico asociado a los ácidos grasos. Están compuestas por ácidos carboxílicos, ésteres, aldehídos, cetonas y glicoles, donde la selección del componente puede tener un efecto adverso en la estabilidad del producto ¹⁵ .

Los jabones analizados en este trabajo fueron elaborados con glicerina, como base, aceite de almendras, vitamina A y C, Tween 80 y Metil y Propilparabeno como conservadores. Los productos naturales se agregaron de la siguiente forma: semillas de amaranto, granos de avena y macerado de kiwi. No se trabajaron con extractos o alguna otra forma de preparado; y no se utilizaron colorantes ni fragancias.





Los productos naturales que se han utilizado para la fabricación de estos jabones tienen características y propiedades que las hacen importantes para varios usos en la industria cosmética. Se mencionan a continuación algunas de las características más importantes del kiwi, amaranto y avena, su composición química y la utilidad que tienen algunos de estos productos en la industria cosmética.

2.3 Productos Naturales utilizados en la fabricación de Jabones

2.3.1 AVENA

La avena (*Avena sativa*) es una planta herbácea, monocotiledónea, que pertenece a la familia de las gramíneas. Su nombre se deriva del latín *Aveo* que significa deseo, derivándose del verbo *Avere*, por la avidez con que la come el ganado. Su origen se remonta a 2000 años a.C., principalmente en las tierras que rodean el mar Mediterráneo; especialmente el antiguo Egipto. Este cereal se cultiva muy bien en regiones templadas, pero no resiste muy bien el frío⁶. La avena es uno de los cereales con mayor calidad nutricional y tiene un alto contenido proteico. También mantiene un buen balance de aminoácidos esenciales como son la leucina, isoleucina, lisina, valina y fenilalanina. Las hojuelas de avena y su harina son ricas en proteínas, grasas y valor energético, y son las fuentes más ricas de Calcio, Fósforo, Hierro y Tiamina entre todos los cereales comestibles (Tabla 2):

Tabla 2: Composición química de la Avena

<u>Proteínas</u>	<u>%</u>	<u>Vitaminas/Minerales</u>	<u>Contenido por 100g</u>
Albúmina	1.0	Vitamina E(U.I.)	3
Globulina	78.0	Tiamina (mg)	0.67
Prolamina	16.0	Niacina (mg)	0.80
Glutelina	5.0	Vitamina B ₆ (mg)	0.21
		Ácido fólico (µg)	104
		Calcio (mg)	50
		Fósforo (mg)	450
		Magnesio (mg)	141
		Potasio (mg)	370





En la industria cosmética, se utilizan, principalmente, dos tipos de avena: la Avena Coloidal y la Avena Rhealba. La avena coloidal es una forma física especial de la harina de avena. A la vez que mantiene sus características y su contenido en vitaminas y oligoelementos, es muy eficaz en el tratamiento de las pieles secas. Por su parte, la Avena Rhealba es seleccionada por sus propiedades emolientes, hidratantes, antiinflamatorias y cicatrizantes. Está compuesta en un 60% por agentes hidratantes, un 17 % por proteínas y con relativamente pocas sustancias lipídicas. Los oligómeros de Avena Rhealba funcionan como potentes antiirritantes y disminuyen la reactividad cutánea.

La harina de avena tiene gran utilidad. Desde su aplicación en mascarillas faciales y aceites de baño, hasta sustituyente del jabón en el auxilio contra el prurito. La acción limpiadora de las preparaciones de harina de avena se ha relacionado a su acidez que es ligeramente mayor a la que presenta la piel, esto intensifica su habilidad para remover las células epiteliales muertas de la piel y secreciones sebáceas; de igual forma se piensa que la harina de avena forma una capa protectora atribuida a las propiedades coloidales del β -glucano ⁶.

Las propiedades dermatológicas de la avena son muchas y muy variadas:

- Sus partículas absorben los residuos celulares respetando y cuidando la estructura cutánea.
- Debido al fósforo que contiene, disminuye la dureza del agua, lo que se traduce en una acción suavizante y relajante.
- Al estar compuesta de lípidos y sustancias absorbentes de agua, evita la deshidratación de la piel y mantiene una barrera protectora frente a las agresiones externas.
- Produce una acción hidratante y emoliente sobre la piel.
- Calma las irritaciones de la piel, tanto de origen alérgico como de otra causa, así como el prurito.

2.3.2 KIWI

El kiwi (*Actinidia chinensis*)³² es una fruta perteneciente a la familia Actinidiaceae. Proveniente de China, fue introducida en Nueva Zelanda a principios de los años 1900's, convirtiéndose este país en el más grande productor en el mundo seguido de Italia, Japón, Francia, E.U.A y Chile ⁷. Debido a su gran expansión comercial y de producción en el





mundo, el kiwi es considerado la fruta más exitosa del siglo. En México, los niveles de producción no son competitivos, por lo que esta fruta es importada.

El kiwi es una fruta pequeña de forma ovalada de color pardo suave y cubierto de pelos finos y sedosos con una piel relativamente delgada y firme que la recubre en toda su superficie. Contiene una pulpa de color verde pálido, de sabor agrídulce, aromático y de buen sabor (fig.3). Existen cinco principales cultivos que son: Abbot, Allison, Bruno, Hayward y Monty siendo las de mayor importancia Bruno y Hayward ⁸.

Propiedades Nutricionales: cada vez que ingerimos 100g de kiwi, estamos aportando a nuestra dieta 76 calorías. El kiwi es de las frutas más ricas en vitamina C superando a la naranja y al limón en 7 veces su contenido, aportando 96mg de esta vitamina por cada 100g que consumamos. Además, contiene una cantidad importante de potasio, mineral cuya deficiencia produce problemas en tensión arterial, desórdenes digestivos y cansancio; supera al plátano en su cantidad de este mineral (tabla 3). También es una buena fuente de fibra la cual puede jugar una excelente función digestiva.

La vitamina C o ácido ascórbico; a pesar de ser un ácido tiene una excelente acción antioxidante en todos los niveles, dentro y fuera de las células²⁹. Además mejora la producción del colágeno, una proteína que mantiene la piel tersa y sin arrugas. La mejor forma de incorporar esta vitamina es a través de las frutas y verduras frescas y crudas, ya que la vitamina C se oxida y pierde sus propiedades nutricionales. En la mayoría de las conservas se agrega ácido ascórbico: aunque no es de origen natural, sino sintético, también se incorpora al organismo y es uno de los conservadores mejor tolerados⁸. El aceite de kiwi, tiene la propiedad de dar brillo, color y salud al cutis y manos; combate todo tipo de envejecimiento de piel (radicales libres), debido a la acción de las siguientes vitaminas: A, B, y C.





Tabla 3: Composición química del kiwi

Constituyente	Contenido (mg/100g peso fresco)
Agua	82-86%
Fibra	1.1-3.3%
Sólidos solubles	12-17%
pH	3.5-3.6
Lípidos	70-900
Ácido glucurónico	150
Clorofila	0.2-0.3
Valor nutricional	49-76 kcal/100g
Proteínas	0.4-1%
Carbohidratos	15-18%
Cenizas	450-740
Ácido ascórbico	80-120
Tiamina	0.014-0.02
Vitamina A	0.05
Vitamina E	0.13
Riboflavina	0.01-0.05
Piridoxina (B ₆)	0.15
Magnesio	0-2
Azufre	13-20
Nitrógeno	93-163
Potasio	200-450
Cloro	30-65
Calcio	6-51

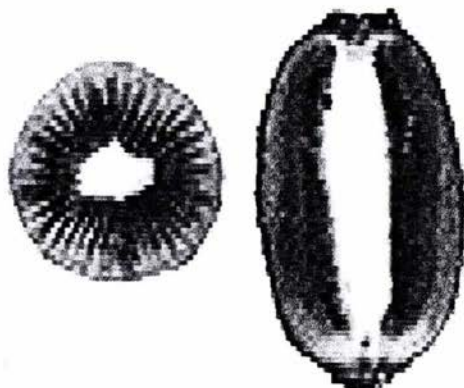


Fig 3. Fruto de Kiwi





2.3.3 AMARANTO

En la época precolombina, el mexicano común tenía una dieta no muy abundante y monótona ya que su alimentación constaba principalmente de tortillas, atole o tamales, frijol, *huauhtli* (amaranto) y de *chían* (chía) ⁴. También se consumían plantas silvestres, insectos y batracios. Los aztecas no acostumbraban el “desayuno”; sin embargo, luego de varias horas de trabajo, alrededor de las diez de la mañana, tomaban un primer alimento del día el cual consistía en un tazón de *atolli*, pasta de maíz o *huauhtli*, mas o menos espesa, la cual estaba azucaraba con miel o se condimentaba con chile.

En el *Códice Florentino*, Libro Octavo de las Comidas, Fray Bernardino de Sahagún, menciona que comían tamales hechos de bledos (semillas de amaranto) llamados *oauquiltamalli*. En el Libro Décimo de los Vicios y Virtudes de los Mercaderes, Sahagún se refiere sólo a los que venden tortillas, entre éstas, las que se elaboraban con bledos. El amaranto también fue una semilla ceremonial de los antiguos mexicanos. Esto quedó plasmado en el *Códice Mendocino*, escrito por el primer virrey de la Nueva España, Antonio de Mendoza ⁴; por otro lado, Fray Diego Duran escribió el libro *México a través de los siglos*, donde hace referencia al *tzoalli*, el cual era una masa de bledos bañada de miel y sangre humana con la cual hacían un gran pájaro que era colocado sobre un gran madero, y le llamaban en su conjunto *Xócotl*, el cual era adorado, y al final de la ceremonia era destruido por los feligreses y consumido ⁵. El *tzoalli* de los antiguos mexicanos es lo que conocemos ahora como la “alegría”.

Actualmente, su cultivo está reducido a pequeñas zonas como el Distrito Federal, Estado de México y Morelos ⁵. El amaranto (fig.4) ha despertado un gran interés en la comunidad científica debido a que es una excelente herramienta para la investigación genética ya que puede crecer en un pequeño espacio debido a su morfología plástica y es capaz tanto de autopolinización como de entrecruzamiento sin ninguna depresión del rendimiento. El amaranto pertenece a la familia de las Amarantaceas, es una dicotiledónea la cual comprende mas de 50 géneros y casi 800 especies siendo la especie *Amaranthus hypochondriacus*³² el más consumido.

Composición general de la semilla: las semillas de amaranto suelen tener entre 6 y 11% de humedad, la cual es apropiada para su conservación. Su principal componente es los hidratos de carbono y después la proteína como se observa en la siguiente tabla :





Tabla 4. Principales componentes del Amaranto

Hidratos de carbono : predomina el almidón y el resto de los glucósidos son escasos. La cantidad de Sacarosa es mayor que en otros granos (cereales y leguminosas), y el contenido de rafinosa-oligosacarido puede llegar a causar meteorismo si se consume mucho amaranto. Conforma un 64% de la semilla.

Proteínas : 2/3 partes de la proteína se encuentra en el germen y cascarrilla y la otra tercera parte, en el perispermo. Las proteínas forman un 14.5% de la semilla la cual es rica en aminoácidos esenciales como lisina y aminoácidos aromáticos y azufrados y pobre en valina, isoleucina y treonina.

Lípidos : el aceite de amaranto está compuesto en un 90% de triglicéridos, 6.4% por glicolípidos y 3.6% de fosfolípidos. Los ácidos grasos más abundantes son el linoleico (44-58%), oleico (19-29%) y palmítico (11.5-21.3%).

Vitaminas : destaca el contenido de vitamina C (1.7-2.8mg/100g), Niacina (1.0-2.1mg/100g) y Tiamina (0.25-0.9mg/100g)

Minerales : destacan el Calcio (2660-3700 ppm), el Fósforo (3970-4910 ppm), Magnesio (2700 ppm) y el Hierro (52-70 ppm).



Fig 4. Planta de Amaranto

Actualmente, no hay información del uso del amaranto en productos cosméticos, por lo que se puede considerar como un producto innovador en su aplicación a jabones.

Estos jabones tienen como blanco de acción la piel. Por lo tanto, es muy importante conocer las principales características de la misma, el mecanismo de irritación, la reacción alérgica que se presenta por el uso de cosméticos y su penetración percutánea. A continuación conoceremos algunas de sus características:





2.4 Características de la piel

2.4.1 La Piel

La piel es el órgano más grande de nuestro cuerpo ya que representa del 15 al 20% de nuestra masa corporal total ². La piel y las faneras recubren la parte externa de la superficie corporal y tienen diversas funciones:

- **Barrera**, ya que nos protege contra diversos agentes físicos, químicos, biológicos y ambientales.
- **Órgano sensorial**, ya que brinda información acerca del ambiente externo que nos rodea, por lo que es informativa y protectora al mismo tiempo.
- **Función homeostática**, al mantener continuamente el ambiente interno y regular la deshidratación y la temperatura corporal.
- **Función secretora**; convierte en vitamina D a las moléculas precursoras.
- **Función excretora**, a través de las glándulas sudoríparas ¹.

La piel esta formada por dos principales capas que son la **epidermis**, compuesta por epitelio estratificado plano queratinizado y la **dermis**, compuesto por tejido conectivo ¹.

2.4.1.1 Estructura de la piel.

Epidermis.- está compuesta por epitelio estratificado plano en la cual es posible identificar cuatro capas; en el caso de piel gruesa, existe una quinta capa¹⁰.

La capa más profunda se conoce como **estrato basal** o **germinativo**. que provee la renovación de células epidérmicas y esta conformado por una sola capa de células. Contienen las *células madre* o *stem cells* que, por mitosis, dan origen a las células nuevas, los **queratinocitos**. Cuando por mitosis van apareciendo las células nuevas, estas avanzan a la capa siguiente y comienzan a migrar a la superficie transformándose en una célula queratinizada madura, la cual se descama de la superficie ¹.





Sigue el **estrato espinoso** el cual tiene varias capas celulares. Estas células son de mayor tamaño y presentan prolongaciones citoplasmáticas las cuales se unen entre sí por puentes intercelulares llamados *desmosomas*. Las células de esta capa tienen un aspecto espinoso por sus prolongaciones, de ahí su nombre. Cuando éstas células maduran y avanzan a la superficie, aumentan de tamaño y se hacen más planas².

El **estrato lúcido** está limitado solo a la piel gruesa. En el microscopio óptico presenta un aspecto refringente y poco coloreado. Son células eosinófilas en las cuales está muy avanzado el proceso de queratinización¹. Finalmente, el **estrato córneo** está compuesto por células planas anucleadas llenas de queratina. Este estrato es el que más varía en espesor y es más ancho en la piel gruesa. La formación de callos se debe al engrosamiento de este estrato¹⁴.

Luego está el **estrato granuloso** en donde las células contienen gránulos de **queratohialina** que le dan nombre a la capa. Las proteínas de los gránulos son ricas en cistina e histidina. Estos gránulos son de diferentes tamaños y se ven fácilmente en los cortes histológicos de rutina, debido a su intensa coloración basófila².

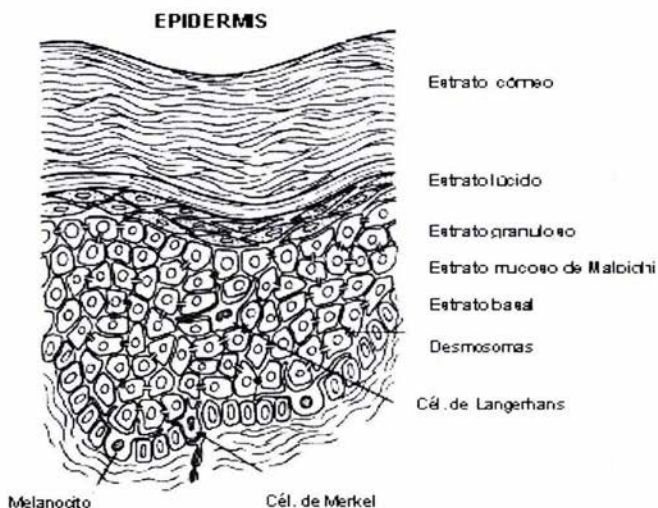


Fig 5. Capas de la Epidermis





Dermis.- esta constituida por un armazón de tejido conjuntivo en el cual se asientan nervios, vasos y anexos de la piel. Esta compuesta por dos capas, una papilar y una reticular¹².

La **capa papilar** es la capa superficial la cual consiste en un tejido conectivo laxo ubicado inmediatamente por debajo de la epidermis. En ella encontraremos fibras colágenas y fibras elásticas e incluye las papilas y las crestas dérmicas; también hay vasos sanguíneos que irrigan pero no penetran la epidermis así como prolongaciones nerviosas sensoriales que están muy concentradas y son visibles en las papilas dérmicas.

La **capa reticular** es la mas interna, su espesor varía dependiendo de la zona corporal. Aunque esta capa es de mayor grosor que la anterior, contiene sin embargo menos células. Presenta haces gruesos e irregulares de colágeno y presenta fibras elásticas mas gruesas.

Las capas de tejido adiposo, músculo liso y, en algunos sitios, de músculo estriado, se pueden encontrar inmediatamente por debajo de la dermis reticular ¹. Por debajo de la capa reticular existe una capa de tejido adiposo (panículo adiposo) que tiene la función de almacén de energía y de aislante. Esta capa y el tejido conectivo laxo constituyen la **hipodermis** o **tejido subcutáneo**. Por debajo del panículo adiposo se encuentra una capa fina de músculo estriado llamado **panículo carnoso**³⁰.

2.4.1.2 Mecanismo de irritación y alergia en piel debido a cosméticos.

La dermatitis por contacto es una reacción fisiológica que ocurre después de que la piel entra en contacto con ciertas sustancias químicas que pueden actuar simultáneamente como irritantes y/o alérgenos. Los irritantes de la piel causan el 80 por ciento de las reacciones; el 20 por ciento restante son causadas por alérgenos.

El mecanismo de irritación comienza con la penetración del agente irritante a través de la barrera epidérmica con la activación o daño de los queratinocitos los cuales tienen un papel central en la secreción de citosinas proinflamatorias tras estímulos irritativos que producen la activación de los linfocitos T. Los queratinocitos inducen la producción de citosinas provocando la atracción de leucocitos. La presencia de





interleucinas como IL-6, IL-1 β , IL-2 y el factor necrosante tumoral (TNF- α), se incrementan durante la reacción de irritación²⁷.

El daño a la barrera lipídica del estrato córneo se asocia con la pérdida de cohesión de los corneocitos y la descamación con el incremento de pérdida de agua transepidermal (TEWL). La fractura del estrato córneo también estimula la producción de citosinas²¹.

La dermatitis alérgica por contacto (DAC) afecta a los adultos en mayor número que a los niños pequeños o los ancianos. En México se considera a la DAC como una de las enfermedades de la piel más comunes (10%, entre todas las dermatopatías). La DAC se caracteriza por originarse a través de células presentadoras de antígeno. Las células de Langerhans, que se encuentran en epidermis sintetizan y expresan antígenos de histocompatibilidad Clase II (MHC). Así los linfocitos T CD4, pueden reconocer un antígeno en asociación de moléculas como MHC Clase II. iniciándose la fase de sensibilización. El rol de los linfocitos T sensibilizados una vez que la interacción entre células T y el complejo hapteno Clase II MHC sobre las células de Langerhans se presenta es la liberación de IL-1, la cual activa las células T para producir IL-2 e interferón gama, el cual es un potente inductor de síntesis y expresión de antígenos MHC Clase II²⁰.

2.4.1.3 Alergenos encontrados en cosméticos

Existen más de 2,800 alergenos potenciales. Por ejemplo, las sustancias fotoalérgicas halladas en bloqueadores solares como el ácido p-aminobenzoico y sus ésteres, así como el oxibenzona²¹, que son productos fotosensibilizadores que afectan las zonas expuestas cuando reciben luz suficiente; la mayoría de productos fototóxicos y fotoalérgicos, se activan por radiaciones UV. Los tintes permanentes del pelo que contienen parafenilendiamina son las causas más frecuentes de DAC. Otros productos que pueden causar problemas incluyen los tintes utilizados en la ropa, los perfumes, las sombras para ojos, esmalte de uñas y lápices labiales¹⁸. En la tabla 6 se mencionan algunos de los más frecuentes y sus fuentes:





Tabla 6. Panel de alérgenos más frecuentes investigados por prueba de parche.

Componente	Fuentes
1. Níquel	Metales y alimentos.
2. Alcohol de lanolina	Vehículo para cremas y lociones.
3. Dicromato de potasio	Piel curtida y detergentes.
4. Mezcla de fragancias	Fragancias y saborizantes.
5. Colofonia	Adhesivos, ceras y savia seca.
6. Mezcla de parabenos	Preservativos en cremas, lociones y alimentos.
7. Bálsamo del Perú	Fragancias y saborizantes.
8. Dihidrocloro etileno diamina	Estabilizadores en crema y lociones
9. Cobalto	Metales, pigmentos azules, vitamina B ₁₂ .
10. Cuaternio-15	Preservativos en cremas y lociones.
11. para-fenilendiamina	Tintes para el cabello.

2.4.1.4 Agentes irritantes encontrados en cosméticos.

Los más frecuentes son:

- Agua, sobre todo si esta es dura y contiene niveles altos de calcio, magnesio o hierro disueltos en la misma porque pueden depositarse en las fisuras de la piel y ser un factor añadido de irritación.
- Disolventes orgánicos encontrados en jabón, detergentes, y limpiadores en seco. Estos elevan el pH y disuelven lípidos. Se rompe así la barrera lipídica. Los productos aromáticos que se incluyen en algunos “limpiadores en seco” son especialmente irritantes. Benceno, tolueno, tricloro etileno, trementina, son solo algunos ejemplos.
- Detergentes, surfactantes, agentes humectantes y emulsionantes. La mayoría son alcalinos, pero incluso los neutros pueden eliminar la barrera lipídica y las sustancias higroscópicas de la piel. Tienen una reacción directa sobre las membranas celulares y desnaturalizan las proteínas.
- Alcalis como el bicarbonato, amoníaco, hidróxido sódico y potásico, el fosfato trisódico y las aminas.





- Alkalís como el bicarbonato, amoníaco, hidróxido sodico y potásico, el fosfato trisódico y las aminas.
- Ácidos tanto orgánicos como inorgánicos y las taladrinas.
- Agentes oxidantes como el peróxido de benzoilo o el hipoclorito sódico ¹²

2.4.1.5 Penetración de cosméticos.

Para poder entender como penetran los cosméticos debemos entender que existen factores que juegan un papel importante en dicho proceso; como son:

- a) Impermeabilidad cutánea, basada en las propiedades de la piel, tales como el espesor, presencia de anexos, integridad anatómica, etc.
- b) la sustancia activa (importancia vinculada con su capacidad de lipo e hidrosolubilidad).
- c) el excipiente o vehículo.
- d) maniobras o procedimientos auxiliares como el masaje, oclusión, electroforesis, etc.

Existen distintos grados de interacción piel-cosmético los cuales nos sirven para comprender de mejor manera como es que penetran los cosméticos a través de nuestra piel. Estos grados son: la **contactación**, la **penetración** y la **absorción** ¹⁰.

La **contactación** es un fenómeno superficial donde no hay penetración. El cosmético se encuentra sobre la capa córnea. Hay muchos cosméticos que actúan solo por el contacto, sin penetrar como son: polvos de tocador, aceites, pomadas protectoras impermeables, agentes de limpieza comunes, etc. Varios cosméticos contienen sustancias tensoactivas las cuales favorecen un mayor contacto con la superficie; esto es debido a que disminuyen la tensión superficial del agua que, por sí sola se distribuye en gotas que alternan con zonas secas dándose una poca humectación. El uso de líquidos miscibles como el alcohol etílico en el agua de colonia y el uso de aceites favorecen este fenómeno.

La **penetración** es un fenómeno de profundidad que existe una vez que se presentó una buena contactación. Los componentes del cosmético se introducen en la piel y entran en contacto con células vivas. La penetración es incompleta si se lleva a cabo





exclusivamente dentro de los conductos y glándulas, lo que constituye muchas veces un paso previo para su pasaje a través de las paredes de los anexos hacia las células vivas de los estratos cutáneos (penetración completa). Si la sustancia activa se pone en contacto con las capas malpighiana y basal se le llama penetración epidérmica; si entra en contacto con el tejido conjuntivo y vascular de la dermis, se le llama penetración dérmica .

La **absorción** es un fenómeno que tiene mayor relevancia en el área farmacéutica mas que en la cosmética ya que en este nivel la sustancia activa puede llegar hasta el torrente sanguíneo difundándose por todo el organismo, dando síntomas extracutáneos por una acción no ya local sino general. En la práctica cosmética diaria interesa conocer la posibilidad de absorción de las distintas sustancias que se emplean para así tomar las precauciones que impone su utilización ¹⁰.

Es importante tener en cuenta las normas que especifican los análisis a realizar al producto terminado. A continuación se mencionan la NOM 039 que establece las pruebas de irritación realizadas en esta tesis, la NOM 089 que describe los análisis microbiológicos, y un monitoreo de pH realizado por un periodo de 80 días, bajo condiciones de temperatura y % de humedad establecidos por una adecuación de la ICH (Conferencia Internacional de Armonización) para cosméticos.





2.5 Pruebas basadas en Normas Oficiales Mexicanas

2.5.1 NOM-039-SSA1-1993, (*Bienes y Servicios. Productos de Perfumería y Belleza. Determinación de los índices de Irritación ocular, Primaria dérmica y Sensibilización*):

Esta norma establece los métodos para determinar las características de irritación y sensibilización, en los productos de perfumería y belleza con el fin de que los fabricantes aseguren que sus productos sean “no irritantes” para el usuario y prevenir los daños a la salud que puedan ocasionar al aplicarse o usarse directamente en la piel. Esta NOM es de carácter obligatorio. Se hacen pruebas tanto *in vivo* como *in vitro*. En este trabajo se realizaron solo pruebas *in vivo*.

Las pruebas *in vivo* se fundamentan en la aplicación de una muestra del producto que se pone en contacto con el ojo o la piel del animal (especialmente conejos y cobayos) para observar cambios visibles e interpretarlos mediante un modelo matemático. Estos cambios se determinan en los distintos grados de irritación que pueda ocasionar el producto a probar. La calificación que generen los resultados de la prueba nos dirá el nivel de seguridad del producto. También se realiza la prueba en humanos mediante el uso de parches que contienen el producto de interés y de igual manera se califica el nivel de seguridad del producto. Los ensayos *in vitro*, son pruebas confiables y alternativas potenciales para sustituir las pruebas en animales. Entre las diferentes técnicas que se estipulan en esta norma están las pruebas de citotoxicidad, destrucción celular, inhibición del crecimiento, integridad o permeabilidad de la membrana y el consumo celular de colorantes no tóxicos. También se utilizan los llamados sistemas intermedios como el ojo bovino que es un órgano aislado; finalmente las pruebas en huevos de gallina donde la membrana corioalantóica se usa como modelo de membrana vascularizada³³.

En la piel de conejo, se evalúa un grado de eritema y edema mediante una escala numérica; la evaluación se realiza a los 30 o 60 minutos luego de remover el parche; finalmente a las 24 y 72 h . Se promedian los valores de los tres productos aplicados y se determina un **Índice de Irritación Primaria**; el cual es un valor asignado que da una evaluación del grado de lesión generado en la piel ocasionado por el producto probado , y resulta de la suma del promedio de eritema + promedio de edema.





El eritema es una dermatosis cuya lesión elemental es una simple modificación del color de la piel (mancha o mácula), sin alteración epidérmica y sin infiltración palpable. Se caracteriza por presentar un color rojo a rosado. El edema es una producción excesiva de líquido tisular libre en la sustancia intercelular y se debe a diversos estados fisiológicos alterados. Tal líquido excede su capacidad de reabsorción, acumulándose en el tejido conectivo laxo, causando hinchazón³.

En humanos la prueba se hace por una semana aplicando las muestras 3 veces en ese lapso de tiempo dejando los parches actuando por 24 h por cada aplicación. La escala de evaluación es más específica que la estipulada para conejos en cuanto a las características de las lesiones presentes. El promedio de estas calificaciones es el ***Índice de irritación promedio final***.

La prueba de irritación en piel de cobayos, se adecuó a partir de la prueba de sensibilización (*Estudio de irritación previo a la fase de inducción*). En esta se aplican 4 parches del producto con concentraciones de 25,50,75y 100% en el dorso del animal ya rasurado. La prueba se realiza con 3 animales por producto. Se hace una revisión cada 60 o 90 minutos por 6 h removiendo el parche, y se vuelve a evaluar a las 18 y 24 h luego de la aplicación. Finalmente se da un criterio de aceptación³³.

2.5.2 NOM-089-SSA1-1994, Bienes y Servicios. Métodos para la determinación del contenido microbiano en Productos de Belleza.

Esta norma establece los métodos de prueba para determinar el contenido microbiano en productos de belleza, con el fin de conocer la calidad sanitaria y precisar si son aptos para uso humano. Esta norma se fundamenta en la colocación de una cierta cantidad del producto en medios de cultivo apropiados, para poner de manifiesto la contaminación microbiana por bacterias, hongos o levaduras e identificar los microorganismos potencialmente patógenos. Esta norma no menciona los principales microorganismos que se presentan con más frecuencia en los cosméticos ni tampoco la cantidad mínima permitida; pero en la bibliografía consultada podemos encontrar a los siguientes:





- Bacterias Gram (-) del género *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Serratia* y *Pseudomonas*, especialmente la *Pseudomonas aeruginosa*.
- *Propionibacterium acnes*, *P. granulosum* y *P. avidum*, que son miembros de la microflora de la piel.
- Bacterias Gram (+) del género *Staphylococcus* como *S. aureus* y *S. epidermidis*.

2.6 Monitoreo de pH

2.6.1. Definición de pH.

El pH es una medida de la acidez de una disolución y se define como el logaritmo negativo de la concentración del ion hidrógeno (H^+) en mol/L. El pH de una solución es una cantidad adimensional. Las disoluciones ácidas y básicas pueden identificarse por sus valores de pH, como se muestra a continuación:

Disoluciones ácidas: $[H^+] > 1.0 \cdot 10^{-7} \text{ M}$, $\text{pH} < 7.00$

Disoluciones básicas: $[H^+] < 1.0 \cdot 10^{-7} \text{ M}$, $\text{pH} > 7.00$

Disoluciones neutras: $[H^+] = 1.0 \cdot 10^{-7} \text{ M}$, $\text{pH} = 7.00$

2.6.2. Fundamento de la prueba.

Se fundamenta en la preparación de una muestra de solución jabonosa, midiendo el pH del mismo, para observar el comportamiento en la acidez de los jabones bajo ciertas condiciones de temperatura y humedad a los cuales se han almacenado. Para establecer el tiempo de monitoreo y las condiciones de almacenamiento, nos basamos en una adecuación que se ha realizado de la ICH para cosméticos. El método se basa en la toma de 1 gramo de muestra la cual se disuelve en 100mL de agua destilada, previamente ajustada a pH 7, para luego tomar la lectura con el potenciómetro, lavando y secando por cada lectura el electrodo. Estas lecturas se realizaron en los siguientes días: 0, 3, 6, 9, 12, 15, 20, 25, 30, 40, 50, 60, 70 y 80; manteniendo los jabones en las condiciones de temperatura y humedad propuestas en la ICH.





2.6.3. Importancia del pH en los jabones de producto natural.

Los jabones, al ser productos cosméticos de aplicación tópica, deben tener características químicas que les confieran seguridad y calidad. Estos productos no deben contener compuestos irritantes y/o corrosivos en su formulación, y si los tienen, que sean compuestos que causen el mínimo daño posible. También deben eliminar la mayor cantidad de microorganismos que tengamos en la piel y que ejerzan su acción limpiadora. Al poseer extractos y/o semillas del producto natural, es importante conocer que estos no alteren y, sí mejoren las propiedades del jabón. El conocer el comportamiento del pH de estos jabones, permite observar los posibles cambios químicos y saber que tan estables son los valores de acidez de cada producto; así como también, saber si existe rancidez o higroscopicidad, o cualquier otro problema en el mismo.

2.6.4. ICH

En el mundo globalizado, el proceso de registro de productos en distintos países es un caos para muchas empresas ya que dificultan los procesos de exportación e importación. Por esta razón, la ICH ha realizado esfuerzos para reducir las diferencias que existen entre las distintas agencias regulatorias y producir un único tipo de requisitos técnicos para registro. Con esto, se presentan beneficios, y reducción de costos²³. La ICH se creó para definir que tipo de pruebas (por lo general, de estabilidad) son suficientes para la aplicación de su registro en 3 regiones del mundo: Unión Europea, Japón y Estados Unidos. Esas pruebas sirven para establecer condiciones de almacenamiento recomendables, periodos de reanálisis y vidas de anaquel. Sin embargo, en México, la Secretaria de Salud no requiere la presentación de las pruebas de estabilidad para productos cosméticos. Aunque, tanto los fabricantes nacionales como extranjeros, tienen la responsabilidad de verificar la estabilidad de sus productos y deben tener documentación a mano que respalde dichos estudios.

2.6.5 Control de las condiciones de almacenamiento.

El control de las condiciones de almacenamiento es fundamental para cumplir con los requisitos de ICH; especialmente, la temperatura y humedad son objeto de extremo control.





Existen tres tipos de estudios:

CLASE	TEMPERATURA °c	%HUMEDAD RELATIVA	DURACION (MESES)
Larga Duración	25±2	60±5	12
Intermedia	30±2	60±5	6
Acelerada	40±2	75±5	6

Sobre la base de estos estudios, los cambios registrados establecerán la fecha en que expira el producto. En general, se aspira a una vida de anaquel de tres años y en el caso de cosméticos, no se obliga al fabricante a incluirla en la etiqueta.

Si se desea extender la fecha de expiración de un producto que se haya mantenido a una temperatura de 20-25°C y humedad de 60% durante un año, se somete al estrés **(40°C y 70% humedad relativa)** durante tres meses y si aun conserva sus especificaciones, la fecha de expiración se puede extender por tres años más ²³. Para este trabajo, se decidió tomar estas últimas condiciones señaladas ya que no se pretendió realizar un estudio de estabilidad, el cual conlleva un mayor tiempo.

Una vez conocido este marco teórico, pasaremos a la parte experimental del trabajo planteando los siguientes objetivos:





3. OBJETIVO GENERAL

- Llevar a cabo un monitoreo de pH a los jabones de macerado de kiwi, semillas de amaranto y granos de avena bajo condiciones de almacenamiento, establecidos en una adecuación de la ICH para cosméticos.
- Realizar pruebas microbiológicas a los jabones de producto natural basándonos en la NOM-089; y de irritación ocular y dérmica, basándonos en la NOM-039.
- Determinar si estos productos son seguros para su uso en humanos, según la NOM-039 y NOM-089.
- Determinar mediante los parámetros evaluados, la calidad del producto.

4. HIPÓTESIS

Si al realizar las pruebas fisicoquímicas (monitoreo de pH), pruebas microbiológicas, índice de irritación ocular y de irritación primaria dérmica a los jabones de producto natural, éstos cumplen con los parámetros establecidos por las normas, entonces tendremos un producto seguro y de calidad.





5. MATERIAL Y MÉTODOS

Material biológico:

9 conejos cepa New Zelanda. Sexo indistinto de 2 a 3 kg de peso
10 cobayos cepa Hartley hembras de 300 a 400 g de peso
14 voluntarios; 7 de sexo femenino y 7 de sexo masculino.

Nota: los conejos y cobayos estuvieron en condiciones de temperatura y humedad constantes. Agua y alimento en el bioterio del Edificio "A" de la Facultad de Química.

Material

3 matraces Erlenmeyer de 125 mL esterilizado
2 matraces Erlenmeyer de 500 mL
2 pipetas graduadas de 10 mL
3 pipetas graduadas de 1 mL
3 vasos de pp. de 50 mL
1 vaso de pp. de 250 mL
1 probeta esterilizada
20 tubos de ensaye de 16*150mm
3 vidrios de reloj
1 propipeta
15 jeringas de insulina de 1 mL
1 píseta
Lente de aumento (lupa)
2 mecheros
9 cepos
9 jaulas individuales de malla metálica
1 gradilla
Espátulas cromo-níquel
Gasa quirúrgica esterilizada
Agua destilada esterilizada
Tela adhesiva
Algodón

Equipo

Balanza Analítica Mettler Toledo AG204
Parrilla eléctrica CORNING
Agitador magnético
Potenciómetro ORION Modelo 301
Termómetro
Higrómetro Brannan
Estufa No. Inventario 173291
Maquina rasuradota eléctrica
para animales pequeños

Soluciones

Sol. Bifalato de potasio 0.05M J.T. Baker 3570
Sol. Tetraborato de sodio 0.01M J.T. Baker 36121
Sol. Fosfato dibásico de sodio MERCK 0178TE
Sol. de violeta de Genciana 0.5% grado analítico
Sol. salina isotónica 0.9% J.T. Baker Lote: Y43C57

Medios de cultivo y Reactivos

Caldo Dextrosa Sabouraud (CDS) B.D. Bioxon Lote: 12J22422
Caldo Soya Trypticasa (CST) B.D. Bioxon Lote: 3192664
Lecitina grado reactivo
Tween 80 grado reactivo
Bifalato de potasio J.T. Baker 3570
Tetraborato de sodio J.T. Baker 36121
Fosfato dibásico de sodio MERCK 0178TE
NaCl J.T. Baker Lote: Y43C57





Metodología General

Las pruebas de irritación y microbiológicas se realizaron a producto terminado luego del tiempo de almacenamiento (80 días) y monitoreo de pH.

Prueba de irritación ocular en conejo: Consistió en la aplicación de 0.1 mL de solución jabonosa al 10% en el ojo del animal para evaluar el grado de irritación en conjuntiva, córnea e iris. La prueba se realizó por triplicado para cada producto, aplicando la muestra en un solo ojo; el otro se mantuvo como testigo aplicando SSI. Se hizo una observación minuciosa de las estructuras oculares a las 3, 24, 48 y 72 h luego de su aplicación, suspendiendo la prueba si no había irritación luego de ese tiempo. Si la había, se continuaba la observación hasta el día 7. Se evaluó según la NOM-039, se interpretaron los resultados y se dió un criterio de aceptación. (Ver anexo 1).

Prueba de irritación en piel de conejo: Se aplicó un parche con 0.3mL de una solución jabonosa al 10% en el dorso del conejo (previamente rasurado). Se dejó el parche por 4 h, removiéndolo luego, después se evaluó el grado de eritema y/o edema en el sitio de aplicación a la 1^a h, 24 y 72 h luego de removido el parche. Se interpretaron los resultados y se dio un criterio de aceptación, según lo indicado en la NOM-039. (Ver anexo 2).

Prueba de irritación en piel humana: Se estableció mediante una carta, un contrato de aceptación con el voluntario y luego se le aplicó un cuestionario (Ver anexo 4), donde se mencionaron los requisitos que debía cumplir y saber si era apto o no para la prueba. Esta se realizó aplicando 3 parches en la superficie lateral del brazo, entre el hombro y el codo, señalando la zona de aplicación con solución diluida de violeta de genciana al 0.5%, cada parche con un producto distinto. Sus dimensiones fueron de 2x2cm, dejándolos por 24 h, y posteriormente 24 h después se retiraron, realizando la evaluación por si existía algún grado de lesión en piel; de nuevo se aplicó una segunda muestra realizando el mismo tratamiento para la 2^a y 3^a aplicación. Se determinó un promedio por día de aplicación, dando un criterio de aceptación según la NOM-039. (Ver anexo 3).

Prueba de irritación en piel de cobayo: Se aplicaron 4 parches de 2*2cm con un mismo producto (ya fueran jabones de kiwi, o amaranto, o avena), con distintas concentraciones (25, 50, 75 y 100%) en el dorso del animal, previamente rasurado. La prueba se realizó por triplicado por producto. Se revisó al animal cada 60 o 90 minutos,





por 6 h. Finalmente, se removió el parche y se volvió a evaluar a las 18 y 24 h luego de la aplicación. Se dió un criterio de aceptación según la NOM-039. (Ver anexo 5).

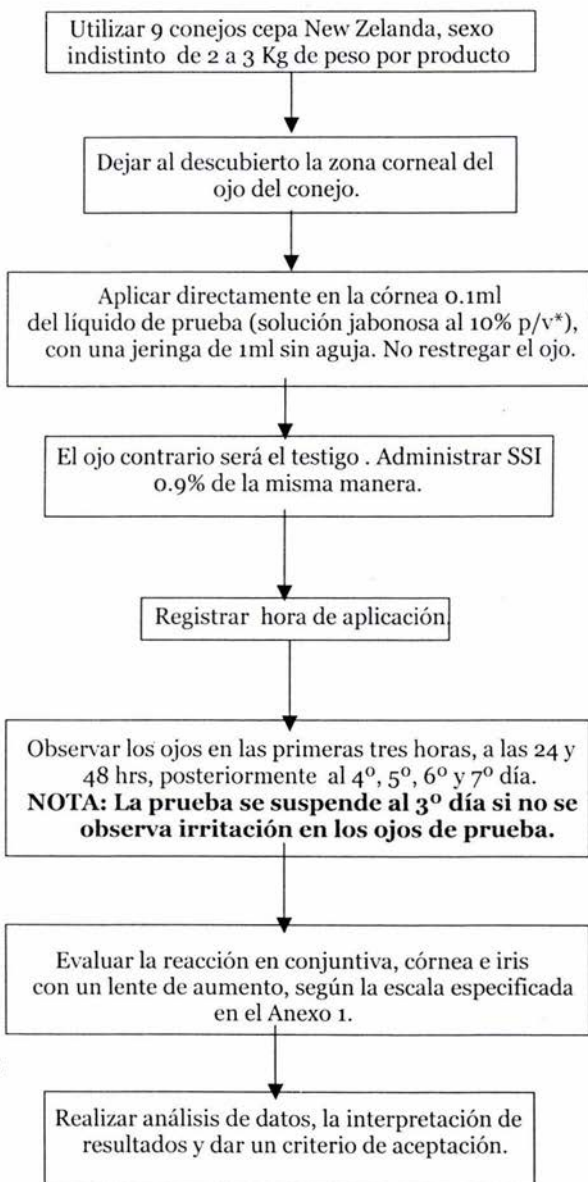
Prueba Microbiológica: Se realizó de acuerdo a la NOM-089. Se utilizaron 20 tubos de ensaye de 16 * 150 mm, 6 para cada producto, y 2 para los controles. Se prepararon los caldos de cultivo, a los cuales se añadió el agente inactivante (Lecitina y Tween 80). Se agregaron 9mL del medio en los tubos de ensaye tapándolos con su torunda, luego se mandaron a esterilizar. Para descartar contaminación por microorganismos, los tubos se mandaron a incubar por 24 h. Ya comprobado que no había contaminación, se realizó la prueba, disolviendo un gramo de muestra en 10mL de agua destilada previamente esterilizada. Se tomó 1mL de la muestra disuelta y se inoculó en los tubos, los cuales ya estaban bien identificados por medio y producto. Todo el procedimiento se realizó en condiciones de asepsia. Se dejó que el inactivante actuase por 15 minutos; para luego, incubar los tubos con CST por 24 h, y con CDS, por 5 días. Se observaron todos los tubos con CST y aquellos que presentaron turbidez, se les realizaba una tinción de Gram y una observación al microscopio para comprobar presencia de microorganismos. En caso de haberlos, se sembraban en medios sólidos de AST y agar Saboraud, incubando a la temperatura y tiempo indicado para cada medio. En caso de crecimiento, se continuaba con la cuantificación e identificación según lo indicado en la NOM-089; en caso de no haberlo, se reportaba como menos de 10 UFC/g o mL de muestra.

Monitoreo de pH: Antes de realizar la prueba, se realizó la calibración del potenciómetro, como lo indica la FEUM 2000. Las muestras de los jabones se fueron tomando a lo largo de los 80 días de almacenamiento a los cuales fueron sometidos los jabones, bajo las condiciones de temperatura y humedad establecidos por la ICH. El método fue el siguiente: Se pesó 1 gramo de cada jabón que se disolvía en 100mL de agua destilada, la cual se ajustaba a pH 7 antes de disolver la muestra. Ya disuelta, se filtraba y se depositaba en un vaso de precipitado. Con cuidado, se ajustó el potenciómetro con los patrones indicados en la FEUM, lavando y secando el electrodo con cuidado. Se determinó el pH para cada jabón, limpiando de nuevo el electrodo. Se registraron los valores y se realizó una gráfica de pH vs tiempo de muestreo.



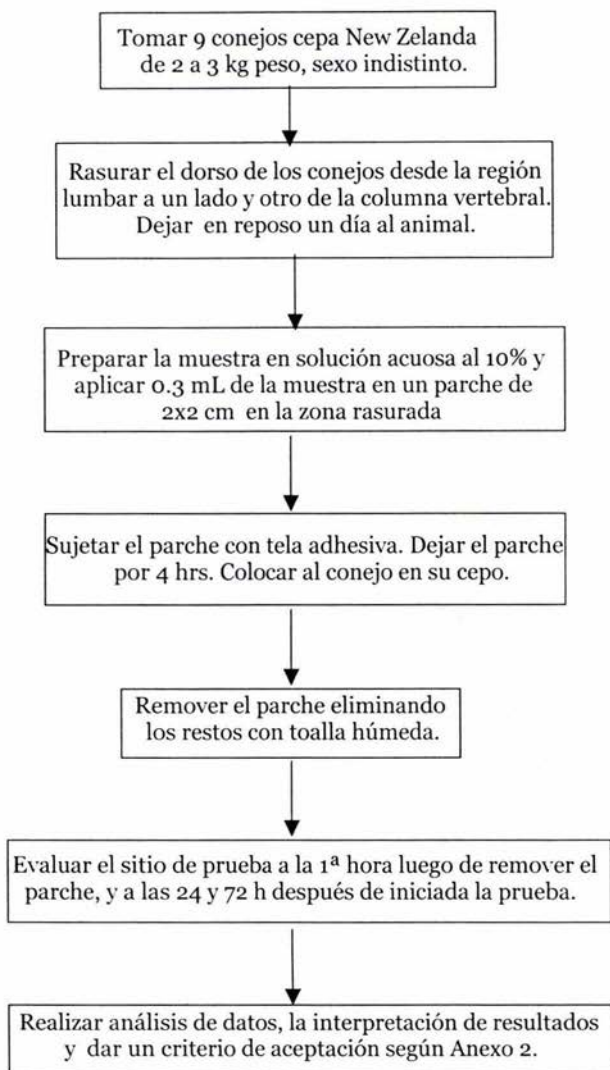


A. Prueba de irritación ocular en conejo.



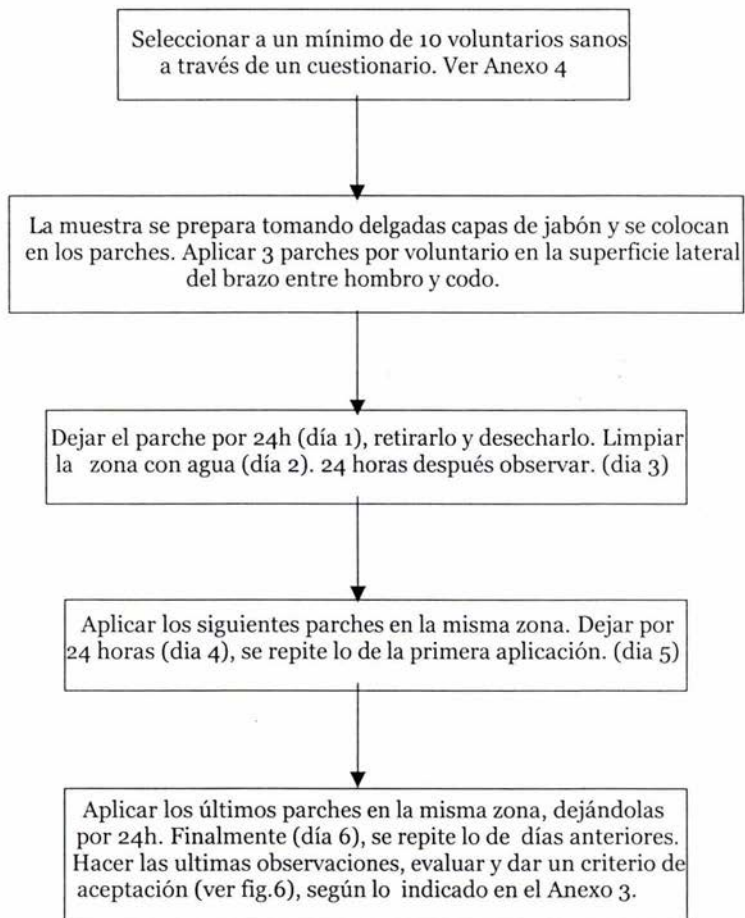
*p/v= relación peso volumen.

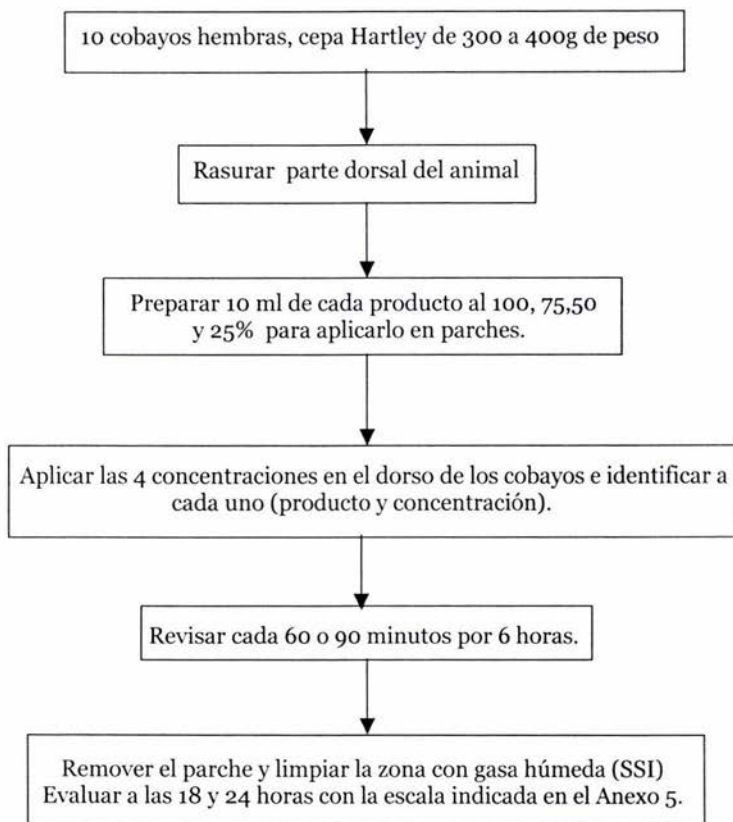


**B. Prueba de irritación en piel de conejo.**



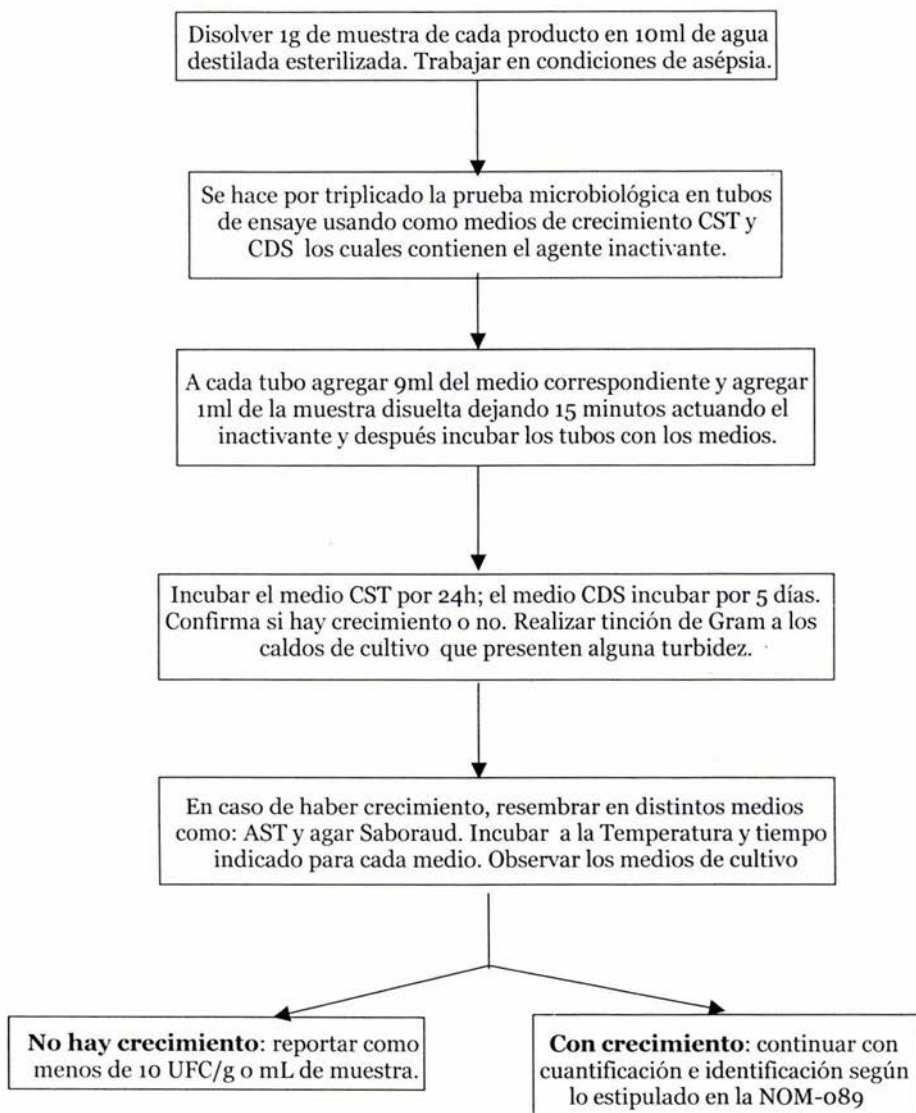
C. Prueba de irritación en piel de humano



**D. Prueba de irritación en piel de cobayos.**

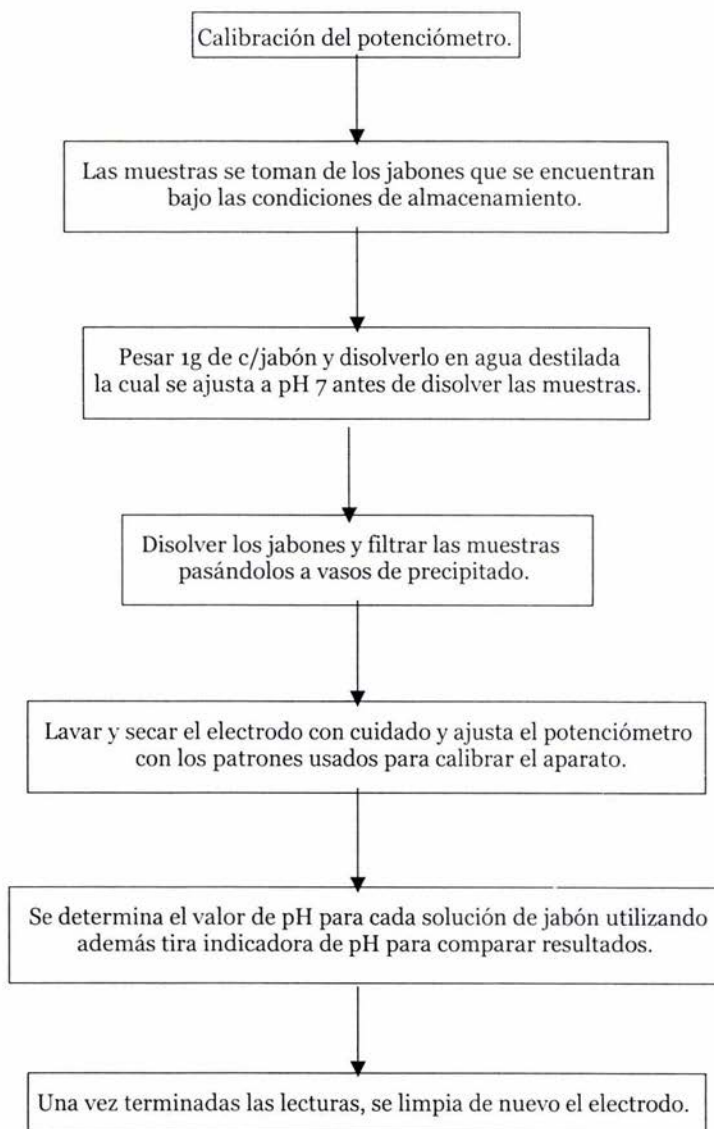


E. Prueba Microbiológica





F. Monitoreo de pH





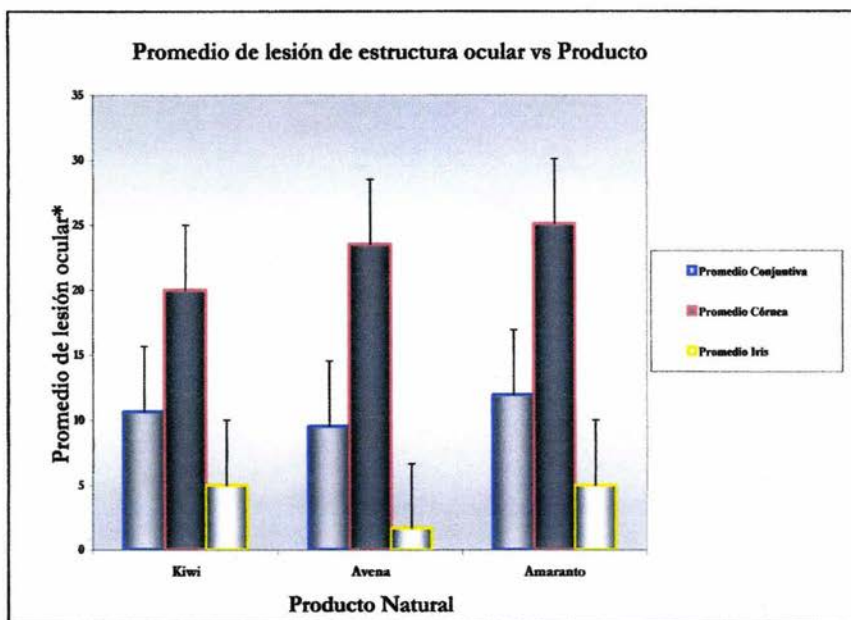
6. RESULTADOS

A. Prueba de irritación ocular en conejos.

Los valores se determinaron promediando los resultados obtenidos en los 3 conejos por producto.

Tabla 6. Valores promedio de lesión ocular por producto

Producto	$X_{\text{Conjuntiva}}$	X_{Cornea}	X_{Iris}
Kw	10.66	20	5
Av	9.55	23.55	1.66
Am	11.97	25.13	5



Gráfica 1. Gráfica comparativa de irritación en estructuras oculares de los tres productos (ver Anexo 1).

* Los valores promedio se derivan de la escala para la evaluación numérica de lesiones oculares indicados en la NOM-039 y que vienen indicados en el Anexo 1. La prueba se realizó luego del tiempo de almacenamiento (3 meses, 40°C, 70% humedad). No se manejan unidades.

Para la calificación del producto, se suman las calificaciones de las estructuras oculares, se promedian los valores por producto y día. Los valores obtenidos por día se promedian y se

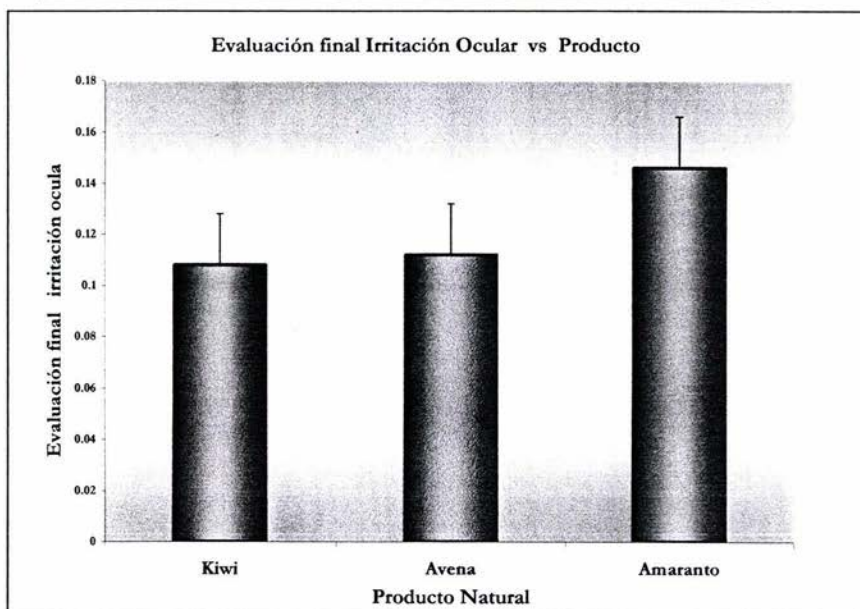




dividen entre 110 (suma total de las calificaciones máximas posibles). El cociente califica el producto.

Tabla 7. Calificación final por producto según NOM-039.

Producto	Límite	Resultado	Característica
Kiwi	0.1-0.3	0.108	ligeramente irritante
Avena	0.1-0.3	0.112	ligeramente irritante
Amaranto	0.1-0.3	0.146	ligeramente irritante



Gráfica 2. Evaluación final por producto de acuerdo a la NOM 039.

Tabla 8. Características de las muestras disueltas

Producto	Aspecto de la disolución
Kiwi	Presencia de semillas y algunas pequeños fragmentos del fruto.
Avena	Solución jabonosa sin presencia de fragmento del cereal.
Amaranto	Presencia de una mayor cantidad de cascaras de semilla.

Los 3 jabones son **aptos para su uso humano**.





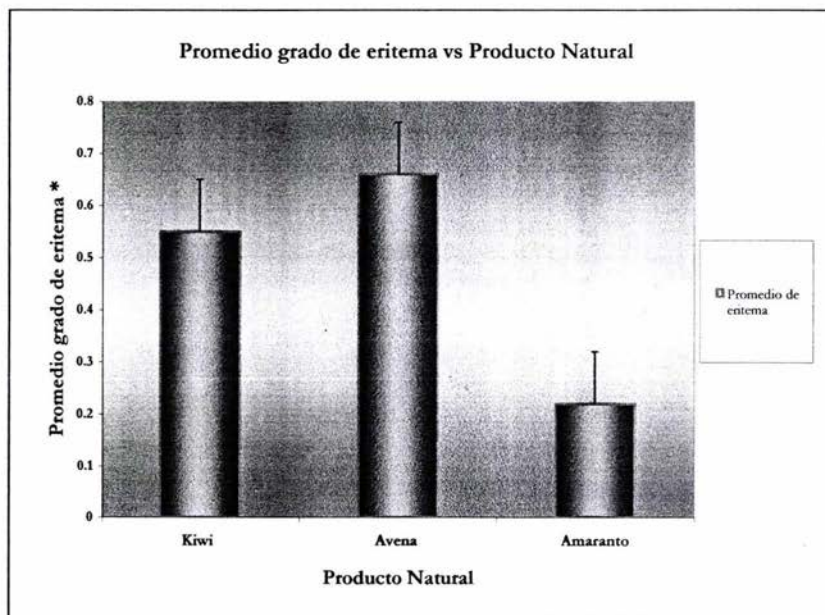
B. Prueba de irritación en piel de conejos

Cálculo de índice de irritación primaria :

Índice de irritación primaria = Promedio de eritema + Promedio de edema.

Tabla 9. Evaluación de eritema y calificación final por producto

Producto	Conejo	Evaluación			Promedio final	Calificación
		30 min.	24h	72h		
Kiwi	1	1	0	0	0.55	No irritante
	2	1	0	0		
	3	2	1	0		
Avena	4	1	1	0	0.66	No irritante
	5	2	1	0		
	6	1	0	0		
Amaranto	7	1	0	0	0.22	No irritante
	8	0	0	0		
	9	1	0	0		



Gráfica 3: Gráfica que muestra el grado de eritema (ver Anexo 2)

**Los valores promedio se derivan de la escala para la evaluación numérica de índice de irritación primaria (I.I.P) indicado en la NOM-039 (no se manejan unidades), y que viene en el Anexo 2. No se obtuvo ningún grado de edema.*

Productos aptos para su uso en humanos.

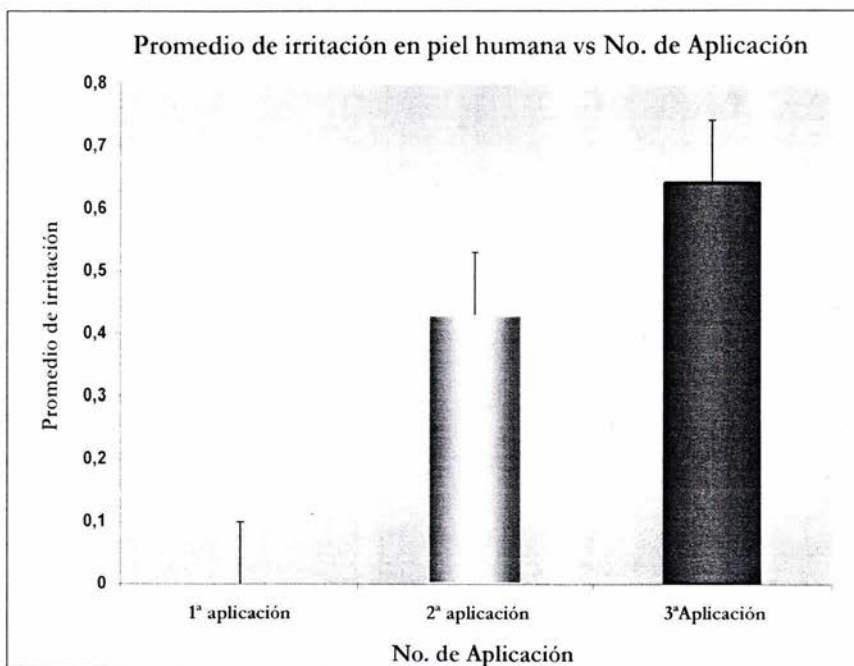




C: Prueba de irritación en piel de humanos

Tabla 10. Evaluación de irritación por voluntario y día de aplicación (ver nota)

# Voluntario	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	Promedio * día	Promedio final
1º Aplicación	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	
2º Aplicación	--	--	--	--	--	1	1	--	1	--	--	--	2	1	0.43	0.35
3º Aplicación	--	--	--	--	2	--	2	--	--	--	1	2	1	1	0.64	



Gráfica 4: Gráfica demostrativa del promedio por día de aplicación del jabón de Kiwi.

Nota: la evaluación se hizo mediante una observación general de la zona de aplicación; en los casos donde se presentó irritación, no se hizo distinción específica por producto ya que la irritación abarcaba toda el área, por lo que los valores fueron dados de igual manera a los 3 productos.

Según el criterio de aceptación (promedio final), los productos **si son aptos para su uso humano.**





Figura 6. Irritación en piel; superficie lateral del brazo





D. Prueba de irritación en piel de cobayo.

Tabla 11. Tabla que muestra el grado de irritación en piel de cobayo.

Producto	Cobayo #1	Cobayo #2	Cobayo #3	24h	48h	Concentración
Kiwi	NO HUBO REACCIÓN					25% 50% 75% 100%
Avena	NO HUBO REACCIÓN					25% 50% 75% 100%
Amaranto	NO HUBO REACCIÓN					25% 50% 75% 100%

No se obtuvo un mínimo de respuesta de irritación producida por los jabones en ninguno de los cobayos como para poder comprobar si estos causan o no irritación. Por lo tanto, los productos son **aptos para su uso en humanos**.



**E. Pruebas Microbiológicas.**

Tabla 12. Evaluación microbiológica de los jabones de Kiwi, Amaranto y Avena

Medios			JABONES DE AVENA	
	CST	CDS	Límites	Resultados
Control	ausencia de μoos	ausencia de μoos	<10 UFC/mL muestra	conforme
Muestra #1	ausencia de μoos	ausencia de μoos	<10 UFC/mL muestra	conforme
Muestra #2	ausencia de μoos	ausencia de μoos	<10 UFC/mL muestra	conforme
Muestra #3	ausencia de μoos	ausencia de μoos	<10 UFC/mL muestra	conforme
Medios			JABONES DE KIWÍ	
	CST	CDS	Límites	Resultados
Control	ausencia de μoos	ausencia de μoos	<10 UFC/mL muestra	conforme
Muestra #1	ausencia de μoos	ausencia de μoos	<10 UFC/mL muestra	conforme
Muestra #2	ausencia de μoos	ausencia de μoos	<10 UFC/mL muestra	conforme
Muestra #3	ausencia de μoos	ausencia de μoos	<10 UFC/mL muestra	conforme
Medios			JABONES DE AMARANTO	
	CST	CDS	Límites	Resultados
Control	ausencia de μoos	ausencia de μoos	<10 UFC/mL muestra	conforme
Muestra #1	ausencia de μoos	ausencia de μoos	<10 UFC/mL muestra	conforme
Muestra #2	ausencia de μoos	ausencia de μoos	<10 UFC/mL muestra	conforme
Muestra #3	ausencia de μoos	ausencia de μoos	<10 UFC/mL muestra	conforme





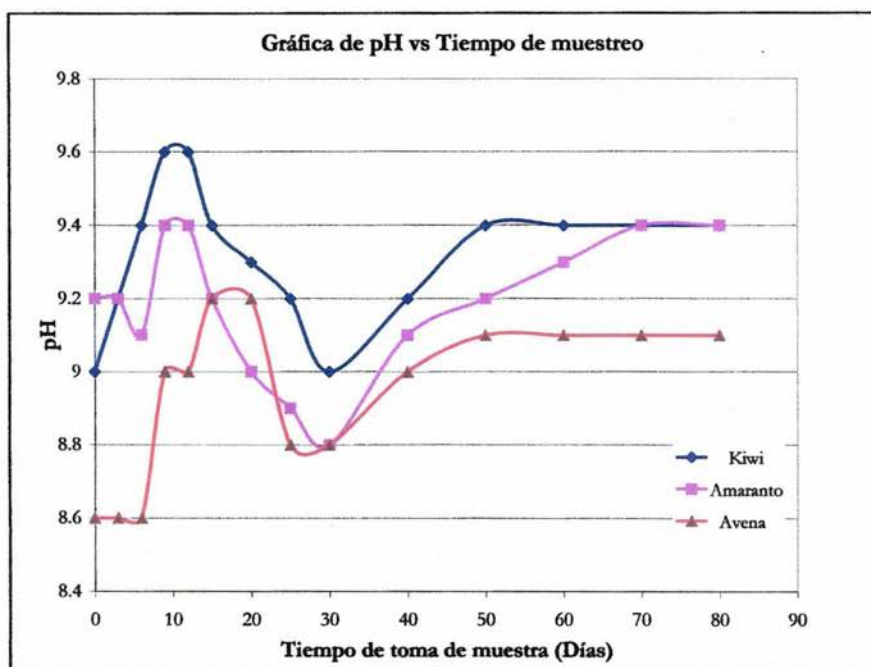
Tabla 13. Características físicas de los jabones antes y después del tiempo de almacenamiento.

Condiciones de almacenamiento: 40 °C, 70% de humedad y 80 días de almacenamiento.			
Jabón	Características	Previo almacenamiento	Después del almacenamiento
Kw	Apariencia Color Forma Olor	Clara, lisa y seca en su superficie Verde claro Forma del molde (rectangular) Inoloro	Grasosa y lisa Café oscuro Presenta contracción Ligero olor grasoso
Am	Apariencia Color Forma Olor	Traslúcida, lisa y seca con semilla depositada en el fondo Ligeramente amarillo Forma del molde (rectangular) Inoloro	Grasosa con ligera opacidad Sin cambio Sin cambio Inoloro
Av	Apariencia Color Forma Olor	Traslúcida, lisa y seca, grano distribuido en todo el jabón Ligeramente amarillo Forma del molde (rectangular) Inoloro	Grasosa con ligera opacidad Sin cambio Sin cambio Inoloro





F. Monitoreo de pH



Gráfica 5. Cambios de pH durante el tiempo de almacenamiento en los tres productos.

Con los datos de pH obtenidos, se realiza un análisis estadístico, en este caso un análisis de varianza (ANOVA) para comprobar si las estabildades de los productos son iguales o no durante el tiempo de almacenamiento. El resultado de la $F_{\text{Calc.}}$ es mayor que la $F_{\text{Teo.}}$, rechazando H_0 por lo que se realizó una prueba de Scheffe para detectar cuales de los pares de medias son diferentes. Finalmente se comprobó que las diferencias entre los pares de medias obtenidos de los jabones de avena con respecto a los otros jabones presentaron diferencia significativa. Esta prueba se hizo a todos los tiempos.





7. ANÁLISIS DE RESULTADOS.

Las pruebas de irritación que se realizaron en los distintos modelos biológicos (conejo, cobayo y humano), dieron resultados aceptables respecto al grado de irritación mínimo permitido según la NOM-039 para cosméticos, a excepción de la prueba de irritación ocular en conejo donde los productos presentaron una ligera irritación según la evaluación obtenida. Sin embargo, a pesar de cumplir con dichos valores mínimos, el resultado visible de la prueba realizada en piel humana, muestra claramente que estos jabones causan una irritación considerable; lo que indica que estos productos no son seguros pues consideramos que tal prueba es la de mayor importancia. A pesar de los resultados obtenidos, existieron diferencias en cuanto al nivel de respuesta presentada por cada modelo y producto.

La prueba de irritación ocular se realizó en conjuntiva, córnea e iris. Analizando cada estructura, observamos en la gráfica 1 que la córnea es la que presentó una mayor respuesta en los tres productos. Esta se presentó con un aumento en la secreción de líquido tisular el cual tiene como función limpiar y eliminar las sustancias que originan la reacción de irritación, humedeciéndose sólo la zona periférica del ojo¹⁹; lo que nos puede señalar que hubo un mayor grado de contactación de las soluciones jabonosas en esta estructura. En la conjuntiva, hay una respuesta muy similar a la observada en córnea; una vez que se intensificó la reacción de irritación, sufrió un engrosamiento lo que ocasionó una inflamación no tan severa. En cuanto al iris, es la estructura que presentó una menor respuesta, probablemente debido a un menor grado de contactación en esta parte del ojo.

Con respecto a la calificación final dada en la NOM-039, todos los jabones resultaron ser ligeramente irritantes (gráfica 2). Esto probablemente pudo deberse a la presencia de algún fragmento del macerado de kiwi, de semilla de amaranto o grano de avena, así como también pudo deberse a algunos de los componentes del jabón; pero no podemos comprobar de forma real los causantes de dicha reacción ya que no se hicieron análisis más específicos que nos ayudaran a señalar cual fue el agente que causó tal respuesta.





En el índice de irritación primaria en piel de conejo, se obtuvo en todos los casos un ligero eritema visto sólo durante las primeras 24 horas como se observa en la gráfica 3. Ninguno de los casos presentó edema. Estos resultados muestran que aún cuando los datos de irritación fueron mínimos, los jabones de avena y kiwi presentaron un mayor grado de eritema posiblemente debido a que en estos productos, la sustancia jabonosa pudo tener un mayor contacto con la piel, pues se sabe que el eritema se presenta cuando se da una congestión de los capilares ²⁰. Finalmente, en los jabones de amaranto no se obtuvo un grado de eritema considerable si los comparamos con los otros productos, posiblemente debido a un menor grado de contactación.

En la prueba de irritación realizada en piel humana la respuesta se fue incrementando durante las aplicaciones como se observa en la gráfica 4. En las primeras 24 horas de la prueba (1ª aplicación), ningún grado de irritación o sensación de comezón se presentó en los participantes. En la segunda aplicación se observaron casos de eritema ligero y ya en la última, sólo en algunos casos, se dio una mayor irritación. Esto se debió principalmente a un proceso de sensibilización de la piel al contacto con el jabón. En la superficie de contacto entre la piel y el jabón se pudo haber presentado una reacción entre la base del jabón (glicerina) y el agua proveniente de la humedad de la piel produciéndose una pequeña cantidad de NaOH, fenómeno conocido como higroscopicidad, dándose una desecación de las células de la piel al perder agua, dañándose la superficie de la epidermis y facilitando la penetración de las sustancias del jabón, lo que generó un aumento en la irritación de la misma (figura 6) a tal grado de incrementarse el grado de eritema y presentarse una mayor lesión ¹³.

En la prueba realizada con cobayos se aplicaron cuatro concentraciones por cada jabón (Tabla 11). Aquí no fue posible observar reacción mínima alguna, aún cuando la piel de cobayo es más sensible como para poder comprobar si estos jabones causaban o no irritación. Esto pudo deberse a la forma de aplicar las muestras para los jabones sólidos indicada en la NOM-039, los cuales se agregan como tal en los parches; pudiendo ocasionar un menor grado de contactación del jabón con la superficie de la piel ⁹.

En las pruebas microbiológicas, no hubo presencia de microorganismos objetables, ni aquellos que son específicos para cosméticos (tabla 12). Debido a las características químicas de los componentes de los jabones era difícil que se presentara el desarrollo de microorganismos, los cuales requieren en muchas ocasiones que se les proporcione





sustancias esenciales para su crecimiento así como condiciones ambientales adecuadas. En el caso de estos jabones, sus valores de pH pudieron ser un factor limitante para su desarrollo (pH 8.6-9.4), pues las condiciones más propicias para el crecimiento son pH de 7.2 a 7.6. Recordando que el efecto del pH sobre los índices de crecimiento microbiano se basa, en gran parte, en la naturaleza de las proteínas debido a la interacción de las cargas de los grupos R de los aminoácidos, las enzimas se inactivan normalmente a valores altos o muy bajos de pH. No sólo la concentración de iones H^+ determinaron tal resultado; también los nutrientes para su crecimiento y sobre todo, la forma en como estos se presentaron²². Aunque los jabones hayan sido de producto natural, sus componentes no estuvieron accesibles de forma sencilla para los microorganismos ya que el jabón contiene agentes antimicrobianos, los componentes se encuentran agregados dentro del producto natural y del jabón, y el pH es lo suficientemente básico como para que los microorganismos lo aprovechen y así se facilite su desarrollo.

El seguimiento realizado a los cambios de pH en los jabones, los cuales se almacenaron durante 80 días a 40°C y 70% de humedad, mostró un comportamiento similar que nos permite realizar algunas observaciones importantes. En la gráfica 5 se observó que durante los días 10 a 12 hubo un incremento en el pH de los tres productos; esto se origina a partir de un fenómeno conocido como higroscopicidad el cual se presenta cuando existen condiciones de temperatura y humedad altas, además de altas concentraciones de glicerina, ocasionando que se de la hidrólisis de la misma liberándose NaOH, e incrementándose la alcalinidad del jabón. Igualmente, en los jabones de avena, sólo que en éstos el aumento se vio entre los días 15 y 20. Podemos decir que esta diferencia se debió a la gran cantidad de producto natural presente en el jabón el cual, en cierta forma dificultó una mayor interacción del agua proveniente de la humedad con la base del jabón (glicerina). A partir de los 15 a 20 días, en los jabones de kiwi y amaranto se observó un descenso importante en la alcalinidad de las muestras; de igual manera en los jabones de avena entre los días 25 y 30. Este descenso en los valores de pH se origina cuando al liberar NaOH de la hidrólisis, el CO_2 del aire reacciona con el hidróxido de sodio y se forman pequeños cristales de carbonato de sodio (Na_2CO_3), que recubren la superficie de los jabones y por lo tanto se ve una disminución en la alcalinidad.

En los dos meses siguientes fue posible observar un paulatino aumento de pH hasta alcanzar un equilibrio. Posiblemente este incremento se deba a que el agua de la humedad





haya disuelto algo del Na_2CO_3 presente en la superficie, originando un ligero aumento en la alcalinidad, hasta llegar a un momento en el cual se dio un equilibrio entre estos dos fenómenos que serían: por un lado la formación de sosa, y por otro, la del carbonato de sodio.

Con respecto a los cambios de pH observados en la gráfica 5, podemos decir en cierta forma que los productos no poseen un comportamiento estable que nos permita asegurar una buena calidad de los mismos. Las posibles causas pueden ser:

- a) No haber utilizado estabilizantes que mantuvieran determinadas cualidades físicas y estéticas como son, modificadores de la cristalización y plastificantes que aumentaran la solubilidad de los mismos ¹⁴, ya que los jabones presentaron dificultades en su disolución.
- b) Los jabones de kiwi presentaron un importante cambio en su tonalidad que fue inicialmente de verde claro, hasta café oscuro durante el tiempo de almacenamiento (tabla 13). Pueden ser diversas causas, ya sea debido a la oxidación de la vitamina C, a la alta cantidad de agua que contiene (82-86%), o la degradación de algún otro componente del jabón; por lo que sería conveniente someter al macerado de kiwi a un proceso de eliminación de agua; por ejemplo, mediante el uso de sales de fosfato, o bien, el secado al horno para eliminar la mayor cantidad de agua posible ⁸.





8. CONCLUSIONES

- Los jabones no se pueden considerar seguros aun cuando cumplan con los valores mínimos necesarios para su uso según la NOM-039 y la no presencia de microorganismos que pudieran causar algún daño en la piel del consumidor según NOM-089; lo observado en la prueba de irritación en piel humana es un factor determinante para señalar que los jabones son no seguros.
- No presentaron un comportamiento estable en los valores de pH, por lo tanto, no se cumplió con el objetivo de demostrar que los jabones son de calidad ³⁶, de acuerdo a lo establecido en la ICH y a la evaluación realizada.
- Es recomendable utilizar una menor cantidad de producto natural y, si se desea aprovechar algunas propiedades de los principales componentes de los productos, es preferible manejar extractos de los mismos.
- Se recomienda una reformulación para estos productos.





9. ANEXOS

Anexo 1

Evaluación de Irritación Ocular

<p><i>Enrojecimiento</i> (conjuntiva palpebral y bulbar, excluyendo córnea e iris)</p> <p>Vasos normales 0 Vasos capilares con ligero enrojecimiento 1 Enrojecimiento 2 Enrojecimiento difuso intenso 3</p> <p><i>Quemosis</i></p> <p>No hay inflamación 0 Inflamación ligera, incluyendo membrana nictante 1 Inflamación con eversión parcial del párpado 2 Inflamación con párpados cerrados a la mitad 3 Inflamación con párpados totalmente cerrados 4</p> <p><i>Secreción</i></p> <p>Ausencia de secreción 0 Secreción ligera apenas perceptible 1 Secreción con humedecimiento de párpados y del pelo adyacente al borde palpebral externo 2 Secreción con humedecimiento de párpados y del pelo sobre grandes zonas alrededor del ojo 3</p>	Conjuntiva
<p><i>Grado de opacidad</i></p> <p>No hay opacidad 0 Ligera opacidad 1 Presencia de opacidad aún traslúcida con el iris ligeramente oscurecido 2 Presencia de opacidad con iris poco visible y contorno de la pupila difícilmente visible 3 Presencia de opacidad que hace al iris invisible 4</p> <p><i>Áreas de opacidad</i></p> <p>Menos de un cuarto 1 Entre un cuarto hasta la mitad 2 Más de la mitad y tres cuartos 3 De tres cuartos a toda el área 4</p>	Córnea
<p>Normal 0 Congestionado, con inyecciones circuncorneales, con iris reaccionando a la luz 1 No hay reacción a la luz 2</p>	Iris
<p>Tabla para la clasificación del producto según la NOM-039</p> <p>De 0.0 a 0.1 No irritante Más de 0.1 a 0.3 Ligeramente irritante Más de 0.3 a 0.5 Irritante Más de 0.5 a 1.0 Irritante severo</p>	



**Anexo 2****Evaluación del sitio de prueba en la piel de conejo.**

Eritema
0 No eritema 1 Eritema ligero, apenas perceptible 2 Eritema bien definido 3 Eritema de moderado a severo 4 Eritema severo (rojo betabel) Calificación máxima posible de eritema: 4
Edema
0 No edema 1 Edema ligero apenas perceptible 2 Edema ligero con bordes sobresalientes con elevación definida 3 Edema moderado, con una elevación máxima de 1 mm, aproximadamente 4 Edema severo, elevación mayor de 1 mm, se extiende más allá del sitio aplicado Calificación máxima posible de edema: 4
Cálculo del índice de irritación primaria:
<i>Índice de irritación primaria = Promedio de eritema + Promedio de edema.</i> Interpretación de resultados basándose en el Índice de Irritación Primaria, ubicar el producto en la siguiente categoría: 0 – 1 No irritante 1,1 – 2 Ligeramente irritante 2,1 – 5 Moderadamente irritante 5,1 – 6 Irritante moderado a severo 6,1 – 8 Irritante severo

ESTA TESIS NO SALE
DE LA BIBLIOTECA





Anexo 3

Escala de evaluación en piel humana

0	No se presenta reacción visible en la piel
0,5	Mayor que 0 y menor que 1
1	Eritema ligero definido, sin erupciones ni grietas en la piel o bien ausencia de eritema con presencia de resequedad
1,5	Mayor que 1 y menor que 2
2	Eritema moderado, puede presentarse algunas pápulas o fisuras profundas y presentarse eritema moderado o severo en las grietas
2,5	Mayor que 2 y menor que 3
3	Eritema severo (color rojo brillante), pueden presentarse pápulas generalizadas o eritema severo con edema ligero (bordes bien definidos y elevados)
3,5	Mayor que 3 y menor que 4
4	Vesículas generalizadas o eritema moderado a severo o edema que se extiende más allá del área del parche.

El producto es apto para uso humano si el **índice de irritación promedio final** es menor o igual a 1.5.





Anexo 4

FORMATOS (Prueba de Irritación en piel humana)

1 CARTA DE CONSENTIMIENTO

Yo _____ en pleno uso de mis facultades mentales estoy de acuerdo en usar el producto _____ en forma voluntaria y sin presión alguna, pudiendo desistir del estudio sin mayor aviso.
También señalo que he sido advertido de los posibles efectos adversos del producto en cuestión.

FECHA _____

FIRMA _____

2 CUESTIONARIO PARA LA PRUEBA DE IRRITACION EN PIEL EN HUMANOS

Participante No. _____
Nombre: _____ Edad _____ Sexo _____ (M/F) _____

- Por favor conteste "sí" o "no" a cada una de las siguientes preguntas:
- ¿Ha padecido alguna vez o actualmente padece?:
Describa las áreas afectadas
Psoriasis _____
Eczema _____
Otros problemas de la piel _____
Asma _____
Enfermedad del heno _____
Rinitis alérgica _____
 - ¿Padece ud. asma severo? Sí _____ No _____
 - ¿Ha padecido alguna vez cáncer en la piel? Sí _____ No _____
¿Padece esta enfermedad actualmente? Sí _____ No _____
 - ¿Ha visitado alguna vez a su médico con relación a alergias o a algún problema específico en la _____ piel? Sí _____ No _____
¿Lo padece actualmente? _____ ¿Cual fue/es su problema? _____
 - ¿Se encuentra usted usando algún medicamento con esteroides (administrado oralmente o aplicado como crema) en el tratamiento de alergia por contacto o erupciones en la piel? Sí _____ No _____
 - ¿Se le están administrando inyecciones de insulina para el tratamiento de diabetes? Sí _____ No _____
 - ¿Ha tenido usted algún trasplante de órgano que requiera el uso de medicamentos inmunodepresores? Sí _____ No _____
 - ¿Está usted recibiendo tratamiento para cualquier tipo de cáncer? Sí _____ No _____
 - Padece usted algún tipo de enfermedad de inmunodeficiencia (lupus, tiroiditis, etc.) Sí _____ No _____
 - ¿Ha participado usted alguna vez en una prueba de parche? Sí _____ No _____
¿Cuándo? _____ ¿Dónde? _____
 - ¿Es usted alérgico a alguno de los siguientes productos?
Sí No Mencione el nombre del producto
Shampoos _____
Jabones de tocador _____
Cremas de belleza _____
Perfumes _____
Lociones _____
Desodorantes/antiperspirantes _____
Sombras para los ojos _____
Bronceadores _____
Depiladores _____
Otros productos cosméticos _____
 - ¿Se le han extirpado nódulos linfáticos axilares? Sí _____ No _____
 - ¿Se le ha practicado mastectomía? Sí, lado derecho _____, Sí, lado izquierdo _____, Sí, ambos lados _____ No _____
 - Para ser contestada solamente para MUJERES:
¿Está usted tomando actualmente pastillas anticonceptivas? Sí _____ No _____
¿Está usted esperando bebé? Sí _____ No _____ ¿Está usted en periodo de lactancia? Sí _____ No _____
Tiene usted antecedentes de trastornos mentales? Sí _____ No _____

Firma _____ Fecha _____



**Anexo 5****Prueba de irritación en piel de cobayo**

Escala de evaluación:

0 = No hay evidencia de reacción

0.5 = Eritema muy ligero, apenas perceptible, presente solo en algunas áreas de aplicación del parche.

1 = Eritema ligero confluyente o eritema moderado pero irregular (desarrollado en el 50% del área de aplicación).

2 = Eritema moderado evidente.

3 = Eritema severo con o sin edema.





10. BIBLIOGRAFÍA

1. Finn Geneser. *"Histología, sobre bases moleculares"*. 3ª Edición. Medica Panamericana. México, 2000.
2. Ross, Romrell. *"Histología, Texto y Atlas a color"*. 3ª Edición. Medica Panamericana. México, 1998.
3. Arthur W. Ham, David H. Cormack. *"Tratado de Histología"*. 8ª Edición. Interamericana. México 1984. pp. 242-244.
4. Antonio T. Santos, F.G.Lorence. *"El Amaranto *Amaranthus spp*, Su cultivo y Aprovechamiento"*. Colegio de Posgraduados, Universidad de Chapingo, 1990.
5. Gabriel A. Iturbide, F.G.Lorence. *"Cultivo del Amaranto en México"*. Universidad de Chapingo, 1986.
6. Francis H.Webater. *"Oats:Chemistry & Technology"*. American Association of Cereal Chemists, Inc. St.Paul,Minnesota,USA. 1986.
7. Shaul P. Monselise. *"Handbook of fruit set and development"*. CRC Press,Inc. Boca Raton, Florida. 1986.
8. D.K.Salunkhe, S.S.Kadam. *"Handook of fruit science and technology: Production, Composition, Storage and Processing"*. Marcel Dekker,Inc. New York. 1995.
9. G.B.Seymour, J.E.Taylor. *"Biochemistry of Fruit Ripening"*. 1ª Edición. Chapman & Hall. London 1994.
10. Marcial I.Quiroga. *"Cosmética Dermatológica Práctica"*. 5ª Edición. El Ateneo. México. 1987.
11. Roberto Arenas. *"Dermatología: Atlas, Diagnóstico y Tratamiento"*. 2ª Edición. Mc Graw-Hill Interamericana. México, 1986 pp. 8-9 , 33-36.
12. E.W.Flick. *"Cosmetic & Toiletry formulations"*. 2ªEdición. Vol. 2. Nnuyes Publications. New Jersey 1992. pp. 743-749.
13. Milton Orkin, Howard I. Maibach. *"Dermatología"*. Manual Moderno. México. 1994.
14. Iginio Bonadeo. *"Cosmética, Ciencia y Tecnología"*. Ciencia 3. Madrid. 1988.
15. Poucher's. *"Perfumes, Cosmetics & Soaps"*. 10ª Edición. Kluwer Academic Publishers. London 2000.
16. Raymond R. Mayers. *"Pigments, Part 1"*. Treatise on Coatings. Vol 3. Marcel Dekker. New York, 1981. pp. 124-126.
17. D.F.Williams, W.H.Schimtt. *"Chemistry & Technology of the Cosmetics and Toiletries Industry"*. Blakie Academic and Professional. London, 1992.
18. André O.Barel, Maec Paye. *"Hanbook of Cosmetic Science and Technology"*. Marcel Dekker,Inc. New York, 2001. pp. 485-496.





19. J.B. Wilkinson, R.J. Moore. "Cosmetología de Harry". DÍAZ DE SANTOS, S.A. Madrid.1990.
20. Donald S. Orth. "Handbook of Cosmetic Microbiology". Cosmetic Science & Technology/ Vol. 12. Marcel Dekker, Inc. New York, 1993.
21. James H. Whittam. "Cosmetic Safety- A Primer for Cosmetic Scientists". Cosmetic Science & Technology/ Vol. 5. Marcel Dekker, Inc. New York, 1993.
22. Jon J. Kabara . " Cosmetic & Drug Preservation, Principles and Practice". Cosmetic Science & Technology/ Vol. 1. Marcel Dekker, Inc. New York, 1984.
23. P.Elsner, H.F.Merk. "Cosmetics Controlled Efficacy Studies and Regulation". Springer. New York, 1999. pp. 5, 33-34 , 71-74.
24. Eric Jungermann. "Glicerine, A key Cosmetic Ingredient". Vol 2. Cosmetic Science & Technology series. Marcel Dekker, Inc. New York, 1991. pp. 277-287 , 395-405.
25. G.F. Longman. "The Analysis of detergents & Detergent Products". John Wiley & Sons. Toronto, 1992. pp. 132.
26. L.G.Wade. "Química Orgánica". 2ª Edición. Prentice Hall. México, 1993. pp. 1224-1225.
27. Fernando G. Tamayo. "Fundamentos de Inmunología". UNAM, 1997.
28. James C, Boylan. "Handbook of Pharmaceutical Excipients". American Pharmaceutical Association Production Staff, 1991.
29. Cedric M. Smith. "Textbook of Pharmacology". W.B. Saunders Company. London, 1992. pp. 1075-1078.
30. Sobota. "Atlas de Anatomía Humana". Vol 1. 20ª Edición, Médica Panamericana,1999.
31. Arthur C. Guyton. "Tratado de Fisiología Médica". 9ª Edición. Interamericana Mc Graw-Hill,1998.
32. Maximino Martinez. "Catálogo de Nombres Vulgares y Científicos de Plantas Mexicanas". Fondo de Cultura Económica. México. 1987. pp. 53 , 75.
33. Norma Oficial Mexicana NOM-039. *Productos de Perfumería y Belleza. Determinación de los índices de Irritación ocular, Primaria dérmica y Sensibilización*. Secretaría de Salud. México, 1993.
34. Norma Oficial Mexicana NOM-089. *Métodos para la determinación del contenido microbiano en Productos de Belleza*. Secretaría de Salud. México, 1994.
35. P. Sanz Pedrero. " Físicoquímica para farmacia y biología". MASSON, S.A. Barcelona, 1996. pp. 920-925.
36. A. Pola Maseda. "Gestión de la Calidad". Marcombo, Boixareu Editores. Barcelona, 1988. pp. 9-12.





Internet:

www.juver.com/nutrición/frutas/kiwi.htm

escuela.med.puc.cl/publicaciones/Dermatología/estructura/Dermato Est 25.html

www.zonamedica.com.ar

www.omega.ilce.edu.mx

www.naturalnetcosmetics.com

www.lapeco.com.mx

