



**UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO**



**FACULTAD DE CIENCIA E INGENIERÍA EN ALIMENTOS**

**CARRERA DE INGENIERÍA BIOQUÍMICA**

---

**Tema: Desarrollo de un gel cosmético antiacné a partir de extracto etanólico de propóleo rico en flavonoides**

---

Trabajo de Titulación, modalidad Experiencias prácticas de Investigación y/o Intervención, previa la obtención del Título de Ingeniero Bioquímico, otorgado por la Universidad Técnica de Ambato, a través de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos.

**Autor:** Danny Paul Chango Apolo  
**Tutor:** Ph.D Orestes Darío López Hernández

AMBATO – ECUADOR

Julio - 2018

## **APROBACIÓN DEL TUTOR**

**Ph.D. Orestes Darío López Hernández**

### **CERTIFICA:**

Que el presente trabajo de titulación ha sido revisado minuciosamente y con prolijidad. Por lo tanto autorizo la presentación de este Trabajo de Titulación modalidad Experiencias prácticas de Investigación y/o Intervención, el mismo que cumple con las normativas establecidas dentro del Reglamento de Títulos y Grados de la Facultad.

Ambato, 15 de junio de 2018.



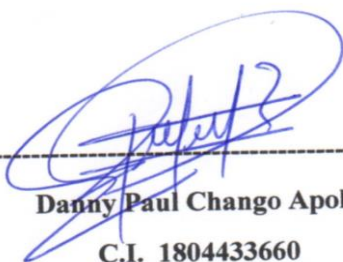
Ph.D. Orestes López Hernández

C.I. 1754784864

TUTOR

## DECLARACIÓN DE AUTENTICIDAD

Yo, Danny Paul Chango Apolo, declaro que soy responsable de las ideas, patrimonio intelectual, datos experimentales y resultados expuestos en el presente trabajo de titulación, previo a la obtención del título de Ingeniero Bioquímico, con absoluta originalidad, a excepción de las referencias bibliográficas.



**Danny Paul Chango Apolo**

**C.I. 1804433660**

**AUTOR**

Ms. I. 02M

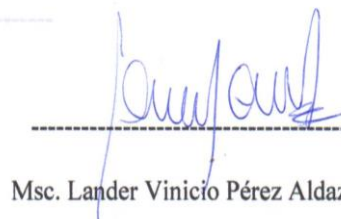
## APROBACIÓN DEL TRIBUNAL DE GRADO

Los suscritos profesores calificadores, aprueban el presente Trabajo de Titulación modalidad Experiencias Prácticas y/o Intervención, mismo que ha sido elaborado conforme las disposiciones emitidas por la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos de la Universidad Técnica de Ambato.

Por constancia firman:

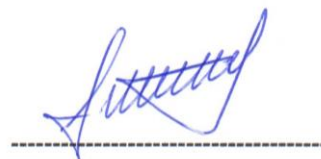


Presidente del tribunal



Msc. Lander Vinicio Pérez Aldaz

CI: 180270659-6



Msc. Yunys Pérez Betancourt

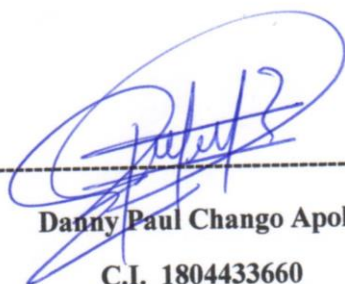
CI: 175647274-0

**Ambato, 02 de Julio de 2018**

## **DERECHOS DE AUTOR**

Autorizo a la Universidad Técnica de Ambato, para que haga de este Proyecto de Investigación o parte de él, un documento disponible para su lectura, consulta y procesos de investigación, según las normas de la Institución.

Cedo los derechos en línea patrimoniales de mi Proyecto, con fines de difusión pública, además apruebo la reproducción de este Proyecto dentro de las regulaciones de la Universidad, siempre y cuando esta reproducción no suponga una ganancia económica y se realice respetando mis derechos de autor.



**Danny Paul Chango Apolo**

**C.I. 1804433660**

**AUTOR**

Msc. L. 91

## **DEDICATORIA**

Con mucho cariño dedico este trabajo principalmente a mis Padres por el sacrificio, apoyo y esfuerzo que me han brindado día a día, ya que gracias a ellos he podido ir cosechando valores y principios que me han permitido tomar las mejores decisiones para ir forjando mi vida. A mis hermanos que siempre me han apoyado con paciencia y ejemplo. A mi familia que siempre se han preocupado por guiarme por buen camino y siempre apoyarme en los momentos más difíciles. A mis amigos de universidad que siempre hacían llevaderas las clases con su alegría y positivismo, me impulsaban a seguir adelante con las metas propuestas. Una especial dedicatoria a mi esposa que siempre con su amor y paciencia supo impulsarme a seguir adelante, a mi hija que es mi motivación en esta vida.

## **AGRADECIMIENTOS**

A mis padres, Luis, Clara y Alcira, que siempre supieron apoyarme en todo momento brindándome su amor, paciencia y consejos para seguir adelante.

A mis amigos y compañeros de aula con los que compartí toda mi vida universitaria llenándome de emociones y alegrías.

Al grupo de Laboratorios Génesis por brindarme la oportunidad de poder ser parte de su grupo de trabajo e investigación en especial a la Ing. Marthita Viera quien supo guiarme en este trabajo de investigación.

A mis docentes de la Facultad quienes con sus enseñanzas hicieron de mí una personas profesional y lleno de valores. En especial a mi tutor Dr. Orestes López por el apoyo y la confianza brindada en este trayecto de titulación

## ÍNDICE GENERAL DE CONTENIDOS

### PÁGINAS PRELIMINARES

<b>Portada .....</b>	<b>i</b>
<b>Aprobación del tutor.....</b>	<b>ii</b>
<b>Declaración de autenticidad.....</b>	<b>iii</b>
<b>Aprobación del tribunal de grado.....</b>	<b>iv</b>
<b>Derechos de Autor.....</b>	<b>v</b>
<b>Dedicatoria.....</b>	<b>vi</b>
<b>Agradecimiento.....</b>	<b>vii</b>

### TEXTO

#### CAPITULO I

##### EL PROBLEMA

1.1. Tema .....	3
1.2 Justificación.....	3
1.3 Objetivos .....	5

#### CAPITULO II

##### MARCO TEÓRICO

2.1 Antecedentes Investigativos .....	6
2.1.1 Generalidades del propóleo .....	6
2.1.2 Composición Química del Propóleo .....	6
2.1.3 Propiedades del Propóleo .....	7
2.1.4 Flavonoides .....	7
2.1.5 Acné.....	8
2.1.6 Aplicaciones Industriales del Propóleo .....	8
2.1.7 Usos Cosméticos del Propóleo .....	9



2.1.8 Productos Cosméticos .....	9
2.1.9 Geles Cosméticos.....	10
2.1.10 Excipientes .....	10
2.2 Hipótesis .....	11
2.3 Señalamiento de variables de la hipótesis .....	12

### **CAPITULO III**

#### **MATERIALES Y MÉTODOS**

3.1 Materiales.....	13
3.2 Métodos .....	13
3.2.1 Limpieza del propóleo.....	13
3.2.2 Obtención del Extracto Etanólico de Propóleo.....	13
3.2.3 Extracción del EEP .....	14
3.2.4 Determinación del contenido de flavonoides en el extracto etanólico de propóleo mediante espectrofotometría UV-visible. ....	15
3.2.5 Identificación cualitativa de flavonoides.....	16
3.2.6 Caracterización Sensorial del EEP .....	17
3.2.7 Determinación de la Densidad Relativa del EEP.....	17
3.2.8 Determinación del pH del EEP.....	18
3.2.9 Diseño de la Formulación del Gel antiacné.....	18
3.2.10 Estabilidad del producto cosmético .....	19
3.3 Análisis Estadístico.....	19

### **CAPITULO IV**

#### **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

4.1 Análisis y discusión de resultados .....	20
4.1.2 Obtención del extracto etanólico de propóleo .....	20
4.1.3 Identificación cualitativa de flavonoides mediante la prueba Shinoda .....	21

4.1.4 Determinación del contenido de flavonoides en el EEP mediante espectrofotometría UV-visible.....	21
4.1.5 Características sensoriales del extracto etanólico de propóleo .....	27
4.1.6 Caracterización físico-química del extracto etanólico del propóleo. ....	28
4.1.7 Formulación del Gel Antiacné.....	29
4.1.8 Estabilidad del producto.....	30
4.1.9 Evaluación de la formulación del gel cosmético antiacné.....	31
4.1.10 Control de Calidad del gel cosmético antiacné.....	33
4.2 Verificación de Hipótesis.....	35

## **CAPITULO V**

### **CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES**

5.1 Conclusiones .....	36
<b>5.2 Recomendaciones</b> .....	<b>37</b>

### **REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

Referencias Bibliográficas .....	38
Anexos .....	43

## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla No.	1	Factores utilizados para el diseño factorial 2 <sup>n</sup> .....	15
Tabla No.	2	Métodos para evaluación de estabilidad.....	19
Tabla No.	3	Matriz experimental para la obtención del EEP.....	20
Tabla No.	4	Absorbancia de la quercetina para la curva de calibración.....	22
Tabla No.	5	Absorbancias de las muestras de propóleo.....	23
Tabla No.	6	Concentración de Flavonoides expresados como mg/ml de quercetina.....	24
Tabla No.	7	Características sensoriales del EEP.....	28
Tabla No.	8	Caracterización físico-química del extracto etanólico de propóleo	29
Tabla No.	9	Ficha técnica de estabilidad .....	30
Tabla No.	10	Evaluación de la aceptación comercial del gel cosmético antiacné.....	31
Tabla No.	11	Aceptación del gel cosmético terminado.....	32
Tabla No.	12	Control de parámetros de calidad del gel antiacné a base de propóleo.....	33

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura	1	Reacción de Shinoda.....	16
Figura	2	Reacción de Shinoda resultado de la prueba.....	21
Figura	3	Curva de Calibración de quercetina	22
Figura	4	Diagrama de Pareto de efectos estandarizados para la concentración de flavonoides en las muestras de EEP	25
Figura	5	Principales efectos sobre la concentración de flavonoides en el propóleo	26
Figura	6	Grafica de cubo para la concentración de flavonoides. Evaluación de las interacciones de los dos niveles de los tres factores.	27

## RESUMEN

Se obtuvo un extracto etanólico de propóleo rico en flavonoides con un proceso de maceración alcohólica. Tomando en cuenta factores como la concentración de etanol, el tiempo de reposo y el tiempo de agitación. Los flavonoides poseen muchos beneficios para el cuidado de la piel al ser sustancias antioxidantes, cicatrizantes, antiinflamatorias y antimicrobianas, por tal motivo son de mucho interés para la industria cosmética. Posteriormente a la obtención del extracto etanólico de propóleo se valoró la concentración de flavonoides en las muestras de extracto, aplicando un diseño experimental completo factorial  $2^3$  con dos réplicas, este análisis determinó cuál es la mejor interacción de los factores de estudio para obtener mayor concentración de flavonoides, la cantidad de flavonoides se valoró mediante espectrofotometría UV, con la preparación de una curva de calibración con quercetina y obteniendo las absorbancias de las muestras. Posteriormente se calculó la concentración de flavonoides expresados en base líquida como mg/ml de quercetina en donde se obtuvo como resultado que el tratamiento AC, es decir la combinación de etanol al 96%, el tiempo de reposo de 21 días y una agitación diaria de 30 minutos en el proceso de maceración obteniendo  $5,38 \pm 0,01$  de flavonoides. Este extracto se utilizó para la formulación del gel cosmético antiacné analizando la compatibilidad con otros excipientes. Se realizó los análisis de estabilidad y control de calidad del producto terminado para que la empresa LabGénesis pueda obtener la notificación sanitaria y pueda realizar su comercialización.

**Palabras clave:** extracto etanólico de propóleo, flavonoides, gel cosmético, antiacné, afecciones de la piel, espectrofotometría UV, LabGénesis.

## ABSTRACT

An ethanolic extract of propolis rich in flavonoids was obtained with a process of alcoholic maceration. Taking into account factors such as ethanol concentration, resting time and agitation time. Flavonoids have many benefits for skin care as they are antioxidant, healing, anti-inflammatory and antimicrobial substances, which is why they are of great interest for the cosmetics industry. After obtaining the ethanolic extract of propolis, the flavonoid concentration was evaluated in the extract samples, applying a complete factorial experimental design 2<sup>3</sup> with two replicas, this analysis determined which is the best interaction of the study factors to obtain a higher concentration of flavonoids, the amount of flavonoids was assessed by uv spectrophotometry, with the preparation of a calibration curve with quercetin and obtaining the absorbances of the samples. Subsequently, the concentration of flavonoids expressed in liquid base was calculated as mg / ml of quercetin, where it was obtained that the AC treatment, that is to say the 96% ethanol combination, the rest time of 21 days and a daily agitation of 30 minutes in the maceration process obtaining  $5.38 \pm 0.01$  flavonoids. This extract was used for the formulation of the anti-acne cosmetic gel analyzing the compatibility with other excipients. The analysis of stability and quality control of the finished product was carried out so that the company LabGénesis could obtain the health notification and be able to make its commercialization.

**Key words:** propolis ethanolic extract, flavonoids, cosmetic gel, anti-acne, skin conditions, uv spectrophotometry, Lab Genesis.

## INTRODUCCIÓN

El propóleo es una sustancia resinosa recolectada por las abejas de exudados de plantas, principalmente es utilizado para sellar herméticamente la colmena e impedir la proliferación de infecciones dentro de ella. Es una sustancia conocida por sus innumerables propiedades antimicrobianas y antioxidantes, las cuales son atribuidas principalmente a los flavonoides que posee en su composición. Los flavonoides son considerados como uno de los principales compuestos activos del propóleo y son los responsables de marcar la calidad de los mismos (*Martínez, 2008*).

El extracto de propóleo presenta ciertos efectos sobre bacterias y hongos, además tienen la capacidad de retardar y prevenir reacciones de oxidación. Por tal razón los extractos de propóleo se han convertido en productos naturales de mucho interés dentro de la industria alimenticia y cosmética, para ser utilizados como productos sustituyentes de los aditivos sintéticos (*Martínez, 2005*).

El cuidado de la piel es una actividad de interés por parte de la industria cosmética, y tiene gran importancia, ya que una piel bien cuidada es sinónimo de salud, razón por la cual a nivel global se invierte mucho dinero en productos de uso cosmético para mantener el cuidado biológico de la piel del ser humano (*Mora, 2013*).

Un problema muy común en la piel es el acné, cuyo padecimiento afecta al 30 % de la población de 25 años en adelante y un 70 % a los jóvenes entre 12 y 20 años, causado principalmente por el cambio hormonal que en esta edad se presenta, producción y aumento de grasa, problemas de estrés y la ingesta de algunos alimentos y fármacos. Este padecimiento puede presentarse de manera leve y crónica en algunos casos y puede contribuir de forma significativa a problemas psicológico y social. Esta afección puede presentarse hasta los 40 años (*Mosquera, 2015*).

Para el tratamiento del acné, las industrias cosméticas y farmacéuticas han desarrollado productos con el uso de antibióticos sintéticos y semi-sintéticos que pueden ser usados de

manera sistémica o tópica, principalmente en la elaboración de cosméticos los cuales son de fácil uso, varias formas de presentación y por su estructura presentan alta distribución y absorción (*Romeral, 2010*).

Estudios realizados demuestran varios efectos microbianos y antioxidantes en los extractos del propóleo debido a los metabolitos secundarios presentes en su estructura, entre ellos los flavonoides (*Ortega, 2011*), el cual es base importante de la investigación en la formulación del gel cosmético propuesto en este estudio. La investigación se desarrolló en el Laboratorio Génesis conjuntamente con la carrera de Ingeniería Bioquímica de la Universidad técnica de Ambato, y tiene por objetivo la elaboración de un gel cosmético antiacné a base de extracto de propóleo rico en flavonoides.



# CAPÍTULO 1

## EL PROBLEMA

### 1.1. Tema

DESARROLLAR UN GEL COSMÉTICO ANTIACNÉ A PARTIR DE EXTRACTO ETANÓLICO DE PROPÓLEO RICO EN FLAVONOIDES

### 1.2 Justificación

Desde el inicio de su historia, el hombre ha utilizado recursos naturales para satisfacer sus necesidades como la alimentación, alojamiento, vestimenta y protección personal, con el fin evitar efectos causados por la acción del viento, sol y otros agentes externos. Por tanto se realizaba el uso de preparados naturales y materias primas provenientes del reino animal o vegetal para tales fines (*Coello, R. 2012*).

En la actualidad existe una gran diversidad de patologías que se tratan a través del uso de productos naturales, obteniendo buenos resultados, excelente efectividad y optimización de costos de producción, despertando un enorme interés en el aprovechamiento de la biodiversidad de los productos naturales.

El propóleo es utilizado en distintas industrias alimenticias, agroindustrias e industrias farmacéuticas en Ecuador para la creación de productos innovadores que logren cumplir con las necesidades de los consumidores y a la vez logren impulsar el desarrollo de la matriz productiva del país (*Bankova et al., 2016*).

Los propóleos son productos naturales provenientes de la mezcla de polen, resinas, ceras, secreciones glandulares y exudados de diferentes árboles recogidas por las abejas y fabricadas por un proceso de masticación dentro de la colmena.

Según *Osés et al., (2015)*, entre los principales beneficios del propóleo se encuentra su excelente acción antibacteriana, anti fúngica, antioxidante a demás contiene efectos dermatológicos actuando principalmente en la cicatrización de heridas, rápida

desinflamación y restauración de la epidermis, estas propiedades están atribuidas por el alto contenido de flavonoides que posee en su estructura (*Arelis, R. 2016*).

Los flavonoides son sustancias naturales presentes en vegetales que son sintetizados a partir de una molécula de fenilalanina y 3 de malonil-CoA, a través de lo que se conoce como la ruta metabólica de los flavonoides (*Menendez, C. 2012*). Estos pigmentos naturales se encargan de proteger al organismo del daño producido por oxidación producido por efectos de agentes oxidantes, polución ambiental, sustancias químicas presentes en los alimentos, etc. (*Martínez, S. 2002*).

Una de las afecciones dérmicas más comunes que afecta a la epidermis, es el acné, desarrollado principalmente en etapa adolescente. Esta enfermedad provoca daños, tanto físicos, como psicológicos en los individuos que lo padecen. De allí la importancia de buscar productos naturales activos, que contribuyan en el campo de la medicina natural, y permitan el desarrollo de productos cosméticos, con el objetivo de curar y prevenir enfermedades dermatológicas (*Strauss. 2010*).

Este proyecto está enfocado en el aprovechamiento de las propiedades de los flavonoides utilizados como principio activo obtenido en el extracto etanólico de propóleo como un producto natural activo, que combinado con distintos excipientes permita el diseño y formulación de un gel cosmético antiacné eficaz, el cual logre disminuir los problemas severos de acné y a su vez contribuir con los problemas ambientales provocados por la utilización de principios activos químicos en los productos cosméticos antiacné ya existentes en el mercado.

## **1.3 Objetivos**

### **1.3.1 Objetivo General**

- Desarrollar un gel cosmético antiacné a partir de extracto etanólico de propóleo rico en flavonoides.

### **1.3.2 Objetivos Específicos**

- Obtener el extracto de propóleo mediante maceración alcohólica.
- Determinar la concentración de flavonoides en el extracto etanólico de propóleo.
- Diseñar experimentalmente la fórmula cosmética del gel antiacné.
- Evaluar la estabilidad del producto cosmético terminado.

## CAPITULO II

### MARCO TEÓRICO

#### 2.1 Antecedentes Investigativos

##### 2.1.1 Generalidades del propóleo

El propóleo es una mezcla de ceras, polen, resinas y exudados vegetales que la abeja recolecta y procesa mediante masticación. Es considerado como el “arma química” de las abejas en contra de microorganismos patógenos externos que puedan amenazar el panal (*Jain et al., 2014*).

El término propóleo proviene de la antigua Grecia y proviene del latín propóleos, pro (en frente de) y de poleos (ciudad), utilizado para la defensa de la colmena. Las abejas usan el propóleo en finas capas en las cavidades de la colmena como recubrimiento para bloquear o reparar agujeros o grietas y proteger la entrada de la misma (*Ocampo 2007*).

La contextura del propóleo es parecida a una goma tipo resina de composición compleja que puede presentar un color acre, pardo o negro y de olor muy variable dependiendo mucho de su origen botánico. A temperaturas de 15 °C es duro, mientras aumenta la temperatura se va haciendo moldeable (*Farre, 2004*).

##### 2.1.2 Composición Química del Propóleo

La composición química del propóleo es muy compleja y heterogénea, está relacionada directamente con la ubicación geográfica, la vegetación y el clima del lugar de asentamiento de la colmena (aproximadamente 2 km de radio) (*Ocampo 2007*).

A inicios del siglo XX, solo se había determinado una composición general de los propóleos, se conocía la presencia de resinas, componentes volátiles, ceras y material insoluble, ya que el material presenta resistencia al fraccionamiento.

En la actualidad y mediante estudios se puede decir de manera general que todos los propóleos presentan una mezcla química de resinas, grasas, fibras, azúcares, minerales, aminoácidos, compuestos fenólicos, vitaminas, cera de abeja y compuestos orgánicos como flavonoides (*Peña, 2008*).

### **2.1.3 Propiedades del Propóleo**

Al propóleo se le atribuyen muchas propiedades en la medicina como: antibiótico, antiséptico, antioxidante, antimicótico, cicatrizante, analgésico, antituberculoso, antiviral, en el caso de afecciones dérmicas es utilizado para la curación de quemaduras, tratamiento del acné, estimula la formación de colágeno y excelente regenerador del tejido epitelial (*Ortega, 2011*).

La mayoría de estas propiedades se deben a la presencia de flavonoides en su composición química. Estas sustancias están distribuidas en gran cantidad de la vegetación del mundo, son encargados de brindar la coloración de las hojas, flores y frutos (*Ochoa, 2004*).

### **2.1.4 Flavonoides**

Los Flavonoides se definen como un polifenol que contiene más de un anillo bencénico en su estructura, arreglados bajo un sistema C6-C3-C6. Comprenden varias clases de sustancias naturales que se encuentran distribuidas en la vegetación (*Salamanca et al, 2007*). Actualmente son considerados como unos de los principales componentes bioactivos del propóleo, actuando como antioxidantes, antiinflamatorios y antimicrobianos, razón por la cual es utilizado contra afecciones bacterianas o fúngicas destruyendo sus células y dificultando la difusión de sus toxinas (*Chaillou et al, 2004*).

### **2.1.5 Acné**

El acné (*acné vulgaris*), es una enfermedad de la piel caracterizada por la inflamación de las glándulas sebáceas y cambios en la estructura de la piel, ocasionando la obstrucción de poros y aparición de diversas lesiones cutáneas. Representa una problemática y preocupación en gran parte de la población ya que afecta a niños, jóvenes y adultos de toda raza y condición social, ocasionando muchas de las veces diversas consecuencias y efectos sociales (*Bautista et al. 2011*).

Según *Strauss (2010)*, el acné se presenta cuando las glándulas sebáceas producen gran cantidad de aceite provocando que el poro cutáneo sufra un taponamiento, acumule desechos, suciedad, bacterias y células inflamatorias, lo que finalmente desencadena en la inflamación de la piel dando lugar a las llamadas espinillas, barros o puntos negros.

Debido a las consecuencias sociales y los diversos efectos que el acné provoca en las personas que lo padecen, gran parte de las casas cosméticas y médicas en el mundo dedican tiempo a su estudio e investigación, con el fin de desarrollar productos que ayuden a reducir los efectos y consecuencias del acné (*Mora, 2013*).

### **2.1.6 Aplicaciones Industriales del Propóleo**

Dentro de la industria alimenticia el propóleo es muy utilizado, en preparados masticables, comprimidos, jarabes, extractos, tinturas, cápsulas y mezclas con miel que ayudan a combatir afecciones digestivas, respiratorias, circulatorias y bucales. Además de aportar con el aumento de las defensas y resistencia del organismo frente a organismos que puedan desencadenar infecciones (*Ochoa, 2004*).

El propóleo es muy investigado dentro de la industria cosmética, especialmente por sus propiedades regenerativas, antiinflamatorias y cicatrizantes, ya que permiten el desarrollo y fabricación de bálsamos, ungüentos, preparados y cremas cosméticas

biodegradables, que permitan el tratamiento y curación de afecciones dérmicas, obteniendo excelentes resultados, reduciendo costos y contribuyendo el cuidado ambiental (*Mora, 2013*).

### **2.1.7 Usos Cosméticos del Propóleo**

En la actualidad existe un avance importante en la fabricación de geles cosméticos a base de propóleo como principio activo natural, la cantidad de propiedades que se ha estudiado y descubierto de este material, lo ha catapultado como gran material para la fabricación de nuevos productos en contra de afecciones dermatológicas tales como el acné (*Romeral, 2010*).

### **2.1.8 Productos Cosméticos**

Los preparados cosméticos semisólidos para aplicación cutánea, actualmente engloban más del 90 % en la producción del mercado comercial, con una enorme aceptación por parte del consumidor ya que este busca en el producto obtener efectos de liberación transdérmica y local con acción activa, emoliente o protectora (*Mora, 2013*).

Generalmente para la preparación del cosmético semisólido, se utilizan bases en la que pueden estar disueltos o dispersos uno o más principios activos. Las bases pueden ser simples o compuestas y además pueden estar constituidas por sustancias de origen natural y sintético. Dependiendo de la naturaleza de la base, esta puede tener propiedades hidrófobas o hidrófilas, y se pueden complementar con excipientes como agentes emulgentes, agentes antioxidantes, estabilizantes, agentes de penetración y conservantes, con el fin de obtener mejores efectos en el producto (*Rodríguez, 2004*).

Se puede encontrar varias categorías de preparados semisólidos para aplicación cutánea, entre ellos:

- Cremas
- Pomadas
- Pastas
- Geles

### **2.1.9 Geles Cosméticos**

Los geles cosméticos son preparados cosméticos formados por líquidos gelificados con una consistencia semisólida o fluida (*Yambai, 2013*).

Existen geles de base emulsionada de tipo lipófilo denominados oleogeles, estos preparados tienen la función de evitar la pérdida de agua, facilita la permeabilidad de los principios activos actuando directamente en las células de la piel y estimulando la generación de colágeno y elastina. Y existen los preparados de base emulsionada de tipo hidrófilo que contienen en su estructura generalmente agua, logrando una mayor penetración, pero a diferencia de los oleogeles permite que el agua se evapore en la piel, por lo que disminuye su hidratación (*Betageri et al, 2013*).

Generalmente todos los geles tienen algunas características en común, al poseer una consistencia semisólida fluida, de aspecto transparente o turbio, comportamiento pseudoplástico, y una conformación continua (*Arellis, R. 2016*).

### **2.1.10 Excipientes**

Los excipientes son sustancias que ayudan de manera auxiliar a la formulación cosmética o farmacéutica de los productos, su papel más importante es el soporte del principio activo del preparado, aunque también puede influir en la penetración del activo en lugares profundos situados en la dermis, contribuyendo de este modo con la eficacia del preparado. Dependiendo de la naturaleza de la base los excipientes pueden ser agentes: conservantes, antioxidantes, antimicrobianos, estabilizantes, espesantes, potenciador de la penetración, agentes aclarantes y emulgentes (*Proaño, 2013*).

Los excipientes utilizados para la elaboración del gel cosmético antiacné confieren distintas características que hacen posible la conformación del gel deseado.



El ácido poliacrílico (carbopol) es una sustancia muy utilizada para la formación de geles por su gran capacidad de dispersarse en agua, suele utilizarse en pequeñas cantidades ya que puede absorber gran cantidad de agua dando lugar a geles de alta viscosidad (*Mendez, E. 2008*).

La glicerina es un alcohol líquido utilizado ampliamente en la elaboración de diversos productos cosméticos, entre sus principales beneficios esta su acción hidratante, alta efectividad contra irritaciones de la piel, picaduras de insecto, quemaduras y especialmente contra el acné (*Mendez, E. 2008*).

Finalmente, la trietanolamina (TEA), es una amina que posee gran versatilidad para formar sales, jabones, geles, etc. Es ampliamente utilizado en productos de cuidado personal como regulador de pH, emulsionante y agente tensoactivo (*Orantes, M. 2008*).

## **2.2 Hipótesis**

### **2.2.1 Efecto de la variación de la concentración de etanol, tiempo de agitación y tiempo de reposo sobre la concentración de flavonoides contenidos en el extracto etanólico de propóleo.**

#### **Hipótesis Nula**

La variación de concentración de etanol, tiempo de reposo y tiempo de agitación no afecta la concentración de flavonoides contenidos en el extracto etanólico de propóleo.

#### **Hipótesis Alternativa**

La variación de concentración de etanol, tiempo de reposo y tiempo de agitación afecta la concentración de flavonoides contenidos en el extracto etanólico de propóleo.

## **2.3 Señalamiento de variables de la hipótesis**

### **2.3.1 Evaluación de la concentración de flavonoides en el extracto etanólico de propóleo**

- **Variables independientes:**

Concentración de etanol, tiempo de reposo y tiempo de agitación.

- **Variable dependiente**

Concentración de flavonoides en el EEP.

## **CAPÍTULO III**

### **MATERIALES Y MÉTODOS**

#### **3.1 Materiales**

Balanza analítica (Citizen U.S.A), pH metro (pH 510 series OAKION), incubadora (Menmert, Alemania), agitador eléctrico, dosificadora de líquidos, espectrofotómetro de luz UV (Thermo Scientific evolution 201), picnómetro (Marienfeld, Alemania), plancha de calentamiento (IKA CMAG H57), pinzas, plástico, papel aluminio, tubos de ensayo, frascos de vidrio, quercetina, etanol al 96 %, agua destilada, ácido poliacrílico, glicerina, trietanolamina, colorante y aroma.

#### **3.2 Métodos**

El propóleo crudo fue obtenido de colmenas ubicadas en el Cantón Cevallos provincia de Tungurahua.

##### **3.2.1 Limpieza del propóleo**

La limpieza del propóleo se realizó en una bandeja de acero inoxidable, donde se depositó y se procedió con su inspección, con una pinza se retiró los contaminantes macroscópicos que se observaron en los trozos de propóleo tales como: restos de abejas, trozos de madera, restos vegetales, polen, ceras y resto de pintura (ver Anexo A).

##### **3.2.2 Obtención del Extracto Etanólico de Propóleo**

Para el proceso de obtención del EEP (extracto etanólico de propóleo), se tomó 80 g de propóleo y se trituro hasta convertirlo en polvo.

La extracción se basó en la adición de etanol en dos concentraciones diferentes para obtener una maceración alcohólica del propóleo en polvo, este proceso se realizó con agitación diaria y tiempo de reposo del macerado con diferentes intervalos de tiempo.

### 3.2.3 Extracción del EEP

Para la obtención del extracto etanólico del propóleo, se colocaron 5 g de propóleo triturado en un recipiente de vidrio ámbar y se adicionó 30 ml de etanol, se tapó el recipiente para evitar la evaporación del etanol y se dejó reposar con agitación diaria, finalmente se realizó la filtración del macerado.

Se realizó una segunda fase de maceración, en la cual se colocó el residuo obtenido anteriormente, se colocó en un recipiente ámbar y se adicionó 20 ml de etanol, se tapó para evitar procesos de evaporación, se dejó reposar con un proceso de agitación, aplicando intervalos de tiempo, finalmente se filtró.

Se realizó una fase final de maceración en la cual se obtuvo el extracto de propóleo rico en flavonoides, se recolectó el residuo de propóleo de la segunda fase, se colocó en un frasco ámbar para evitar evaporación y se adicionó 15 ml de etanol, se dejó reposar con períodos de agitación en intervalos de tiempo, finalmente se filtró el macerado obteniendo el extracto etanólico.

Con el proceso descrito se requiere determinar el método adecuado que permita obtener extracto etanólico de propóleo con alta concentración de flavonoides, para lo cual se aplicó una serie de combinaciones con respecto a la concentración de etanol utilizado, intervalos de tiempo de reposo e intervalos de tiempo de agitación en el tiempo de macerado. Se utilizó el diseño factorial experimental  $2^n$  con su respectivo análisis de varianza, lo que permitió evidenciar los factores relevantes para obtener resultados positivos.

El proceso de maceración se realizó por duplicado en cada combinación y se empleó dos niveles de concentración de etanol, al igual que dos niveles en el tiempo de agitación y tiempo de reposo como se puede evidenciar en la tabla No 1.

**Tabla No.1 Factores utilizados para el diseño factorial 2<sup>n</sup>**

<b>Factores</b>		<b>Niveles</b>	
		<b>Alto (+)</b>	<b>Bajo (-)</b>
A	Etanol	96 %	70 %
B	Tiempo de reposo	21 días	15 días
C	Agitación diaria	30 min	15 min

### **3.2.4 Determinación del contenido de flavonoides en el extracto etanólico de propóleo mediante espectrofotometría UV-visible.**

#### **3.2.4.1 Tratamiento de la muestra**

Se colocaron 100 µl del extracto etanólico de propóleo en un balón de aforo de 10 ml y se añadió 200 µl de solución de acetato de potasio 1 mol/l y 200 µl de nitrato de aluminio al 10 %, finalmente se completó el volumen con etanol al 96 %.

Se dejó reposar la mezcla por 40 minutos y se procedió a leer la absorbancia a 415 nm en el espectrofotómetro UV-V.

Se repitió el mismo proceso para cada una de las muestras experimentales.

#### **3.2.4.2 Curva de calibración**

Para la preparación de la curva de calibración, se pesó 2,6 mg de quercetina en un balón de aforo de 10 ml y se completó el volumen con etanol al 96 %. Se tomó 700 µl, 350 µl, 175 µl y 100 µl en cuatro balones de aforo de 10 ml y a cada uno se adicionó 200 µl de acetato de potasio 1 mol/l y 200 µl de nitrato de aluminio al 10 %, finalmente se completó el volumen con etanol al 96 %.

Se procedió a leer la absorbancia a 415 nm de cada una de las disoluciones y se elaboró la curva estándar de calibración que sirvió para la determinar las concentraciones de flavonoides en cada muestra de extracto etanólico de propóleo.

### 3.2.4.3 Resultados

Las concentraciones de flavonoides totales se expresaron como quercetina utilizando los valores obtenidos en la curva estándar, y los valores de absorbancia de cada muestra, utilizando la siguiente ecuación.

[Ec.2]

$$\frac{mg}{ml} = \frac{ABS - b}{m \times FD}$$

**Donde:**

$\frac{mg}{ml}$  = flavonoides expresados como quercetina

**ABS**=Absorbancia de la muestra

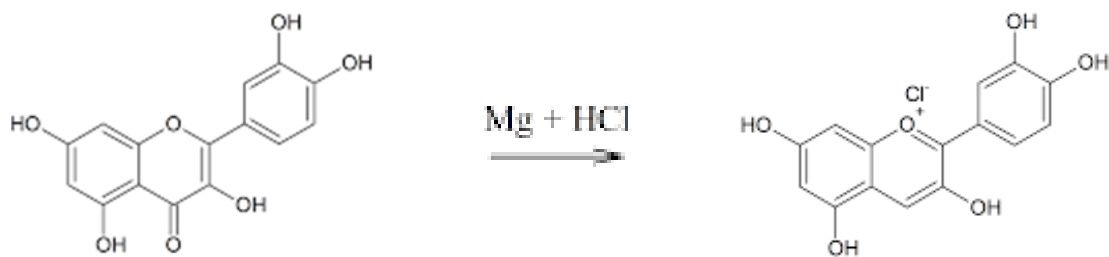
**b**= punto de corte de la ecuación

**m**= pendiente de la curva

**FD**= factor de dilución

### 3.2.5 Identificación cualitativa de flavonoides

El extracto etanólico de propóleo fue sometido a una prueba cualitativa colorimétrica de Shinoda (Figura 1), se colocó 2 ml del extracto en un tubo de ensayo y se añadió una lámina de magnesio con unas gotas de ácido clorhídrico concentrado, se deja reposar y se observó el cambio de coloración en la solución, el color violeta, naranja rojizo, verde, azul o violeta es prueba positiva de presencia de flavonoides.



**Figura 1.** Reacción de Shinoda  
Tomado de internet.

### 3.2.6 Caracterización Sensorial del EEP

Se determinó las características sensoriales de las muestras de extracto etanólico de propóleo obtenido, se analizó características como el color, olor, sabor y consistencia de las muestras.

### 3.2.7 Determinación de la Densidad Relativa del EEP

La densidad relativa es la relación entre la masa y de un volumen de una sustancia y la masa de un volumen igual a la misma temperatura. La densidad relativa es equivalente al peso específico (*Mosquera, 2015*).

La densidad relativa se determinó mediante el método del Picnómetro descrito según la norma ANFOR NF T 75111 (ISO 279:1998), primero se estandarizó un picnómetro de vidrio de 10 ml, previamente limpio y enjuagado con etanol y acetona, se secó con una corriente de aire, y finalmente se pesó el picnómetro vacío con el tapón ( $m_0$ ).

El picnómetro pesado se llenó con agua destilada y se colocó en baño termostático durante 30 minutos a una temperatura de 20 °C, posteriormente se secó externamente y se pesó el picnómetro lleno con el tapón ( $m_2$ ).

Se vació el picnómetro, se enjuagó y secó como en la parte inicial, y se procedió a repetir el mismo procedimiento, pero esta vez con cada una de las muestras de extracto etanólico de propóleo (*Telenchana, 2017*).

Con los datos obtenidos y la siguiente fórmula se calculó la densidad relativa del extracto etanólico de propóleo.

[Ec.1]

$$d = \frac{m_2 - m_0}{m_1 - m_0}$$

Donde:

m<sub>0</sub>= masa del picnómetro vacío (g)

m<sub>1</sub>= masa del picnómetro con agua (g)

m<sub>2</sub>= masa del picnómetro con el EEP (g)

### 3.2.8 Determinación del pH del EEP

El pH del extracto etanólico de propóleo se determinó mediante un pH-metro calibrado (Bante 210, China).

### 3.2.9 Diseño de la Formulación del Gel antiacné

En el estudio de la formulación del gel cosmético antiacné, se empleó el principio activo obtenido, en mezcló con excipientes necesarios para la formulación de una solución gel, identificando la compatibilidad de cada uno de los excipientes y del extracto etanólico de propóleo.

Cada 100 ml de formulación del gel antiacné contiene:

Extracto etanólico de propóleo.....	10 %
Etanol 30 % .....	54.50%
Agua .....	45.005%
Ácido poliacrílico.....	0.35%
Glicerina .....	0.070%
Trietanolamina.....	0.070%



### 3.2.10 Estabilidad del producto cosmético

Se evaluó la estabilidad del producto cosmético terminado a través de tiempo, se realizó un estudio de estabilidad acelerada con una duración de dos meses, período que representa un año de vida del producto, se efectuó controles organolépticos, químicos, físicos, y microbiológicas según los límites especificados y cumpliendo estándares de calidad (*Fernández, 2016*).

En la tabla No.2 se detalla el análisis, métodos y técnicas aplicadas para realizar la evaluación de estabilidad del producto cosmético. El análisis fue realizado en un laboratorio certificado LABOLAB.

**Tabla No.2 Métodos para evaluación de estabilidad**

<b>Parámetro</b>	<b>Método</b>
<b>Organoléptico</b>	Apariencia
	Color
	Olor
<b>Físico-Químico</b>	pH
<b>Microbiológico</b>	Aerobios mesófilos
	Mohos
	Levaduras
	Enterobacterias
	<i>E. coli</i>
	<i>Staphylococcus aureus</i>
<i>P. aeruginosas</i>	

### 3.3 Análisis Estadístico

En el análisis estadístico de la formulación del gel antiacné se aplicó un diseño experimental completo factorial 2<sup>3</sup>, con su respectivo análisis de varianza (ANOVA), se evaluó el efecto de 3 factores: periodo de reposo en la maceración, tiempo de agitación y la concentración del etanol, en la cantidad de flavonoides obtenidos en el extracto etanólico de propóleo. Los datos se analizaron con el software MINITAB versión 2017.

Además, se evaluó la formulación del producto cosmético terminado con 10 diferentes personas, aplicando tarjetas score y analizando los resultados con el estadístico t-student.

## CAPÍTULO IV

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

#### 4.1 Análisis y discusión de resultados

##### 4.1.2 Obtención del extracto etanólico de propóleo

Se realizó la limpieza del propóleo y se lo trituro hasta obtener un polvo fino, esto con la finalidad de tener mayor área de contacto al momento de realizar la obtención del extracto por maceración alcohólica (ver Anexo A).

La obtención del extracto etanólico de propóleo se realizó con un proceso de maceración alcohólica (ver Anexo B), tomando en cuenta factores como la concentración del etanol, el tiempo de agitación diario y el tiempo de reposo del propóleo en el etanol, estos factores se combinaron para realizar el proceso mediante un diseño factorial completo  $2^n$ . Se analizó la incidencia de cada factor en la concentración final de flavonoides en el extracto de propóleo obtenido.

En la tabla No.3 se muestra las combinaciones realizadas según el diseño factorial  $2^n$  para la obtención del EEP.

**Tabla No.3. Matriz experimental para la obtención del EEP.**

Tratamientos	Combinación de niveles			
<b>1</b>	<b>A0B0C0</b>	<b>70</b>	<b>15</b>	<b>15</b>
<b>A</b>	<b>A1B0C0</b>	<b>96</b>	<b>15</b>	<b>15</b>
<b>B</b>	<b>A0B1C0</b>	<b>70</b>	<b>21</b>	<b>15</b>
<b>AB</b>	<b>A1B1C0</b>	<b>96</b>	<b>21</b>	<b>15</b>
<b>C</b>	<b>A0B0C1</b>	<b>70</b>	<b>15</b>	<b>30</b>
<b>AC</b>	<b>A1B0C1</b>	<b>96</b>	<b>15</b>	<b>30</b>
<b>BC</b>	<b>A0B1C1</b>	<b>70</b>	<b>21</b>	<b>30</b>
<b>ABC</b>	<b>A1B1C1</b>	<b>96</b>	<b>21</b>	<b>30</b>

*Nota:* A - Concentración de Etanol, B – tiempo de reposo en días, C – Tiempo de agitación en minutos. 1 – nivel alto, 0 – nivel bajo

Mediante la aplicación del diseño factorial complejo 2<sup>n</sup> se realizaron los experimentos por duplicado según la combinación de los factores de estudio y se obtuvieron las muestras con extracto etanólico de propóleo para su evaluación.

#### **4.1.3 Identificación cualitativa de flavonoides mediante la prueba Shinoda**

Los Flavonoides presentes en el extracto etanólico de propóleo fueron identificados mediante una prueba colorimétrica, en la que se colocó 2 ml del extracto en un tubo de ensayo y se añadió una lámina de magnesio metálico y unas gotas de ácido clorhídrico concentrado, después de un tiempo de reposo, provocó la oxidación del magnesio y por reducción del hidrógeno se genera el ión flavilo, observando un resultado positivo al dar como resultado una solución de color naranja-rojizo.



**Figura 2.** Reacción de Shinoda

#### **4.1.4 Determinación del contenido de flavonoides en el EEP mediante espectrofotometría UV-visible.**

La valoración de las muestras de propóleo se realizó mediante un espectrofotómetro UV-visible, este equipo permite el proceso de absorción de la radiación ultravioleta visible por parte de una molécula, en este caso el extracto etanólico de propóleo.

Inicialmente se preparó una curva de calibración con quercetina, esta sustancia es un flavonoide antioxidante, que se encuentra en una gran variedad de

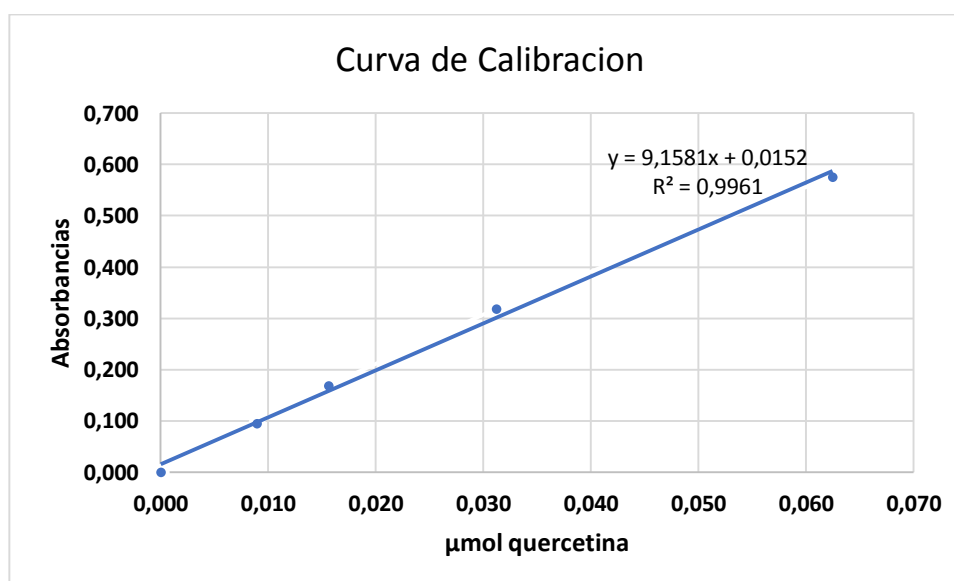
vegetales. La quercetina ayudo a la determinación de la concentración de los flavonoides presentes en el extracto etanólico de propóleo en estudio.

La curva de calibración de la quercetina se elaboró tomando como referencia la Norma Técnica Ecuatoriana INEN 2794, para productos de apicultura. Mediante el uso del espectrofotómetro UV se leyó las absorbancias de las muestras elaboradas con la solución madre de la quercetina (ver Anexo C) y se elaboró la curva de calibración los datos de absorbancia obtenidos se reportan en la tabla No.4.

**Tabla No.4. Absorbancia de la quercetina para la curva de calibración**

Muestras	μmol de quercetina	ABS (415nm)
<b>blanco</b>	0,000	0,000
<b>100</b>	0,009	0,095
<b>175</b>	0,016	0,169
<b>350</b>	0,031	0,319
<b>700</b>	0,062	0,576

Con los valores obtenidos de absorbancia se procedió a graficar la curva de calibración de absorbancias vs micromoles (μmol) de quercetina, como se representa en la figura 3.



**Figura 3.** Curva de Calibración de quercetina

A partir de la gráfica elaborada se obtuvo una ecuación lineal, cuya pendiente fue de 9,15 y el punto de corte de 0,0152, datos que sirvieron para calcular la concentración de flavonoides de las muestras de extracto etanólico de propóleo.

Para la valoración de la concentración de flavonoides en las muestras de extracto etanólico de propóleo obtenido, se leyó cada una de las muestras a 415 nm en el espectrofotómetro UV-visible, este proceso se realizó tomando como referencia la NTE INEN 2794, para productos de apicultura. Los valores de absorbancia obtenidos según los tratamientos realizados se reportan en la tabla No.5.

**Tabla No.5. Absorbancias de las muestras de propóleo**

Tratamientos		ABS	ABS
		Réplica 1	Réplica 2
<b>1</b>	<b>A0B0C0</b>	0,269	0,277
<b>A</b>	<b>A1B0C0</b>	0,261	0,236
<b>B</b>	<b>A0B1C0</b>	0,277	0,277
<b>AB</b>	<b>A1B1C0</b>	0,248	0,235
<b>C</b>	<b>A0B0C1</b>	0,435	0,438
<b>AC</b>	<b>A1B0C1</b>	0,507	0,509
<b>BC</b>	<b>A0B1C1</b>	0,363	0,306
<b>ABC</b>	<b>A1B1C1</b>	0,300	0,359

Los valores de absorbancia obtenidos de las muestras de propóleo, se encuentran dentro del rango entre 0,1 a 0,55 según la normativa INEN 2794. Los valores más relevantes de absorbancia son los del tratamiento AC y C. Mediante estos valores se realizó el cálculo de las concentraciones de

flavonoides totales contenidos en las muestras de propóleo expresados como mg/ml de quercetina.

Se calculó la concentración de todos los tratamientos y sus duplicados, los resultados se evidencian en la tabla No.6.

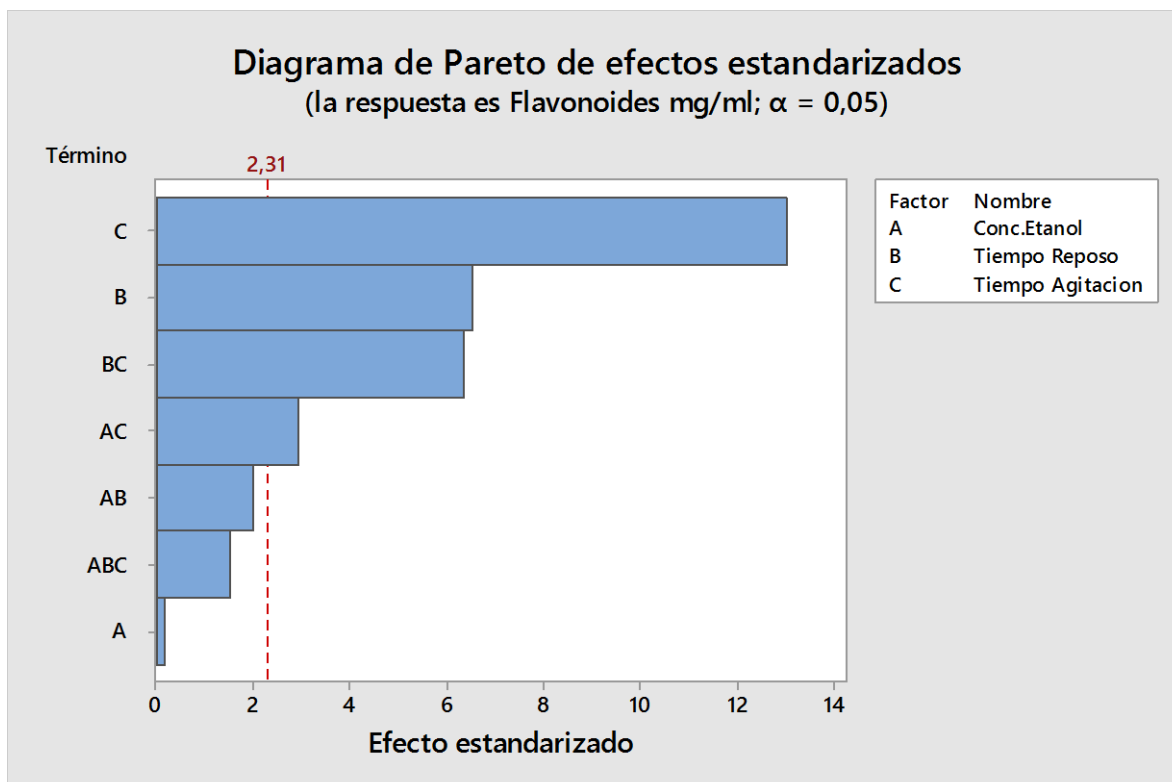
**Tabla No.6. Concentración de Flavonoides expresados como mg/ml de quercetina**

<b>Tratamientos</b>	<b>mg/ml quercetina</b>	
	<b>R1</b>	<b>R2</b>
<b>1</b>	2,77	2,86
<b>A</b>	2,68	2,41
<b>B</b>	2,86	2,86
<b>AB</b>	2,54	2,40
<b>C</b>	4,58	4,62
<b>AC</b>	5,37	5,39
<b>BC</b>	3,80	3,18
<b>ABC</b>	3,11	3,75

Según los resultados obtenidos se observa que el tratamiento AC y C reportan la concentración de flavonoides más altas en el extracto de propóleo, a diferencia de los tratamientos 1 y A que presentan bajas concentraciones de flavonoides en las muestras analizadas.

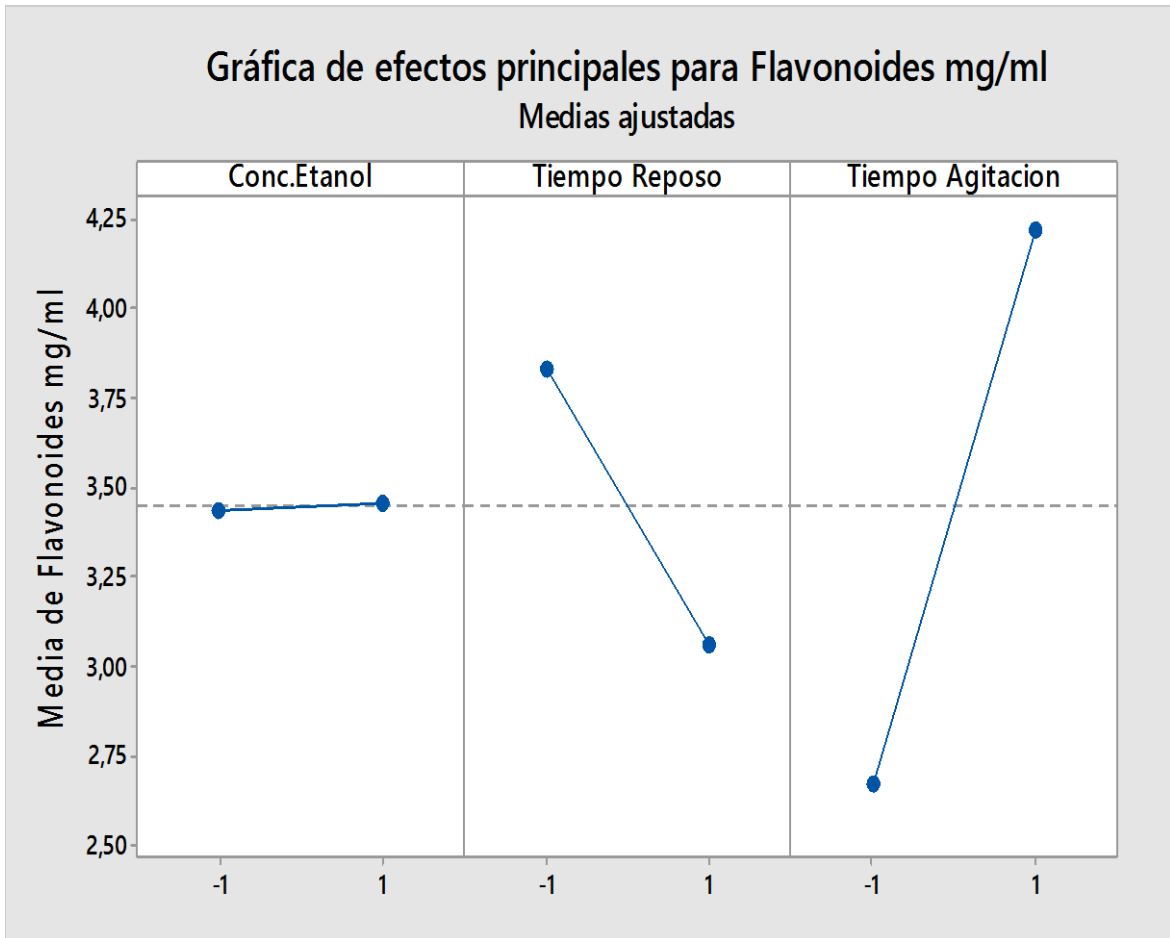
Mediante el software estadístico Minitab 2017, se evaluó la viabilidad de los efectos aplicados a la experimentación y a partir de la matriz experimental

propuesta se generó el análisis ANOVA para la concentración de flavonoides de las muestras de propóleo (ver Anexo F).



**Figura 4.** Diagrama de Pareto de efectos estandarizados para la concentración de flavonoides en las muestras de EEP. Efecto que ejerce el tiempo de reposo, el tiempo de agitación y la concentración de etanol sobre la concentración de flavonoides en el extracto de propóleo.

Según diagrama de Pareto (figura 4) el tiempo de agitación, tiempo de reposo, ambos factores combinados y el uso de etanol al 96 % con la interacción del tiempo de reposo, registran un valor-p menor a 0,05, esto representa un efecto significativo e independiente sobre la concentración de flavonoides en el EEP. En cambio, el factor concentración de etanol y todas las demás interacciones no tienen incidencia significativa alguna en la concentración de flavonoides. Al aumentar la concentración de etanol en la maceración provoca que en el proceso de maceración final se obtenga menos concentración de flavonoides en la muestra (figura 5).

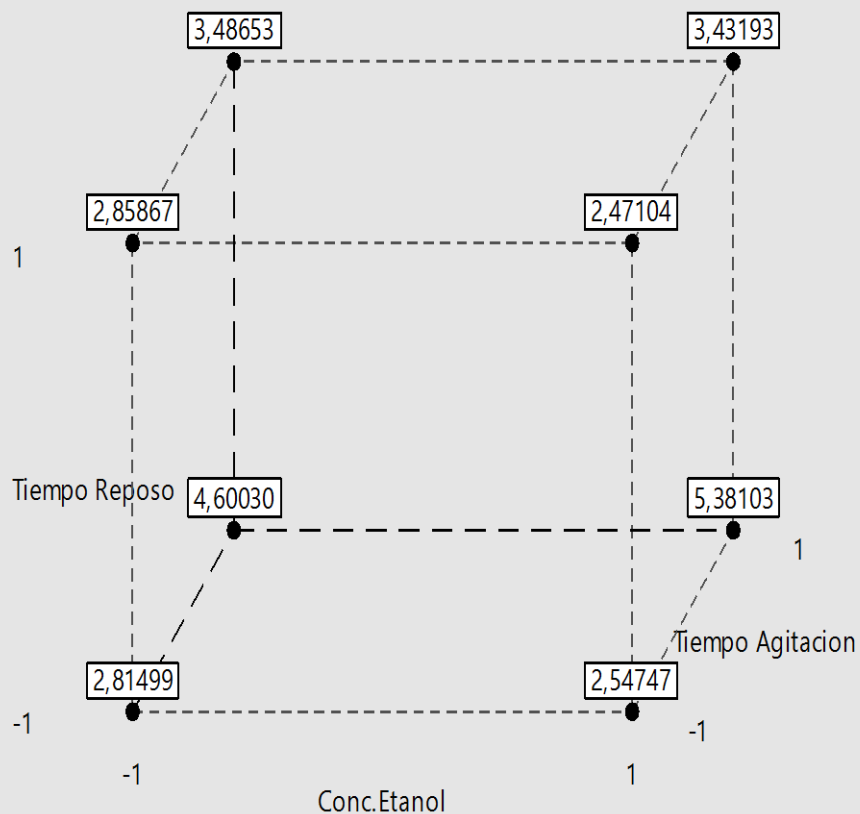


**Figura 5.** Principales efectos sobre la concentración de flavonoides en el propóleo

Los resultados evidencian que el tratamiento AC con una concentración de etanol al 96 %, tiempo de reposo de 15 días y una agitación de 30 minutos en el proceso de maceración del propóleo permite una mayor concentración de flavonoides en el extracto final cuyo valor fue de  $5,38 \pm 0,01$ , como se observa en la figura 6. El extracto obtenido de este tratamiento será utilizado para la formulación del gel cosmético antiacné ya que contiene la mayor cantidad de flavonoides en su composición lo que brindará mejor afecto en el propósito del gel cosmético.



Gráfica de cubos (medias ajustadas) de Flavonoides mg/ml



**Figura 6.** Gráfica de cubo para la concentración de flavonoides. Evaluación de las interacciones de los dos niveles de los tres factores.

#### 4.1.5 Características sensoriales del extracto etanólico de propóleo

Se realizó el análisis sensorial al extracto etanólico de propóleo que obtuvo la mayor concentración del flavonoide, en este caso la muestra del tratamiento AC. Los resultados para esta muestra se reportan en la siguiente tabla No.7.

**Tabla No.7 Características sensoriales del EEP**

<b>Características sensoriales</b>	<b>EEP</b>
<b>Olor</b>	Balsámico-resinoso aromático
<b>Color</b>	Café-amarillento
<b>Consistencia</b>	Líquido gomoso-pegajoso
<b>Aspecto</b>	Líquido Brilloso

#### **4.1.6 Caracterización físico-química del extracto etanólico del propóleo.**

El extracto etanólico del propóleo fue sometido a un análisis físico-químico, valorando la densidad relativa, el pH y solubilidad.

La densidad relativa del extracto etanólico de propóleo se determinó mediante el uso de un picnómetro dando un valor de 0,90, este valor está dentro del rango entre 0,88 a 0.93 determinado en la norma INEN 2794.

La solubilidad del extracto etanólico de propóleo se realizó mediante un método semicuantitativo, se utilizó dos disolventes, entre ellos etanol y agua desmineralizada, resultado positivo y altamente miscible en etanol, a diferencia del agua desmineralizada en donde se formó un precipitado lechoso.

El pH del EEP, resulto un valor promedio de 5,11. Comparando con valores bibliográficos se coincide con estudios realizados anteriormente. En la tabla No.8 se observan los valores del análisis físico-químico del extracto etanólico de propóleo.

**Tabla No.8 Caracterización físico-química del extracto etanólico de propóleo**

<b>Característica</b>	<b>Réplica 1</b>	<b>Réplica 2</b>	<b>Promedio</b>
<b>Densidad relativa</b> <b>g/ml</b>	0,90	0,91	0,905 ± 0,005
<b>pH</b>	5,12	5,10	5,11 ± 0,02
<b>Solubilidad:</b>			
<b>Etanol</b>	Miscible	Miscible	Miscible
<b>Agua desmineralizada</b>	Precipitado y lechoso	Precipitado y lechoso	Precipitado y lechoso

Se realizó la caracterización físico-químico del extracto etanólico de propóleo del tratamiento AC, que fue el que presento mayor concentración de flavonoides en su composición, se realizó la medición del pH cuyo valor fue de  $5,11 \pm 0,02$ , es decir el extracto es ligeramente ácido. La densidad relativa del extracto fue  $0,905 \pm 0,005$ . A demás se realizó la prueba de solubilidad del extracto dando como resultado positivo la solubilidad en etanol, el propóleo al ser una sustancia resinosa y cerosa tiene mucha afinidad con solventes orgánicos, a diferencia de la prueba de solubilidad realizada con agua desmineralizada en la cual el extracto no presento ser miscible formando un precipitado lechoso como resultado negativo.

#### **4.1.7 Formulación del Gel Antiacné**

En la formulación del gel cosmético antiacné, se empleó como principio activo el extracto etanólico de propóleo con mayor concentración de flavonoides que en este caso fue el tratamiento AC, se realizó una mezcla con otros excipientes para obtener el producto deseado con las características y consistencia adecuada para el uso cosmético, identificando la compatibilidad de cada uno de ellos y de las funciones que estos cumplen en la mezcla tales como el extracto etanólico de propóleo que es el objeto del presente estudio, mismo que posee el principal activo para el tratamiento del acné que en este caso son los flavonoides, sustancia que posee características de antimicrobiano, antioxidante y

cicatrizante, este activo al recubrir la epidermis afectada con acné provoca la desinflamación, eliminando las bacterias que se encuentran en esta zona y finalmente produce el secado y cicatrización del acné. Se utilizó etanol al 20 % en la mezcla, como agente antibacterial, ayudando a la limpieza de la zona afectada por el acné, se añadió a demás ácido poliacrílico (carbopol) sustancia la cual permite el espesamiento y formación del gel. Se colocó un agente neutralizante que en este caso fue la trietanolamina que actúa neutralizando los grupos carboxilos del ácido poliacrílico dando lugar a la formación del gel, se utilizó glicerina como agente espumante y finalmente se utilizó agua destilada para completar el total del volumen de la mezcla para formar 100 ml (ver Anexo G).

#### **4.1.8 Estabilidad del producto**

Se realizó el estudio de estabilidad del gel antiacné, en un laboratorio de análisis certificado LABOLAB, con el fin de obtener resultados certificados para posteriores trámites de Notificación Sanitaria obligatoria requeridos por la empresa para la comercialización del producto. El análisis se realizó con un tiempo de vida útil estimado de un año, por lo que fue indispensable el análisis durante dos meses realizando un control físico-químico, organoléptico y microbiológico inicial y final dentro del empaque, utilizando rangos de temperatura de  $39\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$  y humedad de  $70 \pm 5\%$ .

**Tabla No.9 Ficha técnica de estabilidad**

Parámetro		Unidad	Mes 0	Mes 2
Físico-Químico	pH		9,07	9,14
Organoléptico	Apariencia		Gel acuoso	Gel acuoso
	Color		Turquesa	Turquesa
	Olor		Característico	Característico
Microbiológico	Aerobios mesófilos	ufc/ml	< 10	< 10
	Mohos	ufc/ml	< 10	< 10
	Levaduras	ufc/ml	< 10	< 10
	Enterobacterias	ufc/ml	< 10	< 10
	<i>Escherichia coli</i>	ufc/ml	< 10	< 10
	<i>Staphylococcus aureus</i>	ufc/ml	< 10	< 10
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>		Ausente	Ausente
			Ausente	Ausente

**Nota:** ufc/ml - unidad formadora de colonia por mililitro

Según la ficha técnica de estabilidad realizada al gel antiacné a base de extracto etanólico de propóleo (tabla No.9), se observa que no existen cambios en ninguno de los parámetros analizados después de dos meses que el producto fue sometido a elevada humedad y temperatura, por tanto, se determina un periodo de vida útil del producto de un año en la presentación de gel cosmético.

#### **4.1.9 Evaluación de la formulación del gel cosmético antiacné.**

Se realizó pruebas de aceptación en cuanto a la forma terminada del gel cosmético antiacné, se tomó como parámetros: color, aroma, consistencia y apariencia del gel terminado. Se presentó el producto a 10 personas y se pidió calificar los parámetros de estudio. Se utilizó tarjetas score donde se realizó ponderaciones cuantitativas: excelente (5), muy bueno (4), bueno (3), regular (2) y malo (1), valores que se registran en la tabla No.10.

**Tabla No.10 Evaluación de la aceptación comercial del gel cosmético antiacné.**

	<b>Color</b>	<b>Aroma</b>	<b>Consistencia</b>	<b>Apariencia</b>
<b>Persona 1</b>	5	4	5	4
<b>Persona 2</b>	5	4	5	5
<b>Persona 3</b>	5	4	5	5
<b>Persona 4</b>	5	5	4	5
<b>Persona 5</b>	3	4	5	4
<b>Persona 6</b>	5	4	4	5
<b>Persona 7</b>	3	5	5	5
<b>Persona 8</b>	3	4	4	4
<b>Persona 9</b>	5	4	5	4
<b>Persona 10</b>	5	4	5	5
<b>Σ Total</b>	<b>44</b>	<b>42</b>	<b>47</b>	<b>46</b>
<b>Promedio</b>	<b>4,4</b>	<b>4,2</b>	<b>4,7</b>	<b>4,6</b>

El requerimiento de la empresa se necesita que el producto tenga una aceptación favorable, es decir que este dentro del rango muy bueno y excelente (tabla No.11), en todos los parámetros evaluados por las personas, para comprobar este análisis los resultados fueron procesados mediante el análisis estadístico t-student tomando en cuenta una sola muestra y con un nivel de confianza del 95 %.

**Tabla No.11 Aceptación del gel cosmético terminado**

<b>Evaluación</b>	<b>Rango</b>
<b>Excelente</b>	4,1 - 5
<b>Muy bueno</b>	3,1 - 4
<b>Bueno</b>	2,1 - 3
<b>Regular</b>	1,1 - 2
<b>Malo</b>	0 - 1

El valor obtenido en el estadístico t-student fue de 8,07 en el parámetro de color del gel, este valor se comparó con el valor de t tabulado teniendo en cuenta un nivel de confianza de 95 % cuyo valor fue de 1,83, estableciendo que el valor calculado es mucho mayor al tabulado, por lo tanto, se determina que el producto tiene buena presentación de color provocando satisfacción en los consumidores al adquirir el producto cosmético.

De igual manera los resultados obtenidos según el análisis estadístico t-student para los parámetros de aroma, consistencia y apariencia son de 6,92, 9,80 y 9,23 respectivamente, concluyendo una buena aceptación en la formulación del gel cosmético terminado.

#### 4.1.10 Control de Calidad del gel cosmético antiacné

Una vez definida y terminado la formulación del gel cosmético a partir del extracto etanólico de propóleo rico en flavonoides, se realizó un control de calidad requerido por la empresa para trámites de notificación sanitaria obligatoria previo a su comercialización, análisis que se los realizó en un laboratorio certificado que fue Multianalítica de la ciudad de Quito, donde se evaluó parámetros organolépticos, físico-químicos y microbiológicos como se detallan en la tabla No.12.

**Tabla No.12 Control de parámetros de calidad del gel antiacné a base de propóleo**

<b>Parámetro</b>	<b>Análisis</b>	<b>Unidad</b>	<b>Método</b>	<b>Resultados</b>
<b>Físico-Químico</b>	pH		AOAC 942 15. Ed 19.2012	8,23
	sólidos totales	%	AOAC 925.10 Ed 19.2012	1,85
<b>Organoléptico</b>	Apariencia	-	Sensorial	Gel acuoso
	Color	-	Sensorial	Turquesa
	Olor	-	Sensorial	Lavanda

<b>Microbiológico</b>	Aerobios mesófilos	ufc/ml	PE-03-5.4-MB AOAC 990.12.Ed 20,2016	2.5 X 10 <sup>3</sup>
	Enterobacterias	ufc/ml	PE04-5,4 MB AOAC Ed 20, 2016 2003,01	< 1
	<i>Escherichia coli</i>	ufc/ml	PE-01-5,4-MB AOAC R.I 110402. Ed 20,2016	< 1
	<i>Staphylococcus aureus</i>	ufc/ml	AOAC 2001.05/22003.07- 2003.08/2003.11 Ed 20, 2016	< 1

**Nota:** ufc/ml – unidades formadoras de colonias por mililitro, % - porcentaje de solidos totales

Se evaluaron parámetros de estudio organolépticos, microbiológicos y físico-químicos dando como resultado un gel de color turquesa junto con un olor a lavanda, esto por el colorante y aroma añadido para su formulación, presentándose como gel acuoso homogéneo. Los resultados del análisis físico-químico realizado a temperatura ambiente arrojaron resultados de pH de 8,23 siendo un producto ligeramente básico lo cual es un parámetro muy importante dentro de los productos cosméticos según **Quiroz (2009)**, ya que el gel es un producto destinado a la limpieza de la piel. La cantidad de solidos totales que presenta el producto fue de 1,85%. En cuanto al análisis microbiológico el lote analizado no muestra contaminación microbiológica alguna que sea de consideración. Cabe recalcar que los análisis de calidad de los productos se los debe realizar por cada lote producido.

Culminado los procesos de calidad la empresa realiza los trámites pertinentes con la Agencia de Regulación, Control y Vigilancia Sanitaria (ARCSA) para obtener la notificación sanitaria y la empresa pueda comercializar el producto de manera que garantice un producto apto para el uso personal.



## **4.2 Verificación de Hipótesis**

### **4.2.1 Efecto de la variación de la concentración de etanol, tiempo de agitación y tiempo de reposo sobre la concentración de flavonoides contenidos en el extracto etanólico de propóleo.**

El análisis estadístico factorial 2<sup>3</sup>, permitió elaborar una matriz experimental para la obtención del extracto etanólico de propóleo tabla N 2, la cual se analizó con el software estadístico MINITAB 2017. Se evidencio el efecto de la concentración del etanol, el tiempo de reposo y el tiempo de agitación en el proceso de maceración alcohólica del propóleo, dando como resultado valores de P menores a 0,05, indicando que son significativamente influyentes en la concentración final de flavonoides del macerado, aceptando así la hipótesis alternativa.

El tratamiento AC con una concentración de etanol al 96 %, tiempo de reposo de 15 días y agitación diaria de 30 minutos fue el tratamiento que obtuvo el mejor resultado, dando una concentración de flavonoides expresados como quercetina en la muestra de EEP de  $5,38 \pm 0,01$  en base líquida. Extracto que se utilizó para la formulación del gel cosmético antiacné.

## CAPÍTULO V

### CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

#### 5.1 Conclusiones

- Se desarrolló experimentalmente un gel cosmético antiacné utilizando como principio activo el extracto etanólico de propóleo rico en flavonoides en combinación con otras sustancias como excipientes para obtener un gel consistente, con buena apariencia, agradable color y aroma.
- Se identificó como el mejor método de maceración para obtención del extracto etanólico de propóleo rico en flavonoides el utilizar etanol al 96 % con tiempo de reposo de 15 días y agitación diaria de 30 minutos.
- Se determinó la concentración de flavonoides contenidos en el extracto etanólico de propóleo siendo esta de  $5,38 \pm 0,01$  mg/ml expresados como quercetina en base líquida.
- Se formuló experimentalmente el gel cosmético antiacné mediante pruebas de compatibilidad y estableciendo las cantidades a utilizar del extracto etanólico usado como principio activo y los excipientes añadidos para la formación del producto en gel.
- Se realizó la evaluación de estabilidad del producto terminado mediante análisis de estabilidad acelerada en laboratorios certificados como LABOLAB y MULTIANALITICA, identificando que la estabilidad del producto es de un año de vida útil. A demás se realizó un análisis de calidad donde se identificó que los parámetros físico-químicos, organolépticos y microbiológicos dando como resultado valores normales. Estos parámetros se evaluaron como requisito obligatorio para obtener la notificación sanitaria del producto.

## **5.2 Recomendaciones**

- Evaluar la estabilidad del gel cosmético antiacné con un tiempo superior para aumentar el periodo de vida útil del producto terminado.
- Realizar un estudio farmacológico del gel cosmético acerca de irritabilidad dérmica.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

### Referencias Bibliográficas

1. Arelis, R. (2016). *Diseño de una crema de base emulsionada con actividad cicatrizante utilizando propóleos y quitina como productos naturales activos*. Carrera de bioquímica y Farmacia. Universidad Técnica de Machala, Machala-Ecuador.
2. Baltodano, L & Fuentes, C. (2012). *Caracterización y diseño de una forma farmacéutica semisólida a base de quitosano con efecto cicatrizante*. ECIPERU. Pág.78.
3. Bankova, V. (2001). *Control de calidad y normalización de propóleos*, Academia de ciencias de Bulgaria. Bulgaria. Email: [Bankova@orgchm.bas.bg](mailto:Bankova@orgchm.bas.bg)
4. Bankova, V. Popova, M. Trusheva, B. (2016). *New Emerging Fields of Application of Propolis*. Maced. J. Chem. Chem. Eng. Pág 35.
5. Bautista, M. Delfin, A. Márquez, G. Ramírez & J. Rivas, R. (2011). *Formulación de una emulsión dermocosmética para el tratamiento del acné y cicatrices*. Universidad de los Andes, Facultad de Ingeniería Química. Mérida-Venezuela.
6. Betageri, G & Prabhu, S. (2013). *Semisolid Preparations*. Encyclopedia of Pharmaceutical Technology, Third Edition, Pág: 3257.
7. Bonet, R. (2002). *Dermofarmacia, Generalidades del acné*. OFFARM. Volumen 21,Nº8.
8. Chaillou, L. Herrera, H & Maidana, J. (2004). *Estudio de propóleos de Santiago del Estero*. Facultad de Ciencia y Tecnología Alimentaria. Argentina. Pág: 11.
9. Coello, R. (2012). *Elaboración y Control de Calidad de gel cicatrizante a base de*

*sábila (Aloe Vera) y caléndula (Calendula officinalis)*. Escuela superior politécnica de Chimborazo.

10. Farre, R. (2004) *El propóleo y la Salud.*, Ars Farmaceutica., volumen 45. Valencia – España. Pág: 21-43
11. Fernandez, E. (2016). *Control de Calidad y Fórmulas Dermatológicas*. FARM. PROF. Pág: 17.
12. Jain, S. Marchioro, G. Mendonça, L. Batista, M & Araujo, E. (2014). *Origen Botánico del propóleo Brasileño*. Apic. Sci. Pág. 58, 79–85.
13. Manrique, J. (2006). *Actividad Antimicrobiana de propóleos provenientes del estado de Miranda*. Efecto de variación estacional. Zootecnia Tropical. Venezuela. Pág. 44.
14. Martínez, A (2005). *Flavonoides*. Universidad de Antioquia. Medellín- Colombia. Pág. 45-47.
15. Martínez, S. (2002). *Los flavonoides: propiedades y acciones antioxidantes*. Editorial Errepar. San Miguel- Argentina. Pág.271-278.
16. Méndez, E. (2008). *Elaboración, control de calidad y evaluación “In vivo” de la actividad antibacteriana de un gel obtenido del extracto alcaloidal del chocho*. Escuela Superior de Chimborazo. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. Riobamba-Ecuador. Pág.33.
17. Mora, L (2013). *Formulación de una crema antiacné a base de extracto de flores de caléndula y extracto de propóleo*. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Facultad de Ciencias. Riobamba-Ecuador.
18. Mosquera, T. (2015). *Estudio de estabilidad de una loción facial antiacné a bases de aceite esencial de hierba luisa*. POACEAE. Universidad Politécnica Salesiana. Quito-Ecuador.

19. Norma Técnica Ecuatoriana, NTE INEN 2794. (2015). *Productos de Apicultura. Propóleos. Requisitos*. Quito- Ecuador.
20. Norma Salvadoreña, NSO 65.19.02.03. (2003) *Calidad de propóleo crudo. Reglamento técnico para la calidad de propóleos*.
21. Ocampo, M. (2007). *Estudio Químico de Propóleos Rojos Cubanos*. Universidad de la Habana. Instituto de Farmacia y Alimentos. Cuba. Recuperado de: [http://tesis.repo.sld.cu/219/1/Campo\\_Fernandez.pdf](http://tesis.repo.sld.cu/219/1/Campo_Fernandez.pdf)
22. Ochoa, C. (2004) *Los Flavonoides: Aplicación en la Industria de Alimentos*. Volumen 6. Colombia. Ing. y Comp. Pág.4-5.
23. Osés, S. Melgosa, L. Pascual-Maté, A. Fernández-Muiño & M. Sancho, M. T. (2015). *Design of a Food Product Composed of Honey and Propolis*. J. Apic. Res. Pág.461–467.
24. Ortega, N. (2011). *Actividad Antibacteriana del Propóleo Provenientes de dos Zonas Climáticas del Departamento del Cauca*. Biotecnología en el Sector Agroindustrial. Colombia. Pág.8-16.
25. Orantes, M. (2008). *Purificación de glicerina a pequeña escala como subproducto de reacción de biodiesel por el método de destilación a presión reducida*. Universidad de San Carlos de Guatemala. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. Guatemala. Pág.12.
26. Pardo, A. (2006). *Plantas Medicinales*. Editorial Everest. La Coruña- España. Pg: 99.
27. Peña, C. (2008). *Estandarización en propóleos: antecedentes químicos y biológicos*. Ciencia e Investigación Agroindustrial. Chile. Pág.17-26
28. Proaño, L. (2013). *Comprobación del efecto cicatrizante de una crema de Romero, Matico y Cola de Caballo, en Heridas inducidas en ratones*.

29. Quiroz, A. 2009. *Utilización de residuos de cáscara de naranja para la preparación de un desengrasante doméstico e industrial*. Facultad de Ciencias Ambientales. Universidad Internacional SEK. Quito. Pág.19.
30. Rodríguez, J. (2004). *Formulación de una emulsión submicrométrica cosmética para el tratamiento de la celulitis*. Universidad de los Andes. Mérida-Venezuela.
31. Romeral, E. (2010). *Cremas para acné y cutis normal*. Recuperado y revisado en: <http://jaboneando2.blogspot.com>.
32. Salamanca, I & Correa, C. (2007). *Perfil de Flavonoides e índice de oxidación de algunos propóleos colombianos*. Zootecnia Tropical. Pág.96.
33. Salamanca, G. (2001). *El sistema de control y puntos críticos en la extracción y beneficio de propóleos*. Revisado en: [http://www.beekeeping.com/articulos/salamanca/puntos\\_criticos\\_propoleo.htm#top](http://www.beekeeping.com/articulos/salamanca/puntos_criticos_propoleo.htm#top).
34. Sánchez, A & Gómez, P. (2000). *Bases para la atención Farmacéutica del acné*. Ediciones Díaz Santos. Pág.27.
35. Strauss, J. (2010). *Glándulas Sebáceas*. Dermatología en Medicina General. Editorial Panamericana. Tomo 1. Buenos Aires- Argentina. Pág.503-520.
36. Telenchana, M. (2017). *Desarrollo de un desengrasante de manos en espuma a partir de aceite esencial de cortezas de naranja (Citrus spp.) para el Laboratorio Génesis LABGENESIS Cía. Ltda*. Universidad Técnica de Ambato. Facultad de Alimentos. Ingeniería en Alimentos. Ambato-Ecuador.
37. Yambai, P. (2013). *Elaboración de una crema en base a extractos hidroalcohólicos de berro y llantén y su comprobación de su actividad cicatrizante en heridas de ratones*. Pág. 71.

38. Torres, C. (2012). *Diseño y desarrollo de una crema repelente a partir de aceite esencial de la especie Bursera graveolens* (palo santo). Universidad Técnica Particular de Loja. Loja Ecuador. Pág 24.



## Anexos

### Anexo A. limpieza del propóleo



### Anexo B. Proceso de maceración del propóleo



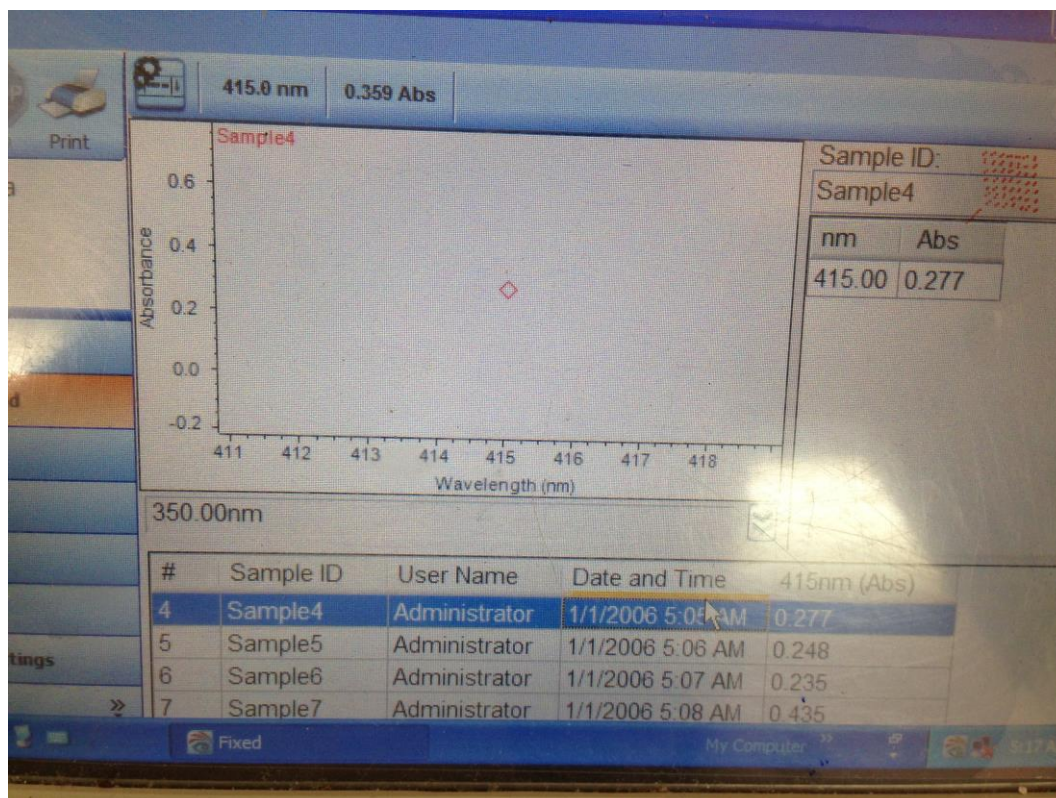
**Anexo C. Patrones para la curva de calibración de quercetina**



**Anexo D. diseño experimental del extracto de propóleo**



## Anexo E. Lecturas en el Espectrofotómetro Uv.



## Anexo F.

**Tabla 7 Análisis de varianza para la concentración de flavonoides del EEP**

	GL	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	Razón de varianza	Valor-P
Réplicas	7	15,1591	2,16558	38,23	0,000
A	1	0,0013	0,00126	0,02	0,885
B	1	2,3957	2,39572	42,30	0,000
AB	1	0,2282	0,22822	4,03	0,080
C	1	9,6336	9,63363	170,08	0,000
AC	1	0,4770	0,47699	8,42	0,020
BC	1	2,2954	2,29538	40,52	0,000
ABC	1	0,1279	0,12788	2,26	0,171
Error	8	0,4531	0,05664		
Total	15	15,6122			

**Anexo G. Gel cosmético antiacné terminado**

