

**UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACIA**



**DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DEL LAUREL
(*Litsea guatemalensis*), Y SU USO EN EMULSIONES COSMÉTICAS**

Eduardo Roberto Ventura Cano

Químico Farmacéutico

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACIA

The seal of the University of San Carlos of Guatemala is a circular emblem. It features a central shield with a blue background, depicting a figure in a red and white robe. The shield is flanked by two golden lions and topped with a golden crown. Below the shield are two green pyramids. The entire emblem is surrounded by a circular border containing the Latin text "SACRA ACADEMIA COACTEMALENSIS INTER CETERAS ORBIS CONSPICUA CAROLINA".

DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DEL LAUREL (*Litsea guatemalensis*), Y SU USO EN EMULSIONES COSMÉTICAS

Informe de Tesis

Presentado por:

Eduardo Roberto Ventura Cano

Para optar al título de

Químico Farmacéutico

JUNTA DIRECTIVA

Oscar Cóbar Pinto, Ph. D.

Decano

Lic. Pablo Ernesto Oliva Soto, M. A.

Secretario

Licda. Lillian Raquel Irving Antillón

Vocal I

Licda. Liliana Vides de Urizar

Vocal II

Lic. Luis Antonio Gálvez Sanchinelli

Vocal III

Br. José Roy Morales Coronado

Vocal IV

Br. Cecilia Liska De León

Vocal V

ACTO QUE DEDICO A:

A DIOS: Por ser mi guía a lo largo de todo mi camino, mi protector frente a la adversidad y mi fuente de energía cuando quise flaquear.

A mi Madre: Gladis Liliana Cano Monzón, por que no hay palabras como expresar lo mucho que te AMO, por ser mi mejor ejemplo de lucha, fuerza y perseverancia, por darme a lo largo de toda mi vida tu apoyo, cariño y comprensión, por se una mujer luchadora y gracias a tus esfuerzos y sacrificios e llegado a culminar una etapa muy importante en mi vida ****INFINITAS GRACIAS MAMI****.

A mi Hermano: Rodrigo, por que aunque no lo creas me haz enseñado muchas cosas de la vida.

A mis Hermanitos: Luis y María, por que han sido unas personitas fastidiosas que le han dado mucha alegría a mi vida.

A mis Tíos: Luis, Jorge, Zully, Zucelly, Ana, Angel, Rudi, Flor, Dominga, Haroldo, por todo su apoyo a lo largo de este tiempo.

A mi Novia: Vivi, gracias por estar **siempre** echándome la mano en todo

A mis amigos: Diego Pérez, Boris Rivera, Ramiro Marroquín, Silvia Rivera, Jenny Galdámez, Lesly Villeda, Shirley Orozco, Vanesa Castellanos, Eder Flores, Edna Vallejos, Ingrid Oliva, Karin Castellanos, Sandra Castillo,

AGRADECIMIENTOS

- A:** Guatemala, por se mi bello País y brindarme acceso a la educación superior.
- A:** La Universidad de San Carlos de Guatemala, por ser mi casa de estudios.
- A:** La Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, por la formación de mi carrera profesional.
- A:** Mis asesores Lic. Julio Chinchilla y Licda. Sully Cruz, por brindarme su apoyo, conocimientos y paciencia durante la elaboración de mi proyecto de tesis.
- A:** Mis catedráticos que me enseñaron a lo largo de mi carrera, especial mente a aquellos que fueron un ejemplo a seguir (Lic. Pablo Oliva, Licda. Julieta Roca de Pesarozzi †, Lic. Santacruz, Licda. Julia Garcia, Lic. Chinchilla, Lic. Serrano, Licda. Irving).
- A:** Mi madre Gladis Liliana Cano Monzón, por su apoyo a lo largo de la elaboración de este proyecto, y a durante toda mi vida.
- A:** Mis amigos, Vivian Fernandez, Diego Pérez, Vanesa Castellanos, Sandra Castillo, por su apoyo durante la elaboración de este proyecto y por su amistad regalada.
- A:** Mi lugar de trabajo Droguería Salud para Todos, por otorgarme el tiempo necesario para la elaboración y culminación de mi trabajo de TESIS.

ÍNDICE

1. Resumen	1
2. Introducción	2
3. Antecedentes	3 ó 14
4. Justificación	15
5. Objetivos	16
6. Hipótesis	17
7. Materiales y Métodos	18 ó 26
8. Resultados	27 ó 29
9. Discusión	30 ó 32
10. Conclusiones	33
11. Recomendaciones	34
12. Referencias	35 ó 37
13. Anexos	38 - 41

1. RESUMEN

Se determinó la actividad antioxidante del extracto de laurel (*Litsea guatemalensis*), para su uso en emulsiones cosméticas, elaboradas a base de cera de abeja y lanolina, para lo cual se formuló una emulsión agua en aceite, donde la grasa mayoritaria fue lanolina, ya que es una de las grasas animales de mayor uso en la industria cosmética.

Para determinar la capacidad antioxidante, se evaluó en cinco lotes (muestras) diferentes la cuantificación del Índice del Peróxido, una semana después de su manufactura y de haber sido sometidas a temperatura y humedad elevadas mediante una cámara de estabilidad (45°C y 75%HR). Los datos obtenidos de la cuantificación del índice de peróxido en las diferentes muestras señalaron que dos de ellas salen del rango establecido por la USP para grasas animales (<20 mEq/kg), lo que denotó que estas muestras se encontraban en un estado de descomposición (oxidado), por lo que se tuvo que aceptar la hipótesis nula planteada en el análisis experimental, que concluyó que, a la concentración utilizada en la formulación de la emulsión, el extracto no presentó actividad antioxidante sobre las grasas animales empleadas para la formulación.

Dado los datos obtenidos en la fase uno de este estudio, no fue necesaria la comparación del efecto de oxidación de las muestras contra los controles positivos y negativo, ya que se concluyó que no presentó ninguna actividad antioxidante significativa aplicable a la emulsión formulada. Así también, la formulación no fue estable en el tiempo, debido a que se evidenció la rancidez de la misma.

2. INTRODUCCIÓN

La oxidación es la capacidad del oxígeno de actuar como agente oxidante para las grasas, ácidos grasos y muchas otras sustancias orgánicas. En cosméticos este mecanismo puede resultar contraproducente para el producto, ya que puede ser el causante de rancidez o cambios en la apariencia y estabilidad de los productos, lo que puede concluir en la pérdida total de los mismos. Para evitar este proceso, las industrias utilizan diferentes sustancias que actúan como antioxidantes, entre los más comunes el Hidroxitolueno Butilado (BHT) y Hidroxianisol Butilado (BHA), los cuales son al mismo tiempo causantes de muchas reacciones alérgicas de la piel y que por uso continuo se ha observado que es causante de intoxicaciones crónicas que generan diversos cánceres cutáneos.

Es necesaria la investigación de productos naturales que actúen como antioxidantes, para prevenir la mayoría de reacciones adversas, ya que los productos de origen natural son más afines al organismo y causan menores daños colaterales, tanto para el usuario como para el ambiente.

El objetivo de esta investigación fue determinar la actividad antioxidante del extracto de laurel (*Litsea guatemalensis*), para su uso en emulsiones cosméticas. Para ello se evaluó la capacidad antioxidante del extracto etanólico, incorporado en una emulsión cosmética cuyos componentes grasos fueron lanolina y cera de abeja. La oxidación se determinó por medio del índice de peróxido (IP), hasta obtener un IP ≤ 20 milequivalentes de oxígeno por kilogramo de muestra.

El estudio fue dividido en dos fases, en la primera se evaluó si el extracto etanólico de laurel tenía alguna actividad antioxidante utilizable en emulsiones cosméticas, para ellos se llevo acabo la manufactura de cinco lotes, en los cuales se cuantifico el índice de peróxido una semana después de su manufactura y de haber sido sometido a condiciones de temperatura y humedad elevados dentro de una cámara de estabilidad, los resultados de esta fase demuestran que el extracto de laurel utilizado en esta formulación, no tiene ningún efecto antioxidante utilizable a nivel industrial, por lo que no fue necesario seguir con la fase dos de esta investigación, el la cual se pretendió evaluar la estabilidad de la

formulación en el tiempo, mediante un estudio de estabilidad acelerada, sometiendo las muestras a temperaturas y humedad elevadas durante un máximo de tres meses.

3. ANTECEDENTES

3.1. Definiciones

- 3.1.1. Emulsión:** La emulsión es un sistema de dos fases que consta de dos líquidos no miscibles, uno de los cuales es dispersado en el otro en forma de glóbulos. La fase dispersa, discontinua o interna es el líquido desintegrado en glóbulos. El líquido circundante es la fase continua o externa (1).
- 3.1.2 Antioxidantes:** Los antioxidantes son sustancias que disminuyen la rancidez de oxidación de los materiales autooxidables (1). Es una molécula capaz de prevenir o retardar la oxidación de otras moléculas. Las reacciones de oxidación pueden producir radicales libres que comienzan reacciones en cadena, los antioxidantes terminan estas reacciones quitando intermedios del radical libre e inhiben otras reacciones de oxidación oxidándose ellos mismos. Debido a esto es que los antioxidantes son a menudo agentes reductores (2).
- 3.1.3. Estabilidad:** Es la capacidad que tiene un producto o un principio activo de mantener por determinado tiempo sus propiedades originales dentro de las especificaciones de calidad establecidas (2).
- 3.1.4. Estudios de Estabilidad:** Pruebas que se efectúan para obtener información sobre las condiciones en las que se deben procesar y almacenar las materias primas o los productos semielaborados o terminados, según sea el caso (2).
- 3.1.5. Estudios Acelerados de Estabilidad:** Estudios diseñados con el fin de aumentar la tasa de degradación química o física de un medicamento, empleando condiciones extremas de almacenamiento. Estos estudios tienen como objetivo determinar los parámetros cinéticos de los procesos de degradación o predecir la vida útil (2).

3.1.6. Extracción Vegetal: Una extracción vegetal consiste en la obtención de los componentes activos de una planta a través de técnicas específicas, utilizando para ello solventes apropiados para la extracción del compuesto(s) de interés (3).

3.1.7. Extracto Botánico: Es el extracto obtenido de las diferentes partes de una planta (4).

3.2. Definición de Grasas y Aceites

Los lípidos son pequeñas moléculas orgánicas que se encuentran en la naturaleza y que tienen una solubilidad limitada en agua y que pueden ser aisladas de los organismos por extracción con disolventes orgánicos no polares. Son ejemplos las grasas, los aceites y las ceras (5).

Los lípidos se clasifican en dos tipos generales: los que son semejantes a las grasas y las ceras, los cuales contienen enlaces éster y pueden ser hidrolizados, y los que son semejantes al colesterol y otros esteroides, los cuales no tienen enlaces éster y no pueden ser hidrolizados (5).

Este grupo de compuestos orgánicos insolubles en agua consiste principalmente en triglicéridos, es decir, ésteres glicéricos de ácidos grasos. Las grasas sólo se distinguen de los aceites por los puntos de fusión (6, 7).

3.2.1. Ceras, Grasas y Aceites

Las ceras son mezclas de ésteres de ácidos carboxílicos de cadena larga con alcoholes que también poseen cadena larga. Es usual que el ácido carboxílico tenga un número par de carbonos de 16 a 36, mientras el alcohol posee un número par de carbonos de 25 a 36. Por ejemplo uno de los principales componentes de la cera de abeja, es el **hexadecanoato de triacontilón**, el éster del alcohol triacontanol C_{30} y el ácido hexadecanóico C_{16} (5).

Las grasas animales y los aceites vegetales son los lípidos que se encuentran con mayor abundancia en la naturaleza. Aunque ellos parecen diferentes (las grasas animales como la mantequilla y la manteca son sólidas, mientras que los aceites vegetales como el de maíz y el de cacahuete son líquidos) sus estructuras están estrechamente relacionadas. Desde el punto de vista químico las grasas y los aceites son triacilgliceroles (TAG, también llamados triglicéridos), triésteres del glicerol con tres ácidos carboxílicos de cadena larga (5).

3.3. Oxidación

La capacidad del oxígeno atmosférico de actuar como agente oxidante para grasas, ácidos grasos y muchas otras sustancias orgánicas es de importancia comercial. En algunos casos puede utilizarse beneficiosamente, pero en los cosméticos, normalmente los efectos de la oxidación son deteriorantes, y pueden conducir a una descomposición completa (8).

De los problemas asociados con una comprensión de las reacciones generales de oxidación son el amplísimo espectro de sustancias orgánicas que están sujetas a este tipo de descomposición y, en segundo lugar, el gran número de factores que pueden afectar tanto a la velocidad como al curso de las reacciones. Entre estos últimos pueden enumerarse los efectos de la humedad, la concentración de oxígeno, temperatura, radiación ultravioleta y la presencia o ausencia de anti y pro oxidantes (8).

3.3.1. Teoría General de la Autooxidación

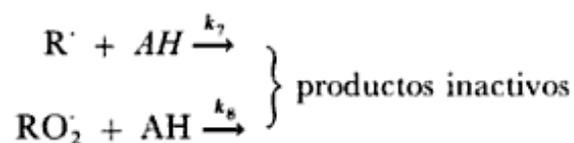
La reacción es debido a la oxidación molecular más que al oxígeno atómico, produciendo una sustancia R_1 ó O ó O ó R_2 que a su vez puede oxidar otras sustancias oxidables cuando se libera el oxígeno (molecular activado) débilmente ligado. Esto conduce a la formación de un peróxido cíclico que podría, en fases posteriores de la reacción de oxidación, restaurarse para

formar compuestos dihidroxietilénicos o hidroxicetónicos junto a ésteres más estables (8,13).

3.3.2. Mecanismo General de los Antioxidantes

La supresión de la oxidación podría producirse bien suprimiendo la formación de los radicales libres o bien, introduciendo en el sistema material que pudiera reaccionar con los radicales libres según se forman y de este modo prevenir la formación de la cadena de reacciones. No se puede prevenir totalmente la formación de radicales libres por lo tanto, son importantes las sustancias que se comportan como aceptores de los radicales libres **antioxidantes** (8).

Bolland y Ten Have estudiaron el efecto de hidroquinona (AH) en la oxidación de linoleato de etilo (RH). Sugirieron que este compuesto reaccionaba con los radicales libres para dar productos inactivos (8, 13).



Esto condujo a la ecuación de velocidad

$$r_a = -d[O_2]/dt = r_i k_3 [RH] / k_2 [AH]$$

Donde r_a es la velocidad de oxidación en presencia del antioxidante y r_i es la velocidad de iniciación de cadenas, y donde la reacción $R + AH$ se ignoran por ser de escasa importancia en las reacciones antioxidantes.

3.3.3. Oxidación de las Grasas y Aceites

Los aceites y grasas reaccionan con el oxígeno por un mecanismo de

radicales libres produciendo peróxidos como productos primarios de la oxidación, la cual es seguida por una serie de reacciones secundarias las cuales provocan la degradación de los lípidos en compuestos de peso molecular bajo como los aldehídos, los cuales son los responsables del olor rancio de los aceites (9, 10, 11, 12), provocando trastornos a quienes los consumen como: los peróxidos lipídicos y el colesterol oxidado que pueden promover la formación de tumores. El malonaldehído, que es un producto secundario de la oxidación de lípidos, puede estar involucrado en la catálisis de la formación de N-nitrosaminas que son causantes de mutágenesis (9, 11, 13). La oxidación de las grasas es catalizada por el oxígeno, la luz, el calor, los metales pesados, algunos pigmentos, los álcalis y el grado de insaturación. Las sustancias que se emplean para preservar las grasas y aceites son: a) antioxidantes propiamente dichos, que son compuestos que interrumpen la cadena de radicales libres en la reacción de oxidación; b) agentes quelantes, que secuestran los iones metálicos como hierro y cobre, que catalizan la oxidación; c) agentes reductores o removedores de oxígeno, que reaccionan con el oxígeno libre contenido en el sistema; d) antioxidantes secundarios cuya función es destruir los hidroperóxidos. Todos ellos reciben el nombre genérico de antioxidantes. Estos no son capaces de eliminar la rancidez una vez que ésta se produjo (14, 7), por lo que deben ser agregados antes de que se produzca el deterioro del material graso.

3.3.4. Mecanismos de Oxidación

Los detalles de cómo se lleva a cabo la oxidación de grasas y aceites (19, 20, 16) muestran que es esencialmente un proceso de degradación que ocurre en las instauraciones de moléculas de aceites y grasas. Por supuesto, el grado de instauración es determinado por el tipo de ácido graso que constituye la estructura triglicérida, y determina a su vez la susceptibilidad a la descomposición oxidativa (15).

3.3.5. Rancidez

Cuando un aceite rico en ácidos grasos poliinsaturado se oxida, en él ocurre una formación de hidroperóxidos. Sin embargo, en aceites tal como el de coco y el de palma ocurre la oxidación por formación de cetonas. Por otra parte, ocurre la aparición de sustancias volátiles tales como el propanal y 2-hexanol (10, 15). Estas formas de oxidación se caracterizan por causar un olor y sabor distinto de aquel de un aceite normal. Es curioso hacer notar que los aceites naturales contienen normalmente contaminantes que tienen un efecto antioxidante. Es posible que un aceite crudo permanezca sin oxidarse por meses y aún años, mientras no sea tratado artificialmente por medio alguno (4,15). No es sino hasta que el hombre, en su interés por tratar al aceite para darle mejor color (16, 15) y cambiar su pH, que estos contaminantes antioxidantes son neutralizados, y comienza la oxidación del aceite.

3.4. Antioxidantes

Los antioxidantes son sustancias que se añaden en pequeñas cantidades a las grasas o aceites para prevenir la autooxidación o al menos retardarla. Para entender el efecto del antioxidante se debe comprender que la oxidación de ácidos grasos insaturados es una reacción en cadena. Si una molécula de ácido graso es atacada por el oxígeno, no solo la molécula se rompe sino que se forman productos intermediarios que inician la oxidación de otra molécula de ácido graso. Los antioxidantes actúan al romper las cadenas de oxidación, ya que reaccionan con los intermediarios activos que se forman en el proceso de oxidación.

El mecanismo de este efecto explica porque se necesitan tan solo trazas del antioxidante para prevenir la oxidación de una mezcla de grasas. Ya que el proceso de oxidación se da en cadena, una sola molécula del antioxidante es suficiente para detener la misma.

Sin embargo, no se comprende todo acerca de este mecanismo, ya que por ejemplo a dosis excesivas los antioxidantes pueden actuar como aceleradores de la oxidación si se añaden de forma total, pero no si se añaden de forma gradual (17, 18).

3.5. Selección del Antioxidante

El antioxidante ideal debe ser estable y efectivo en un intervalo amplio de pH y ser soluble en su forma oxidada, y sus compuestos de reacción deben ser incoloros e inodoros, no debe ser tóxico, ser estable y compatible (8).

3.6. Antioxidantes Fenólicos

3.6.1. Tocoferoles

Sustancias naturales que no son ampliamente utilizadas en la práctica debido a su elevado precio. Tienen cierto efecto antioxidante con las grasas animales, tales como sebo y ácidos grasos destilados, pero adolece de escaso valor en la conservación de aceites vegetales (8).

3.6.2. Hidroxianisol Butilado (BHA)

Está compuesto fundamentalmente por dos isómeros, 2 y 3-*tert*butil-*hidroxianisol*. Es raramente utilizado solo, ya que su actividad en la mayoría de los sistemas es menor. **Una mezcla de 20% de BHA, 6% de galato de propilo, 4% de ácido cítrico y 70% de propilenglicol** se utiliza comúnmente tanto en la industria de alimentación como en la **cosmética**. Si tal mezcla se utiliza a concentraciones de aproximadamente un **0.0025%** se puede proteger tanto a la mayoría de aceites animales y vegetales (8).

La combinación de BHA con altas concentraciones de vitamina C puede producir radicales libres, los cuales pueden causar daño a los componentes celulares, incluido el ADN. Esto ha impulsado a la Unión Europea a

restringir el uso de BHA en un futuro próximo (19).

3.6.3. Hidroxitolueno Butilado (BHT)

Ampliamente utilizado como antioxidante para ácidos grasos y aceites vegetales, posee varias ventajas sobre los demás antioxidantes fenólicos por estar libre de olor fenólico. En cosméticos debe utilizarse a concentraciones del 0.01 ó 0.1 %, con adición de un agente secuestrante apropiado, tal como ácido cítrico o EDTA. El BHT no es sinérgico con los ésteres de galato (8).

3.7. Requerimientos de los Antioxidantes en Cosméticos

Las concentraciones utilizadas no deben ser irritantes o alergénicas, no deben causar decoloración u olor en la preparación y deben ser lo suficientemente liposolubles para desarrollar su efecto completamente (18, 19).

3.8. Medida de Oxidación y Evaluación de la Eficacia del Antioxidante

Se diseñan para medir tanto la velocidad de oxidación (por medición directa del oxígeno absorbido o la formación de los productos de la descomposición), como la prolongación del período de inducción. Muchos de los ensayos utilizados se aceleran artificialmente con el uso de radiación ultravioleta o temperatura elevada, y la extrapolación de tales resultados a las condiciones normales de almacenamiento se supone que depende de posibles cambios en las reacciones de oxidación sujetas a las condiciones de aceleración (8).

Las estimaciones normales de los índices de peróxidos deben considerarse con un grado de reserva, ya que no son muy específicas, y las reacciones implicadas pueden no ser estequiométricas. Sin embargo, este es el método más común de medir la oxidación y la eficacia del antioxidante, a pesar de que el peróxido medido es el

peróxido no descompuesto, y realmente indica que los peróxidos se están formando más rápidamente que lo que se descomponen (8).

3.8.1. Evaluación de la Efectividad del Antioxidante

La estabilidad oxidativa de una grasa, aceite o producto que contiene grasas puede ser determinada al almacenar muestras del producto a las condiciones normales de uso y examinarlas periódicamente.

El anterior método requiere de mucho tiempo y las condiciones de almacenamiento varían de forma que dificultan la comparación entre las diferentes muestras.

Se han desarrollado métodos de laboratorio bajo condiciones controladas o con oxidación acelerada que proveen resultados para poder comparar muestras tratadas con antioxidantes contra muestras control (18).

3.8.1.1. Prueba de Almacenamiento de Horno

Se describe como una prueba acelerada en la que la muestra se somete a una temperatura constante de 145°F (62.8°C) hasta que la primera evidencia de rancidez puede ser detectada organolépticamente por un panel de expertos. Cuando los materiales a probar son volátiles se deben de utilizar temperaturas menores como 85°F (29.4°C) o 100°F (37.8°C).

3.8.2. Determinación de Peróxidos

La técnica normalmente implica la liberación de yodo a partir de yoduro sódico o potásico en presencia del peróxido. Lea demostró que el sistema debería acidificarse durante esta liberación, mientras Knight demostró que la presencia de otros grupos funcionales no interfiere y Swift definió que un

mol de yodo se libera de un mol de hidroperóxido del oleato de metilo (8).

3.8.2.1. Determinación del Índice de Peróxido (IP)

El índice de peróxido es el número que expresa, en miliequivalentes de oxígeno activo, la cantidad de peróxido contenido en 1000g de la sustancia (22).

3.9. Extractos Botánicos

En la práctica de extracción para materiales de origen botánico, los constituyentes de interés son completa o parcialmente separados de otros componentes con la ayuda de agua, alcohol, mezclas de alcohol-agua, u otros solventes adecuados. Este proceso incluye la extracción de los constituyentes deseados de la planta con una disolución adecuada, evaporación de todo o casi todo el solvente, y el ajuste de los fluidos residuales, masas, o polvos a los estándares prescritos. Los extractos se deben sujetar a procesos que incrementen el contenido de los constituyentes caracterizados, disminuir el contenido de los indeseados, o ambos. Los extractos se pueden definir como preparaciones de consistencia líquida, sólida o semisólida. Los productos obtenidos son extractos fluidos, extractos en forma de polvo o extractos semisólidos (18).

3.9.1. Método de Extracción

3.9.1.1 Maceración

Consiste en poner en contacto la droga y el solvente, durante varios días; da como resultado un equilibrio de concentración entre la droga y el solvente.

El material crudo se reduce a un tamaño adecuado, se mezcla con el solvente de extracción específico y se deja en reposo a temperatura ambiente, en un contenedor cerrado, durante un

tiempo apropiado y con agitación frecuente hasta que la materia soluble se haya disuelto. La mezcla se filtra y el material se lava con el mismo solvente de maceración. Los filtrados se combinan y se concentran a la consistencia deseada (18, 22).

3.10. Laurel (*Litsea guatemalensis*)

3.10.1. Descripción Botánica

Es un árbol de 3 a 12 metros de alto, ramas glabras, hojas coriáceas, peciolo 18mm de largo, lanceoladas, peninevadas. Inflorescencia de racimos axilares, 4-9 flores unisexuales. Fruto en drupa, negro, 7-9 mm de diámetro, rodeado por una cápsula (4)

3.10.2. Hábitat

Es endémica de los Departamentos de Guatemala, Sacatepéquez, Chimaltenango y Sololá. (16). Crece en bosques abiertos de pino y matorrales (4).

3.10.3. Composición Química

En reciente prueba en el laboratorio se obtuvo un rendimiento de extracción de aceite esencial de 0.6 %, por hidrodestilación (4).

Se asume, por falta de información y el olor característico parecido a *L. nobilis*, que tiene un aceite esencial rico en derivados terpénicos y glicéridos de los ácido láurico, oléico, palmítico y linoléico. El tamizaje fitoquímico de *L. guatemalensis* indica: alcaloides cuaternarios y no cuaternarios, saponinas, esteroides insaturados, cardenólidos, bufadienólicos, quercitina, estilbina y taraxón; el aceite esencial de *L. galaucescens* contiene 1,8-cineol (22%), sabineno (13), terpineno-4-ol (10%), gama-terpineno (9%), acetado

de alfa-terpinilo (7%), acetato de berilo (7%), alfa-pineno (5%), sabineno (4%), y beta-pineno (4%) (4).

3.10.4. Farmacología

El cocimiento de hojas por vía oral se usa para el tratamiento de afecciones respiratorias (amigdalitis, males de la garganta, tos, tos ferina) y gastrointestinales (diarrea, cólico, úlcera), carencia de leche en la madre e hinchazón; por vía tópica se usa en lavados y baños para cansancio y epilepsia. El cocimiento de la corteza se usa para tratar mordeduras de culebras y de perros, en sahumeros se usa para parálisis (4).

Se le atribuye propiedades aromáticas, antisépticas, astringentes, balsámica, carminativa, emenagogo, emoliente, estimulante, espasmolítica, febrífuga y pectoral (4).

3.10.4.1. Nuevos estudios le atribuyen actividad antioxidante (24).

3.10.5. Indicaciones Terapéuticas

Por su similitud organoléptica con *L. nobilis* y su uso popular en alimentación y medicina, está indicado en el tratamiento de anorexia, digestión lenta, espasmos gastrointestinal, meteorismo y bronquitis crónica. Se recomienda administrar tres veces al día en dosis de 1-2 g/taza en infusión o 1-2 mL de tintura 1:8 con etanol 35% (4).

Para uso tópico se recomienda la decocción de 5 hojas/taza en el tratamiento de estomatitis, faringitis y sinusitis, usada como colutorio, gargarismo o compresa; en alcoholato o pomada se usa como antirreumático, pediculicida y parasiticida (4).

4. JUSTIFICACIÓN

Durante años se han utilizado antioxidantes sintéticos, para prevenir la descomposición de las grasas, últimamente estudios europeos, han demostrado que muchos de estos antioxidantes pueden llegar a causar alteraciones celulares, incluso en el ADN, lo que a una exposición continua y a largo plazo, puede llevar a la formación de los diversos tipos de cáncer. En un futuro próximo, por las nuevas incorporaciones de las legislaciones europeas, se esperará que éstas restrinjan el uso de muchos de estos antioxidantes sintéticos. Así también, en estos países, se ha comenzado desde hace años la implementación y uso de productos a base de plantas, porque representan un mayor beneficio y seguridad para el consumidor por lo que es necesaria la elaboración de estudios que demuestren la actividad antioxidante de plantas y su aplicabilidad en cosméticos. En éste caso, estudios recientes han demostrado la actividad antioxidante del Laurel (*Litsea guatemalensis*), y se esperó que éste tuviera efectos positivos con respecto a la actividad estudiada, en cosméticos.

Al demostrar que extractos de esta planta pueden ser utilizados como antioxidantes en grasas de uso en cosméticos, se puede introducir al mercado esta nueva materia prima, a base de una planta nativa del país, por lo que se lograría abarcar este campo a nivel internacional, contribuyendo al desarrollo del país y su renombre a nivel mundial en el campo del desarrollo científico y agrotecnológico, que son recursos muy importantes del país y que deben ser explotados y de beneficio para las poblaciones.

5. OBJETIVOS

5.1. General

5.1.1. Determinar la actividad antioxidante del extracto de Laurel (*Litsea guatemalensis*), para su uso en emulsiones cosméticas, elaboradas a base de cera de abeja y lanolina

5.2. Específicos

5.2.1. Elaborar un extracto etanólico concentrado de Laurel (*Litsea guatemalensis*) mediante percolación.

5.2.2. Formular una emulsión cosmética utilizando el extracto etanólico 0.1% de laurel (*Litsea guatemalensis*).

5.2.3. Evaluar cuantitativamente la actividad antioxidante el Laurel (*Litsea guatemalensis*) en una emulsión, por medio del índice de peróxido (IP), si cumple con el índice de peróxido de \ddot{O} 20 mEq/Kg

5.2.4. Comparar el efecto antioxidante del extracto etanólico del Laurel (*Litsea guatemalensis*) a una concentración de 0.1%, con respecto al BHT a una concentración de 0.02% en emulsiones cosméticas.

5.2.5. Evaluar la estabilidad de la emulsión con Laurel como antioxidante a lo largo de 3 meses.

5.2.6. Evaluar las características organolépticas del producto terminado elaborado con extracto al 0.1% de laurel (*Litsea guatemalensis*).

6. HIPÓTESIS

El extracto de Laurel (*Litsea guatemalensis*), a una concentración de 0.1%, ejerce un efecto antioxidante en las emulsiones cosméticas.

7. MATERIALES Y MÉTODOS

7.1. Universo de Trabajo

- 7.1.1. Laurel (*Litsea guatemalensis*), colectado en San Bartolomé Milpas Altas (2724 msnm) Guatemala.

7.2. Muestra

- 7.2.1. Extracto etanólico de 200 gramos de Laurel (*Litsea guatemalensis*).

7.3. Recursos

- 7.3.1. Humanos:

Investigador: Br. Eduardo Roberto Ventura Cano

Asesor: Lic. Julio Chinchilla

Co-Asesora: Licda. Sully Cruz

- 7.3.2. Materiales:

a. Instalaciones:

Laboratorio de Investigación de Productos Naturales (LIPRONAT).

Laboratorio del Departamento de Farmacia Industrial de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia de la Universidad de San Carlos de Guatemala.

Biblioteca de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. Universidad de San Carlos de Guatemala.

b. Equipo:

- Balanza Analítica.
- Un horno de temperatura controlable a 37°C.
- Termómetro.
- Pizeta.
- Espátula.
- Baño María.
- Refrigeradora.
- Percolador.
- Rotavapor.
- Sistema de enfriamiento.
- Disolvente orgánico.
- Balón de 1000 mL.

c. Reactivos y materia prima a utilizar:

- Lanolina anhidra (USP).
- Cera de abeja (USP)
- Ácido acético glacial.
- Cloroformo.
- Yoduro de potasio.

- Tiosulfato de sodio.
- Almidón.
- Agua destilada.
- Etanol.

7.4. Métodos

7.4.1. Preparación del extracto etanólico de Laurel por Percolación

- En un percolador limpio y seco, colocar un poco de algodón en la parte inferior, y papel filtro cortado de acuerdo al diámetro del percolador.
- Pesar 200 gramos de material vegetal (Laurel).
- Humedecer el material vegetal con el disolvente, usando un vaso de precipitados.
- Transferir todo el material vegetal al percolador y agregar disolvente (etanol) hasta cubrir el material vegetal.
- Dejar reposar durante 24 horas para llevar a cabo la extracción.
- Abrir la llave inferior y dejar gotear el líquido a una velocidad adecuada.
- Recoger el líquido en un erlenmeyer.
- El material sólido se presiona fuertemente (21).

7.4.2. **Concentración del extracto usando Rotavapor**

- Verificar que las conexiones eléctricas estén conectadas.
- Colocar el balón colector y fijarlo con la llave respectiva.
- Revisar el nivel de agua en el baño de calentamiento.
- Encender el baño y mantener una temperatura entre 50 ó 60 °C.
- Revisar que la llave de alimentación del refrigerante este cerrada.
- Calcular el balón con la muestra y sujetar al vástago.
- Encender el botón que permite girar el balón.
- Conectar un sistema de enfriamiento.
- Encender la bomba de vacío.
- Cuando halla iniciado la destilación apagar la bomba de vacío.
- Encender la bomba de vacío cuantas veces sea necesaria (21).

7.4.3. **Procedimiento de manufactura de la emulsión cosmética**

Formulación de la muestra

Lanolina	25%
Cera de abeja	5%
Agente tensioactivo	5%
Extracto	0.1%
Agua c.s.p	100%

Formulación del control Positivo

Lanolina	25%
Cera de abeja	5%
Agente tensioactivo	5%
BHT	0.02%
Agua c.s.p	100%

Formulación del control Negativo

Lanolina	25%
Cera de abeja	5%
Agente tensioactivo	5%
Agua c.s.p	100%

Procedimiento:

- La lanolina y la cera de abeja se calientan hasta 70 ó 75 °C en un mortero a baño María (Fase A).
- El extracto y el agua se calientan a 75°C en un vaso de precipitado (Fase B).
- Se incorpora la fase B sobre la fase A gradualmente con agitación.
- Homogenizar hasta 55 ó 60 °C.
- Envasar y etiquetar.

7.4.3. Autooxidación

- Pesar cuarenta gramos de muestra en un recipiente hermético, colocarlo en horno a 62.8°C.
- Pesar el equivalente a cinco gramos de la muestra y determinar el índice de peróxido.
- Cerrar el recipiente hermético en donde se encuentra la muestra y colocar nuevamente en el horno. Cada siete días se determina el índice de peróxido por triplicado a cada muestra, hasta obtener valores de índice de peróxido mayores a veinte miliequivalentes, hasta un máximo de tres meses.
- En cada tiempo de análisis se realiza por quintuplicado la determinación del índice de peróxido para cada muestra (6, 22).

7.4.4. Determinación del Índice de Peróxido (IP)

- Pesar exactamente 5.0 gramos de la muestra en un matraz erlenmeyer de 250mL.
- Agregar 30mL de una mezcla de ácido acético glacial y cloroformo (3:2), agitar hasta disolver y agregar 0.5mL de solución de yoduro de potasio saturada.
- Agitar durante 1 minuto exactamente y agregar 30mL de agua.
- Valorar con tiosulfato de sodio 0.01 N, agregando lentamente con agitación continua, hasta que el color amarillo desaparezca casi por completo.

- Agregar 5mL de almidón SR y continuar la agitación hasta que se desaparezca el color azul.
- Realizar un blanco bajo las mismas condiciones.
- Calcular el índice de peróxido por medio de la siguiente fórmula:

$$IP = (A \text{ ó } A1) * N * 1000 / M$$

Donde:

A = Mililitros de solución de tiosulfato de sodio gastados en la titulación de la muestra.

B = Mililitros de solución de tiosulfato de sodio gastados en la titulación del blanco.

N = Normalidad de la solución de tiosulfato de sodio.

M = Masa de la muestra en gramos (23).

7.5. ANÁLISIS EXPERIMENTAL

7.5.1. Evaluación del Índice de Peróxido (IP) en la emulsión inicialmente (1 semana después de preparado) con base a un criterio de clasificación (IP < 20 meq/kg) se puede establecer una variable binomial, para determinar si cumple o no cumple el criterio (que el laurel tiene efecto antioxidante o no).

- El número de réplicas, se calculó de acuerdo a la tabla de la distribución binomial, cinco muestras como mínimo (de acuerdo a los recursos económicos), para un nivel de significancia (alfa =) de 0.05.
- Prueba estadística: **Prueba de Hipótesis Binomial.**

Ho: $P \leq 0.5$ (no cumple)

Ha: $P > 0.5$ (si cumple)

* P = frecuencia de éxito (cumple)

Para rechazar Ho, las 5 réplicas deben **todas** cumplir el criterio, si una falla como mínimo, no se rechaza la Ho.

- Si la primera fase es exitosa, se procede a continuar con el estudio de estabilidad. De lo contrario ya no es necesario la continuidad del mismo.

7.5.2. Segunda fase (Estudio de Estabilidad), se puede comparar con los controles y a través del tiempo con un Diseño de Medidas Repetidas, con tres tratamientos o grupos **Control negativo** (emulsión sin ningún antioxidante), **Control Positivo** (emulsión utilizando BHT), **Prueba** (emulsión utilizando el extracto de laurel como antioxidante). Cuantificando el IP cada semana haciendo tres repeticiones de la cuantificación de cada grupo.

- Se compara a través del tiempo los promedios de los IP, para calcular la variación de los mismos.
- Comparar en cada punto los promedios de la siguiente forma:
 - BHT C (-)
 - Laurel C (-)
 - Laurel BHT

Utilizar para este caso la prueba estadística post-ANDEVA, para evaluar las diferencias entre grupos.

Numero de réplicas: Por conveniencia se harán tres réplicas de cada grupo en cada evaluación semanal.

7.6. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Se llevó a cabo el Análisis de Varianza para un Diseño de medidas repetidas.

Para evaluar las diferencias entre grupos (control negativo, control positivo y experimental) se harán gráficas de caja (Tukey) y la prueba post-ANDEVA de la mínima diferencia significativa de Fisher (LSD), así también gráficas lineales de cada grupo en función del tiempo.

8. RESULTADOS

En la tabla No. 1 se observan los resultados de la extracción por percolación

Tabla No. 1: Datos del extracto etanólico de laurel (*Litsea guatemalensis*)

Procedencia de la materia vegetal	San Bartolomé Milpas Altas (2724 msnm)
Porcentaje de Humedad de la materia seca	7.64 %
Materia vegetal utilizada (g)	200
Extracto obtenido (g)	30.7
Porcentaje de extracto obtenido	15%

Fuente: datos experimentales

A continuación se presenta el los procedimientos de Fabricación y Empaque de la emulsión producida para evaluar la capacidad antioxidante del extracto de laurel.

Tabla No. 2: Fórmula Maestra Cualitativa y Cuantitativa

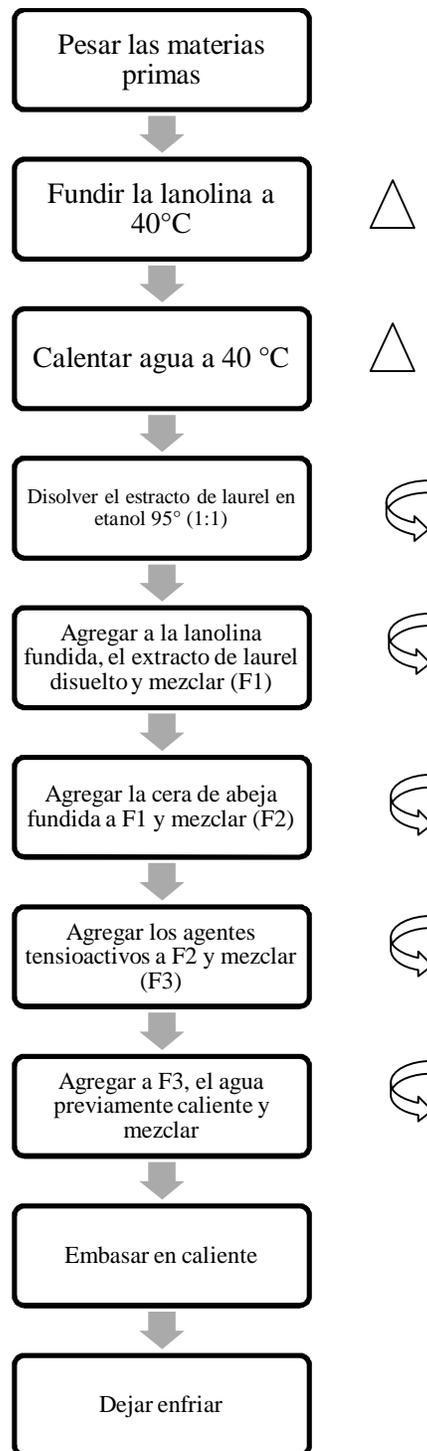
Ingredientes	Calidad	Cantidad
Lanolina	USP	25 g
Cera de abeja	USP	5 g
Extracto de laurel	USP	0.1 g
Etanol 95°	USP	0.1 mL
Tween ó 80	USP	2.8 g
Span ó 20	USP	2.2 g
Agua	USP	csp 100 g

Fuente: datos experimentales

Tabla No. 3: Función de los componentes dentro de la formulación

Componente	Función
Lanolina	Fase oleosa
Cera de abeja	Fase oleosa
Extracto de laurel	Antioxidante
Etanol 95°	Cosolvente del antioxidante
Tween ó 80	Emulsificante
Span ó 20	Emulsificante
Agua	Fase acuosa

Fuente: datos experimentales

Diagrama No. 1: Procedimiento de Producción

Fuente: datos experimentales

A continuación se presentan los análisis Físicos, Químicos y Microbiológicos obtenidos del producto terminado.

Tabla No. 4: Análisis Físicoquímico

ANÁLISIS FÍSICOQUÍMICO		
Ensayo	Especificación	Resultado
Color	Amarillo verdoso	CUMPLE
Olor	Sutil a laurel	CUMPLE
Apariencia	Pastosa	CUMPLE
Homogeneidad	Homogénea sin grumos	CUMPLE
pH	4.5 ó 5.9	CUMPLE
Envase	Frasco blanco con taparroca blanca	CUMPLE
Contenido del envase	100 g \pm 2 g	CUMPLE

Fuente: datos experimentales

Tabla No. 5: Análisis Microbiológico del producto terminado

Análisis	Resultado	Dimensional	USP 2009
Recuento Heterotrófico en placa	2.0 x 10⁸ UFC/g	UFC/g (Agar Lethn modificado, 48 horas/32.5 ± 2.5°C)	No presenta límites
Recuento de Mohos y Levaduras	< 10 UFC/g	UFC/g (caldo y agar Sabraud dextrosa, 7 días/22.5 ± 2.5°C)	No presenta límites
<i>Escherichia coli</i>	Ausencia	Sin dimensionales (Caldo Lactosado, Agar McK, 4 días/32.5 ± 2.5°C)	Ausencia
<i>Salmonella typhi</i>	Ausencia	Sin dimensionales (Caldo Lactosado, Agar BPLS, 4 días/32.5 ± 2.5°C)	Ausencia
<i>Staphylococcus aureus</i>	Ausencia	Sin dimensionales (Caldo tripticasa soya, Agar, VJ, 4 días/32.5 ± 2.5°C)	Ausencia
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Ausencia	Sin dimensionales (Caldo Tripticasa soya, Agar Cetrimida, 4 días/32.5 ± 2.5°C)	Ausencia

Fuente: informe de resultados de análisis microbiológico en cosméticos Laboratorio de Análisis Físicoquímico

En la tabla No. 6 se muestran las características organolépticas de los cinco lotes producidos al momento de su manufactura

Tabla N o. 6: Características Organolépticas de la crema después de la manufactura

Parámetro	M 1	M 2	M 3	M 4	M 5
Color	Amarillo Verdoso	Amarillo Verdoso	Amarillo Verdoso	Amarillo Verdoso	Amarillo Verdoso
Olor	Sutil a laurel				
Apariencia	Pastosa	Pastosa	Pastosa	Pastosa	Pastosa

Fuente: datos experimentales

En la tabla No. 7 se muestran las características organolépticas de los cinco lotes producidos, después de una semana de su manufactura, y de haber sido sometidos a temperatura de 45°C y 75%HR

Tabla N o. 7: Características Organolépticas de la Crema una semana después de ser sometida a cámara de estabilidad a 45°C y 75% HR

Parámetro	M 1	M 2	M 3	M 4	M 5
Color	Amarillo Verdoso oscuro	Café Verdoso	Amarillo Verdoso oscuro	Café Verdoso	Amarillo Verdoso oscuro
Olor	Marcado a laurel				
Apariencia	Pastosa con disminución de viscosidad				

Fuente: datos experimentales

En la tabla No. 8 se muestran los Índices de Peróxido (mEq/Kg) de los cinco lotes, tomados una semana después de su manufactura, y de haber sido sometidos a temperatura y humedad relativa de 45°C y 75%HR.

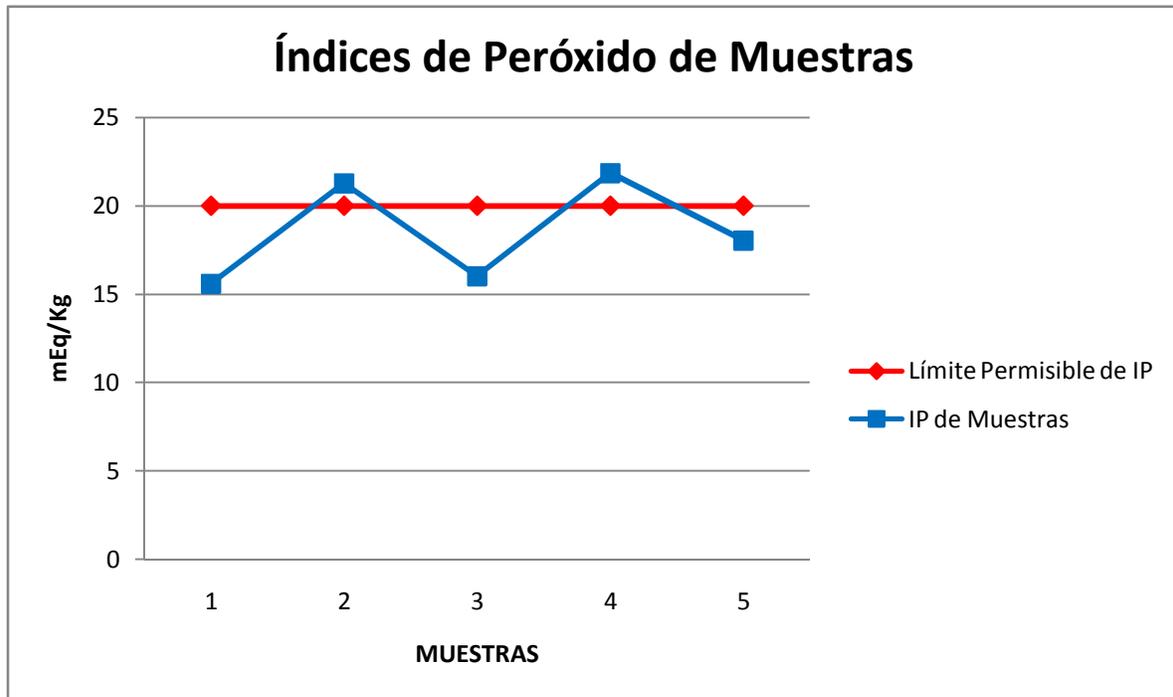
Tabla No. 8: Índice de Peróxido (IP) en las muestras

Muestras	IP mEq/kg	Rango de Aceptación (Ö20 mEq/kg)
1	15.59	Cumple
2	21.29	No cumple
3	16.03	Cumple
4	21.85	No cumple
5	18.05	Cumple

Ref: datos experimentales

En la gráfica No. 1 se muestra la fluctuación de los Índices de Peróxido evaluados en los cinco lotes, en relación al límite permisible del Índice de Peróxido para grasas animales de 20 mEq/Kg.

Gráfica No. 1: Índice de Peróxido de muestras en relación al límite permisible de IP



Fuente: Tabla No. 8

9. DISCUSIÓN

Para determinar la capacidad antioxidante del laurel (*Litsea guatemalensis*) sobre grasas en una emulsión, fue necesario llevar a cabo un proceso, en el cual permitiría llevar la materia vegetal a un estado, mediante el cual pudiese integrarse o incorporarse a la formulación de la emulsión, basado en estudios previos, el laurel posee antioxidantes, por lo que se optó por llevar a cabo un extracto seco de laurel, utilizando únicamente las hojas de este material seco (ver tabla No. 1), que presentaba un porcentaje de humedad del 7.64%. Al tener un porcentaje de humedad menor del 10% es permisible continuar con el proceso de extracción por medio de la técnica de percolación con etanol al 95° y llevarlo a sequedad por medio de rotavapor. Mediante estas técnicas de extracción y secado, se obtuvo un rendimiento del 15% (ver tabla No. 1) en la obtención del extracto seco, el cual ya es un estado factible para ser incorporado a la formulación de la emulsión y permite la evaluación de la utilidad de los metabolitos vegetales.

Para la formulación de la emulsión, se utilizó como fase oleosa cera de abeja y lanolina, esta última en mayor proporción (ver tabla No. 2), ya que es una de las grasas animales mayormente utilizadas en la industria cosmética, así también para fines de este estudio, es una de las grasas animales utilizadas a nivel industrial, que son afectadas como mayor facilidad por la oxidación. Para llevar a cabo una emulsión, es necesario controlar diversos aspectos, entre los cuales uno de los primordiales es la integración de las fases (acuosa y oleosa), para ello es necesario la utilización de agentes tensioactivos y la determinación del Balance Hidrofílico y Lipofílico (HLB) de la fase oleosa, en esta formulación se obtuvo un HLB de 10.33 (ver anexo No. 1), por lo que se utilizaron los agentes tensioactivos Tween ó 80 y Span ó 20 (ver tabla No. 3) a proporciones exactas (ver anexo 1, ver tabla No. 2) para lograr la incorporación de las fases.

Los aspectos críticos durante la producción de la emulsión, fueron la incorporación del extracto seco de laurel utilizado como antioxidante (ver tabla No.3, ver diagrama No. 1), y la incorporación de las fases para formar la emulsión (ver diagrama No. 1). Para superar el primero de estos, se utilizó etanol al 95° como cosolvente (ver tabla No. 3), en el

cual se disolvió el 0.1% del extracto utilizado en la formulación a una relación 1:1, al encontrarse el extracto en un estado acuoso, se procedió a incorporarlo en la emulsión, para ello se fundieron las grasas por separado (ver diagrama No. 1), a la lanolina fundida se le agregó el antioxidante (extracto de laurel previamente disuelto en etanol), ya que por las características hidroalcohólicas que esta grasa tiene en su estructura química, tiende a integrar el alcohol utilizado como cosolvente del extracto, lo que impide la separación del mismo, a esta primera fase, se le agrega la cera de abaja previamente fundida y se mezclaron entre sí, formando la fase oleosa de esta emulsión (ver diagrama No.1), al mezclar el antioxidante, después de mezclar las grasas fundidas, el alcohol utilizado como cosolvente se separaba inmediatamente e impedía la formación de la emulsión por lo que se procedió como se citó anteriormente. A la mezcla de grasas y antioxidante (fase oleosa), se le agregó y mezcló los agentes tensioactivos, los cuales ya habían sido mezclados entre sí, y como paso final de la producción de la emulsión se incorporó el agua (fase acuosa) previamente calentada a 40°C, y mediante agitación se formó la emulsión (ver diagrama No.1). La cantidad teórica del lote producida es de 100 gramos y el rendimiento práctico fue de 98 gramos. Bajo estas condiciones fueron manufacturados los cinco lotes producidos para cuantificar el índice de peróxido.

Un aspecto primordial de los productos cosméticos son las características organolépticas percibidas por el consumidor, por lo que el color, olor y apariencia son puntos críticos de control a cuidar durante la formulación. La concentración utilizada (0.1%) del extracto etanólico de laurel en la formulación de la emulsión cosmética, le confiere al producto terminado un color y olor poco agradables (ver tabla No. 2), derivado de las características organolépticas propias del extracto obtenido, dadas estas complicaciones primordiales en productos cosméticos, es necesario evaluar si disminuye el olor característico del laurel, utilizando alguna otra fragancia para ser incorporada en la formulación.

Al someter las muestras a estrés causado por temperatura y humedad elevadas (45°C y 70% HR), con el fin de acelerar el proceso de descomposición de las muestras (lotes), se determinó que el olor característico a laurel, proveniente del extracto utilizado

como antioxidante, se acentuó de una forma creciente (ver tabla No. 3) con respecto al determinado al momento de la manufactura de las muestras (ver tabla No. 2). Así también el color en las muestras 2 y 4, las que reflejan un índice de peróxido que refiere un estado de oxidación fuera del parámetro permisible (ver tabla No. 4) respectivamente, es completamente distinto a las otras muestras, pero idéntico entre sí (ver tabla No. 3), lo que permite organolépticamente determinar el inicio del enranciamiento de las grasas utilizadas en la formulación de esta emulsión. Ya que a lo largo del período empleado en la cámara de estabilidad el olor característico del laurel se acentuó en el producto terminado, no es posible determinar mediante esta característica un olor en las grasas que indiquen descomposición de las mismas, por lo que puede establecerse según los datos aportados por el índice de peróxidos que enmascara el producto de descomposición.

A una concentración de 0.1% en la formulación, no se evidencia capacidad antioxidante, ya que estadísticamente no cumple con lo establecido en el análisis experimental, por lo que no se rechaza la hipótesis nula planteada para este estudio binomial ($p=0.5$), ya que dos de las muestras salen del parámetro establecido por la USP ($\dot{O}20$ meq/kg) para determinar la oxidación en grasas animales (ver tabla No. 4). Así también al extrapolar los resultados obtenidos de la cuantificación del Índice del Peróxido en las muestras en una gráfica (x, y), puede observarse la marcada dispersión obtenida de los mismos (ver gráfica No. 1), lo que no demuestra una linealidad entre los datos que garantice que las muestras siguen el mismo comportamiento de oxidación, aún utilizando los materiales del mismo lote para la manufactura de la crema y el mismo tipo de material de envase para contener el producto terminado de los cinco diferentes lotes, es decir que los diferentes metabolitos contenidos en el extracto etanólico de laurel actúan de formas diferentes en el enranciamiento de las grasas, por lo que es evidente que existen metabolitos que rompen la cadena de la oxidación (ver tabla No. 4) tal es el caso de los datos que cumplen con el criterio de aceptación ($\dot{O}20$ meq/kg).

Es necesario evaluar que pese a que tres de los datos sí cumplen con el criterio de aceptación establecido por la USP ($\dot{O}20$ meq/kg) (ver tabla No. 4) no significa que a la concentración empleada en esta formulación, el extracto tenga una actividad antioxidante

rescatable, ya que es probable que en estos tres lotes se este iniciando el proceso de la cadena de oxidación.

El motivo por el cual el extracto etanólico a la concentración empleada en la formulación no tuvo una actividad antioxidante significativa en el producto terminado, pudo deberse a diversos factores, entre los cuales podemos mencionar, que el extracto haya tenido entre su contenido químico, algunos metales, los cuales disminuyeron la capacidad antioxidante del mismo a lo largo del tiempo, por lo que esto pudo influir en la oxidación del antioxidante, esto pudo alterar los componentes de los aceites que pudieron extraerse por medio del alcohol utilizado y ocasionando como señala la tabla No. 7 un incremento en el olor característico a laurel, por lo que es necesario evaluar previo a llevar a cabo el extracto, las cenizas totales que contenga la materia vegetal utilizada. Así también es de mencionar que los otros metabolitos propios de este espécimen vegetal, hallan afectado al metabolito que brinda la capacidad antioxidante, evaluada en estudios previos in vitro, por lo que al estar en contacto a través del tiempo afectan incrementando el proceso de oxidación del antioxidante, lo que afecta al producto terminado.

Dado que el estudio no llena los requisitos para el cumplimiento de la primera fase de la investigación, no es necesario continuar con el mismo, por lo que no es prioridad la evaluación del efecto de oxidación entre los controles positivos y negativos. Así también la evaluación de la estabilidad acelerada no es aplicable, ya que se determinó que los Índices de Peróxidos en la primera fase no se encuentran dentro de los parámetros establecidos.

10. CONCLUSIONES

- 10.1. El porcentaje de rendimiento obtenido de la elaboración del extracto de laurel es del 15%.
- 10.2. En la formulación de la emulsión, debe de utilizarse etanol al 95° como cosolvente para disolver el extracto de laurel para ser incorporado a la formulación al 0.1%.
- 10.3. El HLB necesario para llevar acabo la producción de esta formulación es de 10.33.
- 10.4. El extracto etanólico seco de laurel a la concentración empleada en la formulación no presenta actividad antioxidante sobre las grasas en una emulsión, evaluado por medio del Índice de Peróxidos.
- 10.5. Las muestras 2 y 4 después de una semana en cámara de estabilidad presentan cambios de color con respecto a las muestras 1, 3 y 5.
- 10.6. La formulación conteniendo el extracto etanólico de laurel, no es estable ya que se evidencia la descomposición de la misma.
- 10.7. A una concentración de 0.1% en la formulación, el extracto de laurel le confiere al producto final características organolépticas indeseables a productos cosméticos.

11. RECOMENDACIONES

- 11.1.** Evaluar el metabolito que le brinda a esta especie la actividad antioxidante, utilizarlo para evaluar esta actividad en grasas animales utilizadas en cosmética.
- 11.2.** Evaluar la utilidad como antioxidante de grasas para uso en cosmética del extracto etanólico del laurel a diferentes concentraciones a la utilizada en este estudio.
- 11.3.** Comparar la actividad antioxidante del laurel sobre grasas animales utilizadas en la industria cosmética, utilizando diferentes técnicas de extracción así como diferentes tipos de solventes para la misma.
- 11.4.** Llevar a cabo un estudio similar para evaluar la capacidad antioxidante del extracto etanólico en laurel, en aceites vegetales más utilizados en la industria cosmética, para evaluar si este antioxidante es más afín en ellos.
- 11.5.** Evaluar la utilización del extracto etanólico de laurel, como antioxidante en emulsiones fase normal y geles.
- 11.6.** Llevar a cabo un control negativo (sin el antioxidante a evaluar) en la fase uno, para evaluar la estabilidad de la emulsión.

12. REFERENCIAS

- 12.1. McMurri, J. 2004. **Química Orgánica**. 6ta. Edición. México. Editorial Thomson. Pp 1027.
- 12.2. Reglamento Técnico Centroamericano. **Productos Farmacéuticos. Estudios de Estabilidad de Medicamentos para uso en humanos**. RTCA 11.01.04:05.
- 12.3. Medinilla, B. 2008. **Manual de Prácticas de Laboratorio de Fitoquímica**. Guatemala. Universidad de San Carlos de Guatemala. Departamento de Farmacognosia y Fitoquímica.
- 12.4. Cáceres, A. 1996. **Plantas de Uso Medicinal en Guatemala**. Colección Monografías, Vol. 1 Editorial Universitaria, Guatemala. pp. 226 ó 227
- 12.5. Soliman MA. et al. 1987. Heated Fast II; Chemical and Flavour Changes in fat subjected to frying processes edible oil (cottonseed). *Grasas y Aceites*. 38: 15 ó 19.
- 12.6. Martínez Vásquez, B. 1990. **Determinación del efecto antioxidante del propóleo sobre aceites vegetales comestibles**. Guatemala. Tesis de Grado. Universidad de San Carlos de Guatemala. Pp. 3 ó 17.
- 12.7. Williams KA. 1950. **Oils, fats an fatty foods**. 3a. ed. Filadelfia, EE. UU. Blakeston, pp. 500
- 12.8. Orozco, I. 1991. **Comparación de Efecto Antioxidante en Aceite Vegetal de Fracciones Obtenidas de Propóleos Guatemalteco**. Guatemala. Tesis de Grado. Universidad de San Carlos de Guatemala. Pp. 4 ó 10.
- 12.9. Ludberg W. 1961. **Autoxidation and Antioxidants**. Vol. 1 New York. Estados Unidos. Interscience. Pp. 450
- 12.10. Stillman RC., 1955. **Bleach and color methods**. *JAOCS*. 32: 587 ó 593.

- 12.11. Ludberg W. 1961. **Autoxidation and Antioxidants**. Vol. 2 New York. Estados Unidos. Interscience. Pp. 385.
- 12.12. Díaz Arcek, D. 2004. *Escuela Latinoamericana de Medicina*. **Óxido nítrico, mutagénesis y cáncer**. In. Invest Biomed. 23(3):184-9. Disponible en: http://bvs.sld.cu/revistas/ibi/vol23_3_04/ibi09304.htm
- 12.13. Wilkinson, R. 1990. **Cosmetología de Harry**. Ediciones Díaz Santos S,A. pp. 783 ó 804.
- 12.14. United States Pharmacopeia Convention Inc. USP XXX. Pp. 2795
- 12.15. MarK, J. **Antioxidantes Sintéticos**. [http://www.aditivosalimentarios.com/index.php/codigo/320/butilhidroxianisol-\(bha\)/](http://www.aditivosalimentarios.com/index.php/codigo/320/butilhidroxianisol-(bha)/). Fecha de actualización N.D. Fecha de revisión 20/03/2009.
- 12.16. Standley, P. Steyermark, 1970. **Flora de Guatemala**. part IX. Fieldiana: Botany, USA. 1970, vol. 24. 209-211.
- 12.17. Cronquist A. 1981. **An integrated system of classification of flowering plants**. Botanical Garden Columbia University Press, New York. pp. XIII ó XVIII.
- 12.18 Valle, K. 2006. **Evaluación de la capacidad antioxidante del extracto de Romero (rosmarinus officinalis) en aceite de girasol, maleato de aceite de soya, lanolina y manteca de cacao; utilizadas en fase oleosa de emulsiones cosméticas**. Guatemala. Tesis de Grado. Universidad de San Carlos de Guatemala. pp. 3 ó 48.
- 12.19. Wettstein R. Dr. Quer F. 1944. **Tratado de botánica sistemática**. Barcelona. Labor. Pág. 1039.
- 12.20. Handbook of Pharmaceutical excipients. 1994. 2ª Ed. American Pharmaceutical Association. Gran Bretaña.

- 12.21. Cruz, S. **õProcedimientos Estándares de Operación (PEOS)ö**. Laboratorio de Investigación de Productos Naturales (LIPRONAT). Pp. 6, 18.
- 12.22. Estrada Solis, T. 1992. **õComparación del efecto antioxidante de Propóleos de algunas regiones de Guatemala sobre Aceite Vegetal Comestibleö**. Guatemala. Tesis de Grado Universidad de San Carlos de Guatemala. Pp. 2 ó 28.
- 12.23. USP 27. NF 22. 2004 United States Pharmacopeia. 27^a Ed. United States Pharmacopeia Convention Inc. USA. Pp. 1240
- 12.24. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Salud, Organización Mundial para la salud. **õGrasas y Aceites en la Nutrición Humanaö**. Colección FAO: Alimentación y Nutrición. No. 20. Roma. 1980. xv 280 pp.
- 12.25. Cruz, S. 2009. **õPlantas con actividad antioxidantesö**. Laboratorio de Investigación de Productos Naturales (LIPRONAT).
- 12.26. Egan, H., Kira R., Sawyer R., 1988. **õAnálisis Químico de Alimentos de Pearsonö**. México. Editorial C.E.C. S,A. pp. 586.
- 12.27. Jayes, P., et al. 2006. **õInforme Final de Proyecto: Aceites Esenciales de Nueve Plantas Nativas de Guatemala, Familias Vermenaceae y Lauraceaeö**. Universidad de San Carlos de Guatemala. Dirección General de Investigación. Programa Universitario de Investigación Industrial. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia.
- 12.28. Wayne, W. 2002. **õBioestadística, Base para el análisis de las ciencias de la saludö**. 4ta. Edición. México. Limusa, S. A de C. V. pp. 204 ó 290.
- 12.29. Salanger, J. **õModulo de enseñanza de Fenómenos Interfacialesö**. Venezuela. Facultad de los Andes. Facultad de Ingeniería. Escuela de Química. <http://www.firp.ula.ve/archivos/cuadernos/S210A.pdf>. Fecha de actualización 2010. Fecha de revisión agosto 2010

- 12.30.** Arriaza, L. 2010. **Estabilidad de Emulsiones**. Guatemala. Laboratorio de Productos Medicinales LAPROMED. (entrevista personal).
- 12.31.** M. C. Unda, T. **Fenómenos de superficie y Equilibrio de Interfases**. UNAM. Facultad de Química. <http://depa.fiquim.unam.mx/~tunda/bibliografia.html>. Fecha de actualización octubre 2010. Fecha de revisión diciembre 2010.

13. ANEXOS

13.1. Anexo No. 1: Cálculos para determinar el HLB de la fase oleosa de la formulación

Lanolina: $25\% / 30\% = 0.833 * 10 \text{ HLB} = 8.33 \text{ HLB}$

Cera de abeja: $5\% / 30\% = 0.16 * 12 \text{ HLB} = 2 \text{ HLB}$

HLB total = 10.33

Agente Tensioactivo	HLB
Tween - 80	15
Span . 20	4.3

$$15 X + 4.3 y = 10.33$$

$$15 X + 4.3 (1-X) = 10.33$$

$$15 X + 4.3 - 4.3 X = 10.33$$

$$10.7 X = 6.03$$

$$\mathbf{X = 0.56}$$

56% Tween ó 80 ($5 * 56/100 = 2.8\%$)

44% Span ó 20 ($5 * 44/100 = 2.2\%$)

13.1. Anexo No. 1: Datos de laboratorio para la determinación del Índice de Peróxido de las muestras

Muestra	1	2	3	4	5
Masa de la Muestra	5.0518	5.0446	5.0414	5.0570	5.0438
Normalidad del Tiosulfato de Sodio	0.010230	0.010230	0.010230	0.010230	0.010230
Mililitros de Tiosulfato de Sodio en blanco	0.6	0.6	0.6	0.6	0.6
Mililitros de Tiosulfato de Sodio gastados en la muestra	8.3	11.1	8.5	11.4	9.5
Índice de Peróxidos Miliequivalentes/kilo de muestra	15.59	21.29	16.03	21.85	18.05

Ref: Datos experimentales

13.2. Anexo No 2: Cálculos para la determinación del Índice de Peróxidos en las muestras

Muestra No. 1

$$IP = \frac{(8.3 \pm 0.6) * 0.010230 * 1000}{5.0518}$$

$$IP = \underline{15.59 \text{ mEq/ Kg}}$$

Muestra No. 2

$$IP = \frac{(11.1 \pm 0.6) * 0.010230 * 1000}{5.0446}$$

$$IP = \underline{21.29 \text{ mEq/ Kg}}$$

Muestra No. 3

$$IP = \frac{(8.5 \pm 0.6) * 0.010230 * 1000}{5.0414}$$

$$IP = \underline{16.03 \text{ mEq/ Kg}}$$

Muestra No. 4

$$IP = \frac{(11.4 \pm 0.6) * 0.010230 * 1000}{5.0570}$$

$$IP = \underline{21.85 \text{ mEq/ Kg}}$$

Muestra No. 5

$$IP = \frac{(9.5 \pm 0.6) * 0.010230 * 1000}{5.0438}$$

$$IP = \underline{18.05 \text{ mEq/ Kg}}$$

13.3. Anexo No. 3: Preparación de Reactivos

- **Solución Acido acético ó Cloroformo (3:2)**

Para preparar 500 ml de solución, medir 300 ml de ácido acético y 200 ml de cloroformo, agitar hasta lograr una solución homogénea, envasar en un recipiente de vidrio ámbar.

- **Solución de almidón:**

Para 100ml de solución, se pesa un gramo de almidón de maíz diluir en un volumen de 100 ml, llevar a ebullición durante 10 minutos y luego aforar nuevamente a 100 ml. Guardar en recipiente de vidrio y en refrigeración. Esta solución debe de usarse máximo por un período de dos días, bajo refrigeración.

- **Solución de ioduro potásico**

Para 10 ml de solución. Hervir agua purificada, enfriarla y se añaden 11 gramos de ioduro de potasio, agitar hasta homogeneidad. Almacenar en recipiente hermético y protegido de la luz.

- **Solución de Tiosulfato sódico 0.01 N.**

Preparación de solución de tiosulfato sódico:

Pesar cuidadosamente 2.6 gramos de tiosulfato de sodio y 20 gramos de carbonato de sodio. Disolver en 1000ml de agua purificada hervida y enfriada. Para preparar una solución de tiosulfato sódico 0.001 N se realiza una dilución de 10 ml de tiosulfato sódico 0.01 N en 1000 ml de agua destilada.

Valoración de la solución de tiosulfato sódico:

En un matraz volumétrico pesar cuidadosamente 21 mg de estándar primario

de dicromato de potasio, previamente pulverizado y secado por 4 horas, disolver en 20 ml de agua y rápidamente agregar 0.3 gramos de ioduro de potasio, 0.2 gramos de bicarbonato sódico y 0.5 ml de ácido clorhídrico, mezclar y dejar reposar por 10 minutos protegiendo de la luz.

Lavar el tapón y las paredes del matraz, para eliminar el exceso de yodo. Titular el yodo liberado con la solución de tiosulfato sódico, hasta que la solución este de color verde ó amarillo. Seguidamente agregar 3 ml de almidón TS y continuar la titulación hasta cambio del color azul a incoloro.

Cada ml de tiosulfato sódico 0.01N es equivalente a 0.4913 mg de dicromato de potasio (23).