

UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN ANTONIO ABAD DEL CUSCO

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

ESCUELA PROFESIONAL DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA



TESIS

ELABORACIÓN Y CONTROL DE CALIDAD DE *LIPSTICK* FORMULADO EN BASE AL COLORANTE NATURAL EXTRAÍDO DE LAS SEMILLAS DE *Bixa orellana* L. (ACHIOTE)

PRESENTADO POR:

Br. SALYKA PAMELA MUÑOZ CANAL

**PARA OPTAR AL TÍTULO PROFESIONAL
DE QUÍMICO FARMACÉUTICO**

ASESORA:

Dra. INGRID VERA FERCHAU

CUSCO - PERÚ

2023

INFORME DE ORIGINALIDAD

(Aprobado por Resolución Nro.CU-303-2020-UNSAAC)

La que suscribe, asesora del trabajo de investigación titulado: **"ELABORACIÓN Y CONTROL DE CALIDAD DE LIPSTICK FORMULADO EN BASE AL COLORANTE NATURAL EXTRAÍDO DE LAS SEMILLAS DE *Bixa orellana* L. (ACHIOTE)"** presentado por la señorita bachiller: **Salyka Pamela Muñoz Canal** con Nro. de DNI: 45603773, para optar el título profesional de Químico Farmacéutico.

Informo que el trabajo de investigación ha sido sometido a revisión por una vez, mediante el Software Antiplagio, conforme al Art. 6° del *Reglamento para Uso de Sistema Antiplagio de la UNSAAC* y de la evaluación de originalidad se tiene un porcentaje de 4 %.

Evaluación y acciones del reporte de coincidencia para trabajos de investigación conducentes a grado académico o título profesional, tesis

Porcentaje	Evaluación y Acciones	Marque con una (X)
Del 1 al 10%	No se considera plagio.	X
Del 11 al 30 %	Devolver al usuario para las correcciones.	
Mayor a 31%	El responsable de la revisión del documento emite un informe al inmediato jerárquico, quien a su vez eleva el informe a la autoridad académica para que tome las acciones correspondientes. Sin perjuicio de las sanciones administrativas que correspondan de acuerdo a Ley.	

Por tanto, en mi condición de asesora, firmo el presente informe en señal de conformidad y adjunto la primera hoja del reporte del Sistema Antiplagio.

Cusco, 29 de diciembre del 2023


.....
Dra. Ingrid Vera Ferchau
Nº de DNI: 06291305
ORCID del Asesor: 0000-0002-4763-337X

Se adjunta:

1. Reporte generado por el Sistema Antiplagio.
2. Enlace del Reporte Generado por el Sistema Antiplagio: OID:27259:300921907

NOMBRE DEL TRABAJO

**ELABORACIÓN Y CONTROL DE CALIDAD
DE LIPSTICK FORMULADO EN BASE AL
COLORANTE NATURAL EXTRAIDO DE LA
S**

RECuento DE PALABRAS

31379 Words

RECuento DE CARACTERES

172933 Characters

RECuento DE PÁGINAS

131 Pages

TAMAÑO DEL ARCHIVO

3.0MB

FECHA DE ENTREGA

Dec 28, 2023 10:10 PM GMT-5

FECHA DEL INFORME

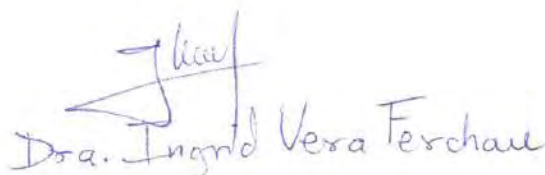
Dec 28, 2023 10:12 PM GMT-5**● 4% de similitud general**

El total combinado de todas las coincidencias, incluidas las fuentes superpuestas, para cada base de datos

- 4% Base de datos de Internet
- Base de datos de Crossref
- 2% Base de datos de trabajos entregados
- 1% Base de datos de publicaciones
- Base de datos de contenido publicado de Crossref

● Excluir del Reporte de Similitud

- Material bibliográfico
- Material citado
- Material citado
- Coincidencia baja (menos de 15 palabras)



Dra. Ingrid Vera Ferschauer

DEDICATORIA

Dedico mi investigación a mi Madre, a quien admiro y quien ha puesto el listón más alto para que yo me supere día a día; con su resiliencia y coraje es mi mayor ejemplo a seguir.

A mi hermano Fernando mi segundo padre, mi amigo, por brindarme confianza en cada paso que doy.

A mi familia por ser mi soporte, mi círculo de protección y mi lugar seguro.

Por hacer de este recorrido una experiencia especial e invaluable, quiero reconocer a mis maestros y amigos por sus consejos, guía y lecciones.

Salyka Pamela Muñoz Canal

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a Dios mi guía, mi protector, que ha dirigido misericordiosamente todos mis pasos.

A mis padres Luzmila y Julio, a mi hermano Fernando por siempre creer en mí.

A mi Tía Vilma, por ser una segunda mamá en toda mi etapa universitaria y en la vida.

A los docentes de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica, que con sus enseñanzas e instrucción forman a los futuros profesionales que contribuirán en el desarrollo de la Salud donde vayan de seguro dejarán en alto el nombre de nuestra universidad.

Todo mi agradecimiento y afecto a la Dra. Ingrid Vera Ferchau por su amistad y confianza desde el principio, así como por su dirección, apoyo y consejo en la preparación de esta tesis.

A la Mgt. Anahí Karina Cardona Rivero por su colaboración y facilidades brindadas durante la realización de la parte experimental de la investigación.

Toda mi gratitud a mis compañeros, amistades, maestros y demás profesionales con los que tuve el honor de coincidir en este momento tan trascendental para mí.

ÍNDICE

ABREVIATURAS	i
RESUMEN	ii
ABSTRACT	iii
INTRODUCCIÓN	iv
CAPÍTULO I: GENERALIDADES	1
1.1 Planteamiento de problema.....	1
1.2 Formulación del problema	3
1.3 Objetivos	3
1.3.1 Objetivo general	3
1.3.2 Objetivos específicos.....	3
1.4 Justificación e importancia	4
1.4.1 De conocimiento	4
1.4.2 De aplicabilidad.....	5
1.4.3. De prioridad.....	6
1.4.4 En el ámbito económico	6
1.5 Hipótesis	7
CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO Y CONCEPTUAL	8
2.1 Visión histórica	8
2.2 Antecedentes	8
2.2.1 Antecedentes internacionales	8
2.2.2 Antecedentes nacionales	13
2.2.3 Antecedentes locales	16
2.3 Estado de la cuestión.....	16
2.3 Bases teórico – científicas.....	18
2.3.1 <i>Bixa orellana</i> L. (Achiote)	18
2.3.2 Labios	25

2.3.3 Cosmecéuticos.....	27
2.3.4 <i>Lipstick</i>	28
2.3.5 Colorantes.....	34
2.3.6 Control de calidad de productos cosméticos.....	36
2.4 Definición de términos básicos.....	41
CAPÍTULO III: MATERIALES Y MÉTODOS.....	43
3.1 Materiales.....	43
3.1.1 Material vegetal.....	43
3.1.2 Materiales de laboratorio.....	43
3.1.3 Instrumentos y equipos.....	43
3.1.4 Reactivos.....	43
3.1.4.1 Extracción del colorante.....	43
3.1.4.2 Elaboración del <i>Lipstick</i>	44
3.1.4.3 Control microbiológico del <i>Lipstick</i>	44
3.1.5 Otros.....	44
3.1.6 Lugar de ejecución y tiempo.....	44
3.2 Diseño metodológico.....	45
3.2.1 Nivel y tipo de investigación.....	45
3.2.2 Diseño de la investigación.....	45
3.2.2.1 Formulación de <i>lipstick</i> elaborado en base al colorante natural extraído de las semillas de <i>Bixa orellana</i> L. (achiote).....	45
3.2.2.2 Análisis de características organolépticas de <i>lipstick</i> elaborado en base al colorante natural extraído de las semillas de <i>Bixa orellana</i> L. (Achiote).....	46
3.2.2.3 Análisis de características fisicoquímicas de <i>lipstick</i> elaborado en base al colorante natural extraído de las semillas de <i>Bixa orellana</i> L. (achiote).	47
3.2.2.4 Análisis de control microbiológico de <i>lipstick</i> elaborado en base al colorante natural extraído de las semillas de <i>Bixa orellana</i> L. (achiote).....	47
3.2.3 Identificación y operacionalización de variables.....	49

3.2.3.1 Variables implicadas	49
Variable Independiente	49
Variable Dependiente.....	50
3.2.3.2 Variables no implicadas	56
3.2.4 Criterios de inclusión y exclusión	60
3.3 Procedimientos de la investigación.....	60
3.3.1 Recolección, identificación, selección y secado de las semillas de <i>Bixa orellana</i> L. (Achiote).....	63
3.3.2 Obtención del colorante natural extraído de las semillas de <i>Bixa orellana</i> L. (Achiote).....	63
3.3.3 Determinación del porcentaje de rendimiento del colorante obtenido de las semillas de <i>Bixa orellana</i> L. (Achiote)	63
3.3.4 Análisis de características organolépticas del colorante obtenido de las semillas de <i>Bixa orellana</i> L. (Achiote)	64
3.3.5 Formulación del <i>lipstick</i> en base al colorante natural obtenido de las semillas de <i>Bixa orellana</i> L. (Achiote)	65
3.3.6 Elaboración del <i>lipstick</i> en base al colorante natural obtenido de las semillas de <i>Bixa orellana</i> L. (Achiote).	66
3.3.7 Análisis de la compatibilidad de ingredientes en la elaboración del <i>lipstick</i> formulado en base al colorante natural obtenido de las semillas de <i>Bixa orellana</i> L. (Achiote).....	66
3.3.8 Análisis organoléptico del <i>lipstick</i> formulado en base al colorante natural obtenido de las semillas de <i>Bixa orellana</i> L. (Achiote)	66
3.3.9 Análisis fisicoquímico del <i>lipstick</i> formulado en base al colorante natural obtenido de las semillas de <i>Bixa orellana</i> L. (Achiote)	68
3.3.10 Análisis microbiológico del <i>lipstick</i> formulado en base al colorante natural obtenido de las semillas de <i>Bixa orellana</i> L. (Achiote).....	69
.....	73
3.4 Técnicas e instrumentos de recolección de datos	74

3.5 Técnicas para procesamiento y análisis estadístico de la información	74
CAPÍTULO IV: ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS.....	75
4.1 Resultados del porcentaje de rendimiento	75
4.2 Resultados del análisis de características organolépticas del colorante obtenido de las semillas de <i>Bixa orellana</i> L. (Achiote).....	76
4.3 Resultados de la elaboración del <i>lipstick</i> formulado en base al colorante natural obtenido de las semillas de <i>Bixa orellana</i> L. (Achiote) y compatibilidad de ingredientes	77
4.4 Resultados del análisis organoléptico del <i>lipstick</i> formulado en base al colorante natural obtenido de las semillas de <i>Bixa orellana</i> L. (Achiote).....	80
4.5 Resultados del análisis fisicoquímico del <i>lipstick</i> formulado en base al colorante natural obtenido de las semillas de <i>Bixa orellana</i> L. (Achiote).....	81
4.6 Resultados del análisis microbiológico del <i>lipstick</i> formulado en base al colorante natural obtenido de las semillas de <i>Bixa orellana</i> L. (Achiote).....	85
CONCLUSIONES	90
SUGERENCIAS	91
BIBLIOGRAFÍA	92
ANEXOS	100

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. <i>Bixa orellana</i> L.....	20
Figura 2. Estructura química de la Bixina	23
Figura 3. Anatomía del labio y región perioral.....	27
Figura 4. Porcentaje de rendimiento del colorante obtenido de las semillas <i>Bixa orellana</i> L. (Achiote) con KOH al 2 %	75
Figura 5. pH del <i>lipstick</i> formulado en base al colorante natural obtenido de las semillas de <i>Bixa orellana</i> L. (Achiote) en la formulación al 8 % (F-I), 10 % (F-II) y 12 % (F-III).....	82

Figura 6. Densidad del <i>lipstick</i> formulado en base al colorante natural obtenido de las semillas de <i>Bixa orellana</i> L. (Achiote) en la formulación al 8 % (F-I), 10 % (F-II) y 12 % (F-III).....	82
Figura 7. Punto de fusión del <i>lipstick</i> formulado en base al colorante natural obtenido de las semillas de <i>Bixa orellana</i> L. (Achiote) en la formulación al 8 % (F-I), 10 % (F-II) y 12 % (F-III).....	83

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Componentes químicos y cantidades presentes en 100g de planta fresca de <i>Bixa orellana</i> L. (Achiote)	21
Tabla 2. Componentes químicos de la semilla de <i>Bixa orellana</i> L. (Achiote).....	21
Tabla 3. Principales bases grasas	30
Tabla 4. Principales colorantes naturales	35
Tabla 5. Principales colorantes sintéticos.....	35
Tabla 6. Especificaciones microbiológicas	39
Tabla 7. Especificaciones fisicoquímicas.....	40
Tabla 8. Operacionalización de variables implicadas	57
Tabla 9. Operacionalización de variables no implicadas	60
Tabla 10. Medio de cultivo, características de las colonias, método, temperatura y tiempo para cada microorganismo.....	70
Tabla 11. Resultados del porcentaje de rendimiento del colorante obtenido de las semillas <i>Bixa orellana</i> L. (Achiote) con KOH al 2 %	75
Tabla 12. Resultados del análisis de características organolépticas del colorante obtenido de las semillas de <i>Bixa orellana</i> L. (Achiote)	76
Tabla 13. Formulación del <i>Lipstick</i>	78
Tabla 14. Resultados del análisis organoléptico del <i>lipstick</i> formulado en base al colorante natural obtenido de las semillas de <i>Bixa orellana</i> L. (Achiote) en la formulación al 8 (F-I), 10 (F-II) y 12 % (F-III)	80

Tabla 15. Resultados del análisis fisicoquímico del <i>lipstick</i> formulado en base al colorante natural obtenido de las semillas de <i>Bixa orellana</i> L. (Achiote) en la formulación al 8% (F-I), 10% (F-II) y 12 % (F-III).....	81
Tabla 16. Resultados del recuento total de microorganismos aerobios mesófilos viables; hongos filamentosos y levaduras en <i>lipstick</i> formulado en base al colorante natural obtenido de las semillas de <i>Bixa orellana</i> L. (Achiote) en la formulación al 8 % (F-I), 10 % (F-II) y 12 % (F-III).....	85
Tabla 17. Resultados de la identificación de microorganismos patógenos a las 24, 48 y 72 horas en <i>lipstick</i> formulado en base al colorante natural obtenido de las semillas de <i>Bixa orellana</i> L. (Achiote) en la formulación al 8 % (F-I), 10 % (F-II) y 12 % (F-III). 87	

ÍNDICE DE FLUJOGRAMAS

Flujograma 1. Procedimiento de la investigación.....	62
Flujograma 2. Procedimiento del análisis microbiológico	73

ABREVIATURAS

BHA	Hidroxianisol butilado
BHT	Hidroxitolueno butilado
DCS	Digerido de Caseína Soja
DIGEMID	Dirección General de medicamentos, insumos y drogas
DPPH	2,2-Difenil-1-Picrilhidrazilo
FDA	<i>Food and Drug Administration</i>
FPS	Factor de protección solar
g	gramos
IDP	Irritante dérmico primario
MDA	Malondialdehído
MINSA	Ministerio de Salud
mL	Mililitros
NF	<i>National Formulary</i>
OMS	Organización mundial de la salud
PYMES	Pequeñas y medianas empresas
RTCA	Reglamento Técnico Centroamericano
TBARS	Ácido tiobarbitúrico
TEAC	<i>Trolox equivalent antioxidant capacity</i>
UFC	Unidad formadora de colonias
UHPLC	<i>Ultra High Performance Liquid Chromatography</i>
USP	<i>United States Pharmacopeia</i>
UV-B	Ultravioleta B

RESUMEN

Este estudio tuvo como objetivo elaborar un *lipstick* formulado en base al tinte extraído de las semillas de *Bixa orellana* L. (Achiote) que cumpla con los controles de calidad exigidos por la USP 43 NF 38 y la Resolución N° 2120: Reglamento Técnico Andino sobre Especificaciones Técnicas Microbiológicas de Productos Cosméticos.

La recolección de achiote tuvo lugar en el Centro Poblado de Huillcapampa – Distrito de Quellouno – Provincia de La Convención, se obtuvo el colorante por extracción alcalina con KOH al 2 % el promedio del porcentaje de rendimiento fue de 7.891 % valor que se encuentra dentro del rango citado, las características organolépticas del colorante son adecuadas presentando color rojo oscuro, olor y sabor característico, se elaboró un *lipstick* formulado en base al colorante natural extraído de achiote a concentraciones de 8 %, 10 % y 12 % denominado formulación I, II y III respectivamente donde se incluyó aceite de semilla de uvas, cera de abejas, manteca de karité, miristato de isopropilo, propilenglicol, esencia de frutos rojos y conservante, se analizó la compatibilidad de ingredientes donde se observó convenientes características en la mezcla.

Al producto final se sometió a pruebas de evaluación organoléptica resultando tener un aspecto homogéneo, olor agradable, uniformidad y adherencia buena, el análisis fisicoquímico arroja datos promedio de pH: 6.33, densidad: 0.929 g/mL, punto de fusión: 54.03 °C resultados que se encuentran dentro de los rangos de referencia, en el análisis microbiológico no se evidenció crecimiento de microorganismos aerobios mesófilos viables, hongos filamentosos y levaduras, ni microorganismos patógenos.

Se llegó a la conclusión que los *lipstick* formulados en base al colorante natural extraído de *Bixa orellana* L. (Achiote) en las concentraciones 8 %, 10 % y 12 cumplen con los parámetros exigidos en el control de calidad organoléptico, fisicoquímico y microbiológico de acuerdo con las referencias citadas en la USP 43 NF 38 y la Resolución N° 2120.

Palabras claves: *Lipstick*, *Bixa orellana*, colorante, control de calidad.

ABSTRACT

This study aimed to develop a lipstick formulated based on the dye extracted from the seeds of *Bixa orellana* L. (Achiote) that complies with the quality controls required by USP 43 NF 38 and Resolution N° 2120: Andean Technical Regulation on Microbiological Technical Specifications of Cosmetic Products.

The collection of annatto took place in the Populated Center of Huillcapampa – District of Quellouno – Province of La Convencion, the dye was obtained by alkaline extraction with 2% KOH, the average percentage of yield was 7.891%, a value that is within the mentioned range, the organoleptic characteristics of the dye are adequate, presenting a dark red color, characteristic smell and flavor, a lipstick formulated based on the natural dye extracted from annatto at concentrations of 8%, 10% and 12% called formulation I, II and III respectively where grape seed oil, beeswax, shea butter, isopropyl myristate, propylene glycol, red fruit essence and preservative were included, the compatibility of ingredients was analyzed where convenient characteristics were observed in the mixture.

The final product was subjected to organoleptic evaluation tests, resulting in a homogeneous appearance, pleasant smell, uniformity and good adhesion. The physicochemical analysis yielded average data of pH: 6.33, density: 0.929 g/mL, melting point: 54.03 °C, results that are within the reference ranges, the microbiological analysis did not show growth of viable mesophilic aerobic microorganisms, filamentous fungi and yeasts, or pathogenic microorganisms.

It was concluded that the lipsticks formulated based on the natural dye extracted from *Bixa orellana* L. (Achiote) in concentrations 8%, 10% and 12% comply with the parameters required in the organoleptic, physicochemical and microbiological quality control according to with the references cited in USP 43 NF 38 and Resolution N° 2120.

Key words: Lipstick, *Bixa orellana*, colorant, quality control.

INTRODUCCIÓN

El desarrollo de la revalorización en la utilización de los recursos vegetales va desde una adecuada clasificación etnobotánica, el conocimiento de su composición química, la actividad terapéutica que presenta y las posibles investigaciones que pueden llevarse a cabo, dando lugar a un notorio apogeo en el manejo de las hierbas medicinales con el paso del tiempo es decir su uso en la actualidad no solo se centra en lo conocido por las culturas que nos antecedieron sino que existe un notable entusiasmo por conocer más y a ello se suma que la tecnología está en avance con nuevos métodos, procedimientos y la accesibilidad a estos. (1)

El número de recursos naturales en nuestro país que se han relacionado con beneficios médicos es inconmensurable. La amplia gama de plantas que tienen propiedades terapéuticas nos ofrece innumerables oportunidades de investigación. La *Bixa orellana* L., popularmente nombrada en nuestro medio como achiote, usada ampliamente por sus propiedades expectorantes, cicatrizantes, antiinflamatorios, fotoprotectores y antipiréticos, entre otros usos. (2)

La principal sustancia derivada de las semillas de achiote se llama bixina, componente químico encargado de gran parte de las propiedades medicinales, además de ser ampliamente utilizado para colorear textiles, productos culinarios, farmacéuticos y, en menor medida, cosméticos. (3)

La exigencia de cosméticos seguros, inocuos, asequibles y de la mejor calidad para el público ha crecido con el tiempo, elaborar productos económicamente accesibles y amigables con el medio ambiente, es un reto y a la vez una gran ventana de desarrollo, la distribución del producto primario y final que acabará vendiéndose en mercados y ferias representa una enorme oportunidad de progreso así mismo, cada vez se tiene más conciencia sobre el uso y abuso de productos sintéticos y que además generan contaminación en el consumo de cosméticos la tendencia a lo verde y ecológico es una corriente en crecimiento. (1,4)

Los productos cosméticos centran su interés en los labios y ojos, siendo los labios una zona del rostro delicada y frágil por sus características anatómicas carente de melanocitos, folículos pilosos y glándulas sudoríparas siendo altamente sensible a condiciones

ambientales como temperatura, radiación solar, sequedad, etc. (5), el uso de *lipstick* o barra labial es una alternativa cosmética que aporta hidratación, protección a radiación solar y a la deshidratación, así como propiedades decorativas. (6)

La formulación de un *lipstick* es un procedimiento múltiple, el proceso más importante en la fabricación es la mezcla de ingredientes de naturaleza lipídica donde las sustancias colorantes y demás componentes se disuelvan totalmente, el *lipstick* como producto cosmético terminado debe cumplir con características organolépticas, fisicoquímicas y microbiológicas que certifiquen la calidad del producto y la total inocuidad en la piel de los labios, es en este punto donde los ensayos de control de calidad son de alta relevancia. (5,7)

Los consumidores de un producto cosmético necesitan un artículo que se haya fabricado con materias primas de garantía, respetando la manufactura conforme a la formulación propuesta y que el producto terminado cumpla con las normas exigidas por los controles de calidad, donde se establece procedimientos y ensayos que se desarrollan a materias primas, material de envase y empaque así como al producto final con objeto de asegurar la inocuidad y estabilidad del artículo así como disminuir la merma durante la producción. (8,9)

En la investigación se busca fabricar un cosmético en base a una planta que ha sido ampliamente estudiada por sus acciones farmacológicas en especial la actividad fotoprotectora y aprovechar la coloración natural que presenta las semillas de achiote como reemplazo en el uso de colorantes artificiales, ofreciendo así un producto cosmético terminado en base a materia prima de la región y que cumpla con los requisitos organolépticos, fisicoquímicos y microbiológicos exigidos en la normativa vigente

CAPÍTULO I: GENERALIDADES

1.1 Planteamiento de problema

La medicina tradicional es un componente vital de la sabiduría de nuestros pueblos y uno de los esenciales medios de información en el tratamiento de enfermedades, también un ámbito importante de la asistencia sanitaria no oficial en la nación que pretende preservar la identidad social y cultural de la población local (10), en la actualidad se utilizan plantas medicinales en diferentes comunidades rurales de nuestro país como parte de un proceso de selección, manejo y conservación de los conocimientos heredados por generaciones pasadas y que serán transmitidas a generaciones futuras, esta información resulta de suma importancia en el descubrimiento de productos medicinales y/o cosméticos. (11)

La industria cosmética es hoy en día un sector en expansión, generando miles de puestos de trabajo y ganancias, como todo sector en crecimiento tiene un lado perjudicial tanto para la salud como para el planeta el uso de conservantes, colorantes, preservantes, etc. usados en las fórmulas cosméticas a la larga pueden conllevar problemas dermatológicos (12), en la Universidad de Rowan (*Nueva Jersey*) en un estudio realizado se examinaron más de veinte marcas diferentes de cosméticos comprados en los exhibidores de los grandes almacenes en un lapso de más de dos años, hallándose productos contaminados por bacterias entre el 67 y el 100% en su mayoría *Staphylococcus aureus* causantes de conjuntivitis bacteriana e impétigo, demostrando que el control de calidad de estos productos es deficiente. (13)

Un informe de PROM PERU incluye el estudio: “*Global Cosmetics Products Market – Analysis of Growth, Trends and Forecast 2018- 2023*” donde se menciona que en el año 2023 habrá un crecimiento promedio de 7.14 % en la industria cosmética totalizando un valor de US\$ 605.61 mil millones (14) al ser un sector en crecimiento la industria cosmética conlleva riesgos tanto a las personas como al ambiente, los envases y empaques no degradables generan problemas de contaminación para disminuir esta dificultad se busca reemplazar estos productos por alternativas de empaques y envases eco amigables (12) ante la necesidad de buscar opciones más amistosas con el medio ambiente se tiene una tendencia hacia la cosmética natural, la cual es aún pequeña en relación a la cosmética convencional sin embargo, cada vez más aumenta la investigación de materias primas vegetales que pueden ser incluidas en formulaciones cosméticas. (4)

En el blog Mintel se presenta un listado de innovaciones y desarrollo de productos de belleza y cuidado personal donde resalta *La Bouche Rouge Lipstick* que es un lápiz labial sin fragancia, sin alteradores endócrinos, sin polietileno ni polimetil metacrilato que contamina el agua, es un producto de procedencia francesa con conciencia ecológica que busca aminorar la contaminación que se asocia a los ingredientes artificiales y a los millones de tubos de barra de labios que se descartan anualmente (14) se ha implantado fuertemente la tendencia a formulaciones sin aditivos y con el uso de ingredientes naturales garantizando productos seguros para la salud. (15)

Los tintes naturales son importantes porque permiten crear una amplia gama de colores y tienen diversas propiedades, también ayudan a reducir el uso de colorantes artificiales, que pueden ser perjudiciales para la salud y provocar dermatitis, alergias, náuseas e incluso cáncer. Esto permite crear cosméticos con pocos o ningún efecto secundario. (16,17)

El profesional Químico Farmacéutico es experto en el estudio, formulación, elaboración, fabricación y control de calidad de productos farmacéuticos, alimentarios y cosméticos. En el momento de formular productos cosméticos pueden recomendar sustitutos novedosos de los insumos, como materias primas de origen vegetal para garantizar cosméticos de alta calidad, seguros y asequibles que tengan menos consecuencias dañinas en el ambiente y en el bienestar de los consumidores. (13)

La fitocosmética ha crecido rápidamente gracias a los avances de la investigación clínica, la conocimiento de la fisiología de la piel y la composición química de las plantas (18), los labios son la parte del rostro que merece especial cuidado por las características anatómicas fisiológicas que presenta, carecen de células protectoras (melanocitos, glándulas sudoríparas, folículos pilosos) por lo cual es vulnerable a las condiciones ambientales perdiendo humedad, propenso a sequedad, agrietamiento, fragilidad a contraer infecciones bacterianas, virales y fúngicas. (5,19)

El uso de *lipstick* tiene como fin un efecto protector de los labios frente a la sequedad, radiación solar, etc. confiriendo un maquillaje de apariencia natural; está compuesto de ceras, aceites, excipientes, colorantes, etc. (20) conocer la composición de los productos cosméticos usados en labios es de sumo interés, la deficiente calidad en estos productos

puede llevar reacciones alérgicas, inflamación de la piel, afecciones dérmicas e incluso problemas de intoxicación de ser ingeridas. (9)

Los ensayos y métodos que garantizan la inocuidad y seguridad de los productos primarios, material de acondicionamiento y el producto final se denomina Control de Calidad, la importancia de un adecuado lineamiento a los métodos analíticos citados en los diferentes ensayos de control de calidad aseguran productos confiables aprobados para su uso, distribución y comercialización. (8)

En consecuencia, a lo mencionado y como contribución a la cosmética natural se plantea la siguiente investigación donde se elaboró un *lipstick* o lápiz labial aprovechando la tintura propia de las semillas del achiote como sustituto del colorante artificial reduciendo los riesgos del uso de estos, utilizando material vegetal de la región conocido por sus beneficios terapéuticos para ofrecer un producto cosmético asequible que cumpla las normas de control de calidad exigidos.

1.2 Formulación del problema

¿Es posible la elaboración de un *lipstick* formulado en base al colorante natural extraído de las semillas de *Bixa orellana* L. (Achiote) que cumpla con los controles de calidad exigidos?

1.3 Objetivos

1.3.1 Objetivo general

Elaborar un *lipstick* formulado en base al colorante natural extraído de las semillas de *Bixa orellana* L. (Achiote) que cumpla con los controles de calidad exigidos.

1.3.2 Objetivos específicos

1. Realizar la recolección, identificación, selección, secado y extracción alcalina del colorante natural existente en las semillas de *Bixa orellana* L. (Achiote) empleando solución hidróxido de potasio al 2 %.
2. Determinar el porcentaje de rendimiento y efectuar el análisis de las características organolépticas (color, olor y sabor) del colorante natural existente en las semillas de *Bixa orellana* L. (Achiote).

3. Elaborar un *lipstick* formulado en base al colorante natural extraído de las semillas de *Bixa orellana L.* (Achiote) al 8 %, 10 % y 12 % nombrado formulación I, II y III respectivamente.
4. Realizar el control de calidad organoléptico (homogeneidad, olor, uniformidad de color y adherencia) del *lipstick* en las formulaciones I, II y III de acuerdo a las especificaciones citadas en la USP 43 NF 38.
5. Realizar el control de calidad fisicoquímico (pH, densidad y punto de fusión) del *lipstick* en las formulaciones I, II y III de acuerdo a las especificaciones citadas en la USP 43 NF 38.
6. Desarrollar el control de calidad microbiológico (recuento total de microorganismos aerobios mesófilos, hongos filamentosos y levaduras e identificación de microorganismos patógenos: *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Escherichia coli* del *lipstick* en las formulaciones I, II y III en base a las referencias citadas en la USP 43 NF 38 y la Resolución N° 2120.

1.4 Justificación e importancia

1.4.1 De conocimiento

Los investigadores se enfrentan ahora a la tarea de desarrollar nuevas y mejores formas de utilizar los productos naturales en particular las plantas (21) el uso de plantas medicinales en la industria es muy extenso sea en la industria farmacéutica, alimentaria, cosmética, etc. siendo esta última un sector en potencial crecimiento gastando sumas exorbitantes de dinero y recursos con el fin de ir modernizando formulaciones de cosméticos usados en décadas pasadas, así como innovando el mercado con el planteamiento de nuevas formulaciones enfatizando el uso de insumos de procedencia natural. (1)

El uso de los cosméticos por persona va en incremento, así como su expansión a nuevos mercados y continentes como Asia y América, en nuestro país el uso per – cápita de cosméticos es bajo sin embargo no es ajeno a la tendencia en aumento del uso de productos cosméticos, los consumidores de estos productos son cada vez más conscientes de su salud y belleza exigiendo productos de calidad que, además de cuidar su salud les haga sentir comodidad con su apariencia. (22)

El Químico Farmacéutico puede utilizar sus conocimientos en diversos campos, incluido el sector cosmético, es el experto encargado de todo el proceso de investigación, producción y control de calidad. La palabra "cosmético" se refiere a los preparados que se aplican externamente en diversas zonas del cuerpo para esterilizar, perfumar, realzar, proteger y otros fines (13)

El Químico Farmacéutico desempeña un papel crucial en la producción de cosméticos al garantizar el suministro de productos de alta calidad, seguros y eficaces, para lo cual se realizan análisis de todos los productos, desde las materias primas hasta los acabados, garantizando procesos óptimos de planificación, producción y control de calidad siendo este último especialmente importante para evitar alteraciones, deterioro o contaminación de los productos, que pueden acarrear graves riesgos en la salubridad de los consumidores a causa de la existencia de microorganismos que podrían causar irritaciones e infecciones. (13,21)

1.4.2 De aplicabilidad

Debido a sus usos y beneficios como medicamentos, alimentos y cosméticos, los productos naturales han experimentado un aumento en su consumo en los últimos tiempos, esto ha creado nuevas perspectivas de desarrollo para las PYMES especializadas en la venta de estos artículos. (23)

Los productos primarios de origen vegetal se utilizan cada vez más en la creación de productos cosméticos, cada vez se tiene mayor presencia de cosméticos naturales denominados Fitocosméticos que conlleva mayores ventajas en su uso y mínimas reacciones adversas (19,21) la cosmética natural crece como resultado de la exigencia de un consumidor cada vez más informado y responsable que busca cuidar su apariencia con alternativas más sustentables y ecoamigables. (4)

Se propone un cosmético que satisface las características organolépticas, fisicoquímicas y microbiológicas exigidas en la normativa vigente, que han sido formulado y desarrollado en base a materia prima de origen vegetal que se encuentre ampliamente en nuestra localidad beneficiando al consumidor por sus características cosméticas y además que cause un efecto ambiental positivo al ser elaborado con elementos de origen natural descartando el uso de colorantes artificiales al aprovechar la coloración natural de las semillas de achiote. A su vez este trabajo pretende contribuir a futuras investigaciones

sobre el uso de recursos vegetales en el desarrollo de Fitocosméticos no solo como materia prima sino como producto terminado.

1.4.3. De prioridad

Desde un punto de vista sanitario y estético el uso de cosméticos ha pasado de ser un lujo a ser un componente necesario del mantenimiento personal, las barras labiales representan un elemento de uso cotidiano y cada vez más popular. (13)

Se propone elaborar un *lipstick* formulado en base al tinte extraído del achiote que es una planta que históricamente se ha empleado en nuestro entorno para teñir tejidos y en la preparación de comidas que además tiene propiedades antioxidantes, cicatrizantes, protectora contra rayos UV-B, etc. como una alternativa cosmética con responsabilidad medioambiental al plantear un producto con ingredientes de origen natural buscando así reducir el uso de contaminantes químicos.

1.4.4 En el ámbito económico

El contar con materia prima de origen vegetal y productos elaborados a partir de esta, representa un verdadero alivio para la población que podrá usar y además darle valor agregado a recursos vegetales que tiene al alcance.

La comercialización de los productos naturales dinamiza la economía local, los productores pueden vender el producto primario, al igual que fabricar y expender el producto final incentivando el desarrollo de pequeñas y medianas empresas con responsabilidad ambiental y social generando muchos puestos de trabajo.

La productividad de achiote en nuestro país presenta un crecimiento notable, en el año 2013 se alcanzó una alta fluctuación con una producción de 7500 toneladas mayor en 44.24 % al año 2012 cuya tendencia al año 2018 se vio disminuida. (32)

En el año 2013 la producción provenía principalmente de las regiones de Cusco y Pasco, en el año 2019 el 86 % provienen de estas regiones, el 46.2 % de Pasco y el 40.1 % del departamento del Cusco datos extraídos del Ministerio de Agricultura y Riego. (32)

1.5 Hipótesis

El *lipstick* elaborado en base al colorante natural extraído de las semillas de *Bixa orellana* L. (Achiote) cumple con los controles de calidad exigidos.

CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO Y CONCEPTUAL

2.1 Visión histórica

La contaminación en la contemporaneidad es uno de los principales problemas dado que la industria cosmética está en expansión y utiliza muchos productos sintéticos que pueden ser peligrosos para los consumidores y el medio ambiente. Por eso, cada vez se utilizan más ingredientes naturales y ecológicos en las fórmulas cosméticas. (12)

Se busca la inclusión de pigmentos naturales en la formulación de cosméticos con el fin de aprovechar las propiedades naturales que ofrecen y disminuir la utilización de colorantes artificiales que son riesgosos para la salud. (16,17) El achiote usado desde tiempos antiguos como colorante natural es ampliamente cultivado en nuestro País, además que las tribus nativas de América pintaban su piel con las semillas para protegerse de la radiación solar y de la picadura de insectos (36).

Los labios tienen características fisiológicas particulares al ser carente de células protectoras es sensible a las quemaduras solares, resequedad, agrietamiento, entre otros factores ambientales es aquí donde radica la importancia del *lipstick* que es una mezcla de ceras, aceites, colorantes y excipientes que sirve para proteger los labios de la radiación ultravioleta y de la pérdida de humedad. (9)

Los diferentes ensayos, procedimientos y métodos que garantizan la inocuidad de los productos cosméticos se denomina control de calidad la importancia de este radica en cumplir con las exigencias del consumidor. (75)

2.2 Antecedentes

2.2.1 Antecedentes internacionales

- **Alegría S. S.** Evaluación de la actividad cicatrizante en ratas albinas, de la combinación de los preparados galénicos de *Bixa orellana* L. (Achiote), *Ocimum campechanum* Mill. (Albahaca de monte) y *Aloe vera* L. (Sábila). Universidad de San Carlos de Guatemala; 2017 (24)

El estudio examinó las propiedades cicatrizantes del ungüento elaborado con *Bixa orellana*, *Ocimum campechianum* y *Aloe vera* en ratas albinas, para este fin se procedió a preparar extractos acuosos e incluirlo en un ungüento en concentraciones al 30% (10 % de achiote, 10 % de albahaca y 10 % de sábila) y preparados individuales al 10 %, se realizaron pruebas microbiológicas confirmando que cumplen con los parámetros exigidos.

Se depiló la porción dorsal de cinco ratas albinas machos de entre 250 y 300 gramos de peso y se provocó una herida mediante la técnica de la herida de segunda intención, en la que los tratamientos se administraron de forma aleatoria: Crema neomicina + clostebol (control +), ungüento al 10 % y 30 %, excipientes del ungüento y sin tratamiento.

En los resultados se observa que el ungüento de concentración 30% tiene un efecto cicatrizante más fuerte que el control positivo además favorece el proceso de cicatrización en un tiempo promedio de 10 a 12 días, la formulación individual de *Bixa orellana* demostró buena reconstrucción tisular y no es mejor que las formulaciones individuales de *Ocimum campechianum* y *Aloe vera*.

- **Meñaca E.V., Restrepo J. & Colmenares A.J.** Actividad antioxidante del complejo de inclusión del extracto de semilla de *Bixa orellana* en β -ciclodextrina obtenido por CO₂ supercrítico. Universidad de Antioquia; 2018 (25)

La actividad antioxidante de achiote se puede ver limitada por la inestabilidad en presencia de luz, aire, humedad y altas temperaturas lo cual se busca corregir con la técnica de inclusión en β -ciclodextrina por fluido supercrítico por CO₂.

La investigación tiene el objetivo de cotejar diversas condiciones de presión de extracción y temperatura por Fluido Súper Crítico – Dióxido de Carbono, para así precisar en qué condiciones se separa el extracto de achiote con óptima acción antioxidante.

Se pesaron once gramos de semillas molidas de achiote, se procede a la extracción con CO₂ súper crítico utilizando el extracto IV que fue el extracto con considerable actividad antioxidante para ejecutar el conjunto de inclusión en β -ciclodextrina, para la inclusión se homogenizó en un mortero un gramo de β -ciclodextrina, 0.1 g de extracto y 14 % de agua.

Se concluye el análisis afirmando que los extractos de achiote obtenidos por fluido supercrítico muestran una respuesta diferenciada en su actividad antioxidante logrando un extracto óptimo a condiciones de 5076 psi de presión y 45°C de temperatura.

- **Sepúlveda C.T., Zapata J.E.** Efecto de la temperatura, el pH y el contenido en sólidos sobre los compuestos fenólicos y la actividad antioxidante del extracto de *Bixa orellana* L. (26)

La investigación se realizó con el fin de determinar los efectos de la temperatura, el pH y sólidos solubles en relación a la rapidez de degradación por temperatura de la totalidad de fenoles presentes en el extracto etanólico extraído de achiote recolectadas en el Municipio de San Luis – Antioquia.

La totalidad de fenoles en el extracto de achiote se evaluó por Folin-Ciocalteu además se estudió la estabilidad y actividad antioxidante del extracto por un promedio de 91 días a condiciones de -20 °C, 8 °C, 23 °C y 37 °C.

Los resultados indican que la degeneración en la totalidad de fenoles es influenciada por el aumento o disminución de temperatura y sólidos solubles en condiciones de procesamiento y almacenamiento.

Se determinó que la actividad antioxidante de los extractos se relaciona con la cuantía de compuestos fenólicos que dependen de la temperatura y de la cantidad de sólidos solubles.

- **Nasimba G.N.** Extracción de colorantes en *Bixa orellana* L. (achiote) y su aplicación en formas farmacéuticas líquidas. Universidad Central del Ecuador; 2019 (27)

La investigación tiene como finalidad obtener un tinte de achiote usando las semillas que sea fácil de incorporar en formas farmacéuticas líquidas, para la extracción del tinte natural se trata a 100 g de semillas de achiote con KOH 2% p/v.

Se incorporó 0.24 g de colorante a veinticuatro jarabes de acetaminofén elaborados en dos lotes, los cuales se almacenaron en 2 tipos de envase vidrio y polietileno de alta densidad, por medio del método de Arrhenius se concluye que la vida útil del jarabe almacenado en envases de vidrio (18.4 meses) y en polietileno (12 meses).

La investigación concluye aseverando que el jarabe preparado con el tinte de achiote satisface las especificaciones establecidas en la USP 35 con respecto a las propiedades organolépticas, físicas, químicas, microbiológicas y se conservan de forma óptima en los envases de vidrio por ser impermeables y foto protectores.

- **Barreno R. M.** Diseño de un proceso para la obtención de colorantes naturales a partir de achiote (*Bixa orellana*), chonta (*Bactris gasipaes*) y papaya hawaiana (*Carica papaya* L.) En seco y húmedo. Escuela Superior politécnica de Chimborazo; 2020 (28)

El objetivo general del estudio es crear un método para separar los tintes naturales del achiote, la chonta y la papaya hawaiana en formas seca y húmeda que puedan utilizarse en la cocina.

Se eligieron los frutos y cada uno se sometió a una evaluación física, química, organoléptica y macromorfológica.

Se concluye que el colorante obtenido de la muestra en seco tuvo mejor pigmentación a pesar de no tener buen rendimiento, las muestras procesadas tanto en procesamiento seco como húmedo no presenta hongos ni levaduras, en la muestra de chonta se tiene una ligera presencia de aerobios mesófilos y enterobacterias dentro de los márgenes aceptables en la normativa oficial NOM-119-SSA1-1994.

Se probó la estabilidad de los colorantes en una mezcla con yogurth midiendo el pH por 4 semanas registrando valores dentro del rango de 4 – 5, condiciones de conservación aceptables.

- **Aguirre D. S., Blanco L. Y. & Cisneros C. del R.** Evaluación de la calidad microbiológica de lápices labiales líquidos de uso cosmético, por límite microbiano comercializados en canastos del mercado oriental, Managua, Nicaragua. Octubre – Noviembre 2018. Universidad Nacional autónoma de Nicaragua, León; 2019 (13)

La investigación se realizó con el fin de valorar la característica microbiológica empleando el procedimiento de Límite Microbiano en pinturas de labios líquidas que se expenden en la feria Oriental de Managua, en base al Reglamento Técnico Centroamericano (RTCA) 71.03.45:07.

Se tiene 28 unidades de pintalabios como muestra para el conteo de microorganismos mesófilos aerobios y hongos filamentosos y levaduras.

Para el análisis de *Staphylococcus aureus* se pesa 10 g del producto y se disuelve en 90 mL de caldo digerido de caseína – soya, gestar de 35 a 37°C por un periodo de 48 a 72 horas, en la determinación de *Pseudomona aeruginosa* se pesaron 10 g del producto combinar con 90 mL de caldo digerido de caseína, gestar de 35 - 37 °C de 24 a 48 horas, en la evaluación de *Escherichia coli* se procedió a pesar 10 g del producto e incorporar 90 ml de caldo lactosa, gestar de 35 a 37 °C por un periodo de 48 a 72 horas.

El estudio no reveló crecimiento de bacteria aerobia mesófila, hongos y levaduras ni microorganismos patógenos se concluye que las muestras procesadas obedecen con el RTCA 71.03.45:07.

- **Arévalo J. A.** Plan de negocios para la creación de un labial de origen natural denominado “ECOLIPSTICK” En la ciudad de Villavicencio–Meta. Universidad Santo Tomás; 2019 (6)

En la investigación se formula un plan de negocios de la compañía *EcoLipstick* dedicado a la venta de labiales naturales en la ciudad de Villavicencio - Colombia.

Con respecto a la situación generacional en un 96% los participantes tienen edades entre 18 – 34 años pertenecientes a estratos 2 y 3 con capacidad adquisitiva de medio a bajo, siendo la calidad de producto la razón de preferencia de compra seguida por los ingredientes del producto.

En la ficha técnica de *EcoLipstick* se tiene 3 variantes: Achiote, betabel (beterraga) y betach (mezcla de achiote y betabel), en la elaboración de la primera variante se utiliza: cera de abejas, manteca de karité, óleo de argán y coco, vainilla y 600 g de extracto de achiote pulverizado, se mezclan por 4 horas a 65 °C, en la variación betabel se procede de igual forma reemplazado el achiote por 600 g de extracto de betabel pulverizado, la variante betach tendrá 300 g de achiote y 300 g de betabel.

Dado que los residuos producidos por la barra de labios *Ecolipstick* no alteran la biosfera regional ni mundial, fomentan el confort personal, social y medioambiental.

2.2.2 Antecedentes nacionales

- **Rojas R., Doroteo V. H., Díaz C., et al.** Actividad antioxidante, Anti-elastasa, Anticolagenasa, protectora contra rayos UV-B, promotora de síntesis de colágeno in vitro y estudios de seguridad/eficacia de extractos de *Bixa orellana* (Achiote) y *Oenothera rosea* (Chupasangre). Universidad Peruana Cayetano Heredia; 2013 (29)

La investigación tiene el fin de determinar la actividad antioxidante, antienzimáticas, fotoprotectora, promotora de extracción de colágeno in vitro, inocuidad y fiabilidad de extractos de achiote y chupasangre como base para el desarrollo de 2 cremas.

Para el análisis de compuestos fenólicos se utilizó el procedimiento de Folin- Ciocalteu, la actividad antioxidante se analizó mediante el test de DPPH mostrando buena acción para los extractos llegando a tener valores de efectividad cercana al control positivo, la actividad antioxidante total TEAC se estudió mediante el método descrito por Hazra determinando que el extracto del achiote fue 2.5 veces mayor que el extracto de chupasangre.

Los extractos de achiote y chupasangre impiden parcialmente a la enzima elastasa y colagenasa, el primero eleva la síntesis de colágeno in vitro en un 11.2 % en comparación con las células sin tratamiento, el segundo protege a los fibroblastos de los daños por radiación UV, la toxicidad de ambos extractos contra los melanocitos es baja.

Se prepararon dos cremas la primera con el extracto de achiote y la segunda con extracto de chupasangre se aplicó de forma tópica (*Patch test*) en 20 voluntarios sanos no se observó efectos adversos mostrando mejoría subjetiva y objetiva en el estado general de la piel sugiriendo una disminución en la profundidad de las arrugas en comparación con la crema placebo.

- **Yarin C. A.** Actividad antioxidante in vitro y fotoprotectora in vivo del extracto hidroalcohólico de semillas de *Bixa orellana* L. “achiote” y elaboración de una forma dermocosmética. Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2019 (30)

Se probaron las propiedades antioxidantes y fotoprotectoras de la crema fabricada con extracto hidroalcohólico de achiote in vitro e in vivo, la valoración de la actividad antioxidante del extracto hidroalcohólico se analizó con el procedimiento secuestro de

radicales libres DPPH presentando un IC50 de 5.621x10³ ug/mL para achiote no presentando significativa actividad antioxidante.

Se elaboró una crema al 1, 3 y 8 % de extracto hidroalcohólico de achiote con el fin de estudiar la actividad fotoprotectora *in vivo* en ratas de la especie *Rattus rattus* en el análisis histológico se observó que las cremas al 3% y 8% presenta un efecto protector significativo.

- **Sánchez S.** Extracción de bixina de tres variedades de achiote (*Bixa orellana* L.) utilizando tres solventes. Universidad Nacional de San Martín – Tarapoto; 2019 (31)

El objetivo de esta investigación es hallar la productividad óptima de bixina de tres tipos de achiote (verde, amarillo y rojo) recolectados en la zona de Lamas utilizando tres líquidos extractantes (etanol a 40°, etanol a 80° y KOH al 2%).

Se concluye que el mejor rendimiento de los extractos fue de la variedad verde tratada con KOH al 2 % con 7.8%, para la cuantificación de bixina se empleó UHPLC procediendo a pesar 0.06 g de cada uno de los 9 extractos obtenidos, en la variedad verde extraída con etanol al 80% con 0.59% p/p se encuentra mayor cantidad del colorante bixina, se recomienda usar etanol al 80% como solución extractante es la alternativa más rápida, económica y segura.

- **Ayala C.I., Castillo E.F., Alfaro K.Y., et al.** Desarrollo de un tinte cosmético a base de semilla de *Bixa orellana* L. (Bixaceae) y evaluación de su efecto *in vitro*; 201 (1)

La investigación buscó desarrollar un tinte con semillas de *Bixa orellana* L. que se obtuvieron en la ciudad de Trujillo.

Se procede a preparar dos formulaciones de tinte con 5 y 10 g de colorante (5 % y 10 % respectivamente) se transfieren los tintes a tubos de aluminio.

El tinte cosmético natural cumple con las propiedades organolépticas (color, olor, sensación al tacto y aspecto) dentro del análisis de las características fisicoquímicas se tiene que el pH y densidad fue constante hasta los 540 días observando mayor estabilidad a temperatura de 25 °C y 40 °C manteniendo el color marrón rojizo.

Para probar el efecto in vitro se tomaron 10 mechones de 10 cm de longitud de cabello virgen, se aplica los tintes a los mechones de cabello previamente decolorados, después de pruebas de lavado distribuidos en 20 ciclos se concluye que el tinte al 10% tiene mejor permanencia de tono y mejor adherencia del tinte al tejido.

- **Bocanegra J. P., Chavez X. A., & Flores A. Z.** Estudio de pre-factibilidad para la elaboración y comercialización de bálsamo labial a base de achiote. Universidad San Ignacio de Loyola; 2019 (32)

El fin principal del proyecto es definir si es factible fabricar y comercializar bálsamos labiales en varios barrios de Lima, el público objetivo son mujeres de entre 18 y 60 años de las localidades mencionadas.

En su mayoría 24.7% pertenecen a nivel socioeconómico B y 19.6% al nivel socioeconómico A, que se encuentran estudiando o trabajando al ser consultadas sobre a que se dedican, el 82.2% afirma que usa cosméticos de procedencia natural. A la interrogante ¿Estás preparado a adquirir un labial fabricado con achiote y otros ingredientes orgánicos? Se obtuvo una respuesta afirmativa en un 96.4%. Dentro de las características que la mayoría considera importante esta que sea beneficioso para la piel, de calidad, con registro sanitario e insumos orgánicos. El público objetivo encuesta está dispuesto a gastar entre 16 – 20 soles.

Dentro de los principales factores que condicionaría la compra del bálsamo esta la humectación. El 86.3% elegiría un envase ecoamigable, biodegradable de cartón, siendo el color de preferencia rojo, rosado y neutro. La publicidad más conveniente es redes sociales y pagina web y que puedan adquirirlo en ferias ecológicas, vía online y en farmacias.

La coloración dada al bálsamo dependerá de la cantidad de polvo de semilla de achiote: 2g para tono rojizo carmín, 0.8 g para tono rosado y 0.3 g tono neutro.

El estudio concluye que Tsanine S.A.C. es financieramente factible, la tasa interna de retorno (64%) es superior al valor de oportunidad del capital (14.93%).

2.2.3 Antecedentes locales

- **Colque G.** Evaluación de la capacidad fotoprotectora, determinación del FPS e irritación primaria en piel de ratones de una crema elaborada con el extracto etanólico al 96% de las semillas de *Bixa orellana* (Achiote). Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco; 2019 (33)

El estudio tuvo como fin determinar las capacidades fotoprotectoras y fotorreparadoras mediante el examen de los cambios inflamatorios y morfológicos de la piel; el FPS y la IDP en la piel de ratones.

Para obtener el extracto seco se pesó aproximadamente 45 g de semilla de achiote seco se trató con etanol al 96 % por maceración simple, el porcentaje de extracción es de 4.51 %, en la prueba de irritación dérmica primaria se emplearon ratones en el sitio de práctica se aplicó 500 uL del extracto disuelto en tween 80, se usó la técnica de Draize de acuerdo a los valores obtenidos se clasifica a los extractos dentro de sustancias NO IRRITANTES.

Para la evaluación de la capacidad fotoprotectora y fotorreparadora (*in vivo*) y el factor de protección solar (FPS) se agregó los concentrados etanólicos secos en las cremas base a porcentajes del 1, 3 y 5 %, resultando un valor de FPS de 1.1, 1.2 y 1.4 respectivamente y para la crema patrón un FPS de 42.

Se realizó las pruebas de capacidad fotoprotectora para lo cual se usaron ratones hembras se aplicó las cremas al 1, 3 y 5 % en la zona dorsal previamente depilada y la crema Bahía superbloc, para la valoración se usó el método Draize, al analizar la actividad fotorreparadora se usaron otros ratones hembras se depiló el dorso del animal y se emitió luz ultravioleta durante 1 hora y 30 minutos para más adelante realizar el tratamiento con las cremas al 1, 3 y 5 %, durante 5 días 2 veces por día.

Se concluye que las variaciones morfológicas observadas en la piel de los ratones son de menor grado en la crema al 1 % obteniendo mejor capacidad fotorreparadora.

2.3 Estado de la cuestión

El achiote ha sido usado desde tiempos antiguos como un colorante natural en productos alimenticios, tinte para tejidos, etc. (34) nuestros antepasados encontraron formas de aplicar lo que les ofrecía la naturaleza sin mucho conocimiento sobre investigación lo que

hoy en día se ve respaldado por la ciencia médica y cosmética (13), la popularidad del achiote decreció a medida que se fueron sintetizando colorantes artificiales en su mayoría derivados azoicos como la tartracina o amarillo N° 5 la cual produce alergia en muchas personas e incluso puede ser corrosivo en metales (35) fue a partir de 1955 que recuperó su popularidad cuando se prohibió en Estados Unidos el uso de colorantes artificiales por su peligrosidad perfilando el uso del achiote para sustituir los tintes artificiales. (36)

La OMS ha autorizado el uso de la bixina y norbixina, dos derivados del achiote responsables de gran parte de las propiedades colorantes (34) siendo autorizados por la Unión Europea para su uso en alimentos. (35)

La investigación de los productos naturales se ve motivada por la atracción que los consumidores sienten cada vez más por los colorantes naturales además de que proporcionan propiedades biológicas y funcionales. (37)

El Perú geográficamente brinda las condiciones óptimas para el cultivo de achiote departamentos como: Cusco, Ayacucho, Cajamarca, Tingo María, Satipo, Apurímac, Tumbes y Moquegua, son los principales abastecedores del mercado nacional y mundial. (38)

Perú exporta alrededor del 35% de la producción mundial de semillas de achiote, la mayoría de estas proceden del departamento de Cusco en particular de la provincia de La Convención que sobresale por su calidad superior y que representa el 69% de la producción total del país. (32,39)

El achiote en la actualidad es una planta muy cotizada por sus semillas de amplia utilización en la industria representando una oportunidad de desarrollo económico, aprovechando la tendencia actual de consumo de productos naturales por lo cual más países invierten en su producción (40) el principal importador de achiote en el mundo es Estados Unidos por lo que se debe impulsar a los productores a invertir en sus cosechas para satisfacer el consumo local e internacional. (41)

La cosmética natural nace como respuesta a la tendencia de incluir materias primas vegetales en formulaciones cosméticas satisfaciendo así a un consumidor cada vez más informado, responsable con el planeta, y consciente de la contaminación que genera los productos artificiales, así como los envases que los contienen. (13)

El termino Cosmecéutico se ha posicionado en años recientes hace referencia a un cosmético con acción terapéutica, una integración de disciplinas como la farmacia y la cosmética. (42)

Para garantizar que las materias primas de origen vegetal no sufran alteraciones que puedan contaminar el producto final, deben cumplir estrictos criterios de calidad antes de ser utilizadas en la creación de productos cosméticos. (19)

Los procedimientos, métodos y ensayos que garantizan las condiciones y propiedades del producto inicial, material de acondicionamiento y producto final se denomina control de calidad las cuales se deben obedecer rigurosamente. (8,19)

Este trabajo de investigación busca contribuir a lo planteado anteriormente, se propone una formulación cosmética elaborado con el colorante natural obtenido del achiote que satisface los parámetros requeridos por la normativa vigente, *Bixa orellana* ha sido estudiada por sus propiedades antioxidantes (43), cicatrizante (24), anti-elastasa, anticlagenasa, protectora contra rayos UV-B, promotora de síntesis de colágeno in vitro (29), fotoprotectora y fotorreparadora (33), se busca satisfacer la tendencia a una cosmética verde usando materia prima de nuestro departamento y que obedece estrictamente a los estándares de calidad exigidos.

2.3 Bases teórico – científicas

2.3.1 *Bixa orellana* L. (Achiote)

Aspectos botánicos de *Bixa orellana* L. (Achiote)

El nombre científico del achiote deriva de dos vocablos bixa termino latinizado del portugués bija que se utilizaba para hacer referencia al tinte vino tinto y orellana en alusión al explorador de origen español Francisco de Orellana. (44)

Clase: Equisetopsida

Sub clase: Magnoliidae

Súper orden: Rosanae

Orden: Malvales

Familia: Bixaceae

Género: *Bixa* L.

Especie: *Bixa orellana* L. (45)

Nombre científico: *Bixa orellana* L.

Nombres comunes: Achiote, abujo, achote, bija, annato, urucú. (38)

La muestra botánica a usar fue presentada a la Dirección del Herbario Vargas CUZ donde se procedió a la determinación taxonómica concluyendo que concuerda con:

Familia: Bixaceae

Especie: *Bixa orellana* L.

Nombre común: Achiote

- **Descripción botánica**

Arbusto perenne con una altura de 2 a 8 metros, tallo troncoso leñoso color pardo con ramificaciones a poca altura del terreno con forma de copa frondosa, hojas grandes de 8 a 20 cm de largo, las flores son hermafroditas distribuidos en ramilletes entre blanquecinas y rosadas dependiendo de la variedad.

El fruto tiene un largo de entre 2 y 6 centímetros es una cápsula espinosa con gruesos pelos puntiagudos que van del verde oscuro al marrón rojizo pasando por el amarillo, contiene entre 10 y 50 semillas en su interior que se encuentran recubiertas por un tegumento de color intenso entre rojo y naranja de consistencia aceitosa formado en su mayoría por bixina y norbixina compuestos responsables de la coloración. (46)



Figura 1. *Bixa orellana* L.

Fuente: Fotografía tomada por la autora

- ***Distribución***

Planta originaria del sur de América cultivada en países amazónicos en mayor escala en Perú (costa norte, ceja de selva y selva baja) en menor escala en países como: Brasil, Bolivia, Ecuador, Paraguay y México (3,47) el cultivo de achiote se ha extendido a los continentes africano y asiático (38) en nuestro país se halla en localidades como: Cusco, Huánuco, Loreto, Madre de Dios (Inambari) y San Martín. (3,47)

- ***Parte utilizada***

Las semillas de *Bixa orellana* L. es la parte más utilizada por conferir del tinte natural característica de la planta también se usa las hojas, la corteza, flor y la raíz esta últimas en menor escala. (47)

Usos tradicionales de *Bixa orellana* L. (Achiote)

Usado en tribus aborígenes de América para escudar su piel de los rayos solares, de las picaduras de mosquitos y colorear sus alimentos, siendo transportado a Europa donde se usó para teñir seda, algodón y lana. (36) En Santa Fé de Bogotá – Colombia se pintaban las columnas con achiote al iniciar la edificación de sus casas como símbolo de prosperidad para los futuros habitantes. (48)

A la bixina se adjudica el uso como expectorante para el tratamiento de tos, bronquitis, amigdalitis, al ser trituradas es un buen cicatrizante de la piel, antiinflamatorio, fotoprotector. (34) El óleo extraído de las semillas se utiliza con diversos fines como: laxante, antigonorreico, diurético, antipirético, gastrointestinal, repelente de insectos y en el tratamiento de la lepra. (2)

La raíz se utiliza como digestivo, diurético, antimalárico, antitusígeno, en decocción usado como bebida para tratar el asma. (2,48) Las hojas son usadas en el tratamiento del dolor de cabeza, tos, quemaduras, lepra, hepatitis, cicatrizante, infecciones de piel, boca y garganta. (2,48) El fruto como tratamiento para tratar el envenamiento con ácido cianhídrico, la flor se usa como purgante. (2)

Composición química de *Bixa orellana* L. (Achiote)

Al analizar 100 g de la planta fresca se encontró entre sus componentes químicos y cantidades lo siguiente:

Tabla 1. Componentes químicos y cantidades presentes en 100g de planta fresca de *Bixa orellana* L. (Achiote) (2)

COMPUESTO	CANTIDAD
Agua	84.4 g
Carbohidratos	14.3 g
Fibra	0.5 g
Grasas	0.3 g
Caroteno	90 mg
Calcio	7 mg
Ácido ascórbico	2 mg
Fosforo	0.5 mg
Hierro	0.3 mg
Niacina	0.3 mg
Riboflavina	0.05 mg

Los compuestos químicos encontrados en las hojas son: flavonoides (apigenina, hipoaletina, cosmosiina) derivado sesquiterpénico, alcaloides, cumarinas, fenoles, aceites esenciales y ácido gálico (2). Es sin duda la semilla la parte de mayor importancia en el uso del achiote, al analizar 100 g de semilla se encontró: 13.3 g de proteína , grasa 5 g y ceniza 5.4 g. (2)

En la siguiente tabla se resume los componentes químicos presentes en la semilla:

Tabla 2. Componentes químicos de la semilla de *Bixa orellana* L. (Achiote) (2,48)

APOCAROTENOS	Bixina, isobixina y norbixina
CAROTENOIDES	Luteína y zeaxantina

FLAVONOIDES	Apigenina-7-bisulfato, cosmosiina, hipoalectina-8-bisulfato-luteolin-7-bisulfato y luteolin-7-O-b-D-glucósido e isoscutelareína
LÍPIDOS	Ácido linoleico, y en menor cantidad el alfa-linolénico y oleico
AMINOÁCIDOS	Glutamato, aspartato y leucina
DITERPENOS	Geranil, geraniol, geranilgeranil
MINERALES	Hierro, zinc, fosforo y calcio

Toxicidad del extracto de *Bixa orellana* L. (Achiote)

Las investigaciones han revelado que el extracto de achiote tiene baja toxicidad se realizó una investigación en ratas Wistar administrando una ración de 2 g/kg/día demostrando ser inocuo, un estudio de intolerancia en la piel realizada en conejos no mostro modificaciones significativas. El extracto etanólico de achiote en piel dañada de conejos demostró no ser irritante dérmico primario (IDP) (2) lo cual se vio corroborado posteriormente en el estudio realizado por Colque. (33)

Un análisis de intoxicación oral subcrónica del extracto de achiote en ratas Sprague-Dawley durante 13 semanas demostró no presentar efectos adversos. (49)

Se reportó un caso sobre reacciones adversas al tinte de achiote que incluyó urticaria, angioedema e hipotensión severa 20 minutos posteriores a la ingesta de un cereal que contenía achiote se puede adjudicar la reacción a que el tinte contiene proteínas de semillas residuales. (50)

Bixina

La bixina es apta para ser ingerida y para ser aplicada en piel reconocida por la OMS por su toxicidad cero (1) responsable de dar la coloración al achiote constituye alrededor del 80 % de los pigmentos, en su estructura química presenta 24 átomos de carbono contiene ácido carboxílico y éster metílico en los extremos, compuesto con fórmula molecular $C_{25}H_{30}O_4$. (51)

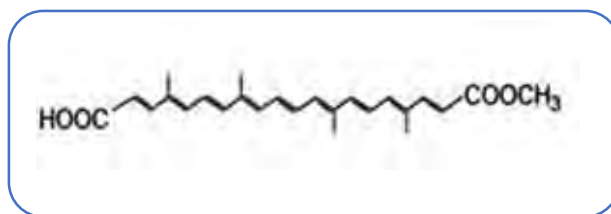


Figura 2. Estructura química de la Bixina (48)

Características de la Bixina

Es un compuesto de carácter polar su punto de fusión va de 189.5 °C a 190.5 °C (32) se disuelve en, grasas, cloroformo, aceites, ácido acético glacial y propilenglicol, se degrada con facilidad en la luz por lo que se recomienda su almacenamiento en frascos color ámbar estable al congelamiento y a la maceración. (35)

La bixina es la fuente de compuestos como la norbixina que es liposoluble y la sal de norbixina que es hidrosoluble. (43)

Métodos de extracción de Bixina

- **Extracción con etanol**

En su mayoría la bixina está presente en la capa externa de la semilla de achiote (1) las soluciones extractantes preparadas a partir de etanol y/o metanol separan tintes de carácter polar a pesar de no generar el mayor rendimiento de bixina el etanol es la alternativa más ahorrativa, rápida y confiable. (32)

- **Extracción con hidróxido de potasio**

Las semillas de achiote se dejan en remojo con la solución alcalina de KOH a la solución resultante se reduce el pH con ácido sulfúrico obteniendo un precipitado que es el inicio para obtener el colorante en polvo (27) con este método se obtiene alto rendimiento de bixina sin embargo es el más tedioso ya que debemos usar ácidos para precipitar el colorante. (43)

Estudios farmacológicos y clínicos con *Bixa orellana* L. (Achiote)

▪ Estudios Farmacológicos

Existe una amplia cantidad de estudios que se han realizado sobre el achiote con el fin de establecer su actividad biológica debido a la basta cantidad se han agrupado de acuerdo a la acción terapéutica investigada:

- Acción antioxidante: Se determinó la cantidad de malondialdehído (MDA) del extracto hidroalcohólico de las hojas de achiote mediante el procedimiento colorimétrico de materias sensibles al ácido tiobarbitúrico (TBARS) en 24 ratones con hepatotoxicidad estimulada con tetracloruro de carbono (CCl₄) concluyendo que el extracto usado si tiene efecto antioxidante en el tejido hepático de los ratones. (52)

Diversos estudios han demostrado la capacidad antioxidante de la bixina y evitar que se produzcan radicales libres por la degradación cromosómica provocada por el fármaco clastogénico cisplatino. (53)

- Acción cicatrizante: Se usó el extracto alcohólico de achiote con el fin de determinar su potencial como irritante dérmico primario demostrando que la formulación es no irritante. (54)

En otro estudio se evaluó en ratas albinas el efecto cicatrizante de un ungüento al 30% a partir de *Bixa orellana*, *Ocimum campechianum* y *Aloe vera* los resultados mostraron que el efecto cicatrizante del ungüento al 30% fue sobresaliente frente al del control positivo y la preparación individual al 10% de *Bixa orellana* demostró una reconstrucción tisular superior a la pomada combinada y al control positivo. (24)

- Acción fotoprotector y fotoreparador: Se evaluó las capacidades fotoprotectoras y fotorreparadoras mediante el examen de los cambios inflamatorios y morfológicos de la piel de ratones resultando que el grupo aplicado con la crema formulada en base al extracto etanólico de achiote al 1% presenta alteraciones morfológicas de menor grado en comparación a la crema patrón (Bahía Superblock). (33)

- Acción antimicrobiana: La investigación tuvo como fin separar e identificar los compuestos encargados de la acción antimicrobiana de los preparados de achiote

concluyendo que los compuestos 9'- *cis* -norbixina y *all* - *trans* - norbixina son los generadores de la acción antimicrobiana de achiote frente a *Staphylococcus aureus*. (55)

- Acción hipoglicemiante: En el análisis se elaboró un extracto acuoso en base a las semillas de achiote en el tamizaje fitoquímico se reconoció flavonoides y fenoles totales como causantes de la acción hipoglicemiante se demostró que al administrar a ratas Wistar 500 mg de extracto hubo un descenso en los niveles de glucosa. (56)

- Acción antígenotóxica y antimutagénica: En la investigación se estudió el efecto de la norbixina sobre la genotoxicidad provocada por la radiación UVC usando una cepa de *Escherichia coli* se observó una inhibición en el medio de cultivo que contenía norbixina. Demostró inhibición máxima de la actividad mutagénica inducida por peróxido al 87% en *Salmonella*. (57)

- Acción como revelador de placa dentobacteriana: Se fabricó pastillas reveladoras a base achiote con una tinción propia de la planta (anaranjado) la cual se pudo eliminar con facilidad mediante el cepillado en comparación con la pastilla común de eritrosina. (58)

▪ Estudios Clínicos

Se desarrolló un estudio farmacocinético para determinar y localizar la bixina y norbixina en plasma humano por HPLC de fase reversa en un grupo de siete voluntarios que ingirió una dosis de 1 ml de tinte de annato comercial demostrando la presencia de bixina y norbixina en plasma, la eliminación plasmática para bixina fue de 8 horas y para norbixina de 24 horas. No se observó efectos adversos en los individuos. (59)

En una investigación doble ciego, aleatorizado y controlado en pacientes con sintomatología asociados a hiperplasia prostática benigna se administró 250 mg de *Bixa orellana* 3 veces al día o placebo por un periodo de un año, no se encontró beneficio al recibir *Bixa Orellana* en comparación con el placebo. (60)

2.3.2 Labios

Los labios son una parte fundamental del rostro de algunos animales de suma importancia tanto por formar parte del sistema digestivo como por sus características estéticas por ser parte de la sonrisa de las personas, son dos pliegues carnosos que se forman al inicio de la boca por su anatomía carecen de glándulas sudoríparas, sebáceas por lo cual pueden

researse y agrietarse con simplicidad (19) al carecer de melanocitos la piel de los labios se puede quemar con facilidad, el color de los labios es proporcionado por la red vascular. (13)

Entre las principales afecciones de los labios se tiene quemaduras por los rayos solares, contaminación con virus y hongos, frío, viento, humedad, sequedad, uso de productos cosméticos vencidos. (19)

Anatomía de los labios

Entre las principales partes del labio se tiene:

- **Capa glandular:** Constituido por tejido conjuntivo, glándulas labiales sensibles al tacto.
- **Capa mucosa:** Es la capa posterior de la capa glandular, de color grisby color rosado a nivel del borde libre tiene un epitelio parecido a la piel.
- **Labio superior:** En la zona central se ubica el tubérculo, en dirección a la nariz se encuentra los surcos nasolabiales.
- **Labio inferior:** Se ubica por debajo del surco horizontal, músculo esquelético recubierto por piel (epidermis, dermis e hipodermis).
- **Músculo de ascenso del ángulo de la boca:** Es el punto de conjunción de los labios superior e inferior.
- **Músculo buccinador:** Amplía la tensión en la boca.
- **Músculo depresor del labio inferior:** Propio del labio inferior.
- **Músculo mentoniano:** Levanta el mentón y el labio inferior.
- **Músculo levantador del labio superior:** Ubicado delante del maxilar superior común al ala de la nariz y al labio superior.
- **Músculo cigomático mayor:** Traslada la esquina de los labios en sentido superolateral.
- **Músculo cigomático menor:** Jala en sentido superolateral al labio superior.
- **Músculo risorio de Santorini:** Moviliza en sentido lateral y posterior la esquina de los labios.
- **Músculo depresor del ángulo de la boca:** Se ubica en la parte inferior del rostro, desplaza de la comisura en dirección inferolateral.
- **Músculo orbicular de la boca:** Se halla en torno al orificio bucal.

- **Músculo cutáneo del cuello:** Pliega la piel del cuello y jala inferiormente de ella. (19,61)

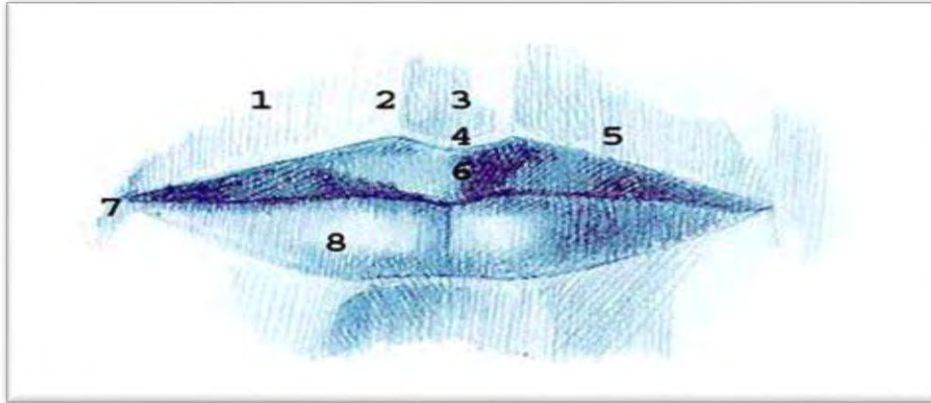


Figura 3. Anatomía del labio y región perioral (62)

Nota. 1. Labio superior 2. Columna del filtrum 3. Surco del filtrum 4. Arco de Cupido 5. Línea blanca del labio superior 6. Tubérculo central de la porción mucosa del labio superior 7. Esquina labial derecha 8. Labio inferior

La definición física de los labios se mencionaba a inicios del siglo XX más hoy en día la noción de labios es mucho más que la suma de sus componentes. (63)

2.3.3 Cosmecéuticos

En tiempos antiguos se han utilizado hierbas y especias para mantener y recuperar la salud, mejorar aspectos de belleza, tratar afecciones de la piel ya sea por propiedades antioxidantes, hidratantes y antimicrobianas ofreciendo beneficios medicinales y estéticos. (64)

El término Cosmecéutico fue introducido por el Doctor Albert Kligman en el año 1984 lo utilizo para definir a un grupo de sustancias intermediarias entre medicamento y cosmético. En la actualidad en el mercado hay gran cantidad de cosmecéuticos sin embargo pocos son los que tienen estudios farmacológicos y clínicos que respalden su uso. (65)

Los cosmecéuticos buscan reducir los efectos nocivos en las capas de la piel (hipodermis, dermis y epidermis) disminuyendo los signos de envejecimiento, hidratando, mejorando la apariencia de la piel, protegiendo la piel de los daños por la radiación ultravioleta (66)

es un gran coadyuvante para disminuir el impacto de la radiación UV y prevenir el envejecimiento prematuro por sus cualidades antioxidantes. (66–68)

Dentro de las áreas que incluye la cosmeceútica tenemos: Cuidado capilar, cuidado bucal, *skincare* o cuidado de piel, rostro y labios. (64,66)

En Estados Unidos existe alrededor de 400 fábricas que manufacturan y abastecen de ingredientes para la elaboración de cosmeceúticos estas empresas representan alrededor del 50 % del mercado total en dicho país entre las principales compañías que ofrecen productos cosmeceúticos se tiene: Procter & Gamble, L'Oréal, Johnson & Johnson, Estée Lauder, Avon y Allergan. (68)

2.3.4 Lipstick

Del idioma inglés traducido como barra labial es una presentación cosmética que se aplica en los labios definiendo la forma, confiriendo color, características estéticas decorativas, por las propiedades de sus componentes puede jugar un rol considerable en el cuidado de la piel de los labios que en condiciones ambientales adversas (humedad, viento, bajas temperaturas, etc.) puede originar resequedad y agrietamiento de los labios, exposición a la luz solar que podría desencadenar en bronceado, hipertrofia del estrato córneo e incluso cáncer de labios debido a la ausencia de melanocitos, por lo cual la elección de un *lipstick* que embellezca los labios dejando una sensación agradable, con suavidad e hidratación y que además nos ofrece propiedades de protección solar es de sumo interés. (63,69)

El uso de los cosméticos labiales se remonta a siglos pasados desde la antigua Mesopotamia cuando piedras preciosas se trituraban y se las colocaban en los labios, en Egipto mezclaban tinte rojo-amorado extraído de algas del género *Fucus* con yodo y bromo que posteriormente produjo graves enfermedades por intoxicación, así mismo usaban escarabajos, hormigas e insectos como base para conferir color a sus labios. (13,63,69)

- **Definición**

Son pastas anhidras, disgregaciones de un colorante en una mescolanza formada por aceites, grasas, ceras que aportan emoliencia, brillo, hidratación; mediante procesos de mezcla, calentamiento y enfriamiento. En su composición puede incluir de 10 a más

ingredientes, aditivos que confieran de olor, sabor, color, preservantes, antioxidantes, garantizando una formulación estable contra la oxidación y la contaminación microbiológica. (13,69,70)

- **Requisitos**

Las características dependen de muchos factores: La demanda de los consumidores, la economía, el avance de la ciencia y tecnología, etc. (69) Dentro de las cualidades que debe presentar se tiene: (7,13,69)

1. La preparación debe ser homogénea, libre de grumos, de superficie luminosa y lisa sin agujeros de aire, arenillas, huellas dactilares sin imperfecciones sustanciales.
2. Debe ser una preparación totalmente inocua tanto para su aplicación y si es que se consume.
3. De contextura adecuada que permita su fácil manipulación y uso, una contextura delgada resultaría demasiado frágil y se romperá con facilidad.
4. Dureza adecuada y punto de fusión alto, evitará deformaciones por variación de la temperatura del ambiente.
5. En contacto con la piel de los labios a temperatura corporal dejará una película uniforme y adherente que se desliza con facilidad.
6. Resistente a la exposición prolongada a temperatura y humedad ambiental sin perder las condiciones deseables para el consumidor no debe producir sudoración ni eflorescencia.
7. El color debe ser inalterable tanto en la formulación como en el producto terminado.
8. Agradable al olfato y gusto.

- **Composición**

Las bases grasas

Son la base de la formulación de un *lipstick* compuesto por una mezcla de aceites, grasas, ceras, entre otros. (13)

Las ceras tienen como principal función conferir la dureza y el punto de fusión adecuado proporcionando características que faciliten el moldeado de la barra labial además de

facilitar el desprendimiento y lubricación (7) su uso en exceso puede producir disminución de la adherencia. (13)

Tabla 3. Principales bases grasas

SUSTANCIA	EJEMPLO
<p>Ceras</p> <p>Cera de carnauba, cera de origen vegetal de aspecto brillante consistencia rígida y dura que se utiliza para elevar el punto de fusión en la mezcla, facilita el proceso de moldeado. (7,13)</p> <p>Cera de candelilla, cera de origen vegetal de aspecto mate, punto de fusión bajo y poco rígida. (7,13)</p> <p>Cera de abeja utilizada para endurecer el aceite de ricino, en grandes cantidades puede dar un aspecto granuloso y apariencia mate. (7,13)</p> <p>Ceras amorfas hidrocarburos en aceite mineral, se tiene la cera ozoquerita, confiere textura de fibra corta al producto. (7)</p> <p>Ceras derivadas del petróleo, se tiene la cera microcristalina utilizada para modificar la deformación y el flujo del producto. (7)</p>	<p>Cera de carnauba</p> <p>Cera de candelilla</p> <p>Cera de abeja</p> <p>Cera ozoquerita</p> <p>Cera microcristalina</p>
<p>Mantecas</p> <p>Manteca de cacao, tiene una temperatura de fusión por abajo de la temperatura corporal utilizado en grandes cantidades podría causar eflorescencias, formación de sales de aspecto blanco en la superficie. (7)</p> <p>Manteca de karité, proporciona características de adherencia y mejora la lubricación, suavidad, retiene la humedad evitando la resequedad. (13)</p>	<p>Manteca de cacao</p> <p>Manteca de karité</p>
<p>Aceites vegetales</p>	

<p>Aportan emoliencia poco propensos al enranciamiento se usan para dar brillo y untuosidad e incrementan la sustentividad de las fórmulas. (7,71) El más importante en este conjunto es el aceite de ricino hidrogenado con propiedades similares a las ceras, su uso se vio limitado por su sabor y olor desagradable, reemplazado por el aceite de macadamia u otros extraídos de frutas como el aceite de semillas de uva por tener mejor olor y uniformidad. (7,13)</p>	<p>Aceite de ricino Aceite de macadamia Aceite de semillas de uva</p>
<p>Lanolina y derivados</p> <p>Son ingredientes muy útiles por sus propiedades emolientes actúa como agente aglutinante minimizando el exudado y el quiebre de la barra labial proporciona propiedades plastificantes mejorando el brillo de los labios. (7)</p> <p>La lanolina anhidra tiene alta viscosidad y se enrancia con facilidad, la lanolina líquida con propiedades similares a la anterior caracterizada por presentar mejor extensibilidad y penetración en la piel. (71)</p>	<p>Lanolina anhidra Lanolina líquida</p>
<p>Vaselina y aceites de parafina</p> <p>Utilizado como lubricante y emoliente mejorando la extensibilidad del producto podrían dificultar la mezcla en presencia de sustancias de naturaleza polar como por ejemplo el aceite de ricino. (7)</p> <p>Al emplearse en grandes concentraciones proporciona sensación de grasa residual. (71)</p>	<p>Parafina sólida Vaselina</p>
<p>Lecitina</p> <p>Usado como dispersante de los colorantes y mejora la adhesión a los labios. (7)</p>	<p>Lecitina</p>
<p>Alcoholes grasos</p> <p>Con propiedades similares a los aceites menos propensos al enranciamiento, el alcohol cetílico intensifica la untuosidad y</p>	

<p>el brillo en las barras labiales mejorando el escurrimiento uniforme de lacas y sustancias colorantes. (7,13) Aportan oclusividad presentan propiedades emolientes y usados como coemulgentes. (71)</p>	<p>Alcohol cetílico Alcohol estearílico</p>
<p>Ácidos grasos y sus ésteres</p> <p>El ácido esteárico adiciona la viscosidad y aporta un efecto evanescente. Los ácidos se usan como comulgentes y los ésteres como emulgentes. Se usa el miristato de isopropilo para aportar emoliencia y disminuir la untuosidad. (71)</p>	<p>Ácido esteárico Miristato de isopropilo</p>

Sustancias colorantes

Sustancias de origen animal, vegetal, mineral y sintéticos cuyo fin es proporcionar la pigmentación a la barra labial, el color es una de las esenciales propiedades de venta de los labiales muchas veces influenciada por la moda que va desde colores intensos a opacos, la tendencia actual es tener un aspecto más natural e incluso barras de labio sin color. (7)

Estas sustancias deben tener un tamaño de partícula adecuado y alto grado de pureza por su solubilidad puede ser: colorantes hidrosolubles que son los más usados (eosina y sus derivados) y colorantes liposolubles que favorecen en la fijación del color con aspecto mate. (13)

Los compuestos insolubles o pigmentos son pequeñas partículas sólidas de origen mineral como el dióxido de titanio de color blanco usado también como protector solar y el óxido de hierro que aporta tonos marrones. (72)

Los colorantes bromo-ácidos pueden producir dispersiones totales en la mezcla variando el tono en las barras labiales. (7,13)

Antioxidantes y conservantes

Se incorporan estas sustancias con el fin de prevenir la oxidación de los compuestos dentro de la formulación de la barra de labios de esta forma conservar la naturaleza del producto evitando el enranciamiento que modifica las características organolépticas en productos que contienen compuestos de naturaleza grasa, de igual forma evitará la propagación de bacterias, hongos y levaduras. Podemos citar como antioxidantes usados el hidroxianisol butilado (BHA), hidroxitolueno butilado (BHT), óxido de zinc y como conservantes: El Sharomix 705 es una mezcla de ácidos como el dehidroacético, el benzoico o el sórbico en alcohol bencílico, parahidroxibenzoatos de metilo y propilo. (13,72)

Ingredientes activos

Además de los ingredientes descritos anteriormente se incluyen compuestos con el fin de conferir a la barra labial diferentes propiedades de cuidado, restauración y conservación de la piel de los labios que tiene características muy singulares es por ello la importancia de incluir estas sustancias. (13)

- Filtros solares: De suma importancia en la formulación de la barra labial por la característica de la piel de los labios de no contar con melanocitos, de preferencia debe tener un factor de protección de más de 15. (13,72)
- Hidratantes: Se puede usar glicerina, propilenglicol que tiene una viscosidad menor que la glicerina y puede utilizarse en fórmulas magistrales para acelerar la absorción de sustancias activas (71), extractos de plantas como sábila, manzanilla, entre otros. (72)
- Reepitelizantes: Que ayudará en la regeneración epitelial se tiene: betacaroteno o alantoína. (72)
- Antirradicales libres: La vitamina E es un antioxidante por excelencia, que además puede ayudar a prevenir la erupción de herpes labial. (13)
- Aceites esenciales: Se utilizan por sus propiedades antibactericidas como el aceite de bergamota, de pomelo, de menta, de romero, de rosa o geranio. (72)

- **Fabricación**

La elaboración de barra de labios comprende básicamente tres fases que dependerán de la formulación, recursos y compuestos. (7)

- a) Preparación de las mezclas de componentes, en esta fase se realiza la dispersión del colorante (bromoácidos, pigmentos y lacas) que se pueden mezclar por separado con constituyentes adecuados o dispersados directamente a la base total siendo este último método poco utilizado. En esta fase se tiene como finalidad lograr la dispersión total de los colorantes de forma homogénea y superficie lisa libre de imperfecciones. Si los colorantes se encuentran en forma sólida finamente pulverizado puede ser difícil humedecerlo con la mezcla grasa en este caso se incluye un proceso de molienda o trituración por otro lado, se realiza la mezcla de las ceras con punto de fusión alto hasta fundirlos totalmente. (7)
- b) Mezcla de los intermediarios y formación de la masa, en esta fase se realiza el mezclado de los colorantes con las ceras fundidas y demás compuestos en presencia de calor garantizando una mezcla continua. (7)
- c) Moldeado de la masa, la masa se transfiere a moldes dejando a temperatura ambiente para su solidificación o a bloques para su almacenamiento y se moldearán cuando se requiera. (7)

2.3.5 Colorantes

La FDA describe como colorante a toda materia u sustancia de origen natural (vegetal, animal, mineral) o de origen artificial que tienen la capacidad de conferir color a alimentos, fármacos, cosméticos, etc. (73,74)

Clasificación de los colorantes

Colorantes Naturales: De origen vegetal, animal o mineral pueden clasificarse por su solubilidad como hidrosolubles o liposolubles (74) se tiene una fuerte inclinación en la actualidad por el uso de estos colorantes al ser más seguros al consumir por lo cual se tiene la exigencia de disponer con procedimientos de calidad que aseguren la inocuidad de los colorantes. (73)

Tabla 4. Principales colorantes naturales (27)

Colorantes naturales hidrosolubles
Curcumina (E100)
Cochinilla o ácido carmínico (E120)
Betanina o rojo de remolacha (E162)
Riboflavina, lactoflavina o B2 (E101)
Caramelo (E150)
Antocianos (E163)
Colorantes naturales liposolubles
Clorofilas (E140 y 141)
Xantofilas (E161)
Carotenoides (E160)
Minerales
Carbón vegetal (E153)
Dióxido de titanio (E171)
Carbonato cálcico (E170)
Óxidos e hidróxidos de hierro (E172)
Aluminio (E173)
Plata (E174)

Colorantes Sintéticos: Compuestos que han sido modificados física o químicamente que no existen de forma natural en el medio, pueden o no incluir en su composición al grupo azo $-N=N-$. (73,74)

Tabla 5. Principales colorantes sintéticos (27)

Colorantes sintéticos azoicos
Tartrazina (E102)
Rojo allura (E129)
Negro brillante BN (E151)
Azorrubina, carmoisina (E122)

Rojo cochinilla A o rojo Ponceau 4 R (E124)
Colorantes sintéticos no azoicos
Amarillo de quinoleina (E104)
Indigotina o carmín de índigo (E132)
Eritrosina (E127)
Azul brillante FCF (E133)
Verde ácido brillante BS (E142)

2.3.6 Control de calidad de productos cosméticos

Se puede definir calidad como la suficiencia que posee un producto o servicio de cumplir con las exigencias del consumidor para adquirir una calidad perdurable se buscará instituir un sistema de garantía de calidad, que se podría precisar como un conjunto de disposiciones de alcance global sistematizadas y establecidas previamente con el fin de brindar confiabilidad en el proceso de obtener la calidad precisada. (75)

Las farmacopeas son los documentos oficiales de calidad al referirnos a medicamentos, excipientes, productos biológicos, cosméticos, preparados medicinales, dispositivos médicos, complementos nutricionales y demás productos terapéuticos necesarios en la medicina y farmacia, donde se registran métodos de ensayo y especificaciones que se realizan a un producto desde la materia prima hasta el producto terminado. (8,76)

La USP del inglés *United States Pharmacopeia* es la farmacopea de Estados Unidos que se publica en conjunto con el NF del inglés *National Formulary* que es el formulario nacional de medicamentos donde se establecen las normas utilizadas por los fabricantes y organismos reguladores con el fin de garantizar que sus productos cuenten con calidad, pureza, fuerza y consistencia, muchos países toman de referencia a la USP-NF por lo cual debe ser revisada periódicamente la USP vigente es la USP 43 – NF 38 oficializada el 01 de noviembre del 2019. (76)

Los productos cosméticos están regulados por la “Ley de cosméticos, drogas y alimentos” dada por la FDA donde indica que las personas y empresas que comercializan productos cosméticos tiene responsabilidad legal de salvaguardar la calidad de los productos previo

a su ingreso al mercado además de brindar información clara y confiable en el etiquetado, en el Perú se encuentra regulado por la DIGEMID que pertenece al MINSA. (9)

Los productos cosméticos están propensos a sufrir cambios una vez terminados ya sea por incompatibilidad de ingredientes, material de envase, cambios físicos, cambios químicos, condiciones de uso del consumidor, contaminación microbiológica por lo cual el fabricante debe garantizar la estabilidad a nivel físico, químico y microbiológico de los productos. (77)

La contaminación microbiológica puede provocar en los cosméticos cambios en su aspecto físico, olor, color, textura, en este caso el consumidor rechazará el producto por otro lado esta contaminación podría no afectar el aspecto físico del producto representando un grave riesgo para el consumidor. (13)

Es de radical importancia el control de calidad de cosméticos, en el caso de los *lipstick* o barras labiales una deficiencia en la calidad de los insumos puede conllevar irritación de la piel, alergia, enfermedades dérmicas, etc. (9)

Dentro del control de calidad se analizan diversos aspectos del producto cosmético las pruebas a realizar van desde la correcta manipulación de la muestra, personal capacitado, método adecuado, y equipos en óptimas condiciones. (77)

Control Organoléptico

Este control evalúa los atributos de un producto percibidos por los sentidos como: textura, olor, color, sabor y aspecto físico, por medio de este control se pueden detectar muchos cambios como: variaciones de color por oxidación, formación de grumos, turbidez, precipitación, etc. (77)

Cabe destacar que en este tipo de análisis se debe eliminar el factor personal y acercarse más a lo que el consumidor desea de un producto, creando una cercanía entre lo que el consumidor espera del producto y lo que recibe. (77)

- a. Color:** Hay diversos procedimientos para analizar el color de un producto: visualmente, usando el espectrofotómetro, cotejando el color del ejemplar con el color de un patrón. En la espectrofotometría se introduce el producto a un barrido y se relaciona con un espectro de referencia. (77)

El color puede ser uniforme y homogéneo o podría presentar aglomeraciones, sombreados, puntos, lo cual depende de las características y especificaciones dadas del producto. (9)

- b. Olor:** Se coteja el olor del ejemplar con un olor de referencia para lo cual de preferencia deben tener el mismo material de empaque, el olor se debe mantener por un tiempo adecuado para facilitar su identificación y clasificación. (9,77)
- c. Sabor:** El análisis del sabor se efectúa directamente en el paladar se recomienda compararlo con una muestra de referencia, este análisis se recomienda en productos como enjuagues bucales, dentífricos, labiales, entre otros cuyo lugar de aplicación sea la cavidad oro faríngea. (77)

Dentro del control organoléptico podemos citar otros análisis como: Aspecto, uniformidad de color, homogeneidad, facilidad de deslizamiento y adherencia que indicarán cualquier anomalía significativa. (1)

Control Físicoquímico

Se evalúa una o más características de un producto mediante ensayos técnicos, se debe seguir procedimientos estandarizados para lo cual es necesario contar con equipos en adecuado mantenimiento y periódicamente calibrados, los resultados se registran ordenadamente asegurando la validez y confiabilidad. (77) Dentro de las pruebas a realizar se tiene:

- a. pH:** Expresa la concentración molar de iones hidrogeniones presentes en un medio el cual se determinará usando el potenciómetro que mide la desigualdad de potencia entre dos electrodos sumergidos en la muestra a examinar, otro método será usando tiras reactivas de pH el cual será ácido con valores menores a 7, neutro con valor igual a 7 o básico con valores mayores a 7. (17,77)
- b. Densidad:** Se explica como la correlación entre masa y volumen de una sustancia expresado en gramos por centímetro cúbico (g/cm^3) o gramos por mililitro (g/mL) para su determinación se usa el picnómetro el cual se pesa vacío y con agua la diferencia de ambos será el peso del agua y se divide entre el volumen del picnómetro (17)

- c. **Punto de fusión:** Es la temperatura en la que se encuentran en equilibrio los estados sólido – líquido en medio de una temperatura constante. Para su determinación se realiza el método del tubo capilar. (17,77)

Control Microbiológico

La notabilidad de este radica en asegurar que el cosmético esté libre de contaminación microbiana, muchos microorganismos producen alteraciones fisicoquímicas en el producto modificando la calidad y puede conllevar problemas de salud para el consumidor, uno de los principales productos primarios a usar es el agua siendo aprovechada por los microorganismos para su metabolismo y reproducción. (78)

En el año 2019 la Comunidad Andina de Naciones emite la Resolución N° 2120, donde establece las definiciones microbiológicas que debe cumplir un cosmético comercializado dentro de los países integrantes además de las definiciones fisicoquímicas de los cosméticos que se presume estén libres de contaminación microbiana, detalladas a continuación:

Tabla 6. Especificaciones microbiológicas (79)

ÁREA DE APLICACIÓN Y FASE ETARIA	LÍMITES DE ACEPTABILIDAD
<ul style="list-style-type: none"> ▪ Productos para uso en infantes (hasta 3 años). ▪ Productos para uso en área de ojos. ▪ Productos que entran en contacto con las membranas mucosas. 	<ul style="list-style-type: none"> a) Recuento de microorganismos mesófilos aerobios totales. Límite máximo 5×10^2 UFC/g ó mL b) Ausencia de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> en 1 g ó mL c) Ausencia de <i>Staphylococcus aureus</i> en 1 g ó mL d) Ausencia de <i>Escherichia coli</i> en 1 g ó mL
<ul style="list-style-type: none"> ▪ Demás productos cosméticos susceptibles de contaminación microbiológica. 	<ul style="list-style-type: none"> a) Recuento de microorganismos mesófilos aerobios totales. Límite máximo 5×10^3 UFC/g ó mL

	b) Ausencia de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> en 1 g ó mL c) Ausencia de <i>Staphylococcus aureus</i> en 1 g ó mL d) Ausencia de <i>Escherichia coli</i> en 1 g ó mL
<ul style="list-style-type: none"> ▪ Productos a ser utilizados en los órganos genitales externos. 	Además de los límites de aceptabilidad especificados para los demás productos contenidos en el presente cuadro, deben cumplir con: Ausencia de <i>Candida albicans</i> .

Nota. Los valores del tamaño de la muestra a examinar para los respectivos ensayos serán determinados por las normas y procedimientos internos de los Países Miembros.

Tabla 7. Especificaciones fisicoquímicas (79)

CONDICIÓN	LÍMITE
pH ácido	$\leq 3,0$
pH alcalino	$\geq 10,0$
Soluciones hidroalcohólicas	$\geq 20\%$
Temperatura de llenado	$\geq 65,0\text{ °C}$
Actividad del agua (a_w)	$\leq 0,75$
Productos de base solvente	Sin límite
Productos oxidantes	Sin límite
Clorhidrato de aluminio y sales relacionadas	15% al 25%

Metodología

Dentro de los métodos a usar para el recuento microbiológico se tiene: (80)

- Recuento Aerobios Mesófilos: Se procede a la siembra de la muestra en placa en presencia del medio específico y luego de 48 horas se procede al recuento total de bacterias aerobias a 32.5°C.
- Recuento de Hongos y Levaduras: Se procede a la siembra en placa de la muestra en presencia del medio de cultivo específico y luego de 5 días se procede al recuento total de hongos y levaduras a 32.5°C.

- **Ausencia de Patógenos:** Se determina la presencia o ausencia de organismos patógenos.

2.4 Definición de términos básicos

- **Adherencia:** Se trata de una característica fisicoquímica en la que actúan variables como el tamaño de las partículas, la forma, la relación partícula/volumen y las fuerzas electrostáticas, una vez que el cosmético entra en contacto con la epidermis, estas variables tienen por objeto mantener la fijación del cosmético a la epidermis. (77)
- **Colorante:** Pueden ser de origen botánico, animal, mineral o sintético. Su objetivo es proporcionar un tono de color a un producto sin cambiar su composición. (13)
- **Control de calidad:** El término se puede asociar a gestión de calidad, en una organización es un departamento que se ocupa de verificar la calidad de los productos, teniendo como objetivo evitar lleguen productos defectuosos al consumidor final. (78)
- **Compatibilidad:** Característica que muestra cómo interactúa el material de envasado con la composición del producto, indicando si la calidad original del producto se ve comprometida o si las cualidades se conservan adecuadamente. (81)
- **Cosmético:** Se denomina a toda sustancia o formulación que pueda utilizarse por vía tópica en diferentes regiones del cuerpo para limpiar, perfumar, proteger, detener o eliminar los olores del cuerpo. (82)
- **Emoliente:** Se denomina así a toda sustancia que proporciona suavidad y flexibilidad a la piel, además se emplea para referirse a sustancias que relajan una inflamación. (71)
- **Evanescente:** Se refiere a un preparado que al ser aplicado en la piel dan sensación de desvanecerse o esfumarse. (71)
- **Homogeneidad:** Se refiere a una masa formada por una sola fase que posee iguales propiedades intensivas, se puede observar la homogeneidad de un producto a simple vista, o se observarían dos o más fases si la masa no es homogénea. (77)

- **Olor:** Característica de la materia que se refiere a la combinación de gases, vapores y polvos que hace que el receptor responda con una experiencia olfativa tras recibir un estímulo al sentido del olfato. (78)
- **Producto cosmeceútico:** Son productos que se encuentran entre un cosmético y un medicamento que dentro de su composición tienen uno o más ingredientes a los que se les atribuye actividad terapéutica, son cosméticos más activos que modifican más allá del aspecto, el futuro de la cosmética es sin duda la cosmeceútica. (21)
- **Sustantividad:** Se denomina así a la capacidad de una sustancia de quedarse adherida a la piel tras su utilización. (71)

CAPÍTULO III: MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Materiales

3.1.1 Material vegetal

- Semillas de *Bixa orellana* L. (Achiote)

3.1.2 Materiales de laboratorio

- Vasos de precipitados de 100, 500
- Fiolas de 10, 50 y 100 mL
- Baguetas
- Pipetas de 1, 5 y 10 mL
- Probetas de 10 y 20 mL
- Embudo de vidrio
- Matraz erlenmeyer 100, 500 y 1000 mL
- Placas petri
- Picnómetro de 25 mL
- Tubo capilar
- Luna de reloj
- Termómetro

3.1.3 Instrumentos y equipos

- Balanza analítica con precisión de 0.0001 OHAUS PIONEER
- Baño María MEMMERT
- Estufa MEMMERT
- pH-metro METTLER TOLEDO
- Autoclave FRAVILL
- Mechero Bunsen

3.1.4 Reactivos

3.1.4.1 Extracción del colorante

- Hidróxido de potasio al 2%
- Ácido sulfúrico

3.1.4.2 Elaboración del *Lipstick*

- Aceite de semilla de uvas
- Cera de abejas
- Manteca de karité
- Miristato de isopropilo
- Propilenglicol
- Esencia de frutos rojos
- Sharomix 705

3.1.4.3 Control microbiológico del *Lipstick*

- Agar caso
- Agar sabouraud
- Agar mac conkey
- Agar cetrimide
- Agar manitol salado
- Caldo caso
- Caldo mac conkey
- Polisorbato 80

3.1.5 Otros

- Envases para *lipstick*
- Cinta adhesiva
- Plumón indeleble
- Cámara fotográfica
- Papel craft
- Guantes de látex
- Mascarillas descartables
- Gorros quirúrgicos

3.1.6 Lugar de ejecución y tiempo

La investigación se ejecutó en el Laboratorio de Farmacognosia y Productos Naturales y en el Laboratorio de Ciencias Clínicas y Farmacéuticas de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco durante el mes de febrero del año 2023.

3.2 Diseño metodológico

3.2.1 Nivel y tipo de investigación

Se realizó una investigación de tipo experimental donde se analizó una variable independiente (colorante natural extraído de las semillas de *Bixa orellana* L.) y dos variables dependientes (*lipstick* formulado en base al colorante natural extraído de las semillas de *Bixa orellana* L y el control de calidad del *lipstick*). La investigación se dividió en 3 etapas:

Primera etapa: Extracción del colorante natural a partir de las semillas de achiote usando solución de hidróxido de potasio al 2 %.

Segunda etapa: Elaboración de *lipstick* formulado en base al tinte natural extraído de las semillas de achiote.

Tercera etapa: Se realizó los ensayos de control de calidad al *lipstick* formulado en base al tinte natural extraído de las semillas de achiote: Control organoléptico, control fisicoquímico y control microbiológico.

Se tiene como referencia la USP 43 NF 38 y la Resolución N° 2120.

3.2.2 Diseño de la investigación

3.2.2.1 Formulación de *lipstick* elaborado en base al colorante natural extraído de las semillas de *Bixa orellana* L. (achiote)

G₁	X₁	X₂	X₃	X₄	X₅	X₆	X₉
G₂	X₁	X₂	X₃	X₄	X₅	X₇	X₉
G₃	X₁	X₂	X₃	X₄	X₅	X₈	X₉

G₁: Formulación al 8 % (F-I)

G₂: Formulación al 10 % (F-II)

G₃: Formulación al 12 % (F-III)

X₁: % de aceite de semillas de uva

X₂: % de cera de abejas

X₃: % de manteca de karité

X4: % de miristato de isopropilo

X5: % de propilenglicol

X6: % de colorante natural extraído de las semillas de *Bixa orellana* L. (Achiote)

X7: % de colorante natural extraído de las semillas de *Bixa orellana* L. (Achiote)

X8: % de colorante natural extraído de las semillas de *Bixa orellana* L. (Achiote)

X9: esencia de frutos rojos y conservantes (c.s.)

3.2.2.2 Análisis de características organolépticas de *lipstick* elaborado en base al colorante natural extraído de las semillas de *Bixa orellana* L. (Achiote)

G1	X1	X2	X3	X4	O1	O4	O7	O10
G2	X1	X2	X3	X4	O2	O5	O8	O11
G3	X1	X2	X3	X4	O3	O6	O9	O12

G1: Formulación al 8 % (F-I)

G2: Formulación al 10 % (F-II)

G3: Formulación al 12 % (F-III)

X1: Análisis de característica organoléptica de homogeneidad de los *lipstick* elaborados en base al colorante natural extraído de las semillas de *Bixa orellana* L. (Achiote).

X2: Análisis de característica organoléptica de olor de los *lipstick* elaborados en base al colorante natural extraído de las semillas de *Bixa orellana* L. (Achiote).

X3: Análisis de característica organoléptica de uniformidad de color de los *lipstick* elaborados en base al colorante natural extraído de las semillas de *Bixa orellana* L. (Achiote).

X4: Análisis de característica organoléptica de adherencia de los *lipstick* elaborados en base al colorante natural extraído de las semillas de *Bixa orellana* L. (Achiote).

O1, O2, O3: Observación de característica organoléptica de homogeneidad de los *lipstick* elaborados en base al colorante natural extraído de las semillas de *Bixa orellana* L. (Achiote).

O4, O5, O6: Observación de característica organoléptica de olor de los *lipstick* elaborados en base al colorante natural extraído de las semillas de *Bixa orellana* L. (Achiote).

O7, O8, O9: Observación de característica organoléptica de uniformidad de color de los *lipstick* elaborados en base al colorante natural extraído de las semillas de *Bixa orellana* L. (Achiote).

O₁₀, O₁₁, O₁₂: Observación de característica organoléptica de adherencia de los *lipstick* elaborados en base al colorante natural extraído de las semillas de *Bixa orellana* L. (Achiote).

3.2.2.3 Análisis de características fisicoquímicas de *lipstick* elaborado en base al colorante natural extraído de las semillas de *Bixa orellana* L. (achiote).

G₁	X₁	X₂	X₃	O₁	O₄	O₇
G₂	X₁	X₂	X₃	O₂	O₅	O₈
G₃	X₁	X₂	X₃	O₃	O₆	O₉

G₁: Formulación al 8 % (F-I)

G₂: Formulación al 10 % (F-II)

G₃: Formulación al 12 % (F-III)

X₁: Análisis de característica fisicoquímica de pH de los *lipstick* elaborados en base al colorante natural extraído de las semillas de *Bixa orellana* L. (Achiote).

X₂: Análisis de característica fisicoquímica de densidad de los *lipstick* elaborados en base al colorante natural extraído de las semillas de *Bixa orellana* L. (Achiote).

X₃: Análisis de característica fisicoquímica de punto de fusión de los *lipstick* elaborados en base al colorante natural extraído de las semillas de *Bixa orellana* L. (Achiote).

O₁, O₂, O₃: Observación de característica fisicoquímica de pH de los *lipstick* elaborados en base al colorante natural extraído de las semillas de *Bixa orellana* L. (Achiote).

O₄, O₅, O₆: Observación de característica fisicoquímica de densidad de los *lipstick* elaborados en base al colorante natural extraído de las semillas de *Bixa orellana* L. (Achiote).

O₇, O₈, O₉: Observación de característica fisicoquímica de punto de fusión de los *lipstick* elaborados en base al colorante natural extraído de las semillas de *Bixa orellana* L. (Achiote).

3.2.2.4 Análisis de control microbiológico de *lipstick* elaborado en base al colorante natural extraído de las semillas de *Bixa orellana* L. (achiote)

G₁	X₁	X₂	X₃	X₄	X₅	O₁	O₄	O₇	O₁₀	O₁₃
G₂	X₁	X₂	X₃	X₄	X₅	O₂	O₅	O₈	O₁₁	O₁₄
G₃	X₁	X₂	X₃	X₄	X₅	O₃	O₆	O₉	O₁₂	O₁₅

G₁: Formulaci3n al 8 % (F-I)

G₂: Formulaci3n al 10 % (F-II)

G₃: Formulaci3n al 12 % (F-III)

X₁: Recuento total de microorganismos aerobios mes3filos viables presente en los *lipstick* elaborados en base al colorante natural extra3do de las semillas de *Bixa orellana* L. (Achiote)

X₂: Recuento total de hongos filamentosos y levaduras presente en los *lipstick* elaborados en base al colorante natural extra3do de las semillas de *Bixa orellana* L. (Achiote)

X₃: Identificaci3n de microorganismo pat3geno *Staphylococcus aureus* en los *lipstick* elaborados en base al colorante natural extra3do de las semillas de *Bixa orellana* L. (Achiote)

X₄: Identificaci3n de microorganismo pat3geno *Pseudomonas aeruginosa* en los *lipstick* elaborados en base al colorante natural extra3do de las semillas de *Bixa orellana* L. (Achiote)

X₅: Identificaci3n de microorganismo pat3geno *Escherichia coli* en los *lipstick* elaborados en base al colorante natural extra3do de las semillas de *Bixa orellana* L. (Achiote)

O₁, O₂, O₃: Conteo total de microorganismos aerobios mes3filos viables presente en los *lipstick* elaborados en base al colorante natural extra3do de las semillas de *Bixa orellana* L. (Achiote)

O₄, O₅, O₆: Conteo total de hongos filamentosos y levaduras presente en los *lipstick* elaborados en base al colorante natural extra3do de las semillas de *Bixa orellana* L. (Achiote)

O₇, O₈, O₉: Presencia o ausencia de microorganismo pat3geno *Staphylococcus aureus* en los *lipstick* elaborados en base al colorante natural extra3do de las semillas de *Bixa orellana* L. (Achiote)

O₁₀, O₁₁, O₁₂: Presencia o ausencia de microorganismo pat3geno *Pseudomonas aeruginosa* en los *lipstick* elaborados en base al colorante natural extra3do de las semillas de *Bixa orellana* L. (Achiote)

O₁₃, O₁₄, O₁₅: Presencia o ausencia de microorganismo pat3geno *Escherichia coli* en los *lipstick* elaborados en base al colorante natural extra3do de las semillas de *Bixa orellana* L. (Achiote)

3.2.3 Identificación y operacionalización de variables

3.2.3.1 Variables implicadas

Variable Independiente

A. Colorante natural extraído de las semillas de *Bixa orellana* L. (Achiote).

Definición conceptual: Se describe como aquella sustancia capaz de proporcionar tintes de origen vegetal resultante de tratar las semillas secas de achiote con solución extractante. (27)

Definición operacional: Se obtuvo el colorante por extracción con solución álcali KOH al 2 % por 12 horas se disminuyó el pH con ácido sulfúrico hasta un valor de 2 – 2.5, se obtiene una precipitación que se seca en una estufa a 55 °C. (27)

▪ Indicadores

a. Porcentaje de rendimiento de colorante obtenido

- ✓ **Naturaleza:** Cuantitativa
- ✓ **Medición:** Directa
- ✓ **Escala de medición:** Razón
- ✓ **Instrumento:** Balanza analítica con precisión de 0.0001 g
- ✓ **Expresión final de la variable:** % Peso colorante obtenido/Peso de las semillas (%P/P)
- ✓ **Rango aceptable:** 6 – 8 %

Rango mencionado en la investigación de Nasimba G.N. (27)

b. Color

- ✓ **Naturaleza:** Cualitativa
- ✓ **Medición:** Directa
- ✓ **Escala de medición:** Nominal
- ✓ **Instrumento:** Estimación visual
- ✓ **Expresión final de la variable:**
 - Conforme: Presenta color característico rojo oscuro.
 - No conforme: No presenta color característico rojo oscuro.

Especificación citada en la investigación de Nasimba G.N. (27)

c. Olor

- ✓ **Naturaleza:** Cualitativa
- ✓ **Medición:** Directa
- ✓ **Escala de medición:** Nominal
- ✓ **Instrumento:** Estimación olfativa
- ✓ **Expresión final de la variable:**
 - Conforme: Presenta olor característico.
 - No conforme: No presenta olor característico.

Especificación citada en la investigación de Nasimba G.N. (27)

d. Sabor

- ✓ **Naturaleza:** Cualitativa
- ✓ **Medición:** Directa
- ✓ **Escala de medición:** Nominal
- ✓ **Instrumento:** Sensación gustativa
- ✓ **Expresión final de la variable:**
 - Conforme: Presenta sabor característico.
 - No conforme: No presenta sabor característico.

Especificación citada en la investigación de Nasimba G.N. (27)

Variable Dependiente

A. *Lipstick* formulado en base al colorante natural extraído de las semillas de *Bixa orellana* L. (Achiote)

Definición conceptual: Presentación cosmética que se utiliza para definir la forma, dar color y añadir características estéticas decorativas a los labios también para proteger la piel de los labios de las condiciones ambientales nocivas. (63)

Definición operacional: En base a las formulaciones propuestas se procede al correcto pesado de los ingredientes a usar a continuación en baño maría se mezcló

la cera de abejas, aceite de semillas de uva y manteca de karité hasta tener una mezcla homogénea, se adicionó el colorante natural extraído de achiote y demás ingredientes hasta la disgregación total de colorante garantizando la compatibilidad de los ingredientes se retira del baño maría procediendo al moldeado en los envases elegidos. (7,17)

- **Indicadores**

- a. **Compatibilidad de ingredientes**

- ✓ **Naturaleza:** Cualitativa
- ✓ **Medición:** Directa
- ✓ **Escala de medición:** Nominal
- ✓ **Instrumento:** Estimación visual
- ✓ **Expresión final de la variable:**
 - Normal
 - Ligeramente separado, precipitado o turbio
 - Separado, precipitado o turbio

Expresiones citadas por Wilkinson J.B. & Moore R.J.(7)

- B. **Control de calidad de *lipstick* formulado en base al colorante natural extraído de las semillas de *Bixa orellana* L. (Achiote)**

Definición conceptual: Es el área donde se realizan los diversos análisis y pruebas con el fin de comprobar si un producto cumple o no con la conformidad requerida dentro de las especificaciones del mismo incluye determinaciones organolépticas, fisicoquímicas y microbiológicas. (83)

Definición operacional: Se llevó a cabo las pruebas organolépticas, fisicoquímicas y microbiológicas al *lipstick* formulado en base al colorante natural extraído de las semillas de achiote. (77)

- **Indicadores**

- a. **Control organoléptico:** Análisis de características organolépticas.

Sub indicadores:

- **Homogeneidad**
 - ✓ **Naturaleza:** Cualitativa

- ✓ **Medición:** Directa
- ✓ **Escala de medición:** Nominal
- ✓ **Instrumento:** Estimación visual
- ✓ **Expresión final de la variable:**
 - Homogéneo: Superficie lisa y de composición uniforme.
 - No homogéneo: Superficie con grietas y erupciones.

Expresiones citadas en la investigación de Melo C.A. & Moncada L.P.(77)

- **Olor**

- ✓ **Naturaleza:** Cualitativa
- ✓ **Medición:** Directa
- ✓ **Escala de medición:** Nominal
- ✓ **Instrumento:** Estimación olfativa
- ✓ **Expresión final de la variable:**
 - Agradable: Complace y gusta
 - Ligeramente agradable: Complace y gusta parcialmente.
 - Desagradable: No complace ni gusta.

Expresiones citadas en la investigación de Fernández C.A. & Ponce de León F.V. (9)

- **Uniformidad de color**

- ✓ **Naturaleza:** Cualitativa
- ✓ **Medición:** Directa
- ✓ **Escala de medición:** Nominal
- ✓ **Instrumento:** Estimación visual
- ✓ **Expresión final de la variable:**
 - Buena: Los pigmentos están totalmente disgregados en la base grasa y no se observan diferencias de sombreado, aglomeración, ni puntos

- Regularmente buena: Los pigmentos están regularmente disgregados en la base grasa y se observan algunas diferencias de sombreado y pequeñas aglomeraciones
- Mala: Los pigmentos no están disgregados en la base grasa y se observan diferencias de sombreado y aglomeraciones en mayor parte del trazo

Expresiones citadas en la investigación de Salvatierra K.M. & Villa C.J. (17)

- **Adherencia**

- ✓ **Naturaleza:** Cualitativa
- ✓ **Medición:** Directa
- ✓ **Escala de medición:** Nominal
- ✓ **Instrumento:** Tacto
- ✓ **Expresión final de la variable:**
 - Buena: El labial se fija firmemente a la superficie y no se desprende por sí sola
 - Regularmente buena: El labial se fija a la superficie con tendencia a desprenderse por sí sola
 - Mala: El labial no se fija con facilidad a la superficie y tiende a despegarse, sin firmeza y con predisposición a desprenderse

Expresiones citadas en la investigación de Fernández C.A. & Ponce de León F.V. (9)

b. Control fisicoquímico: Análisis de características fisicoquímicas.

Sub indicadores:

- **pH**
 - ✓ **Naturaleza:** Cuantitativa
 - ✓ **Medición:** Directa
 - ✓ **Escala de medición:** Razón
 - ✓ **Instrumento:** pH-metro
 - ✓ **Expresión final de la variable:** pH
 - ✓ **Rango aceptable:** >3 - <10

Rango mencionado en la investigación de Salvatierra K.M. & Villa C.J.
(17)

- **Densidad**

- ✓ **Naturaleza:** Cuantitativa
- ✓ **Medición:** Directa
- ✓ **Escala de medición:** Razón
- ✓ **Instrumento:** Picnómetro
- ✓ **Expresión final de la variable:** g/mL
- ✓ **Rango aceptable:** <1g/mL

Rango mencionado en la investigación de Salvatierra K.M. & Villa C.J.
(17)

- **Punto de fusión**

- ✓ **Naturaleza:** Cuantitativa
- ✓ **Medición:** Directa
- ✓ **Escala de medición:** Razón
- ✓ **Instrumento:** Método del tubo capilar
- ✓ **Expresión final de la variable:** °C
- ✓ **Rango aceptable:** 42°C a 55°C

Rango mencionado en la investigación de Salvatierra K.M. & Villa C.J.
(17)

- c. **Control microbiológico:** Análisis microbiológico de los productos terminados e insumos no estériles con el fin de determinar que cumplen con las especificaciones microbiológicas establecidas (79).

Sub indicadores:

- **Recuento total de microorganismos aerobios mesófilos viables**

- ✓ **Naturaleza:** Cuantitativa
- ✓ **Medición:** Indirecta
- ✓ **Escala de medición:** Razón
- ✓ **Instrumento:** Cultivo en placas y enumeración de colonias

✓ **Expresión final de la variable:** Unidades formadoras de colonias por gramo

✓ **Rango aceptable:** 5×10^2 UFC/g ó mL

Rango especificado en la Resolución N° 2120. (79)

- **Recuento total de hongos filamentosos y levaduras**

✓ **Naturaleza:** Cuantitativa

✓ **Medición:** Indirecta

✓ **Escala de medición:** Razón

✓ **Instrumento:** Cultivo en placas y enumeración de colonias

✓ **Expresión final de la variable:** Unidades formadoras de colonias por gramo

✓ **Rango aceptable:** 1×10^2 UFC/g ó mL

Rango especificado en la Resolución N° 2120. (79)

- **Identificación de microorganismo patógeno *Staphylococcus aureus***

✓ **Naturaleza:** Cualitativa

✓ **Medición:** Indirecta

✓ **Escala de medición:** Nominal

✓ **Instrumento:** Siembra en placas e identificación

✓ **Expresión final de la variable:** Presencia/Ausencia

✓ **Rango aceptable:** Ausencia de *Staphylococcus aureus* en 1 g o mL

Especificación citada en la Resolución N° 2120. (79)

- **Identificación de microorganismo patógeno *Pseudomonas aeruginosa***

✓ **Naturaleza:** Cualitativa

✓ **Medición:** Indirecta

✓ **Escala de medición:** Nominal

✓ **Instrumento:** Siembra en placas e identificación

✓ **Expresión final de la variable:** Presencia/Ausencia

✓ **Rango aceptable:** Ausencia de *Pseudomonas aeruginosa* en 1 g o mL

Especificación citada en la Resolución N° 2120. (79)

- **Identificación de microorganismo patógeno *Escherichia coli***
 - ✓ **Naturaleza:** Cualitativa
 - ✓ **Medición:** Indirecta
 - ✓ **Escala de medición:** Nominal
 - ✓ **Instrumento:** Siembra en placas e identificación
 - ✓ **Expresión final de la variable:** Presencia/Ausencia
 - ✓ **Rango aceptable:** Ausencia de *Escherichia coli* en 1 g o mL

Especificación citada en la Resolución N° 2120. (79)

3.2.3.2 Variables no implicadas

A. Semillas de *Bixa orellana* L. (Achiote)

- **Indicadores**
 - a. **Estadío de recolección**
 - ✓ **Naturaleza:** Cualitativa
 - ✓ **Medición:** Directa
 - ✓ **Escala de medición:** Nominal
 - ✓ **Instrumento:** Estimación visual
 - ✓ **Expresión final de la variable:** Semillas maduras

Tabla 8. Operacionalización de variables implicadas

VARIABLES	DEFINICION CONCEPTUAL	MÉTODO	INDICADOR	SUBINDICADOR	NATURALEZA/ MEDICION/ ESCALA	INSTRUMENTO DE MEDICION	EXPRESION FINAL
INDEPENDIENTE A. Colorante natural extraído de las semillas de <i>Bixa orellana</i> L.	Se define como aquella sustancia capaz de proporcionar tintes, de origen vegetal resultante de tratar las semillas secas de <i>Bixa orellana</i> L. (Achiote) con solución extractante (32)	Se obtuvo el colorante por extracción con solución álcali KOH 2% por 12 horas, se disminuyó el pH con ácido sulfúrico hasta un valor de 2 – 2.5, se obtiene una precipitación que se seca en una estufa a 55 °C (27)	a. Porcentaje de rendimiento de colorante obtenido	-	Naturaleza: Cuantitativa Medición: Directa Escala de medición: Razón	Balanza analítica con precisión de 0.0001 g	%P/P
			b. Color	-	Naturaleza: Cualitativa Medición: Directa Escala de medición: Nominal	Estimación visual	- Conforme - No conforme
			c. Olor	-	Naturaleza: Cualitativa Medición: Directa Escala de medición: Nominal	Estimación olfativa	- Conforme - No conforme
			d. Sabor	-	Naturaleza: Cualitativa Medición: Directa Escala de medición: Nominal	Sensación gustativa	- Conforme - No conforme

DEPENDIENTE S A. Lipstick formulado en base al colorante natural extraído de las semillas de Bixa orellana L. (Achiote).	Presentación cosmética que se utiliza para definir la forma, dar color y añadir características estéticas decorativas a los labios también de ser muy eficaz para proteger la piel de los labios de las condiciones ambientales nocivas. (63)	Según lo establecido en la <i>United States Pharmacopeia</i> vigente.	a. Compatibilidad de ingredientes	-	Naturaleza: Cualitativa Medición: Directa Escala de medición: Nominal	Estimación visual	- Normal. - Ligeramente separado, precipitado o turbio. - Separado, precipitado o turbio.
	B. Control de calidad de lipstick formulado en base al colorante natural extraído de las semillas de Bixa orellana L. (Achiote).	Es el área donde se realizan los diversos análisis y pruebas, con el fin de comprobar si un producto cumple o no con la conformidad requerida dentro de las especificaciones del mismo. (83)	Según lo establecido en la <i>United States Pharmacopeia</i> vigente.	a. Control organoléptico	Homogeneidad Olor Uniformidad de color Adherencia	Naturaleza: Cualitativa Medición: Directa Escala de medición: Nominal Naturaleza: Cualitativa Medición: Directa Escala de medición: Nominal Naturaleza: Cualitativa Medición: Directa Escala de medición: Nominal Naturaleza: Cualitativa Medición: Directa Escala de medición: Nominal	Estimación visual Estimación olfativa Estimación visual Tacto

			<p>b. Control fisicoquímico</p> <p>pH Naturaleza: Cuantitativa Medición: Directa Escala de medición: Razón</p> <p>Densidad Naturaleza: Cuantitativa Medición: Directa Escala de medición: Razón</p> <p>Punto de fusión Naturaleza: Cuantitativa Medición: Directa Escala de medición: Razón</p>	<p>pH-metro</p> <p>Picnómetro</p> <p>Método del tubo capilar</p>	<p>pH Rango aceptable: >3 - <10</p> <p>g/mL Rango aceptable: <1g/mL</p> <p>°C Rango aceptable: 42°C a 55°C</p>
		<p>c. Control microbiológico</p> <p>Recuento total de microorganismos aerobios mesófilos viables Naturaleza: Cuantitativa Medición: Indirecta Escala de medición: Razón</p> <p>Recuento total de hongos filamentosos y levaduras Naturaleza: Cuantitativa Medición: Indirecta Escala de medición: Razón</p> <p>Identificación de <i>Staphylococcus aureus</i> Naturaleza: Cualitativa Medición: Indirecta Escala de medición: Nominal</p> <p>Identificación de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> Naturaleza: Cualitativa Medición: Indirecta Escala de medición: Nominal</p> <p>Identificación de <i>Escherichia coli</i> Naturaleza: Cualitativa Medición: Indirecta Escala de medición: Nominal</p>	<p>Cultivo en placas y enumeración de colonias</p> <p>Cultivo en placas y enumeración de colonias</p> <p>Siembra en placas e identificación</p> <p>Siembra en placas e identificación</p> <p>Siembra en placas e identificación</p>	<p>UFC/g Rango aceptable: 5 x 10² UFC/g ó mL</p> <p>UFC/g Rango aceptable: 1 x 10² UFC/g ó mL</p> <p>Presencia/ Ausencia</p> <p>Presencia/ Ausencia</p> <p>Presencia/ Ausencia</p>	

Tabla 9. Operacionalización de variables no implicadas

VARIABLES INTERVINIENTES	INDICADOR	NATURALEZA	MEDICION	ESCALA DE MEDICION	INSTRUMENTO	EXPRESION FINAL
A. Semillas de <i>Bixa orellana</i> L. (Achiote)	Estadío de recolección de frutos o cápsulas	Cualitativa	Directa	Nominal	Tacto	Semillas maduras

3.2.4 Criterios de inclusión y exclusión

De la semilla de *Bixa orellana* L. (Achiote)

- **Criterios de inclusión:** Las semillas recolectadas deben proceder de capsulas o frutos maduros, estos se diferencian por tener una cubierta dura al tacto, semillas maduras y enteras garantizan suficiente cantidad de pulpa de donde se extraen finalmente el colorante de achiote. (31)
- **Criterios de exclusión:** Debido a su rusticidad el achiote es una planta poco atacada por las plagas sin embargo se tiene al gusano o perforador de la cápsula y al chinche de la cápsula que se alimentan de las semillas destruyéndolas en su totalidad o en parte y siendo sensible al ataque de hongos y otros organismos, se excluyó la cosecha de frutos no maduros, dañados, malogrados o con manchas de color negro. (31)

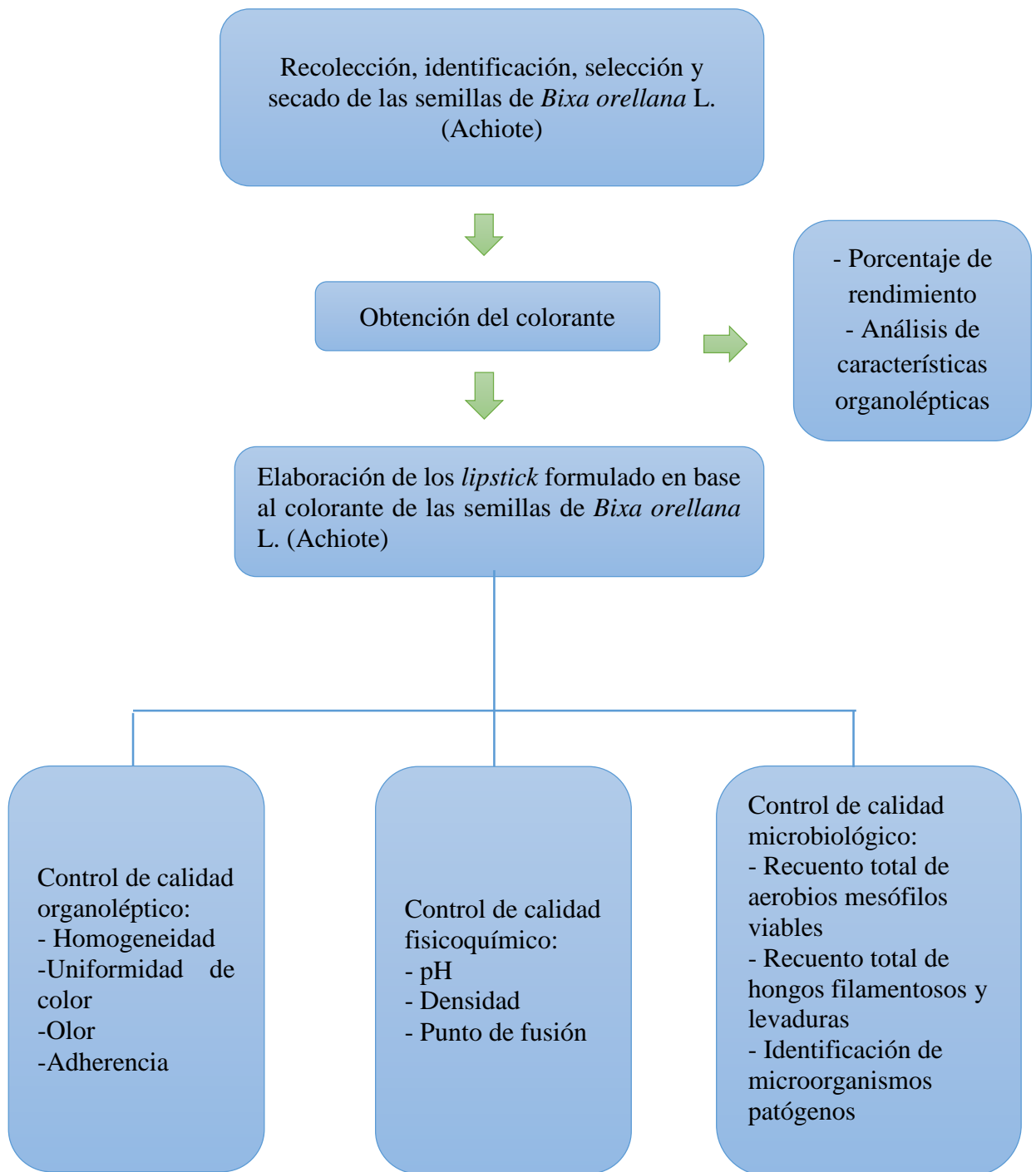
3.3 Procedimientos de la investigación

La recolección de las semillas de achiote tuvo lugar en el Centro Poblado de Huilcapampa la selección incluyó solo las cápsulas maduras, enteras y libre de manchas una vez secas en un ambiente ventilado y en sombra se procedió a partir las cápsulas y separar las semillas, se pesó 100 gramos de semillas y se dejó en reposo con 250 mL de solución extractante KOH al 2% se trató la solución coloreada con ácido sulfúrico hasta un pH de 2-2,5 observando la formación de un precipitado la cual se filtró y se dejó secar en la estufa a 55°C hasta obtener el tinte en polvo se determinó el porcentaje de rendimiento y las propiedades organolépticas. (27,31)

Se elaboró los *lipstick* formulados en base al colorante extraído en tres diferentes concentraciones (8%, 10% y 12%) garantizando una mezcla homogénea, posteriormente se procedió a analizar la compatibilidad de los mismos. (7)

El producto terminado se sometió a ensayos de control de calidad organoléptico que incluye el estudio de la homogeneidad, uniformidad de color, olor y adherencia; control de calidad fisicoquímico con el fin de hallar el pH, densidad, punto de fusión y finalmente el control de calidad microbiológico: recuento total de microorganismos aerobios mesófilos viables, recuento total de hongos filamentosos y levaduras e identificación de microorganismo patógenos usando como referencia la USP 43 NF 38 y la Resolución N° 2120. (9,77)

Flujograma 1. Procedimiento de la investigación



3.3.1 Recolección, identificación, selección y secado de las semillas de *Bixa orellana* L. (Achiote)

RECOLECCIÓN

Las semillas de achiote fueron cosechadas en el Centro Poblado de Huillcapampa ubicado en el Distrito de Quellouno – Provincia de La Convención - Departamento del Cusco, a una altitud aproximada de 650 msnm durante el mes de diciembre del año 2022.

IDENTIFICACION

Después de la recolección se procede a la identificación taxonómica que tuvo lugar en el Herbario Vargas CUZ de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco (UNSAAC). (Anexo 1)

SELECCIÓN Y SECADO

Posteriormente se seleccionó las semillas que se encontraban en estado adecuado que proceden de frutos maduros descartando aquellas que se encuentren en mal estado, con plagas, hongos e insectos.

El secado tuvo lugar en un ambiente fresco, bien aireado, protegido del sol y de agentes contaminantes. (31)

3.3.2 Obtención del colorante natural extraído de las semillas de *Bixa orellana* L. (Achiote)

Las semillas secas de achiote fueron pesadas en cantidad de 100 gramos y se dejó en reposo con 250 mL de KOH al 2% p/v por un periodo de 12 horas, procediendo a separar la solución resultante, realizando 5 lavados con 50 ml de solución extractante y agitando por un periodo de 45 minutos, separando la solución coloreada a esta se le agregó ácido sulfúrico hasta llegar a un pH de 2 – 2,5, se obtuvo la suspensión del colorante, se procedió a separar las sales formadas y secarlas en una estufa a temperatura de 55 °C. (27,31)

3.3.3 Determinación del porcentaje de rendimiento del colorante obtenido de las semillas de *Bixa orellana* L. (Achiote)

Se calculó el porcentaje de rendimiento del colorante obtenido de la extracción de las semillas de *Bixa orellana* L. (Achiote) con KOH 2%, usando la siguiente expresión: (31)

$$\text{Rendimiento} = \frac{\text{Peso de colorante obtenido (g)}}{\text{Peso inicial de semillas (g)}} \times 100$$

3.3.4 Análisis de características organolépticas del colorante obtenido de las semillas de *Bixa orellana* L. (Achiote)

Según la literatura consultada el colorante obtenido de las cápsulas maduras de achiote presenta características organolépticas propias de la planta, para la determinación de estas se realizó los siguientes procedimientos:

- **Color:** Se procedió a colocar el colorante obtenido en una luna de reloj de preferencia sobre una superficie blanca, se examina el color de la muestra, se recomienda repetir el análisis para mayor exactitud. (77)

Referencia: Color rojo oscuro

Referencia mencionada en la investigación de Nasimba G.N.(27)

- **Olor:** Con la ayuda de una espátula tomar el colorante obtenido y colocarlo sobre una luna de reloj, se toma el tiempo de un minuto con el fin de que los olores se desprendan, previamente el analista se realizó una adecuada higiene nasal, acercando a un centímetro de la muestra sin tocarla y se realiza inspiraciones con el fin analizar el olor percibido. (9,77)

Referencia citada en la investigación de Nasimba G.N.(27)

Referencia: Aromático característico

- **Sabor:** Seleccionar un tamaño de muestra adecuado del colorante obtenido con la yema del dedo índice previamente desinfectado y limpio, adherir una cantidad adecuada de muestra y llevarla a la boca, saborearlo con la lengua tomarse unos segundos para identificar las características del sabor. (9)

Referencia: Característico

Referencia citada en la investigación de Nasimba G.N.(27)

3.3.5 Formulación del *lipstick* en base al colorante natural obtenido de las semillas de *Bixa orellana* L. (Achiote)

De acuerdo a la bibliografía consultada se procedió a realizar una fase preliminar donde se proponen pre formulaciones utilizamos como referencia el texto Cosmetología de Harry de Wilkinson J.B. & Moore R.J. donde detalla ejemplo de formulaciones de barra de labios existentes y el procedimiento a seguir en la preparación. (7)

Se pudo observar que en las primeras pruebas piloto la consistencia no fue la adecuada ya que fue demasiado dura y en contacto con la temperatura corporal se observó un difícil deslizamiento por lo cual se disminuyó la cantidad de cera de abeja, además se pudo notar que la dureza aumentaba en las formulaciones con mayor cantidad de colorante, por lo cual se disminuyó la cantidad de cera de abeja, se usó 25 gramos de cera de abeja en la formulación al 8%, 23 gramos de cera de abeja en la formulación al 10 % y 21 gramos de cera de abeja en la formulación al 12 %.

Se tuvo dificultades con el uso del aceite de ricino por el olor que confiere se necesitaba usar como mínimo 1 mL de esencia de frutos rojos para enmascarar el olor y sea agradable por lo cual se reemplazó por el aceite de semillas de uva que otorgo características adecuadas al *lipstick* y la cantidad necesaria de esencia de frutos rojos fue mínima reduciéndola a 10 gotas.

En las primeras pruebas el colorante previo a adicionarlo a la formulación se disolvió en tween 80 como agente solubilizante y humectante lo cual si tuvo buenos resultados sin embargo al incluir el colorante directamente a la mezcla se observó que se disuelve con facilidad por lo cual se decide desistir de este paso previo.

En cuanto a la cantidad de colorante de achiote a usar se propone en porcentajes del 8, 10 y 12 % obteniendo una coloración natural adecuada con lo que se busca lograr en la formulación, como referencia tenemos diferentes estudios se señala que el porcentaje de extractos de pigmentos naturales a usar en este tipo de formulaciones es de 4 – 12 %. (16)

3.3.6 Elaboración del *lipstick* en base al colorante natural obtenido de las semillas de *Bixa orellana* L. (Achiote).

Se inició con el pesado de los ingredientes con punto de fusión elevado cera de abejas y manteca de karité se procedió a la mezcla de los componentes mencionados en un vaso de ensayos inmerso en baño maría a temperatura entre 70 – 75 °C con agitación permanente y continua que favorezca la fusión de los componentes y una mezcla homogénea, se incorpora el aceite de semillas de uva y el colorante en agitación constante hasta lograr su total dispersión posteriormente se agregó el propilenglicol, miristato de isopropilo, esencia de frutos rojos y conservante sharomix 705 que es un conservante amplio espectro utilizado en formulaciones cosméticas, siempre en agitación constante finalmente y verificando que la mezcla sea homogénea se retira del baño maría procediendo al moldeado de la masa transfiriéndose a los envases elegidos para su enfriamiento a temperatura ambiente. (7,17)

3.3.7 Análisis de la compatibilidad de ingredientes en la elaboración del *lipstick* formulado en base al colorante natural obtenido de las semillas de *Bixa orellana* L. (Achiote)

Finalizando la elaboración del *lipstick* previo al envasado se procede a evaluar la compatibilidad de ingredientes verificando la total de dispersión del colorante en los excipientes mediante la observación del aspecto de la mezcla, la presencia de una o más fases, existencia de precipitados o turbidez, presencia de agujeros de aire, espumas o cualquier otro indicador de incompatibilidad en la mezcla, la evaluación considerará los siguientes criterios: (7)

- Normal
- Ligeramente separado, precipitado o turbio.
- Separado, precipitado o turbio.

Expresiones citadas por Wilkinson J.B. & Moore R.J. (7)

3.3.8 Análisis organoléptico del *lipstick* formulado en base al colorante natural obtenido de las semillas de *Bixa orellana* L. (Achiote)

Se procede a observar las características de color, olor, aspecto, facilidad de adherencia, con el fin de valorar si existe cualquier tipo de alteración en el producto.

- Homogeneidad

Se procede a observar la superficie del *lipstick* formulado en base al colorante natural extraído de achiote, la superficie debe ser uniforme sin grietas, sin erupciones. (77)

La evaluación incluye las siguientes expresiones:

- ✓ Homogéneo
- ✓ No homogéneo

Expresiones citadas en la investigación de Melo C.A. & Moncada L.P.(77)

- Olor

Con ayuda de una espátula se realiza el análisis sensorial del olor, se tomó el *lipstick* formulado en base al colorante natural obtenido de achiote y se acercó a un centímetro de la nariz inhalar por unos segundos con el fin de reconocer el estímulo. (9,77) De acuerdo a la evaluación subjetiva del analista se incluye como expresión final de la variable:

- ✓ Agradable
- ✓ Ligeramente agradable
- ✓ Desagradable

Expresiones citadas en la investigación de Fernández C.A. & Ponce de León F.V. (9)

- Uniformidad de color

Para este análisis con el apoyo de una espátula se tomó una muestra del *lipstick* y se dibujó una línea en la parte anterior del antebrazo corroborando la coloración y saturación del trazo desde el principio hasta el final. (9) La evaluación incluye las siguientes expresiones:

- ✓ Buena
- ✓ Regularmente buena
- ✓ Mala

Expresiones citadas en la investigación de Fernández C.A. & Ponce de León F.V. (9)

- Adherencia

Se tomó una parte de la muestra y se ejecutó líneas en la cara anterior del antebrazo y en los labios, se observó que la unión del trazo a la epidermis no se desprende después de mover la zona y derramando una escasa cantidad de agua (9,77).

La evaluación incluye las siguientes expresiones:

- ✓ Buena
- ✓ Regularmente buena
- ✓ Mala

Expresiones citadas en la investigación de Fernández C.A. & Ponce de León F.V. (9)

3.3.9 Análisis fisicoquímico del *lipstick* formulado en base al colorante natural obtenido de las semillas de *Bixa orellana* L. (Achiote)

Dentro de este análisis se determinó propiedades fisicoquímicas como:

- pH

Se enciende el pH-metro que antes fue calibrado con soluciones buffer de pH 4 y 7. Después de la calibración se enjuaga el electrodo con agua estéril y secada con papel y se sumerge a la muestra una vez estable se mostró el valor del pH. (17,77)

Límite de aceptación: >3 - <10

Rango mencionado en la investigación de Salvatierra K.M. & Villa C.J. (17)

- Densidad

Se empleó el picnómetro previamente se anota el volumen del mismo para proceder a pesar en seco, posteriormente se llenó el picnómetro con la muestra a analizar se procedió a pesar cuidadosamente. Se medirá la densidad con la fórmula: (17,77)

$$Densidad = \frac{P2 - P1}{VP}$$

Donde:

P1: Peso de picnómetro sin muestra (g)

P2: Peso de picnómetro con muestra (g)

VP: Volumen del picnómetro (mL)

Límite de aceptación: <1g/ mL

Rango mencionado en la investigación de Salvatierra K.M. & Villa C.J. (17)

- Punto de fusión

Se colocó el producto al tubo capilar sellado en un extremo con la ayuda de un vidrio de reloj hasta que la muestra este bien compacta, el tubo se adhirió al termómetro a baño maría se procedió a leer la temperatura de inicio donde la muestra solida comienza a cambiar a liquida y corre a través de las paredes del capilar la muestra se funde totalmente hasta ser totalmente liquida la temperatura registrada en este momento será la temperatura final. (17,77)

Límite de aceptación: 42°C a 55°C

Rango mencionado en la investigación de Salvatierra K.M. & Villa C.J. (17)

3.3.10 Análisis microbiológico del *lipstick* formulado en base al colorante natural obtenido de las semillas de *Bixa orellana* L. (Achiote)

Hay varias sugerencias que deben tenerse en cuenta antes de realizar el análisis microbiológico, una vez obtenida la muestra para el análisis debe conservarse a temperatura ambiente hasta realizar el análisis, realizar la manipulación de las muestras con guantes de látex en condiciones asépticas, desinfectar la superficie de trabajo con etanol al 70% cualquier irregularidad en el procedimiento puede contaminar las muestras y dar resultados alterados. (13)

Se recomienda realizar la preparación de agares siguiendo los procedimientos establecidos y en condiciones adecuadas. (Anexo 2) (84)

Los métodos a realizar en cada determinación será método de vertido en placa y por siembra, las cuales se realizaron por triplicado y un medio de cultivo sin la muestra usado como blanco para garantizar la esterilidad del medio y observar si existiera contaminación en el desarrollo.

En la siguiente tabla se detalla que medio de cultivo se usará en cada determinación, las características de las colonias, el método usado, la temperatura y el tiempo para cada microorganismo:

Tabla 10. Medio de cultivo, características de las colonias, método, temperatura y tiempo para cada microorganismo (13,84)

Microorganismo	Medio de cultivo	Características de las colonias	Método	T°	t
Aerobios mesófilos viables	Agar caso	Recuento total (todo tipo de colonia)	Vertido en placa	30 – 37 °C	3 -5 días
Hongos filamentosos y levaduras	Agar sabouraud dextrosa 4%	Levaduras (colonias convexas) Mohos (colonias filamentosas)	Vertido en placa	20 – 25 °C	5 – 7 días
<i>Staphylococcus aureus</i>	Agar manitol salado	Colonias amarillas pequeñas (Prueba de Coagulasa como identificación)	Siembra	30 – 35 °C	18 – 72 horas
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Agar cetrimide	Colonias verdes (Prueba de Citochromooxidasa como identificación)	Siembra	30 – 35 °C	18 – 72 horas
<i>Escherichia coli</i>	Agar mac conkey	Colonias rojo – rosadas (Ensayo de diferenciación bioquímica como identificación)	Siembra	30 – 35 °C	18 – 72 horas

Dentro de los análisis exigidos en el control microbiológico de cosméticos se tiene:

– **Recuento total de microorganismos aerobios mesófilos viables**

A partir de la disolución 1 en 10 (10 g de muestra + 90 mL de Caldo caso (TSA) con polisorbato 80) se procedió a sembrar en agar caso mediante el método de vertido en placa, se distribuye 1 mililitro de la disolución 1 en 10 y se adicionó más o menos de 15 mL a 20 mL de agar caso con temperaturas menores a 45 °C unir por medio de movimientos circulares de la placa petri. Se incubó de 30 °C a 35 °C de 3 a 5 días. (13,84)

Lectura de resultados: Para expresar el resultado final se multiplicó el número de colonias que crecieron (media del recuento de las placas) por el factor de dilución. (17)

Límite de aceptación: Máximo 5×10^2 UFC/g o mL

Rango especificado en la Resolución N° 2120. (79)

– **Recuento total de hongos filamentosos y levaduras**

De la disolución 1 en 10 (10 g de muestra + 90 mL de caldo caso (TSA) con polisorbato 80) se continuará con la siembra en Agar sabouraud dextrosa 4% por el Método de Vertido en placa, se vierte 1 mililitro de la disolución 1 en 10 y se adicionó más o menos de 15 mL a 20 mL de Agar sabouraud 4% con temperaturas menores a 45 °C, combinar prontamente por medio de movimientos circulares de la placa petri. Gestar a temperatura de 20 a 25 °C de 5 a 7 días. (13,84)

Lectura de resultados: Para expresar el resultado final se multiplicó el número de colonias que crecieron (media del recuento de las placas) por el factor de dilución (17).

Límite de aceptación: Máximo 1×10^2 UFC/g o mL

Rango especificado en la Resolución N° 2120. (79)

– **Identificación de microorganismo patógeno *Staphylococcus aureus***

Preparación de la muestra e incubación previa: A partir de la disolución 1 en 10 (10 g de muestra + 90 mL de caldo caso (TSA) con polisorbato 80), se procedió a tomar 10 mL (equivalente a 1 g o 1 mL de la muestra) en 90 mL de caldo caso (TSB) de tal manera que se obtiene una segunda disolución, gestar a temperatura de 30 °C a 35 °C de 18 a 24 horas.(13,84)

Selección y subcultivo: Subcultivar en una placa de agar manitol salado y gestar a temperatura de 30 a 35 °C de 18 a 72 horas. (13,84)

Lectura de resultados: La aparición de colonias amarillas pequeñas contorneadas de una demarcación amarilla expresa la probable disposición de *S. aureus*, lo cual se confirmará mediante pruebas de identificación como la Prueba de coagulasa. (Anexo 3) (84)

Límite de aceptación: Ausencia de *Staphylococcus aureus* en 1 g o mL

Rango especificado en la Resolución N° 2120. (79)

– **Identificación de microorganismo patógeno *Pseudomonas aeruginosa***

Preparación de la muestra e incubación previa: A partir de la disolución 1 en 10 (10 g de muestra + 90 mL de caldo caso (TSA) con polisorbato 80), se tomó 10 mL (equivalente a 1 g o 1 mL de la muestra) en 90 mL de caldo caso (TSB) obteniendo una segunda disolución, gestar a temperatura de 30 °C a 35 °C de 18 a 24 horas. (13,84)

Selección y subcultivo: Subcultivar en una placa de agar cetrimide e incubar a una temperatura de 30 a 35 °C por un periodo de 18 a 72 horas. (13,84)

Lectura de resultados: La aparición de colonias de color verde expresa la probable existencia de *Pseudomonas aeruginosa* lo cual se confirma por medio de iluminación de las colonias sospechosas bajo una lámpara para microbiología de luz UV de 366 nanómetros donde las colonias se observan fosforescentes. Además, se confirma mediante pruebas de identificación como la Prueba de la citochromooxidasa. (Anexo 4) (84)

Límite de aceptación: Ausencia de *Pseudomonas aeruginosa* en 1 g o mL
Rango especificado en la Resolución N° 2120. (79)

– **Identificación de microorganismo patógeno *Escherichia coli***

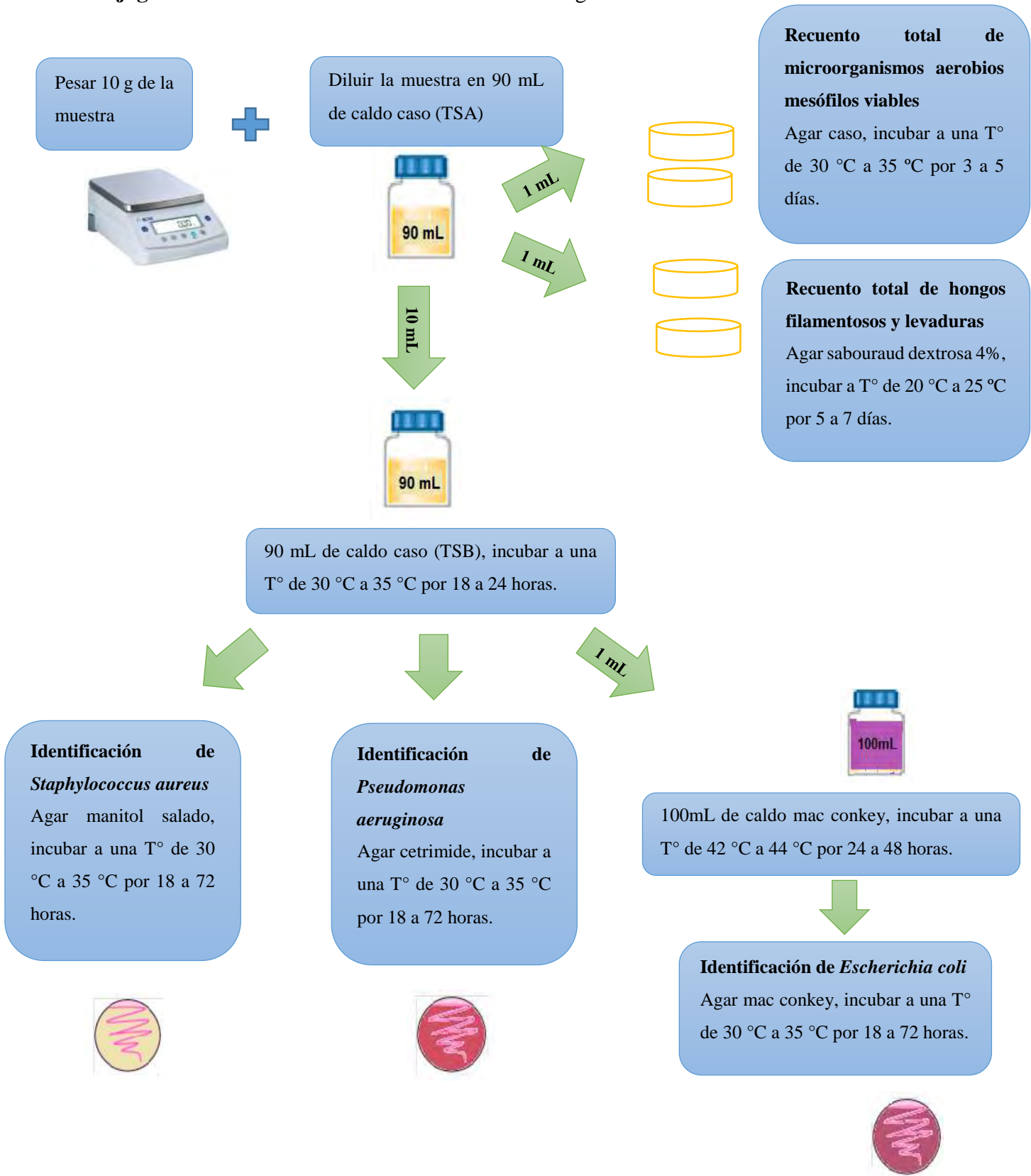
Preparación de la muestra e incubación previa: Tomando como base la disolución 1 en 10 (10 g de muestra + 90 mL de caldo caso (TSA) con polisorbato 80), se tomó 10 mL (equivalente a 1 g o 1 mL de la muestra) y diluir en 90 mL de caldo caso (TSB) obteniendo una segunda dilución, gestar a temperatura de 30 a 35 °C de 18 a 24 horas. (13,84)

Selección y subcultivo: Mover el recipiente traspasar 1 mL de la preparación anterior a 100 mL de caldo mac conkey y gestar a temperatura de 42 °C a 44 °C de 24 a 48 horas. Posteriormente subcultivar en una placa de agar mac conkey y gestar a temperatura de 30 °C a 35 °C de 18 a 72 horas. (13,84)

Lectura de resultados: El crecimiento de colonias de coloración rojo - rosadas envueltas de una parte turbia denota la probable existencia de *E. coli* lo cual se confirma por medio de ensayos de diferenciación Bioquímica. (Anexo 5) (84)

Límite de aceptación: Ausencia de *Escherichia coli* en 1 g o mL
Rango especificado en la Resolución N° 2120. (79)

Flujograma 2. Procedimiento del análisis microbiológico



T°: Temperatura

3.4 Técnicas e instrumentos de recolección de datos

El estudio se llevó a cabo utilizando las técnicas de análisis descritas en el reglamento vigente, el recojo de datos que deriven de los métodos descritos anteriormente se organizará en fichas de registro:

- Resultados del porcentaje de rendimiento del colorante obtenido de las semillas de *Bixa orellana* L. (Achiote) con KOH al 2 %. (Anexo 6)
- Resultados del análisis de características organolépticas del colorante obtenido de las semillas de *Bixa orellana* L. (Achiote). (Anexo 7)
- Resultados del análisis organoléptico del *lipstick* formulado en base al colorante natural obtenido de las semillas de *Bixa orellana* L. (Achiote) en la formulación al 8 (F-I), 10 (F-II) y 12 % (F-III) (Anexo 8)
- Resultados del análisis fisicoquímico del *lipstick* formulado en base al colorante natural obtenido de las semillas de *Bixa orellana* L. (Achiote) en la formulación al 8 (F-I), 10 (F-II) y 12 % (F-III) (Anexo 9)
- Resultados del recuento total de microorganismos aerobios mesófilos viables; hongos filamentosos y levaduras en *lipstick* formulado en base al colorante natural obtenido de las semillas de *Bixa orellana* L. (Achiote) en la formulación al 8 (F-I), 10 (F-II) y 12 % (F-III) (Anexo 10)
- Resultados de la identificación de microorganismos patógenos a las 24, 48 y 72 horas en *lipstick* formulado en base al colorante natural obtenido de las semillas de *Bixa orellana* L. (Achiote) en la formulación al 8 (F-I), 10 (F-II) y 12 % (F-III) (Anexo 11)

3.5 Técnicas para procesamiento y análisis estadístico de la información

Los resultados hallados de los procedimientos a realizar se ordenaron en tablas y para obtener datos estadísticos descriptivos como la media y la desviación estándar se usó el paquete estadístico SPSS “*Statistical Package for Social Sciences*”

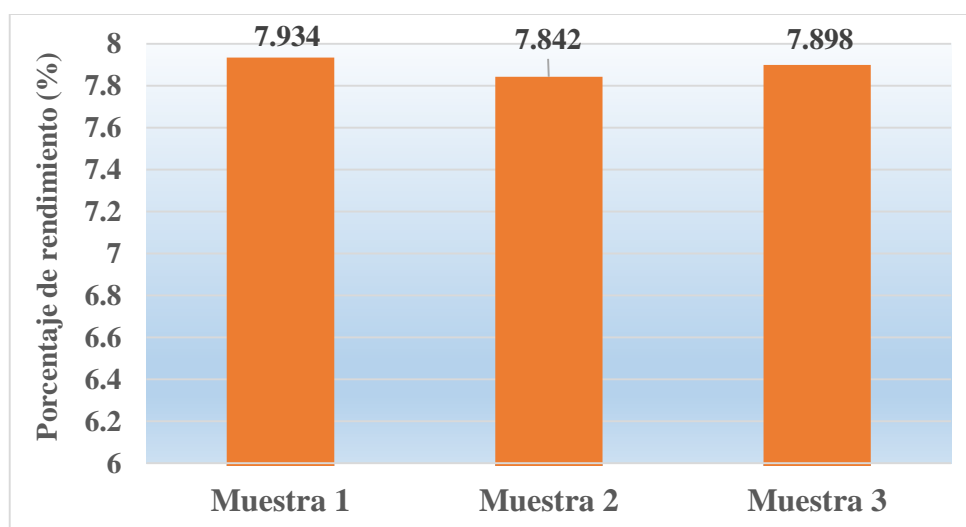
CAPÍTULO IV: ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

4.1 Resultados del porcentaje de rendimiento

Tabla 11. Resultados del porcentaje de rendimiento del colorante obtenido de las semillas *Bixa orellana* L. (Achiote) con KOH al 2 %

Muestra	Peso inicial de semillas (g)	Solución extractante	Peso de colorante obtenido (g)	Porcentaje de rendimiento
Muestra 1	100.02 g	KOH al 2%	7.936 g	7.934 %
Muestra 2	100.04 g	KOH al 2%	7.845 g	7.842 %
Muestra 3	100.01 g	KOH al 2%	7.899 g	7.898 %
Media del % de rendimiento				7.891 %
Desviación Estándar del % de rendimiento				0.046

Figura 4. Porcentaje de rendimiento del colorante obtenido de las semillas *Bixa orellana* L. (Achiote) con KOH al 2 %



Análisis e interpretación de resultados:

En vista de los resultados resumidos en la Tabla 12 se observa un promedio de 7.891 % para el porcentaje de rendimiento es decir que se extrae 7.891 g de colorante por cada 100 g de semillas

secas de achiote, el valor hallado se encuentra dentro del rango citado de 6 – 8 % además es comparable y parcialmente superior con los resultados dados por los estudios por **Nasimba G.N** (27) que fue de 7,4 g por cada 100 g de semilla utilizando KOH 2% en su extracción, en el estudio hecho por **Sánchez S.** (31) se determinó el rendimiento de tres variedades de achiote en soluciones extractoras: etanol al 40 °, etanol al 80 ° y KOH al 2% concluyendo que el mayor rendimiento de pigmentos fue de la variedad verde con KOH al 2% siendo la extracción más beneficiosa en la obtención de colorantes de *Bixa orellana* L. obteniendo rendimientos de 7,54 % - 7,80 %. otra referencia de KOH al 2% como solución extractante es el estudio de **Reyes Z.C.** (85) que ejecutó la extracción del tinte de achiote usando solventes: agua y KOH al 1, 2 y 3 % dando como resultado que el mayor rendimiento extractivo se obtuvo al usar como solvente KOH al 2% masa por volumen con un valor igual a $6,34 \pm 1,28$ %.

En la Figura 4 se resume los porcentajes de rendimiento obtenidos de la muestra 1, 2 y 3 siendo la muestra 1 con el mayor porcentaje de rendimiento seguido de la muestra 3 y finalmente la muestra 2, los datos se desvían 0.046 % en promedio con respecto a la media aritmética hallada de 7.891 % al ser la variabilidad una cifra pequeña se garantiza el control de calidad en los procesos de extracción.

4.2 Resultados del análisis de características organolépticas del colorante obtenido de las semillas de *Bixa orellana* L. (Achiote)

Tabla 12. Resultados del análisis de características organolépticas del colorante obtenido de las semillas de *Bixa orellana* L. (Achiote)

Muestra	Parámetro	Color	Olor	Sabor
Muestra 1		Rojo oscuro	Aromático característico	Característico
Muestra 2		Rojo oscuro	Aromático característico	Característico
Muestra 3		Rojo oscuro	Aromático característico	Característico

Referencia	Rojo oscuro	Aromático característico	Característico
RESULTADO FINAL	CONFORME	CONFORME	CONFORME

Análisis e interpretación de resultados:

Al analizar las tres muestras del tinte extraído de las semillas de achiote se observa que el color que presenta es rojo oscuro para la muestra 1, 2 y 3 resultando que las coloraciones obtenidas se encuentran dentro de la referencia propia del colorante de achiote cumpliendo así con la característica organoléptica de color.

El olor obtenido en las tres muestras es aromático característico resultando ser un aroma propio dado por la planta cumpliendo con la característica organoléptica de olor, finalmente el análisis de la característica organoléptica de sabor es característico para las tres muestras afirmando que se encuentra dentro de la referencia propia del colorante de achiote además se puede aseverar que el colorante obtenido de *Bixa orellana* L. es altamente aceptable al paladar gustativo por lo cual su uso en la preparación de comidas es frecuente.

El colorante en la muestra 1, 2 y 3 tiene características organolépticas de olor, color y sabor que cumplen con lo citado en la referencia bibliográfica resultando que se encuentra conforme para ser utilizado e incorporado en formulaciones farmacéuticas, cosméticas y alimenticias como lo mencionado en la investigación realizada por **Nasimba G.N** (27) donde el colorante extraído de la semillas de achiote se incorporó en formas farmacéuticas líquidas así mismo se tiene el estudio realizado por **Reyes Z.C.** (85) donde el tinte natural extraído de achiote se incorporó a una muestra de *yogurt* natural proporcionándole coloración rosada por lo que se puede usar como sustituto de un colorante rojo artificial.

4.3 Resultados de la elaboración del *lipstick* formulado en base al colorante natural obtenido de las semillas de *Bixa orellana* L. (Achiote) y compatibilidad de ingredientes

En la fase preliminar de formulación del *lipstick* se realizaron ensayos usando las materias primas propuestas en diferentes cantidades teniendo como referencia el libro *Cosmetología* de Harry de Wilkinson J.B. & Moore R.J. En base a las observaciones que se apreciaron durante

la etapa preliminar se propone tres formulaciones con características organolépticas adecuadas, apariencia homogénea sin grietas ni fisuras, fácil aplicación y adherencia conveniente entre otras características buscadas en una buena barra labial. (86)

Tabla 13. Formulación del *Lipstick*

INGREDIENTES	CANTIDAD (PORCENTAJE)		
	Formulación al 8% (F-I)	Formulación al 10% (F-II)	Formulación al 12% (F-III)
Aceite de semillas de uva	45,0	45,0	45,0
Cera de abejas	25,0	23,0	21,0
Manteca de karité	12,5	12,5	12,5
Propilenglicol	5,0	5,0	5,0
Miristato de isopropilo	2,5	2,5	2,5
Colorante obtenido de las semillas de <i>Bixa orellana</i> L. (Achiote)	8,0	10,0	12,0
Esencia de frutos rojos	c.s.	c.s.	c.s.
Sharomix 750	c.s.	c.s.	c.s.

c.s: Cantidad suficiente

Al evaluar la compatibilidad de los ingredientes en la formulación resultó normal es decir no se observó incompatibilidad física (precipitaciones, cristalizaciones, separaciones de fases, presencia de agrietamiento, presencia de espumas, etc.) u incompatibilidad química (procesos de oxido – reducción) (77), en base a estos resultados se puede proseguir con los ensayos en la investigación ya que las formulaciones presentan convenientes características.

Se utiliza el aceite de semillas de uva como alternativa al aceite de ricino, en los ensayos preliminares el fuerte olor de este fue complicado de enmascarar por lo cual se usó un aceite de origen vegetal que aporta emoliencia, adherencia, extensibilidad, brillo, olor agradable y una adecuada dispersión del colorante por ser de naturaleza lipofílica. (17)

Cabe destacar la importancia de conseguir una adecuada dispersión del colorante con el fin de obtener una coloración aceptable y persistente, por lo cual la mayoría de esfuerzos y empeño en la preparación de este tipo de productos cosméticos se direccionan a una conveniente incorporación y aplicación del colorante. (5)

La cera de abeja tiene como principal función conferir dureza y un punto de fusión adecuado, así como facilitar el moldeado de la barra labial, la manteca de karité proporciona características de adherencia, mejora la lubricación, suavidad y retiene la humedad evitando la resequedad. (13,17)

La cantidad de colorante de *Bixa orellana* L. (Achiote) incorporado en las formulaciones propuestas fue del 8, 10 y 12 % en diferentes estudios se señala que el porcentaje de extractos de pigmentos naturales a usar en este tipo de formulaciones es de 4 – 12 % lo cual se corrobora en el estudio realizado por **Salvatierra K.M. & Villa C.J**, en el año 2019 desarrollaron un lápiz labial para uso cosmético a partir del fruto de mullaca incorporando 10 % del extracto en la formulación (17) también se tiene el estudio realizado por **Aher et al** donde se evaluaron 4 formulaciones de lápiz labial herbal usando como tinte natural el extracto metanólico de achiote en porcentajes de 6, 16, 10 y 12 % resultando que la formulación al 10 % es óptima por la uniformidad de color y el análisis fisicoquímico adecuado (16), en su investigación de **Varas et al** propuso una formulación usando el colorante en concentración de 12 % teniendo resultados favorables en el control de calidad. (87)

El miristato de isopropilo es un alcohol graso (éster de alcohol isopropílico y ácido mirístico) con grandes cualidades emolientes actúa restaurando y protegiendo la mucosa labial que al ser carente de estrato córneo es sensible a sufrir lesiones, además posee resistencia a la oxidación evitando el enranciamiento y sirve como conservante. (71,87)

El propilenglicol aporta hidratación y tiene efecto emoliente evitando la acción de los agentes irritantes, tiene una viscosidad inferior que la glicerina y puede utilizarse en fórmulas magistrales para acelerar la absorción de sustancias activas. (71)

La cantidad de esencia de frutos rojos es mínima ya que al utilizar el aceite de semilla de uvas no se tiene la necesidad de contrarrestar el fuerte olor del aceite de ricino, es así que al mezclarse con el aroma propio del colorante de achiote desprende un olor muy agradable aceptado entre los consumidores.

El uso de conservante es de suma importancia dentro de la formulación, los labios al carecer de glándulas sudoríparas y sebáceas dificultan la hidratación lo cual puede aumentar el crecimiento de microorganismos, se usó el conservante sharomix 750 que es una mezcla de ácidos como el dehidroacético, el benzoico o el sórbico en alcohol bencílico, destaca por su amplia acción antimicrobiana por lo cual se usa en mínima proporción la cual complementa su acción con el miristato de isopropilo con características preservantes. (87)

4.4 Resultados del análisis organoléptico del *lipstick* formulado en base al colorante natural obtenido de las semillas de *Bixa orellana* L. (Achiote)

Tabla 14. Resultados del análisis organoléptico del *lipstick* formulado en base al colorante natural obtenido de las semillas de *Bixa orellana* L. (Achiote) en la formulación al 8 (F-I), 10 (F-II) y 12 % (F-III)

Parámetro / Muestra	Homogeneidad	Olor	Uniformidad de color	Adherencia
Formulación al 8%	Homogéneo	Agradable	Buena	Buena
Formulación al 10%	Homogéneo	Agradable	Buena	Buena
Formulación al 12%	Homogéneo	Agradable	Buena	Buena
RESULTADO FINAL	CONFORME	CONFORME	CONFORME	CONFORME

Análisis e interpretación de resultados:

En la Tabla 14 se detalla los datos obtenidos del estudio organoléptico del *lipstick* formulado en base al tinte natural achiote en las tres formulaciones propuestas a las concentraciones de 8,

10 y 12 %. Los indicadores a analizar fueron: Homogeneidad, olor, uniformidad de color y adherencia.

De los resultados obtenidos podemos afirmar que las formulaciones muestran un aspecto homogéneo, las tres muestras presentan olor agradable el cual es la primera señal de calidad y buena aceptación por parte del consumidor lo cual se atribuye al aroma propio del colorante, al uso del aceite de semilla de uvas y la esencia de frutos rojos, así mismo presenta color uniforme donde los pigmentos se encuentran dispersos en su totalidad y se adhieren firmemente a la superficie de los labios. (9)

En base a lo mencionado se puede inferir que las tres formulaciones cumplen con los requisitos exigidos por el control de calidad organoléptico, el producto al tener un aspecto homogéneo, olor agradable, buena uniformidad de color y buena adherencia es conforme con las características organolépticas adecuadas para una barra labial por lo cual se puede continuar con los ensayos de control de calidad posteriores, además se resalta que la formulación al 10% presenta características organolépticas agradables y mejor aceptación.

Varghese et al en su investigación indica que una barra de labios ideal debe tener las siguientes cualidades: ser suave y fácil de aplicar, tener un color y un brillo bonito, no tener grietas, tener un olor y sabor agradable. (86)

4.5 Resultados del análisis fisicoquímico del *lipstick* formulado en base al colorante natural obtenido de las semillas de *Bixa orellana* L. (Achiote)

Tabla 15. Resultados del análisis fisicoquímico del *lipstick* formulado en base al colorante natural obtenido de las semillas de *Bixa orellana* L. (Achiote) en la formulación al 8% (F-I), 10% (F-II) y 12 % (F-III)

Parámetro	pH	Densidad	Punto de fusión
Muestra			
Formulación al 8%	6.3	0.923 g/mL	53.7 °C
Formulación al 10%	6.4	0.929 g/mL	55.5 °C
Formulación al 12%	6.3	0.937 g/mL	52.9 °C
Media	6.33	0.929 g/mL	54.03 °C

Desviación estándar	0.058	0.007	1.332
Valores de referencia	>3 - <10	<1g/ mL	42°C a 55°C
RESULTADO FINAL	CONFORME	CONFORME	CONFORME

Figura 5. pH del *lipstick* formulado en base al colorante natural obtenido de las semillas de *Bixa orellana* L. (Achiote) en la formulación al 8 % (F-I), 10 % (F-II) y 12 % (F-III)

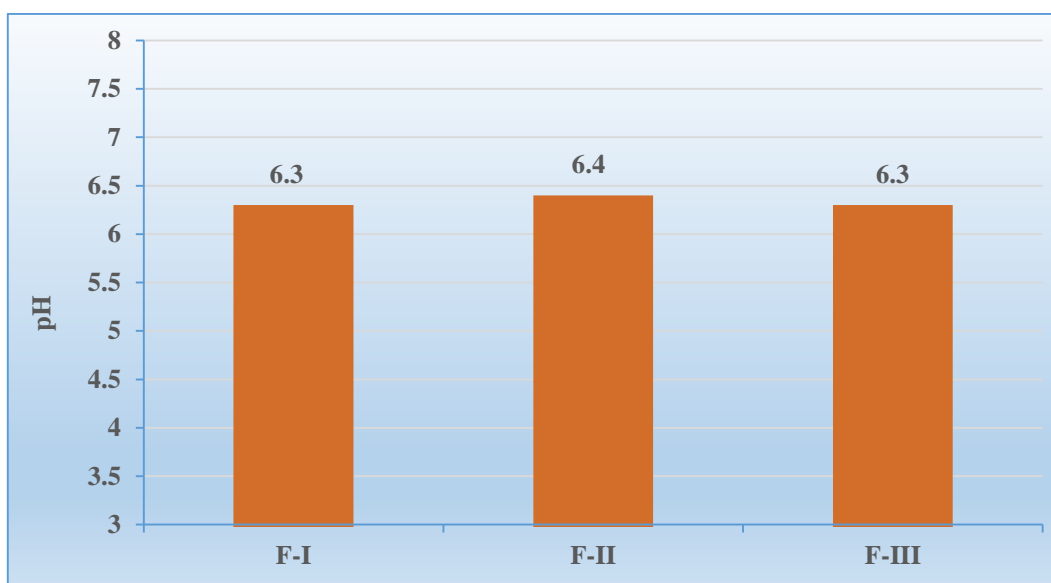


Figura 6. Densidad del *lipstick* formulado en base al colorante natural obtenido de las semillas de *Bixa orellana* L. (Achiote) en la formulación al 8 % (F-I), 10 % (F-II) y 12 % (F-III)

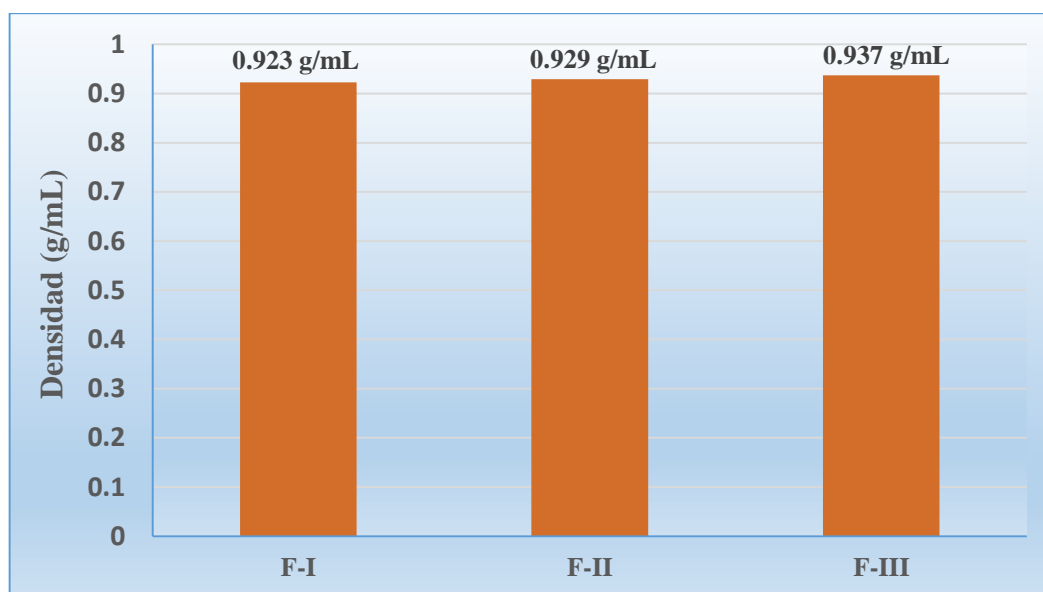
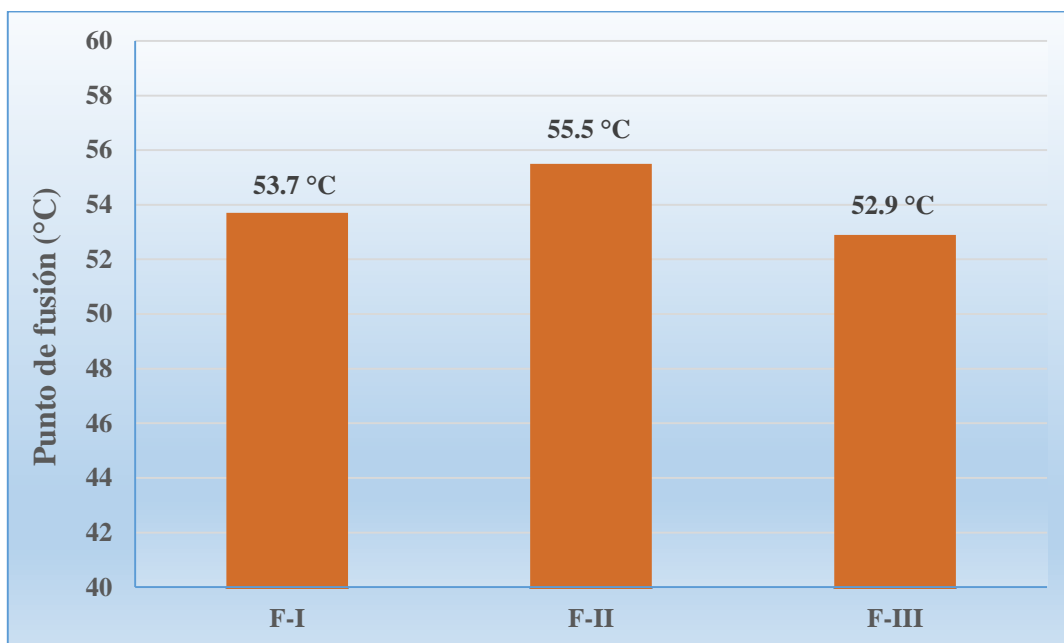


Figura 7. Punto de fusión del *lipstick* formulado en base al colorante natural obtenido de las semillas de *Bixa orellana* L. (Achiote) en la formulación al 8 % (F-I), 10 % (F-II) y 12 % (F-III)



Análisis e interpretación de resultados:

En la Tabla 15 se describe los datos obtenidos del examen fisicoquímico del *lipstick* formulado en base al colorante natural obtenido de achiote en las tres formulaciones propuestas se analizaron parámetros como: pH, densidad y punto de fusión.

En la Figura 5 se observa el pH obtenido por la formulación II de 6.4 es mayor frente a la formulación I y III que tienen un pH de 6.3, el valor promedio de pH es de 6.33 que se encuentra dentro del valor referencial de $>3-<10$ que se menciona en la investigación realizada por **Salvatierra K.M. & Villa C.J.** (17) los datos obtenidos de la formulación I, II y III para el parámetro pH se alejan en promedio 0.058 con respecto a la media aritmética de 6.33.

Cabe destacar la importancia de el pH en los productos cosméticos ya que al aplicarlo se busca mantener el pH de la parte del cuerpo donde se aplica evitando se vea alterada, en otras investigaciones se refiere que el pH de un lápiz labial fluctúa de 5 – 7 (17,77) en la estudio realizado por **Aher et al**, se evaluaron 4 formulaciones de lápiz labial herbal obteniendo un pH promedio de 6.5 resultando favorable por tener un pH parecido al de la piel de los labios (16)

Varas et al en el año 2021 desarrolló una barra labial con un pH de 5.5/0.5 valor que se encuentra dentro del rango aceptable y además se resalta la importancia de tener un valor adecuado ya que tener un valor alejado del rango normal puede conllevar alergias e irritaciones. (87)

En la Figura 6 se observa mayor densidad en la formulación III (0.937 g/mL) seguida de la formulación II (0.929 g/mL) y la formulación I (0.923 g/mL), el promedio de densidad de las tres formulaciones de *lipstick* es de 0.929 g/mL aceptado dentro del límite de <1g/mL valor que se puede comparar con el hallado en la investigación realizada por **Salvatierra K.M. & Villa C.J.** donde se obtuvo una densidad promedio de 0.924 g/mL para el lápiz labial de *Vaccinium floribundum Kunth* (17), los datos hallados se desvían 0.007 en promedio con respecto a la media de 0.929 g/mL siendo la variabilidad pequeña se garantiza la calidad del producto y el control de los procesos.

En la Figura 7 se tiene los datos de punto de fusión para la formulación II es de 55.5 °C, para la formulación I es de 53.7 °C y finalmente para la formulación III es de 52.9 °C, la media del punto de fusión de las tres formulaciones es de 54.03 °C que se encuentra dentro del límite de aceptación dado de 42°C – 55°C, un punto de fusión admisible es mayor a 50°C para así evitar se derrita con facilidad en presencia de calor y así evitar alteraciones de las características fisicoquímicas de la barra labial, los datos de punto de fusión tienen una desviación estándar de 1.332 con respecto al promedio de 54.03 °C lo cual se puede atribuir al método usado que al ser completamente manual puede conllevar algún tipo de error por parte del investigador lo cual no influye en la naturaleza del producto ya que los datos obtenidos están en el rango aceptable para la forma cosmética. (17)

Salvatierra K.M. & Villa C.J. al realizar el control de calidad al lápiz labial de uso cosmético que desarrolló en base el extracto del fruto de mullaca obtuvo un punto de fusión promedio de 52.333 °C y una desviación estándar a tiempo 0 de 0.577 y a tiempo de 2 meses un valor de 1.000. (17) así mismo **Varas et al** elaboró una barra labial para uso cosmético a base de *Gaultheria glomerata* (Cav.) Sleumer obteniendo un punto de fusión de 45.2 °C/0.1 °C lo cual se asocia a la consistencia adecuada de la barra labial en climas cálidos un punto de fusión bajo puede exhibir inestabilidad en el producto durante su reserva. (87)

Las tres formulaciones son conformes al cumplir con los parámetros exigidos por el control de calidad fisicoquímico de productos cosméticos terminados obteniendo valores que se encuentran dentro de la referencia citada.

4.6 Resultados del análisis microbiológico del *lipstick* formulado en base al colorante natural obtenido de las semillas de *Bixa orellana* L. (Achiote)

Tabla 16. Resultados del recuento total de microorganismos aerobios mesófilos viables; hongos filamentosos y levaduras en *lipstick* formulado en base al colorante natural obtenido de las semillas de *Bixa orellana* L. (Achiote) en la formulación al 8 % (F-I), 10 % (F-II) y 12 % (F-III)

Muestra	Análisis			
	Recuento total de microorganismos aerobios mesófilos viables		Recuento total de hongos filamentosos y levaduras	
	3 días	5 días	5 días	7 días
F – I				
M001	< 5x10 ² UFC/g	< 5x10 ² UFC/g	< 1 x10 ² UFC/g	< 1 x10 ² UFC/g
M002	< 5x10 ² UFC/g	< 5x10 ² UFC/g	< 1 x10 ² UFC/g	< 1 x10 ² UFC/g
M003	< 5x10 ² UFC/g	< 5x10 ² UFC/g	< 1 x10 ² UFC/g	< 1 x10 ² UFC/g
F – II				
M001	< 5x10 ² UFC/g	< 5x10 ² UFC/g	< 1 x10 ² UFC/g	< 1 x10 ² UFC/g
M002	< 5x10 ² UFC/g	< 5x10 ² UFC/g	< 1 x10 ² UFC/g	< 1 x10 ² UFC/g
M003	< 5x10 ² UFC/g	< 5x10 ² UFC/g	< 1 x10 ² UFC/g	< 1 x10 ² UFC/g
F – III				
M001	< 5x10 ² UFC/g	< 5x10 ² UFC/g	< 1 x10 ² UFC/g	< 1 x10 ² UFC/g
M002	< 5x10 ² UFC/g	< 5x10 ² UFC/g	< 1 x10 ² UFC/g	< 1 x10 ² UFC/g
M003	< 5x10 ² UFC/g	< 5x10 ² UFC/g	< 1 x10 ² UFC/g	< 1 x10 ² UFC/g
ESPECIFICACIÓN	< 5x10 ² UFC/g		< 1x10 ² UFC/g	
RESULTADO FINAL	CONFORME	CONFORME	CONFORME	CONFORME

Análisis e interpretación de resultados:

En cuanto al recuento total de microorganismos aerobios mesófilos viables en el *lipstick* formulado en base al tinte natural obtenido de las semillas de *Bixa orellana* L. (Achiote) en las tres muestras de las tres formulaciones propuestas (F- I, F- II y F- III) resumidos en la Tabla 16 no se evidencia crecimiento de estos a los 3 días ni a los 5 días afirmando que cumple con las especificaciones dadas por la Resolución N° 2120 que indica que para el recuento total de microorganismos aerobios mesófilos viables acepta como máximo 5×10^2 UFC/g o mL.

El recuento de hongos filamentosos y levaduras en *lipstick* formulado en base al tinte natural obtenido de las semillas de *Bixa orellana* L. (Achiote) en las tres muestras de las tres formulaciones propuestas (F- I, F- II y F- III) no se evidenció crecimiento de estos a los 5 días ni a los 7 días concluyendo así que cumple con las especificaciones dadas por la Resolución N°2120 que indica que para el recuento de hongos filamentosos y levaduras acepta como máximo 1×10^2 UFC/g o mL.

Un recuento por encima de los límites establecidos se puede deber a la contaminación de los ingredientes usados en el cosmético, del producto terminado, la contaminación del medio de cultivo o de los materiales usados por lo cual durante el procedimiento se incluyó una muestra con el medio de cultivo a usar sin la muestra a examinar con el fin de evidenciar o descartar contaminación en el medio de cultivo, así como en los materiales empleados.

Cambios en la apariencia de los cosméticos puede evidenciar la presencia de microorganismos ya sea en el aspecto, color, olor, puede ser signo de alarma que pone en riesgo la salud del consumidor por lo cual se deben contar con medidas de inocuidad durante todo el proceso de fabricación, envasado, almacenaje del producto final así mismo cabe destacar la importancia del uso de conservantes en formulaciones cosméticas, al tener dentro de la formulación de barras labiales ingredientes que podrían ser surtidor de nutrientes para bacterias, hongos y levaduras, su incorporación se dará con el fin de prevenir contaminación microbiana. (13)

Tabla 17. Resultados de la identificación de microorganismos patógenos a las 24, 48 y 72 horas en *lipstick* formulado en base al colorante natural obtenido de las semillas de *Bixa orellana* L. (Achiote) en la formulación al 8 % (F-I), 10 % (F-II) y 12 % (F-III)

Muestra	Análisis								
	Identificación de <i>Staphylococcus aureus</i>			Identificación de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>			Identificación de <i>Escherichia coli</i>		
	24 horas	48 horas	72 horas	24 horas	48 horas	72 horas	24 horas	48 horas	72 horas
F – I									
M001	-	-	-	-	-	-	-	-	-
M002	-	-	-	-	-	-	-	-	-
M003	-	-	-	-	-	-	-	-	-
F – II									
M001	-	-	-	-	-	-	-	-	-
M002	-	-	-	-	-	-	-	-	-
M003	-	-	-	-	-	-	-	-	-
F – III									
M001	-	-	-	-	-	-	-	-	-
M002	-	-	-	-	-	-	-	-	-
M003	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ESPECIFICACIÓN	Ausencia			Ausencia			Ausencia		
RESULTADO FINAL	CONFORME			CONFORME			CONFORME		

Lectura: (-) Ausencia de crecimiento

Análisis e interpretación de resultados:

En la Tabla 17 se describe los datos hallados en la identificación de microorganismos patógenos en *lipstick* formulado en base al tinte natural obtenido de las semillas de achiote en las tres

muestras analizadas de las tres formulaciones propuestas (F-I, II y III) tomando como referencia para su identificación las propiedades propias de las colonias de estos microorganismos (forma, color, aspecto, borde, etc.). (13)

En la investigación no se evidenció el crecimiento de microorganismos patógenos como: *Staphylococcus aureus*, *Pseudomona aeruginosa* y *Escherichia coli* a las 24 horas, 48 horas y 72 horas afirmando que cumple con lo especificado en la Resolución N°2120.

Durante el procedimiento se incluyó una muestra con el medio de cultivo a usar sin la muestra a examinar con el fin de evidenciar o descartar contaminación en el medio de cultivo, así como en los materiales empleados.

Staphylococcus aureus es un bacilo Gram-positivo de forma esférica que se presenta en pares, cadenas cortas o en racimos (13) se distribuye en todo el ambiente creciendo con facilidad a una temperatura de 37 °C y localizado incluso en la piel humana, su ausencia evidencia que el producto analizado se elaboró en condiciones estériles adecuadas para su uso y comercialización. (87)

Pseudomona aeruginosa es una bacteria gramnegativa oportunista que no necesita de condiciones adecuadas de temperatura para crecer, distribuida ampliamente en el ambiente su ausencia descarta cualquier tipo de contaminación y garantiza la inocuidad de las muestras analizadas (87), la infección producida por esta bacteria se diferencia por formar pus de color azul verdoso se evidencia frecuentemente en nadadores con otitis externa leve, septicemia con necrosis hemorrágica de piel denominada ectima gangrenosa, etc. (13)

Escherichia coli es una bacteria coliforme que coloniza el tracto gastrointestinal, la determinación de este patógeno es de alta importancia ya que la no presencia de este microorganismo asegura un cosmético de calidad y su presencia suele significar que hubo contaminación fecal (13,87), al ser parte de la flora normal del huésped es inocuo no obstante se puede adquirir infecciones al consumir alimentos o agua contaminada con esta bacteria como diarrea del viajero, diarrea hemorrágica, insuficiencia renal y muerte en huéspedes con sistema inmune decaído. (13)

Las muestras estudiadas cumplen con las especificaciones establecidas en la Resolución N°2120 sobre la ausencia de *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Escherichia coli* en las barras de labios analizadas.

CONCLUSIONES

1. Los *lipstick* elaborados en base al colorante natural extraído de las semillas de *Bixa orellana* L. (Achiote) en las concentraciones 8 %, 10 % y 12 % cumplen con los parámetros exigidos en el control de calidad organoléptico, fisicoquímico y microbiológico de acuerdo a la USP 43 NF 38 y la Resolución N° 2120: Reglamento Técnico Andino sobre Especificaciones Técnicas Microbiológicas de Productos Cosméticos.
2. La recolección, identificación, selección y secado de las semillas de *Bixa orellana* L. (Achiote) permitió la correcta extracción del colorante natural con solución de hidróxido de potasio al 2 %.
3. El porcentaje de rendimiento del colorante natural extraído de las semillas de *Bixa orellana* L. (Achiote) tuvo un valor de 7,891 % que se encuentra dentro del rango propuesto de 6 – 8 % y presentó características organolépticas conforme a la referencia citada: color rojo oscuro, olor aromático característico y sabor característico.
4. Se elaboró un *lipstick* formulado en base al colorante natural extraído de las semillas de *Bixa orellana* L. (Achiote) a concentraciones de 8 %, 10 % y 12 % denominado formulación I, II y III respectivamente concluyendo que la formulación al 10 % tuvo características organolépticas adecuadas.
5. El control de calidad organoléptico del *lipstick* formulado en base al colorante natural extraído de las semillas de *Bixa orellana* L. (Achiote) presentó características conformes: superficie homogénea, olor agradable, buena uniformidad y adherencia.
6. En el análisis fisicoquímico del *lipstick* formulado en base al colorante natural extraído de las semillas de *Bixa orellana* L. (Achiote) se obtuvo valores promedio de: pH: 6.33, densidad: 0.929 g/mL y punto de fusión: 54.03 °C que se encuentran dentro de los rangos de referencia.
7. En el control de calidad microbiológico (recuento total de microorganismos aerobios mesófilos, hongos filamentosos y levaduras e identificación de microorganismos patógenos: *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Escherichia coli*) no se evidenció el crecimiento de microorganismos en el *lipstick* formulado en base al colorante natural extraído de las semillas de *Bixa orellana* L. (Achiote) cumpliendo con las especificaciones dadas por la USP 43 NF 38 y la Resolución N° 2120: Reglamento Técnico Andino sobre Especificaciones Técnicas Microbiológicas de Productos Cosméticos.

SUGERENCIAS

A las autoridades del Ministerio de Salud, se sugiere:

- Promover el papel del Químico Farmacéutico como el único profesional encargado del desarrollo, formulación, elaboración, producción, así como el control de calidad de los productos cosméticos, siendo el único profesional del campo de la salud idóneo para abarcar el área de productos medicinales y cosméticos. (13)
- Ejecutar inspecciones permanentes a los lugares que expendan productos cosméticos de origen natural con el objeto de afianzar la calidad e inocuidad de estos.

A las autoridades de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco, se recomienda:

- Promover la investigación de plantas medicinales y su aplicación en la industria farmacéutica, alimentaria, cosmética con el fin de ir modernizar e innovar las formulaciones existentes.
- Promocionar la elaboración de trabajos monográficos e investigaciones que impulse el conocimiento sobre el cumplimiento de los parámetros exigidos en el control de la calidad de los cosméticos.
- Fomentar campañas de proyección social sobre la comercialización de los productos naturales desde el producto primario, en proceso y terminado para fortalecer la economía local y proveer de conocimientos a la comunidad.

A los estudiantes e investigadores, se aconseja:

- Realizar estudios sobre las propiedades que presentan principios activos de achiote como la bixina y norbixina, así como su empleo en la industria.

BIBLIOGRAFÍA

1. Ayala Jara C.I., Castillo Saavedra E.F., Alfaro Avalos K.Y., Seclén Ayala L.E. Desarrollo de un tinte cosmético a base de semilla de *Bixa orellana* L. (Bixaceae) y evaluación de su efecto in vitro. *Sci Agropecu.* 2018;9 número 1:133-41.
2. Bruneton J. *Farmacognosia. Fitoquímica. Plantas medicinales. Segunda.* Editorial Acribia, editor. 2001. 1120 p.
3. Mejía K., Rengifo E. *Plantas Medicinales de Uso Popular en la Amazonía Peruana. Segunda.* Lima; 1995. 286 p.
4. Mosquera Tayupanta T. *La investigación en la cosmética natural.* Editor Univ Abya-Yala Quito Ecuador. 2015;108.
5. Bonet R., Garrote A. *Cosmética labial protección y embellecimiento.* OFFARM. 2007;74-8.
6. Arévalo Fernández JA. *Plan de negocios para la creación de un labial de origen natural denominado "ECOLIPSTICK" En la ciudad de Villavicencio–Meta.* Universidad Santo Tomás; 2019.
7. Wilkinson J.B., Moore R.J. *Barras de labios.* En: DÍAZ DE SANTOS SA, editor. *Cosmetología de Harry.* 1990. p. 351-71.
8. Volonté M.G., Quiroga P. *Análisis farmacéutico. Primera.* Plata E de la U de La, editor. Buenos Aires; 2013. 350 p.
9. Fernández Mariños C.A., Ponce de León Sánchez F.V. «Control de calidad organoléptica y físico-química de lápices labiales comercializados en el centro cívico de la ciudad de Trujillo». *Universidad Nacional de Trujillo*; 2008.
10. Instituto nacional de salud. *Medicina Tradicional [Internet].* Disponible en: <https://web.ins.gob.pe/es/salud-intercultural/medicina-tradicional>
11. Instituto nacional de salud. *Plantas Medicinales [Internet].* Disponible en: <https://web.ins.gob.pe/es/salud-intercultural/plantas-medicinales>
12. Korol S., Fortunato M.S., Malacalza M.C., D'Aquino M. *Biodegradación de efluentes líquidos de la industria cosmética.* *Acta Farm Bonaer.* 1995;14, número:249-55.
13. Aguirre Andino D.S., Blanco Andrade L.Y., Cisneros Reyes C del R, Herrera G.M. *Evaluación de la calidad microbiológica de lápices labiales líquidos de uso cosmético, por límite microbiano comercializados en canastos del mercado oriental, Managua, Nicaragua. Octubre – noviembre 2018.* Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua, León; 2019.
14. Departamento de inteligencia de mercado. *Tendencias mundiales de la línea cosmética y cuidado personal.* 2018.
15. Nadinic J. *Fitocosméticos más productos con ingredientes naturales.* *Safybi.* 2009;54-7.

16. Aher A.A., Bairagi S.M., Kadaskar P.T., Desai S., Nimase P.K. Formulation and evaluation of herbal lipstick from colour pigments of *Bixa orellana* (Bixaceae) seeds. *Int J Pharm Pharm Sci.* 2012;4(5):357-9.
17. Salvatierra Paulo K.M., Villa Ruiz C.J. Desarrollo de un lápiz labial del extracto del fruto de *Vaccinium floribundum* Kunth para uso cosmético. Universidad Nacional de Trujillo; 2019.
18. Lopez Luengo M.T. Higiene corporal y fitoterapia. *Farm Prof.* 2009;23(6):56-9.
19. Zavala Toscano C.A. Elaboración de un Fitocosmético, lápiz labial con propiedad Hidratante y Antiherpéticas con extractos de Amor Seco (*Bidens pilosa*) y aroma de Café (*Coffea arabica*). Escuela Superior Politécnica de Chimborazo; 2015.
20. Rivas Valencia I. Caracterización del lápiz labial por técnicas analíticas instrumentales. Instituto Politécnico Nacional; 2007.
21. Cermeño León P.J. Diseño de productos de cuidado personal y bienestar de uso práctico basados en plantas medicinales locales, fabricados en serie y destinados a un público no-local en el Perú. Pontificia Universidad Católica del Perú; 2019.
22. Acero Chávez J.L. Planeamiento de costos de productos nuevos mediante programación lineal y MPR: Aplicación a la industria cosmética. Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2009.
23. Castro Méndez I. Novedades de la Medicina Tradicional Herbolaria. *Rev Cuba Plantas Med.* 2006;11 número.
24. Alegria S. Evaluación de la actividad cicatrizante, en ratas albinas, de la combinación de los preparados galénicos de *Bixa orellana* L. (Achiote), *Ocimum campechanum* Mill. (Albahaca de monte) y *Aloe vera* L. (Sábila) / Evaluation of the cicatrizant activity, in albi. Universidad de San Carlos de Guatemala; 2107.
25. Meñaca E.V., Restrepo J., Colmenares A.J. Antioxidant activity of the inclusion complex of *bixa orellana* seeds extract in β -cyclodextrin obtained by supercritical CO_2 . *Rev Vitae.* mayo de 2018;25(2):83-91.
26. Sepúlveda C.T., Zapata J.E. Efecto de la Temperatura, el pH y el Contenido en Sólidos sobre los Compuestos Fenólicos y la Actividad Antioxidante del Extracto de *Bixa orellana* L. *Inf Tecnológica.* octubre de 2019;30(5):57-66.
27. Nasimba Caiza G.N. Extracción de colorantes en *Bixa orellana* L. (achiote) y su aplicación en formas farmacéuticas líquidas. Universidad Central del Ecuador; 2016.
28. Barreno Rosero R.M. "Diseño de un proceso para la obtención de colorantes naturales a partir de achiote (*bixa orellana*), chonta (*bactris gasipaes*) y papaya hawaiana (*carica papaya* l.) En seco y húmedo." Escuela Superior Politécnica de Chimborazo; 2020.
29. Rojas R., Doroteo V.H., Diaz C., Vaisberg A., Neira M., Terry C. Actividad antioxidante, Anti-elastasa, Anticolagenasa, protectora contra rayos UV-B, promotora de síntesis de

- colágeno in vitro y estudios de seguridad/eficacia de extractos de Bixa orellana (Achiote) y *Oenothera rosea* (Chupasangre). Universidad Peruana Cayetano Heredia; 2013.
30. Yarin Carrizales CA. Actividad antioxidante in vitro y fotoprotectora in vivo del extracto hidroalcohólico de semillas de Bixa orellana L. “achiote” y elaboración de una forma dermocosmética. Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2019.
 31. Sánchez Sánchez S. Extracción de bixina de tres variedades de achiote (Bixa orellana L.) utilizando tres solventes. Universidad Nacional de San Martín; 2019.
 32. Bocanegra Huanaquiri J.P., Chavez Gonzales X.A., Flores Villanueva A.Z. Estudio de pre-factibilidad para la elaboración y comercialización de bálsamo labial a base de achiote. Universidad San Ignacio del Loyola; 2019.
 33. Colque Arce G. Evaluación de la capacidad fotoprotectora, determinación del FPS e irritación primaria en piel de ratones de una crema elaborada con el extracto etanólico al 96% de las semillas de Bixa Orellana (Achiote). Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco; 2019.
 34. Coto Royo L., Arce Portuguez J. Bibliografía sobre achiote (Bixa orellana L.): parcialmente anotada. CATIE Ser Bibliotecol Doc. 1984;12:66.
 35. Badui Dergal S. Química de los alimentos. Cuarta. Educación p, editor. México; 2006. 738 p.
 36. Arce Portuguez J. Recomendaciones para el cultivo del achiote (Bixa orellana). CATIE Programa Mejor Cultiv Trop. 1990;72.
 37. Chaparro M.P., Paredes M.J., Díaz B., Hoyos V.E., Ninco A. Sustitución de colorante artificial por natural en conservas de cereza marrasquino. Rev Asoc Colomb Cienc Tecnol Aliment. 2010;19 número:11.
 38. Huamán Hurtado V. El achiote (bixa orellana) producción, obtención del colorante, aplicación en los alimentos. Universidad Nacional de Educación Enrique Guzmán y Valle; 2018.
 39. Gonzales Coral A. Colección y mantenimiento de germoplasma de achiote (bixa orellana l.) en la amazonia peruana. Inst Investig Amazon Peru - IIAP. 1992;4 número 1:49-63.
 40. Ortiz Ortegón M.A., Lozano Matiz N.A., Ochoa Espitia A.K. Derivados del achiote: oportunidad de acceso al mercado cosmético en Alemania, Reino Unido y Francia. Universidad de La Salle, Bogotá; 2018.
 41. Escuadra Tiparra A., Vásquez García M.A. Estrategias comerciales para incrementar las exportaciones de achiote con destino a Estados Unidos en la empresa Food Export Norte S.A.C., 2018. Universidad de San Martín de Porres; 2018.
 42. Pieroni A., Quave C.L., Villanelli M.L., Mangino P., Sabbatini G., Santini L., et al. Ethnopharmacognostic survey on the natural ingredients used in folk cosmetics, cosmeceuticals and remedies for healing skin diseases in the inland Marches, Central-Eastern Italy. J Ethnopharmacol. 2004;91(2-3):331-44.

43. Campos Chisté R., Zerlotti Mercadante A., Gómez A., Fernández E., Fontes da Costa Lima J.L., Bragagnolo N. Capacidad de eliminación in vitro de extractos de semillas de achiote frente a especies reactivas de oxígeno y nitrógeno. *ELSEVIER*. 2011;127(2):419-26.
44. Lourido Pérez H de la C., Martínez Sanchez G. La Bixa orellana L. en el tratamiento de afecciones estomatológicas, un tema aún por estudiar. *Rev Cuba Farm*. 2010;44(2):231-44.
45. Linneo C. Von. *Tropicos*. 1995. Bixa orellana L.
46. Villar López M. Manual de fitoterapia. Seguro Soc Salud ESSALUD. 2001;
47. Instituto de Investigaciones de la Amazonía Peruana. Cultivo de las plantas medicinales [Internet]. Disponible en: <http://www.iiap.org.pe/Upload/Publicacion/CDinvestigacion/IIAP/iiap2/CapituloIII-01.htm>
48. Cordero J., Boshier D.H. Árboles de Centroamérica. Bib. Orton IICA/CATIE, editor. Turrialba - Costa Rica; 2003. 1054 p.
49. Hagiwara A., Imai N., Ichihara T., Sano M., Tamano S., Aoki H., et al. A thirteen-week oral toxicity study of annatto extract (norbixin), a natural food color extracted from the seed coat of annatto (*Bixa orellana* L.), in Sprague–Dawley rats. *Food Chem Toxicol*. agosto de 2003;41(8):1157-64.
50. Ingles W.A., Whisman B.A., Goetz D.W., Ramírez D.A. Anafilaxia por colorante annatto: reporte de un caso. 1991;66(2).
51. Narváez V.E., Mena Palacios C.E. Aislamiento y caracterización por espectroscopia visible e infrarroja del colorante del achiote (*Bixa orellana*). Pontif Univ Católica Ecuad. 2015;
52. Yovera Sirlupú V.P. Efecto antioxidante del extracto hidroalcohólico de hojas de Bixa orellana (Achiote) en *Rattus rattus* var. *Albinus* con hepatotoxicidad inducida. Universidad Católica Los Angeles Chimbote; 2019.
53. Guimet Rojas R. Evaluación de la actividad antioxidante y determinación de polifenoles totales in vitro, de las hojas de ocho morfotipos de Bixa orellana L. Universidad Nacional de la Amazonia Peruana; 2012.
54. Gonzales Madariaga Y., Porta Aponte T., Méndez Triana R., Blanco Machado F. Estudio de irritación dérmica primaria en piel lesionada tras exposición a un extracto alcohólico de bixa orellana lin. *LILACS*. 2003;16.
55. Galindo-Cuspinera V., Rankin S.A. Bioautography and Chemical Characterization of Antimicrobial Compound(s) in Commercial Water-Soluble Annatto Extracts. *J Agric Food Chem*. 1 de abril de 2005;53(7):2524-9.
56. Sanchez Alvarez V.A. Obtención de un extracto acuoso con propiedad hipoglucemiante a partir de las semillas del Achiote (*bixa orellana* linn) para el tratamiento de la Diabetes, Machala 2014. Universidad Técnica de Machala; 2015.

57. Júnior A.C., Asad L.M., Oliveira E.B., Kovary K., Asad N.R. Potencial antigenotóxico y antimutagénico de un pigmento de achiote (norbixina) contra el estrés oxidativo. *Genet Mol Res.* 2005;4(1):94-9.
58. Bautista Gamarra L.P., Bautista Gamarra, L.P. Eficacia del Achiote en la Elaboración de Pastillas Reveladoras de Placa Bacteriana Frente a la Pastilla Común de Eritrosina E-127 en Adolescentes de 1-5º Año de Secundaria de la IE FAP Cesar Faura Goubet, La Joya, Arequipa 2016. Universidad Católica de Santa María; 2017.
59. Levy L.W., Regalado E., Navarrete S., Watkins R.H. Bixin and Norbixin in Human Plasma: Determination and Study of the Absorption of a Single Dose of Annatto Food Color. *The Analyst.* 1997;122(9):977-80.
60. Zegarra L., Vaisberg A., Loza C., Aguirre R.L., Campos M., Fernandez I., et al. Double-blind randomized placebo-controlled study of bixa orellana in patients with lower urinary tract symptoms associated to benign prostatic hyperplasia. *Int Braz J Urol.* agosto de 2007;33(4):493-501.
61. Rodríguez Perales M.A., Saynes Marín F.J., Hernández Valencia G. *Otorrinolaringología y cirugía de cabeza y cuello.* Mc Graw Hill, editor. Mexico; 2009. 759 p.
62. Calderon Flores E.J. Anatomía de los labios y de la región perioral [Internet]. 2011. Disponible en: <https://es.slideshare.net/edwin140260/anatomia-de-los-labios-y-de-la-region-perioral>
63. Engasser P.G. Lip cosmetics. *Dermatol Clin.* octubre de 2000;18(4):641-9.
64. Parhi R. The Role of Phytochemicals in Cosmeceutical Applications. En: Press C, editor. *Medicinal Plants.* 2019. p. 139-60.
65. Guzmán Sánchez D.A., Gonzáles Torres Y.S., Alfaro N. Cosmecéticos: ¿mito o realidad? *Rev Dermatol Cosmet Medica Quir.* 2008;6(1):41-8.
66. Kligman D. Cosmeceuticals. *Dermatol Clin.* octubre de 2000;18(4):609-15.
67. Castillo Mendieta C.P. Formulación de una crema cosmeceútica con propiedades antioxidantes a base de miel de abeja (*apis mellifera* L). Universidad Técnica de Machala; 2021.
68. Brandt F.S., Cazzaniga A., Hann M. Cosmeceuticals: Current Trends and Market Analysis. *Semin Cutan Med Surg.* septiembre de 2011;30(3):141-3.
69. Bryce D.M. Lipstick. En: Poucher's *Perfumes, Cosmetics and Soaps.* Dordrecht: Springer Netherlands; 1993. p. 213-43.
70. Castillo Caysahuana S.E. Determinación de plomo y cadmio en barras labiales comercializadas en el mercado Huáscar del distrito de San Juan de Lurigancho de Lima en el periodo junio – agosto del 2016. Universidad Norbert Wiener; 2017.
71. Olmos S. Emulsiones. *Panor Actual Medicam.* 2017;41:341-4.

72. Alcalde T.M., Del Pozo A. Conceptos básicos de dermofarmacia. Rev Offarm. 2004;23(11):151-4.
73. Parra Ortega V.P. Estudio comparativo en el uso de colorantes naturales y sintéticos en alimentos, desde el punto de vista funcional y toxicológico. Universidad Austral de Chile; 2004.
74. Sánchez Juan R. La química del color en los alimentos. QuimicaViva. 2013;12:234-46.
75. Cohen Y, Pradeau D. Análisis químicos farmacéuticos de medicamentos. Noriega Editores, editor. México D.F.; 1998.
76. Delfino M.R. Métodos alternativos de análisis en el control de calidad de medicamentos esenciales. Universidad Nacional de Nordeste; 2016.
77. Melo Zambrano C.A., Moncada Rodríguez LP. Propuesta documental para la ejecución de pruebas de calidad con miras a establecer estabilidad cosmética. Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales - UDCA; 2016.
78. De la Sen Santos A., Patiño Álvarez B., Vázquez Estévez C., Marquina Díaz D. Vol. 2, REDUCA (Biología). 2011. p. 16-34 Diseño docente para la realización de prácticas de control de calidad microbiológica de productos cosméticos y de dermofarmacia. Disponible en: <http://revistareduca.es/index.php/biologia/article/view/801/817>
79. Secretaría general de la comunidad andina. Reglamento Técnico Andino sobre Especificaciones Técnicas Microbiológicas de Productos Cosméticos. Lima; 2019. p. 7.
80. Fernández M.C., Horak C., Lagomarsino M., Torno G., Zarankin E.. Manual de microbiología aplicada a las industrias farmacéutica, cosmética y de productos médicos. Primera. Microbiología AA de, editor. Buenos Aires; 2013. 544 p.
81. Agencia Nacional de Vigilancia Sanitaria. Guía de Estabilidad de Productos Cosméticos. En: Editora Agencia Nacional de Vigilancia Sanitaria, editor. Primera ed. Mayo 2005; 2004. p. 52.
82. Comunidad Andina. Decisión 516 Armonización de Legislaciones en materia de Productos Cosméticos. 2012. p. 25.
83. Arias Nahuelpan AM. Desarrollo de labiales líquidos y brillos labiales. Universidad de Chile; 2005.
84. The United States Pharmacopoeia and National Formulary. USP 43-NF 38. 2020. p. 7022.
85. Reyes Buenafe Z.C. Extracción y evaluación del colorante natural de achiote (bixa orellana L.) como sustituto del colorante e-102 amarillo no. 5 (tartracina) en la elaboración de un yogurt. Universidad de San Carlos de Guatemala; 2015.
86. Varghese A., Anish J. Una revisión sobre el lápiz labial a base de hierbas y los colores naturales. Rev Int Cienc E Investig Farm Innovadoras. 2017;5(3):15-23.

87. Varas-Arribasplata V.L., Tapia-Garcia L.A., Castillo Saavedra E.F., Ayala-Jara C., Reyes Alfaro C.E. Desarrollo de una barra labial a base de Gaultheria glomerata (Cav.) Sleumer para uso cosmético. Rev Cuba Farm. 2021;54(3):536.
88. Bailón Lira L., Gonzales Melendez R.C., Cervantes Sandoval A. Atlas de pruebas bioquímicas para identificar bacterias. Universidad Autónoma de México, Facultad de Estudios Superiores Zaragoza; 2003.
89. Salanova-Schaufeli.pdf [Internet]. [citado 5 de febrero de 2021]. Disponible en: http://www.want.uji.es/wp-content/uploads/2017/11/2009_Salanova-Schaufeli.pdf

ANEXOS

Anexo 1. Certificado de identificación botánica de *Bixa orellana* L. (Achiote)



UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN ANTONIO ABAD DEL CUSCO

- **APARTADO POSTAL**
N° 921 - Cusco - Perú
- **FAX:** 238156 - 238173 - 222512
- **RECTORADO**
Calle Tigre N° 127
Teléfonos: 222271 - 224891 - 224181 - 254398
- **CIUDAD UNIVERSITARIA**
Av. De la Cultura N° 733 - Teléfonos: 228661 - 222512 - 232370 - 232375 - 232226
- **CENTRAL TELEFÓNICA:** 232398 - 252210
243835 - 243836 - 243837 - 243838
- **LOCAL CENTRAL**
Plaza de Armas s/n
Teléfonos: 227571 - 225721 - 224015
- **MUSEO INKA**
Cuesta del Almirante N° 103 - Teléfono: 237380
- **CENTRO AGRONÓMICO K'AYRA**
San Jerónimo s/n Cusco - Teléfonos: 277145 - 277246
- **COLEGIO "FORTUNATO L. HERRERA"**
Av. De la Cultura N° 721
"Estadio Universitario" - Teléfono: 227192

HERBARIO VARGAS CUZ

CERTIFICADO DE DETERMINACIÓN TAXONÓMICA N° 11-2023-HVC-FCB- UNSAAC

La Directora del Herbario Vargas CUZ, Facultad de Ciencias Biológicas, de la Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco (UNSAAC), deja constancia que: la Srta. **Salyka Pamela Muñoz Canal**, Bachiller de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica, ha presentado a la Dirección del Herbario Vargas CUZ, una (01) muestra botánica para su determinación taxonómica (**expediente N°515829**), para realizar el proyecto de investigación "**ELABORACIÓN Y CONTROL DE CALIDAD DE LIPSTICK FORMULADO EN BASE AL COLORANTE NATURAL EXTRAÍDO DE LAS SEMILLAS DE *Bixa orellana* L. (ACHIOTE)**", la que al ser diagnosticada por el Mgt. Abel Monteagudo Mendoza, utilizando claves dicotómicas, consulta con bibliografía especializada, y comparación con muestras del herbario, concuerda con la siguiente especie; de acuerdo a la clasificación del Grupo del Sistema Filogenético de las Angiospermas (Angiosperm Phylogeny Group-APG IV, 2016).

N°	FAMILIA	ESPECIE	NOMBRE COMUN
1	Bixaceae	<i>Bixa orellana</i> L.	"achiote"

Se le expide la presente certificación a petición formal de la interesada para los fines que viera por conveniente.

Cusco, 07 de marzo de 2023

Blga. María Luisa Ochoa Cámara
Directora del Herbario Vargas CUZ



Anexo 2. Instrucciones para la preparación de agares (84)

Agar caso

Pesar 40 gramos de agar, diluir en un litro de agua caliente, tratar por 15 minutos en autoclave a una temperatura de 121°C. pH: 7,3 más menos 0,2 a una temperatura de 25°C. El preparado es de color amarillo - marrón claro.

Agar sabouraud

Pesar 65 gramos de agar, diluir en un litro de agua caliente, tratar por 15 minutos en autoclave a una temperatura de 121°C. pH: 5,6 más menos 0,2 a una temperatura de 25°C. El preparado es de color amarillo - marrón claro.

Agar mac conkey

Pesar 50 gramos de agar, diluir en un litro de agua caliente, tratar por 15 minutos en autoclave a una temperatura de 121°C. pH: 7,1 más menos 0,2 a una temperatura de 25°C. El preparado es de color claro y rojo marrón a rojo oscuro.

Agar cetrimide

Pesar 45.3 gramos de agar, diluir en un litro de agua, incorporar 10 mL de glicerol y disolver en caliente, tratar por 15 minutos en autoclave a una temperatura de 121°C. pH: 7,2 más menos 0,2 a una temperatura de 25°C. El preparado es de color es amarillo - marrón claro.

Agar manitol salado

Pesar 108 gramos de agar, diluir en un litro de agua caliente, tratar por 15 minutos en autoclave a una temperatura de 121°C. pH: 7,4 más menos 0,2 a una temperatura de 25°C. El preparado es de color claro y rojo.

Agua de peptona

Pesar 25,5 gramos de agar, diluir en un litro de agua de ser necesario calentar, tratar por 15 minutos en autoclave a una temperatura de 121°C. pH: 7,2 más menos 0,2 a una temperatura de 25°C. El preparado es de color claro y amarillento.

Caldo caso

Pesar 30 gramos de caldo diluir en un litro de agua caliente, tratar por 15 minutos en autoclave a una temperatura de 121°C. pH: 7,3 más menos 0,2 a una temperatura de 25 °C. El preparado es de color claro y amarillo.

Caldo mac conkey

Pesar 35 gramos de caldo, diluir en un litro de agua caliente, tratar por 15 minutos en autoclave a una temperatura de 121°C. pH: 7,3 más menos 0,2 a una temperatura de 25 °C. El preparado es de color es violeta claro.

Anexo 3. Prueba de coagulasa (84)

Se procede de la siguiente manera:

- Previamente se prepara 6 tubos con 5 mL de caldo cerebro corazón y se trata por esterilización húmeda a una temperatura de 121 °C por 15 minutos (5 serán para el ensayo y 1 será el blanco).
- Se elegirá 5 colonias sospechosas desde la superficie del Agar Manitol Salado, con ayuda de un asa de siembra estéril transferir una de estas colonias sospechosas en un tubo que contenga 5 mL de Caldo Cerebro Corazón (en total se debe tener cinco tubos y en cada tubo una colonia sospechosa, a estos cinco tubos se les denominará “tubos 1”).
- Incubar estos cinco tubos y el blanco a 37 °C durante 24 horas.
- Luego de la incubación preparar un vial de plasma de conejo (Bactident® Coagulasa) con 3 mL de agua purificada estéril.
- Luego tomar 0,3 mL del plasma de conejo en un tubo estéril y adicionar 0,1 mL del tubo de Caldo Cerebro Corazón con la muestra (tubos 1), a esta mezcla se le denominará “tubos 2”.
- Posteriormente incubar los “tubos 2” a 37 °C, examinando el contenido de los “tubos 2” a las 3 horas y seguidamente a rangos adecuados hasta completar 24 horas de incubación.
- Cuando es *Staphylococcus aureus* positivo, se observarán grumos grandes de coagulación organizados en gran medida o coagulación completa del contenido del tubo, de tal manera que el coágulo no se desplaza al invertir el tubo.

Anexo 4. Prueba de la citocromooxidasa (84)

El procedimiento a seguir es:

- Una vez que haya tenido lugar el crecimiento de colonias sospechosas desde la superficie del agar cetrímide, tomar una de las colonias sospechosas con un asa de siembra estéril y aplicar sobre la zona reactiva de una tira de ensayo con dicloruro de N, N-dimetil-1,4-fenilendiamonio 0,1 μmol , 1-naftol 1,0 μmol (Bactident[®] Oxidasa) y frotar con la misma asa de siembra.
- Transcurridos aproximadamente 20 ó 60 segundos cotejar con la escala colorimétrica del reactivo (Bactident[®] Oxidasa).
- En la zona reactiva de la tira de ensayo aparecerá un color rosado que se torna a púrpura lo cual indica presencia de *Pseudomonas aeruginosa*, sin embargo, si aparece un color amarillo pertenecerá a otra especie de bacteria y la muestra obedece a condiciones para rectificar la ausencia de *Pseudomonas aeruginosa*.

Anexo 5. Pruebas de diferenciación bioquímica (88)

Prueba del agar triple azúcar hierro –TSI

Este agar presente una coloración rojiza y el ensayo evidencia la facultad de algunos microorganismos de fermentar tres azúcares: glucosa, lactosa y sacarosa. Con un asa de siembra tipo aguja se inocula una de las colonias sospechosas de *E.coli* en un tubo con Agar inclinado de TSI. Sembrar en estría en el espacio sesgado del Agar y por picada a la columna del medio. Incubar por un tiempo de 24 horas a temperatura de 30 °C a 35 °C. *E. coli* hace cambiar la parte inclinada del Agar a un color rojo (K) que es alcalino o a un color amarillo (A) que es ácido y el fondo del Agar cambia a un color amarillo (A) que es ácido, puede haber o no producción de gas (burbujas en el Agar), la no producción de ácido sulfhídrico es evidenciado por el oscurecimiento del agar.

Prueba de agar lisina hierro – LIA

El agar LIA presenta una coloración púrpura, mediante este análisis se evidencia la posibilidad que tienen algunos microorganismos de descarboxilar o desaminar un aminoácido (lisina). Utilizando la asa de siembra tipo aguja sin flamear en el mechero, que se utilizó en el anterior Agar (TSI), se inocula en un tubo con Agar inclinado de LIA. Sembrar en estría en el espacio inclinado del Agar y por punzada en la columna del medio. Incubar durante 24 horas a una temperatura de 30 a 35 °C. La presencia de *E. coli* no producirá ningún cambio de color ni en la base ni en la parte inclinada del agar, esto indica que la descarboxilación de la lisina es positivo, no hay producción de gas ni de SH₂.

Prueba de agar de citrato según simmons

La coloración de este agar es verde y señala la facultad de ciertos microorganismos de descomponer el citrato como fuente de carbono, fosfato de amonio como fuente de fosfato y azul de bromotimol como señalizador de pH. Con el asa de siembra tipo aguja sin flamear en el mechero que se utilizó en el anterior agar (LIA), se inocula en un tubo con agar inclinado de citrato según simmons. Sembrar en estría en el espacio inclinado del agar y por punzada en la columna del medio. Incubar por 24 horas a una temperatura de 30 a 35 °C. Cuando es *E. coli*

positivo, no produce un cambio de color ni en la base del Agar ni en la parte inclinada, esto indica que *E. coli* no es capaz de metabolizar el citrato.

Prueba del INDOL

Se utiliza el agar SIM, que es de color amarillo claro e indica la capacidad de los microorganismos de movilizarse en el medio de cultivo. La movilidad es indicada por una difusa turbidez del medio de cultivo, en caso de inmovilidad, el crecimiento o turbidez se nota sólo a lo largo de la línea de punción del medio de cultivo. La prueba del INDOL se evidencia con la formación de un anillo rojo encima del agar SIM. Con la misma asa de siembra tipo aguja sin flamear en el mechero, que se utilizó en el anterior agar (citrato según simmons), sembrar por punzada en la columna del medio e incubar durante 24 horas a 30 °C - 35 °C. Siguiendo a la incubación, se adicionan de 0,2 mL a 0,3 mL del Reactivo de Kovacs en el área del medio. Cuando se tiene movilidad variada se concluye que es *E. coli* positivo, y se evidencia la formación de un anillo rojo, no habrá producción de ácido sulfhídrico a pesar de incorporar el reactivo de Kovacs.

Anexo 6. Ficha de recolección de datos del porcentaje de rendimiento del colorante obtenido de las semillas de *Bixa orellana* L. (Achiote) con KOH al 2 %

Muestra	Peso inicial de semillas (g)	Solución extractante	Peso de colorante obtenido (g)	Porcentaje de rendimiento
Muestra 1				
Muestra 2				
Muestra 3				
Media del % de rendimiento				
Desviación Estándar del % de rendimiento				

Anexo 7. Ficha de recolección de datos del análisis de características organolépticas del colorante obtenido de las semillas de *Bixa orellana* L. (Achiote)

Muestra \ Parámetro	Color	Olor	Sabor
Muestra 1			
Muestra 2			
Muestra 3			
Referencia			
RESULTADO FINAL			

Anexo 8. Ficha de recolección de datos del análisis organoléptico del *lipstick* formulado en base al colorante natural obtenido de las semillas de *Bixa orellana* L. (Achiote) en la formulación al 8% (F-I), 10% (F-II) y 12 % (F-III)

Muestra \ Parámetro	Homogeneidad	Olor	Uniformidad de color	Adherencia
Formulación al 8%				
Formulación al 10%				
Formulación al 12%				
RESULTADO FINAL				

Anexo 9. Ficha de recolección de datos del análisis fisicoquímico del *lipstick* formulado en base al colorante natural obtenido de las semillas de *Bixa orellana* L. (Achiote) en la formulación al 8% (F-I), 10% (F-II) y 12 % (F-III)

Parámetro	pH	Densidad	Punto de fusión
Muestra			
Formulación al 8%			
Formulación al 10%			
Formulación al 12%			
Media			
Desviación estándar			
Valores de referencia			
RESULTADO FINAL			

Anexo 10. Ficha de recolección de datos del recuento total de microorganismos aerobios mesófilos viables; hongos filamentosos y levaduras en *lipstick* formulado en base al colorante natural obtenido de las semillas de *Bixa orellana* L. (Achiote) en la formulación al 8% (F-I), 10% (F-II) y 12 % (F-III)

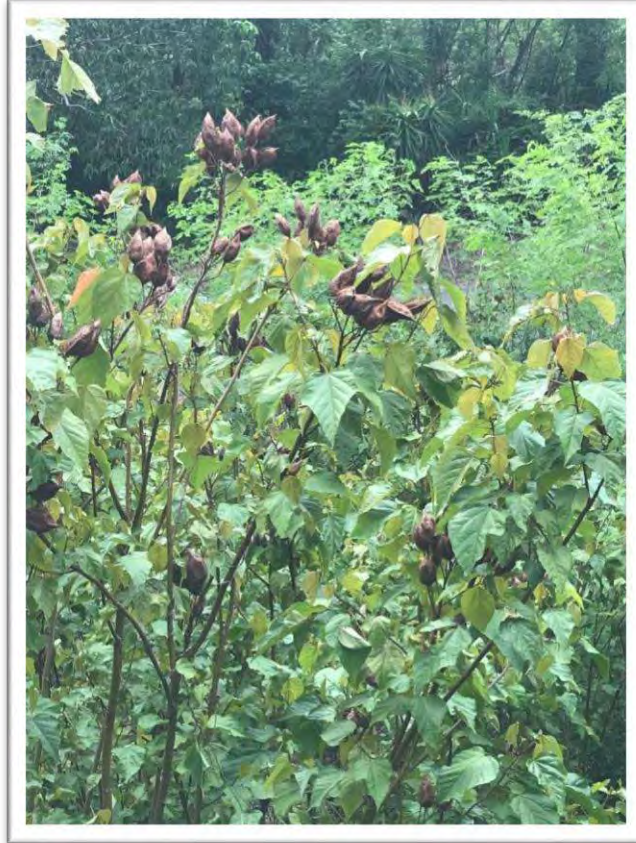
Muestra	Análisis			
	Recuento total de microorganismos mesófilos viables		Recuento total de hongos filamentosos y levaduras	
	3 días	5 días	5 días	7 días
F – I				
M001				
M002				
M003				
F – II				
M001				
M002				
M003				
F – III				
M001				
M002				
M003				
ESPECIFICACIÓN				
RESULTADO FINAL				

Anexo 11. Ficha de recolección de datos de la identificación de microorganismos patógenos a las 24, 48 y 72 horas en *lipstick* formulado en base al colorante natural obtenido de las semillas de *Bixa orellana* L. (Achiote) en la al 8% (F-I), 10% (F-II) y 12 % (F-III)

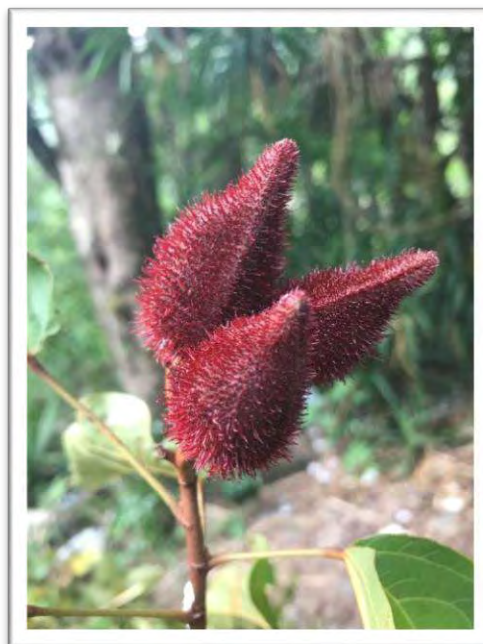
Muestra	Análisis								
	Identificación de <i>Staphylococcus aureus</i>			Identificación de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>			Identificación de <i>Escherichia coli</i>		
	24 horas	48 horas	72 horas	24 horas	48 horas	72 horas	24 horas	48 horas	72 horas
F – I									
M001									
M002									
M003									
F – II									
M001									
M002									
M003									
F – III									
M001									
M002									
M003									
ESPECIFICACIÓN									
RESULTADO FINAL									

Anexo 12. Archivo fotográfico

Fotografía 1: Arbusto de *Bixa orellana* L. (Achiote)



Fotografía 2: Fruto recolectado de *Bixa orellana* L. (Achiote)



Fotografía 3: Fruto seco de *Bixa orellana* L. (Achiote)



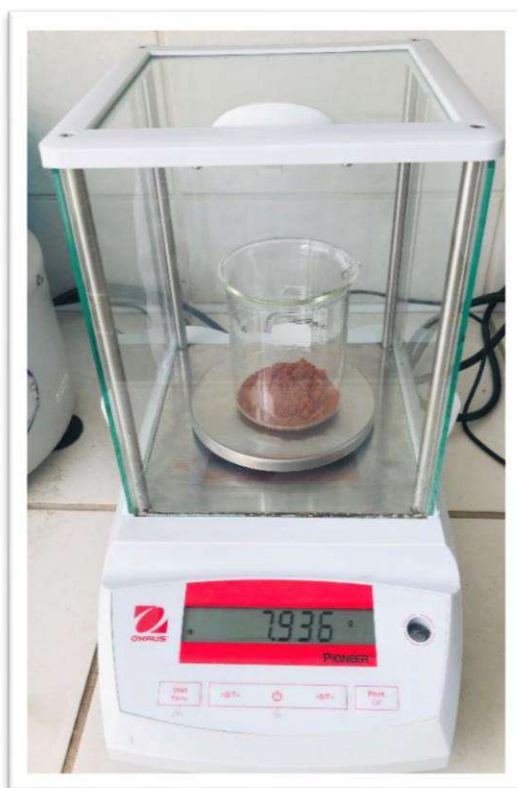
Fotografía 4: Semillas secas de *Bixa orellana* L. (Achiote)



Fotografía 5: Obtención del colorante natural extraído de las semillas de *Bixa orellana* L. (Achiote)



Fotografía 6: Determinación porcentaje de rendimiento del colorante natural extraído de las semillas de *Bixa orellana* L. (Achiote)



Fotografía 7: Colorante natural extraído de las semillas de *Bixa orellana* L. (Achiote)



Fotografía 8: Insumos utilizados en la elaboración de *lipstick* formulado en base al colorante natural extraído de las semillas de *Bixa orellana* L. (Achiote)



Fotografía 9: Elaboración de *lipstick* formulado en base al colorante natural extraído de las semillas de *Bixa orellana* L. (Achiote)



Fotografía 10: Propuesta de etiqueta de *lipstick* formulado en base al colorante natural extraído de las semillas de *Bixa orellana* L. (Achiote) al 8, 10 y 12 %



Fotografía 11: *Lipstick* formulado en base al colorante natural extraído de las semillas de *Bixa orellana* L. (Achiote) al 8, 10 y 12 %



Fotografía 12: Determinación de densidad de *Lipstick* formulado en base al colorante natural extraído de las semillas de *Bixa orellana* L. (Achiote)



Fotografía 13: Determinación del punto de fusión de *lipstick* formulado en base al colorante natural extraído de las semillas de *Bixa orellana* L. (Achiote)



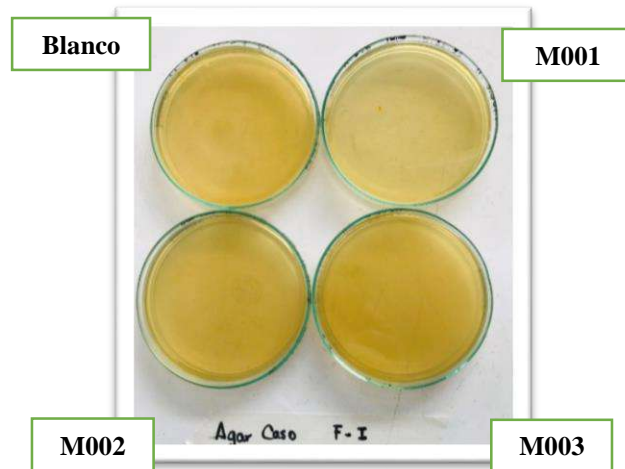
Fotografía 14: Preparación de medios de cultivo a usar en el análisis microbiológico



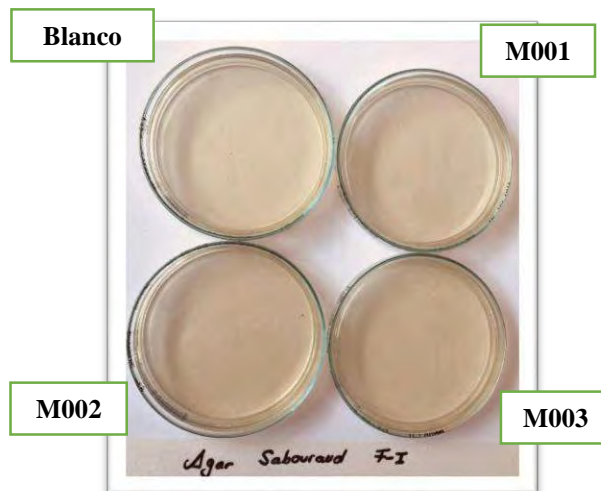
Fotografía 15: Recuento total de microorganismos aerobios mesófilos viables (Método vertido en placa)



Fotografía 16: Recuento total de microorganismos aerobios mesófilos viables en agar Caso - Lectura al quinto día (F-I)



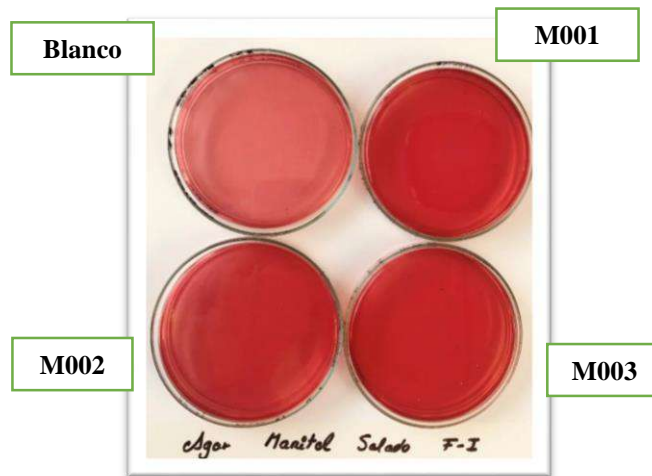
Fotografía 17: Recuento total de hongos filamentosos y levaduras en agar Sabouraud dextrosa 4 % - Lectura al séptimo día (F-I)



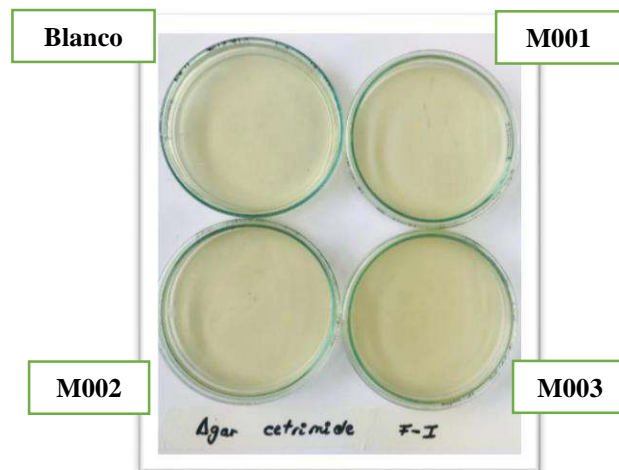
Fotografía 18: Identificación de microorganismos patógenos (Método siembra)



Fotografía 19: Identificación de *Staphylococcus aureus* en agar manitol salado - Lectura de resultados a las 72 horas (F-I)



Fotografía 20: Identificación de *Pseudomonas aeruginosa* en agar Cetrímide - Lectura de resultados a las 72 horas (F-I)



Fotografía 21: Identificación de *Escherichia coli* en agar MacConkey - Lectura de resultados a las 72 horas (F-I)

