

UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO
FACULTAD DE CIENCIA E INGENIERÍA EN ALIMENTOS Y
BIOTECNOLOGÍA
CARRERA DE INGENIERÍA BIOQUÍMICA



Evaluación de la calidad de un gel antibacterial elaborado a partir de Alcohol Artesanal con hidrolato de manzanilla (*Matricaria chamomilla*) y aceite esencial de naranja (*Citrus spp.*)

Trabajo de Titulación, modalidad Proyecto de Investigación, previo a la obtención del Título de Ingeniero Bioquímico, otorgado por la Universidad Técnica de Ambato, a través de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología.

Autor: Merino Castillo Erick Andrés.

Tutora: Mg. Dolores del Rocío Robalino Martínez.

Ambato-Ecuador

Marzo 2022

APROBACIÓN DEL TUTOR

Mg. Dolores del Rocío Robalino Martínez.

CERTIFICA:

Que el presente trabajo de titulación ha sido prolijamente revisado. Por lo tanto, autorizo la presentación de este Trabajo de Titulación bajo la modalidad de Proyecto de Investigación, el mismo que corresponde a las normas establecidas en el Reglamento de Títulos y Grados de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología.

Ambato, 17 de enero del 2020

Mg. Dolores del Rocío Robalino Martínez.

CI: 180176948-8

TUTORA

DECLARACIÓN DE AUTENTICIDAD

Yo, Erick Andrés Merino Castillo, manifiesto que los resultados obtenidos en el presente Trabajo de Titulación, modalidad Proyecto de Investigación, previo a la obtención del título de Ingeniero Bioquímico, son absolutamente originales, auténticos y personales, a excepción de las citas bibliográficas.



Erick Andrés Merino Castillo

C.I. 180476592-1

AUTOR

APROBACIÓN DE LOS MIEMBROS DEL TRIBUNAL DE GRADO

Los suscritos Profesores Calificadores, aprueban el presente Trabajo de Titulación, modalidad Proyecto de Investigación, mismo que ha sido elaborado de conformidad con las disposiciones emitidas por la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología de la Universidad Técnica de Ambato.

Para constancia firman:

Presidente del Tribunal

Mg. Daniel Alfonso Cabrera Valle
CI: 1802561595

Mg. Lander Vinicio Pérez Aldás
CI: 1802706596

Ambato, 15 de febrero del 2022

DERECHOS DE AUTOR

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

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



Erick Andrés Merino Castillo

C.I. 180476592-1

AUTOR

DEDICATORIA

A Dios por derramar en mí sus bendiciones todos los días y poder culminar con mis estudios universitarios.

A mi madre Lorena por ser el pilar fundamental de mi vida, quien me ha brindado su apoyo incondicional desde niño, enseñándome que nada es fácil en la vida pero con esfuerzo y dedicación todo se puede lograr siendo mi mano amiga para poder superar cada semestre y ser la base en mi formación.

A mis Abuelitos Porfirio y Delmira por inculcarme siempre sus valores, a mi familia en especial a Yolanda, Mary, Manuel, José, Rosita, Christian por siempre creer en mí brindándome su apoyo y confianza.

A mis primos que este primer logro sea un ejemplo, para que nunca decaigan en sus estudios y a todas las personas que me acompañaron en este camino.

AGRADECIMIENTOS

Expreso mi sincero y profundo agradecimiento Dios y a la Virgen del Cisne, por darme siempre salud y vida para cumplir con todos los objetivos que me propuse en mi vida.

Agradezco a mi Madre que todo su sudor, cansancio y trabajo no fue en vano, que a pesar de las dificultades siempre hemos luchado juntos siendo la persona que me enseñó a nunca rendirme gracias por siempre creer en mí. Dios les pague a mis Abuelitos por darme siempre su cariño, amor y apoyo incondicional.

A toda mi familia a mis tíos Yolanda, Mary, Manuel, José, Rosita, Christian, William, Sandra y Verónica quienes han sido un ejemplo a seguir inculcándome sus valores para poder ser un hombre de bien. Gracias a todos mis primos por siempre brindarme su apoyo incondicional brindando toda su confianza en mí.

Agradezco a todos mis amigos en especial a Kevin, Mayra y Karen por estar siempre conmigo en este arduo camino llamado universidad con quienes compartí momentos felices y tristes durante la vida universitaria, con los cuales he aprendido muchas cosas dentro de las aulas, laboratorios y demás actividades estudiantiles. De todo corazón agradezco a Monserrath por estar a mi lado en los momentos más difíciles y ser mi apoyo incondicional en todos estos años.

Finalmente quiero agradecer a mi tutora la Ingeniera Dolores Robalino por su paciencia y brindarme su confianza en la presente investigación. Gracias a todos los docentes de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología por haberme brindado todos sus conocimientos.

Gracias por todo

ÍNDICE GENERAL DE CONTENIDOS

PÁGINAS PRELIMINARES

APROBACIÓN DEL TUTOR.....	ii
DECLARACIÓN DE AUTENTICIDAD.....	iii
APROBACIÓN DE LOS MIEMBROS DEL TRIBUNAL DE GRADO.....	iv
DERECHOS DE AUTOR.....	v
DEDICATORIA	vi
AGRADECIMIENTOS	vii
RESUMEN.....	xiii
ABSTRACT.....	xiv

CONTENIDO

CAPÍTULO I.....	1
MARCO TEÓRICO.....	1
1.1 Antecedentes Investigativos.....	1
1.1.1 Gel Antibacterial.....	1
1.1.2 Importancia del gel antibacterial.....	1
1.1.3 Alcohol Artesanal.....	2
1.1.4 Hidrolato	2
1.1.5 Hidrolato de Manzanilla.....	3
1.1.6 Aceite esencial.....	3
1.1.7 Extracción de aceites esenciales.....	4
1.1.8 Aceite esencial de naranja.....	5
1.1.9 Análisis Físico Químicos	5
1.1.10 Cromatografía	6
1.1.11 Efectividad Bacteriana	7
1.2 OBJETIVOS	8

1.2.1 Objetivo General.....	8
1.2.2 Objetivos Específicos.....	8
CAPÍTULO II	9
2 METODOLOGÍA	9
2.1 Materiales y Equipos.....	9
2.1.1 Material de Análisis.....	9
2.1.2 Materiales de Laboratorio	9
2.1.3 Equipos.....	10
2.2 Métodos.....	10
2.2.1 Parámetros de calidad.	10
2.2.1.1 Pruebas Organolépticas.....	10
2.2.1.2 Pruebas Físico Químicas.	11
2.2.1.3 Concentración de Alcohol por cromatografía de gases.....	14
2.2.1.3.1 Análisis Cromatográficos.....	16
2.2.1.4 Prueba de efectividad.	18
2.2.1.4.1 Datos Experimentales de la prueba de efectividad.	18
2.2.1.4.1. Reducción Logarítmica para la prueba de efectividad.....	19
CAPITULO III	21
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.	21
3.1 Determinación de los parámetros físico químicos del gel antibacterial.....	21
3.1.1 Pruebas organolépticas.....	21
3.1.2 Pruebas fisicoquímicas.....	22
3.1.2.1 Evaluación del pH en el gel antibacterial.....	23
3.1.2.2 Evaluación de la densidad en el gel antibacterial.....	24
3.1.2.3 Evaluación de la viscosidad en el gel antibacterial.....	24
3.1.2.4 Evaluación de la concentración de alcohol en el gel antibacterial.....	25

3.2	Cuantificación de la concentración de alcohol presente en el gel antibacterial por medio del método de cromatografía de gases.....	25
3.2.1	Curva de calibración por patrón externo.....	25
3.3.2.	Determinación del porcentaje de alcohol del gel antibacterial por cromatografía de gases acoplado con detector de ionización de llama (FID).....	27
3.3	Efectividad Bacteriana.....	29
3.3.1	Análisis de la prueba de efectividad.....	29
CAPÍTULO IV		31
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES		31
4.1	Conclusiones	31
4.2	Recomendaciones.....	32
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS		33
ANEXOS		42

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1.	<i>Condiciones cromatográficas generales</i>	15
Tabla 2.	<i>Resultados de las pruebas organolépticas</i>	21
Tabla 3.	<i>Valores obtenidos de pH, temperatura, densidad, viscosidad, y concentración de alcohol</i>	23
Tabla 4.	<i>Concentraciones y áreas de las soluciones estándar para realizar la curva de calibración de etanol por estándar externo</i>	26
Tabla 5.	<i>Concentración de alcohol en la muestra del gel antibacterial</i>	28
Nota:	El porcentaje es ideal para ser utilizado como cosmético antibacterial.....	28
Tabla 6.	<i>Prueba de efectividad en Escherichia coli ATCC 25922</i>	29
Tabla 7.	<i>Prueba de efectividad en Staphylococcus aureus ATCC 25923</i>	30

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. <i>Toma de muestra para la realización de las propiedades organolépticas.</i>	11
Figura 2. <i>Determinación de la concentración de alcohol en gel con un alcoholímetro digital Mettler Toledo PortableLabTM</i>	12
Figura 3. <i>Determinación de la densidad en gel con el densímetro digital de marca Mettler Toledo PortableLabTM</i>	12
Figura 4. <i>Medición del pH en la muestra de gel.</i>	13
Figura 5. <i>Viscosímetro rotacional QUIMIS utilizado para la medición de la viscosidad.</i>	14
Figura 6. <i>Curva de calibración por patrón externo</i>	26
Figura 7. <i>Cromatograma de la muestra de gel antibacterial analizada</i>	27
Figura 8. <i>Resultados de la prueba de efectividad en Escherichia coli ATCC 25922 en agar PCA en diferentes tiempos.</i>	64
Figura 9. <i>Resultados de la prueba de efectividad en Staphylococcus aureus ATCC 25923 en agar PCA en diferentes tiempos.</i>	65

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico 1. <i>Evaluación de las propiedades organolépticas Día 1.</i>	42
Gráfico 2. <i>Evaluación de las propiedades organolépticas Día 3.</i>	42
Gráfico 3. <i>Evaluación de las propiedades organolépticas Día 8.</i>	43
Gráfico 4. <i>Evaluación de las propiedades organolépticas Día 10.</i>	43
Gráfico 5. <i>Evaluación de las propiedades organolépticas Día 14.</i>	44
Gráfico 6. <i>Evaluación de las propiedades organolépticas Día 16.</i>	44
Gráfico 7. <i>Medición del pH Día 1.</i>	45
Gráfico 8. <i>Medición del pH Día 3.</i>	45

Gráfico 9. <i>Medición del pH Día 8.</i>	46
Gráfico 10. <i>Medición del pH Día 10.</i>	46
Gráfico 11. <i>Medición del pH Día 14.</i>	47
Gráfico 12. <i>Medición del pH Día 16.</i>	47
Gráfico 13. <i>Medición de la concentración de alcohol %v/v Día 1.</i>	48
Gráfico 14. <i>Medición de la concentración de alcohol %v/v Día 3.</i>	48
Gráfico 15. <i>Medición de la concentración de alcohol %v/v Día 8.</i>	49
Gráfico 16. <i>Medición de la concentración de alcohol %v/v Día 10.</i>	49
Gráfico 17. <i>Medición de la concentración de alcohol %v/v Día 14.</i>	50
Gráfico 18. <i>Medición de la concentración de alcohol %v/v Día 16.</i>	50
Gráfico 19. <i>Medición de la concentración de alcohol %v/v Día 1.</i>	51
Gráfico 20. <i>Medición de la concentración de alcohol %v/v Día 3.</i>	51
Gráfico 21. <i>Medición de la concentración de alcohol %v/v Día 8.</i>	52
Gráfico 22. <i>Medición de la concentración de alcohol %v/v Día 10.</i>	52
Gráfico 23. <i>Medición de la concentración de alcohol %v/v Día 10.</i>	53
Gráfico 24. <i>Medición de la concentración de alcohol %v/v Día 14.</i>	53
Gráfico 25. <i>Medición de la viscosidad Cps. Día 1.</i>	54
Gráfico 26. <i>Medición de la viscosidad Cps. Día 3.</i>	55
Gráfico 27. <i>Medición de la viscosidad Cps. Día 8.</i>	55
Gráfico 28. <i>Medición de la viscosidad Cps. Día 10.</i>	56
Gráfico 29. <i>Medición de la viscosidad Cps. Día 14.</i>	56
Gráfico 30. <i>Medición de la viscosidad Cps. Día 16.</i>	57

RESUMEN

El gel antibacterial se ha convertido en un producto complementario para la higiene de manos previniendo las infecciones y contagio de enfermedades, esta investigación propone la evaluación de la calidad de un gel antibacterial elaborado a partir de Alcohol Artesanal con hidrolato de manzanilla (*Matricaria chamomilla*) y aceite esencial de naranja (*Citrus spp.*), se identificó las propiedades fisicoquímicas del gel, en la cual se obtuvo un valor de pH entre 5.72 a 6.05; una densidad de 0.876 a 0.885 gramos sobre centímetros cúbicos y una viscosidad de 7320 a 7956 Cps, siendo estos valores los óptimos para este tipo de cosméticos antibacteriales cumpliendo con lo detallado en el instructivo externo para productos cosméticos de bajo riesgo, perteneciente a la agencia nacional de regulación, control y vigilancia sanitaria “ARCSA”. La cuantificación de la concentración de alcohol en el gel antibacterial se realizó mediante cromatografía de gases, cumpliendo con lo establecido por el ARCSA en su resolución DE-015-2020 donde la concentración de alcohol se encontró en el rango entre el sesenta y setenta por ciento desempeñando sus características antibacteriales. Las pruebas de efectividad bacteriana se realizaron según la normativa europea UNE-EN-1040, aplicando las técnicas microbiológicas de productos cosméticos, donde se utilizaron dos cepas de microorganismos *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*, estas pruebas fueron evaluadas por medio de una escala logarítmica, determinando una alta actividad bactericida por sus características antibacteriales ante los microorganismos evaluados, siendo este producto ideal para la desinfección de manos ya que cumpliendo con todos los parámetros de calidad.

Palabras clave: Calidad, higienizantes, productos cosméticos antibacteriales, gel antibacterial, alcohol artesanal, hidrolato de manzanilla, aceites esenciales.

ABSTRACT

The antibacterial gel has become a complementary product for hand hygiene, preventing infections and the spread of diseases. This research proposes the evaluation of the quality of an antibacterial gel made from artisanal alcohol with chamomile hydrolate (*Matricaria chamomilla*) and essential oil of orange (*Citrus spp.*), the physicochemical properties of the gel were identified, in which a pH value between 5.72 and 6.05 was obtained; a density of 0.876 to 0.885 grams over cubic centimeters and a viscosity of 7320 to 7956 Cps, these being the optimum values for this type of antibacterial cosmetics, complying with the external instructions for low-risk cosmetic products, belonging to the national agency of regulation, control and sanitary surveillance "ARCSA". The quantification of the alcohol concentration in the antibacterial gel was performed by gas chromatography, complying with the provisions of the ARCSA in its resolution DE-015-2020 where the alcohol concentration was found in the range between sixty and seventy percent performing its antibacterial characteristics. The bacterial effectiveness tests were carried out according to the European standard UNE-EN-1040, applying the microbiological techniques of cosmetic products, where two strains of microorganisms *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* were used, these tests were evaluated by means of a logarithmic scale, determining a high bactericidal activity for its antibacterial characteristics against the microorganisms evaluated, being this product ideal for hand disinfection since it complies with all the quality parameters.

Keywords: Quality, sanitizers, antibacterial cosmetic products, antibacterial gel, artesian alcohol, chamomile hydrolat, essential oils.

CAPÍTULO I

MARCO TEÓRICO

1.1 Antecedentes Investigativos.

1.1.1 Gel Antibacterial.

En la actualidad el uso del gel antibacterial se ha convertido en un producto complementario para la higiene de manos, previniendo las infecciones y contagio de enfermedades debido a que los gérmenes se encuentran en todas partes como en nuestras manos y en los objetos que tocamos durante las actividades diarias (**Mohamed, 2020**). Hay que tomar en cuenta que el gel antibacterial no es un sustituto del jabón antibacterial ya que este producto es un complemento para prevenir las infecciones de superficies ambientales (**Simonne, 2019**).

1.1.2 Importancia del gel antibacterial

Las medidas dictadas por la Organización Mundial de la Salud incluyen la aplicación constante de productos desinfectantes y antisépticos como medida preventiva de contagio y atribuyen el uso de gel antibacterial, ya que actúa como un sustituto de limpieza de manos (**Bonilla et al., 2019**). Sin embargo, estos productos de aseo están limitados por su duración bactericida lo que provoca un exceso en la demanda de estos desinfectantes y en consecuencia, la tasa de gasto es muy alta.

Estos productos son importantes debido a que brindan una protección antibacterial llegando a una efectividad mayor al 90%. Según (**D. Alvarado et al., 2010**) al realizar una prueba de funcionalidad de gel antibacterial determinó que al aplicarlo en las manos este inhibe las bacterias presentes en un tiempo no mayor a cinco minutos. En Ecuador el alcohol etílico para uso industrial debe tener estrictos estándares de calidad establecidos en la norma ISO 9001:2015, con el fin de cumplir condiciones de eficacia

pureza y seguridad en la elaboración de productos químicos, cosmética y perfumería **(Jaramillo, 2018)**.

1.1.3 Alcohol Artesanal

Entre los Alcoholes de importancia industrial se encuentran el metanol, etanol y el alcohol alílico, la producción de estos alcoholes en países subdesarrollados como Estados Unidos se obtienen principalmente de la fermentación de materias primas como el mosto de uva, caña de azúcar, melaza de sacarosa y almidones hidrolizados **(Ortega, 2019)**.

El alcohol etílico es un compuesto orgánico miscible en agua característico por su olor penetrante y volatilidad, en el Ecuador el etanol es producido por vía glucolítica a partir de materias primas que contienen azúcares fermentables como lo es la caña de azúcar siendo esta rica en sacarosa, sigue la ruta de Embden-Meyerhoff esta ruta es una vía metabólica de la glucólisis anaerobia. El proceso inicia en la fosforilación de la glucosa y finaliza produciendo el etanol **(Castilla, 2020)**.

El uso principal del etanol en la industria se da como desinfectante, disolvente y aditivo para obtener ácido acético, cloro etano y acetato de etilo gracias a su alta solubilidad **(Sanz, 2017)**. El alcohol etílico para uso industrial debe tener estrictos estándares de calidad establecidos en resolución del ARCSA-DE-015-2020, con el fin de cumplir condiciones de eficacia pureza y seguridad en la elaboración de productos químicos, cosmética y perfumería **(Jaramillo, 2018)**.

Donde la efectividad antimicrobiana que posee este tipo de alcohol debe tener la capacidad de neutralizar las proteínas de los microorganismos ya que estos poseen una gran actividad germicida para bacterias Gram positivas y negativas **(Castañeda & Hernández, 2016)**.

1.1.4 Hidrolato

Los hidrolatos son las moléculas no disueltas de los aceites esenciales, estas extraen todas las propiedades de las hojas o del fruto del que se obtenga teniendo en cuenta el principio activo del mismo, para la obtención del hidrolato se da mediante la destilación en agua con la obtención de un extracto de forma acuosa, ya sean de plantas

medicinales o aromáticas para así obtener un ingrediente activo con propiedades bactericidas (Cano, 2017).

Los hidrolatos pueden tener una combinación con aceite esencial o agua ya que estos tienen una característica hidrófilos como son los terpenos que se encuentran presentes en aceites naturales. Estos poseen moléculas de aceite esenciales teniendo una solubilidad en agua, los hidrolatos al igual que los aceites esenciales son obtenidos de plantas y sus principios terapéuticos son similares (Kimera, 2020).

1.1.5 Hidrolato de Manzanilla

El hidrolato de manzanilla (*Matricaria chamomilla*) tiene propiedades similares que su aceite esencial pero con menores grados, siendo ideal para el uso cosmético ya que posee propiedades antiinflamatorias por su alto nivel antiséptico y sus principios activos del mismo, siendo de gran ayuda para el cuidado de la piel evitando posibles irritaciones (Chalacamá, 2016).

1.1.6 Aceite esencial.

Desde la antigüedad, los aceites esenciales son reconocidos por su valor medicinal y son productos vegetales naturales muy interesantes y potentes. Siguen siendo de suma importancia hasta el día de hoy. Los aceites esenciales se han utilizado como perfumes, sabores para alimentos y bebidas, o para curar el cuerpo y la mente durante miles de años. En la actualidad, los aceites esenciales de menta, lavanda, geranio, eucalipto, rosa, bergamota, sándalo y manzanilla son los más comercializados (Axe, 2018).

Los aceites esenciales son un líquido oleoso volátil de gran importancia en las industrias farmacéuticas, cosméticas y productos de aseo personal, su obtención es mediante arrastre de vapor clasificándolos en monoterpenoides, sesquiterpenoides y los feniterpenoides (Ruiz et al., 2015). El poder antiséptico se refleja en ciertas bacterias patógenas debido a que los aceites esenciales poseen compuestos como el citral, linaliol o timol que poseen un mayor poder antiséptico que el fenol (L. López, 2004).

Los aceites esenciales normalmente son producidos como metabolitos secundarios, también en casos menores, los aceites esenciales no se producen en la propia planta; sin embargo, se crea a través de la hidrólisis de algunos compuestos producidos en la planta, similar al caso del ajo o la valeriana. En cuanto a su localización, los aceites esenciales se pueden producir en todas las partes de la planta, incluidos los órganos aéreos, comúnmente compuestos por hojas, flores y tallos y además, en los rizomas y radix como es el ejemplo del jengibre y cúrcuma (**Sharifi-Rad et al., 2017**).

Las funciones de los aceites esenciales en una planta con variados siendo utilizados como componentes de fertilización, protección o pueden emplearse como irritantes o repelentes. Además, Existen especulaciones distintivas sobre su papel como antioxidantes en el sentido de que donan hidrógeno en respuestas oxidativas, particularmente en fotorreacciones. Además, se cree que son un escudo para la planta contra posibles ataques patógenos al actuar como componentes antifúngicos o antimicrobianos (**Tanu & Harpreet, 2016**).

1.1.7 Extracción de aceites esenciales.

La extracción de los aceites esenciales puede ser mediante métodos de destilación al vapor, destilación al vapor y agua, o solo mediante destilación al vapor. Estas son las estrategias más convencionales y más utilizadas para aislar estas esencias aromáticas. Cuando la capacidad de disolución de un aceite esencial específico en agua es alta, como en el caso de la lavanda, el geranio o la rosa, se puede utilizar otro procedimiento, es decir, la cohobación. En este método, la pérdida de compuestos hidrosolubles puede evitarse devolviendo el agua condensada del separador al alambique (**Naeem et al., 2018**).

Otras formas de adquirir aceites esenciales incorporan enfleurage y maceración con los sistemas recientes que emplean extracción con líquidos supercríticos o solventes. Además, si el material vegetal se incubaba con agua a altas temperaturas antes de la fase de extracción, la composición del aceite esencial también diferirá significativamente. Siempre que el agua y el material vegetal se mantienen en diferentes sistemas y el vapor de agua atraviesa el material vegetal, el contacto es breve y el aceite se puede

recolectar solo un par de minutos en las etapas iniciales del procedimiento (**Ali et al., 2015**).

Otra opción de la destilación que mantiene un cambio sintético menor en el producto extraído es la extracción con CO₂ supercrítico. Este proceso tiende a dejar inalteradas mezclas lábiles y una amplia variedad de patrones diferentes, por ejemplo, cuando la purificación se realiza mediante esta técnica, el rendimiento extraído puede contener flavonoides de naturaleza no volátil (**Rietz, 2019**).

Cuando el aceite esencial se obtiene mediante extracción con solvente, incluido el enflorado, el fluido de extracción puede disolver mezclas, por ejemplo, resinoides y otras fracciones no volátiles. Se pueden obtener diversos resultados con diferentes procedimientos, por ejemplo, exprimido en frío o triturado de la piel externa de frutos principalmente cítricos en prensas decantando o centrifugando posteriormente los aceites para aislar el material vegetal y los restos de líquido. En cada uno de estos casos, la composición química de los aceites esenciales no es exactamente la misma que la obtenida por destilación (**Axe, 2018**).

1.1.8 Aceite esencial de naranja.

La naranja conformada por una cáscara exterior que conformada por un flavedo y sacos donde se encuentra el jugo, es un cítrico que contiene componentes los cuales poseen aromas característicos la cáscara de naranja contiene aceites que son utilizados en las diversas industrias por su alto nivel antiséptico ya que contiene en un noventa por ciento el compuesto d-limoneno siendo un gran antioxidante y un combatiente de inflamaciones y radicales libres (**Rueda et al., 2014**). El uso antiséptico y antibacterial que posee este aceite logra evitar infecciones ya que por sus componentes inhibe a varios microorganismos siendo de gran ayuda al momento de combinarlo con un gel antibacterial (**J. Gutierrez, 2019**).

1.1.9 Análisis Físico Químicos

El análisis fisicoquímico del gel antibacterial es primordial en el aseguramiento de la calidad ya que ayuda a determinar los valores estándares y controlar el cumplimiento

de ciertos parámetros (**Morán, 2011**). La pureza del etanol ayuda en el estudio de adulteraciones, irregularidades, contaminantes que pudieran estar presentes en el gel, para el análisis se emplean pruebas organolépticas y fisicoquímicas las cuales garantizan que se cumpla con las normativas establecidas por el ARCSA para este tipo de productos.

1.1.10 Cromatografía

La cromatografía es una importante técnica biofísica que permite la separación, identificación y purificación de los componentes de una mezcla para su análisis tanto cualitativo como cuantitativo. Las proteínas pueden purificarse en función de sus características como el tamaño y la forma, en grupos hidrofóbicos presentes en la superficie y la capacidad de unión con la fase estacionaria (**Coskun, 2016**). Cuatro técnicas de separación basadas en las características moleculares y el tipo de interacción utilizan mecanismos de intercambio iónico, adsorción superficial, partición y exclusión por tamaño. Otras técnicas de cromatografía se basan en el lecho estacionario, incluyendo la cromatografía en columna, en capa fina y en papel (**Canakkale, 2018**).

Una herramienta mayormente utilizadas para la separación de componentes de una muestra en gel es la técnica de cromatografía, misma que permite cuantificar la pureza y concentración de los elementos que se van separando al pasar de una fase estacionaria a una fase móvil (**Álvarez, 2019**). La cromatografía de gases es una técnica analítica, poderosa y versátil que puede proporcionar información de diversas sustancias, analizando un gran número de muestras en poco tiempo y con un alto nivel de confiabilidad. (**Reinoso, 2017**).

El etanol puede destruir las bacterias al causar daños en las membranas y la desnaturalización de las proteínas impidiendo la propagación de los microbios al interferir en el metabolismo y la división celular. El etanol al ser un alcohol con una gran potencia antiséptica el cual posee propiedades germicidas sobre bacterias y virus ya que permite la desnaturalización de proteínas plasmáticas, disolución de lípidos y disminución de la tensión interfacial (**P. Alvarado et al., 2012**). El alcohol etílico puede ser empleado tópicamente sobre la piel en una concentración del 70 % V/V.

1.1.11 Efectividad Bacteriana

Para la prueba de efectividad se utilizará la normativa española UNE-EN 1040:2006 ideal para determinar actividades bactericida de productos cosméticos y desinfectantes en intervalos de tiempos de 1,5 y 10 minutos evaluando los sus resultados de manera logarítmica (**Gutierrez, 2017**).

La prueba será evaluada por *Escherichia coli* ATCC 25922 y *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, microorganismos ideales para el control de calidad en cosméticos y desinfectantes, este grupo de material biológico certificado, se destaca como American Type Culture Collection (ATCC) (**Salcido et al., 2015**).

El ATCC determina el nivel de bioseguridad de un material basándose en la evaluación de riesgos según la edición actual de Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories (BMBL), tiene como responsabilidad comprender los peligros asociados con el material de acuerdo con las políticas y procedimientos de su organización, así como con cualquier otra normativa aplicable que apliquen sus organismos locales o nacionales (**OXOID, 2015**).

Es necesario utilizar siempre el equipo de protección personal adecuado cuando se manipulen viales. Para los cultivos que requieren almacenamiento en nitrógeno líquido, es importante tener en cuenta que algunos viales pueden tener fugas cuando se sumergen en nitrógeno líquido y se llenarán lentamente de nitrógeno líquido (**Urquizo, 2008**). Al descongelarse, la conversión del nitrógeno líquido de nuevo a su fase gaseosa puede hacer que el vial explote o que el tapón se desprenda con una fuerza peligrosa (**Anaya et al., 2015**).

El beneficio de este proyecto de investigación es demostrar la efectividad bactericida de microorganismos que comúnmente se encuentran en nuestras manos aplicando un gel antibacterial elaborado a partir de alcohol artesanal con hidrolato de manzanilla y aceite esencial de naranja. De esta manera se puede prevenir la transmisión de infecciones y enfermedades causas por la falta de higiene, además de verificar que el producto a ofertar cumpla con los estándares de calidad dictaminados por la Agencia Nacional de Regulación, Control y Vigilancia Sanitaria (**ARCSA**).

1.2 OBJETIVOS

1.2.1 Objetivo General.

Evaluar la calidad de un gel antibacterial elaborado a partir de Alcohol Artesanal con hidrolato de manzanilla (*Matricaria chamomilla*) y aceite esencial de naranja (*Citrus spp.*).

1.2.2 Objetivos Específicos

- Determinar las propiedades físico químicas de un gel antibacterial elaborado a partir de alcohol artesanal con hidrolato de manzanilla (*Matricaria chamomilla*) y aceite esencial de naranja (*Citrus spp.*).
- Cuantificar la concentración de alcohol presente en el gel antibacterial por medio del método de cromatografía de gases.
- Verificar la efectividad bactericida del gel antibacterial a través de una prueba microbiológica.

CAPÍTULO II

2 METODOLOGÍA

2.1 Materiales y Equipos

2.1.1 Material de Análisis.

Las pruebas fisicoquímicas del gel antibacterial fueron realizadas por duplicado en el transcurso de tres semanas. La concentración de alcohol en gel se obtuvo a partir de la cuantificación por cromatografía de gases y prueba de efectividad se realizó mediante la prueba acredita por el ARCSA, según la normativa Europea UNE-EN-1040, en el laboratorio LABOLAB (laboratorio de análisis de alimentos aguas y afines), institución acreditada por el SAE (LEN 06-001) en el cumplimiento de la normativa ISO/IEC 17025, para su posterior análisis de los resultados.

2.1.2 Materiales de Laboratorio

- Micropipeta
- Puntas de micropipeta
- Vasos de precipitados
- Varilla de agitación
- Tubos de ensayo
- Asas de siembra
- Mecheros
- Gel antibacterial
- Toallas de cocina

- Rotuladores
- Cepas de *E.coli* y *Staphylococcus aureus*
- Agar PCA

2.1.3 Equipos

- Cromatógrafo de gases Agilent Technologies con detector FID
- Densímetro electrónico (Mettler Toledo)
- Alcoholímetro electrónico (Mettler Toledo)
- pH-metro
- Viscosímetro (QUIMIS)

2.2 Métodos.

2.2.1 Parámetros de calidad.

La Agencia Nacional de Regulación, Control y Vigilancia Sanitaria (ARCSA), dispone de un instructivo externo el cual menciona las especificación físico químicas y organolépticas para productos cosméticos de higiene personal en el que se encuentra el gel antibacterial (ARCSA, 2017).

2.2.1.1 Pruebas Organolépticas.

Para realizar las pruebas organolépticas se colocó 120ml de gel antibacterial en un vaso de precipitación, se utilizó la técnica NTE INEN 2867 al determinar el aspecto, apariencia y color del gel antibacterial, donde se tomó en cuenta su sistema coloidal, la limpieza en la que se encontraba la muestra y la transparencia de la misma.

La técnica NTE INEN 850 fue necesaria para la percepción del olor llevando a cabo el método de escala de percepciones olfativas la cual consta de rangos de cero a tres, siendo cero característico, uno levemente modificado, dos modificado y tres intensamente modificado.

Al realizar esta prueba se verificó si el producto cumple con los requisitos técnicos estipulados en la Normativa vigente Decisión 516 de la Comunidad Andina de Naciones (CAN) y el instructivo interno para las especificaciones fisicoquímicas, organolépticas y microbiológicas para los productos cosméticos de bajo riesgo implementado por el ARCSA.



Figura 1. Toma de muestra para la realización de las propiedades organolépticas.

2.2.1.2 Pruebas Fisicoquímicas.

Para la concentración de Alcohol en gel antibacterial se empleó un alcoholímetro electrónico Mettler Toledo PortableLab™. Primero se encendió el equipo para realizar la configuración del mismo ingresando al menú y señalando la categoría perteneciente a la concentración de alcohol en %v/v, para ello se ingresó el tubo de muestreo en alcohol al 96% para su calibración, una vez realizado el paso anterior y expulsada la muestra de referencia se introdujo el tubo de muestro en el gel antibacterial tomando una cierta cantidad de muestra, se esperó unos segundos para tomar los valores de la concertación de alcohol en el gel antibacterial, finalmente se analizaron los resultados y se verificó si el producto cumple con las especificaciones implementado por el ARCSA en la resolución del ARCSA-DE-015-2020 (ARCSA, 2020).

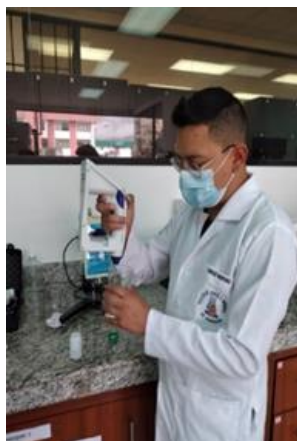


Figura 2. *Determinación de la concentración de alcohol en gel con un alcoholímetro digital Mettler Toledo PortableLab™*

La densidad fue medida por un densímetro electrónico Mettler Toledo PortableLab™. Primero se encendió el equipo para realizar la configuración del mismo ingresando al menú y señalando la categoría a utilizar en este caso densidad en g/cm^3 , luego se ingresó el tubo de muestreo en agua destilada para su calibración, una vez realizado el paso anterior y expulsada la muestra de referencia se introdujo el tubo de muestreo en el gel antibacterial tomando una cierta cantidad de muestra, se esperó unos segundos para tomar los valores de la densidad, finalmente se analizaron los resultados y se verificó si el producto cumple con las especificaciones implementado por el ARCSA.

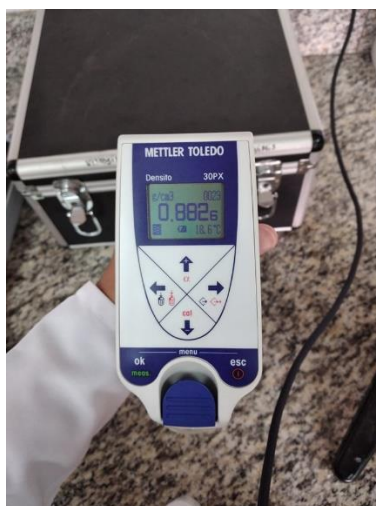


Figura 3. *Determinación de la densidad en gel con el densímetro digital de marca Mettler Toledo PortableLab™*

El pH o potencial de iones hidrógeno fue medido utilizando la técnica NTE INEN – ISO 4316 la cual menciona que antes de utilizar el equipo se debe tener como mínimo dos soluciones buffer para su calibración, también que su potenciómetro incluya un sistema de compensación de temperatura ente 0.1 unidades de pH y su electrodo sea de vidrio. Una vez calibrado el equipo y cumpliendo con la técnica mencionada se enjuagó con agua destilada el electrodo, para ser secado e introducido en la muestra de gel antibacterial, tomando lectura del pH y se registrando su valor para así conocer si el gel analizado tiene una concentración ácida o alcalina según los resultados obtenidos y se verificó si el producto cumple con las especificaciones implementado por el ARCSA.



Figura 4. *Medición del pH en la muestra de gel.*

Finalmente para el análisis de la viscosidad se utilizó un viscosímetro rotacional de marca QUIMIS como primer paso se armó el equipo colocándolo en una base plana para que este se encuentre nivelado, en la parte posterior del viscosímetro se colocó el sensor de temperatura y se encendió el equipo. Como segundo paso se atornillo el husillo al viscosímetro por ser el gel antibacterial una sustancia semisólida y de alta viscosidad se utilizó el husillo N°4 configurando el rotor al mismo nivel. Finalmente la velocidad del viscosímetro fue de 50RPM para realizar las mediciones, aportando porcentajes de torque entre el 60% al 70 %, los resultados obtenidos en las mediciones serán analizados según los valores establecidos por el ARCASA.



Figura 5. *Viscosímetro rotacional QUIMIS utilizado para la medición de la viscosidad.*

2.2.1.3 Concentración de Alcohol por cromatografía de gases.

La cuantificación del contenido de alcohol presente en la muestra se midió por cromatografía de gases donde se separarán los distintos componentes de la muestra, el cromatógrafo a utilizar será Agilent 5973 GC/MS System, equipo que separará compuestos volátiles presentes en el gel, permitiendo identificar y cuantificar en un solo análisis la muestra requerida.

En la muestra se inyectó en la fase móvil compuesta por un gas inerte que permite el transporte de los componentes a través de fase estacionaria, estos a su vez serán separadas por un mecanismo de absorción y separación, los componentes abandonan la columna de acuerdo a su interacción con la fase estacionaria, mismos que pasan por un sistema de detección FID generando un registro de señal **(Ponce, 2013)**.

Este equipo se encuentra acoplado con un detector de ionización de llama (FID), la cual es una técnica de separación eficiente que permite cuantificar compuestos orgánicos volátiles por medio de un detector sensible a la masa, este método consiste en encender eléctricamente el efluente con el hidrogeno en la columna, algunos componentes orgánicos conducen electricidad a través de la llama por medio de iones y electrones que se forman cuando la muestra se piroliza a cierto rango de temperatura, para posteriormente aplicar una diferencia de potencial situadas en cada extremo de la

llama, la ionización en llama no está establecida completamente, pero el número de iones que se produce es cercano al de átomos de carbono transformados en llama (**Rendón Marín & Pineda Orozco, 2010**).

Tabla 1. *Condiciones cromatográficas generales.*

Parámetros	Condiciones
Volumen de inyección	1µl
Modo de inyección	Splitless
Temperatura de inyector	250 °C
Modo de flujo del gas	Constante
Fase móvil	Hidrogeno
Temperatura inicial	40 °C
Temperatura final	220°C
Tiempo de corrido	12 min
Tipo de detector	FID
Tipo de inyección	Inyección 10 uL
Temperatura del detector	300 °C

Nota: Condiciones del cromatógrafo, Agilent 5973 GC/MS System.

Se empleó el GC con detector FID, debido a que responde a la mayoría de los compuestos orgánicos, cuya temperatura máxima de funcionamiento es de 450°C, permitiendo obtener resultados en corto tiempo (**Casper, 2018**). Cada componente presente en la muestra será separado por el detector, el cual emite una señal proporcional a la cantidad del analito, en este caso el detector FID incinera los componentes expulsados de la columna transformándolos en iones durante la combustión (**Córdova, 2020**).

Esta señal es interpretada por el detector para posteriormente representarse en un cromatograma que relaciona la concentración del efluente con el tiempo, estos resultados se mostraran en forma de picos, los cuales están compuestos por un área determinada, si las áreas se encuentran cercanas entre sí, se deberá realizar un ajuste que permita observar de mejor manera el cromatograma **(Córdova, 2020)**.

2.2.1.3.1 Análisis Cromatográficos.

El análisis de los resultados será de manera cuantitativa teniendo una identificación de altura y área del pico aportado por el cromatograma, por medio de una calibración externa debido a que en el gel antibacterial se utilizan varios estándares en distintas concentraciones del analito.

En la cuantificación del porcentaje de alcohol se empleó una curva de calibración por estándar externo, se preparó soluciones de concentraciones conocidas, donde se midieron las señales para formar una gráfica lineal en función del área determinada por el equipo y la concentración de la solución preparada, para esto se realizó la lectura de tres soluciones estándar, siendo tres como mínimo y cinco como máximo **(Espejo, 2016)**.

La concentración de alcohol en gel se determinó en base a la fórmula de la ecuación de la recta obtenida de la curva de calibración, despejando su concentración de la misma.

$$y = mx + b$$

$$x = \frac{y - b}{m}$$

Ec. 1

Donde:

m = Pendiente

y = Área obtenida en el cromatograma

x = Concentración de la muestra de Alcohol.

b = Ordenada al origen

Despejando de la ecuación de la recta se obtuvo la fórmula para el cálculo de la concentración de alcohol en la muestra.

Para hallar el % v/v se tuvo que multiplicar por el factor de dilución y su densidad, ya que la concentración que dio como resultado fue en % p/v, para esto se realizó con el método de **(Gallart, 2018)**, con algunas modificaciones.

Concentración real (CR) del etanol en la muestra en gramos (g):

$$CR = \frac{FD \times x}{1 \times 10^6}$$

Ec. 2

Donde:

CR = Concentración real (g)

FD = Factor de dilución

x = Concentración de la muestra (mg/L)

Cálculo del volumen de etanol en mL:

$$V = \frac{m}{\rho}$$

Ec.3

Donde:

ρ = Densidad (g/mL)

m = Masa (g)

V = Volumen (mL)

Determinación del % v/v de etanol:

$$\% \frac{v}{v} = \frac{\text{volumen de soluto}}{\text{volumen de solución}} * 100\%$$

Ec.4

2.2.1.4 Prueba de efectividad.

Se realizó en base a la prueba acredita por el ARCSA, según la normativa europea UNE-EN-1040, evaluando el tiempo de contacto de los microorganismos de 1, 5 y 10 minutos según lo establecido por la norma a una temperatura de $(23 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C})$, para ello se utilizó microorganismos como *Escherichia coli* ATCC 25922 y *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 microorganismos ideales para pruebas de susceptibilidad antimicrobiana y como cepas de control de calidad, estos microorganismos fueron sembrados en Agar TSA recomendado por APHA para el recuento de bacterias de interés sanitario, para considerar que el gel antibacterial utilizado presenta actividad bactericida frente a estos microorganismos se deberá demostrar una reducción no inferior a cinco en el número de células viables según su escala logarítmica.

2.2.1.4.1 Datos Experimentales de la prueba de efectividad.

La normativa española UNE-EN 1040:2006 fue utilizada para determinar actividades bactericida de productos cosméticos y desinfectantes. Como primer punto se obtuvo los valores experimentales (V_c) teniendo en cuenta el conteo de colonias entre 14 y 330, si las placas obtenidas tienen un valor inferior a 14 colonias se sustituye por < 14 y por lo tanto si las colonias obtenidas son superiores a 300 se registra con >300 , los valores obtenidos son necesarios para la actividad bactericida (N_a) (**Petersen et al., 2014**).

$$Na = \frac{Vc_1 + Vc_2}{2} \times 10$$

Ec.5

Donde:

Na: Actividad bactericida

Vc₁: Valor Experimental (1)

Vc₂: Valor Experimental (2)

La suspensión del ensayo (N) son las células por mL obtenidas por los valores aportados a tiempo cero siendo la décima parte de (N) por la dilución que se produce al añadir el gel y agua (N₀).

$$N_0 = \frac{N}{10}$$

Ec.6

Donde:

N₀ = Número de células por mL en la mezcla de ensayo al comienzo del tiempo de contacto.

N = Suspensión del ensayo

2.2.1.4.1. Reducción Logarítmica para la prueba de efectividad.

Según la normativa europea utilizada para que el gel antibacterial tenga una efectividad se debe comprobar una reducción logarítmica no inferior a cinco mediante la siguiente fórmula.

$$R = \frac{N_0}{Na}$$

Ec.7

Donde:

R = Reducción logarítmica

N_0 = Número de células por mL en la mezcla de ensayo al comienzo del tiempo de contacto.

N_a = Actividad bactericida

Los microorganismos utilizados en el ensayo como *Escherichia coli* ATCC 25922 y *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 tuvieron unidades de UFC/mL tanto en la suspensión de ensayo (N), mediante la actividad bactericida N_a y su posterior cálculo de N_0 . Cada condición experimental se dio mediante el cálculo logarítmico (LogR) con la siguiente ecuación:

$$\text{Log } R = \text{Log } N_0 - \text{Log } N_a$$

Ec.8

LogR= Logaritmo de la reducción logarítmica

Log N_0 = Logaritmo del Número de células por mL en la mezcla de ensayo al comienzo del tiempo de contacto.

Log N_a = Logaritmo de la actividad bactericida.

CAPITULO III

RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

3.1 Determinación de los parámetros fisicoquímicos del gel antibacterial.

La determinación de los parámetros fisicoquímicos realizados en la investigación fueron los requeridos por la Agencia Nacional de regulación, Control y Vigilancia Sanitaria (ARCSA) en su instructivo externo para productos cosméticos de bajo riesgo sugiere que los análisis fisicoquímicos a realizar son: valor del pH, Densidad, Viscosidad y concentración del alcohol. Mencionando también un control del producto mediante pruebas organolépticas.

3.1.1 Pruebas organolépticas

El gel antibacterial al ser un sustituto de la higiene personal la Agencia Nacional de regulación, Control y Vigilancia Sanitaria (ARCSA) en su instructivo externo menciona que estos tipos de cosméticos deben cumplir ciertas especificaciones para poder ser utilizados en nuestra piel como es el caso de las pruebas organolépticas que son detectadas por los órganos de los sentidos ya que estas pruebas determinan la aceptación del producto siendo los parámetros a evaluar su color, Olor, Apariencia y Aspecto (ARCSA, 2020).

Tabla 2. *Resultados de las pruebas organolépticas.*

Propiedades	Día 1	Día 3	Día 8	Día 10	Día 14	Día 16
Color	Incoloro – Transparente	Incoloro – Transparente	Incoloro – Transparente	Incoloro – Transparente	Incoloro – Transparente	Incoloro – Transparente
Olor	Modificado	Modificado	Modificado	Modificado	Modificado	Modificado
Apariencia	Gel con partículas en suspensión	Gel con partículas en suspensión	Gel con partículas en suspensión	Gel con partículas en suspensión	Gel con partículas en suspensión	Gel con partículas en suspensión
Aspecto	Gel viscoso translucido	Gel viscoso translucido	Gel viscoso translucido	Gel viscoso translucido	Gel viscoso translucido	Gel viscoso translucido

Nota: La identificación de los resultados en las muestras obtenidas se basaron según lo expuesto por el ARCSA.

El control de calidad de los cosméticos antibacteriales tiene como objetivo la verificación y conformidad del producto frente a las especificaciones establecidas por el fabricante, ya que estas pruebas dependen del cuidado en el momento de la manipulación de la muestra según el instructivo externo proporcionado por el ARCSA en sus especificaciones fisicoquímicas, organolépticas y microbiológicas para los productos cosméticos de bajo riesgo es necesario realizar la evaluación del producto de manera quincenal, mensual y trimestral (**ARCSA, 2017**), evaluando si existieron cambios en la muestra ya sea en su color por la oxidación del producto, pérdida de consistencia, formaciones de grumos por alteración en su fórmula o cambios bruscos en la temperatura.

Al evaluar los parámetros organolépticos tabla 2, se identificaron que no existieron cambio alguno del producto al transcurso de los días sin alteración en su formulación, debido a que el gel antibacterial conservó su color transparente siendo este análisis realizado bajo condiciones de luz blanca, su apariencia tuvo partículas en suspensión, el aspecto fue viscoso y translucido (**Anexo 1**), la percepción del olor fue modificado por que conservó en su aroma el aceite esencial de naranja y el hidrolato de manzanilla brindando un olor agradable al ser utilizado en nuestras manos.

En el transcurso de los días las pruebas organolépticas evaluadas no tuvieron cambio alguno, esto se debe a que la muestra se conservó en temperatura ambiente, el envasado del producto fue el mismo en el transcurso de los días para que no pierda su olor, apariencia y aspecto, según (**Cañizo, 2005**), menciona que al tener una alteración en estas pruebas se debe evaluar nuevamente la formulación y concentraciones de los productos utilizados en la elaboración de este tipo de cosméticos realizando estas evaluaciones de manera progresiva teniendo en cuenta siempre la eficacia y las necesidades para la que se creó el producto.

3.1.2 Pruebas fisicoquímicas

Las pruebas fisicoquímicas valoran si el producto presenta alteraciones en la formulación que no son perceptibles a simple vista, al realizar estos análisis se puede demostrar si existieron problemas entre los resultados del proceso de fabricación o de

los ingredientes utilizados en el gel antibacterial. El ARCSA en su instructivo externo para productos cosméticos de bajo riesgo sugiere que los análisis fisicoquímicos a realizar son: valor del pH, Densidad, Viscosidad y concentración del alcohol (ARCSA, 2020).

Tabla 3. Valores obtenidos de pH, temperatura, densidad, viscosidad, y concentración de alcohol.

Propiedades	Día 1	Día 3	Día 8	Día 10	Día 14	Día 16
pH	5.72	5.76	5.84	5.85	5.96	6.05
Temperatura (°C)	18.3	18.8	17.8	18.0	18.4	17.9
Concentración de Alcohol (% V/V)	73.8	73.6	72.9	72.5	71.8	71.2
Densidad (g/cm ³)	0.885	0.882	0.881	0.878	0.876	0.876
Viscosidad mPa.s	7956	7836	7800	7752	7592.7	7320

Nota: Los valores obtenidos de la viscosidad fueron tomados a una velocidad de 50 RPM y con un porcentaje en torque del 60 % al 70%.

3.1.2.1 Evaluación del pH en el gel antibacterial.

El gel antibacterial al ser considerado un producto cosmético debe cumplir con las especificaciones de la normativa NTE INEN 2867, en las cuales menciona, el pH ideal para estos productos debe oscilar su valor entre 5.5 a 7.5 (ARCSA, 2020), en temperatura no mayor a 40°C, esto se debe a que el manto ácido y la película hidrolipídica que protege las capas externas de nuestras manos poseen un pH ligeramente ácido el cual oscila entre 4.7 y 5.75, es necesario mencionar que nuestras manos siempre se encuentran sometidas a estrés por estar expuestas a fuerzas externas,

debilitando el manto ácido protector de las manos generando irritaciones (**Orlandi, 2018**).

Al evaluar los resultados del gel antibacterial tabla 3, tienden a aumentar su rango pero estos se encuentran en el límite permitido según la normativa NTE INEN 2867 el valor en pH del gel antibacterial no es inferior a 5.5 o superior a 7.5, siendo este producto ideal para nuestras manos sin provocar alteraciones al manto ácido o a la película hidrolipídica de la piel evitando así que el uso constante del gel provoque irritaciones o desecación al momento de su aplicación.

3.1.2.2 Evaluación de la densidad en el gel antibacterial.

La densidad ideal para un gel antibacterial a temperatura ambiente oscila entre 0.8 a 1.15 g/cm³ (**ARCSA, 2020**), la densidad del gel antibacterial al transcurso de los días disminuyó **tabla 3**, pero se conservó en el rango establecido para este tipo de cosméticos, esta disminución puede darse por su manipulación constante, su temperatura, las burbujas de aire o impurezas que se encontraban en el dispositivo electrónico y también su viscosidad ya que la muestra de gel amortigua la frecuencia de oscilación del tubo de muestreo (**Toledo, 2021**).

3.1.2.3 Evaluación de la viscosidad en el gel antibacterial.

La viscosidad es la resistencia de un líquido a fluir, conocido comúnmente como “espesor” de un fluido, el valor ideal para este tipo de sustancia semisólida oscila entre 6000 a 8000 Cps (**ARCSA, 2020**), al determinar la viscosidad se utilizaron varias velocidades entre 30RPM y 60RPM tomando siempre en cuenta la fuerza que genera el torque siendo el porcentaje ideal ente 60% al 70% (**López, 2017**), aportando valores fiables a 50RPM (Anexo 4) encontrándose en el rango establecido según su porcentaje en torque, al identificar los resultados tabla 3, disminuyen según el transcurso de los días esto se debe a la variación de temperatura, el tiempo de rotación del husillo durante la prueba, perdida de espesor en la muestra por el maltrato de la misma y una indebida nivelación del equipo al momento de utilizarlo.

3.1.2.4 Evaluación de la concentración de alcohol en el gel antibacterial.

Según el ARCSA en su resolución DE-015-2020, los productos cosméticos que contengan alcohol con propiedades desinfectantes deben cumplir un porcentaje entre el 60% al 70% en su concentración de alcohol al superar estos porcentajes el producto será considerado como medicamento además deberá cumplir también con las especificaciones de la comunidad andina (516 y 706) donde se menciona la cuantificación del alcohol y su análisis de efectividad microbiana (CAN, 2017).

Analizando los valores (Tabla 3.), su concentración de alcohol en el gel disminuyó al transcurso de los días pero su rango fue superior a lo establecido en el ARCASA en la resolución DE-015-2020 superando el valor del 70% en su concentración de alcohol ya que al superar esta concentración estos productos son considerados como medicamentos no como cosméticos antibacteriales (ARCSA, 2020), este análisis fue realizado por un dispositivo electrónico donde la temperatura y las burbujas de aire o impurezas que se encontraban en el dispositivo pueden aportar con esta variación de los resultados obtenidos siendo la manera precisa de cuantificar esta concentración por cromatografía de gases (Toledo, 2021).

3.2 Cuantificación de la concentración de alcohol presente en el gel antibacterial por medio del método de cromatografía de gases.

3.2.1 Curva de calibración por patrón externo.

Una de las formas de medir la efectividad de un gel antibacterial, es en base a su contenido de etanol, el cual es un compuesto orgánico que en altas concentraciones sirve para disminuir la cantidad de bacterias presentes en el área aplicada (D. Alvarado et al., 2010), entre las concentraciones más usadas está la de % p/v y % v/v, que de acuerdo a (Toapanta, 2018), el etanol con una concentración de 70% v/v presenta un rendimiento en cuanto a eliminar bacterias del 95%, esto se debe a que el etanol presenta una mayor actividad en presencia del agua, pero en concentraciones bajas no es efectivo.

Para determinar la concentración de % v/v de etanol en el gel, se realizó una curva de calibración con los datos mostrados en la tabla 4, donde se realizó la lectura de tres soluciones a diferentes concentraciones.

Tabla 4. Concentraciones y áreas de las soluciones estándar para realizar la curva de calibración de etanol por estándar externo.

Muestra	Concentración (mg/L)	Área (mAU/min)	Factor de respuesta	Tiempo de retención (min.)
1	0.801	2884,1512	$2.77725e^{-4}$	3,577
2	2.317	7714,4917	$3.00344 e^{-4}$	3,577
3	3.929	13026,7000	$3.01611 e^{-4}$	3,577

Las concentraciones usadas van de un rango de 0,801 mg/L a 3,929 mg/L, cuyas áreas fueron de 2884,151 a 13026,7000, respectivamente. El tiempo de retención de acuerdo a (Narváez & Quito, 2015), puede variar dependiendo de las condiciones experimentales como fase estacionaria, temperatura y gas portador.

La curva obtenida en base a los datos anteriores se muestra en la figura 6, obteniendo así la ecuación de la recta con un coeficiente de determinación R^2 .

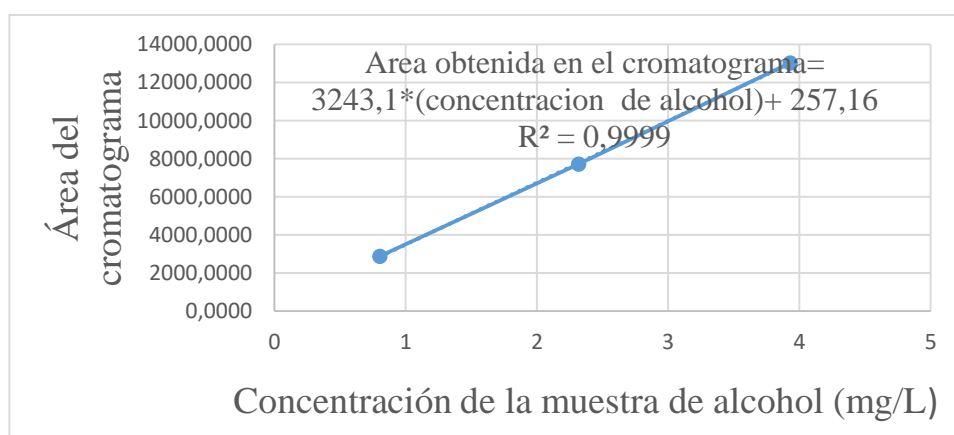


Figura 6. Curva de calibración por patrón externo

En la figura 6, se obtuvo un factor R^2 de 0,9999, el cual de acuerdo a (Costilla & Mejía Annie, 2014), menciona que un buen factor de correlación es desde 0,990,

también agrega que mientras más cercano sea el valor a 1, la correlación es mayor y que mientras más se acerque a 0 su correlación es menor. La ecuación de la recta fue necesario para el despeje de la concentración de la muestra de alcohol (mg/L) **Anexo5**.

3.3.2. Determinación del porcentaje de alcohol del gel antibacterial por cromatografía de gases acoplado con detector de ionización de llama (FID)

De acuerdo a (**Ledesma, 2019**), la cromatografía de gases es uno de los métodos más usados en la determinación de compuestos debido a su eficiencia, por otro parte el acoplamiento a ionización de llama FID, lo hace mucho más sensible, siendo así posible calcular concentraciones muy bajas de analito, es por ellos que la presente investigación se hizo una previa dilución de la muestra de gel antibacterial, teniendo así un factor de dilución (FD) de 300 000.

En la figura 7, se muestra el cromatograma obtenido de la muestra de gel diluida analizada, donde el valor del área de etanol fue de 6304,43, cabe mencionar que no existen áreas representativas de otro analito, debido a que el etanol es el componente que se encuentra en mayor cantidad.

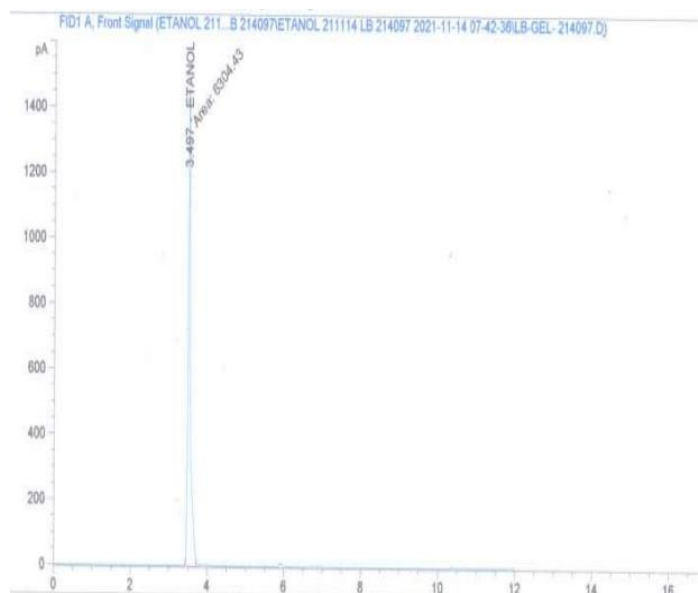


Figura 7. *Cromatograma de la muestra de gel antibacterial analizada*

Tabla 5. *Concentración de alcohol en la muestra del gel antibacterial.*

Parámetro	Unidad	Método	Resultado
Concentración de Alcohol	% v/v	Catalogo Agilent Technologies pág 501 modificado/ Cromatografía gases con detector FID	70

Nota: El porcentaje es ideal para ser utilizado como cosmético antibacterial.

Por otra parte, el tiempo de retención fue 3,497, pueden existir pequeñas variaciones del tiempo de retención que en algunos casos son causadas por interferencias (**Bustos, 2017**), el porcentaje de etanol obtenido fue aproximadamente del 70 % v/v (tabla 4.), cabe mencionar que la curva de calibraciones se realizó en porcentaje p/v. Existen diversos métodos que permiten determinar la concentración de etanol, en este caso es recomendable elegir correctamente las condiciones y materiales que se van a usar para el análisis (**Pérez, 2019**), debido a que la curva de calibración se realizó en concentraciones de mg/L y la densidad de etanol utilizada fue de 0,78934 g/mL (**Estrada et al., 2016**).

Según la resolución ARCSA-DE-015-2020 en su artículo seis menciona que los productos que contengan alcohol dentro de su formulación son considerados como cosmético antibacterial y deben cumplir con una composición cuantitativa del ingrediente alcohol. Esta cuantificación se la realizó por cromatografía de gases siendo su concentración de 70% v/v cumpliendo este valor con el artículo siete de esta resolución el cual menciona que los productos cosméticos como geles o soluciones antibacteriales deben cumplir un rango en su concentración no menor al 60% y mayor del 70% de alcohol (**ARCSA, 2020**), al analizar los datos obtenidos este porcentaje de alcohol es suficiente para que un producto sea considerado con características antibacteriales.

3.3 Efectividad Bacteriana.

La efectividad se realizó en base a la prueba acredita por el ARCSA según la normativa NTE INEN 2867, y la normativa europea UNE-EN-1040. El gel antibacterial para ser considerado un producto cosmético antibacterial además de cumplir con los parámetros fisicoquímicos y su concentración de alcohol se debe evaluar las técnicas microbiológicas de productos cosméticos en base a las resoluciones N° 2120 y 2151 de la secretaría general de la comunidad andina (CAN, 2020), en la cual se menciona la ausencia de microorganismos en un tiempo establecido para ser considerado como producto cosmético antibacterial (CAN, 2019).

3.3.1 Análisis de la prueba de efectividad.

Según la normativa europea UNE-EN-1040 para que un producto sea considerado cosmético antibacterial el tiempo de contacto de los microorganismos debe ser de 1, 5 y 10 minutos, del listado de microorganismos mencionados en la norma NTE INEN 2867, los elegidos fueron *Escherichia coli* ATCC 25922 y *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 microorganismos ideales para pruebas de susceptibilidad antimicrobiana y como cepas de control de calidad (INEN, 2015).

Tabla 6. Prueba de efectividad en *Escherichia coli* ATCC 25922

Microorganismos de Ensayo	Método	Tiempo de contacto (min)	V _{c1}	V _{c2}	Na= \bar{x} *10	Log N _a	Log R
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	UNE-EN 1040	1	< 14	< 14	< 140	< 2,15	>5,05
		5	< 14	< 14	< 140	< 2,15	>5,05
		10	< 14	< 14	< 140	< 2,15	>5,05

Nota: La prueba fue realizada en un ensayo de suspensión de $1,6 \times 10^8$ ufc/ml

En la tabla 5, se puede observar que *Escherichia coli* mostró una reducción logarítmica superior a cinco log, que corresponde con un 99,999% de reducción. El producto

presenta actividad bactericida frente al microorganismo evaluado en las condiciones de ensayo según norma UNE EN 1040.

Tabla 7. Prueba de efectividad en *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

Microorganismos de Ensayo	Método	Tiempo de contacto (min)	V _{c1}	V _{c2}	Na= \bar{x} *10	Log N _a	Log R
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	UNE-EN 1040	1	< 14	< 14	< 140	< 2,15	>5,02
		5	< 14	< 14	< 140	< 2,15	>5,02
		10	< 14	< 14	< 140	< 2,15	>5,02

Nota: La prueba fue realizada en un ensayo de suspensión de $1,5 \times 10^8$ ufc/ml

En la tabla 6, *Staphylococcus aureus* mostró una reducción logarítmica superior a cinco log, que se corresponde con el 99,999% de reducción. El producto presenta actividad bactericida frente al microorganismo evaluado en las condiciones de ensayo según norma UNE EN 1040.

Al evaluar los resultados obtenidos del gel antibacterial este producto es considerado como cosmético antibacterial ya que posee un 99,999% de efectividad ante los microorganismos evaluados, con todo lo analizado y cumpliendo con las resoluciones N° 2120 y 2151 de la comunidad andina este producto puede ser utilizado de manera regular y prologada ya que con todos los análisis realizados el gel tiene un bajo nivel de riesgo de crear hipersensibilidad por alguno de sus componentes siendo un sustituto ideal para la desinfección de nuestras manos (**Pacheco et al., 2016**).

CAPÍTULO IV

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

4.1 Conclusiones

Con la evaluación de la calidad del gel antibacterial se comprobó que cumple con todos los parámetros establecidos por la Agencia Nacional de Regulación, control y vigilancia Sanitaria (ARCSA), siendo este producto considerado como un cosmético antibacterial su aplicación puede ser de forma regular y prolongada de manera extensa sobre las manos debido a que su sistema coloidal consta de dos fases continua semisólida y de dispersión en forma líquida, siendo un sustituto ideal después del lavado de manos aportándonos con una profunda limpieza y desinfección.

Las propiedades físico químicas evaluadas en el gel antibacterial aportaron resultados satisfactorios cumpliendo con las normativas establecidas por el ARCSA, las pruebas organolépticas evaluadas no cambiaron con el transcurso del tiempo ya que su coloración transparente, su aspecto viscoso, su apariencia con partículas en suspensión y la conservación del olor según la escala evaluada cumple con la aceptación de producto.

El pH del producto cumplió con lo establecido en la normativa NTE INEN 2867 permaneciendo sus valores en el rango de 5.5 a 7.5, siendo el ideal para que no debilite el manto ácido y la película hidrolipídica las cuales protegen nuestras manos. En la resolución ARCSA-DE-006-2017 los valores de la densidad se encontraron en el rango establecido, oscilando estos entre 0,8 a 1,15 g/cm³. Al igual que su viscosidad al estar evaluada en una velocidad de 50 RPM con un porcentaje de torque entre el 60% al 70% cumplió con los rangos establecidos entre 6000 a 8000 Cps, teniendo un sistema coloidal ideal para su aplicación en las manos.

El análisis de la concentración de alcohol en el alcoholímetro electrónico utilizado no cumplió con los estándares establecidos por el ARCSA en su resolución DE-015-2020 ya que sus valores superaron en gran cantidad al 70% v/v y con ello no considerándolo como un producto cosmético desinfectante si no como un medicamento ya que rebasa en gran cantidad estos límites de concentración.

La cuantificación del alcohol por cromatografía de gases fue necesario ya que aportó un resultado más preciso y confiable siendo este método el ideal para su cuantificación, ya que su factor R^2 fue de 0,9999 ideal para el análisis del mismo obteniendo un porcentaje de alcohol aproximadamente del 70 % v/v, cumpliendo con la resolución ARCSA-DE-015-2020, siendo considerado el gel antibacterial elaborado a partir de alcohol artesanal con hidrolato de manzanilla y aceite esencial de naranja como un cosmético antibacterial.

La prueba de efectividad se verificó mediante la normativa NTE INEN 2867, en base a la normativa europea UNE-EN-1040, utilizando los microorganismos *Escherichia coli* ATCC 25922 y *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 en intervalos de tiempo ente 1, 5 y 10 minutos, al analizar los resultados en escala logarítmica su efectividad fue del 99,999% cumpliendo con las resoluciones N° 2120 y 2151 de la comunidad andina siendo ideal para la desinfección de nuestras manos cumpliendo con todos los parámetros de calidad establecidos por el ARCSA considerando a este producto como un cosmético antibacterial de uso frecuente y prolongado para nuestras manos.

4.2 Recomendaciones

- Al realizar la medición del pH en las pruebas fisicoquímicas se debe de seguir la normativa NTE INEN – ISO 4316 la cual menciona que antes de realizar los análisis el equipo debe ser calibrado por al menos dos soluciones buffer para una mejor obtención de resultados y así evitar fallas en los mismos.
- La medición de la densidad en el equipo electrónico debe asegurarse que no posea burbujas o residuos de la sustancia con la que se calibró el equipo ya que tienden a alterar los valores y se debe realizar varias mediciones de los mismos.
- Para tener una mejor valoración en la concentración de alcohol al momento de su formulación es necesario pesar una menor cantidad del alcohol rectificado para que no alteren en su totalidad los porcentajes de concentración regidos por el ARCSA.
- Es recomendable realizar los análisis de la calidad de manera trimestral o semestral debido al alto costo que poseen los análisis de cuantificación y efectividad bacteriana.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.

- Ali, B., Al-Wabel, A., Shams, S., Ahamad, A., Khan, A., & Anwar, F. (2015). *Essential oils used in aromatherapy: A systemic review*. <https://doi.org/10.1016/j.apjtb.2015.05.007>
- Alvarado, D., García, J. D., & Arias-Echandi, L. (2010). *Evaluación de la efectividad del alcohol-gel en la desinfección de manos y su estabilidad a través del tiempo*. <http://www.revbiomed.uady.mx/pdf/rb102115.pdf>
- Alvarado, P., Merchan, I., & Landaeta, M. E. (2012). Aislamiento microbiológico en trabajadores de salud posterior a la higiene de manos. In *Bol Venez Infectol* (Vol. 31).
- Álvarez, S. (2019). *DESARROLLO DE UN METODO DE ANÁLISIS POR CROMATOGRAFÍA LÍQUIDA DE ALTA EFICIENCIA (HPLC-DAD) PARA LA CARACTERIZACIÓN DE ESPECIES DE LA FAMILIA ASTERACEAE*. ANGULO ALVAREZ SUSSAN XILENA JAIMES GARCIA LILIANA PATRICIA. moz-extension://ef8ba677-3462-4f74-9f59-f29afa31126b/enhanced-reader.html?openApp&pdf=https%3A%2F%2Frepository.udca.edu.co%2Fbitstream%2Fhandle%2F11158%2F1367%2FPROYECTO%2520DE%2520GRADO%2520SUSSAN%2520ANGULO%2520Y%2520LILIANA%2520JAIMES.pdf%3Fsequence%3D1%26isAllowed%3Dy
- Amy Simonne. (2019). *Hand Hygiene and Hand Sanitizers 1*. 1–5. <https://edis.ifas.ufl.edu/pdf/FY/FY73200.pdf>
- Anaya, M., Barbada, E., Padrón, J., Borrero, S., & Valdés, O. (2015). Influencia del campo magnético sobre el crecimiento de microorganismos patógenos ambientales aislados en el Archivo Nacional de la República de Cuba . *Biomédica*, 35(3), 325–336. <https://www.redalyc.org/pdf/843/84341144006.pdf>
- ARCSA. (2017). *INSTRUCTIVO EXTERNO*. moz-extension://ef8ba677-3462-4f74-9f59-f29afa31126b/enhanced-reader.html?openApp&pdf=https%3A%2F%2Fwww.controlsanitario.gob.ec%2Fwp-content%2Fuploads%2Fdownloads%2F2019%2F04%2FIE-C.2.2-COS-

02-Especificaciones-fisicoqu%25C3%25ADmicas-organol%25C3%25A9pticas-y-microbiol%25C3%25B3gicas-para-los-productos-cosm%25C3%25A9ticos-de-bajo-riesgo.pdf

ARCSA. (2020a). *RESOLUCIÓN ARCSA-DE-015-2020-LDCL LA DIRECCIÓN EJECUTIVA DE LA AGENCIA NACIONAL DE REGULACIÓN, CONTROL Y VIGILANCIA SANITARIA-ARCSA, DOCTOR LEOPOLDO IZQUIETA PEREZ CONSIDERANDO.*

ARCSA. (2020b). *RESOLUCIÓN ARCSA-DE-015-2020-LDCL LA DIRECCIÓN EJECUTIVA DE LA AGENCIA NACIONAL DE REGULACIÓN, CONTROL Y VIGILANCIA SANITARIA-ARCSA, DOCTOR LEOPOLDO IZQUIETA PEREZ CONSIDERANDO.* 1–10.

https://members.wto.org/crnattachments/2021/TBT/ECU/final_measure/21_4731_00_s.pdf.

ARCSA. (2020c). *INSTRUCTIVO EXTERNO.* 1–7.

<https://www.controlsanitario.gob.ec/wp-content/uploads/downloads/2017/03/Instructivo-Externo-especificaciones-fisico-quimicas-organolépticas-y-microbiológicas-cosméticos-de-bajo-riesgo.pdf>

Axe, J. (2018). COMMON ESSENTIAL OILS. *Holtyn*, 2(6), 1–5. [https://wmich.edu/sites/default/files/attachments/u135/2017/Essential Oil Handout.pdf](https://wmich.edu/sites/default/files/attachments/u135/2017/Essential%20Oil%20Handout.pdf)

Bonilla, H., Carbajal, Y., Gonzales, M., Vásquez, V., & López, A. (2019). Determination of the insecticide activity of the saponine of the quinoa (*Chenopodium quinoa*) in larvae of *Drosophila melanogaster*. *Scientia Agropecuaria*, 10(1), 39–45. <https://doi.org/10.17268/SCI.AGROPECU.2019.01.04>

Bustos, A. (2017, July 17). *Métodos de análisis de etanol*. https://www.researchgate.net/profile/Alan-Bustos-Correa/publication/349569660_Metodo_de_analisis_de_etanol_en_muestras_post-mortem_e_interpretacion_de_resultados/links/60366354a6fdcc37a84d829b/Metodo_de_analisis_de_etanol_en_muestras_post-mortem_e_interpretacion_de_resultados

odo-de-analisis-de-etanol-en-muestras-post-mortem-e-interpretacion-de-resultados.pdf

CAN. (2017). *CAPÍTULO I DEFINICIONES Y ÁMBITO DE APLICACIÓN*. 1–25. [https://aplicaciones.msp.gob.ec/salud/archivosdigitales/documentosDirecciones/dnvcv/archivos/desicion 516.pdf](https://aplicaciones.msp.gob.ec/salud/archivosdigitales/documentosDirecciones/dnvcv/archivos/desicion%20516.pdf)

CAN. (2019). *Reglamento técnico andino sobre especificaciones técnicas microbiológicas de productos cosméticos*. 1–7. https://www.controlsanitario.gob.ec/wp-content/uploads/downloads/2019/12/RESOLUCIÓN-Nº-2120-_Reglamento-Técnico-Andino-sobre-Especificaciones-Técnicas-Microbiológicas-de-Productos-Cosméticos.pdf

CAN. (2020). *Modificación de la resolución N° 2120*. 1–3. <https://www.controlsanitario.gob.ec/wp-content/uploads/downloads/2020/06/RESOLUCIÓN-Nº-2151-Modificatoria-de-la-Resolución-Nº-2120-Reglamento-Técnico-Andino-sobre-Especificaciones-Técnicas-Microbiológicas-de-Productos-Cosméticos.pdf>

Canakkale, A. (2018). *CHROMATOGRAPHY*. [https://www.med.upenn.edu/robertsonlab/assets/user-content/documents/Types of Chromatography.pdf](https://www.med.upenn.edu/robertsonlab/assets/user-content/documents/Types%20of%20Chromatography.pdf)

Cañizo, C. (2005). La evaluación de la actividad de los cosméticos. *Med Cutan Iber Lat Am*, 33(3), 135–141. <https://www.medigraphic.com/pdfs/cutanea/mc-2005/mc053j.pdf>

Casper, B. (2018). *Análisis de bebidas alcohólicas*. 1–6. <https://www.agilent.com/cs/library/applications/application-distilled-spirits-8890-gc-5994-0487es-es-agilent.pdf>

Castañeda-Narváez, J. L., & Hernández-Orozco, H. G. (2016). Hand hygiene with solutions Alcohol Swabs. *Acta Pediatrica de Mexico*, 37(6), 358–361. <https://doi.org/10.18233/apm37no6pp358-361>

Castilla Rodríguez Directores, M., & Hernández Fernández Antonia Pérez de los Ríos Patricio Zapata Henríquez, F. (2020). *ESTUDIO DE LA SEPARACIÓN*

ETANOL-AGUA MEDIANTE LÍQUIDOS IÓNICOS. moz-extension://ef8ba677-3462-4f74-9f59-f29afa31126b/enhanced-reader.html?openApp&pdf=https%3A%2F%2Frepositorio.upct.es%2Fbitstream%2Fhandle%2F10317%2F3764%2Ftfm229.pdf%3Fsequence%3D1%26isAllowed%3Dy.pdf

Chalacamá, J. (2016). *Efecto del hidrolato de manzanilla (Matricaria chamomilla) en el manejo de Phytophthora infestans en el cultivo de papa variedad Superchola Centro Experimental San Francisco” Huaca-Carchi*. <http://190.15.129.74/bitstream/123456789/562/1/315 efecto del hidrolato de manzanilla en el manejo.pdf>

Córdova, M. (2020). *Determinación del perfil lipídico en yogurt de consumo masivo mediante el desarrollo e implementación de un método analítico, como aporte a la información nutricional en la provincia de Tungurahua*. 1–75. <https://repositorio.uta.edu.ec/bitstream/123456789/31590/1/BQ 237.pdf>

Coskun, O. (2016). Separation Techniques: CHROMATOGRAPHY. *Northern Clinics of Istanbul, November 2016*. <https://doi.org/10.14744/nci.2016.32757>

Costilla, L., & Mejía Annie. (2014). Determinación por cromatografía de gases, valor del coeficiente. *Horiz Med*, 14(2), 34–38. <http://www.scielo.org.pe/pdf/hm/v14n2/a07v14n2.pdf>

Espejo, M. (2016). *IMPORTANCIA DE LA CALIBRACIÓN EN LOS*. 1–45. <https://idus.us.es/bitstream/handle/11441/54518/IMPORTANCIA DE LA.pdf>

Estrada, D., Barceló, I., & Holguín, S. (2016). *DIVISIÓN DE CIENCIAS BÁSICAS E INGENIERÍA AREA DE QUÍMICA*. 1–18. <http://zaloamati.azc.uam.mx/bitstream/handle/11191/2763/Practicas-de-laboratorio-de-fisicoquimica-de-los-materiales-practica-no-1.pdf?sequence=1.pdf>

Gallart, R. (2018). *Disoluciones, diluciones y densidad*. 120–134. <https://www.mheducation.es/bcv/guide/capitulo/8448184491.pdf>

Gutierrez, I. (2017). *Evaluación de la cinética de crecimiento para escherichia coli ATCC 25922, y estandarización de un método alternativo de preservación a corto*

plazo empleado buffer fosfato [Universidad Javeriana].
<https://repository.javeriana.edu.co/bitstream/handle/10554/8466/tesis133.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

Gutierrez, J. (2019). *OBTENCIÓN DE ACEITES ESENCIALES A PARTIR DE LA CÁSCARA DE NARANJA POR EL MÉTODO PRENSADO DE FRÍO*. [Universidad Mayor de San Andrés].
<https://repositorio.umsa.bo/bitstream/handle/123456789/21603/TES-1129.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

INEN. (2015). *INSTITUTO ECUATORIANO DE NORMALIZACIÓN NORMA TÉCNICA ECUATORIANA NTE INEN 2 211:2000 ENVASES. VIALES DE INYECCIÓN FABRICADOS DE VIDRIO MOLDEADO. REQUISITOS*. moz-extension://ef8ba677-3462-4f74-9f59-f29afa31126b/enhanced-reader.html?openApp&pdf=https%3A%2F%2Fwww.normalizacion.gob.ec%2Fbuzon%2Fnormas%2F2211.pdf

Jaramillo, A. (2018). *Prácticas docentes en la Facultad de Ciencias Facultad de Ciencias Universidad de Granada*.

Kimera. (2020). *Enhanced Reader*. <https://www.biocultura.org/uploads/HOJA2.pdf>

Ledesma, N. (2019). *Técnicas de análisis de cromatografía* . 1–55.
<https://fcf.unse.edu.ar/archivos/series-didacticas/SD-44-Cromatografia-CORZO.pdf>

López, A. (2019). *Conocimiento y uso del viscosímetro*.
<https://lopezva.files.wordpress.com/2019/02/conocimiento-y-uso-del-viscosimetro..pdf>

López, L. (2004). Los aceites esenciales. *Offarm*, 23(7), 88–91.
<https://www.elsevier.es/es-revista-offarm-4-articulo-los-aceites-esenciales-13064296.pdf>

Mohamed Abeer. (2020, January). *Enhanced Reader*. moz-extension://ef8ba677-3462-4f74-9f59-f29afa31126b/enhanced-reader.html?openApp&pdf=https%3A%2F%2Fwww.cehjournal.org%2Fwp-content%2Fuploads%2FCEHJ109_Covid-19_Gel.pdf

- Morán, M. (2011). *PROPUESTA DE UNA FORMULACION DE ALCOHOL GEL Y SU RESPECTIVO PROCEDIMIENTO DE REGISTRO*. moz-extension://ef8ba677-3462-4f74-9f59-f29afa31126b/enhanced-reader.html?openApp&pdf=http%3A%2F%2Fri.ues.edu.sv%2Fid%2Feprint%2F616%2F1%2F10137089.pdf
- Naeem, A., Tanveer, A., & Mohsin, T. (2018). *Essential Oils: Brief Background and Uses*. 2(4), 1–6. <http://www.remedypublications.com/open-access/essential-oils-brief-background-and-uses-516.pdf>
- Narváez, D., & Quito, N. (2015). “ESTANDARIZACIÓN DEL MÉTODO PARA ALCOHOLEMIAS POR CROMATOGRAFÍA DE GASES” TESIS PREVIA A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE BIOQUÍMICA FARMACÉUTICA AUTORAS: DIANA ESTEFANÍA NARVÁEZ CHACÓN [Universidad de Cuenca]. <https://dspace.ucuenca.edu.ec/bitstream/123456789/21835/1/TESIS.pdf>
- Orlandi, M. C. (2018). DERMATOLOGÍA COSMÉTICA. *Folia Dermatol. Peru*, 15(2), 121–124. www.unmsm.edu.pe%2Fbvrevistas%2Ffolia%2Fvol15_n2%2Fpdf%2Fa10.pdf
- Ortega, A. (2019). *Química Orgánica Industrial*. <https://www.eii.uva.es/organica/qoi/tema-06.pdf>
- OXOID. (2015). *ESPECIFICACIONES DEL PRODUCTO*. 1–5.
- Pacheco, P., García, L., Muñoz, A., & Enríquez, M. (2016). *INSTRUCTIVO EXTERNO CRITERIOS DE EVALUACIÓN PARA LA CATEGORIZACIÓN DEL RIESGO DE PRODUCTOS COSMÉTICOS PARA SISTEMAS DE CONTROL Y VIGILANCIA SANITARIA CÓDIGO INSTRUCTIVO EXTERNO: CRITERIOS DE EVALUACIÓN PARA LA CATEGORIZACIÓN DEL RIESGO DE PRODUCTOS COSMÉTICOS PARA SISTEMAS DE CONTROL Y VIGILANCIA SANITARIA FIRMAS DE REVISIÓN Y APROBACIÓN RUBRO CARGO FIRMA FECHA APROBADO POR*. 1–25. www.controlsanitario.gob.ec%2Fwp-content%2Fuploads%2Fdownloads%2F2016%2F09%2FIE-C.2.2-COS-01-INSTRUCTIVOS-CRITERIOS_DE_EVALUACION%25CC%2581N_PARA_LA_CATEGORIZACION%25CC%2581N_DEL_RIESGO_DE_PRODUCTOS_COSME%25CC%25

81TICOS_PARA_SISTEMAS_DE_CONTROL_Y_VIGILANCIA_SANITARIA_V1.0.pdf

- Pérez, M. (2019). *Determinación de Microcantidades de Metanol y de Etanol en Tolueno por Cromatografía de Gases. | Enhanced Reader*. moz-extension://ef8ba677-3462-4f74-9f59-f29afa31126b/enhanced-reader.html?openApp&pdf=https%3A%2F%2Finis.iaea.org%2Fcollection%2FNCLCollectionStore%2F_Public%2F40%2F014%2F40014170.pdf%3Fr%3D1%26r%3D1.pdf
- Petersen, P., Burrows, C. S., Berrocal, G., Cortés, S., & Angulo, I. (2014). *GUÍA GENERAL PARA LA REALIZACIÓN Y PRESENTACIÓN DE ENSAYOS DE EFICACIA DE PRODUCTOS DESINFECTANTES Y SANITIZANTES DE USO SANITARIO Y DOMÉSTICO*. 1–12. moz-extension://ef8ba677-3462-4f74-9f59-f29afa31126b/enhanced-reader.html?openApp&pdf=https%3A%2F%2Fwww.ispch.cl%2Fsites%2Fdefault%2Ffiles%2FGuiaEficaciaDesinfectantes-12012015B.pdf
- Ponce, H. (2013). Determinación de residuos de líquidos inflamables en escombros de incendios por cromatografía de gases-FID. *Revista Ciencia y Tecnología*, 81–99. <https://doi.org/10.5377/rct.v0i10.1064>
- Reinoso, E. (2017). *Chromatography*. <https://www.bioglobax.com/wp-content/uploads/2018/08/621-Chromatography.pdf>
- Rendón Marín, J. M., & Pineda Orozco, L. M. (2010). Estandarización y verificación de la determinación de colesterol en leche y sus derivados por cromatografía de gases-FID. *Tesis-Univ.*, 1–248. <https://core.ac.uk/reader/71396010.pdf>
- Rietz, M. (2019). *THE SCIENCE BEHIND ESSENTIAL OILS*. 4(3), 1–18. https://cdn.ymaws.com/www.nmnpc.org/resource/resmgr/2018_Annual_Conf_Presentations-Handouts/11_Rietz/The_Science_Behind_Essential.pdf
- Rueda, Y. X., Mancilla L, L. L., & Parada Y, P. D. (2014). *Estudio del aceite esencial de la cáscara de la naranja dulce (Citrus sinensis, variedad Valenciana) cultivada en Labateca (Norte de Santander, Colombia)*. www.infoagro.f8ba677-3462-4f74-9f59-f29afa31126b/enhanced-

reader.html?openApp&pdf=https%3A%2F%2Fwww.redalyc.org%2Fpdf%2F903%2F90350101.pdf

Ruiz, C., Díaz, C., & Rojas, R. (2015). Composición química de aceites esenciales de 10 plantas aromáticas peruanas. *Revista de La Sociedad Química Del Perú*, 81(2), 81–94. http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1810-634X2015000200002&lng=es&nrm=iso&tlng=es

Salcido, J., Villarreal, P., Díaz, M., & García, P. (2015). Evaluación de la actividad de los agentes antimicrobianos ante el desafío de la resistencia bacteriana Evaluation of the activity of antimicrobial agents against the challenge of bacterial resistance. *Revista Mexicana de Ciencias*, 42(2), 7–16. <http://www.scielo.org.mx/pdf/rmcf/v46n2/1870-0195-rmcf-46-02-00007.pdf>

Sanz, A. (2017). *Química Orgánica Industrial*. <https://www.eii.uva.es/organica/qoi/tema-06.pdf>

Sharifi-Rad, J., Sureda, A., Tenore, G. C., Daglia, M., Sharifi-Rad, M., Valussi, M., Tundis, R., Sharifi-Rad, M., Loizzo, M. R., Oluwaseun Ademiluyi, A., Sharifi-Rad, R., Ayatollahi, S. A., & Iriti, M. (2017). Biological activities of essential oils: From plant chemoeology to traditional healing systems. In *Molecules* (Vol. 22, Issue 1). <https://doi.org/10.3390/molecules22010070>

Tanu, B., & Harpreet, K. (2016). Benefits of essential oil. *Available Online Wwww.Jocpr.Com Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, 8(6), 143–149. www.jocpr.com%2Farticles%2Fbenefits-of-essential-oil.pdf

Toapanta, C. (2018). *Diseño de una planta piloto para la producción de gel antibacterial*. [moz-extension://ef8ba677-3462-4f74-9f59-f29afa31126b/enhanced-reader.html?openApp&pdf=http%3A%2F%2Fwww.dspace.uce.edu.ec%2Fbitstream%2F25000%2F17290%2F1%2FT-UCE-0017-IQU-027.pdf](http://www.dspace.uce.edu.ec%2Fbitstream%2F25000%2F17290%2F1%2FT-UCE-0017-IQU-027.pdf)

Toledo. (2021). *Profile Funcionamiento del detector de metales*. 1(2), 1–5. www.mt.com%2Fdam%2Fproduct_organizations%2Fpi%2Fprod%2FMD%2FTechnical-Manual%2FProfile%2FProfile-Metal-Detector-Operation-ES.pdf

Urquiza, I. (2008). *EVALUACIÓN DEL EFECTO BACTERICIDA DE LOS*

DESINFECTANTES EN CEPAS BACTERIANAS ATCC Y CEPAS AISLADAS DEL ÁREA DE FABRICACIÓN DE PRODUCTOS ESTÉRILES, REALIZANDO PRUEBAS DE DILUCIÓN “in use” EN LABORATORIOS BAGÓ DE BOLIVIA S.A [UNIVERSIDAD MAYOR DE SAN ANDRES].
<https://repositorio.umsa.bo/bitstream/handle/123456789/556/TN-991.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

ANEXOS

ANEXO 1

Evaluación de las propiedades organolépticas.



Gráfico 1. *Evaluación de las propiedades organolépticas Día 1.*

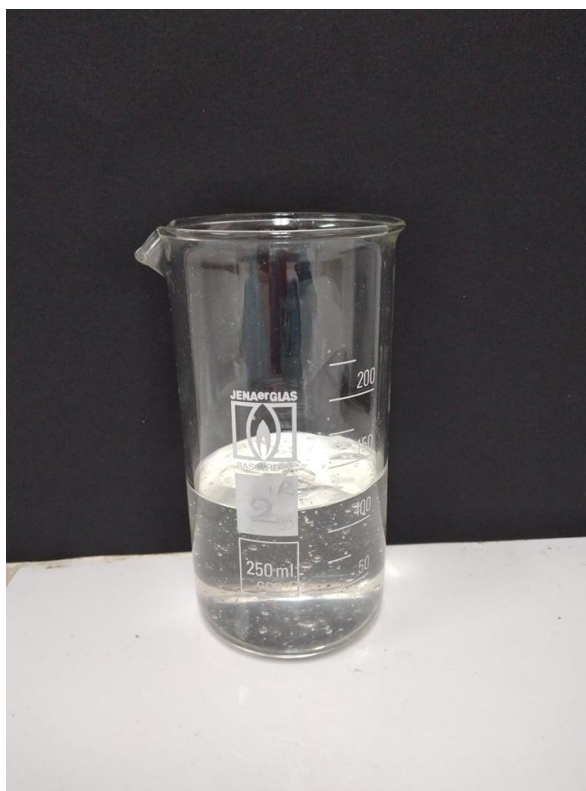


Gráfico 2. *Evaluación de las propiedades organolépticas Día 3.*



Gráfico 3. *Evaluación de las propiedades organolépticas Día 8.*



Gráfico 4. *Evaluación de las propiedades organolépticas Día 10.*



Gráfico 5. *Evaluación de las propiedades organolépticas Día 14.*



Gráfico 6. *Evaluación de las propiedades organolépticas Día 16.*

ANEXO 2

Evaluación de los parámetros fisicoquímicos, medición del pH



Gráfico 7. *Medición del pH Día 1.*

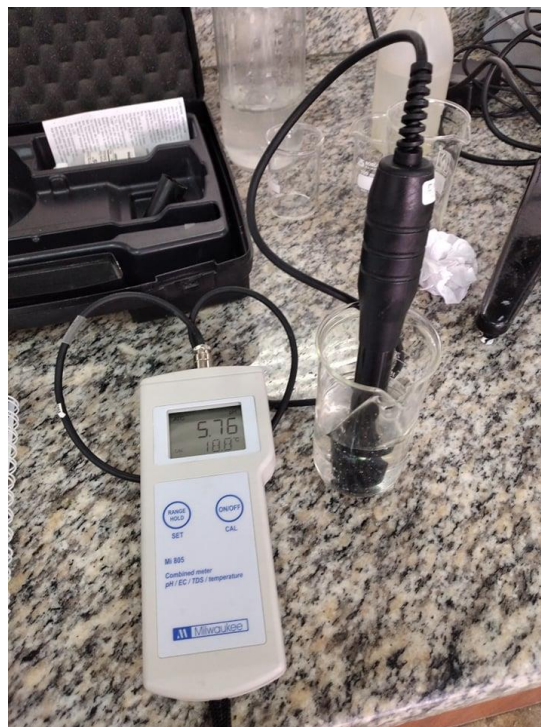


Gráfico 8. *Medición del pH Día 3.*



Gráfico 9. *Medición del pH Día 8.*

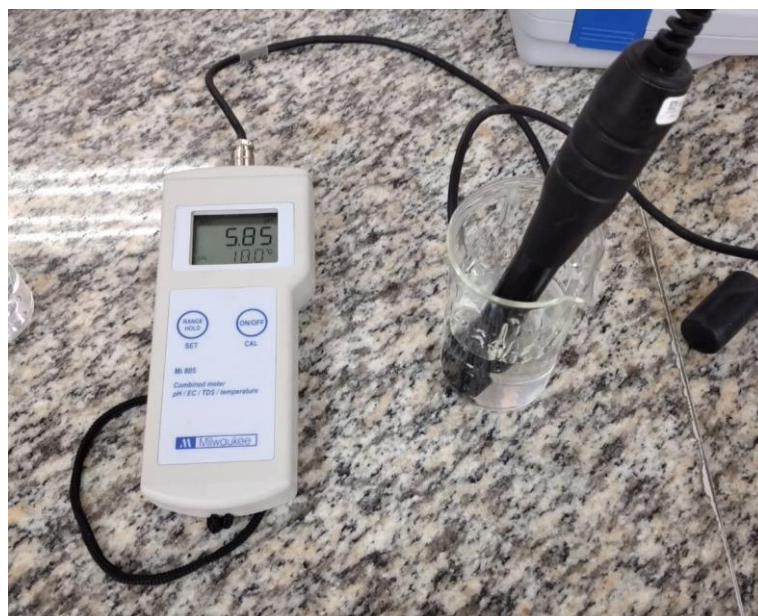


Gráfico 10. *Medición del pH Día 10.*



Gráfico 11. *Medición del pH Día 14.*



Gráfico 12. *Medición del pH Día 16.*

ANEXO 3

Evaluación de los parámetros fisicoquímicos, concentración de alcohol.

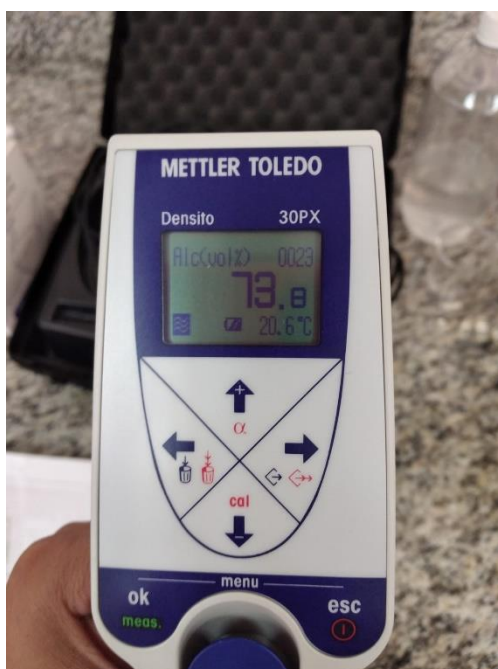


Gráfico 13. Medición de la concentración de alcohol %v/v Día 1.

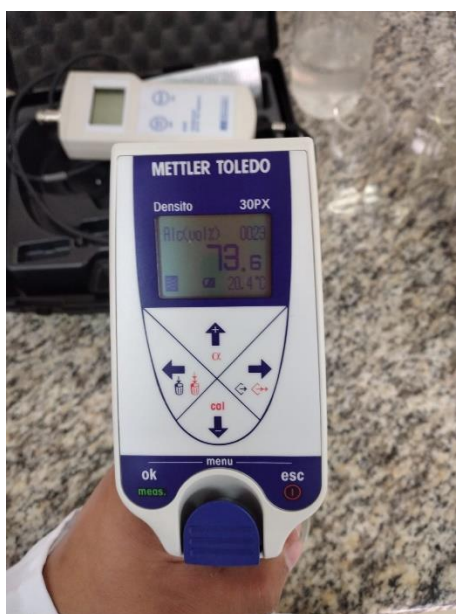


Gráfico 14. Medición de la concentración de alcohol %v/v Día 3.



Gráfico 15. *Medición de la concentración de alcohol %v/v Día 8.*

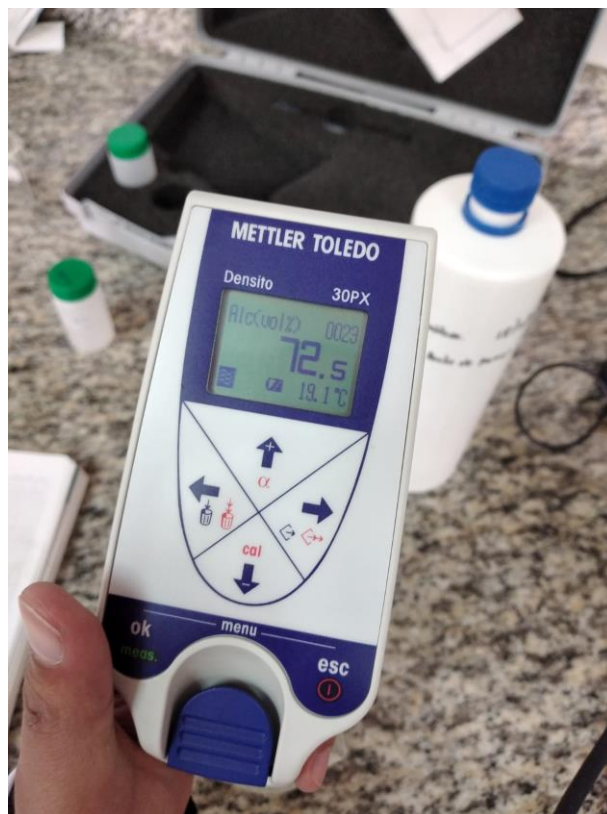


Gráfico 16. *Medición de la concentración de alcohol %v/v Día 10.*

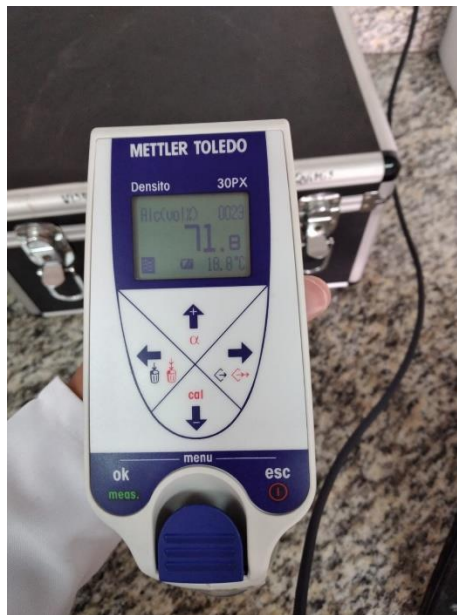


Gráfico 17. *Medición de la concentración de alcohol %v/v Día 14.*



Gráfico 18. *Medición de la concentración de alcohol %v/v Día 16.*

ANEXO 3.

Evaluación de los parámetros fisicoquímicos, medición de la densidad.



Gráfico 19. Medición de la concentración de alcohol %v/v Día 1.



Gráfico 20. Medición de la concentración de alcohol %v/v Día 3.



Gráfico 21. *Medición de la concentración de alcohol %v/v Día 8.*

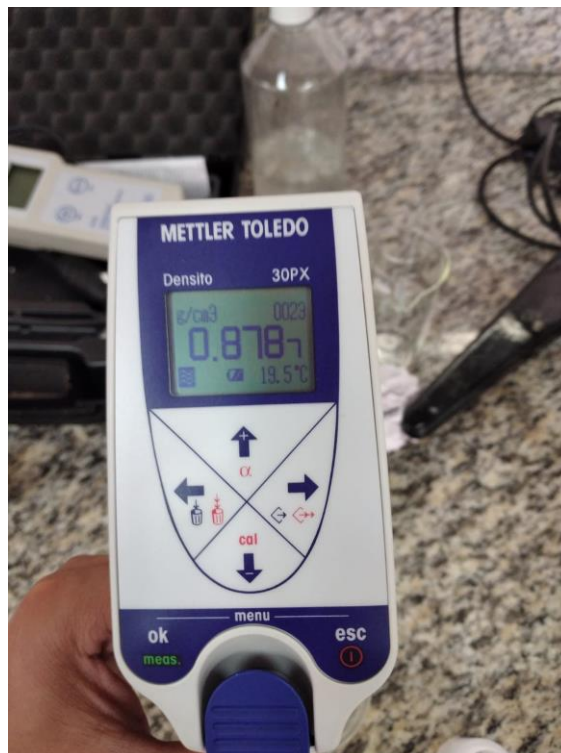


Gráfico 22. *Medición de la concentración de alcohol %v/v Día 10.*

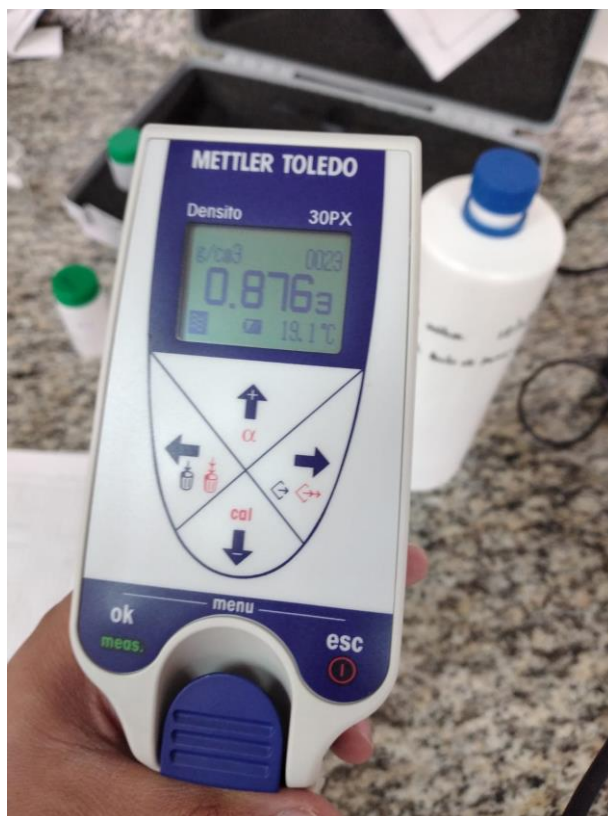


Gráfico 23. *Medición de la concentración de alcohol %v/v Día 10.*

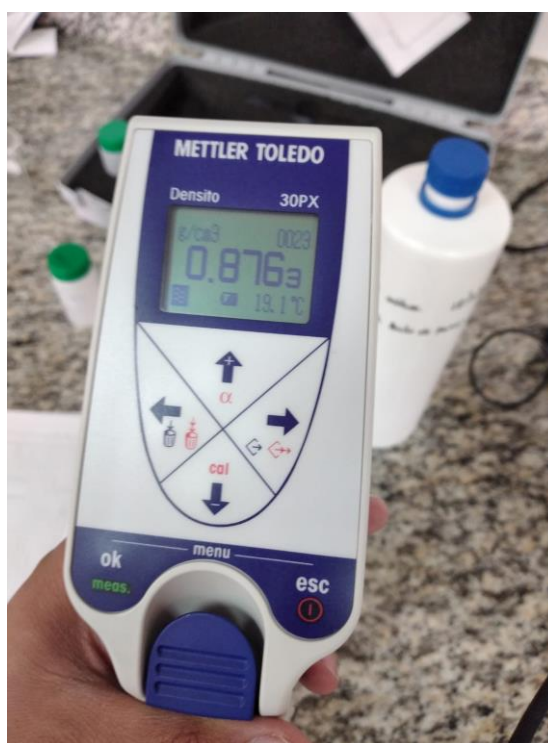


Gráfico 24. *Medición de la concentración de alcohol %v/v Día 14.*

ANEXO 4.

Evaluación de los parámetros fisicoquímicos, medición de la viscosidad



Gráfico 25. Medición de la viscosidad Cps. Día 1.



Gráfico 26. *Medición de la viscosidad Cps. Día 3.*



Gráfico 27. *Medición de la viscosidad Cps. Día 8.*



Gráfico 28. *Medición de la viscosidad Cps. Día 10.*



Gráfico 29. *Medición de la viscosidad Cps. Día 14.*



Gráfico 30. Medición de la viscosidad Cps. Día 16.

ANEXO 5

Cálculo de la concentración de alcohol por cromatografía de gases mediante la ecuación de la recta.

Cálculos realizados para determinación de % v/v de etanol en gel antibacterial:

$$y = mx + b$$

Ec. 1

Donde:

m = Pendiente

y = Área obtenida en el cromatograma

x = Concentración de la muestra

b = Ordenada al origen

$$y = mx + b$$

$$y = 3243,1x + 257,16$$

Despejando de la ecuación de la recta se obtuvo la fórmula para el cálculo de la concentración de alcohol en la muestra.

$$x = \frac{y - b}{m}$$

Ec. 2

Donde:

x = Concentración de la muestra de Alcohol.

y = Área obtenida en el cromatograma

m = Pendiente

b = Ordenada al origen

$$x = \frac{y - 257,16}{3243,1}$$

$$x = \frac{6304,43 - 257,16}{3243,1}$$

$$x = 1,8647 \text{ mg / L}$$

Concentración real (CR) del etanol en la muestra en gramos (g):

$$CR = \frac{FD \times x}{1 \times 10^6}$$

Ec. 3

Donde:

CR = Concentración real (g)

FD = Factor de dilución

x = Concentración de la muestra (mg/L)

$$CR = \frac{FD \times x}{1 \times 10^6}$$
$$CR = \frac{300000 \times 1,8647}{1 \times 10^6}$$
$$CR = 0,5594 \text{ g}$$

Cálculo del volumen de etanol en mL:

$$v = \frac{m}{\rho}$$

Ec.4

Donde:

ρ = Densidad (g/mL)

m = Masa (g)

V = Volumen (mL)

$$v = \frac{m}{\rho}$$
$$v = \frac{0,5594}{0,7893}$$
$$v = 0,7086$$

Determinación del % v/v de etanol

Donde:

ρ = Densidad (g/mL)

m = Masa (g)

V = Volumen (mL)

Determinación del % v/v de etanol:

$$\% \frac{v}{v} = \frac{\text{volumen de soluto}}{\text{volumen de solución}} * 100\%$$

Ec.5

$$\% \frac{v}{v} = \frac{0,7086 \text{ mL}}{1 \text{ mL}} * 100\%$$

$$\% \frac{v}{v} = 70,86$$

ANEXO 6

Cálculos para la evaluación de la prueba de efectividad

Determinación de la actividad bactericida en *Escherichia coli* ATCC 25922

$$Na = \frac{Vc_1 + Vc_2}{2} \times 10$$

Ec.6

Donde:

Na: Actividad bactericida

Vc₁: Valor Experimental (1)

Vc₂: Valor Experimental (2)

$$Na = \frac{Vc_1 + Vc_2}{2} \times 10$$

$$Na = \frac{14 + 14}{2} \times 10$$

$$Na = 140$$

$$Na = < 140$$

Determinación del Número de células por mL en la mezcla de ensayo al comienzo del tiempo de contacto.

$$N_0 = \frac{N}{10}$$

Ec.7

Donde:

N₀ = Número de células por mL en la mezcla de ensayo al comienzo del tiempo de contacto.

N = Suspensión del ensayo

$$N_0 = \frac{N}{10}$$

$$N_0 = \frac{1,6 \times 10^8}{10}$$

$$N_0 = 1,6 \times 10^7$$

Determinación de la reducción logarítmica para la prueba de efectividad.

$$\text{Log } R = \text{Log } N_0 - \text{Log } Na$$

Ec.8

Donde:

LogR= Logaritmo de la reducción logarítmica

$\text{Log } N_0$ = Logaritmo del Número de células por mL en la mezcla de ensayo al comienzo del tiempo de contacto.

$\text{Log } N_a$ = Logaritmo de la actividad bactericida.

$$\text{Log } R = \text{Log } N_0 - \text{Log } N_a$$

$$\text{Log } R = \text{Log } 1,6 \times 10^7 - \text{Log } 140$$

$$\text{Log } R = 7,2041 - 2,1461$$

$$\text{Log } R = 5,058$$

$$\text{Log } R = >5,058$$

ANEXO 7

Cálculos para la evaluación de la prueba de efectividad

Determinación de la actividad bactericida en *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

$$N_a = \frac{V_{c_1} + V_{c_2}}{2} \times 10$$

Ec.5

Donde:

N_a : Actividad bactericida

V_{c_1} : Valor Experimental (1)

V_{c_2} : Valor Experimental (2)

$$Na = \frac{Vc_1 + Vc_2}{2} \times 10$$

$$Na = \frac{14 + 14}{2} \times 10$$

$$Na = 140$$

$$Na \leq 140$$

Determinación del Número de células por mL en la mezcla de ensayo al comienzo del tiempo de contacto.

$$N_0 = \frac{N}{10}$$

Ec.6

Donde:

N_0 = Número de células por mL en la mezcla de ensayo al comienzo del tiempo de contacto.

N = Suspensión del ensayo

$$N_0 = \frac{N}{10}$$

$$N_0 = \frac{1,5 \times 10^8}{10}$$

$$N_0 = 1,7 \times 10^7$$

Determinación de la reducción logarítmica para la prueba de efectividad.

$$\text{Log } R = \text{Log } N_0 - \text{Log } Na$$

Ec.8

LogR= Logaritmo de la reducción logarítmica

Log N_0 = Logaritmo del Número de células por mL en la mezcla de ensayo al comienzo del tiempo de contacto.

LogNa= Logaritmo de la actividad bactericida.

$$\text{Log } R = \text{Log} N_0 - \text{Log} N_a$$

$$\text{Log } R = \text{Log } 1,5 \times 10^7 - \text{Log } 140$$

$$\text{Log } R = 7.1761 - 2,1461$$

$$\text{Log } R = 5,0299$$

$$\text{Log } R = \text{Log } 5,0299$$

ANEXO 7

Resultados de la prueba de efectividad en *Escherichia coli* ATCC 25922

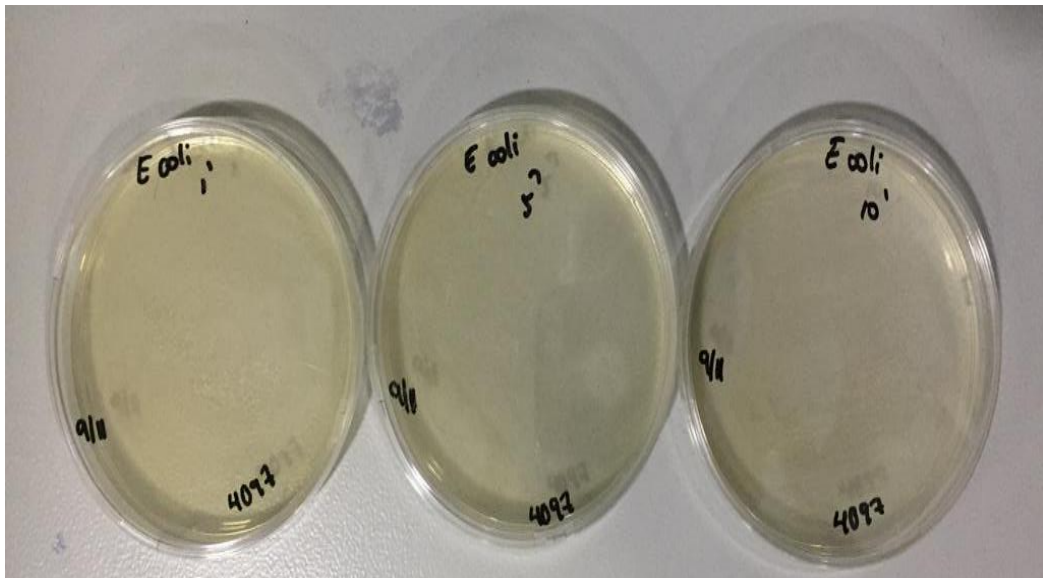


Figura 8. Resultados de la prueba de efectividad en *Escherichia coli* ATCC 25922 en agar PCA en diferentes tiempos.

ANEXO 8

Resultados de la prueba de efectividad en *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

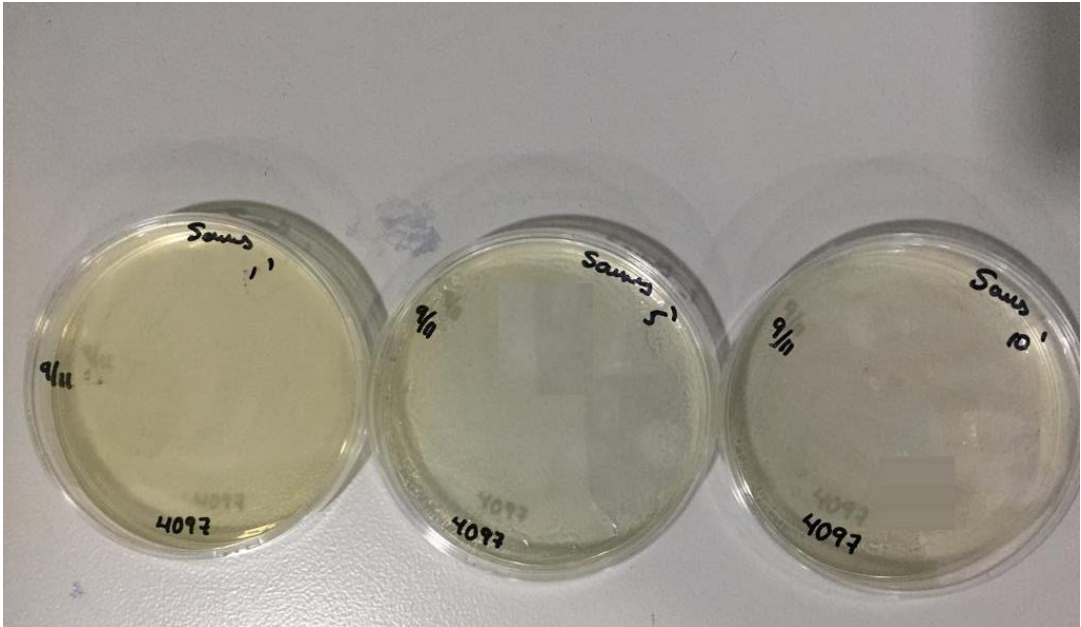


Figura 9. Resultados de la prueba de efectividad en *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 en agar PCA en diferentes tiempos.

ANEXO 9

Resultados obtenidos en la cromatografía de gases para el análisis de la curva de calibración.

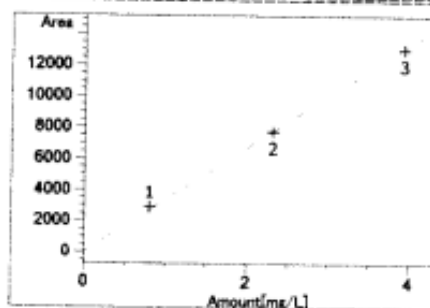
Method C:\USERS\PUBLIC\DOCUMENTS\CHEMSTATION\1\METHODS\ALCOHOLES ETANOL 191231 cuantificar.M

RT	Sig	Lvl	Amount [mg/L]	Area	Rsp.Factor	Ref	ISTD #	Compound
3.577	1	1	8.01000e-1	2884.15112	2.77725e-4	No	No	ETANOL
		2	2.31700	7714.49170	3.00344e-4			
		3	3.92900	1.30267e4	3.01611e-4			

Peak Sum Table

No Entries in table

Calibration Curves



ETANOL at exp. RT: 3.577
FID1 A, Front Signal
Correlation: 0.99965
Residual Std. Dev.: 178.18435
Formula: $y = mx$
m: 3352.54228
x: Amount[mg/L]
y: Area
Calibration Level Weights:
Level 1 : 1
Level 2 : 0.345706
Level 3 : 0.203869