

# Trabajo Fin de Grado

Estudio de estabilidad de productos base  
para cosmética natural.

Stability study of base products for natural cosmetics.

Autor

**Antonio Abizanda Charlez**

Directora y codirector

**Ana M. Mainar Fernández**

**José S. Urieta Navarro**

Grado en Ingeniería Química

Escuela de Ingeniería y Arquitectura

2022/2023

# RESUMEN

## Estudio de estabilidad de productos base para cosmética natural

En el sector cosmético se llevan a cabo variados estudios de estabilidad con el fin de incrementar la seguridad de los consumidores y evitar pérdidas de productos durante su almacenaje. Debido a que estos estudios en tiempo real pueden ser de una duración muy elevada, se efectúan análisis de estabilidad acelerados, habitualmente siguiendo las directrices de la norma ISO/TR 18811:2018. Dichos estudios son obligatorios según el RD 1223/2009 para lanzar un producto cosmético al mercado, y resultan de gran interés para las compañías cosméticas para estimar la vida útil de un preparado en un periodo de tiempo reducido.

El objetivo global de este trabajo consiste en desarrollar unos procedimientos que permitan estimar la vida útil de unos preparados base para cosméticos (un gel, una emulsión y un aceite vegetal), lo que permitiría su eventual lanzamiento al mercado. A tal fin, sobre las dos primeras formulaciones, gel y emulsión, se han llevado a cabo estudios de estabilidad acelerados a temperaturas por encima y debajo de la ambiental y también estudios de ciclos de temperatura para evaluar la estabilidad del producto frente a cambios térmico abruptos. Como parámetros (propiedades) de control del proceso de degradación se han utilizado las características organolépticas y otras características químicas y fisicoquímicas tales como pH, densidad viscosidad, residuo seco, concentración de componente activo glucósido de ascorbilo en el caso del gel, y tamaño y distribución de gotículas en el caso de la emulsión. Sobre el tercer producto cosmético estudiado, aceite virgen de lino, se han realizado estudios de degradación oxidativa acelerada mediante la técnica Rancimat y estudios de foto-oxidación con luz artificial de lámpara de Xenón en ausencia y presencia de tocoferol como antioxidante.

Se ha utilizado una amplia variedad de dispositivos que van desde cromatógrafo HPLC y espectrofotómetro V-UV, a equipamientos volumétricos pasando por equipo Rancimat, pHmetro, conductímetro, lámparas de iluminación especial, sistemas termostáticos para enfriamiento y calefacción, microscopio y centrífuga. Los resultados obtenidos para las magnitudes de control de la degradación de los productos a los tiempos programados permiten, en su conjunto seguir la evolución de los tres productos cosméticos estudiados bajo las condiciones de los ensayos acelerados con activación por temperatura, aporte de oxígeno o por la acción de la luz.

De la metodología y resultados obtenidos, se puede concluir que los tests realizados permiten en su conjunto hacer una estimación de la vida útil de los productos base estudiados, cuya magnitud permite una decisión fundamental sobre su eventual salida al mercado.

# ABSTRACT

## Stability study of base products for natural cosmetics

In the cosmetics industry, a variety of stability studies are carried out in order to increase consumer safety and avoid product losses during storage. Because the real-time studies can be of very long duration, accelerated stability analyses are performed, usually following the guidelines of ISO/TR 18811:2018. Such studies are mandatory according to RD 1223/2009 to launch a cosmetic product on the market, and are of great interest for cosmetic companies to estimate the shelf life of a preparation in a reduced period of time.

The overall objective of this work is to develop procedures that allow estimating the self life of some base preparations for cosmetics (a gel, an emulsion and a vegetable oil), which would allow their eventual launch on the market. To this end, isothermal accelerated stability studies have been carried out on the first two formulations, gel and emulsion, at temperatures above and below the ambient temperature and also temperature cycling studies to evaluate the stability of the product against abrupt thermal changes. As control parameters (properties) of the degradation process, the organoleptic characteristics and other chemical and physicochemical characteristics such as pH, viscosity density, dry residue, concentration of the active component ascorbyl glucoside in the case of the gel, and size and distribution of droplets in the case of the emulsion have been used. On the third cosmetic product studied, vegetable linseed oil, accelerated oxidative degradation studies have been carried out using the Rancimat technique and photo-oxidation studies with artificial Xenon lamp light in the absence and presence of tocopherol as an antioxidant.

A wide variety of devices have been used, ranging from HPLC chromatograph and V-UV spectrophotometer to volumetric equipment, Rancimat equipment, pH meter, conductivity meter, special illumination lamps, thermostatic systems for cooling and heating, microscope and centrifuge. The results obtained for the control magnitudes on the degradation of the products at the programmed times allow, as a whole, to follow the evolution of the three cosmetic products studied under the conditions of the accelerated tests when activated by temperature, oxygen supply, or by the effect of light.

From the methodology followed and the obtained results, it can be concluded that the set tests carried out allows an estimation of the shelf life of the base products studied, the magnitude of which enables a fundamental decision on their eventual launching on the market.

## Agradecimientos

Agradezco sinceramente a mis profesores, familiares y compañeros que me han acompañado y guiado en este viaje académico. Este trabajo de fin de grado es el reflejo de horas de esfuerzo, aprendizaje y pasión. A todos ustedes, mi más profundo agradecimiento por ayudar a que esta experiencia haya sido enriquecedora, no solo a nivel profesional, sino también a nivel personal de la que siempre guardare un estupendo recuerdo. Por eso doy gracias a...

... al Dr. José Urieta y la Dra. Ana Mainar, por su inestimable apoyo y conocimientos compartidos durante todo el proceso de elaboración de este trabajo. Su orientación y motivación han sido esenciales para alcanzar esta meta. Es un privilegio haber contado con guías de tan alto calibre.

... a Fallah, por su dedicación y ayuda en la parte experimental de este TFG, por sus conocimientos, por su confianza, por su disposición y su tiempo.

... a toda mi familia, que me arropó con su amor, paciencia y comprensión en cada etapa de este viaje académico.

... a todos mis amigos, en especial a Aitor, David y Berta por su constante apoyo, sus palabras de aliento y por las innumerables veces que me brindaron su tiempo y consejo. Su amistad y confianza han sido faros de luz.

# Índice

1. Introducción .....	8
2. Objetivos .....	12
2.1. Objetivo general.....	12
2.2. Objetivos específicos.....	12
3. Parte experimental. Métodos, técnicas e instrumentos.....	13
3.1. Productos y Materiales .....	13
3.2. Técnicas utilizadas.....	14
3.2.1. Métodos isoterms de estabilidad acelerados .....	14
3.2.2. Estudio de estabilidad por ciclos de temperaturas.....	15
3.2.3. El factor humedad .....	15
3.3. Procedimientos .....	15
3.3.1. Pruebas estabilidad acelerada.....	15
3.3.2. Pruebas de estabilidad térmica por ciclos.....	16
3.3.3. Procedimiento para el estudio de compatibilidad con el envase .....	16
3.3.4. Enranciamiento y pruebas de estabilidad oxidativa para el aceite.....	16
3.3.5. Estudios de fotoestabilidad y fotooxidación del AV de lino.....	17
4. Resultados.....	18
4.1. Resultados del estudio de estabilidad acelerada, por ciclos y compatibilidad de envase para el Producto 1 (Gel) .....	18
4.2. Resultados del estudio de estabilidad acelerada, por ciclos y compatibilidad de envase para el Producto 2 (Emulsión).....	19
4.2.1. Comparativa visual del efecto del centrifugado y de la distribución de gotículas.....	19
4.3. Aceite virgen de lino.....	20
4.3.1. Resultados de estabilidad oxidativa mediante rancidimetría .....	20
5. Discusión de los resultados .....	23
5.1. Aspectos generales.....	23
5.2. Estudio de compatibilidad.....	26
5.3. Producto comercial 1 - Gel.....	26
5.3.1. Estudio de estabilidad acelerada.....	26

5.3.2. Estudio de estabilidad por ciclos.....	27
5.4. Producto comercial 2 - Emulsión.....	27
5.4.1. Estudio de estabilidad acelerada .....	27
5.4.2. Estudio de estabilidad por ciclos.....	28
5.5. Aceite virgen de lino .....	28
5.5.1. Evaluación de la degradación oxidativa acelerada. Método Rancimat. ....	28
5.5.2. Resultados foto estabilidad .....	28
6. Conclusiones .....	30
7. Bibliografía .....	33
ANEXO 1. Test Rancimat .....	40
1. Fundamento teórico .....	40
2. Materiales y reactivos.....	40
3. Procedimiento .....	40
ANEXO 2. Irradiación del AV de lino .....	40
1. Irradiación con luz de lámpara de Xenón .....	40
2. Irradiaciones con UV A y UV B .....	41
ANEXO 3. Determinación por HPLC del glucósido de ascorbilo.....	41
1. Fundamento teórico .....	41
2. Materiales y reactivos.....	42
3. Método .....	42
4. Realización del análisis.....	42
ANEXO 4. Determinación del índice de acidez .....	45
1. Fundamento teórico .....	45
2. Materiales y reactivos.....	45
3. Procedimiento seguido .....	46
ANEXO 5. Determinación del índice de yodo (método Hanus) .....	46
1. Fundamento teórico .....	46
2. Materiales y reactivos.....	47
3. Procedimiento .....	47
ANEXO 6. Medidas de absorbancias .....	47

1.	Fundamento teórico.....	47
2.	Materiales y reactivos .....	48
3.	Procedimiento .....	48
4.	Resultados .....	48
ANEXO 7. Determinación del residuo seco .....		50
1.	Fundamento teórico.....	50
2.	Materiales .....	51
3.	Procedimiento .....	51
ANEXO 8. Centrifugado de la emulsión .....		51
1.	Fundamento teórico.....	51
2.	Materiales y reactivos .....	51
3.	Procedimiento .....	51
ANEXO 9. Microscopia de la distribución de gotículas en emulsiones .....		52
1.	Fundamento teórico.....	52
2.	Materiales y reactivos .....	52
3.	Procedimiento .....	52
4.	Resultados .....	53
ANEXO 10. Viscosidad .....		60
1.	Fundamento teórico.....	60
2.	Materiales .....	60
3.	Procedimiento .....	61
ANEXO 11. Estudio de compatibilidad con el envase de la muestra comercial 1 – Gel.....		61
ANEXO 12. Estudio de compatibilidad con el envase de la muestra comercial 2 – Emulsión .....		64

# Estudio de estabilidad de productos base para cosmética natural

## 1. Introducción

A lo largo de la historia, el uso de cosméticos ha tenido una larga tradición que se remonta a muchos siglos atrás, y su propósito fundamental siempre ha sido cuidar la piel y mejorar el aspecto físico. Su alcance se ha vuelto global y su popularidad crece día a día, impulsada por la creciente conciencia de las personas acerca del cuidado de su piel. Según un informe económico sobre el sector, España consumió en el año 2014 un total de 6.435 M€ en productos cosméticos, exportó por valor de 2.928 M€, asignó 120 M€ a I+D+I y empleó de forma directa a unas 35.000 personas [1]. Las exportaciones nacionales de perfumes, cosméticos, cuidado personal y aceites esenciales alcanzaron un volumen de 6.515 M€ en 2022, un 21% más que en 2021 y un 25% más que en 2019. Actualmente, España se mantiene como segundo exportador mundial de perfumes, y dentro del top 10 de cosméticos. Exporta más productos de perfumería y cosmética, que sectores tan emblemáticos como los del vino, calzado y aceite de oliva [2].

Por otra parte, el consumidor actual de cosmética apuesta por una belleza integral. Una belleza que va más allá del aspecto físico. La belleza es algo holístico, es algo externo e interno. Esto implica que crezcan con fuerza marcas y productos que apuestan por la experiencia, la sensorialidad, la personalización y los ingredientes naturales; la salud, la ética, la sostenibilidad, el cuidado del medio ambiente y, en general, la conciencia social es algo muy importante para ellos. Los consumidores están dispuestos a invertir en marcas que cuidan estos aspectos de una forma expresa y honesta [3]. Así, el sector asiste al alumbramiento de un nuevo perfil de consumidor, el conocido como CSS: consciente, solidario y sostenible; un tipo de consumidor preocupado por la salud de una forma integral, más atento y cuidadoso con su propio bienestar y con el del planeta. Aunando los dos conceptos, innovación y sostenibilidad, podemos hablar de un consumidor “ecotecnológico”. Hoy un 46% de los consumidores nacionales eleva su compromiso con la sostenibilidad en línea con una tendencia al alza del consumo de proximidad, y el reflejo más claro de ello es que más de la mitad (el 56%) opta cada vez más por productos “Made in Spain” [4].

Dada la antes apuntada tendencia creciente hacia el empleo de productos naturales o de origen natural en la industria cosmética, y de acuerdo con la filosofía de producción de la empresa BINDU 2013 que colabora activamente en la realización del presente estudio, los productos cosméticos que empleamos están compuestos por mezclas de ingredientes naturales o de origen natural, que cumplan con lo establecido por la definición y directrices de la norma ISO 16128 [5,6], que garantiza su calidad y autenticidad. Además, estos productos están en consonancia con la legislación vigente en cosmética, definida por el Reglamento 1223/2009 del Parlamento Europeo [7]. Con este enfoque



sobre productos naturales, con los desarrollos programados en este TFG en torno a los mismos y las perspectivas de futuro que pueden inferirse, se ha perseguido así el poder contribuir a la consecución de los objetivos de Desarrollo Sostenible y sus metas más relevantes [8], tratando de apoyar desde la Ingeniería Química el desarrollo e implementación de productos y prácticas innovadoras que minimicen los impactos negativos sobre el medio ambiente, procurando su protección y promoviendo, el progreso social y que apoyen al crecimiento. En efecto, en el presente trabajo subyace como última finalidad práctica el desarrollo de actividades en torno a la utilización y producción de productos naturales para cosmética, continuando una línea como la marcada en el Proyecto Interreg-POCTEFA “Spagyria” [9], un proyecto en el que han tenido un papel destacado tanto la empresa colaboradora, BINDU 2013, como los directores de este trabajo y el estudiante que suscribe. Cabe señalar que, en general, los productos naturales como los utilizados en este estudio caen dentro de la categoría de “materias primas renovables” cuyo uso es propugnado en uno de los 12 Principios de la llamada “Química Sostenible” o “Química Verde” establecidos por Anastas y Warner [10]. En el marco de la producción y uso de estos materiales renovables ofrece unas buenas posibilidades relacionados con un número elevado de los ODS y metas relacionadas, tal como se puso de relieve en el citado proyecto Spagyria, enfocado en las tres dimensiones de Medio Ambiente, Economía Incluyendo (I+D+i) e Inclusión Social. El presente TFG se relaciona especialmente con el ODS 4 y sus metas 4.4 y 4.7, al contemplar particularmente ese último aspecto social citado, a través de una ampliación de oportunidades de aprendizaje muy aptos para personas en riesgo de inclusión. Asimismo, al estar este TFG centrado en prácticas correspondientes al uso de productos naturales, se relaciona muy directamente con el Objetivo 12 (Producción y consumo responsables) y su meta 12.8 que propugna el que todas las personas adquieran el conocimiento del desarrollo sostenible que les pueda llevar a una vida en armonía con la naturaleza. Además, dado el tipo de actividad industrial y de las materias primas consideradas, puede fácilmente inferirse una relación colateral con los objetivos 8, 9, 11, 13 y 15.

Uno de los mayores desafíos en la industria cosmética es determinar la estabilidad y vida útil de un producto cosmético de manera rápida y precisa. Si se reducen demasiado la duración del estudio, existe el riesgo de obtener resultados erróneos o poco representativos, sin embargo, si se extiende demasiado, podría retrasar el lanzamiento del producto, lo cual conlleva a evidentes inconvenientes. Así pues, resulta importante llevar a cabo un estudio de estabilidad correctamente diseñado, ya que esto proporciona numerosas ventajas. La estabilidad de un producto cosmético depende de una serie de parámetros interrelacionados que abarcan aspectos físicos, fisicoquímicos y químicos del producto, también involucran su interacción con el entorno. Cabe destacar que, al analizar estos factores, podemos clasificarlos en categorías generales, como procesos dirigidos por

mecanismos relacionados con la temperatura, la mecánica, la difusión o incluso la influencia de agentes externos.

La imprecisión en la estimación de la vida útil, a través del estudio de estabilidad, puede generar graves problemas tanto para el consumidor como para la empresa que comercializa el producto cosmético. Para el consumidor, podría resultar en problemas de salud y seguridad, entre otros aspectos críticos, mientras que, para la empresa podría acarrear la pérdida de la confianza de los clientes, sanciones económicas e incluso el cierre de la empresa.

Así, dada la importancia que tienen las materias primas renovables y el conocer la estabilidad y vida útil de los productos cosméticos, el presente TFG se ha orientado al desarrollo de unos protocolos que permitan estimar, mediante pruebas adecuadas, la estabilidad física y química de productos naturales utilizados como base en cosmética.

Básicamente, existen tres tipos de pruebas de estabilidad: i) Pruebas organolépticas (las detectadas por los órganos de los sentidos, tales como aspecto, color, olor, sabor y tacto), ii) Pruebas fisicoquímicas (pH, densidad, viscosidad, estabilidad de las emulsiones, entre otras), y iii) Pruebas microbiológicas (que evalúan el grado de contaminación con bacterias, mohos y levaduras). La estabilidad microbiológica no se abordará en este trabajo. Obviamente, cuando un producto cosmético no cumple con las pautas de prueba de estabilidad, se buscan alternativas de formulación o, en su caso, se retiran del mercado.

Por otra parte, las pruebas de estabilidad pueden llevarse a cabo en tiempo real o con pruebas aceleradas. Para las pruebas en tiempo real se sugieren tiempos de 6 a 12 meses antes de llegar a la producción a la escala industrial. Pero estos tiempos pueden ser inadecuados para la industria cosmética cuando se trata de hacer un cribado exploratorio de formulaciones, o bien, como antes se ha apuntado, cuando urge lanzar al mercado un producto innovador lo más pronto posible por motivos de competencia comercial o de rentabilidad. En estos casos, las pruebas aceleradas permiten llegar, en un tiempo mucho más corto, a unos resultados aproximados que pueden ser muy convenientes.

En la bibliografía científica pueden encontrarse revisiones [11,12], así como artículos y capítulos de libros que tratan muy diferentes aspectos de la degradación de distintos tipos de componentes cosméticos [13–19], pero debido a la enorme variedad de productos cosméticos, y a la complejidad de las distintas vías de desestabilización de los mismos, no puede proponerse un método o técnica universal para cuantificar todos los aspectos de la estabilidad y no pueden prescribirse unas pruebas de estabilidad "estándar" para todos ellos, por ello, los fabricantes requieren flexibilidad para modificar los protocolos de pruebas y poder construir una base científica sólida que les permita

evaluar la estabilidad de sus propios productos. Además, interesa desarrollar pruebas específicas en orden a las tecnologías nuevas o inusuales, o para adaptarlas a nuevos tipos de productos.

En la industria farmacéutica, las pruebas de estabilidad se llevan a cabo de acuerdo con el tipo de aplicación (producto acuoso, oleoso, emulsión, en polvo, tipo gel), según el tipo de directrices habitualmente seguidas en las distintas regiones geográficas (Europa, Norteamérica Asia-Pacífico América del Sur Medio Oriente y África) y según el periodo de tiempo preestablecido (largo plazo, pruebas de estabilidad acelerada). En Europa se tiende a atender a la directriz ICH Q1A(R2) y Q1E [20,21] de la Agencia Europea del Medicamento, la normativa sobre la calidad en la Industria Farmacéutica llamada “Normas ICH” (International Conference on Harmonisation), un conjunto de normas creadas en 1990 por un organismo internacional tripartito representado por Estados Unidos, Japón y la Unión Europea con objeto de elaborar directrices para los estudios de estabilidad de productos farmacéuticos para uso humano, exigibles para su registro y comercialización. La industria cosmética también tiene en cuenta la Serie de Informes Técnicos de la OMS sobre ingredientes farmacéuticos activos y productos farmacéuticos terminados, y en particular las guías sobre pruebas de estabilidad incluidas en el No. 953 de las especificaciones para preparados farmacéuticos [22]. Asimismo, tiene también en cuenta la correspondiente Norma ISO 18811:2018 [23] que representa un buen recurso para la selección de tests de estabilidad más adecuados porque, aunque la información que aporta es de tipo bastante general, proporciona parámetros e intervalos para las condiciones de trabajo, adecuados a la forma cosmética considerada.

Sobre esas premisas, se ha planteado unos objetivos y técnicas de investigación relativas a estabilidad/degradación de unos preparados cosméticos, bajo la hipótesis de trabajo de que tales técnicas pueden dar unos buenos resultados a la hora de estimar la vida útil para el tipo de productos seleccionados. Se han programado unas pruebas organolépticas y fisicoquímicas sobre tres productos básicos tipo: i) Producto comercial 1 (**Gel**), un gel en base acuosa que contiene un compuesto derivado de la vitamina C (glucósido de ascorbilo), ii) Producto comercial 2 (**Emulsión**) una emulsión aceite en agua (O/W) y iii) un aceite vegetal base, aceite virgen (AV) de lino, con y sin antioxidante, siendo este una mezcla de tocoferoles. En paralelo para los tres productos se realizará un estudio preliminar de compatibilidad con el envase final, mediante observación de los cambios que ocurren en el envase y de la posible alteración del envase con el producto.

Los dos primeros productos se someten a pruebas térmicas de estabilidad acelerada y de estabilidad por ciclos. La primera implica elevar la temperatura de los componentes cosméticos para acelerar las reacciones y detectar inestabilidades de forma acelerada, permitiendo así estimar la vida útil del producto. Por su parte, la estabilidad por ciclos simula las condiciones extremas que suelen presentarse durante el transporte en avión o barco. En ambos casos, se llevan a cabo análisis

organolépticos y se determinan distintas propiedades fisicoquímicas en función del tipo de cosmético. La estabilidad de un gel se refiere a mantener intacta su estructura tridimensional y la estabilidad de una emulsión, radica en evitar la separación entre las fases oleosa y acuosa.

Para el último producto, Producto 3, el AV de lino, se efectúa una evaluación acelerada de su degradación oxidativa, según el método Rancimat, y, asimismo, se realizaron tests de fotoestabilidad y fotooxidación exponiendo la luz al producto, puro o con un antioxidante incorporado e introducidos en frascos de vidrio con acceso de aire restringido o libre. De modo similar a los casos de los otros dos productos anteriores, se realizaron pruebas organolépticas y físico-químicos, incluyendo el análisis espectroscópico, para determinar el grado de degradación.

En las siguientes secciones se describen los objetivos, métodos y técnicas utilizadas. Asimismo, se presentan y discuten los resultados obtenidos. A partir de éstos, se establecen las conclusiones y se proponen acciones para futuros trabajos. Estas perspectivas se enfocan a optimizar el test de estabilidad acelerada y por ciclos con el fin de mejorar la estimación de la vida útil del producto y a mejorar el estudio de fotoestabilidad para determinar con mayor exactitud el enranciamiento y el impacto del antioxidante.

## **2. Objetivos**

### **2.1. Objetivo general**

Desarrollar unos protocolos que permitan estimar de forma sistemática la vida útil de ciertos tipos de productos cosméticos.

### **2.2. Objetivos específicos**

1. Elegir unos métodos de estudio adecuados, acordes con las directrices y normativas en vigor, para cuantificar la estabilidad/degradación de tres productos cosméticos naturales: i) un gel conteniendo glucósido de ascorbilo como agente activo, ii) una emulsión aceite/agua con goma xantana como estabilizante y iii) un aceite virgen de lino.
2. Establecer unos periodos temporales para las pruebas aceleradas isotérmicas, de ciclos de temperatura y de fotoestabilidad a realizar, y fijar los parámetros (propiedades y operaciones) para el seguimiento de los procesos de degradación.
3. Determinar el comportamiento del aceite virgen de lino en pruebas de fotoestabilidad y fotooxidación y determinar si la adición de un antioxidante puede proteger al aceite de los efectos negativos de la exposición a la luz, además de evaluar la eficacia del antioxidante.

4. Estimar el periodo de vida útil del Producto comercial 1, Gel y del Producto comercial 2, Emulsión.
5. Proponer y evaluar alternativas para mejorar la determinación de la estabilidad física y química de productos naturales utilizados como base en cosmética.

### 3. Parte experimental. Métodos, técnicas e instrumentos

Los métodos adoptados para los estudios de estabilidad siguen las directrices mencionadas en la sección introductoria, diseñados para empresas como BINDU 2013 SL, e incluyen estudios acelerados, de fotoestabilidad y pruebas organolépticas e interacciones con el envase.

#### 3.1. Productos y Materiales

El Producto comercial 1, **Gel**, fue proporcionado por BINDU 2013 SL, informándonos que el porcentaje de glucósido de ascorbilo (ascorbyl glucoside) inicial es del 2,1%, el regulador de pH utilizado es Arginina L-Base y los gelificantes utilizados de forma combinada son goma xantana (xanthan gum) y goma de esclerocio (sclerotium gum).

El Producto comercial 2, **Emulsión**, fue proporcionado por BINDU 2013 SL, informándonos que es una emulsión aceite-agua (O/W) y que se utiliza goma xantana como gelificante.

El Producto 3, **aceite base**, está compuesto por el aceite virgen (AV) de lino y fue proporcionado por BINDU 2013 SL. En algunas pruebas, incorporaba una pequeña cantidad de tocoferol, comercialmente conocido como Tocobiol-C y que actúa como antioxidante, dando como resultado, en todo caso, una disolución oleosa homogénea.

Los 3 productos son 100% de origen natural según la norma ISO 16128 [5,6].

Los equipos utilizados son, fundamentalmente, una estufa con termostato regulador de temperatura marca RAYPA, placa calefactora con agitación RCT Standard safety control, microscopio JENAVAL (CARL ZEISS JENA), balanza analítica modelo PFB 300-3 de la casa Kern, con una precisión de  $\pm 1$  mg, balanza analítica modelo XS205DU de la casa Mettler Toledo, con una precisión de  $\pm 0,1$  mg, Espectrofotómetro Evolution 300 UV-VIS, cubetas de cuarzo, equipo de cromatografía HPLC Waters Alliance e2695, con detector PDA y columna separadora de fase reversa C18 CORTECS® C18 2.7  $\mu\text{m}$  (4.6  $\times$  150 mm), un rancidímetro construido en el laboratorio GATHERS, incorporando un conductímetro CRISON EC-Meter GLP 31+, un viscosímetro LVDVE230 de la casa Brookfield con su pack de spindles o husillos, accesorios volumétricos, centrifuga modelo 2716 de la casa Nahita, lámpara de Xenón HID H7 6000K 35W-12V de OSRAM, lámparas UV A PLL36W/09/4P y UV B TL 20W/12 RS SLV/25, de Philips y piranómetro con sensor de fotodiodo Tenmars, modelo TM-209.

### 3.2. Técnicas utilizadas

El desarrollo experimental se ha dividido en varias actividades. La primera se centra en el estudio de la estabilidad física y química de la emulsión y del gel, y comprenderán el análisis de estabilidad acelerada, estabilidad por ciclos y compatibilidad con el envase, mientras que la segunda parte se dedica al estudio de la estabilidad del AV de lino, evaluando, por un lado, su estabilidad frente al enranciamiento, tanto incorporando el antioxidante (tocoferol) como sin antioxidante, utilizando el test Rancimat y, por otro lado, evaluando su foto-estabilidad utilizando la espectrofotometría como técnica de seguimiento del proceso. En estas últimas pruebas se observa también el efecto protector del antioxidante frente a la fotooxidación que ocurre por la acción simultánea de aire y luz sobre la muestra.

#### 3.2.1. Métodos isotermos de estabilidad acelerados

La evaluación acelerada de la estabilidad se realiza antes de la comercialización de un producto para predecir su vida útil, y se confirma posteriormente mediante estudio a tiempo real sobre formulaciones representativas. Estos métodos representan la forma más eficiente y económica de evaluar la vida útil de un producto al simular condiciones más extremas en un período de tiempo comprimido. Sin embargo, es importante señalar que las pruebas de estabilidad acelerada no reemplazan completamente los estudios a tiempo real, ya que las condiciones reales pueden tener efectos algo diferentes.

Al diseñar un estudio de estabilidad acelerada, es importante considerar las características específicas del producto, su vida útil esperada y el lugar de comercialización. Con estos elementos en mente, se pueden establecer los parámetros clave para el seguimiento del proceso de degradación, las temperaturas relevantes y los tiempos de control necesarios. En este trabajo, se ha seguido las directrices establecidas en la norma ISO/TR 18811:2018 [23] para establecer las condiciones de temperatura, humedad y duración del estudio. Así, se ha optado por realizar el estudio a tres temperaturas 25 °C, 45 °C y 5 °C, de acuerdo con los siguientes criterios:

*Temperatura ambiente, 25 °C.* Las medidas a esta temperatura se utilizan como referencia. Para su elección, hemos considerado la zona geográfica donde se piensa que preferentemente se van a comercializar los productos con su temperatura promedio [24].

*Temperatura de 45 °C.* Las pruebas a esta temperatura son clave para una estimación de la vida útil del producto. Las pruebas a las otras temperaturas tienen un propósito diferente y no permiten simular de manera efectiva el envejecimiento acelerado.

*Temperatura de 5 °C.* Resulta crucial para detectar posibles problemas de funcionalidad del producto a temperaturas bajas. Permite evaluar si el producto aumentará significativamente su

viscosidad a bajas temperaturas, impidiendo una salida adecuada del envase, o si, en el caso del gel, se puede producir la ruptura de la estructura tridimensional de la matriz.

### 3.2.2. Estudio de estabilidad por ciclos de temperaturas.

Este estudio permite determinar si la formulación permanecerá estable en condiciones muy cambiantes; especialmente se utiliza para prever la estabilidad en el transporte aéreo, en el que los productos pueden sufrir ciclos de congelación y descongelación. Además, no es inusual que en los almacenes locales de las empresas de transportes e incluso durante el transporte se puedan alcanzar temperaturas entre 5-10 °C en invierno y 35-40 °C en verano.

### 3.2.3. El factor humedad

En cuanto a las pruebas de humedad relativa, presentes en algunos otros trabajos de este tipo, son normalmente pruebas del envase y no del producto. Sirven para mostrar el efecto del almacenamiento a humedad variable sobre el envase o como medida de las propiedades de barrera del envase. En el presente estudio, en el que la estufa no disponía de control de humedad relativa, por las pruebas se realizaron bajo una humedad relativa ambiental que osciló entre el 50 % y el 70 %, resultando en un promedio del 60 %.

## 3.3. Procedimientos

### 3.3.1. Pruebas estabilidad acelerada

Se preparan las muestras de producto terminado o de la materia prima, las cuales se dividirán en grupos de acuerdo con las diferentes temperaturas a que van a ser sometidas: i) el primer grupo se mantendrá en la estufa a una temperatura de 45 °C, ii) el segundo grupo se mantendrá refrigerado a una temperatura de 5 °C, y iii) el tercer grupo se mantendrá a temperatura ambiente de 25 °C.

*Tabla 1. Parámetros a determinar en el estudio de estabilidad acelerada, según la forma cosmética*

FORMA COSMÉTICA	ANÁLISIS ORGANOLEPTICOS	ANÁLISIS FÍSICO QUÍMICOS
<ul style="list-style-type: none"> <li>Producto comercial 1 - Gel</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Aspecto</li> <li>Color</li> <li>Olor</li> <li>Textura</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Densidad</li> <li>Viscosidad</li> <li>pH</li> <li>Residuo seco</li> <li>Determinación por HPLC del glucósido de ascorbilo</li> </ul>
<ul style="list-style-type: none"> <li>Producto comercial 2 - Emulsión</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Aspecto</li> <li>Color</li> <li>Olor</li> <li>Textura</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Densidad</li> <li>Viscosidad</li> <li>pH</li> <li>Residuo seco</li> <li>Centrifugación</li> <li>Distribución de gotículas</li> </ul>

A tres tiempos de control preestablecidos ( $t = 0$ ,  $t = 30$  días y  $t = 60$  días, desde el comienzo), se realizará la medida de los parámetros de control. Se asume que, en todas las condiciones de almacenamiento, las variaciones de temperatura se mantienen en un margen de  $\pm 3$  °C. Todas las medidas se realizan por triplicado.

Los análisis que se llevarán a cabo dependerán del tipo de producto cosmético, según se especifican en la Tabla 1.

### 3.3.2. Pruebas de estabilidad térmica por ciclos

Los productos y los parámetros evaluados coinciden con los del análisis de estabilidad acelerada, y los ciclos se establecen de acuerdo con el esquema que aparece en la Tabla 2, realizando un total de 3 ciclos.

Tabla 2. Programación de temperaturas para la determinación de la estabilidad acelerada por ciclos.

SEMANA 1						
Día 1: 5 °C	Día 2: -5 °C	Día 3: 25 °C	Día 4: 45 °C	Día 5: 25 °C	Día 6: 5 °C	Día 7: -5 °C
SEMANA 2						
Día 8: 25 °C	Día 9: 45 °C	Día 10: 25 °C	Día 11: 5 °C	Día 12: -5 °C	Día 13: 25 °C	Día 14: 45 °C
SEMANA 3						
Día 15: 25 °C						

### 3.3.3. Procedimiento para el estudio de compatibilidad con el envase

El estudio se llevará a cabo simultáneamente con el estudio de estabilidad acelerada, y se adoptarán los mismos tiempos de control que en ese estudio.

Los parámetros de control son el peso de envase con y sin producto, y el análisis organoléptico de producto y envase que comprenderá la evaluación del color, deformación, grietas, corrosión, rotura, acoplamiento, colapso y dispensación del producto.

### 3.3.4. Enranciamiento y pruebas de estabilidad oxidativa para el aceite.

#### 3.3.4.1. Planteamiento

El deterioro de los aceites puede estar determinado por su oxidación como consecuencia del contacto con el aire. Cuando los aceites y grasas son expuestos al oxígeno, este puede abstraer electrones de las moléculas de grasa, generando radicales libres. Este proceso de enranciamiento puede ser estudiado de forma acelerada sometiendo el producto a unas condiciones extremas que inducen su rápida oxidación.

#### 3.3.4.2. Procedimiento. Método Rancimat.

El llamado método Rancimat permite determinar de forma eficiente la estabilidad oxidativa de aceites y grasas bajo condiciones extremas que inducen a una rápida oxidación: alta temperatura y un flujo de aire elevado. Los datos obtenidos aun siendo inexactos proporcionan una idea aproximada de la degradación a temperatura ambiente. Lo que si permite esta técnica es la comparación de la eficacia



de los antioxidantes en la estabilización de grasas y aceites [25–27]. Detalles del método aparecen en el Anexo 1.

### 3.3.5. Estudios de fotoestabilidad y fotooxidación del AV de lino

#### 3.3.5.1. Planteamiento

Es un hecho bien reconocido que no sólo el calor, sino también la luz puede acelerar el proceso de degradación de los aceites. Tanto la luz solar como las luces artificiales pueden ejercer esta acción, bien incidiendo directamente, o a través de los envases transparentes o semitransparentes ordinarios, ya que si bien el vidrio corriente resulta opaco a las radiaciones de longitud de onda más corta (incluido el UV B), dicho vidrio, además de dejar pasar la luz visible, puede llegar también a transmitir hasta el 75% del UV A [28]. En principio, es posible que el aire a temperatura ambiente no tenga demasiada influencia en la degradación ya que ésta puede ocurrir mediante un proceso de autooxidación [29].

Por otra parte, teniendo en cuenta que ciertas sustancias como la vitamina E o tocoferol pueden tener un papel protector frente a la degradación, en este TFG se han programado una serie de pruebas para ver el efecto de las radiaciones sobre el AV de lino, con y sin antioxidante, conservado en envases de vidrio transparente, con y sin acceso de aire.

Uno de los principales desafíos para llevar a cabo estudios de fotoestabilidad frente a la luz solar es la variabilidad de ésta. Para conocer la cantidad de energía radiante proveniente del sol, puede utilizarse un instrumento que la registre en tiempo real. Sin embargo, debido a que esto no resulta práctico, normalmente se opta por emplear lámparas de luz artificial que emulen la radiación solar, ciertas lámparas de xenón son fuentes de luz especialmente diseñadas para producir una emisión similar a la emisión estándar D65/ID65. Esta emisión se considera una referencia para el análisis de estabilidad de materiales y productos, ya que simula la luz diurna promedio en el hemisferio norte en una jornada de verano [30,31]. En el presente trabajo se dispuso una lámpara de xenón con temperatura de luz 6000 K apta para, colocada a la distancia adecuada, simular la acción de la luz solar con una irradiancia de  $200 \text{ W}\cdot\text{m}^{-2}$ . El fundamento teórico de este valor de irradiancia, así como los de las irradiancias específicas de UV, se encuentran en el Anexo 2.

#### 3.3.5.2. Procedimiento

De acuerdo con las premisas anteriores, para el presente trabajo, se preparan cuatro tipos de muestras que consisten en: i) AV de lino puro, envasado hasta el borde del envase (casi sin oxígeno), ii) AV de lino puro, envasado hasta la mitad del envase, iii) AV de lino con tocoferol, envasado hasta el borde del envase (casi sin oxígeno), y iv) AV de lino con tocoferol, envasado hasta la mitad del envase, para observar la influencia del aire en la muestra. Los distintos recipientes así envasados se sometieron a la acción de la luz visible, luz UVA y luz UV B durante 15 días, tras los cuales se hicieron

los correspondientes análisis organolépticos y propiedades físico químicas que se indican en la Tabla 3, si bien, para el caso de las irradiaciones con luz UV, se limitaron a determinaciones espectrofotométricas de absorción UV.

*Tabla 3. Parámetros a determinar en el estudio de fotoestabilidad del AV de lino*

FORMA COSMETICA	ANALISIS ORGANOLEPTICOS	ANALISIS FISICO QUIMICOS
<ul style="list-style-type: none"> <li>Soluciones oleosas</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Aspecto</li> <li>Color</li> <li>Olor</li> <li>Textura</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Viscosidad</li> <li>Densidad</li> <li>Medida por espectrofotometría de absorción UV</li> <li>Índice de yodo</li> <li>Índice de acidez</li> </ul>

Los procedimientos seguidos en este trabajo para determinar los parámetros de control (algunas medidas físico-químicas, cromatografía, espectrofotometría), son iguales a los seguidos en muchas aplicaciones de la Ingeniería química y ciencias afines, y son descritos en los Anexos numerados del 3 al 10.

## 4. Resultados

### 4.1. Resultados del estudio de estabilidad acelerada, por ciclos y compatibilidad de envase para el Producto 1 (Gel)

*Tabla 4. Valores obtenidos en los estudios de estabilidad acelerada y ciclos para el producto comercial 1, Gel*

	Tempe- ratura	Aspecto	Color	Olor	pH	Viscosidad [cP]	Residuo seco [%]	Densidad [kg/L]	% ascorbil glucósido <sup>a</sup>
Inicio	25 °C	Homogéneo <sup>b</sup>	Anaranjado <sup>c</sup>	Carac. <sup>d</sup>	6,45	1036	5,43	1,01	2,11
Día 30	25 °C	Homogéneo <sup>b</sup>	Anaranjado <sup>c</sup>	Carac. <sup>d</sup>	5,84	994	5,20	1,01	1,96
Día 30	45 °C	Cambio leve <sup>e</sup>	Anaranjado <sup>c</sup>	Carac. <sup>d</sup>	5,17	942	5,53	1,01	1,56
Día 30	5 °C	Homogéneo <sup>b</sup>	Anaranjado <sup>c</sup>	Carac. <sup>d</sup>	6,31	992	6,35	1,01	1,98
Día 60	25 °C	Homogéneo <sup>b</sup>	Anaranjado <sup>c</sup>	Carac. <sup>d</sup>	5,66	936	4,81	1,01	1,70
Día 60	45 °C	Cambio leve <sup>e</sup>	Anaranjado <sup>c</sup>	Carac. <sup>d</sup>	5,21	908	5,33	1,01	1,41
Día 60	5 °C	Homogéneo <sup>b</sup>	Anaranjado <sup>c</sup>	Carac. <sup>d</sup>	6,23	930	4,56	1,01	2,03
Ciclos Día 16	-	Homogéneo <sup>b</sup>	Anaranjado <sup>c</sup>	Carac. <sup>d</sup>	5,38	1142	5,21	1,01	1,50

<sup>a</sup> Porcentaje de glucósido de ascorbilo en el preparado. <sup>b</sup> Homogéneo, sin rotura de la estructura tridimensional del gel. <sup>c</sup> NCS S 3040-Y2O. <sup>d</sup> Olor particular, característico. <sup>e</sup> Cambio leve de color, se ha oscurecido "NCS S 4040-Y2OR".

La desviación estándar en las medidas de pH, viscosidad, residuo seco, densidad y en porcentaje de glucósido de ascorbilo es de  $\pm 0,03$ ,  $\pm 6$  cP,  $\pm 0,7$  %,  $\pm 0,001$  kg/L, y  $\pm 0,09$  %, respectivamente, valores medios.

En la Tabla 4 se muestra los resultados (valores medios) obtenidos para el producto comercial 1 (Gel) en los estudios de estabilidad acelerada y de ciclos: En general, se ha observado unos valores bajos para las desviaciones estándar, salvo para la medición cuantitativa de glucósido de ascorbilo

realizada a 5°C en el segundo mes; para este periodo, una de las medidas se desvió significativamente de la media, por lo que se omitió y el cálculo se hizo con las dos restantes.

El resultado del estudio de compatibilidad indica que producto comercial 1 (gel) y envase resultan compatibles. Este estudio se describe en el Anexo 11.

#### 4.2. Resultados del estudio de estabilidad acelerada, por ciclos y compatibilidad de envase para el Producto 2 (Emulsión).

En la Tabla 5 se muestra los resultados promedio obtenidos en el producto comercial 2 - Emulsión para el estudio de estabilidad acelerada y de ciclos: En general, se ha observado una baja desviación estándar en todas las medidas realizadas.

Tabla 5. Valores obtenidos en los estudios de estabilidad acelerada y ciclos para el producto comercial 2, Emulsión

	Tempe- ratura	Aspecto	Color	Olor	pH	Visco. <sup>a</sup> [cP]	% Res. seco <sup>b</sup>	Densidad [kg/L]	Centri- fugado	Dis . Got. <sup>c</sup> [µm]
Inicio	25 °C	Homog <sup>d</sup>	Marfil <sup>e</sup>	Herbal	6,27	1540	34,75	1,04	Sin sep. <sup>f</sup>	DH <sup>i</sup> TGP: 7,70
Día 30	25 °C	Homog <sup>d</sup>	Marfil <sup>e</sup>	Herbal	6,29	1390	35,39	1,04	Sin sep. <sup>f</sup>	DH <sup>i</sup> TGP: 7,77
Día 30	45 °C	Homog <sup>d</sup>	Marfil <sup>e</sup>	Herbal	6,21	1206	33,13	1,05	Sin sep. <sup>f</sup>	DH <sup>i</sup> TGP: 14,2
Día 30	5 °C	Homog <sup>d</sup>	Marfil <sup>e</sup>	Herbal	6,27	1442	37,28	1,05	Sin sep. <sup>f</sup>	DH <sup>i</sup> TGP: 7,45
Día 60	25 °C	Homog <sup>d</sup>	Marfil <sup>e</sup>	Herbal	6,30	1350	35,40	1,05	Sin sep. <sup>f</sup>	DH <sup>i</sup> TGP: 7,26
Día 60	45 °C	Cambio leve <sup>g</sup>	Marfil <sup>e</sup>	Herbal	6,16	1130	36,10	1,05	leve sep. <sup>h</sup>	DPH <sup>j</sup> TGP: 14,61
Día 60	5 °C	Homog <sup>d</sup>	Marfil <sup>e</sup>	Herbal	6,32	1448	35,59	1,05	Sin sep. <sup>f</sup>	DH <sup>i</sup> TGP: 6,70
Ciclos Día 16	-	Homog <sup>d</sup>	Marfil <sup>e</sup>	Herbal	6,28	1350	36,16	1,05	Sin sep. <sup>f</sup>	DPH <sup>j</sup> TGP: 12,77

<sup>a</sup> Viscosidad de la emulsión. <sup>b</sup> Residuo seco. <sup>c</sup> Distribución de tamaños de gotícula. <sup>d</sup> Emulsión homogénea, <sup>e</sup> NCS S 1502-Y2OR. <sup>f</sup> Sin separación de fases. <sup>g</sup> Pequeñas irregularidades en el color, prácticamente inapreciables. <sup>h</sup> pequeña separación de fases, separándose el aceite en la parte superior. <sup>i</sup> Distribución de gotículas homogénea. <sup>j</sup> Distribución de gotículas poco homogénea, hay diferencia entre el tamaño de las gotículas.

La desviación estándar en las medidas de pH, viscosidad, residuo seco y densidad es de  $\pm 0,01$ ,  $\pm 9$  cP,  $\pm 2,0$  % y  $\pm 0,003$  kg/L, respectivamente, valores medios.

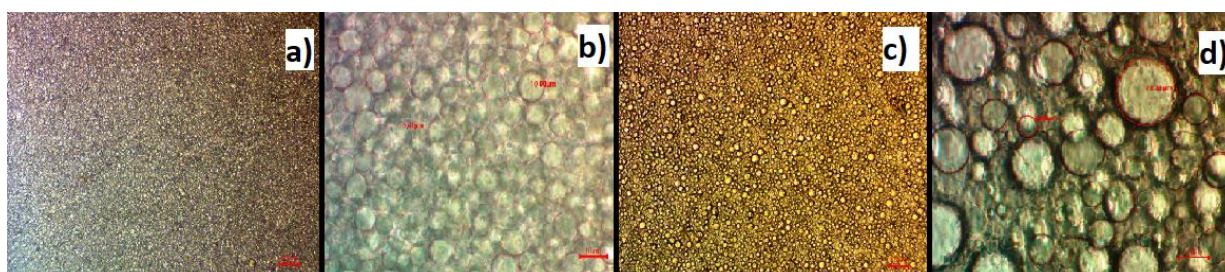
El resultado del estudio de compatibilidad indica que producto comercial 2 (emulsión) y envase resultan compatibles. Este estudio se describe en el Anexo 12.

##### 4.2.1. Comparativa visual del efecto del centrifugado y de la distribución de gotículas

La Figura 1 muestra una comparativa visual del Producto 2, emulsión tras ser centrifugado i) antes (izquierda) y ii) después (derecha) de ser sometida a una temperatura de 45 °C durante 60 días. Por su parte, la Figura 2 permite ver, las imágenes aumentadas para la distribución de las gotículas antes y después del proceso de calentamiento a 45 °C durante 60 días.



*Figura 1. Imágenes de las muestras centrifugadas del preparado 2 (Emulsión): i) dispersión original sin someter a calentamiento; ii) tras ser sometida a calentamiento a 45 °C, durante 60 días.*

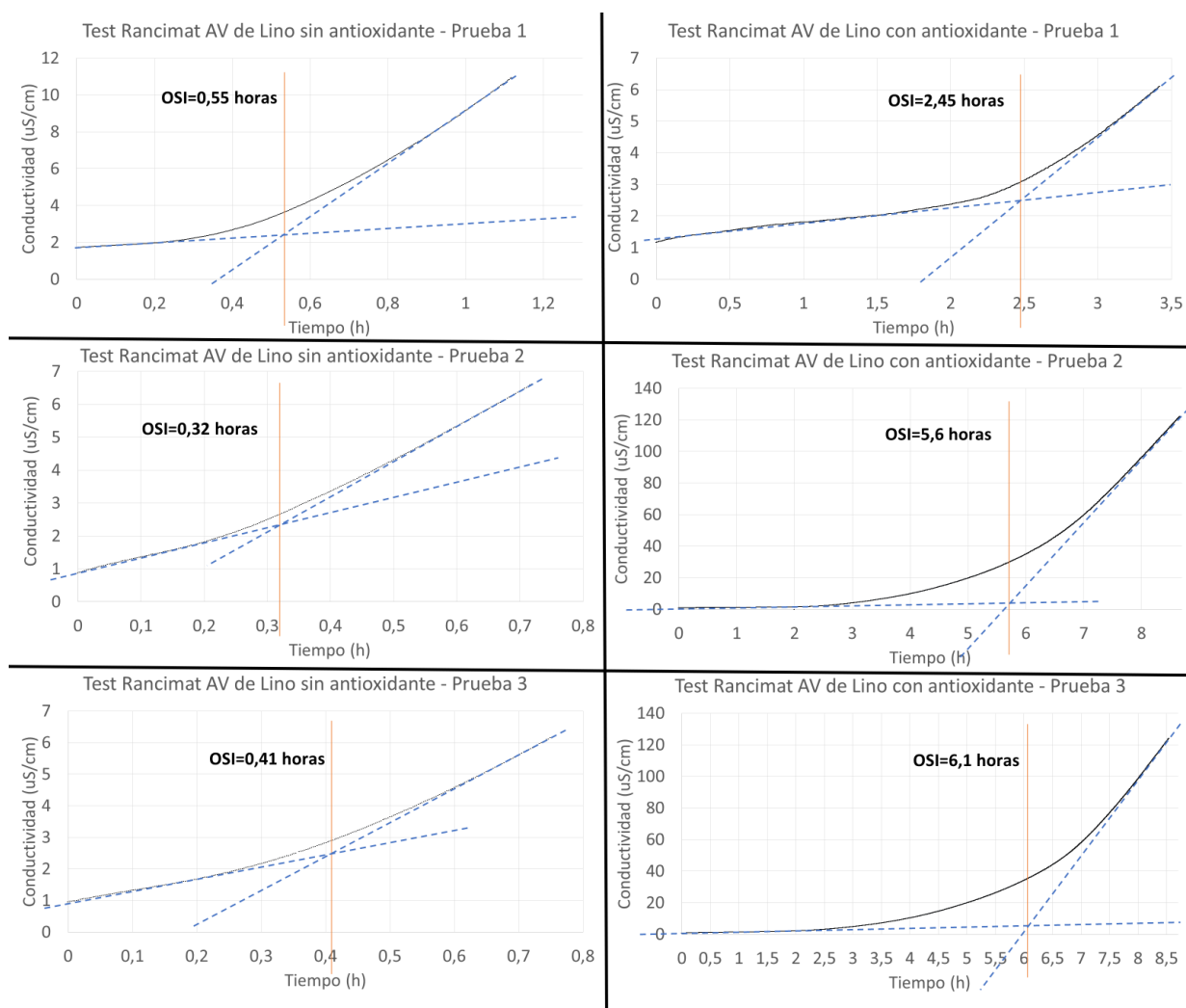


*Figura 2. Imágenes de microscopía correspondientes a la dispersión original, ampliadas: a) muestra inicial, a 12,5 aumentos; b) la misma muestra a 100 aumento; c) muestra sometida a 45 °C durante 60 días, observada a 12,5 aumentos de; d) la misma muestra descrita en c, observada a 100 aumentos*

### **4.3. Aceite virgen de lino**

#### **4.3.1. Resultados de estabilidad oxidativa mediante rancidimetría**

La Figura 3 sirve de comparación entre los resultados (obtenidos por triplicado) de las rancidimetrías obtenidos para el AV de lino, con y sin antioxidante protector. El valor OSI del AV de lino sin antioxidante es de 25 minutos, mientras que, con la incorporación del antioxidante, se extiende hasta 5 horas y 51 minutos (valores medios). El primero de los tres resultados obtenidos del AV de lino con antioxidante se descartó al resultar poco seguro el trazado de la tangente del segundo tramo de la curva.



**Figura 3.** Comparación entre las curvas rancidométricas y valores del OSI para el aceite de lino sin antioxidante (gráficos de la izquierda) y con antioxidante (gráficos de la derecha).

#### 1.1.1. Resultados foto-estabilidad. Control espectroscópico, organoléptico y físico-químico.

La Figura 4, reproduce los espectros, en la zona Vis-UV, del AV de lino con y sin antioxidante, sin irradiar, mientras que las Figuras 5 y 6 reproducen, respectivamente, los espectros del aceite de lino sin y con antioxidante, tras ser irradiado durante 15 días con la lámpara de Xenón en frascos llenos y semi llenos.

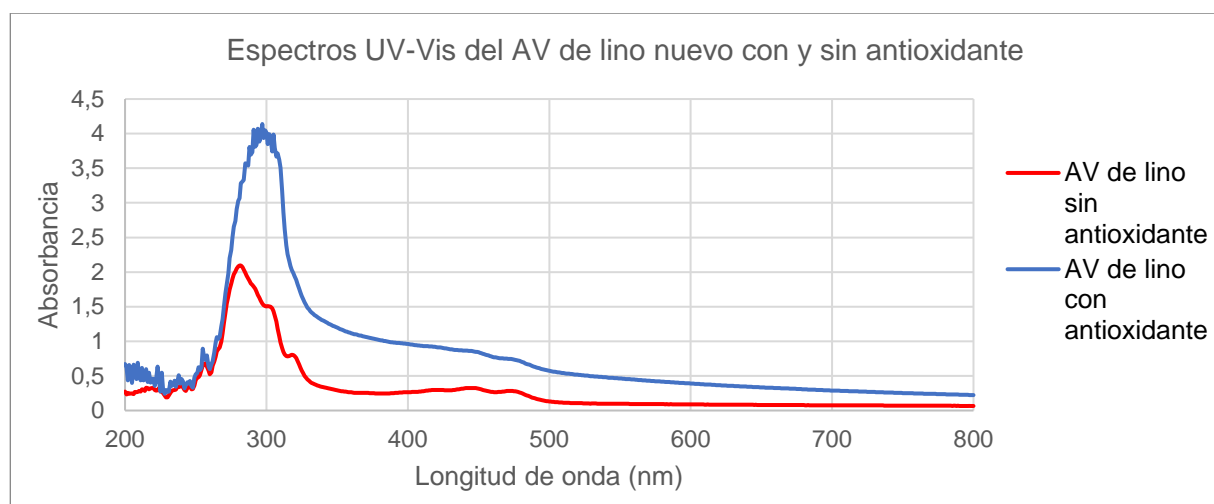


Figura 4. Absorbancias del AV de lino nuevo con antioxidante y sin antioxidante

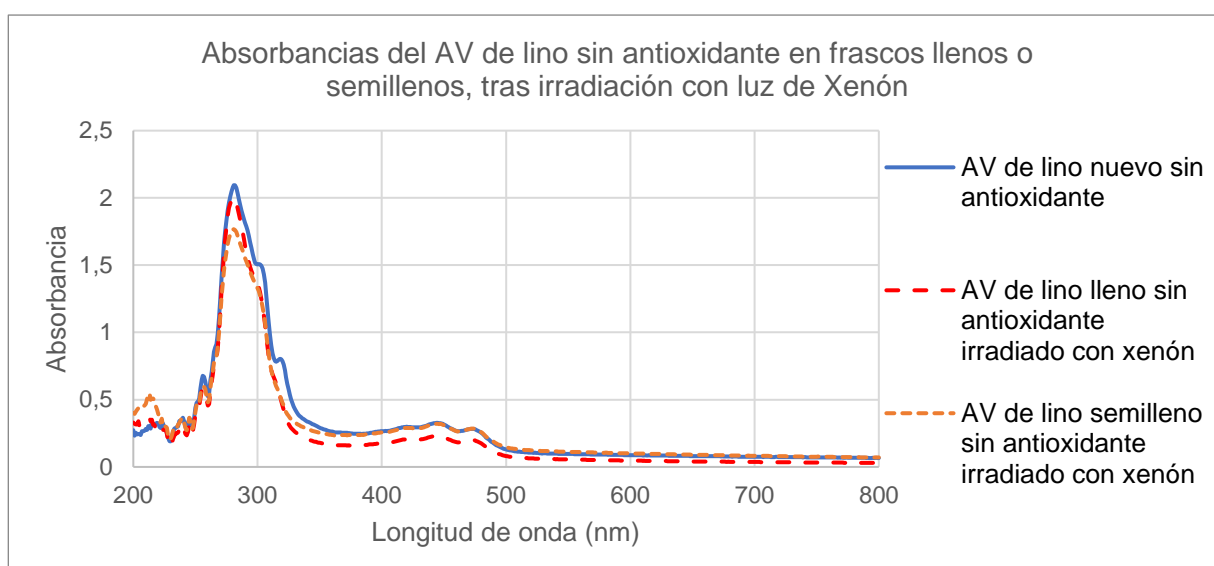


Figura 5. Absorbancias del AV de lino sin antioxidante en frascos llenos o semillenos, tras irradiación con luz de lámpara de Xenón durante 15 días.

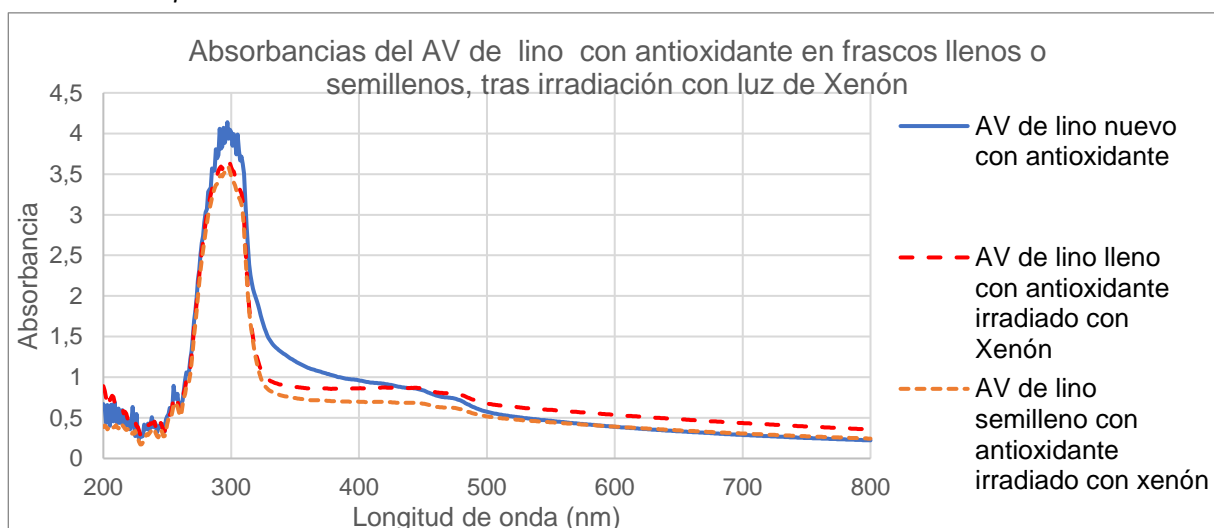


Figura 6. Absorbancias del AV de lino con antioxidante en frascos llenos o semillenos, tras irradiación con luz de lámpara de Xe durante 15 días

En la Tabla 6 se consignan los resultados del análisis organoléptico y de propiedades físico-químicas del aceite de lino con y sin antioxidante en recipientes llenos y semillenos, antes y después de ser irradiado con la lámpara de Xenón durante 15 días.

*Tabla 6. Propiedades organoléptico y propiedades físico-químicas del aceite de lino con y sin antioxidante contenido en recipientes llenos y semillenos, antes y después de ser irradiado con la lámpara de Xenón durante 15 días.*

	Irradiación con Lámpara de Xenón					
	AV lino sin antioxidante			AV lino con antioxidante		
	Inicio	15 días		Inicio	15 días	
	-	Recp. lleno <sup>a</sup>	Recp. ½ lleno <sup>b</sup>	-	Recp. lleno <sup>a</sup>	Recp. ½ lleno <sup>b</sup>
Aspecto	Homogéneo	Homogéneo	Homogéneo	Homogéneo	Homogéneo	Homogéneo
Color	Amarillo	Amarillo	Amarillo	Amarillo	Amarillo	Amarillo
Olor	Característico	Característico	Característico	Característico	Característico	Característico
Viscosidad [cP]	40,9	-	-	42,9	-	-
Densidad [kg/L]	0,92	0,92	0,92	0,92	0,92	0,92
Índice de acidez <sup>c</sup>	0,65	0,44	0,42	1,08	0,85	0,75
Índice de yodo <sup>d</sup>	209	160	188	199	202	186
Absorbancia UV <sup>e</sup>	2,1	2	1,7	4	3,7	3,6

<sup>a</sup> Recipiente lleno <sup>b</sup> Recipiente semilleno <sup>c</sup> Recipiente Índice de acidez en mg KOH/gr aceite <sup>d</sup> Índice de yodo en g I<sub>2</sub>/100 g muestra <sup>e</sup> Absorbancia a 280 nm para el AV lino sin antioxidante y 300nm para el AV lino con antioxidante.

La desviación estándar en las medidas de viscosidad, densidad, índice de acidez e índice de yodo es de ±0,09 cP, ±0,92 kg/L, ±0,7 mg KOH/gr aceite y ±2,3 g I<sub>2</sub>/100 g muestra, respectivamente, valores medios.

Los resultados de absorbancia en el Vis-UV para el AV de lino por irradiación con las lámparas UV A y UV B aparecen en el Anexo 6.

## 5. Discusión de los resultados

### 5.1. Aspectos generales

Los análisis organolépticos: realizados son pruebas sensoriales que, pese a su rapidez y simplicidad de ejecución, proporcionan datos muy valiosos y, a fines prácticos, pueden hacer innecesarios análisis adicionales más complejos.

Por su parte algunas propiedades físico-químicas proporcionan de forma muy objetiva información sobre el estado de los productos a través del tiempo de almacenaje. Así, el pH da información de la estabilidad química y física; cambios muy bruscos de pH, suelen significar degradaciones de alguna sustancia en grandes cantidades. Los cambios de viscosidad pueden indicar la rotura de la red tridimensional de un gelificante o, en el caso de una emulsión puede indicar

separación de fases o un acercamiento a ésta. Los cambios notables de densidad son raros; cuando se producen pueden ser indicativo reacciones químicas o degradaciones muy grandes. Los cambios apreciables en los resultados de la determinación de residuo seco apuntan a reacciones de descomposición en las que se originen sólidos que precipiten. El índice de yodo proporciona información sobre las insaturaciones en aceites y grasas; los procesos de oxidación de éstos dan lugar al enranciamiento, que es un reflejo de su degradación. La centrifugación de las emulsiones proporciona una información fundamental sobre su estabilidad frente a la separación de las fases. La práctica se realiza bajo unas condiciones preestablecidas adecuadas para los productos cosméticos y que en nuestro caso son 3000 rpm por un periodo de 30 minutos [32]. Paralelamente a la centrifugación el estudio microscópico de la distribución de partículas proporciona una información complementaria sobre la estabilidad de la dispersión. Por lo general, un tamaño pequeño de gota (menor a 10 micrómetros) y una distribución homogénea suelen ser señales positivas, pero no suficientes, dado que el tipo de emulsionante empleado puede resultar en partículas de mayor tamaño; lo verdaderamente valioso del método radica en comparar el resultado inicial con el de después de someterlo a una prueba de estabilidad de duración y temperatura específicas, y lo mismo sucede con la centrifugación.

En relación con las pruebas aceleradas de estabilidad a temperatura alta, se adopta como criterio que la temperatura media en la zona de comercialización del producto cosmético (España) es de 25 °C [24].

El fundamento de este tipo de ensayos y la consiguiente estimación de la vida útil del producto es el conocido aumento de la velocidad de un proceso reactivo con la temperatura. Para el caso de los procesos más simples, la relación entre la constante de velocidad del proceso,  $k$ , y la temperatura absoluta,  $T$ , viene dada por la ecuación de Arrhenius:

$$k = Ae^{-Ea/RT} \quad , \quad [1]$$

$$\log k = \log A - \frac{Ea}{2,303 \cdot RT} \quad , \quad [2]$$

donde  $A$  es una constante,  $R$  la constante de los gases y  $Ea$  es la energía de activación, una característica de cada proceso. Una aproximación, frecuentemente citada, es la de considerar que, por término medio, la velocidad de reacción se duplica por cada 10 °C de aumento de temperatura [21,33]. Pero, dado que tanto las formulaciones cosméticas como sus procesos de degradación son habitualmente complejos, la dependencia de sus velocidades puede fluctuar notablemente. No obstante, la ecuación puede ser útil en investigaciones de la estabilidad de un nuevo ingrediente cosmético o para formulaciones simples [33]. Para nuestro análisis, hemos optado por una aproximación menos rigurosa, considerando una aceleración quíntuple por cada incremento de 10 °C



en la temperatura. En concreto, suponemos que la velocidad de degradación se multiplica por diez al aumentar la temperatura de 25 a 45 °C. Comparativamente, respecto de las pruebas farmacéuticas esto implica una estimación de una vida útil del producto más larga y eventualmente, un cambio del periodo de permanencia en estufa para la realización del test. Este enfoque resulta coherente con las prácticas usuales del sector cosmético, donde se realizan estudios en línea con la Norma ISO 18811:2018 [23], que estipula duraciones entre una semana y tres meses de pruebas aceleradas. Así, En el presente trabajo, el tiempo de duración de la prueba se establece en dos meses sobre la base del reglamento 1223/2009 de cosmética que regula la obligatoriedad o no de indicar la fecha de caducidad en el envase según la extensión de su vida útil y sobre la base de la norma citada norma ISO 18811:2018 referente a los márgenes para la duración de las pruebas de estabilidad aceleradas. Tomando como referencia el corte temporal de 30 meses para la vida de un cosmético sin que su comercialización requiera indicar de fecha de caducidad, y tomando por otra parte el límite superior de 3 meses de extensión para las pruebas aceleradas, manteniendo la misma relación entre estos periodos temporales, resulta que los 60 días adoptados por razones operativas en nuestros ensayos acelerados a 45 °C se corresponderían con un óptimo de aproximadamente 600 días (20 meses) de vida útil a 25 °C [7].

Adoptado este límite para el óptimo de vida útil del producto, que correspondería al mantenimiento de los valores de los parámetros de control, en base a los estándares generalmente aceptados, se han establecido en este trabajo otros criterios, para determinar la vida útil (fecha de caducidad) cuando los parámetros de control cambian de valor sensiblemente. Se, considerará que, por cada cambio sensible de un parámetro en las pruebas aceleradas a 45 °C y 60 días, el tiempo de vida útil del producto se reduce en varias semanas, cuyo número depende del parámetro concreto y de la amplitud del cambio.

Para el test organoléptico: Con un cambio significativo en el aspecto, se reduce la vida útil en 6 meses, para un cambio moderado en 3 meses y un cambio leve no reduce la vida útil. Un cambio significativo en el color reduce la vida útil en 3 meses, y un cambio leve o moderado no reduce la vida útil. Un cambio significativo en el olor reduce la vida útil en 3 meses, y un cambio leve o moderado no reduce la vida útil.

En el caso de los parámetros físico-químicos: Un cambio significativo en viscosidad reduce la vida útil en 3 meses, un cambio moderado en 1 mes y un cambio leve no reduce la vida útil. Un cambio significativo en residuo seco reduce la vida útil en 3 meses, y un cambio leve o moderado no reduce la vida útil. Un cambio significativo en densidad reduce la vida útil en 6 meses, un cambio moderado en 3 meses y un cambio leve reduce la vida útil en 1 mes. Un cambio significativo en pH reduce la vida útil en 6 meses, un cambio notable en 3 meses y un cambio leve no reduce la vida útil. Un cambio

significativo en la concentración de glucósido de ascorbilo determinada por HPLC reduce la vida útil en 6 meses, un cambio moderado en 3 meses y un cambio leve no reduce la vida útil. Un cambio significativo en centrifuga reduce la vida útil en 3 meses, y un cambio leve o moderado no reduce la vida útil. Un cambio significativo en distribución de gotículas reduce la vida útil en 3 meses, y un cambio leve o moderado no reduce la vida útil. Dadas las características de los parámetros de control, para aquellos determinados numéricamente. se considera que un cambio significativo es el que corresponde a una variación de un 20% o superior, una variación moderada corresponde a un cambio entre un 10% y un 20% y cambio leve el que se produce con una variación inferior a un 10%.

Finalmente, conviene señalar que, dado lo drástico de estas aproximaciones, parece obvia la recomendación de confirmar las conclusiones que de ellas se deducen mediante los ensayos en tiempo real.

## **5.2. Estudio de compatibilidad**

El resultado del estudio indica que producto y envase resultan compatibles. Los detalles del estudio se encuentran, junto con los resultados para el Producto comercial 1, Gel, y el Producto comercial 2, Emulsión, en los Anexos 11 y 12.

## **5.3. Producto comercial 1 - Gel.**

### **5.3.1. Estudio de estabilidad acelerada**

De acuerdo con los resultados numéricos recogidos en la Tabla 4, en las pruebas aceleradas de calentamiento a 45 °C durante 60 días, se aprecia una variación moderada en la viscosidad, entre el 10% y el 20% respecto de la muestra inicial, que, de acuerdo con los estándares usuales podría apuntar a una reducción de un mes en la durabilidad del producto. Si bien durante estos 60 días no se percibió alteración alguna en el tacto, consistencia, textura en la aplicación sobre la piel, sería prudente extender la prueba 30 días adicionales para evaluar la progresión de este parámetro. En esta misma prueba a 45 °C y a 60 días, se evidencia un cambio muy leve de color. Dado que el gel integra extractos naturales, es previsible que estas leves alteraciones cromáticas no implican necesariamente una reducción en la vida útil del producto. Sí que se identificaron alteraciones significativas en el pH y en la concentración de glucósido de ascorbilo, lo que permitiría suponer, en principio, una relación entre ambos parámetros. Durante el primer mes, sus valores experimentan una disminución pronunciada, aproximadamente del 20% y 26% respectivamente. En cambio, durante el segundo mes, el pH se mantiene estable mientras que el glucósido de ascorbilo continúa bajando, aunque de manera mucho más lenta. Esa reducción acelerada de los dos parámetros durante el primer mes apunta a considerar una reformulación del producto antes de llevarlo al mercado. Es probable que ese comportamiento esté relacionado con el pH, ya que llevándolo a 5,2 se logra una mejor estabilidad con una menor

degradación del glucósido, tal como se observa en los resultados. Sin esta reformulación, aquellos cambios resultarían en una disminución de la vida útil del producto de 6 meses por cada uno de los parámetros, sumando un total de un año, resultando así una vida útil de 8 meses, que se calcula partiendo de una vida útil máxima de 20 meses

En las pruebas isotérmicas del gel a 5 °C, no se producen cambios muy significativos. El único cambio destacable, el de las viscosidades, es equivalente en todas las pruebas al de la muestra de control a temperatura ambiente, lo que implica que el frío no desestabiliza la estructura tridimensional del gel.

#### 5.3.2. Estudio de estabilidad por ciclos

Aunque el cambio en el pH no sea tan pronunciado, se observa el mismo cambio significativo de degradación del glucósido de ascorbilo que en las pruebas isoterma de 60 días en estufa a 45 °C, aunque en un período mucho más corto. Por ello, parece que las fluctuaciones de temperatura podrían acelerar la degradación y, consecuentemente, puede decirse que el producto no resultaría muy estable para los viajes en avión. Es de señalar que este componente, el glucósido, es susceptible a la degradación, pero resulta crucial para el efecto buscado en la piel por lo que es importante su determinación directa, la cual, se determina en este trabajo mediante HPLC (Véase Anexo 3).

### 5.4. Producto comercial 2 - Emulsión.

#### 5.4.1. Estudio de estabilidad acelerada

De acuerdo con la Tabla 5, en condiciones de refrigeración, a 5 °C, no se aprecian alteraciones significativas. La crema parece conservarse perfectamente dado que su viscosidad se mantiene casi sin cambios y los demás parámetros se conservan cercanos a sus valores iniciales.

Diferentemente, a los 60 días a una temperatura de 45 °C, se presenta una variación significativa de la viscosidad, entre un 20 y 25%. Esta alteración podría estar vinculada al incremento del tamaño de las gotículas, o a una inminente separación de fases. Esta alteración implicaría una reducción en la durabilidad del producto; sin embargo, a nivel práctico durante este período, el cambio no es perceptible al tacto o en la aplicación; la textura y la sensación al usar el producto en la piel es la misma que con el preparado inicial. De hecho, el cambio de tamaño medio y distribución de las gotículas dispersas se produce en el primer mes de la prueba acelerada, permaneciendo prácticamente inalterados durante el segundo mes.

En las pruebas de centrifugado de la emulsión tras 30 días a 45 °C, se observa una ligera separación de fases, la cual no se intensifica al llegar a los 60 días. Se estima que un cambio moderado en el aspecto resultaría en una disminución de tres meses en la vida útil del producto. Pero a los 60 días, el centrifugado genera una separación de fases que evidencia una inestabilidad superior a la observada en el primer mes. En consecuencia, la variación sensible en los dos controles efectuados

conduce a una reducción de la vida útil del producto que podría estimarse en un valor de 8 meses, calculados partiendo de los 20 meses adoptados para esta modalidad de producto.

#### 5.4.2. Estudio de estabilidad por ciclos

En el estudio de estabilidad por ciclos, la viscosidad muestra un cambio moderado, alrededor de un 10% en relación con el valor inicial lo que no se considera un inconveniente crítico. Sin embargo, al final de la prueba se revela una ligera capa de separación, evidenciando una inestabilidad moderada, similar a la detectada en el estudio de estabilidad acelerada. Esta separación, junto con un notable incremento en el tamaño de las gotículas, plantea un problema comparable al de introducir el producto al mercado después de someterlo un mes a 45 °C, equivalente a 10 meses en condiciones normales, un tiempo superior al de la estabilidad calculada anteriormente. Se concluye así que el producto no está diseñado para poder ser transportado en avión o ser expuesto a condiciones extremas.

### 5.5. Aceite virgen de lino

#### 5.5.1. Evaluación de la degradación oxidativa acelerada. Método Rancimat.

Para el aceite virgen de lino puro, temperatura de 120 °C y un flujo de 15 L/h, obtenemos un índice de estabilidad oxidativa (OSI) muy similar al aparecido en diferentes referencias bibliográficas [34,35]. Se observa claramente como el OSI aumenta muy notablemente para el caso en que al aceite se le adicione el antioxidante. De acuerdo con otros resultados reportados en la bibliografía, el tocoferol añadido mejora notablemente la estabilidad oxidativa del AV de lino, neutralizando su molécula los radicales libres al donar un electrón, convirtiéndose ella misma en un radical, pero mucho menos reactivo y dañino [36]. Es de señalar que el método Rancimat, aparte de poder aplicarse para poner de relieve el papel más o menos marcado de un antioxidante, permite hacer una estimación de la vida útil del aceite a temperatura ambiente. Para esto se requiere hacer determinaciones del OSI a varias temperaturas (p. ej. 80, 90, 100, 110, 120 °C) y extrapolar los resultados a la temperatura ambiental estipulada [37].

#### 5.5.2. Resultados foto estabilidad

Al utilizar la lámpara de xenón, se busca reproducir de manera controlada y constante una luz equivalente a la del sol, lo que permite realizar estudios de foto-estabilidad de manera más predecible y reproducible, a pesar de la variabilidad que se encuentra en la luz solar directa.

Los resultados recogidos en la Tabla 6 indican que no se producen cambios sensibles en las propiedades organolépticas del aceite tras ser irradiado con la lámpara de Xenón y lo mismo ocurre con la densidad, a diferencia de lo que ocurre con el resto de propiedades consideradas. No obstante, a la vista global de la Tabla, resulta obvio que una mayor precisión en las medidas densimétricas y un

mayor tiempo de exposición a la radiación pondrían de manifiesto unos cambios más o menos acusados. El resto de las técnicas aplicadas como control (índice de acidez, índice de yodo, absorbancia) ponen de manifiesto variaciones sensibles de los parámetros de control, cuyos valores que dependen de la presencia o no del antioxidante y del acceso libre o impedido del aire ambiental.

Cuando el índice de acidez aumenta, se sugiere un aumento en los ácidos grasos libres, lo cual generalmente apunta a que el aceite está enranciándose. En los resultados obtenidos al irradiar las muestras, estamos observando un cambio en sentido contrario, lo que resulta poco intuitivo. Es posible que después de la liberación de ácidos grasos libres durante el proceso de enranciamiento hidrolítico, estos ácidos experimenten reacciones adicionales que puedan disminuir su concentración, lo que llevaría a este resultado aparentemente anómalo [38]. Al comparar los índices de acidez del AV sin antioxidante con el de aquel que contiene antioxidante, se observan también resultados inesperados que resultan difíciles de interpretar ya que el antioxidante debería preservar el enranciamiento.

Por su parte, el índice de yodo disminuye apreciablemente con la irradiación, tanto para el AV de lino puro como cuando éste incorpora el antioxidante, aunque en distinta cuantía. La disminución de este índice para los productos irradiados respecto del aceite original se corresponde bien con una disminución de las insaturaciones en las moléculas de los componentes mayoritarios presentes en el AV de lino, el cual está formado predominantemente por ácidos grasos insaturados (más del 80%), entre los que dominan el ácido alfa-linolénico ( $\approx 50\%$ ) el oleico ( $\approx 17\%$ ) y el linoleico ( $\approx 16\%$ ). En cuanto al efecto del mayor acceso de aire en los recipientes semillenos los resultados obtenidos resultan inesperados al no seguir la secuencia más lógica para el enranciamiento, que sería de menor a mayor degradación: aceite no radiado y sin aire < aceite radiado sin acceso de aire < aceite radiado con libre acceso de aire, una secuencia que sí que se observa en otros aceites vegetales [39]. Sí que, en cambio, resultan lógicos los sensiblemente mayores valores del índice de yodo para el AV con antioxidante en los frascos llenos (escasamente aireados) respecto de las correspondientes muestras sin antioxidante.

En la relación con los valores de la absorbancia consignados en la Tabla 6 y en la Figura 4, al contrastar el AV de lino con y sin antioxidante, se observa un incremento notable de la absorbancia en el UV para el aceite que contiene antioxidante. Esto resulta coherente, dado que el tocoferol tiene la capacidad de absorber radiaciones UV, previniendo la generación de radicales libres. En todos los resultados obtenidos, se observa disminución en la absorción para el producto degradado. Las menores absorbancias, que podemos asociar así con una mayor degradación, se presentan en el AV de lino en los frascos semillenos en los cuales la difusión del oxígeno del aire en el producto es comparativamente mayor. Según lo esperado, esta tendencia se mantiene tanto para el AV de lino con antioxidante como para el que no lo tiene.

En el preliminar estudio espectroscópico (Vis-UV) del AV de lino bajo la irradiación de las lámparas UV A y UV B se observó que el AV sin antioxidante prácticamente no presento cambios en la absorbancia. Sin embargo, en el caso del AV con antioxidante, se ve una reducción clara en la absorción UV, pero esto puede ser debido a la acción del tocoferol que absorbe luz UV. Es destacable que los resultados de la luz UV B parecen difíciles de interpretar, ya que se esperaría que el frasco de vidrio ordinario que contiene el AV impidiera el paso de la radiación, aunque podría ser que una mínima cantidad de radiación UV B que llegase difundida a la muestra tenga un impacto importante. Las gráficas correspondientes a la irradiación UV se encuentran en el Anexo 6.

## 6. Conclusiones

1. Se han desarrollado unos métodos experimentales y teóricos que pueden ser implementados en medianas y pequeñas empresas de cosmética para hacer una estimación de la vida útil de productos base en cosmética natural. Estos métodos y sus parámetros se han desarrollado para dos formas cosméticas específicas, un gel y una emulsión. También se han desarrollado métodos para realizar un estudio de fotoestabilidad reproducible, que permite determinar la degradación causada por el sol y cuantificar la estabilidad oxidativa en un aceite vegetal.
2. Las técnicas aplicadas (pruebas isotérmicas y cíclicas de degradación acelerada, tests de fotodegradación y fotooxidación) y las magnitudes usadas como indicadores de la degradación de los productos (determinaciones organolépticas, de viscosidad, pH, residuo seco, concentración de producto activo, centrifugación, tamaño de partícula, absorbancia) constituyen un conjunto de recursos experimentales que permiten valorar cómo ocurre degradación de los tres productos comerciales estudiados (un gel, una emulsión y un aceite vegetal). Los intervalos de tiempo establecidos para estas técnicas han sido determinados para la industria cosmética, teniendo en cuenta tanto las demandas del sector como la protección del consumidor.
3. El producto 3, AV de lino, ha mostrado una marcada predisposición a la inestabilidad química, tanto en el estudio de fotoestabilidad, como en el estudio de estabilidad oxidativa, lo que está alineado con la literatura existente. Es esencial proteger este aceite de la degradación, asegurando un almacenamiento adecuado. La introducción de tocoferol como antioxidante mejora significativamente su estabilidad química. Su eficacia se ha hecho evidente al incrementar el índice de estabilidad oxidativa del aceite en más de diez veces. También se observa en el estudio de fotoestabilidad como el antioxidante prolonga la vida útil del AV de lino.

4. En consonancia con las recomendaciones y normativas en vigor y prácticas habituales en cosmética y a partir de los resultados obtenidos con las técnicas descritas en el punto anterior, se ha hecho una estimación de la vida útil máxima para cualquier producto cosmético, 20 meses. Este valor es un límite que requiere una reducción efectiva en función de los resultados de los diversos parámetros evaluados en las pruebas de estabilidad acelerada para cada forma de producto cosmético considerado (gel y emulsión). Esta estimación se ha basado en consideraciones puramente teóricas.

Para el Producto comercial 1, Gel, se ha estimado una vida útil de 7 meses. El principal problema de esta formulación es la fuerte degradación del componente activo glucósido de ascorbilo, probablemente causada por el pH del preparado, así que se recomienda reformularlo para aumentar su estabilidad. Además, es también recomendable dicha reformulación ya que sin una modificación que mantenga estable al glucósido de ascorbilo, el producto no puede ser enviado mediante transportes que enfrenten condiciones extremas, ya que se degradaría antes de su puesta en el mercado, como se observa en el estudio por ciclos.

Para el producto comercial 2 Emulsión, la vida útil estimada es de 8 meses. Sería recomendable reformular este preparado para aumentar su vida útil. Unos cambios tan significativos como los que se producen durante el primer mes no son una buena señal, aunque en el segundo mes los cambios sean más leves. Si se quisiese comercializar este producto y fuera esencial enviarlo mediante transportes que enfrenten temperaturas extremas, se requeriría reemulsionar el lote una vez llegue al país de comercialización. En este caso, la opción más conveniente sería enviarlo en bidones que permitan una fácil agitación, para luego ser emulsionados o agitados por segunda vez y envasados para su posterior puesta en el mercado; no obstante, sería necesario llevar a cabo un estudio emulando este procedimiento para determinar si se mantiene la vida útil estimada.

5. Como previsiones de trabajo futuro se puede citar: i) El cálculo de la vida útil del aceite de lino, con y sin antioxidante, a la temperatura de almacenamiento prevista, realizando varios análisis Rancimat a diferentes temperaturas elevadas, y extrapolando los resultados a la temperatura estipulada [40]. ii) También sería recomendable añadir un control de humedad en los ensayos de estabilidad y compatibilidad y confirmar la hermeticidad del envase. iii) Completar los ensayos de fotoestabilidad y fotooxidación mediante un análisis más completo de mayor duración del producto degradado. iv) Para validar la vida útil estimada para los dos productos cosméticos y confirmar las suposiciones realizadas, se podrían prolongar los ensayos de estabilidad a temperatura ambiente y repetir los análisis al concluir el periodo de vida útil estimado. Unos

resultados consistentes con los cálculos iniciales, confirmarían la validez de las aproximaciones consideradas.



## 7. Bibliografía

1. Minero, F.J.G.; Díaz, L.B. Historia y Actualidad de Productos Para La Piel, Cosméticos y Fragancias. Especialmente Los Derivados de Las Plantas. *Ars Pharmaceutica* **2017**, *58*, 5–12.
2. STANPA. Radiografía Del Sector de La Cosmética y La Perfumería En España 2022. Disponible en línea en: [www.stanpa.com](http://www.stanpa.com) (accedido 23/07/2023).
3. Aranda, A. La Cosmética (Ya) No Solo Tiene Que Ver Con La Estética - Forbes España. Disponible en línea en: [www.forbes.es/empresas/43235/la-cosmetica-ya-no-solo-tiene-que-ver-con-la-estetica/](http://www.forbes.es/empresas/43235/la-cosmetica-ya-no-solo-tiene-que-ver-con-la-estetica/) (accedido 23/07/2023).
4. STANPA. Radiografía Del Sector de La Cosmética y La Perfumería En España 2021. Disponible en línea en: [www.stanpa.com](http://www.stanpa.com) (accedido 23/07/2023).
5. International Organization for Standardization Directrices y Criterios Sobre Las Definiciones Técnicas Para Ingredientes y Productos Cosméticos Naturales y Orgánicos 1ª Parte: Definiciones Para Ingredientes. Disponible en línea en: [www.une.org](http://www.une.org) (accedido 25/07/2023).
6. International Organization for Standardization Directrices y Criterios Sobre Las Definiciones Técnicas Para Ingredientes y Productos Cosméticos Naturales y Orgánicos 2ª Parte: Criterios Para Ingredientes y Productos. Disponible en línea en: [www.une.org](http://www.une.org) (accedido 25/07/2023).
7. Reglamento 1223/2009. REGLAMENTO (CE) N o 1223/2009 DEL PARLAMENTO EUROPEO Y DEL CONSEJO de 30 de Noviembre de 2009 Los Productos Cosméticos (Versión Refundida). Disponible en línea en: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/?uri=CELEX:02009R1223-20190813> (accedido 25/07/2023).
8. ODS. ESTRATEGIA DE DESARROLLO SOSTENIBLE 2030 UN PROYECTO DE PAÍS PARA HACER REALIDAD LA AGENDA 2030. Disponible en línea en: <https://cpage.mpr.gob.es/> (accedido 25/07/2023).
9. Spagyria | Proyecto Transfronterizo. Disponible en línea en: <https://www.spagyria-fres.eu/> (accedido 17/08/2023).
10. Anastas, P.T.; Warner, J.C. Green Chemistry: Theory and Practice: Theory and Practice. Oxford University Press. Disponible en línea en: <https://www.worldcat.org/title/39523207> (accedido 03/08/2023).
11. Turek, C.; Stintzing, F.C. Stability of Essential Oils: A Review. *Compr Rev Food Sci Food Saf* **2013**, *12*, 40–53.

12. Patil, A.; Bhide, S.; Bookwala, M.; Soneta, B.; Shankar, V.; Almotairy, A.; Almutairi, M.; Narasimha Murthy, S. Stability of Organoleptic Agents in Pharmaceuticals and Cosmetics. *AAPS PharmSciTech* **2018**, *19*, 36–47, doi:10.1208/s12249-017-0866-2.
13. Gaspar, L.R.; Maia Campos, P.M.B.G. Evaluation of the Photostability of Different UV Filter Combinations in a Sunscreen. *Int. J. Pharm.* **2006**, *307*, 123–128, doi:10.1016/J.IJP.2005.08.029.
14. Paz, A.; Molero, M. Aplicación de La Espectrofotometría UV-Visible al Estudio de La Estabilidad Térmica de Aceites Vegetales Comestibles. *Grasas y Aceites* **2000**, *51*, 424–428.
15. Mandelli De Almeida, M.; Rosana, C.; De Castro Lima, R.; Santos Quenca-Guillen, J.; Filho, M.; Mercuri, L.P.; Rocha, M.I.; Santoro, M.; Rosa, E.; Kedor-Hackmann, M. Stability Evaluation of Tocopheryl Acetate and Ascorbyl Tetraisopalmitate in Isolation and Incorporated in Cosmetic Formulations Using Thermal Analysis. *Article Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences* **2010**, *46*.
16. Souza, T.R.P. de; Olenka, L.; Peterrella, W.S. A Study of Degradation in Vegetable Oils by Exposure to Sunlight Using Fourier Transform Infrared Spectroscopy. *Materials Sciences and Applications* **2020**, *11*, 678–691, doi:10.4236/MSA.2020.1110046.
17. Cremenescu, E.; Giurginca, M.; Meghea, A. Original Extracts from Plants Used in Dermato-Cosmetics with Photo-Protective Action II. Determination of Stability to UV Radiations. *Revista de Chimie, Bucharest, Original Edition* **2006**, *57*, 1003–1006.
18. Damiani, E.; Astolfi, P.; Giesinger, J.; Ehlis, T.; Herzog, B.; Greci, L.; Baschong, W. Assessment of the Photo-Degradation of UV-Filters and Radical-Induced Peroxidation in Cosmetic Sunscreen Formulations. *Free Radic Res* **2010**, *44*, 304–312, doi:10.3109/10715760903486065.
19. Beltrán, R.A.P.; García, J. Thermal Behavior of Waxes and Its Correlation with Mascara Stability Tests: A DSC Study. *Cosmetic Products and Industry - New Advances and Applications* **2023**, doi:10.5772/INTECHOPEN.110606.
20. ICH. ICH Topic Q 1 A (R2) Stability Testing of New Drug Substances and Products Step 5 NOTE FOR GUIDANCE ON STABILITY TESTING: STABILITY TESTING OF NEW DRUG SUBSTANCES AND PRODUCTS. **2003**.
21. ICH. ICH Topic Q 1 E Evaluation of Stability Data Step 5 NOTE FOR GUIDANCE ON EVALUATION OF STABILITY DATA. **2003**.
22. World Health Organization. WHO Expert Committee on Specifications for Pharmaceutical Preparations: Forty-Third Report. **2009**.

23. International Organization for Standardization. Cosmetics-Guidelines on the Stability Testing of Cosmetic Products. Disponible en línea en: [www.iso.org](http://www.iso.org) (accedido 25/07/2023).
24. OMS. *Comité de Expertos de La OMS En Especificaciones Para Las Preparaciones Farmaceuticas : Informe 34.*; Organización Mundial de la Salud, 1996; ISBN 9243208632.
25. Mura, J. TFG: Implementación de Un Método de análisis de La Estabilidad Oxidativa de Margarinas Mejora de La Misma Mediante Adición de productos Vegetales. *Universidad Católica de Valencia - San Vicente Mártir* **2020**.
26. Chávez, C.; Tinoco, V.R.; Zavaleta, K. ESTABILIDAD A LA OXIDACIÓN DE GRASAS Y ACEITES POR EL MÉTODO. *Universidad Nacional del Santa* **2016**.
27. Villanueva López, E.; Castillo Benites, D.; Rodríguez Páucar, G. Influencia de Los Parámetros Rancimat Sobre La Determinación Del Índice de Estabilidad Oxidativa Del Aceite de Sesamum Indicum L. Influence of the Rancimat Parameters on the Determination of Oxidative Stability Index of Sesamum Indicum L. Oil. *Scientia Agropecuaria* **2013**, 4, 173–180.
28. Duarte, I.; Rotter, A.; Malvestiti, A.; Silva, M. The Role of Glass as a Barrier against the Transmission of Ultraviolet Radiation: An Experimental Study. *Photodermatol Photoimmunol Photomed* **2009**, 25, 181–184, doi:10.1111/J.1600-0781.2009.00434.X.
29. Swift, C.E.; Dollear, F.G. Autoxidation of Fats and Oils. *YEARBOOK OF AGRICULTURE* **1951**, 544–550.
30. ICH. GUÍA TRIPARTITA ARMONIZADA DE LA ICH - ESTUDIO DE ESTABILIDAD: ESTUDIO DE FOTOESTABILIDAD DE NUEVOS PRINCIPIOS ACTIVOS Y FÁRMACOS Q1B. Disponible en línea en: <http://www.emea.eu.int> (accedido 20/08/2023).
31. Fernández, D. TFG: Fuente de Iluminación Solar Del Espectro Sintetizable. *Campus Sur - Universidad Politécnica de Madrid* **2018**.
32. ANVISA. Guía de Estabilidad de Productos Cosméticos. Disponible en línea en: <https://www.unido.org/> (accedido 01/08/2023).
33. International Federation of Societies of Cosmetic Chemists. MONOGRAPH - Number 2 - The Fundamentals of Stability Testing. **1992**.
34. Symoniuk, E.; Ratusz, K.; Krygier, K. Comparison of the Oxidative Stability of Linseed (Linum Usitatissimum L.) Oil by Pressure Differential Scanning Calorimetry and Rancimat Measurements. *J Food Sci Technol* **2016**, 53, 3986–3995, doi:10.1007/s13197-016-2398-2.

35. de Souza, E.F.; Ramos, T.C.P.M.; Santos, M.N.; Silva, C.A. de A.; Ribeiro, D.M.; Cardoso, C.A.L.; Batistote, M.; Fiorucci, A.R. Characterization, Oxidative Stability and Antioxidant Potential of Linseed (*Linum Usitatissimum* L.) and Chia (*Salvia Hispanica* L.) Oils. *Orbital* **2019**, *11*, 260–267, doi:10.17807/orbital.v11i4.1327.
36. Jane Higdon, Ph.D. Vitamina E Disponible en línea en: <https://lpi.oregonstate.edu/es/mic/vitaminas/vitamina-E> (accedido 12/08/2023).
37. Rodríguez, G.; Villanueva, E.; Glorio, P.; Baquerizo, M. Oxidative Stability and Estimate of the Shelf Life of Sacha Inchi (*Plukenetia Volubilis* L.) Oil. *Scientia agropecuaria* **2015**, *6*, 155–163, doi:10.17268/sci.agropecu.2015.03.02.
38. García, E. Determinación Del Enranciamiento Hidrolítico de Un Aceite de Oliva Mediante El Grado de Acidez. *Universidad Politécnica de Valencia* **2014**.
39. Henry, L.N. Effect of Light and Air on the Quality and Stability of Selected Vegetable Oils. *Int J Innov Res Sci Eng Technol* **2016**, *5*, doi:10.15680/IJIRSET.2016.0505002.
40. Zhang, Y.; Li, T.; Xu, Z.; Liu, R.; Zhang, H.; Wang, X.; Huang, J.; Jin, Q. Comparison of the Characteristics and Oxidation Kinetic Parameters of Flaxseed (*Linum Usitatissimum* L.) Oil Products with Different Refining Degree. *J Food Process Preserv* **2020**, *44*, doi:10.1111/jfpp.14753.

## Índice de Figuras

Figura 1. Imágenes de las muestras centrifugadas del preparado 2 (Emulsión): i) dispersión original sin someter a calentamiento; ii) tras ser sometida a calentamiento a 45 °C, durante 60 días. ....	20
Figura 2. Imágenes de microscopía correspondientes a la dispersión original, ampliadas: a) muestra inicial, a 12,5 aumentos; b) la misma muestra a 100 aumento; c) muestra sometida a 45 °C durante 60 días, observada a 12,5 aumentos de; d) la misma muestra descrita en c, observada a 100 aumentos.....	20
Figura 3. Comparación entre las curvas rancidométricas y valores del OSI para el aceite de lino sin antioxidante (gráficos de la izquierda) y con antioxidante (gráficos de la derecha). ....	21
Figura 4. Absorbancias del AV de lino nuevo con antioxidante y sin antioxidante.....	22
Figura 5. Absorbancias del AV de lino sin antioxidante en frascos llenos o semillenos, tras irradiación con luz de lámpara de Xenón durante 15 días.....	22
Figura 6. Absorbancias del AV de lino con antioxidante en frascos llenos o semillenos, tras irradiación con luz de lámpara de Xe durante 15 días.....	22
Figura A3.1. Registro completo en el equipo HPLC de una muestra patrón de 100 ppm de glucósido de ascorbilo.....	43
Figura A3.2. Huella obtenida en HPLC de glucósido de ascorbilo .....	43
Figura A3.3. Recta de calibración de glucósido de ascorbilo .....	44
Figura A6.1. Absorbancias del AV de lino sin antioxidante en frascos llenos o semillenos, tras irradiación con luz de lámpara de UV A durante 15 días.....	49
Figura A6.2. Absorbancias del AV de lino con antioxidante en frascos llenos o semillenos, tras irradiación con luz de lámpara de UV A durante 15 días.....	49
Figura A6.3. Absorbancias del AV de lino sin antioxidante en frascos llenos o semillenos, tras irradiación con luz de lámpara de UV B durante 15 días .....	50
Figura A6.4. Absorbancias del AV de lino con antioxidante en frascos llenos o semillenos, tras irradiación con luz de lámpara de UV B durante 15 días .....	50
Figura A9.1. Microscopio de la Emulsión. Aumentos 12,5, 25, 40 y 100 - muestra inicial .....	53
Figura A9.2. Microscopio de la Emulsión. Aumentos 12,5, 25, 40 y 100 - muestra de 30 días a 5 °C .....	54
Figura A9.3. Microscopio de la Emulsión. Aumentos 12,5, 25, 40 y 100 - muestra de 30 días a 25 °C ...	55
Figura A9.4. Microscopio de la Emulsión. Aumentos 12,5, 25, 40 y 100 - muestra de 30 días a 45 °C ...	56

Figura A9.5. Microscopio de la Emulsión. Aumentos 12,5, 25, 40 y 100 - muestra de 60 días a 5 °C.....	57
Figura A9.6. Microscopio de la Emulsión. Aumentos 12,5, 25, 40 y 100 - muestra de 60 días a 25 °C...	58
Figura A9.7. Microscopio de la Emulsión. Aumentos 12,5, 25, 40 y 100 - muestra de 60 días a 45 °C...	59
Figura A9.8. Microscopio aumentos 12,5, 25, 40 y 100 - muestra estabilidad por ciclos .....	60

## Índice de tablas

Tabla 1. Parámetros a determinar en el estudio de estabilidad acelerada, según la forma cosmética..	15
Tabla 2. Programación de temperaturas para la determinación de la estabilidad acelerada por ciclos.	16
Tabla 3. Parámetros a determinar en el estudio de fotoestabilidad del AV de lino.....	18
Tabla 4. Valores obtenidos en los estudios de estabilidad acelerada y ciclos para el producto comercial 1, Gel.....	18
Tabla 5. Valores obtenidos en los estudios de estabilidad acelerada y ciclos para el producto comercial 2, Emulsión .....	19
Tabla 6. Propiedades organoléptico y propiedades físico-químicas del aceite de lino con y sin antioxidante contenido en recipientes llenos y semillenos, antes y después de ser irradiado con la lámpara de Xenón durante 15 días.....	23
Tabla A3.1. Método HPLC para valoración del glucósido de ascorbilo.....	42
Tabla A3.2. Datos para la construcción de la recta de calibración (glucósido de ascorbilo) .....	44
Tabla A3.3. Resultados de cantidad de glucósido de ascorbilo en producto cosmético 1 Gel.....	45
Tabla A4.1. Peso de la muestra requerido dependiendo del índice de acidez.....	46

# Glosario de abreviaturas, términos y definiciones

## Abreviaturas

AV: Aceite virgen

HPLC: High Performance Liquid Chromatography

OSI: oxidative stability index (índice de estabilidad oxidativa)

IP: induction period (período de inducción)

O/W: Aceite/agua (oil/water)

TGP: Tamaño de gotícula promedio

UV: Ultravioleta

UV A: Ultravioleta A

UV B: Ultravioleta B

UV R: Radiación ultravioleta

Vis: Visible

Vis-UV: Ultravioleta visible

## Términos y definiciones

Absorbancia: Medida de la atenuación de una radiación al atravesar una sustancia, que se expresa como el logaritmo de la relación entre la intensidad saliente y la entrante.

Emisión estándar D65/ID65: es una definición espectral de la iluminancia que representa una fuente de luz diurna, se considera un tipo de luz del día estándar. La designación "D65" sugiere una temperatura de color de aproximadamente 6500 K y el ID65, por otro lado, suele referirse a una versión indirecta de la misma iluminancia.

Gelificante: es una sustancia que, al ser añadida a una formulación, induce la formación de una estructura tridimensional en el medio, transformando un líquido en un sistema semisólido o gel.

Irradiancia: Para todo tipo de radiación electromagnética, potencia incidente por unidad de superficie.

Vida útil: Período máximo de tiempo durante el cual se espera que un producto mantenga sus propiedades y funcione de manera eficaz y segura bajo condiciones de almacenamiento y uso específicas.

Vida útil máxima: fecha de caducidad o vida útil máxima que se puede estimar en un estudio de estabilidad acelerada.

# ANEXO 1. Test Rancimat

## 1. Fundamento teórico

El método consiste en hacer circular una corriente de aire a través de la muestra de aceite o grasa que se encuentra termostatzado a elevada temperatura por un baño. Estas condiciones fuerzan la oxidación del aceite, los ácidos grasos se van oxidando en varias etapas siguen el mecanismo radicalario en cadena en el que se forman finalmente productos de oxidación volátiles (principalmente ácido fórmico). Estos compuestos son arrastrados por el flujo de aire a un recipiente termostatzado, aproximadamente a 20°C, que contiene agua desionizada. La conductividad del agua se registra continuamente observando un aumento a medida que los productos de la oxidación, arrastrados por la corriente de aire, se disuelven en el agua. Con este método se obtiene una medida indirecta del proceso de oxidación del aceite que transcurre paralelamente al aumento de conductividad del agua.

El parámetro de cuantificación de la actividad antioxidante empleado se conoce como OSI, siglas en inglés "Oil Stability Index", que se define como el tiempo en el que se produce el cambio máximo en la velocidad de oxidación, siendo la oxidación un proceso químico que involucra la transferencia de electrones. Cuando los aceites y grasas son expuestos al oxígeno, este puede abstraer electrones de las moléculas de grasa, generando radicales libres. Estos radicales libres son altamente reactivos y pueden dañar las estructuras celulares y moleculares, llevando al enranciamiento del aceite. Este valor se puede determinar gráficamente o matemáticamente al corresponder con el máximo de la segunda derivada de la conductividad con respecto al tiempo. Dado que este método se puede aplicar a diferentes temperaturas y distintos flujos de aire el OSI debe acompañarse de la temperatura y el flujo de aire a la que se ha efectuado el análisis.

## 2. Materiales y reactivos

El reactivo a utilizar es agua Milli-Q con una conductividad muy baja, inferior a 3 uS/cm.

La muestra utilizada es AV de lino con y sin antioxidante.

Los materiales a utilizar son rancidímetro construido en el laboratorio GATHERS, incorporando un conductímetro CRISON EC-Meter GLP 31+, pipeta Pasteur y balanza analítica modelo XS205DU de la casa Mettler Toledo, que proporciona una precisión de  $\pm 0,1$  mg, que proporciona una precisión de  $\pm 1$  mg.

## 3. Procedimiento

- Se pesan  $3 \pm 0,2$  gr de AV de lino en un tubo de ensayo proporcionado por el rancidímetro.
- Se coloca el tubo de ensayo en el baño a  $120 \pm 2$  °C y un flujo de aire de  $15 \pm 0,5$  L/h.
- Al iniciar la medición de conductividad con el rancidímetro, se nota un cambio en la pendiente, y tras ello, la línea muestra una inclinación constante. Una vez confirmada esta estabilidad en la inclinación, detenemos la medición. De esta manera, verificamos que hemos capturado el pico máximo en la velocidad de oxidación. De esta manera, nos aseguramos que registramos el cambio máximo en la velocidad de oxidación.

# ANEXO 2. Irradiación del AV de lino

## 1. Irradiación con luz de lámpara de Xenón

Colocando la lámpara de xenón utilizada una distancia de 9 cm frente a la muestra se obtiene una irradiancia de  $200 \text{ W}\cdot\text{m}^{-2}$ , de acuerdo con las medidas realizadas con el piranómetro con sensor de fotodiodo utilizado. Aunque en momentos pico la irradiancia solar para la latitud como la local puede alcanzar valores entre



800 y 1000  $\text{W}\cdot\text{m}^{-2}$ , el promedio diario se encuentra alrededor de los citados 200  $\text{W}\cdot\text{m}^{-2}$ , un valor que se decidió utilizar en este trabajo para irradiar las muestras con la lámpara de xenón. Hubiera sido de interés mantener también la irradiancia en el aceite en niveles de 800-1000  $\text{W}\cdot\text{m}^{-2}$ , ya que ello hubiera permitido obtener mayor degradación en un tiempo más reducido. Sin embargo, ello no resultó factible técnicamente porque requería colocar las muestras a una distancia de la lámpara demasiado pequeña, dando lugar a un notable calentamiento de las mismas, lo que representa una situación no adecuada para el ensayo. En consecuencia, se mantuvo durante 15 días con una irradiancia constante de 200  $\text{W}\cdot\text{m}^{-2}$ .

## 2. Irradiaciones con UV A y UV B

Se realizaron unos cálculos preliminares de cara a estudiar el efecto de las radiaciones ultravioleta provenientes del sol. Puede considerarse que suponen un 3% de la radiación que llega a la superficie terrestre. De esta radiación UV, aproximadamente el 95 % corresponde a la radiación UV A, y sólo un 5 % es UVB. Con una irradiancia total de 200  $\text{W}\cdot\text{m}^{-2}$  (la simulada con la lámpara de xenón, podemos deducir que la irradiancia de ultravioleta total representa equivale a 6  $\text{W}/\text{m}^2$ ; de ellas 5.7  $\text{W}\cdot\text{m}^{-2}$  corresponden al UV A y 0,3  $\text{W}\cdot\text{m}^{-2}$  al UV B. mientras que el 5% restante corresponde a la radiación UVB, lo cual sería aproximadamente 0.3  $\text{W}\cdot\text{m}^{-2}$ . Las lámparas de UV A y UV B se colocaron a unas distancias de 32 cm y de 100 cm de la muestra, respectivamente. Dado que el piranómetro de fotodiodo disponible no es apto para medir en el UV, puede, no obstante, hacerse un cálculo aproximado de las irradiancias a partir de las potencias nominales de radiación de las lámparas, que son 18 W (2 lámparas de 9 W cada una) y 2,3 W, respectivamente, para las lámparas UV A y UV B utilizadas y de la distancia a las muestras. A dicho fin, para unas distancias intermedias entre lámpara y muestras como las citadas, puede considerarse una distribución de la radiación en torno a las lámparas con simetría cilíndrica en torno al eje virtual de las lámparas. Así, teniendo en cuenta las longitudes de las lámparas, que son 40 cm (lámparas UV A) y 60 cm (lámpara UV B), resultan para las distancias respectivas unas irradiancias de 22  $\text{W}\cdot\text{m}^{-2}$  y 0,61  $\text{W}\cdot\text{m}^{-2}$ . Actualmente se está desarrollando en el laboratorio la técnica de medida de radiaciones UV mediante el actinómetro químico de ferrioxalato que permitirá comprobar valores de esas irradiancias así calculadas.

Aunque los efectos de las radiaciones UV recibidas por las muestras durante los 15 días de experiencia, no serían exactamente los mismos, puede calcularse fácilmente los tiempos de irradiación que corresponderían a las irradiancias solares de 5,7  $\text{W}\cdot\text{m}^{-2}$  y 0,3  $\text{W}\cdot\text{m}^{-2}$ . En base a la proporcionalidad de la radiación recibida respecto de la irradiancia y el tiempo de radiación, los periodos equivalentes de iluminación con las lámparas de UV A y UV B vienen a ser, respectivamente, de 58 días y 30,5 días.

A efectos prácticos, hay que tener en cuenta que para hacer estas pruebas el AV de lino se envasa en cristal ordinario y este material no deja pasar prácticamente la luz UV B y solo deja pasar en torno de hasta el 75 % de la luz UV A.

## ANEXO 3. Determinación por HPLC del glucósido de ascorbilo.

### 1. Fundamento teórico

La cromatografía líquida de alta resolución (HPLC, por sus siglas en inglés) es una técnica analítica ampliamente utilizada para separar, identificar y cuantificar componentes en una mezcla. Se basa en el principio de separación de solutos en función de su distribución entre dos fases: una fase estacionaria y una fase móvil. Los compuestos en una muestra se distribuyen entre estas dos fases a lo largo de una columna en función de sus propiedades químicas y físicas, lo que lleva a una separación de los componentes de la muestra. Hay varios modos de HPLC, según los diferentes principios de separación. La HPLC utilizada en este estudio es HPLC de fase

reversa (RP-HPLC), en la que la fase estacionaria es no polar (basada en sílice modificada con grupos alquilo) y la fase móvil es relativamente polar. Es la modalidad más comúnmente utilizada.

## 2. Materiales y reactivos

Los reactivos utilizados son: glucósido de ascorbilo (DKSH, pureza del  $\geq 99,9\%$ ), ácido acético glacial (grado HPLC, J.T. Baker), agua Milli-Q (resistividad  $18,2\text{ M}\Omega\cdot\text{cm}$  a  $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ ), etanol absoluto para HPLC (de Thermo Scientific, pureza  $\geq 99,8\%$ ) y acetonitrilo para HPLC (de Fisher scientific, pureza  $\geq 99,9\%$ ).

Las muestras utilizadas son Producto comercial 1 – Gel.

Los dispositivos y materiales utilizados son: cromatógrafo HPLC Waters Alliance e2695, con columna de fase reversa C18 CORTECS® C18  $2.7\text{ }\mu\text{m}$  ( $4.6 \times 150\text{ mm}$ ) y detector de fotodiodos en serie (PDA Detector) micropipeta, balanza analítica modelo XS205DU de Mettler Toledo, con precisión del  $\pm 0,1\text{ mg}$ , filtros de  $0,2\text{ }\mu\text{m}$  y viales estériles. Las columnas CORTECS® C18 son columnas de uso general y de alta eficacia que ofrecen una retención equilibrada de ácidos, bases y neutros a pH bajo y medio.

## 3. Método

1. Se realiza el procedimiento de ajuste recomendado por el fabricante del HPLC para la puesta en marcha tras periodos de inactividad largos, haciendo fluir fase móvil para limpieza conforme al protocolo establecido, asegurándose de purgar las bombas de reactivos previos.
2. Se programa el dispositivo para la realización del análisis adecuado de la especie a valorar, el de glucósido de ascorbilo. Se utiliza un método de gradiente, estableciéndose los parámetros indicados en la Tabla 7 y manteniéndose un flujo constante de  $0,8\text{ mL/min}$  y una temperatura de trabajo constante de  $30\text{ }^{\circ}\text{C}$ .

Tabla A3.1. Método HPLC para valoración del glucósido de ascorbilo

Tiempo (min)	Ácido acético al 0,1% en volumen [%]	Agua milli-Q [%]	Acetonitrilo [%]
0	10	90	0
18	10	0	90
20	10	0	90
25	10	90	0
30	10	90	0

3. Al finalizar las mediciones se debe realizar una limpieza específica para la columna utilizada, esta limpieza es recomendada por el fabricante de la columna.

## 4. Realización del análisis

1. Siguiendo las indicaciones del fabricante del cromatógrafo que sugiere concentraciones de la especie a analizar entre 50 y 300 ppm, preparamos una solución de glucósido de ascorbilo puro en agua Milli-Q previamente filtrada a través de un filtro de  $0,2\text{ }\mu\text{m}$ , a una concentración de 100 ppm ( $\mu\text{g/mL}$ ).
2. De acuerdo con la práctica habitual, se registra con el propio dispositivo el espectro de absorción para elegir la longitud de onda más conveniente a la que medir la absorción para el compuesto objetivo, fuera de las frecuencias a las que también absorban otras especies que le acompañen. Los resultados, deben ser comparados con la información disponible en la literatura; deberían ser similares, aunque podrían presentarse ciertas variaciones.

La Figura A2.1 muestra el registro completo para una muestra patrón de 100 ppm en glucósido de ascorbilo, mientras que en la Figura A2.2 se muestra la “huella” ampliada del compuesto. El tiempo de aparición del pico del compuesto es de 1,976 minutos. De acuerdo con la gráfica de absorbancias obtenida, las concentraciones se determinan en base a los valores registrados para una longitud de onda de  $259,2\text{ nm}$ .

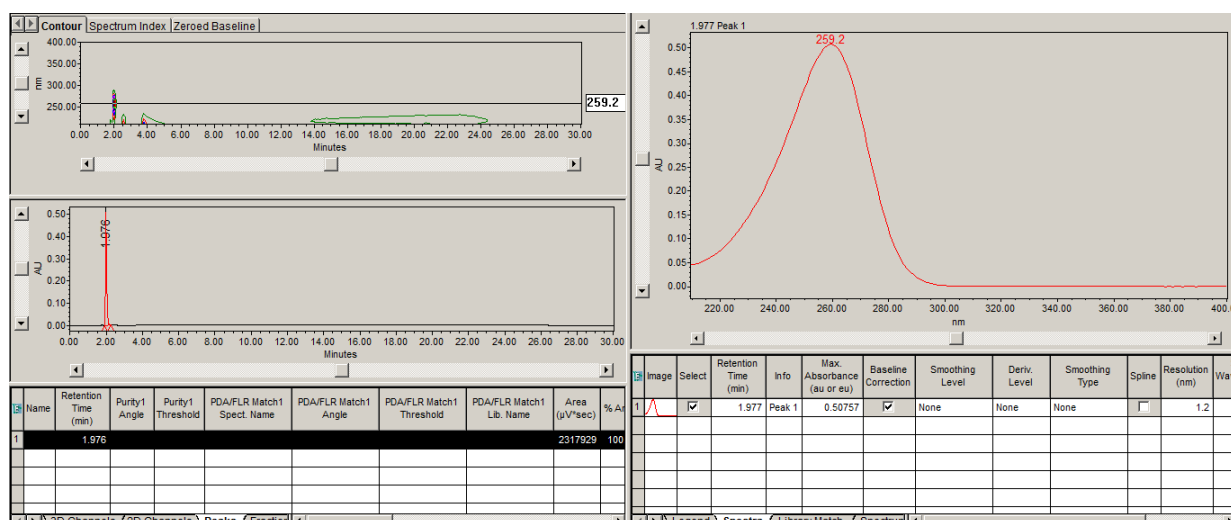


Figura A3.1. Registro completo en el equipo HPLC de una muestra patrón de 100 ppm de glucósido de ascorbilo

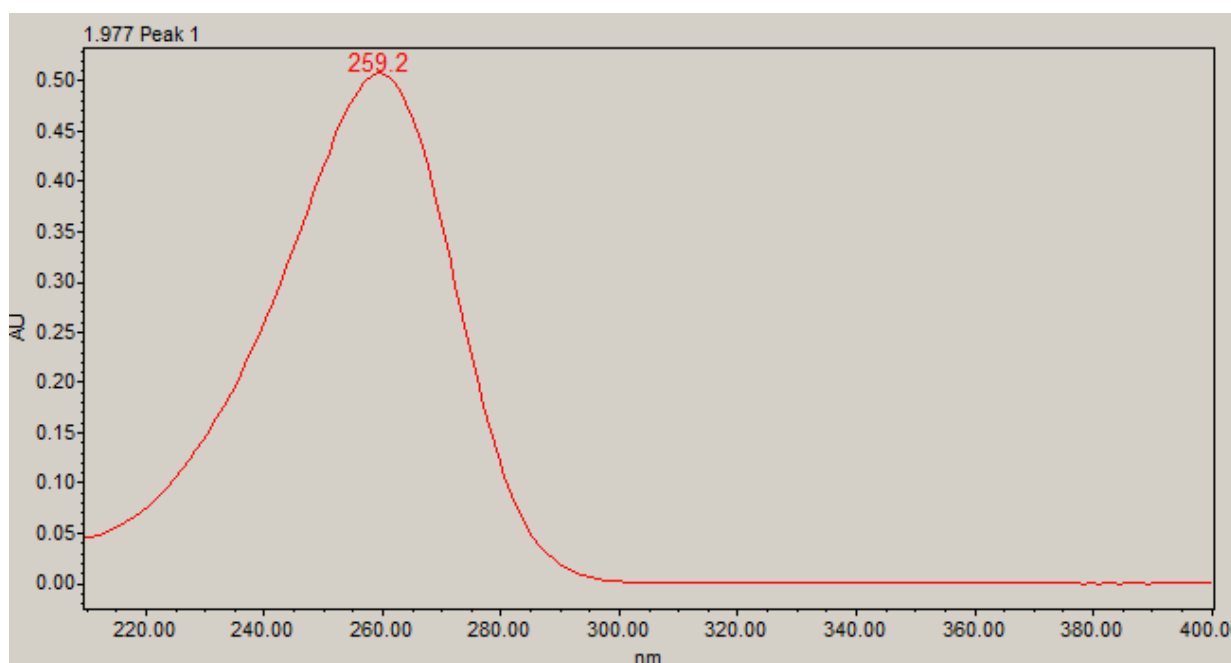


Figura A3.2. Huella obtenida en HPLC de glucósido de ascorbilo

3. A continuación, se construye una recta de calibración introduciendo el glucósido de ascorbilo puro disuelto en agua Milli-Q a distintas concentraciones. Los resultados, obtenidos por triplicado, para la obtención de la recta de calibración obtenida se muestran en la Tabla A3.2.

Tabla A3.2. Datos para la construcción de la recta de calibración (glucósido de ascorbilo)

Concentraciones aproximadas	µg /µL	µL inyectados	µg inyectados	Área de pico
50 ppm	0,0554	10	0,554	1294126
50 ppm	0,0554	10	0,554	1289865
50 ppm	0,0554	10	0,554	1351231
100 ppm	0,1108	10	1,108	2317929
100 ppm	0,1108	10	1,108	2301140
100 ppm	0,1108	10	1,108	2289577
150 ppm	0,1662	10	1,662	3342207
150 ppm	0,1662	10	1,662	3324701
150 ppm	0,1662	10	1,662	3310597
200 ppm	0,2216	10	2,216	4314264
200 ppm	0,2216	10	2,216	4347447
200 ppm	0,2216	10	2,216	4374928
250 ppm	0,2770	10	2,770	5305323
250 ppm	0,2770	10	2,770	5332035
250 ppm	0,2770	10	2,770	5302603
300 ppm	0,3324	10	3,324	6076948
300 ppm	0,3324	10	3,324	6023865
300 ppm	0,3324	10	3,324	6071650

El área bajo el pico se correlaciona con la cantidad de glucósido de ascorbilo presente en la muestra.

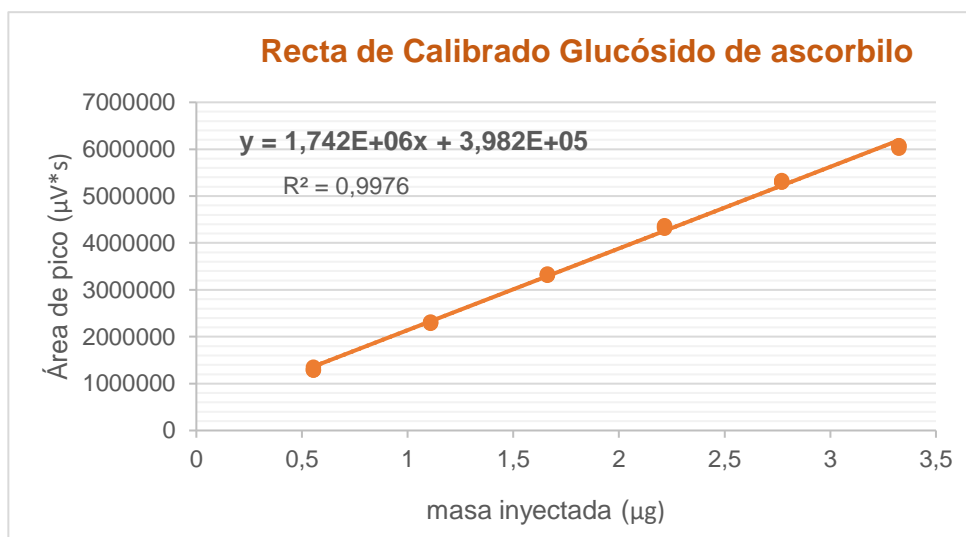


Figura A3.3. Recta de calibración de glucósido de ascorbilo

El área bajo el pico se correlaciona con la cantidad de glucósido de ascorbilo presente en la muestra.

4. A continuación, preparamos las muestras del producto cosmético, diluyendo en agua Milli-Q que ha sido filtrada recientemente con filtro de 0,2µm. Todas las muestras se prepararon con una concentración inicial de glucósido de ascorbilo.
5. Los resultados obtenidos se muestran en la tabla A3.3.

Tabla A3.3. Resultados de cantidad de glucósido de ascorbilo en producto cosmético 1 Gel

Tiempo (días) transcurrido	Temperatura (°C)	µg inyectados de Muestra	Área ASC GLU	µg ASC GLU	%ASC GLU
0	25	50	2513846	1,0578	2,12%
0	25	50	2510554	1,0561	2,11%
0	25	50	2510401	1,0561	2,11%
30	25	50	2360354	0,9810	1,96%
30	25	50	2358958	0,9804	1,96%
30	25	50	2345107	0,9734	1,95%
30	5	50	2371726	0,9867	1,97%
30	5	50	2390056	0,9959	1,99%
30	5	50	2368069	0,9849	1,97%
30	45	50	1989209	0,7955	1,59%
30	45	50	1881016	0,7414	1,48%
30	45	50	1999217	0,8005	1,60%
60	5	50	2779152*	1,1904*	2,38%*
60	5	50	2208751	0,9052	1,81%
60	5	50	2292854	0,9473	1,89%
60	45	50	1842838	0,7223	1,44%
60	45	50	1738856	0,6703	1,34%
60	45	50	1860620	0,7312	1,46%
60	25	50	2074142	0,8379	1,68%
60	25	50	2080015	0,8409	1,68%
60	25	50	2128774	0,8653	1,73%
Ciclos	-	50	1933257	0,7675	1,54%
Ciclos	-	50	1889728	0,7457	1,49%
Ciclos	-	50	1870459	0,7361	1,47%

\*Valor que se desvía de la media y por tanto es eliminado o no es tomado en consideración.

## ANEXO 4. Determinación del índice de acidez

### 1. Fundamento teórico

El índice de acidez, también conocido como número de acidez, es una medida de la acidez libre presente en grasas y aceites. Se utiliza principalmente para determinar la cantidad de ácidos grasos libres en estos productos, lo que es una indicación de la calidad y estabilidad del aceite o grasa. Un alto índice de acidez es una señal de deterioro del aceite, ya que indica una alta cantidad de ácidos grasos libres, que resultan del proceso de hidrólisis de los triglicéridos.

### 2. Materiales y reactivos

Los reactivos a utilizar son solución de hidróxido de potasio (KOH) al 0,1N, alcohol etílico y fenolftaleína como indicador.

La muestra utilizada es AV de lino con y sin antioxidante.

Los materiales a utilizar son bureta, pipetas, Erlenmeyer de 250 mL y balanza analítica modelo PFB 300-3 de la casa Kern, que proporciona una precisión de  $\pm 1$  mg.

### 3. Procedimiento seguido

- Pesar la muestra debidamente homogeneizada en un erlenmeyer de 250 mL. Para saber la cantidad a pesar se debe saber el índice de acidez previsto:

*Tabla A4.1. Peso de la muestra requerido dependiendo del índice de acidez*

Grado de acidez previsto (mg KOH/gr aceite)	Peso de la muestra (gr)	Precisión de la pesada de la muestra (gr)
<1	20	0,05
1 a 4	10	0,02
4 a 15	2,5	0,01
15 a 75	0,5	0,001
>75	0,1	0,0002

En este caso el índice de acidez previsto es alrededor de 1, por lo tanto, se deberán pesar 10 gramos de muestra.

- Añadir 50 ml de etanol y unas gotas de fenolftaleína al Erlenmeyer con la muestra.
- Con la solución preparada a una temperatura no mayor a 30°C, valorar lentamente con la solución de KOH 0.1N, agitando continuamente, hasta que aparezca un color rosa pálido que persista por al menos 15 segundos.
- Anotar el volumen de KOH utilizado.
- El índice de acidez se calcula usando la siguiente fórmula:

$$\text{Índice de acidez [mg KOH/gr aceite]} = \frac{\text{Consumo KOH} * N * 56,}{\text{Peso muestra (g)}}$$

56,1 es el peso molecular del ácido oleico (C<sub>18</sub>H<sub>34</sub>O<sub>2</sub>) en gramos/mol., Consumo de KOH es el volumen en mililitros consumido de KOH 0,1N en la valoración. N es la normalidad del KOH utilizado para valorar.

## ANEXO 5. Determinación del índice de yodo (método Hanus)

### 1. Fundamento teórico

El índice de yodo es una medida que refleja el grado de insaturación de una grasa o aceite. Específicamente, indica la cantidad de yodo que puede ser absorbida por los dobles enlaces presentes en los ácidos grasos que componen esa grasa o aceite. Cuantificar la insaturación es importante porque las grasas y aceites con alto grado de insaturación tienden a ser más susceptibles a la oxidación, lo que puede llevar a la rancidez. Los aceites y grasas con mayor número de dobles enlaces (mayor insaturación) tienen un índice de yodo más alto. A mayor grado de insaturación (mayor índice de yodo), el aceite o grasa es más propenso a la oxidación, esto se debe a que los dobles enlaces son puntos de vulnerabilidad en la molécula donde pueden ocurrir reacciones con el oxígeno del aire. Por lo tanto, aceites con un alto índice de yodo tienden a volverse rancios más rápidamente que aquellos con un índice de yodo más bajo. Una reducción en el índice de yodo sugiere que ha ocurrido una degradación, dado que estos dobles enlaces han disminuido debido a su oxidación.

El índice de yodo se utiliza a menudo como una herramienta para verificar la autenticidad y calidad de los aceites. Si un aceite tiene un índice de yodo fuera del rango típico para ese tipo particular de aceite, puede indicar adulteración o deterioro. Los aceites de una fuente particular (por ejemplo, aceite de oliva, aceite de

canola, aceite de coco) tienen composiciones de ácidos grasos que son relativamente consistentes, estas composiciones determinan la cantidad de dobles enlaces presentes en el aceite y, por lo tanto, afectan directamente el índice de yodo.

## 2. Materiales y reactivos

Los reactivos a utilizar son solución de yodo de Hanus (O Wijs), tetracloruro de carbono ( $\text{CCl}_4$ ), yoduro de potasio (KI) al 15 %, tiosulfato de sodio ( $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ ) al 0,1 N, solución de almidón al 1 %.

La muestra utilizada es AV de lino con y sin antioxidante.

Los materiales a utilizar son matraces volumétricos de 250 mL con tapón, probeta de 10 y 100mL, pipetas aforadas de 10 y 5 mL, bureta y balanza analítica modelo PFB 300-3 de la casa Kern, que proporciona una precisión de  $\pm 1$  mg.

## 3. Procedimiento

1. Pesar alrededor de 0,25 g en un erlenmeyer de 250 mL.
2. Disolver en 10 ml de tetracloruro de carbono y agitamos para disolver la muestra. Añadir con pipeta volumétrica de 10 ml de la solución Hanus (o Wijs) y dejar reposar exactamente 30 minutos en la oscuridad agitando ocasionalmente.
3. Añadir 25 ml del reactivo de Hanus y se mezcla con agitación suave. Se tapa el erlenmeyer y se deja reposar en ausencia de luz durante 60 minutos.
4. Transcurrido el tiempo añadimos 10mL de yoduro de potasio al 10% y 100mL de agua destilada. Se mezcla suavemente.
5. Empezamos la valoración con tiosulfato de sodio 0,1 N añadiéndolo gradualmente, con agitación constante, hasta que la muestra adquiera un color amarillo pálido. Entonces añadimos 1 mL almidón al 1 % que se utiliza como indicador y continuamos con la valoración hasta que la muestra adquiera un color blanquecino transparente.
6. Se realiza un análisis en blanco. Realizando el procedimiento anteriormente descrito, pero sin añadir la muestra (aceite).
7. La fórmula para calcular el índice de yodo es:

$$\text{Índice de yodo [gr I}_2\text{/100gr muestra]} = \frac{(B - M) * N * 0,1269 * 100}{\text{Peso muestra (g)}}$$

0,1269 es la masa de un miliequivalente de yodo y se multiplica por 100 para pasarlo a porcentaje, B es el volumen en mililitros consumido de tiosulfato de sodio en la valoración del blanco (sin muestra), M es el volumen en mililitros consumido de tiosulfato de sodio en la valoración de la muestra y N es la normalidad del tiosulfato de sodio utilizado para valorar.

# ANEXO 6. Medidas de absorbancias

## 1. Fundamento teórico

La acción de la luz UV sobre un aceite puede ser un factor para su enranciamiento, ya que muchos de los compuestos presentes que poseen dobles en sus moléculas pueden absorber la radiación, y sus moléculas excitadas electrónicamente pueden oxidarse y dar una serie de compuestos indeseados (hidroperóxidos, aldehídos, cetonas, ácidos grasos libres y otros compuestos oxidados) que determinan el deterioro del producto

original. El posible deterioro del AV de lino contenido en envases de vidrio ordinario, así como el efecto de la incorporación de un antioxidante al aceite, ha sido estudiado comparando los espectros de absorción en el Vis-UV de las muestras antes y después de irradiadas.

## **2. Materiales y reactivos**

Disolvente utilizado: hexano puro.

La muestra utilizada es AV de lino con y sin antioxidante.

Equipo utilizado: Espectrofotómetro Evolution 300 UV-VIS, cubetas de cuarzo, matraces aforados y balanza analítica modelo XS205DU de la casa Mettler Toledo, que proporciona una precisión de  $\pm 0,1$  mg, que proporciona una precisión de  $\pm 1$  mg.

## **3. Procedimiento**

- Comprobación del funcionamiento del espectrofotómetro

Antes de proceder con las muestras de aceite, se realizó una comprobación del funcionamiento del espectrofotómetro. En concreto se verificó la exactitud ofrecida por el aparato para la absorbancia y las longitudes de onda. Para la comprobación del estado del monocromador se emplearon dos filtros, uno de holmio y otro de didimio; ambos proporcionan señales de absorbancia a longitudes de onda características. Se realizaron barridos en el rango de absorbancias de 200 hasta 800 nm. El valor promedio de los valores absolutos de las diferencias es inferior al límite indicado en el manual del espectrofotómetro ( $\pm 0,05$ nm). Para la verificación del sistema de detección se empleó un filtro que proporcionaba una absorbancia de 1. Se llevaron a cabo tres barridos desde 200 hasta 800 nm, dando un valor promedio para la absorbancia de 1,0707 lo que implica una diferencia de 0,0707 con el valor marcado para el filtro.

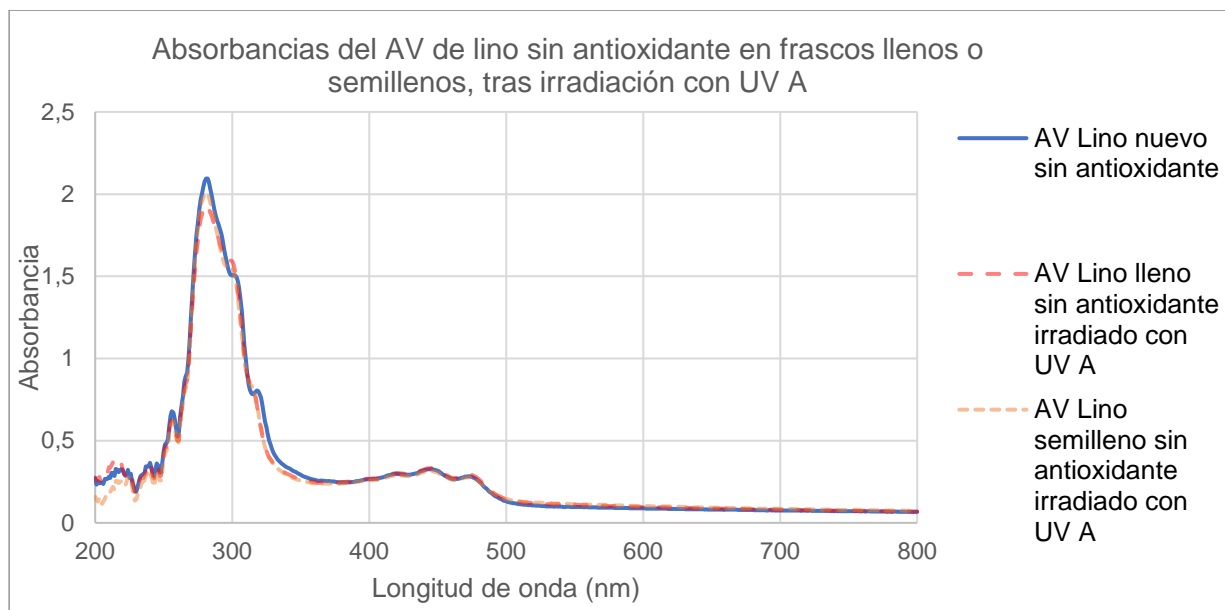
- Procedimiento espectrofotómetro

Se pesa un gramo de muestra de aceite y se disuelve en hexano en un matraz aforado de 10 mL, que se enrasa. Luego, se llena la cubeta de cuarzo hasta la marca indicada y se coloca en el espectrofotómetro. Finalmente, se efectúan barridos para medir en un intervalo de longitudes de onda de 200 nm a 800 nm.

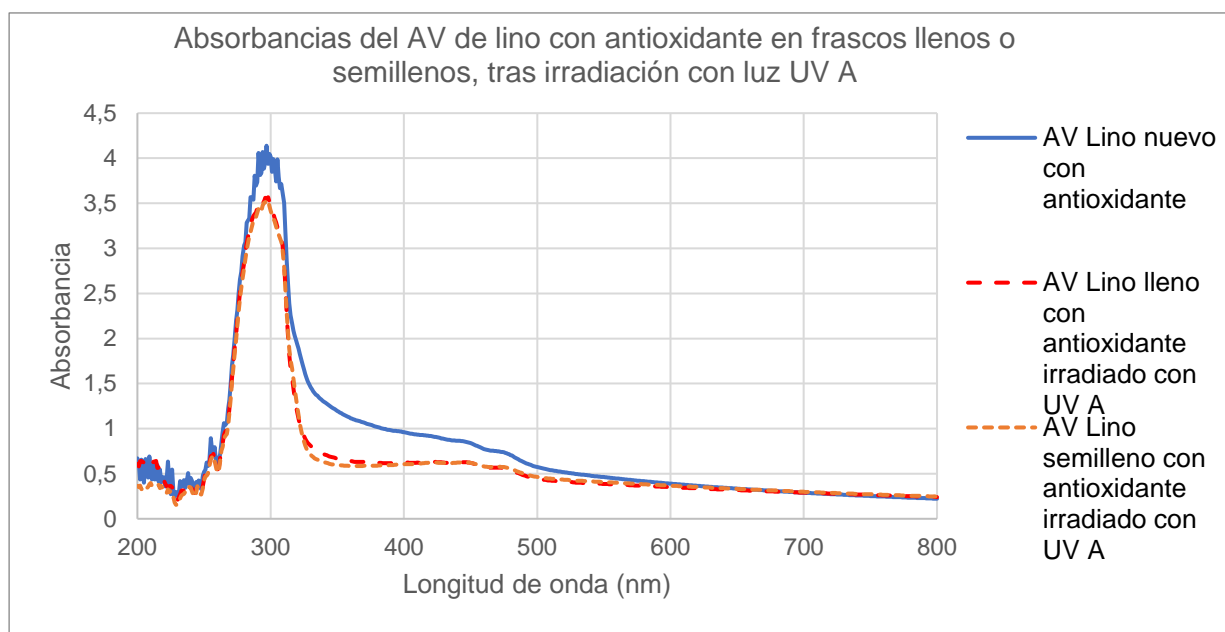
## **4. Resultados**

En este anexo se reflejan los resultados obtenidos para las absorbancias del AV de lino con y sin antioxidante al irradiar con las lámparas de UV A y UV B frascos de vidrio ordinario llenos o semilLENOS con el aceite.





*Figura A6.1. Absorbancias del AV de lino sin antioxidante en frascos llenos o semillenos, tras irradiación con luz de lámpara de UV A durante 15 días*



*Figura A6.2. Absorbancias del AV de lino con antioxidante en frascos llenos o semillenos, tras irradiación con luz de lámpara de UV A durante 15 días*

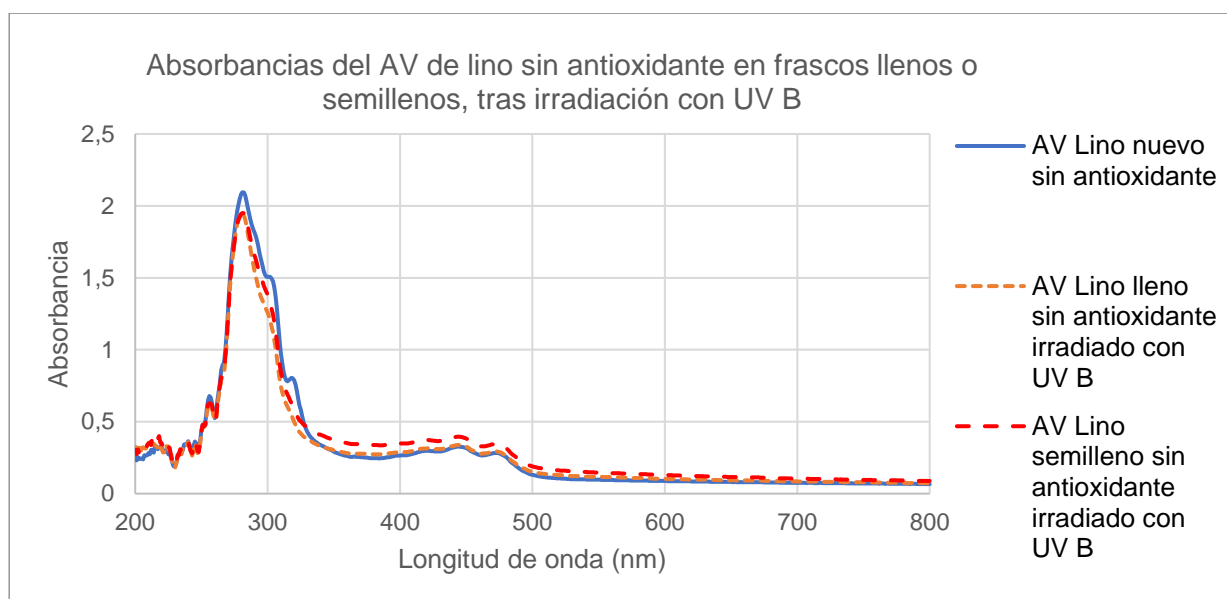


Figura A6.3. Absorbancias del AV de lino sin antioxidante en frascos llenos o semillenos, tras irradiación con luz de lámpara de UV B durante 15 días

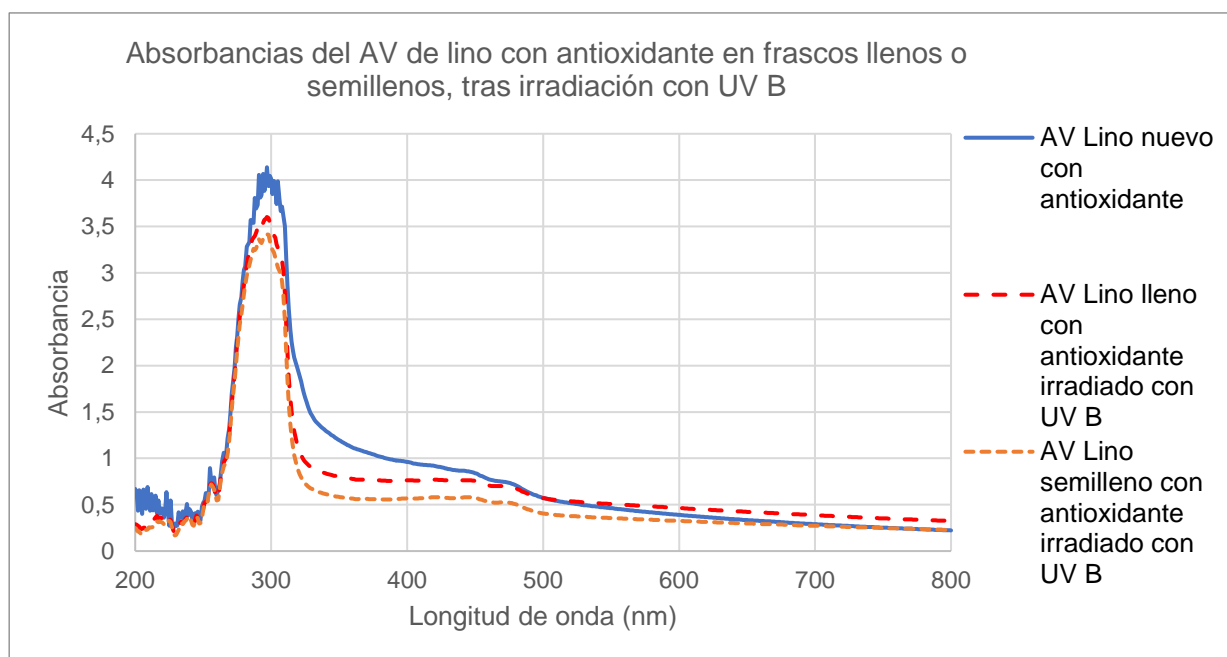


Figura A6.4. Absorbancias del AV de lino con antioxidante en frascos llenos o semillenos, tras irradiación con luz de lámpara de UV B durante 15 días

## ANEXO 7. Determinación del residuo seco

### 1. Fundamento teórico

El residuo seco se refiere a la cantidad de materia sólida que queda después de que un líquido ha sido evaporado completamente. Es una medida comúnmente utilizada para determinar la cantidad de sólidos disueltos en una muestra líquida

## **2. Materiales**

La muestra utilizada es Producto comercial 1 Gel y producto comercial 2 Emulsión.

Los materiales a utilizar son una estufa con termostato regulador de temperatura marca RAYPA y vaso de precipitados.

## **3. Procedimiento**

- Se pesa 1 gramos de muestra en un vaso de precipitados de 50mL.
- Se coloca el vaso con la muestra en una estufa a 180°C y se deja durante 5 horas.
- Pasadas las 5 horas se retira el vaso de precipitados y una vez frio se pesa.
- Por último, se calcula el porcentaje de residuo seco.

# **ANEXO 8. Centrifugado de la emulsión**

## **1. Fundamento teórico**

La centrifugación es una herramienta útil para evaluar la estabilidad de las emulsiones, dado que la aplicación de fuerzas centrífugas puede acelerar los procesos que, de otro modo, tardarían mucho tiempo en ocurrir bajo la influencia de la gravedad sola. La centrifugación se basa en la aplicación de una fuerza centrífuga, mucho mayor que la gravedad.

Al centrifugar una muestra de emulsión a una velocidad y tiempo determinados, cualquier signo de separación de fase, ya sea un aumento en la claridad del sobrenadante o la formación de una capa distinta, indica una disminución en la estabilidad de la emulsión. La cantidad de fase separada puede cuantificarse y relacionarse con la estabilidad. Para obtener resultados significativos, es esencial tener una emulsión de control o referencia con la que comparar la muestra bajo prueba. Esto ayuda a determinar si los cambios observados son significativos y no simplemente el resultado de variaciones experimentales. Aunque la centrifugación puede acelerar la separación de fases, no necesariamente reproduce las condiciones de almacenamiento reales de una emulsión. Por lo tanto, aunque es útil como herramienta de diagnóstico rápido, no debe ser el único método utilizado para evaluar la estabilidad de la emulsión.

## **2. Materiales y reactivos**

La muestra utilizada es producto comercial 2 Emulsión.

Los materiales a utilizar son centrifuga modelo 2716 de la casa Nahita, 2 tubos de ensayo (específicos de la centrifuga) y pipeta Pasteur.

## **3. Procedimiento**

- Con una pipeta Pasteur, se trasfiere la emulsión al tubo de ensayo, asegurándose de que el nivel esté entre las marcas de mínimo y máximo.
- Para mantener el equilibrio de la centrífuga, se colocan dos tubos de ensayo con cantidades idénticas de crema en posiciones opuestas.
- La centrífuga se ajusta a 1500 rpm durante 30 minutos.

# ANEXO 9. Microscopia de la distribución de gotículas en emulsiones

## 1. Fundamento teórico

A través del microscopio, se pueden observar directamente las gotículas de una fase dispersa en el seno de una fase continua. Este tipo de análisis ofrece información sobre el tamaño, la forma y la distribución de las gotículas, así como sobre posibles cambios en la estructura de la emulsión con el tiempo o bajo diferentes condiciones. La morfología y estructura de una emulsión pueden influir en sus propiedades físicas, químicas y sensoriales. La estabilidad de las emulsiones está estrechamente relacionada con la interacción entre las gotículas, una distribución uniforme de gotículas de tamaño similar generalmente se asocia con una mayor estabilidad.

Es especialmente relevante efectuar un análisis comparativo de la muestra tras un periodo de tiempo o después de exponerla a altas temperaturas. Con el transcurso del tiempo, es posible que se observen variaciones en la distribución y en el tamaño de las gotículas, estas variaciones pueden señalar procesos como coalescencia, floculación u otros factores desestabilizadores. Al contrastar imágenes microscópicas obtenidas en distintas etapas, se facilita la valoración de la estabilidad de la emulsión y la estimación de la vida útil.

## 2. Materiales y reactivos

El reactivo utilizado es aceite de inmersión para microscopio.

La muestra utilizada es producto comercial 2 Emulsión.

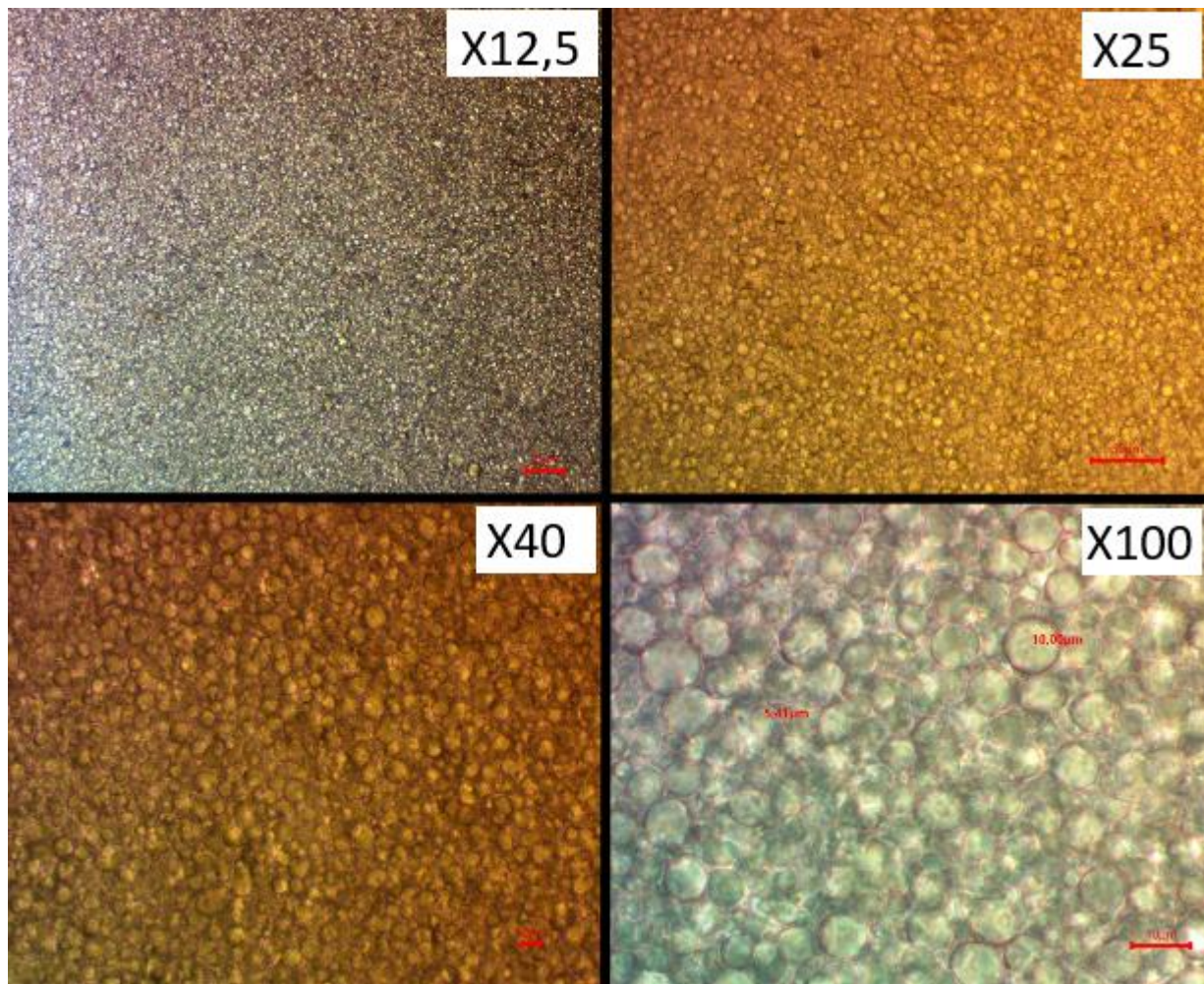
Los materiales a utilizar son microscopio JENAVAL (CARL ZEISS JENA), portaobjetos, cubreobjetos y pipeta Pasteur.

## 3. Procedimiento

- Primero se vierte la muestra sobre el portaobjetos. Es muy importante añadir muy poca cantidad de muestra, contra más pequeña mejor se observará en el microscopio.
- Toma un cubreobjetos por un borde con las pinzas o con los dedos, asegurándote de que esté limpio y libre de huellas dactilares o polvo. Inclina el cubreobjetos en un ángulo de aproximadamente 45 grados con respecto al portaobjetos, acercando uno de sus bordes a la gota de la muestra. Permite que un borde del cubreobjetos toque la muestra. La muestra comenzará a esparcirse por debajo del cubreobjetos debido a la acción capilar. Baja lentamente el cubreobjetos sobre la muestra, intentando evitar la formación de burbujas de aire debajo de él. Si aparecen burbujas debes repetir el proceso.
- Por último, se pone la muestra en el microscopio y se realizan las mediciones. Si no se diferencia claramente las gotículas de la emulsión, repetir el procedimiento añadiendo menor cantidad de muestra al portaobjetos. Para determinar el tamaño de la gotícula, se utiliza el software del microscopio que facilita la generación de circunferencias a escala y determinar el diámetro de la gotícula. Se miden tanto la gotícula más grande como la más pequeña en el aumento x100. Aunque esta técnica proporciona una estimación aproximada, nos ofrece una perspectiva sobre el tamaño medio de la gotícula. Para el aumento de 100 añadir una gota de aceite de inmersión al microscopio para mejorar la visión en el aumento 100.

#### 4. Resultados

##### 1. muestra inicial:

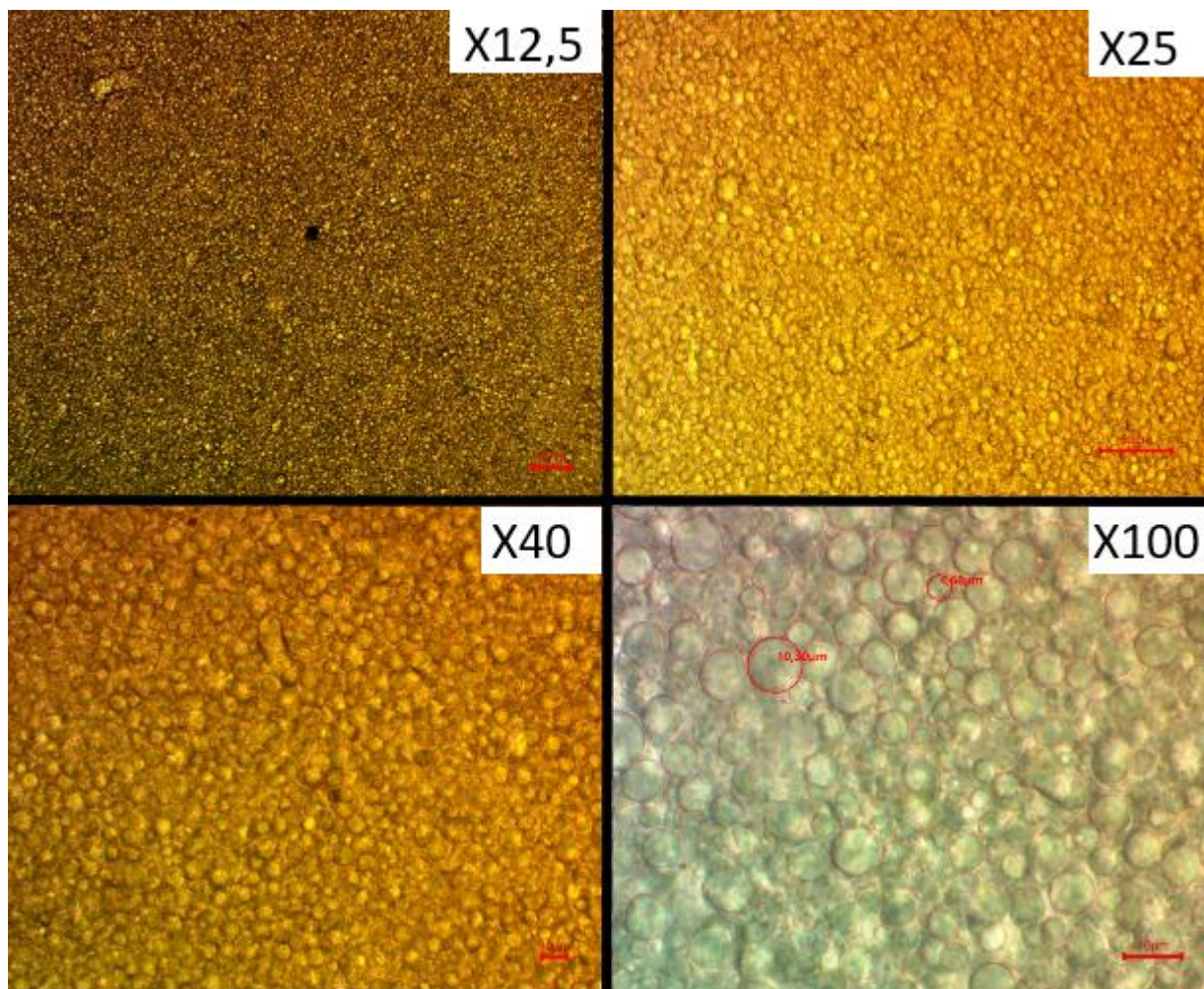


*Figura A9.1. Microscopio de la Emulsión. Aumentos 12,5, 25, 40 y 100 - muestra inicial*

El tamaño de gotículas en esta emulsión esta entre 5,41 micrómetros para la gotículas de menor tamaño y 10 micrómetros para la gotículas de mayor tamaño. Predominando los valores intermedios de unos 7,7 micrómetros, aproximadamente.



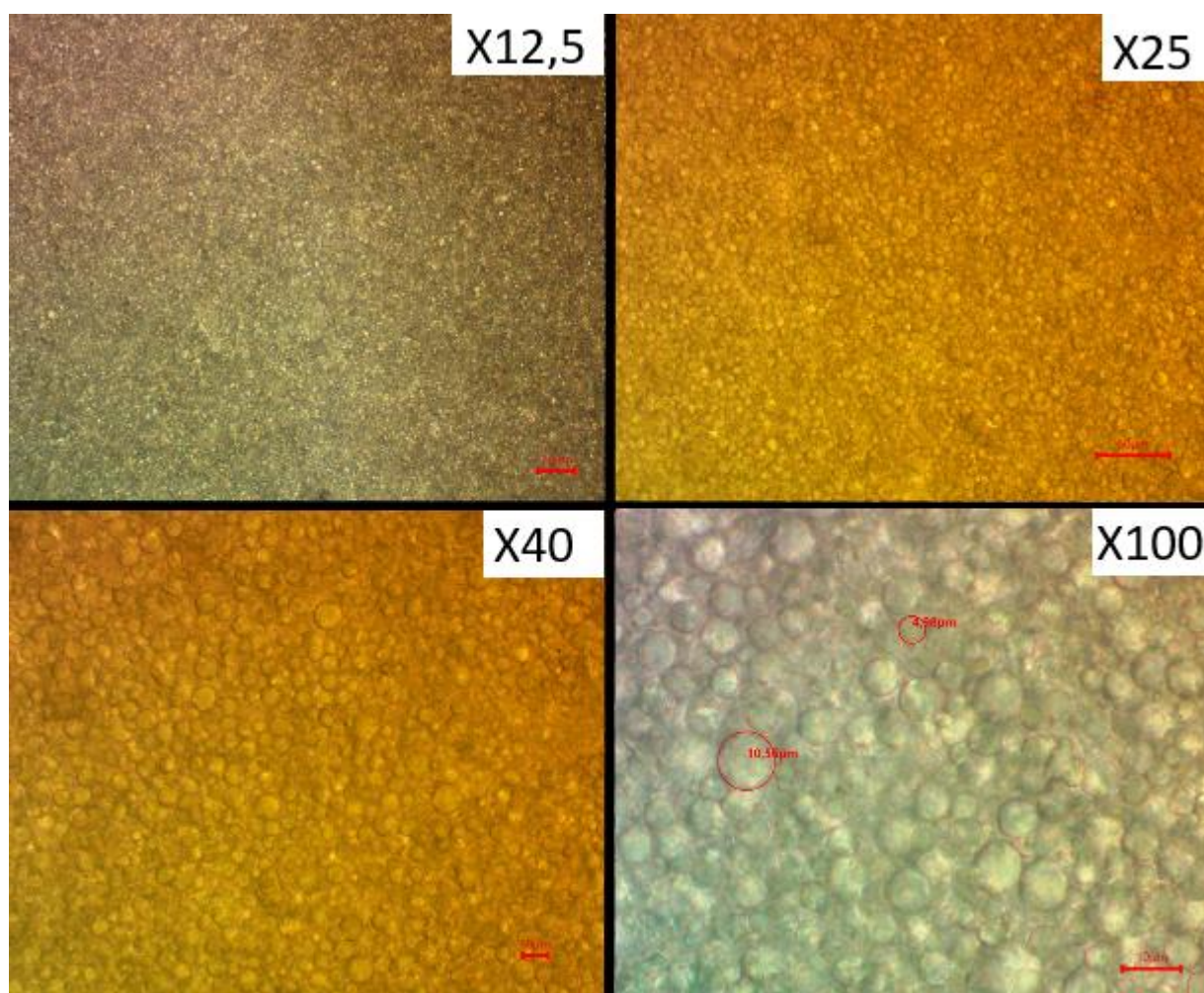
2. Muestra a día 30 y 5°C:



*Figura A9.2. Microscopio de la Emulsión. Aumentos 12,5, 25, 40 y 100 - muestra de 30 días a 5 °C*

El tamaño de gotículas en esta emulsión esta entre 4,60 micrómetros para la gotículas de menor tamaño y 10,30 micrómetros para la gotículas de mayor tamaño. Predominando los valores intermedios de unos 7,45 micrómetros, aproximadamente.

3. Muestra a 30 días y temperatura ambiente (25 °C):

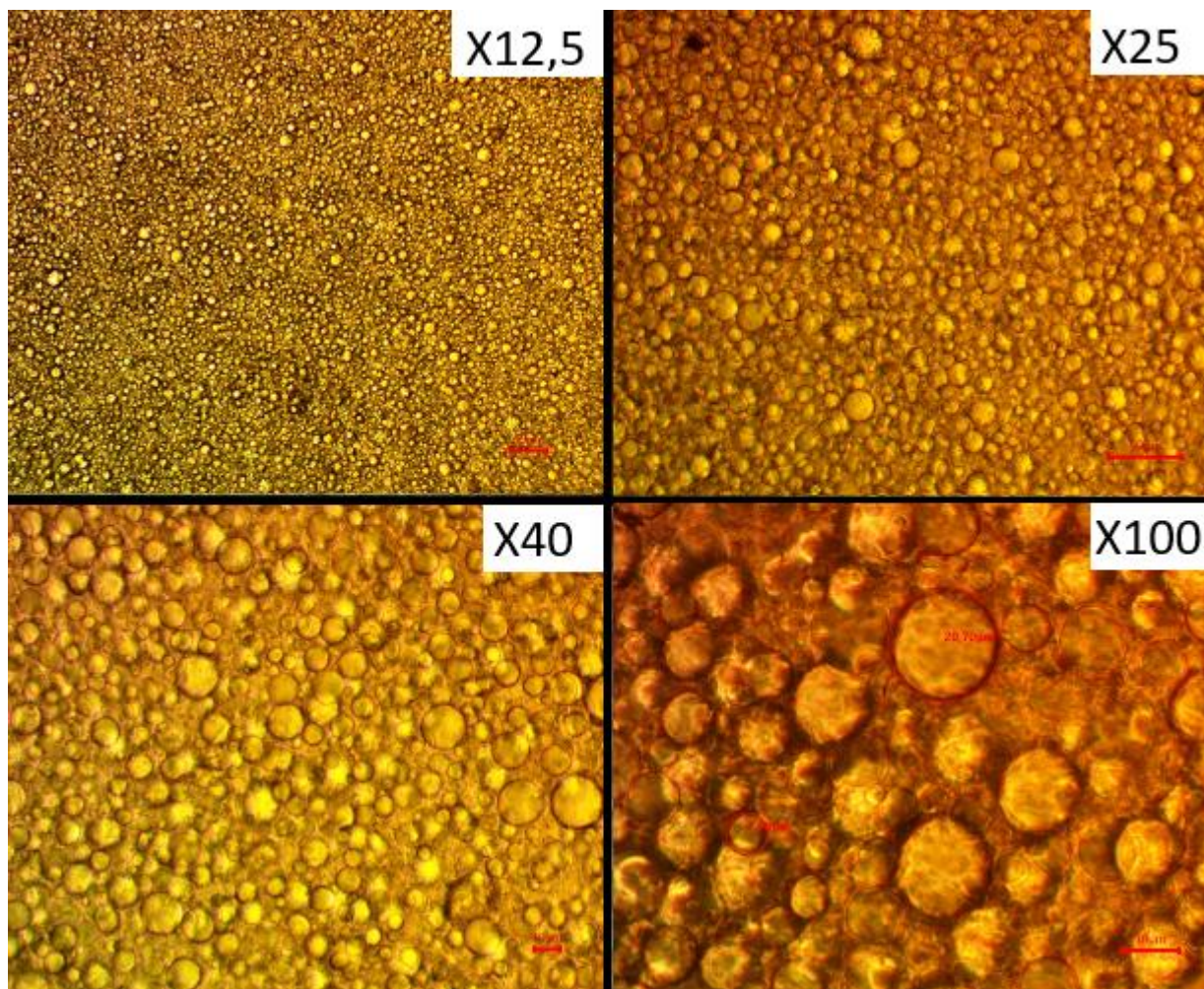


*Figura A9.3. Microscopio de la Emulsión. Aumentos 12,5, 25, 40 y 100 - muestra de 30 días a 25 °C*

El tamaño de gotículas en esta emulsión está entre 4,98 micrómetros para la gotícula de menor tamaño y 10,56 micrómetros para la gotícula de mayor tamaño. Predominando los valores intermedios de unos 7,77 micrómetros, aproximadamente.



4. Muestra a 30 días y temperatura de 45 °C:

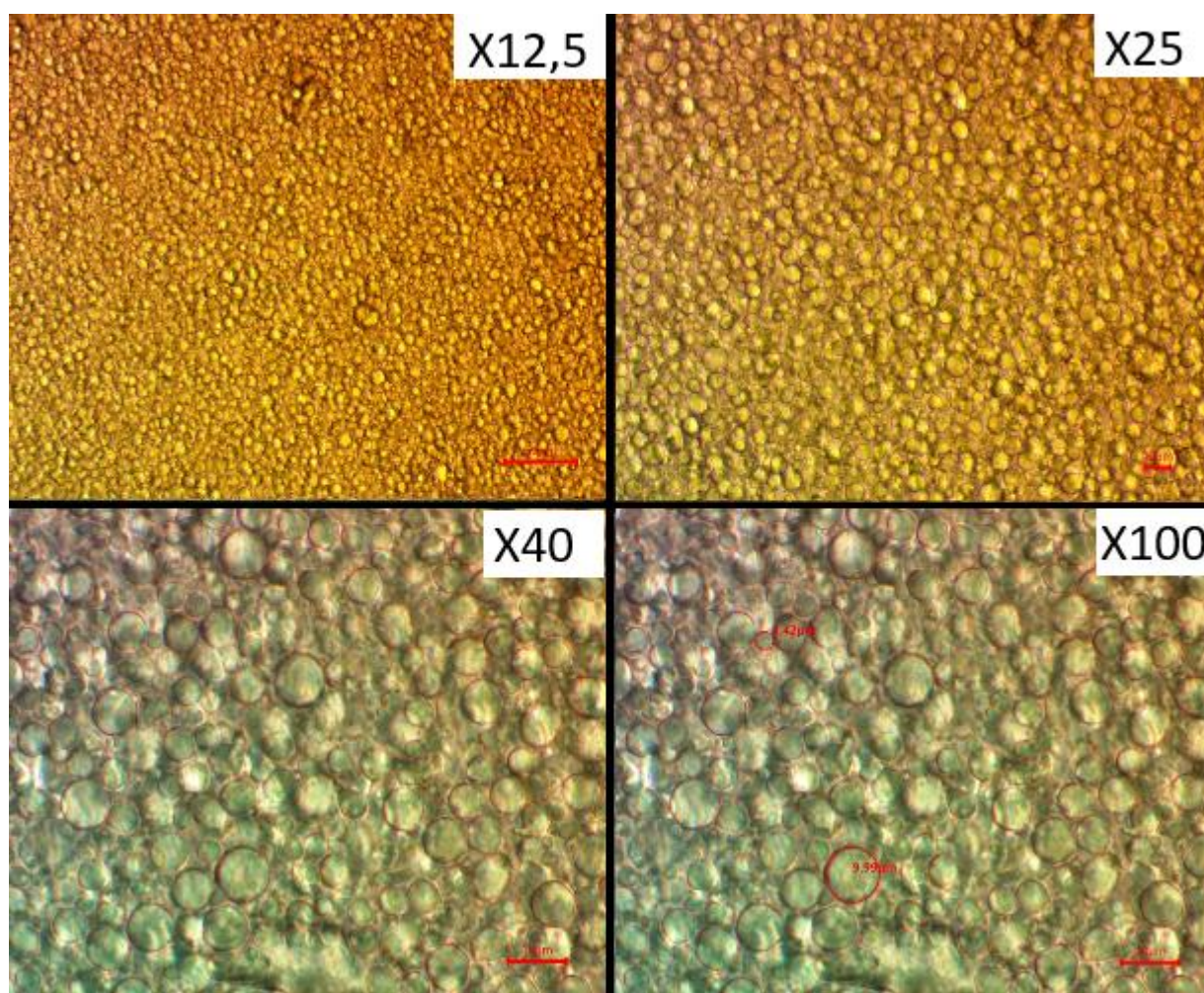


*Figura A9.4. Microscopio de la Emulsión. Aumentos 12,5, 25, 40 y 100 - muestra de 30 días a 45 °C*

El tamaño de gotículas en esta emulsión esta entre 7,75 micrómetros para la gotículas de menor tamaño y 20,70 micrómetros para la gotículas de mayor tamaño. Predominando los valores intermedios de unos 14,2 micrómetros, aproximadamente.



5. Muestra a 60 días y temperatura de 5 °C:

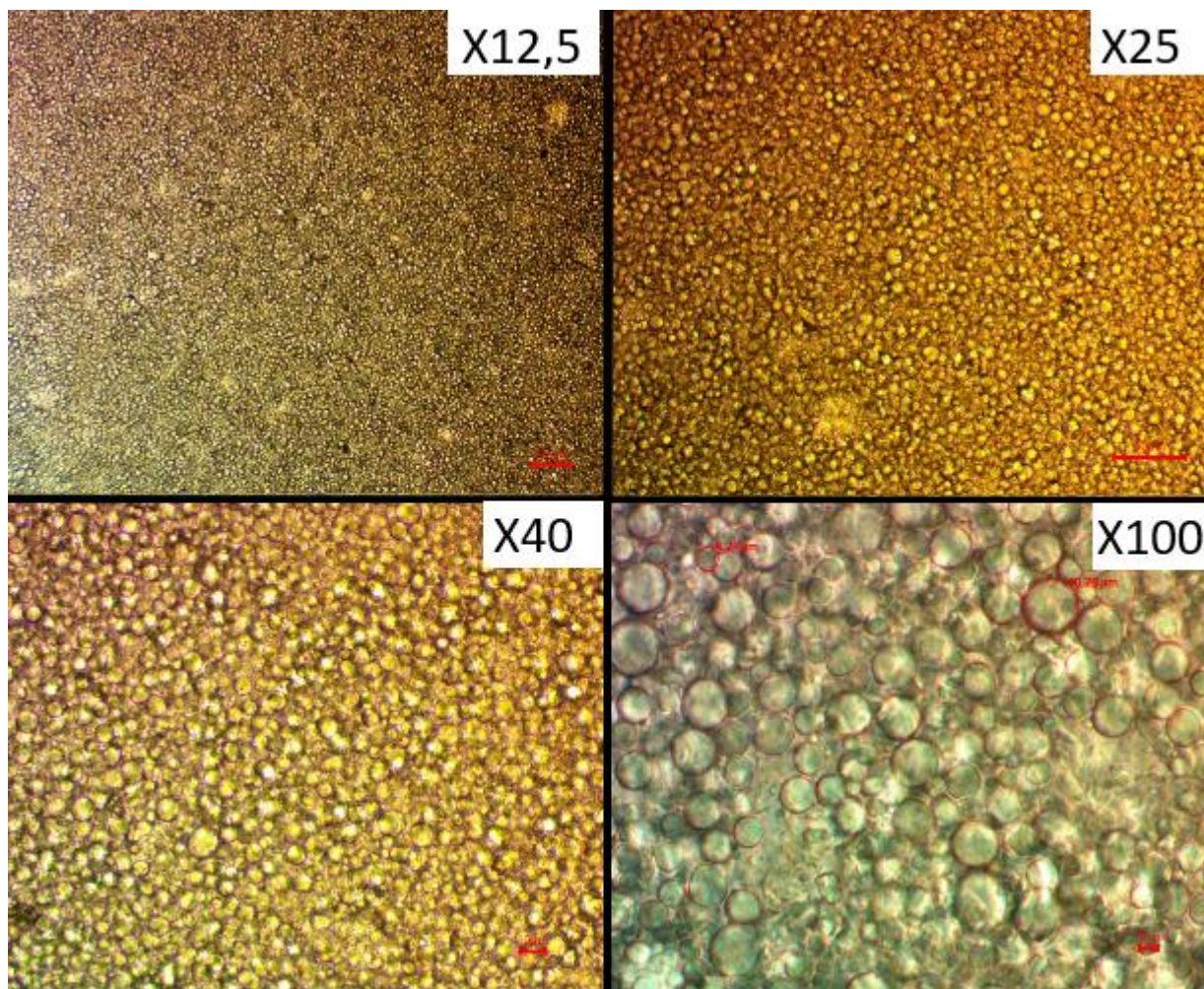


*Figura A9.5. Microscopio de la Emulsión. Aumentos 12,5, 25, 40 y 100 - muestra de 60 días a 5 °C*

El tamaño de gotículas en esta emulsión está entre 3,42 micrómetros para la gotícula de menor tamaño y 9,99 micrómetros para la gotícula de mayor tamaño. Predominando los valores intermedios de unos 6,7 micrómetros, aproximadamente.



6. Muestra a 60 días y temperatura ambiente (25 °C):

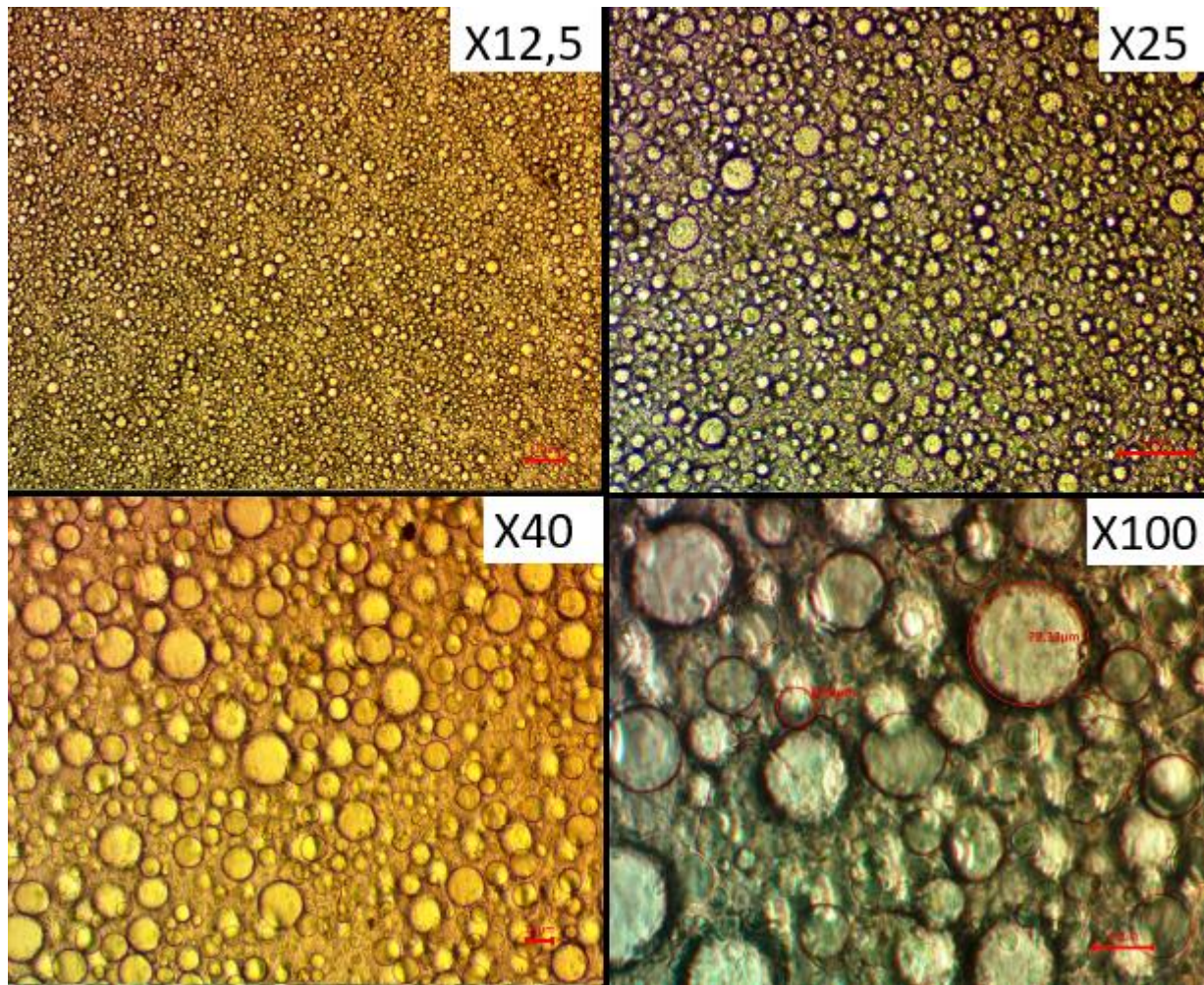


*Figura A9.6. Microscopio de la Emulsión. Aumentos 12,5, 25, 40 y 100 - muestra de 60 días a 25 °C*

El tamaño de gotículas en esta emulsión esta entre 4,27 micrómetros para la gotículas de menor tamaño y 10,25 micrómetros para la gotículas de mayor tamaño. Predominando los valores intermedios de unos 7,26 micrómetros, aproximadamente.



7. Muestra a 60 días y temperatura de 45 °C:

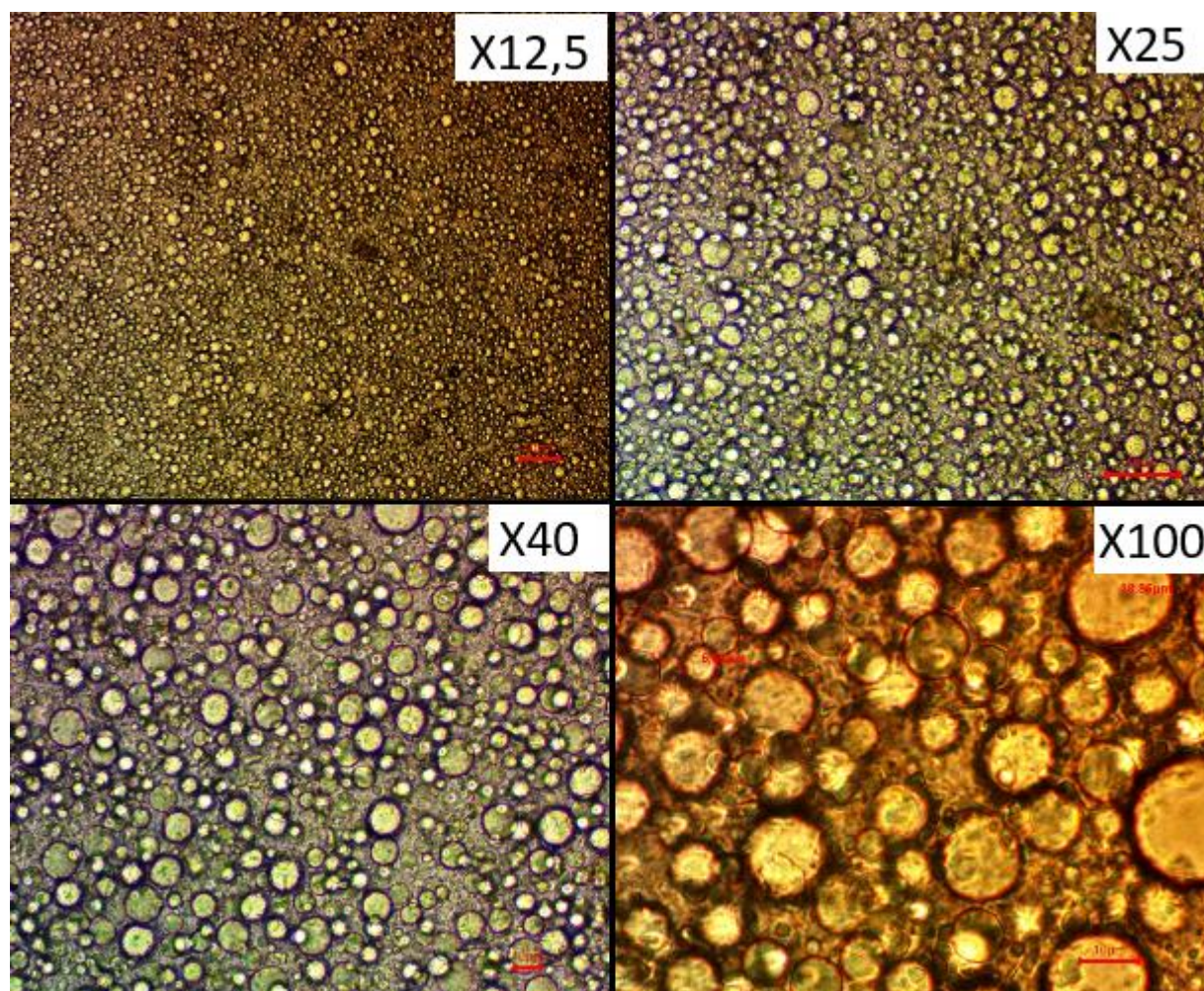


*Figura A9.7. Microscopio de la Emulsión. Aumentos 12,5, 25, 40 y 100 - muestra de 60 días a 45 °C*

El tamaño de gotículas en esta emulsión esta entre 6,88 micrómetros para la gotículas de menor tamaño y 22,33 micrómetros para la gotículas de mayor tamaño. Predominando los valores intermedios de unos 14,61 micrómetros, aproximadamente.



8. Muestra de estabilidad por ciclos:



*Figura A9.8. Microscopio aumentos 12,5, 25, 40 y 100 - muestra estabilidad por ciclos*

El tamaño de gotículas en esta emulsión está entre 6.68 micrómetros para la gotícula de menor tamaño y 18.86 micrómetros para la gotícula de mayor tamaño. No es tan homogénea la distribución de partículas como al inicio, predominan gotas grandes y pequeñas pudiendo ser más fácil su desestabilización a corto plazo. Predominando los valores intermedios de unos 12,77 micrómetros aproximadamente.

## ANEXO 10. Viscosidad

### 1. Fundamento teórico

A la hora de hacer las determinaciones, se ha considerado en primer lugar el tipo de fluido (newtoniano o no newtoniano) que corresponde a los tres productos estudiados. Un fluido es newtoniano si su viscosidad no cambia con la tasa de cizallamiento o deformación; es el caso del agua y de muchos aceites. Por el contrario, en los fluidos no newtonianos, la viscosidad varía con la tasa de cizallamiento; es el caso de muchas dispersiones.

### 2. Materiales

Las muestras utilizadas corresponden a los tres productos utilizados: Gel, Emulsión y AV lino con y sin antioxidante. El dispositivo y los accesorios utilizados son: viscosímetro LVDVE230 de la casa Brookfield, vaso de precipitados de 1000 mL y spindle o husillo.

### 3. Procedimiento

Se introducen 600mL de la muestra a medir en el vaso de precipitados de 1000mL.

Se coloca el husillo que permita tener un factor como mínimo del 10% y como máximo del 100%.

Para identificar si un fluido es newtoniano, se monitorea durante un intervalo de 10 minutos. Si su viscosidad cambia en este período, se clasifica como no newtoniano. En este contexto, hemos identificado que tanto el producto comercial 1 (gel) como el producto comercial 2 (emulsión) son no newtonianos y, específicamente, pseudoplásticos. Al realizar tests para determinar en qué momento la viscosidad se estabiliza, notamos que los valores a los 30 minutos son esencialmente idénticos a los de 60 minutos, por lo tanto, optamos por estandarizar nuestras mediciones en un marco de tiempo de 30 minutos usando el husillo 64.

En cuanto al AV de lino, al ser newtoniano, efectuamos la medición con el husillo 62 y esperamos su estabilización antes de registrar el valor obtenido.

## ANEXO 11. Estudio de compatibilidad con el envase de la muestra comercial 1 – Gel

Producto: Producto comercial 1 - Gel

Descripción: Gel - Cosmético

Fecha Inicio pruebas: 09/05/2023

Fecha de finalización: 08/07/2023

#### Condiciones de estudio:

Tiempo 0 (t=0): 0 días

Tiempo 1 (t=1): 30 días

Tiempo 2 (t=2): 60 días

Temperatura 1 (T<sup>1</sup>) [°C]: 25 ± 3 °C – Temperatura ambiente

Temperatura 2 (T<sup>2</sup>) [°C]: 42 ± 3 °C – Temperatura en estufa

Temperatura 3(T<sup>3</sup>) [°C]: 5 ± 3 °C – Temperatura en nevera

#### Formato de envase:

Envase de cristal 30mL con cuentagotas y color translucido.

#### Estudio de compatibilidad - Pérdida de peso

Parámetro / Procedimiento	Resultado
Peso – T <sup>1</sup> (25 °C) – t=0	114,346
Peso – T <sup>1</sup> (25 °C) – t=1	114,333
Peso – T <sup>1</sup> (25 °C) – t=2	114,327
Peso – T <sup>2</sup> (42 °C) – t=0	114,302
Peso – T <sup>2</sup> (42 °C) – t=1	114,285
Peso – T <sup>2</sup> (42 °C) – t=2	114,268
Peso – T <sup>3</sup> (5 °C) – t=0	113,246

Peso – T <sup>a</sup> 3 (5 °C) – t=1	113,235
Peso – T <sup>a</sup> 3 (5 °C) – t=2	113,243

#### **Estudio de compatibilidad – Aspecto**

Parámetro / Procedimiento	Resultado
Aspecto – t=0	Líquido - Gel
Aspecto – T <sup>a</sup> 1 (25 °C) – t=1	Sin alteración
Aspecto – T <sup>a</sup> 1 (25 °C) – t=2	Sin alteración
Aspecto – T <sup>a</sup> 2 (42 °C) – t=1	Sin alteración
Aspecto – T <sup>a</sup> 2 (42 °C) – t=2	Sin alteración
Aspecto – T <sup>a</sup> 3 (5 °C) – t=1	Sin alteración
Aspecto – T <sup>a</sup> 3 (5 °C) – t=2	Sin alteración

#### **Estudio de compatibilidad - Color**

Parámetro / Procedimiento	Resultado
Color – t=0	Anaranjado - NCS S 3040-Y20R
Color – T <sup>a</sup> 1 (25 °C) – t=1	Sin alteración
Color – T <sup>a</sup> 1 (25 °C) – t=2	Sin alteración
Color – T <sup>a</sup> 2 (42 °C) – t=1	Cambio leve de color
Color – T <sup>a</sup> 2 (42 °C) – t=2	Cambio leve de color
Color – T <sup>a</sup> 3 (5 °C) – t=1	Sin alteración
Color – T <sup>a</sup> 3 (5 °C) – t=2	Sin alteración

#### **Estudio de compatibilidad - Olor**

Parámetro / Procedimiento	Resultado
Olor – t=0	Característico
Olor – T <sup>a</sup> 1 (25 °C) – t=1	Sin alteración
Olor – T <sup>a</sup> 1 (25 °C) – t=2	Sin alteración
Olor – T <sup>a</sup> 2 (42 °C) – t=1	Sin alteración
Olor – T <sup>a</sup> 2 (42 °C) – t=2	Sin alteración
Olor – T <sup>a</sup> 3 (5 °C) – t=1	Sin alteración
Olor – T <sup>a</sup> 3 (5 °C) – t=2	Sin alteración

#### **Estudio de compatibilidad – Color de envase**

Parámetro / Procedimiento	Resultado
Color de envase – t=0	Translucido
Color de envase – T <sup>a</sup> 1 (25 °C) – t=1	Sin alteración
Color de envase – T <sup>a</sup> 1 (25 °C) – t=2	Sin alteración
Color de envase – T <sup>a</sup> 2 (42 °C) – t=1	Sin alteración
Color de envase – T <sup>a</sup> 2 (42 °C) – t=2	Sin alteración
Color de envase – T <sup>a</sup> 3 (5 °C) – t=1	Sin alteración
Color de envase – T <sup>a</sup> 3 (5 °C) – t=2	Sin alteración

#### **Estudio de compatibilidad – Deformación de envase**

<b>Parámetro / Procedimiento</b>	<b>Resultado</b>
Deformación de envase – t=0	Conforme
Deformación de envase – T <sup>a</sup> 1 (25 °C) – t=1	Conforme
Deformación de envase – T <sup>a</sup> 1 (25 °C) – t=2	Conforme
Deformación de envase – T <sup>a</sup> 2 (42 °C) – t=1	Conforme
Deformación de envase – T <sup>a</sup> 2 (42 °C) – t=2	Conforme
Deformación de envase – T <sup>a</sup> 3 (5 °C) – t=1	Conforme
Deformación de envase – T <sup>a</sup> 3 (5 °C) – t=2	Conforme

#### **Estudio de compatibilidad – Grietas envase**

<b>Parámetro / Procedimiento</b>	<b>Resultado</b>
Grietas envase – t=0	Conforme
Grietas envase – T <sup>a</sup> 1 (25 °C) – t=1	Conforme
Grietas envase – T <sup>a</sup> 1 (25 °C) – t=2	Conforme
Grietas envase – T <sup>a</sup> 2 (42 °C) – t=1	Conforme
Grietas envase – T <sup>a</sup> 2 (42 °C) – t=2	Conforme
Grietas envase – T <sup>a</sup> 3 (5 °C) – t=1	Conforme
Grietas envase – T <sup>a</sup> 3 (5 °C) – t=2	Conforme

#### **Estudio de compatibilidad – Corrosión envase**

<b>Parámetro / Procedimiento</b>	<b>Resultado</b>
Corrosión envase – t=0	Conforme
Corrosión envase – T <sup>a</sup> 1 (25 °C) – t=1	Conforme
Corrosión envase – T <sup>a</sup> 1 (25 °C) – t=2	Conforme
Corrosión envase – T <sup>a</sup> 2 (42 °C) – t=1	Conforme
Corrosión envase – T <sup>a</sup> 2 (42 °C) – t=2	Conforme
Corrosión envase – T <sup>a</sup> 3 (5 °C) – t=1	Conforme
Corrosión envase – T <sup>a</sup> 3 (5 °C) – t=2	Conforme

#### **Estudio de compatibilidad – Rotura envase**

<b>Parámetro / Procedimiento</b>	<b>Resultado</b>
Rotura envase – t=0	Conforme
Rotura envase – T <sup>a</sup> 1 (25 °C) – t=1	Conforme
Rotura envase – T <sup>a</sup> 1 (25 °C) – t=2	Conforme
Rotura envase – T <sup>a</sup> 2 (42 °C) – t=1	Conforme
Rotura envase – T <sup>a</sup> 2 (42 °C) – t=2	Conforme
Rotura envase – T <sup>a</sup> 3 (5 °C) – t=1	Conforme
Rotura envase – T <sup>a</sup> 3 (5 °C) – t=2	Conforme

#### **Estudio de compatibilidad – Acoplamiento envase**

<b>Parámetro / Procedimiento</b>	<b>Resultado</b>
Acoplamiento envase – t=0	Conforme
Acoplamiento envase – T <sup>a</sup> 1 (25 °C) – t=1	Conforme

Acoplamiento envase – T <sup>a</sup> 1 (25 °C) – t=2	Conforme
Acoplamiento envase – T <sup>a</sup> 2 (42 °C) – t=1	Conforme
Acoplamiento envase – T <sup>a</sup> 2 (42 °C) – t=2	Conforme
Acoplamiento envase – T <sup>a</sup> 3 (5 °C) – t=1	Conforme
Acoplamiento envase – T <sup>a</sup> 3 (5 °C) – t=2	Conforme

#### **Estudio de compatibilidad – Colapso envase**

<b>Parámetro / Procedimiento</b>	<b>Resultado</b>
Colapso envase – t=0	Conforme
Colapso envase – T <sup>a</sup> 1 (25 °C) – t=1	Conforme
Colapso envase – T <sup>a</sup> 1 (25 °C) – t=2	Conforme
Colapso envase – T <sup>a</sup> 2 (42 °C) – t=1	Conforme
Colapso envase – T <sup>a</sup> 2 (42 °C) – t=2	Conforme
Colapso envase – T <sup>a</sup> 3 (5 °C) – t=1	Conforme
Colapso envase – T <sup>a</sup> 3 (5 °C) – t=2	Conforme

#### **Estudio de compatibilidad – Dispensación producto**

<b>Parámetro / Procedimiento</b>	<b>Resultado</b>
Dispensación producto – t=0	Conforme
Dispensación producto – T <sup>a</sup> 1 (25 °C) – t=1	Conforme
Dispensación producto – T <sup>a</sup> 1 (25 °C) – t=2	Conforme
Dispensación producto – T <sup>a</sup> 2 (42 °C) – t=1	Conforme
Dispensación producto – T <sup>a</sup> 2 (42 °C) – t=2	Conforme
Dispensación producto – T <sup>a</sup> 3 (5 °C) – t=1	Conforme
Dispensación producto – T <sup>a</sup> 3 (5 °C) – t=2	Conforme

#### **Estudio de compatibilidad – Conclusiones**

Conforme. Los resultados obtenidos para los distintos parámetros analizados, CUMPLEN con las especificaciones de control durante todo el tiempo de estudio, lo que sugiere que existe compatibilidad entre el envase y el producto.

## **ANEXO 12. Estudio de compatibilidad con el envase de la muestra comercial 2 – Emulsión**

Producto: Producto comercial 2 - Emulsión

Descripción: Emulsión - Cosmético

Fecha Inicio pruebas: 06/05/2023

Fecha de finalización: 05/07/2023



**Condiciones de estudio:**

Tiempo 0 (t=0): 0 días

Tiempo 1 (t=1): 30 días

Tiempo 2 (t=2): 60 días

Temperatura 1 (T<sup>a</sup>1) [°C]: 25 ± 3 °C – Temperatura ambiente

Temperatura 2 (T<sup>a</sup>2) [°C]: 42 ± 3 °C – Temperatura en estufa

Temperatura 3(T<sup>a</sup>3) [°C]: 5 ± 3 °C – Temperatura en nevera

**Formato de envase:**

Airless de 50mL con color translucido.

**Estudio de compatibilidad - Pérdida de peso**

Parámetro / Procedimiento	Resultado
Peso – T <sup>a</sup> 1 (25 °C) – t=0	96,808
Peso – T <sup>a</sup> 1 (25 °C) – t=1	96,807
Peso – T <sup>a</sup> 1 (25 °C) – t=2	96,810
Peso – T <sup>a</sup> 2 (42 °C) – t=0	95,779
Peso – T <sup>a</sup> 2 (42 °C) – t=1	95,772
Peso – T <sup>a</sup> 2 (42 °C) – t=2	95,748
Peso – T <sup>a</sup> 3 (5 °C) – t=0	96,262
Peso – T <sup>a</sup> 3 (5 °C) – t=1	96,250
Peso – T <sup>a</sup> 3 (5 °C) – t=2	96,243

**Estudio de compatibilidad – Aspecto**

Parámetro / Procedimiento	Resultado
Aspecto – t=0	Líquido - Emulsión
Aspecto – T <sup>a</sup> 1 (25 °C) – t=1	Sin alteración
Aspecto – T <sup>a</sup> 1 (25 °C) – t=2	Sin alteración
Aspecto – T <sup>a</sup> 2 (42 °C) – t=1	Sin alteración
Aspecto – T <sup>a</sup> 2 (42 °C) – t=2	Sin alteración
Aspecto – T <sup>a</sup> 3 (5 °C) – t=1	Sin alteración
Aspecto – T <sup>a</sup> 3 (5 °C) – t=2	Sin alteración

**Estudio de compatibilidad - Color**

Parámetro / Procedimiento	Resultado
Color – t=0	Blanco - NCS S 1502-Y20R
Color – T <sup>a</sup> 1 (25 °C) – t=1	Sin alteración
Color – T <sup>a</sup> 1 (25 °C) – t=2	Sin alteración
Color – T <sup>a</sup> 2 (42 °C) – t=1	Sin alteración
Color – T <sup>a</sup> 2 (42 °C) – t=2	Sin alteración
Color – T <sup>a</sup> 3 (5 °C) – t=1	Sin alteración
Color – T <sup>a</sup> 3 (5 °C) – t=2	Sin alteración

#### **Estudio de compatibilidad - Olor**

<b>Parámetro / Procedimiento</b>	<b>Resultado</b>
Olor – t=0	Característico - Herbal
Olor – T <sup>a</sup> 1 (25 °C) – t=1	Sin alteración
Olor – T <sup>a</sup> 1 (25 °C) – t=2	Sin alteración
Olor – T <sup>a</sup> 2 (42 °C) – t=1	Sin alteración
Olor – T <sup>a</sup> 2 (42 °C) – t=2	Sin alteración
Olor – T <sup>a</sup> 3 (5 °C) – t=1	Sin alteración
Olor – T <sup>a</sup> 3 (5 °C) – t=2	Sin alteración

#### **Estudio de compatibilidad – Color de envase**

<b>Parámetro / Procedimiento</b>	<b>Resultado</b>
Color de envase – t=0	Translucido
Color de envase – T <sup>a</sup> 1 (25 °C) – t=1	Sin alteración
Color de envase – T <sup>a</sup> 1 (25 °C) – t=2	Sin alteración
Color de envase – T <sup>a</sup> 2 (42 °C) – t=1	Sin alteración
Color de envase – T <sup>a</sup> 2 (42 °C) – t=2	Sin alteración
Color de envase – T <sup>a</sup> 3 (5 °C) – t=1	Sin alteración
Color de envase – T <sup>a</sup> 3 (5 °C) – t=2	Sin alteración

#### **Estudio de compatibilidad – Deformación de envase**

<b>Parámetro / Procedimiento</b>	<b>Resultado</b>
Deformación de envase – t=0	Conforme
Deformación de envase – T <sup>a</sup> 1 (25 °C) – t=1	Conforme
Deformación de envase – T <sup>a</sup> 1 (25 °C) – t=2	Conforme
Deformación de envase – T <sup>a</sup> 2 (42 °C) – t=1	Conforme
Deformación de envase – T <sup>a</sup> 2 (42 °C) – t=2	Conforme
Deformación de envase – T <sup>a</sup> 3 (5 °C) – t=1	Conforme
Deformación de envase – T <sup>a</sup> 3 (5 °C) – t=2	Conforme

#### **Estudio de compatibilidad – Grietas envase**

<b>Parámetro / Procedimiento</b>	<b>Resultado</b>
Grietas envase – t=0	Conforme
Grietas envase – T <sup>a</sup> 1 (25 °C) – t=1	Conforme
Grietas envase – T <sup>a</sup> 1 (25 °C) – t=2	Conforme
Grietas envase – T <sup>a</sup> 2 (42 °C) – t=1	Conforme
Grietas envase – T <sup>a</sup> 2 (42 °C) – t=2	Conforme
Grietas envase – T <sup>a</sup> 3 (5 °C) – t=1	Conforme
Grietas envase – T <sup>a</sup> 3 (5 °C) – t=2	Conforme

#### **Estudio de compatibilidad – Corrosión envase**

<b>Parámetro / Procedimiento</b>	<b>Resultado</b>
Corrosión envase – t=0	Conforme
Corrosión envase – T <sup>a</sup> 1 (25 °C) – t=1	Conforme
Corrosión envase – T <sup>a</sup> 1 (25 °C) – t=2	Conforme
Corrosión envase – T <sup>a</sup> 2 (42 °C) – t=1	Conforme
Corrosión envase – T <sup>a</sup> 2 (42 °C) – t=2	Conforme
Corrosión envase – T <sup>a</sup> 3 (5 °C) – t=1	Conforme
Corrosión envase – T <sup>a</sup> 3 (5 °C) – t=2	Conforme

#### **Estudio de compatibilidad – Rotura envase**

<b>Parámetro / Procedimiento</b>	<b>Resultado</b>
Rotura envase – t=0	Conforme
Rotura envase – T <sup>a</sup> 1 (25 °C) – t=1	Conforme
Rotura envase – T <sup>a</sup> 1 (25 °C) – t=2	Conforme
Rotura envase – T <sup>a</sup> 2 (42 °C) – t=1	Conforme
Rotura envase – T <sup>a</sup> 2 (42 °C) – t=2	Conforme
Rotura envase – T <sup>a</sup> 3 (5 °C) – t=1	Conforme
Rotura envase – T <sup>a</sup> 3 (5 °C) – t=2	Conforme

#### **Estudio de compatibilidad – Acoplamiento envase**

<b>Parámetro / Procedimiento</b>	<b>Resultado</b>
Acoplamiento envase – t=0	Conforme
Acoplamiento envase – T <sup>a</sup> 1 (25 °C) – t=1	Conforme
Acoplamiento envase – T <sup>a</sup> 1 (25 °C) – t=2	Conforme
Acoplamiento envase – T <sup>a</sup> 2 (42 °C) – t=1	Conforme
Acoplamiento envase – T <sup>a</sup> 2 (42 °C) – t=2	Conforme
Acoplamiento envase – T <sup>a</sup> 3 (5 °C) – t=1	Conforme
Acoplamiento envase – T <sup>a</sup> 3 (5 °C) – t=2	Conforme

#### **Estudio de compatibilidad – Colapso envase**

<b>Parámetro / Procedimiento</b>	<b>Resultado</b>
Colapso envase – t=0	Conforme
Colapso envase – T <sup>a</sup> 1 (25 °C) – t=1	Conforme
Colapso envase – T <sup>a</sup> 1 (25 °C) – t=2	Conforme
Colapso envase – T <sup>a</sup> 2 (42 °C) – t=1	Conforme
Colapso envase – T <sup>a</sup> 2 (42 °C) – t=2	Conforme
Colapso envase – T <sup>a</sup> 3 (5 °C) – t=1	Conforme
Colapso envase – T <sup>a</sup> 3 (5 °C) – t=2	Conforme

#### **Estudio de compatibilidad – Dispensación producto**

<b>Parámetro / Procedimiento</b>	<b>Resultado</b>
Dispensación producto – t=0	Conforme
Dispensación producto – T <sup>a</sup> 1 (25 °C) – t=1	Conforme
Dispensación producto – T <sup>a</sup> 1 (25 °C) – t=2	Conforme
Dispensación producto – T <sup>a</sup> 2 (42 °C) – t=1	Conforme
Dispensación producto – T <sup>a</sup> 2 (42 °C) – t=2	Conforme
Dispensación producto – T <sup>a</sup> 3 (5 °C) – t=1	Conforme
Dispensación producto – T <sup>a</sup> 3 (5 °C) – t=2	Conforme

#### **Estudio de compatibilidad – Conclusiones**

Conforme. Los resultados obtenidos para los distintos parámetros analizados, CUMPLEN con las especificaciones de control durante todo el tiempo de estudio, lo que sugiere que existe compatibilidad entre el envase y el producto.