

CUANTIFICACION DE ESTERES DEL ACIDO p-HIDROXI BENZOICO
(PARABENOS) EN CREMAS COSMETICAS QUE SE DISTRIBUYEN EN
GUATEMALA

UNIVERSIDAD DEL VALLE DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS Y HUMANIDADES



***CUANTIFICACION DE ESTERES DEL ACIDO
p-HIDROXI BENZOICO (PARABENOS)
EN CREMAS COSMETICAS QUE SE
DISTRIBUYEN EN GUATEMALA***

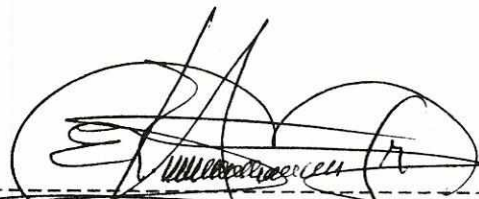
LUIS ENRIQUE MEDRANO PORTILLO

**Trabajo de investigación para optar al grado académico de
Licenciatura en Química Farmacéutica**

Guatemala
1992

Vo. Bo.:

(f)



~~Licenciado Rolando López~~
Asesor

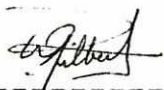
Tribunal:

(f)



~~Licenciada Caludia Corado~~

(f)



~~Licenciado Walter Gilbert~~

(f)



~~Licenciado Rolando López~~

Fecha de aprobación: 24 de septiembre de 1992.

DEDICO ESTA TESIS

A Dios, la Virgen María y al
Espíritu Santo.

A mis padres: Luis E. Medrano A.
Judith Portillo de Medrano.

A mis hermanos: Estuardo, Mario
Roberto y Julio Ramón.

A mi novia: Michelle Ortiz

INDICE

I. RESUMEN	
II. INTRODUCCION	1
III. MARCO CONCEPTUAL	
A Antecedentes	3
B Justificación.....	5
C Planteamiento del problema	6
D Alcances y límites	7
IV. MARCO TEORICO	8
V. MARCO METODOLOGICO	
A Objetivos	25
B Hipótesis	25
C Variables	25
D Población y muestra	25
E Procedimiento y cálculos	26
F Diseño de la investigación	28
G Análisis estadístico	28
VI. MARCO OPERATIVO	
A Recabación y tratamiento de datos	29
B Recursos	29
VII. RESULTADOS	30
VIII. DISCUSION DE RESULTADOS	34
IX. CONCLUSIONES	37
X. RECOMENDACIONES	38
XI. BIBLIOGRAFIA	39
XII. INDICE DE APENDICES	41

RESUMEN:

Se efectuó una muestra del 20% de la población total de laboratorios nacionales fabricantes de cosméticos registrados en el Departamento de Control y Registro de Medicamentos, de los cuales se tomaron dos muestras de cremas. Después se procedió a identificar y cuantificar el contenido de ésteres del ácido p-hidroxi benzoico, metil, propil y butil paraben, por cromatografía de gases y se realizó el análisis por duplicado.

De los resultados obtenidos se infiere que el 90% de las muestras analizadas contenían ésteres del ácido p-hidroxi benzoico; metilparaben, un 38%; y una combinación de metilparaben-propilparaben un 62%. No se identificó el butilparaben en alguna de las muestras analizadas.

El 70% de las muestras contenían concentraciones de parabenos, dentro de los rangos sugeridos, para ejercer una acción antimicrobiana.

Se recomienda que cualquier sistema preservante que se utilice en una crema esté determinado por un estudio de estabilidad microbiológica, compatibilidad con los ingredientes de la formulación y economía, sin menospreciar ninguno de estos aspectos. Así como seguir las buenas prácticas de manufactura que son tan aplicables a la industria cosmética como lo son para la industria farmacéutica.

I. INTRODUCCION:

Un cosmético puede definirse en forma general como un conjunto de preparados que se aplican al cuerpo humano con el fin de embellecerlo, alterar la apariencia y ocultar pequeñas deformaciones fisiológicas.(1)

Los cosméticos han sido ampliamente utilizados por la humanidad, fueron usados por los babilonios, egipcios, chinos y otras culturas; ya sea como signo de realeza, para ritos religiosos o para embellecer al ser humano. En la actualidad, el uso de cosméticos es universal, son utilizados por todas las clases sociales, ya que existe un cosmético para cada persona, que a su vez lo aplica por muchas razones, que van desde ocultar pequeñas deformaciones fisiológicas hasta tratar de envejecer lentamente o dar una apariencia juvenil.

Si se parte de la necesidad del ser humano de lucir bello y emvejecer lo más lentamente posible, se han creado cosméticos para muchas aplicaciones, ya sea con un fin terapéutico o para saciar cualquier capricho humano. El desarrollo y formulación de un cosmético generalmente involucra el uso de sustancias naturales, como aceites esenciales, ácidos grasos, vitaminas, lípidos, minerales y muchas sustancia más; agua en la mayoría de las ocasiones en grandes cantidades.

Asimismo, si se observa la naturaleza de las sustancias utilizadas en la manufactura de cosméticos, se puede notar que la mayoría son medios adecuados para el

crecimiento microbiológico, no sólo por las sustancias que contienen, sino por el contenido de humedad que éstos proveen.

Preservar un cosmético de contaminación microbiológica es de suma importancia, tanto para la seguridad del consumidor, como para el fabricante. Los microorganismos pueden ser nocivos para la salud del consumidor y dañinos para la buena imagen que el fabricante debe garantizar en sus productos.

Los ésteres del ácido p-hidroxi benzoico (parabenos) son comúnmente utilizados como preservantes, por sus propiedades antimicrobianas, propiedades organolépticas y relativa economía. Al utilizar los ésteres del ácido p-hidroxi benzoico en formulaciones cosméticas, deberá tomarse en cuenta que estén en concentraciones recomendadas para que puedan ejercer su acción preservante y que no la excedan, pues estos tiene la capacidad de producir sensibilización dérmica (2), por lo que su uso adecuado es de principal importancia.

II. MARCO CONCEPTUAL

A Antecedentes

La necesidad de que un cosmético esté protegido de contaminación microbiológica, se ve acentuada cuando algunos de estos preparados se utilizan a nivel hospitalario. Mose y colaboradores, en 1967 (1), describieron un caso de septicemia causado por *Klebsiella pneumoneae*, que provenia de un dispensador de crema contaminada.

Estudios realizados por Levestein y Wolven, Myers y Pasutto han demostrado la incidencia de contaminación microbiológica en preparados cosméticos.(1)

El uso adecuado de los parabenos es de suma importancia, ya que se han reportado casos de sensibilización por uso crónico, con una incidencia de 3%, reportado por The American Contact Dermatitis Group en 1973 (1)(6). Schorr y Mohjerin reportaron en 1966 un caso individual de sensibilización a una concentración menor a 0.5%, Schmberg reportó un segundo caso en 1967. Rudner y Conin reportaron diez pacientes que exhibían reacción eczematosa local con pruebas de parche de estos ésteres a una concentración de 3%.(11)

En el trabajo de investigación "Evaluación de la eficacia de preservantes químicos utilizados en lociones para manos elaboradas en Guatemala" (Muñoz, 1990), mediante inoculación de cepas ATCC de varios microorganismos a lociones para manos, se encontró que un 70% de las casas

fabricantes muestreadas, incluyen en la formulación de sus productos, preservantes eficaces para el control microbiano.

En el estudio "Identificación y cuantificación de preservantes metil, propil y butilparaben en jarabes manufacturados por la Industria Farmacéutica Nacional" (Martinez, 1991), mediante un método cromatográfico, concluye que un 62.5% de los laboratorios que utilizan estos preservantes sobrepasan los límites usuales de concentración.

Existen varias formas de cuantificar parabenos, mediante cromatografía líquida y de gases, desarrollados por Merck. (10)

K.Rubach, C.Breyer y E. Kurchoff cuantificaron preservantes en alimentos en 1980, por un método de cromatografía líquida, HPLC, en su artículo publicado en la revista alemana Z. Lebensm. Unters.Forsch.170. (9)

En Guatemala no se han realizado estudios que involucren la cuantificación de parabenos en cosméticos, preparados en los cuales los parabenos han sido ampliamente usados como preservantes y han producido alguna reacción adversas.(1)

B Justificación

En la actualidad, los cosméticos son ampliamente utilizados por personas de toda clase social y por muchas razones, ya que el ser humano siempre tratará de ser atractivo. La necesidad de ser atractivo ha llevado a la creación de muchos productos nuevos, cada vez más sofisticados. En Guatemala existían 5787 productos de tocador registrados entre 1982-1990. Para cubrir la demanda la industria cosmética ha crecido a tal grado, que es difícil controlar la cantidad de productos que ésta suministra. Asimismo, en Guatemala, las autoridades sanitarias dan énfasis a la calidad microbiológica de un cosmético, cuando éste no contiene algún principio activo, por lo que los cosméticos nacionales deberán estar preservados adecuadamente del crecimiento microbiológico. Los parabenos como sustancias más usadas para este fin, deben estar en concentraciones adecuadas para ejercer su acción y no producir reacciones adversas por su administración crónica, en especial dermatitis (6).

La cuantificación de preservantes en preparados cosméticos nunca se ha efectuado en Guatemala, por lo que cuantificar e identificar los parabenos, como preservantes más utilizados, es prioritaria, tanto para el consumidor, fabricante y en especial autoridades sanitarias, pues de esta forma se evidencia si estos son utilizados adecuadamente, discriminadamente o no utilizados en lo absoluto.

C Planteamiento del problema.

La cuantificación e identificación de los ésteres del ácido p-hidroxi benzoico, parabenos, en cremas cosméticas del mercado guatemalteco demostrará si éstos se utilizan adecuadamente, discriminadamente o no son usados en absoluto como preservantes en este tipo de preparados.

D Alcances y Límites:

El estudio puede servir de referencia a las autoridades sanitarias y de salud de Guatemala, sobre el uso de los ésteres del ácido p-hidroxi benzoico, (parabenos) en preparados cosméticos del mercado guatemalteco, específicamente en cremas. Ya que no se conoce de alguna referencia o estudio realizado en cosméticos, que identifique y cuantifique preservantes, sólo existen controles microbiológicos que se realizan de estos en el momento de registrarse.

Se cuantificarán únicamente ésteres del ácido p-hidroxi benzoico, por ser los más utilizados y que en teoría dominan el campo de la preservación de cosméticos.(4)

III. MARCO TEORICO

"Cosmético: Término que engloba una inmensa categoría de preparados que se aplican al cuerpo humano con el fin de embellecerlo, alterar apariencia u ocultar pequeñas deformaciones fisiológicas."

A. Contaminación y preservación microbiológica de cosméticos; fuentes, factores y control.

La adecuada preservación de un cosmético es una tarea difícil y compleja. Preservar significa retardar o prevenir el deterioro del producto desde el momento que se fabrica hasta que el consumidor lo utiliza en su totalidad. El fabricante desearía que el cosmético se vendiera y consumiera en el menor tiempo posible, pero en la realidad este no es el caso; por lo que deberá estabilizar el producto y evitar que el mismo se deteriore en un período largo de tiempo. (11)

La contaminación microbiológica puede causar descomposición del preparado, la cual se manifiesta en forma de malos olores, gases, cambios de pH, viscosidad, color, destrucción de la emulsión, en general la alteración de las propiedades organolépticas y fisicoquímicas del preparado. (1)

Las fuentes de contaminación microbiológica, su control y factores a considerar para este estudio están íntimamente relacionados.

Las fuentes principales de contaminación microbiológica de estos preparados son varias y en algunos

casos son factores a considerar en su control. Pueden provenir del agua, o del equipo que se utilice en el tratamiento de ésta. Un ejemplo clásico lo constituyen los desionizadores y filtros de carbono, del aire que se suministre al área de manufactura, de las materias primas, material de empaque, equipo y áreas de producción mal sanitizadas, personal y otras que pueden surgir durante el proceso de manufactura. Estas fuentes y factores pueden controlarse mediante la aplicación de un control de calidad eficiente y desarrollando el trabajo, según buenas prácticas de manufactura (BMP's), que por lo general en la industria cosmética no son aplicadas en forma tan rigurosa como en la industria farmacéutica.(1)(11)

Una de las principales fuentes de contaminación y tal vez la más difícil de controlar la constituye el usuario o consumidor, que puede introducir microorganismos al preparado que antes no estaban presentes. Es en esta fuente en el cual el formulador debe poner principal atención, al utilizar preservantes y concentraciones adecuadas de los mismos, para el tipo de producto y lugar donde deberá aplicarse.(1)(11)

Entre los factores propios del producto, las condiciones de empaque, almacenamiento, que afectan y que se consideran como factores en el crecimiento microbiológico se encuentran:

1. Contenido de nutrientes:

Carbohidratos, glicósidos, proteínas, vitaminas,

ácidos grasos, amino ácidos etc., que en muchas formulaciones son utilizadas con frecuencia como gomas, mucílagos, y sorbitol que son fuentes de carbohidratos. Los aceites vegetales y ceras, muy utilizados como bases para cremas son fuentes de ácidos grasos. Además, la gran cantidad de productos vitaminados, y que contienen colágeno y proteínas proveen de una buena fuente de éstas a los microorganismo.

2. Contenido de humedad:

El contenido de agua en cosméticos por lo general es grande, al menos que se trate de productos aceitosos o emulsiones tipo agua en aceite. Dependiendo del contenido de agua del cosmético así será mejor medio de cultivo para ciertos microorganismos; las bacterias necesitan de medios con un contenido de humedad elevada, los hongos y mohos no requieren mayor cantidad de ésta y las levaduras necesitan de un contenido medio entre aquél que necesitan los moho y las bacterias.

3. Contenido de oxígeno:

Según el contenido de oxígeno del cosmético así se encontraran microorganismos aeróbios o anaeróbios. De los organismos comunmente encontrados en cosméticos generalmente requieren oxígeno como muchos mohos y levaduras. La eliminación del aire es importante en la prevención de crecimiento de mohos, se sugiere que la protección podría brindarse con una cobertura de plástico o metal en contacto con la superficie completa del producto

en el envase (8).

4. pH:

Las bacterias prefieren un pH neutro entre 6-8, los mohos pueden crecer en un amplio rango de pH, pero crecen mejor en un pH ácido entre 4-6, al igual que las levaduras que necesitan un pH ligeramente ácido. Los valores de pH de un cosmético son ligeramente ácidos a neutros, similares al de la piel. Ningún microorganismo crece apreciablemente a pH mayor de 9, y son pocos los cosméticos que tiene valores de pH tan elevados.

5. Temperatura:

Existen microorganismos que crecen a diferentes temperaturas, pero la mayoría presenta proliferación a temperatura ambiente. La fabricación de muchos cosméticos involucra elevadas temperaturas que eliminan muchas de las esporas y microorganismos presentes en las materias primas. Esto puede afectar el tipo y número de los microorganismos que no fueron eliminados.

B. Incidencia y peligros de cosméticos contaminados

La relación entre la incidencia microbiológica y el posible riesgo a la salud han sido mal documentados y se complica debido a la flora microbiológica de la piel humana y del medio ambiente. El mayor peligro se observa cuando preparados cosméticos se usan a nivel hospitalario. Mose y colaboradores, en 1967, describieron un caso de septicemia causado por *Klebsiella pneumoniae*, que provenia de un

dispensador de crema contaminado.

Apesar de la poca documentación, varios estudios demuestran la incidencia que tiene la contaminación de cosméticos por microorganismos. Levestein, en 1969, encontró que un 29.4% de los cosméticos del mercado de Los Estados Unidos estaban contaminados. En 1972 Wolven y Levestein encontraron que un 3.55% estaban contaminados con bacterias, (pseudomonas). Myers y Pasutto, en 1973, realizaron un estudio similar en cosméticos nuevos y usados por el consumidor; encontraron que 12.12 % de los nuevos y 49.55% de los usados presentaban crecimiento bacteriano. Con lo que se probó que la principal fuente de contaminación en cosméticos es el usuario (1).

ORGANISMOS ENCONTRADOS EN COSMETICOS

Se han identificado varios microorganismos, entre los cuales se mencionan los siguientes, según diferentes autores.

T.1 Mohos

<i>Penicillium</i>	<i>Botrytis cinerea</i>
<i>Aspergillus</i>	<i>Alternaria</i>
<i>Rhizopus</i>	<i>Stemphylium</i>
<i>Mucor</i>	<i>Cladosporium</i>
<i>Rhizopus nigricans</i>	<i>Cladosporium herbarum</i>
<i>Mucor mucedo</i>	

T.2 Levaduras

<i>Saccharomyces</i>	<i>Saccharomyces ellipsoideus</i>
<i>Cryptococcus</i>	<i>Cryptococcus neoformans</i>
<i>Candida</i>	<i>Candida albicans</i>
<i>Zygosaccharomyces</i>	<i>Zygosaccharomyces apiculatus</i>

T.3 Bacterias

<i>Aerobacter aerogenes</i>	<i>Bacillus subtilis</i>
<i>Pseudomona aeruginosa</i>	<i>Staphylococcus albus</i>
<i>Bacillus pyocyaneus</i>	<i>Bacillus mycoides</i>
<i>Alcaligenes viscosus</i>	<i>Staphylococcus roseus</i>
<i>Pseudomona fluorescens</i>	<i>Escherichia coli</i>
<i>Bacillus mesentericus</i>	<i>Serratia marcescens</i>
<i>Escherichia paracoli</i>	<i>Staphylococcus citreus</i>
	<i>Bacillus astrosporus.</i>
	(Navarre, 1962)

(Napp Chemicals, Remigton's, Weley)

C. Preservantes cosméticos

Existen varios compuestos que pueden ser utilizados como preservantes en cosméticos. Un preservante ideal debe cumplir con las siguientes características:

1. Debe ser efectivo a concentraciones relativamente bajas contra un espectro amplio. Tanto para microorganismos patógenos, como para aquellos que puedan alterar la calidad del producto.
2. Debe ser soluble a las concentraciones requeridas.
3. No tóxico y no causar sensibilización en las concentraciones requeridas.
4. Compatible con los ingredientes de la formulación y material de empaque.
5. Libre de color y olor, o bien que sea poco perceptible y no afecte las propiedades organolépticas del producto.
6. Estable en una gran variedad de condiciones.
7. Económico.

(Remington's, Weley)

No existe compuesto alguno que cumpla todas las condiciones para considerarse un preservante ideal, los parabenos son considerados los más cercanos a esta clasificación. Entre otros compuestos comúnmente utilizadas se encuentran las sales cuaternarias de amonio, compuestos órgano-mercuriales, formaldehído y donadores de éste, fenoles halogenados, sorbatos como el ácido sórbico, alcoholes, benzoatos como el ácido benzóico y sus ésteres, y aceites esenciales, algunas de sus desventajas se

describen en la tabla 4 (1)(4)(11).

Tabla 4 . PRESERVANTES TOPICOS: BENEFICIOS Y RIESGOS.

Preservante	Limitación en uso cosmético/dermatológico
Compuestos de amonio	-Inactivados por numerosos ingredientes aniónicos, no iónicos y proteínas.
Organo mercuriales	-toxicidad potencial. -sensibilización dérmica. -uso limitado a formulación usadas en las proximidades o en los ojos.
Formaldehido	-compuestos volátiles de olor desagradabl. -irritantes a la piel. -alta reactividad química.
Fenoles halogenados *Hexaclorofeno, PCMC,p-cloro m-cresol PCMX,p-cloro m-xilol DMCX,dicloro m-xilol	-olor desagradable. -amenudo inactivados por agentes iónicos,no iónicos y -actividad limitada a bacterias gram negativas.
Sorbatos	-acción pH dependiente (pH entre 6.5-7.0) -inestables a la luz, fácilmente oxidables produciendo decoloración. -actividad limitada antibacteriana.
Acido benzoico y su sal sódica.	-acción pH dependiente (pH <=5) -ha caido en desuso, por nuevos agentes.
Dioxina	-olor desagradable difícil de enmascarar. -inestable en formulaciones que contiene proteína.

(Remington's 1985.)

D. Factores que afectan la actividad de los preservantes:

Muchos son los factores que afectan la actividad antimicrobiológica de un preservante cosmético, entre estos están los factores propios del compuesto y factores de formulación.

1. La Concentración:

Es obvio que la concentración del preservante es el factor primordial a considerar, a mayor concentración, será más efectivo y tendrá un rango de acción mayor. El uso de concentraciones elevadas presenta problemas de solubilidad o incorporación, costo, toxicidad y posibilidad de alterar las características del cosmético. Estos problemas han llevado a limitar un pequeño número de preservantes que pueden ser utilizados en los mismos.

La concentración del preservante también deberá ser analizada no sólo en la cantidad agregada al volumen de producto, sino también las concentraciones efectivas; como también en aquellas que alcanzan la interfase medio célula y dentro del organismo. Algunos estudios han demostrado que la incorporación de un preservante en forma coloidal es más efectiva en preparados como emulsiones y ungüentos que una solución verdadera. (Mellete)

2. La Relación de solubilidad:

La protección de cosméticos requiere de niveles letales de preservante en contacto con el microorganismo. En el caso de algunos preservantes, su actividad tiene gran relación con su solubilidad en agua. Entre mayor sea su

solubilidad menor sera su acción en comparación de algunos compuestos menos solubles. Entre mayor sea su solubilidad en agua menor sera la concentración del agente en la superficie de el microorganismo. Los compuestos menos solubles, presentan menor solubilidad en el medio pero mayor cantidad de agente tóxico en la superficie del microorganismo (11). De lo anterior se supone que en un cosmético graso como ungüentos, se deberían usar compuestos más solubles en agua que en el medio oleoso. Lo anterior no es totalmente cierto, más en el caso de emulsiones tipo aceite en agua. Galloway enfatiza que es la concentración de preservante en la fase acuosa la responsable de que no se presente crecimiento microbiano.(11) Pruebas realizadas en cremas terminadas que contenían metil y propil paraben, mostraron que el primero era más efectivo, pues éste es más soluble en agua que el propil paraben. Se ha demostrado que la actividad antimicrobiana está dada por la concentración de agente en la fase acuosa y en la interfase aceite-agua.(1)

3. El pH:

El pH posee un profundo efecto en la actividad antimicrobiana del preservante, Rahn y Cohn han mostrado que el efecto perservante de algunos ácidos es función de la porción del ácido no disociada y no del ión; ellos postulan que los ácidos orgánicos penetran la membrana biológica en forma no disociada que en la forma ionizada.(1)(11)

4. El efecto de agentes surfactantes y emulsionantes no iónicos:

El efecto de estos agentes es de suma importancia ya que estos son ampliamente utilizados en la preparación de emulsiones. EL comportamiento de algunos compuestos en presencia de agentes surfactantes es algo caprichoso. En concentraciones pequeñas de agente tensioactivo la actividad se ve aumentada, a medida que la concentración aumenta la actividad disminuye, pues la concentración de agente se ve diluida, al alcanzar un equilibrio entre concentración de agente tensioactivo y preservante la actividad vuelve a la normalidad por así decirlo.(11)

Los emulsificantes no iónicos presentan un gran problema, el ejemplo lo constituye el Tween y Arlacel, que disminuyen la actividad de los parabenos. Otros agentes tensioactivos, como el lauril sulfato de sodio, inactivan preservantes tipo sales cuaternarias de amonio.(11)(1)

Otro factor que puede disminuir la actividad antimicrobiológica de los preservantes son los materiales de empaque primario, el polietileno demostró no ser adecuado para fenoles sustituidos, nitratos fenilmercúricos y ácido benzoico. (1)

E. Los ésteres del ácido p-hidroxi benzoico (parabenos) como los preservantes de elección.

Los ésteres del ácido p-hidroxi benzoico (parabenos) dominan el campo farmacéutico y cosmético como preservantes. Fueron desarrollados en Europa por Sabalitschaka hace más de medio siglo. Presentan muchas características que los hacen ser lo más cercano a un preservante ideal; son incoloros, inodoros, insaboros, neutros, poco tóxicos, estables químicamente, no volátiles, moderadamente solubles, bacterioestáticos y fungistáticos a concentraciones bajas, son activos a diferentes valores de pH, poseen un amplio espectro microbiológico y son relativamente baratos. (1)(4)(11)

Su solubilidad varía de acuerdo a la cadena alifática que contiene o del grupo sustituyente que forma el éster; de aquí su utilidad en la preservación de emulsiones cosméticas agua en aceite o aceite en agua.

Su espectro microbiológico incluye bacterias Gram Positivas, Gram negativas, mohos y levaduras. Su acción es generalmente bacterioestática y fungistática. Son efectivos contra bacterias Gram positivas y menos para Gram negativas, para ejercer una acción bacteriostática se necesita una mayor concentración que la necesaria para una acción fungistática. La actividad fungistática aumenta a medida que aumenta su cadena alquílica.(11)

Su empleo en combinación no sólo aumenta el espectro sino también poseen una acción aditiva y, en algunos casos

sinérgica (Littlejohn y Husa, Schimmel y Husa)(11). Una combinación de metil paraben 0.12% y propilparaben 0.03% en un lote de diez galones es equivalente a 1.6 onzas de metil paraben y 0.4 onzas de propilparaben utilizados individualmente.

Las concentraciones utilizadas y recomendadas varían de acuerdo al tipo de preparado y clase de microorganismo, pero siempre son bajas; algunos autores recomiendan concentraciones usuales de 0.05-0.25%(1), otros recomiendan su uso en concentraciones de 0.01-0.1%(2), y otros recomiendan las concentraciones adecuadas según el microorganismo que se trate. Como se puede ver en la tabla 4, la concentración máxima recomendada no excede el 0.4%. Se recomiendan concentraciones de 0.025% de metilparaben y 0.015% de propilparaben USP XIV para ungüentos hidrofílicos. La tabla 5 muestra algunas concentraciones tentativas para diferentes tipos de cosméticos.

Los parabenos son fáciles de incorporar al preparado, que generalmente se hace en caliente, a unos 80° C, y se mantiene la temperatura 20° C por debajo de su punto de fusión para evitar aglomeraciones.(11) Los parabenos son estables a pH de 4-8, a medida que el pH pasa de 8, la molécula empieza a ionizarse. A pH de 8.5 50% del compuesto está ionizado y se pierde considerablemente su acción. La hidrólisis empieza a un pH de 6, pero se acelera a pH de 8. También son inactivados por agentes emulsificantes como Tween y Arlacel, para lo cual se puede utilizar otro

perservante como el ácido sórbico en concentraciones de 0.2%. (11)

Su acción preservante y su bajo índice riesgo beneficio, y un historial de más de medio siglo los hace difíciles de sustituir, y apesar de que se continúa en la búsqueda del preservante ideal, se han tenido comentarios como los de Maibach y Marzulli:" Es de esperarse que compuestos alternativos a los parabenos sean cuidadosamente estudiados para que ellos no nos sorprendan y prueben ser un mayor peligro tópico y sistémico." (Remington's)

T.5. ACTIVIDAD DE LOS p-HIDROXIBENZOATOS

Microorganismo	% requerido para inhibición			
	metil	etil	propil	butil
<i>Aspergillus niger</i>	0.100	0.04	0.020	0.0200
<i>Penicillium digitatum</i>	0.050	0.025	0.0063	0.0032
<i>Rhizopus nigricans</i>	0.050	0.025	0.0125	0.0063
<i>Trichoderma lignorum</i>	0.025	0.013	0.0125	0.0063
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	0.100	0.050	0.0125	0.0063
<i>Bacillus subtilis</i>	0.200	0.100	0.0250	0.0125
<i>Bacillus cereus</i> <i>var mycoides</i>	0.200	0.100	0.0125	0.0063
<i>Mycrococcus pyogenes</i> <i>var aureus</i>	0.400	0.100	0.0500	0.0125
<i>Sarcina lutea</i>	0.400	0.100	0.0500	0.0125
<i>Escherichia coli</i>	0.200	0.100	0.1000	0.4000
<i>Proteus vulgaris</i>	0.200	0.100	0.0500	0.0500
<i>Aerobacter aerogenes</i>	0.200	0.100	0.1000	0.4000

(Cosmetics Science and Technology, 1974)

T.6 concentraciones tentativas de prueba para varios preparados.

PREPARADO	PARABENO Y PORCENTAJE			
	Metil	Etil	Propil	Butil

Cremas:				
-libres de grasa, aceite	0.15	0.05	0.02	0.01
-de contenido bajo en grasas o aceites	0.3	0.1	0.03	0.02
-contenido medio de grasas o aceites	0.5	0.15	0.1	0.07
-contenido alto de grasas o aceites	1.0	0.30	0.2	0.15
Emulsiones:				
-bajo contenido en aceite	0.3	0.10	0.03	0.02
-alto contenido en aceite	0.5	0.15	0.10	0.07
Jaleas:				
gelatina, agar, pectina o almidón	0.15	0.05	0.02	0.01
Lápices labiales	0.5	0.15	0.1	0.07
Enjuagues bucales:				
-antisépticos, 20% alcohol	0.5	0.15	0.1	0.07
Mucílagos:				
-Acacia, tragacanto	0.15	0.05	0.02	0.01
Polvos:				
-Cuerpo, cara, manos y pies	1.0	0.50	0.20	0.15
Jarabes	0.15	0.05	0.02	0.01
Preparados dentríficos	0.25	0.01	0.04	0.02

(NAPP CHEMICALS)

F.Toxicología y reacciones advesas de los ésteres del ácido p-hidroxi benzoico:

Apesar de ser los compuestos con mayores características de un preservante ideal, los parabenos son responsables, en algunos casos de reacciones adversas tanto por aplicación dérmica como por ingestión. En 1973, The North American Contact Dermatitis encontró una incidencia de 3% de hipersensibilidad retardada causada por parabenos. Henry y asociados, en 1979, reportaron urticaria atribuida a parabenos. Se ha reportado también rash cutáneo y prúrito. Goodman y Gilman reportan en su libro "Bases Farmacológicas de la Terapéutica", dermatitis de difícil tratamiento. Sokol reportó que los ésteres menores del ácido p-hidroxibenzoico, no son irritantes aun a concentraciones de 5%. (1)(11) En Europa, donde se usan en concentraciones altas de 5%, se reportan casos de sensibilización.(1) En los Estados Unidos, a pesar de que no se usan a concentraciones mayores de un 0.5%, Schorr y Mohjerin reportaron, en 1966, un caso individual de sensibilización a una concentración menor a 0.5%, Schmberg reportó un segundo caso en 1967. Rudner y Cronin reportaron diez pacientes que exhibían reacción eczematosa local con pruebas de parche de estos ésteres a una concentración de 3% (11). Por lo general la reacción adversa más común producida por parabenos la constituye dermatitis del tipo IV (3). Además, puede ocurrir reacción cruzada de sinsibilización con benzocaína y procaína, anestésicos

locales muy utilizados.(2)

Cantidades de 1.0 g/Kg de peso corporal del éster metílico y propílico pueden ser consumidos por ratas en su vida entera sin mostrar efectos adversos.(11). Por ingestión en humanos se han reportado reacciones adversas como broncoespasmo, náusea, vómitos etc.

T.7. EFECTO IRRITANTE EN PRUBAS DE PARCHE, INVOLUCRANDO 50 PERSONAS.(11)

ESTER	Concentración más elevada(%P/V) en propilenglicol no irritante
Metilparaben	5
Etilparaben	7
Propilparaben	12
Butilparaben	5

IV. MARCO METODOLOGICO

A Objetivos

1. Identificar y cuantificar los ésteres del ácido p-hidroxi benzoico en cremas cosméticas de mercado guatemalteco.
2. Identificar la combinación más frecuente de parabenos que se utiliza en la preservación de una crema.

B Hipótesis

Las concentraciones utilizados de los ésteres de ácido p-hidroxi benzoico, parabenos, en cremas cosméticas del mercado guatemalteco se encuentran entre los rangos recomendados como preservantes de estos preparados.

C Variables

Independientes: Número de laboratorios que proveen al mercado guatemalteco.

Dependientes: Número de cremas a muestrear de cada laboratorio.

D Población y Muestra

La población estuvo constituida por el total de laboratorios fabricantes de cosméticos en Guatemala legalmente autorizados. La muestra la constituyeron las (20) veinte cremas fabricadas por los laboratorios nacionales.



E Procedimiento

**Parámetros del cromatógrafo de gases:

- Gas portador: helio o nitrógeno.
- Detector: De ionización de llama.
- Columna: Largo: 1.8 m
Diámetro interno: 2 mm
Empaque: sp 2100 Supelco port.

-Flujo en mL/min: 20

-Temperatura de la columna: 150 C.

Determinación

1. Solución de estándar interno:

Preparar una solución que contenga 14 mg de benzofenona por mL de piridina.

2. Preparación estándar:

Preparar derivados TMS de metil, propil, butil y etil paraben y agregar 1 mL de solución de estándar interno.

3. Preparación de la muestra:

Mezclar 10 g de muestra con 60 g de arena y mezclar en un matraz Erlenmeyer. Agregar 3 mL de ácido sulfúrico 25%, y extraer la mezcla con tres porciones de 30 mL de éter agitando por lo menos por 1 minuto. Los parabenos son extraídos del éter con dos porciones de 20 mL de hidróxido de sodio 0.1N. Luego de cada extracción alcalina, agregar 10 mL de solución saturada de cloruro de sodio. La fase alcalina es neutralizada con ácido clorhídrico 1:3. Los preservantes son extraídos de la fase acuosa con una porción inicial de 100 mL y cuatro porciones de 50 mL de cloroformo. El extracto se secó sobre sulfato de sodio anhidro. El extracto clorofórmico se evapora a 1 mL. Se agrega 1 mL de solución de estándar interno. Los 2 mL son concentrados a aproximadamente 1 mL. Agregar 0.2 mL de agente silanizante; trimetilclorosilane, bis(trimetilsilil)acetamida o bis(trimetilsilil)trifluoroacetamida. Esta mezcla es calentado bajo reflujo a 60 C y 15 minutos.

4. Procedimiento:

Usar 2 μ L de la solución silanizada de la preparación estándar, y obtener el cromatograma con el aparato ajustado a los parámetros mencionados. Mida las áreas

bajo los picos para metilparaben, propilparaben y acetofenona designados P1, P2, P3, respectivamente. De igual manera mida las áreas bajo los picos de las soluciones silanizadas de la preparación test designadas p1,p2,p3 respectivamente.

5. Cálculos

Contenido en ug/g de metilparaben:

$$10*(Cm/M)*(p1/p3)*(P3/P1)$$

donde: Cm es la concentración en ug/mL de metilparaben de la solución estándar.
M es el masa en gramos de espécimen o muestra.

Contenido en ug/mL de propilparaben:

$$10*(Cp/M)*(p2/p3)*(P3/P2)$$

donde: Cp es la concentración en ug/mL de propilparaben en la solución estándar.

F Diseño de la Investigación

Del total de laboratorios fabricantes de cosméticos nacionales, se escogieron (10) diez, de manera aleatoria, de los cuales se tomaron dos muestras de cremas, se identificó y cuantificó su contenido de parabenos por duplicado.

G Análisis Estadístico

Mediante estadística descriptiva, se calculó la concentración de ésteres del ácido p-hidroxibenzoico, en forma de porcentajes y se comparó con los rangos recomendados por la literatura consultada.

V. MARCO OPERATIVO

A Recabación y Tratamiento de datos

Se muestrearon 10 laboratorios nacionales fabricantes de cosméticos escogidos aleatoriamente de una población total de (45) cuarenta y cinco, de los cuales se analizaron por duplicado dos muestras de cada uno, identificando y cuantificando su contenido de parabenos.

B Recursos

- a. Recursos humanos: 2 personas
- b. Recursos materiales:
- c. Reactivos: piridina, cloruro de sodio, benzofenona, sulfato de sodio anhidro, metilparaben, arena, propilparaben ácido clorídrico, hidróxido de sodio, butilparaben, helio o nitrógeno, trimetilsilil acetamida, cloroformo, eterétilico.
todos grado analítico

Cristalería, general de laboratorio.

VI. RESULTADOS

Por medio del análisis cromatográfico realizado se encontró que los tiempos de retención para el metilparaben, benzofenona, propilparaben y butilparaben fueron 5.0, 9.0, 10.0, 17.5 minutos, respectivamente.

Se encontró que 90% de la totalidad de los laboratorios nacionales usan en su formulación, como preservante, ésteres del ácido p-hidroxibenzoico; 38% de las muestras analizadas utilizan únicamente metilparaben, el restante 62% contenía la asociación metil-propilparaben. El etilparaben y butilparaben no fueron encontrados en alguna de las muestras.

Un 70% de las muestras analizadas mostraron concentraciones totales de preservante adecuadas para ejercer una acción antimicrobiana, entre 0.5-0.1%. (NAPP CHEMICALS)

T.1. TIEMPOS DE RETENCION Y PARABENOS ENCONTRADOS.

PARABENO	TIEMPO minutos
METILPARABEN	5.5
PROPILPARABEN	11.4
BUTILPARABEN	17.5
BENZOFENONA	9.1

T.2. CONCENTRACIONES (%) PROMEDIO DE METIL Y PROPIL PARABEN ENCONTRADAS EN LAS CREMAS ANALIZADAS.

Laboratorio muestra []metilparaben []propilparaben []total

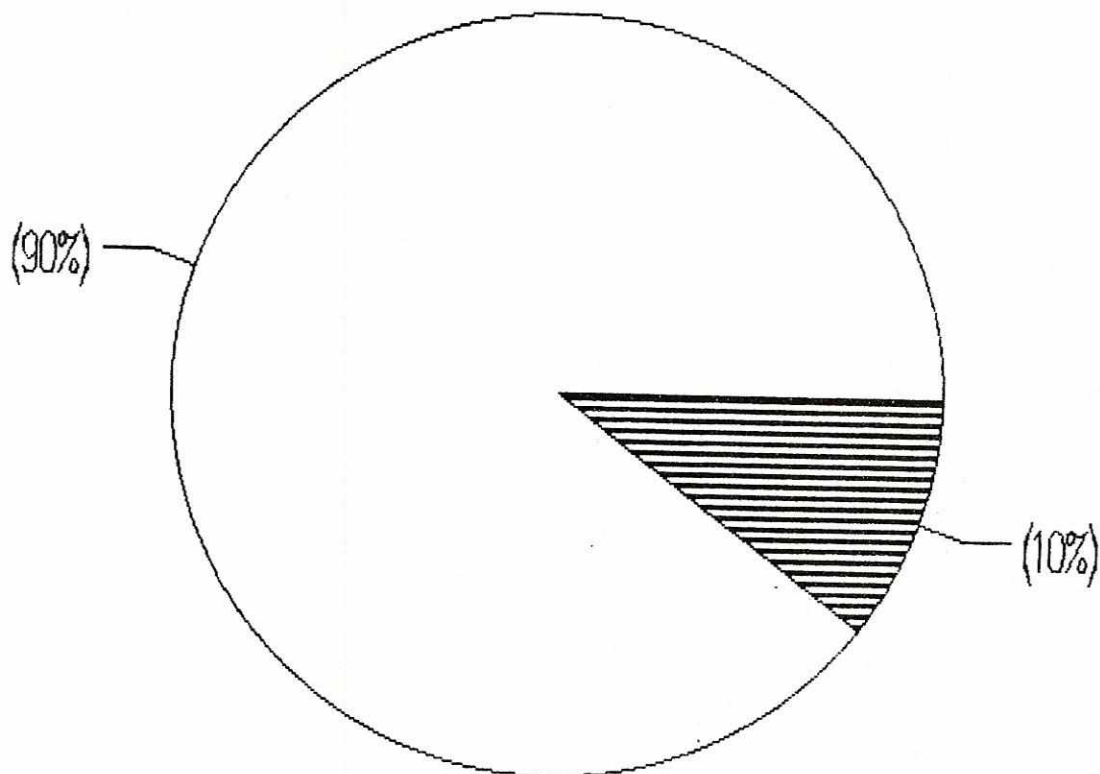
Laboratorio	muestra	[]metilparaben	[]propilparaben	[]total
1	1	0.351	0.009	0.360
	2	0.316	0.014	0.330
2	1	0.098	0.044	0.142
	2	0.187	NC	0.187
3	1	0.557	NC	0.557
	2	0.397	NC	0.397
4	1	0.104	0.025	0.129
	2	0.176	0.030	0.206
5	1	0.064	0.033	0.097
	2	0.038	0.032	0.070
6	1	0.074	NC	0.074
	2	1.131	0.032	1.163
7	1	0.198	0.022	0.220
	2	0.223	0.017	0.240
8	1	0.463	NC	0.463
	2	0.383	NC	0.383
9	1	0.114	0.018	0.132
	2	0.047	NC	0.047
10	1	NC	NC	
	2	NC	NC	

**NC: NO CONTIENE

[]: concentración

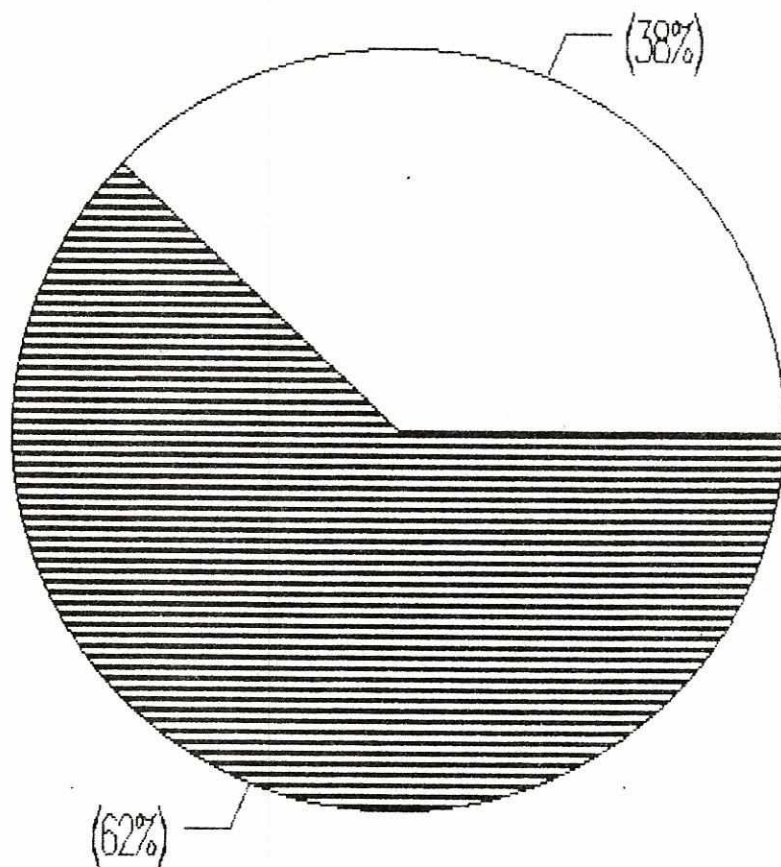
GRAFICA 1.

Porcentaje de muestras que utilizan parabenos como preservantes 90%.



GRAFICA 2.

Porcentaje de muestras que utilizan metilparaben como único preservante (38%) y muestras que utilizan una combinación de metil-propilparaben como preservante (62%)



VII. DISCUSION DE RESUTADOS

El análisis cromatográfico mostró resultados cuali- y cuantitativos, en los cuales se nota la preferencia de la industria cosmética nacional por utilizar ésteres del ácido p-hidroxi benzoico como preservantes en sus cremas. El 90% de las muestras de los laboratorios analizados contenían metilparaben o una combinación de metil-propilparaben. De las cremas que contenían parabenos como preservantes un 62% contenía una combinación metil-propilparaben y el restante 38% contenía únicamente metilparaben. Que la mayoría de cremas analizadas contengan la combinación de metil-propilparaben demuestra que la industria nacional, en su mayoría, está consciente y aplica la característica aditiva y sinérgica de la combinación de parabenos para asegurar una acción antimicrobiana. Debe recordarse que el uso de un preservante solo o combinación de éstos depende de factores de formulación, aplicación y razón económica, por lo que la utilización de un solo preservante no es totalmente errónea, si este consigue una estabilidad microbiológica adecuada para el tipo de preparado.

El 70% de las cremas analizadas reportan concentraciones (0.1% o mayor) totales de preservante adecuadas para ejercer una acción antimicrobiana sobre algún microorganismo. Que un 10% de las muestras no contuvieran parabenos como preservante, no implica que no estuvieran preservadas, pueden contener otro tipo de preservante que sea más adecuado para esa determinada

formulación.

El hecho de que no exista un criterio determinado para el uso de parabenos en cremas como preservantes hace difícil concluir cuando éstos se utilizan adedcuadamente o indiscriminadamente. Al notar las concentraciones recomendadas para diferentes tipos de cremas se observa un rango bastante amplio (0.15-1.0%). Lo mismo sucede al analizar las concentraciones necesarias para ejercer acción contra diferentes microorganismos (max de 0.4%). En ambos casos, el 70% de las muestras analizadas presentan concentraciones adecuadas dentro los recomendados para ejercer una acción antimicrobiana. Este hecho, a su vez, denota la necesidad de evaluar la estabilidad microbiológica del preparado, la cual, junto a compatibilidad con los ingredientes de la formulación, aspectos fisiológicos y económicos determinará que sistema y qué concentraciones de un sistema preservante es el más adecuado.

El hecho que no se encontrara butil paraben en las cremas analizadas, puede deberse al hecho de que su incorporación a la emulsión es más difícil, o que su actividad sea similar a la del propilparaben.

Del análisis estadístico descriptivo puede hacerse una observación interesante, las desviaciones estándar y medias (anexo 1) para algunas muestras de los laboratorios analizados, en especial el laboratorios 6, muestra valores y desviaciones muy grandes, (0.185, 2.078%, \bar{x} : 1.131%, desvia-

cion estándar: 0.946). Esto puede indicar un problema en la incorporación del preservante a la emulsión. El proceso de incorporación para lograr concentraciones homogéneas involucra aspectos, tanto de solubilidad como de tiempo de agitación para un tamaño de lote determinado, por lo que ambos factores deberán evaluarse y validarse adecuadamente para evitar aglomeraciones y garantizar una concentración homogénea en todo el lote, más en el caso de una emulsión en la cual dos componentes inmiscibles se dispersan uno en otro.

VIII. CONCLUSIONES

- A. Los parabenos son los preservantes más utilizados por la industria cosmética nacional. Del total de los laboratorios nacionales fabricantes de cosméticos analizados, el 90% utilizan ésteres de ácido p-hidroxi benzoico como preservantes en sus cremas.
- B. De las muestras analizadas que contuvieron parabenos como preservantes, el 62% utilizaba una combinación de metil-propilparaben y el restante 32% utilizaba únicamente metilparaben.
- C. El sistema de parabenos más utilizado es el metil-propil paraben.
- D. Ningún laboratorio incluye en su formulación butil paraben.
- E. Tomando los rangos de concentración recomendados para diferentes tipos de cremas y microorganismos, se puede afirmar que un 70% de las muestras analizadas contienen concentraciones adecuadas de parabenos para ejercer una acción antimicrobiana.

IX. RECOMEDACIONES

- A. Se recomienda que el sistema preservante para una crema cosmética esté determinado por pruebas de estabilidad microbiológica, compatibilidad de ingredientes de la formulación, aspectos fisiológicos y económicos, sin desestimar ninguno de ellos.
- B. Llevar a cabo un control de calidad microbiológico y cuantitativo en los preparados que así lo ameriten.
- C. Validar, al igual que en la industria farmacéutica, todos los procesos que involucra la manufactura de un preparado.
- D. Aplicar las buenas practicas de manufactura tan esctricamente como se hace en la industria farmacéutica.

X. BIBLIOGRAFIA

1. Seymour S, Block. Desinfection, Sterilization and Preservation. 3ra edición. Lear & Febiger. 1983.
2. Ellenhor Matthew y D, Barceloux. Medical Toxicology, Diagnosis and Treatment of Human Poisoning. Elsevier Sciences Publishing Co. Inc. 1988.
3. Doull, Laassen y Amdur. Toxicology. The basic Science of Poisons. 2da edición. Macmillan Publishing Co. Inc. 1980.
4. Remington's Pharmaceutical Sciences. 16 edición. Mack Publishing Company. 1985.
5. Bevan, Jonh. Fundamentos de Farmacología. 2da edición. Editorial Harla. México. 1982
6. Goodman and Gilman. THE PHARMACOLOGICAL BASIS OF THERAPEUTICS. 8th edition. Pergamon Press. New York. 1985.
7. Active Ingredientes and Additives for Cosmetics. Merck.
8. Cosmetics. Science and Technology. vol 3. 2da edición. Wiley Interscience Publication. 1974.
9. The United States Pharmacopoea & National Formulary. 22 edición. United States Pharmacopoea Convention.
10. CROMATOGRAFIA EN LA QUIMICA FARMACEUTICA, MANUAL PRACTICO. Merck.
11. Muñoz Javier. EVALUACION DE LA EFICACIA DE PRESERVANTES QUIMICOS UTILIZADOS EN LOCIONES PARA MANOS ELABORADAS EN GUATEMALA. Universidad de San Carlos de Guatemala. 1990.
12. Martínez María. IDENTIFICACION Y CUANTIFICACION DE PRESERVANTES ANTIMICROBIANOS METIL, PROPIL Y BUTILPARABEN EN JARABES MANUFACTURADOS POR LA INDUSTRIA FARMACEUTICA NACIONAL. Universidad de San Carlos de Guatemala. 1991.

13. PARABENS, PRESEVATIVES FOR: COSMETICS, PHARMACEUTICAL & FOOD. Napp Chemicals.
14. Manzel, H. & Chemie, W. SILATING AGENTS AND SILIS PROTECTION. Pharmaceutical Manufacturing International. Sterling Publications Limited.
1989.
15. Mewberger, H. Sylvan. A MANUAL OF COSMETIC ANALYSIS.
1962.

INDICE DE APENDICES

RESULTADOS Y ANALISIS ESTADISTICO DESCRIPTIVO	42
CROMATOGRAMAS.....	45

APENDICE 1.
ANALISIS ESTADISTICO DESCRIPTIVO.

I.1. RESULTADOS ENCONTRADOS PARA METILPARABEN DE LAS MUESTRAS ANALIZADAS

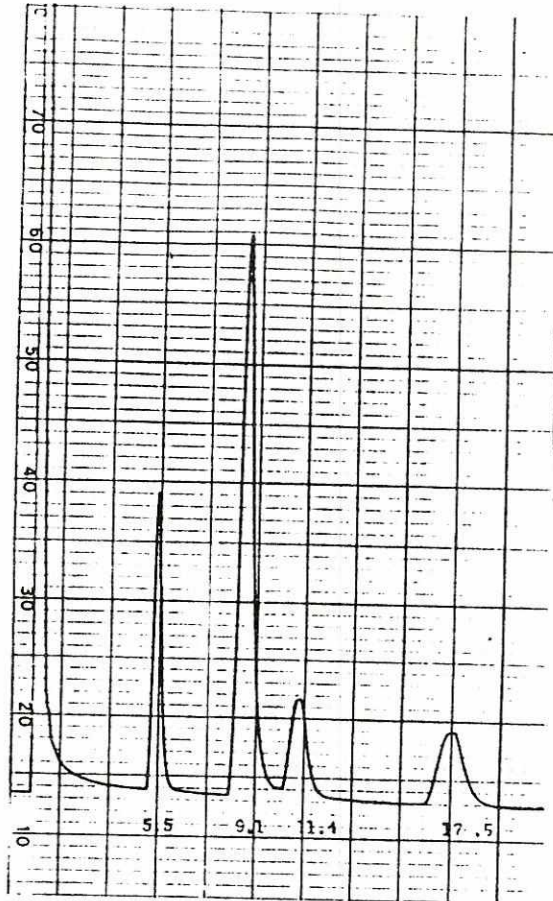
Laboratorio	muestra	concentracion ug/mL	concentracion %	media	desviacion standard
1	1	3363.268 3656.535	0.336 0.365	0.351	0.01466
	2	3154.765 3175.064	0.315 0.317		
2	1	993.573 974.680	0.099 0.097	0.098	0.00094
	2	1844.348 1905.062	0.184 0.190		
3	1	5726.079 5417.424	0.572 0.541	0.557	0.01543
	2	3910.181 4032.796	0.391 0.40		
4	1	1052.588 1021.781	0.105 0.102	0.104	0.00154
	2	1777.966 1740.331	0.177 0.174		
5	1	627.980 649.709	0.062 0.064	0.064	0.00108
	2	370.158 388.584	0.037 0.038		
6	1	728.846 758.612	0.072 0.075	0.074	0.00148
	2	1849.198 20778.20	0.184 2.07		
7	1	2002.284 1973.276	0.200 0.197	0.198	0.00145
	2	2034.531 2433.793	0.203 0.243		
8	1	4697.891 4559.999	0.469 0.456	0.463	0.00689
	2	3785.320 3874.370	0.378 0.387		
9	1	1077.322 1207.019	0.107 0.120	0.114	0.00648
	2	364.061 565.859	0.036 0.056		
10	1	no contiene no contiene			
	2	no contiene no contiene			

T.1. RESULTADOS ENCONTRADOS PARA PROPILPARABEN DE LAS MUESTRAS ANALIZADAS

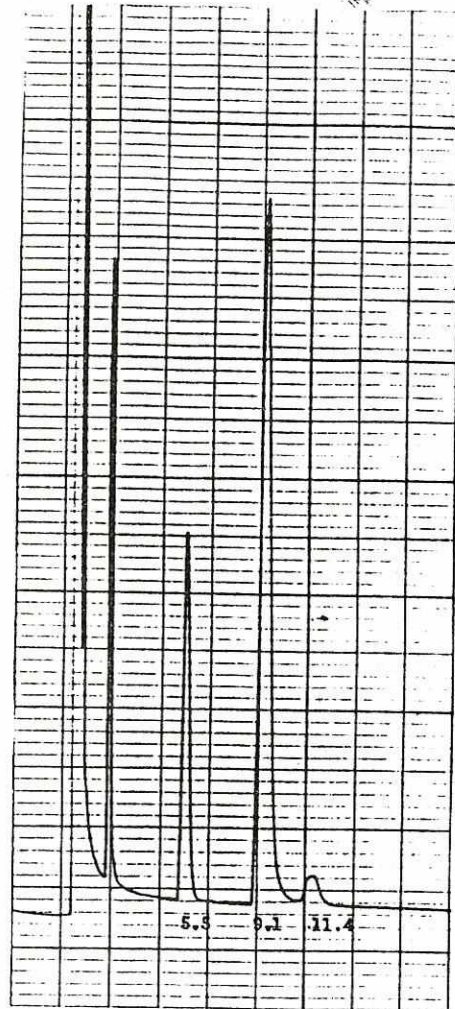
Laboratorio	muestra	concentracion ug/mL	concentracion %	media	desviacion standard
1	1	91.911 102.562	0.009 0.010	0.009	0.0005
	2	137.403 152.233	0.014 0.015		
2	1	396.679 484.258	0.039 0.048	0.044	0.0043
	2	NO CONTIENE NO CONTIENE			
3	1	NO CONTIENE NO CONTIENE			
	2	NO CONTIENE NO CONTIENE			
4	1	281.776 228.871	0.028 0.023	0.025	0.0026
	2	294.067 302.612	0.029 0.030		
5	1	349.618 305.612	0.034 0.031	0.033	0.0022
	2	344.642 285.729	0.034 0.029		
6	1	NO CONTIENE			
	2	177.011 199.375	0.029 0.034	0.032	0.0029
7	1	238.755 249.076	0.024 0.025	0.022	0.0032
	2	180.446 163.079	0.018 0.016		
8	1	NO CONTIENE			
	2	NO CONTIENE			
9	1	177.955 184.718	0.018 0.018	0.018	0.0003
	2	NO CONTIENE			
10	1	NO CONTIENE			
	2	NO CONTIENE			

APENDICE 2.
CROMATOGRAMAS.

ESTANDARDS:

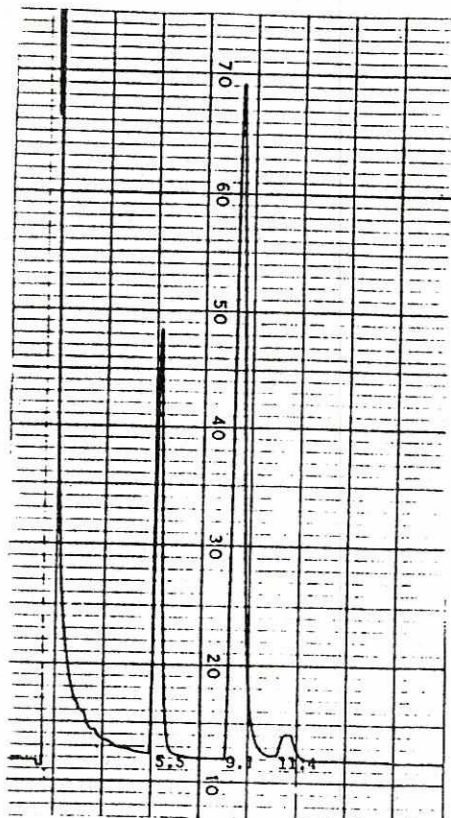


MUESTRA 6.1

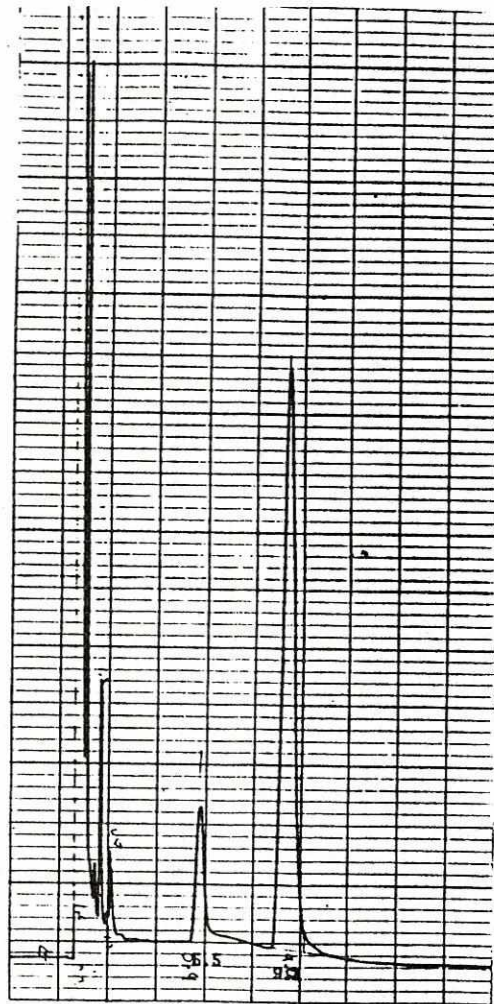


METILPARABEN: 5.5 min
PROPILPARABEN: 11.4 min
BENZOFENONA : 9.5 min
BUTILPARACEN : 17.5 min

MUESTRA 4.1

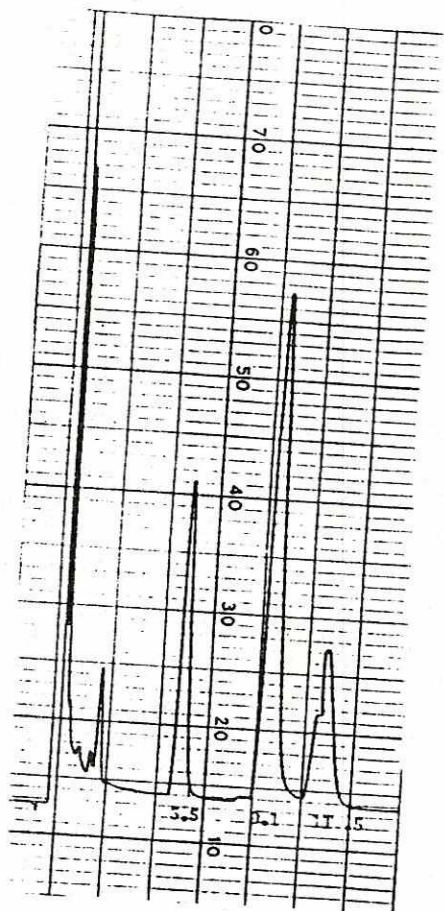


MUESTRA 2.2



METILPARABEN: 5.5 min
PROPILPARABEN: 11.4 min
BENZOFENONA : 9.5 min
BUTILPARABEN : 17.5 min

MUESTRA 8.1



METILPARABEN: 5.5 min
PROPILPARABEN: 11.4 min
BENZOFENONA : 9.5 min
BUTILPARABEN : 17.5 min

MUESTRA 3.2

