



Desarrollo de un tinte cosmético a base de semilla de *Bixa orellana* L. (Bixaceae) y evaluación de su efecto *in vitro*

Development of a cosmetic dye based on the seed of *Bixa orellana* L. (Bixaceae) and evaluation of its *in vitro* effect

Carmen I. Ayala-Jara^{1,*}; Ericson F. Castillo-Saavedra¹; Katterine Y. Alfaro-Avalos¹; Eva del Pilar Aspiros-Freyre¹; Luis E. Seclén-Ayala²

¹ Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad Nacional de Trujillo, Av. Juan Pablo II s/n. Ciudad Universitaria, Trujillo, Peru.

² Facultad de Medicina, Universidad Nacional de Trujillo, Av. Roma 338, Trujillo, Peru.

Received October 31, 2017. Accepted March 11 2018.

Resumen

El estudio tuvo como finalidad desarrollar un tinte cosmético natural a base de semilla de *Bixa orellana* L. (Bixaceae) y evaluar su efecto *in vitro*. Para el desarrollo del tinte cosmético de la semilla de *Bixa orellana* L. se consideraron dos concentraciones del colorante obtenido (5% y 10%); luego, se realizaron estudios de compatibilidad de las materias primas con el colorante en estudio. El producto elaborado fue envasado y etiquetado, se realizaron controles de calidad organolépticos y fisicoquímicos, así como también, se determinó el tiempo de vida útil de la formulación a través de los estudios de estabilidad acelerada y de largo plazo. Finalmente, se determinó el efecto *in vitro* del tinte cosmético mediante su aplicación en mechones de cabello. El tinte cosmético elaborado a base de la semilla de *Bixa orellana* L. al 10% cumple con los parámetros organolépticos y fisicoquímicos, y se mantiene estable por dieciocho meses. El efecto *in vitro* evidenció que los mechones de cabello presentaron brillo y calidad cosmética, permanencia de tono tras los lavados y transferencia del tinte al tejido.

Palabras clave: *Bixa orellana* L.; tinte cosmético natural; formulación; producto natural.

Abstract

The purpose of the study was to develop a natural cosmetic dye based on *Bixa orellana* L. seed (Bixaceae) and to evaluate its effect *in vitro*. For the development of the cosmetic dye of the seed of *Bixa orellana* L. two concentrations of the dye obtained were considered (5% and 10%); then, compatibility studies of the raw materials were carried out with the dye under study. The product was packaged and labeled, organoleptic and physicochemical quality controls were carried out, as well as the shelf life of the formulation was determined through the accelerated and long-term stability studies. Finally, the *in vitro* effect of the cosmetic dye was determined by its application in hair strands. The cosmetic dye made from the seed of *Bixa orellana* L. at 10% complies with the organoleptic and physicochemical parameters, and remains stable for eighteen months. The *in vitro* effect showed that the hair strands showed shine and cosmetic quality, permanence of tone after washing and transfer of the dye to the tissue.

Keywords: *Bixa orellana* L.; natural cosmetic dye; formulation; natural product.

1. Introducción

A través del tiempo, millones de personas todos los días utilizan productos de cuidado personal que son utilizados de

manera externa, y que muy raramente sus componentes penetran en la piel, presentando efecto sistémico (Nohynek *et al.*, 2010).

* Corresponding author
E-mail: ayalajara27@hotmail.com (C. Ayala-Jara)

En este sentido, el hombre ha dado gran importancia al color, incluyéndolo en casi todas sus creaciones a lo largo de la historia y atribuyéndole un carácter místico y mágico (León et al.; 2015).

La utilización de tintes de cabello se remonta desde hace 4000 años atrás (Bellatin et al., 2014). Es así, que millones de consumidores usan tintes de cabello, que satisfacen las crecientes necesidades de las formulaciones para el cuidado del cabello, sin considerar que en muchos de ellos se ha detectado efectos cancerígenos y dañinos en la piel (Gevrenova, 2010).

El efecto de una tintura para el cabello depende de dos circunstancias esenciales: la primera, la elección adecuada de los ingredientes y de una mezcla acertada, a fin de que su aplicación sea lo más sencilla posible y sus efectos los más seguros, y la segunda, la aplicación eficaz de la tintura por un profesional cosmetólogo (Arroyave y Gómez, 2006).

En este sentido, el conocimiento que se adquiera sobre los colorantes vegetales se entenderá como intuición, intuición o experiencia del ser, o también como un proceso intelectual, abstracto, que pone de manifiesto el ejercicio de la razón, producto de la relación directa del sujeto con el medio natural (Shahare et al., 2014; Yusuf et al., 2017).

El cabello por naturaleza es poroso, propiedad que aumenta cuando es sometido al colorante. Cuando se aplica un producto para el teñido, éste empieza a absorberse, mientras esto sucede, el agente desarrollador está oxidando la tintura para producir el color final del cabello. Hay algunos aspectos que limitan esta absorción, entre ellos se encuentran: el diámetro de las fibras del cabello y el diámetro molecular de la sustancia tinturante. Los cabellos ondulados, lo mismo que los decolorados son más porosos y esta porosidad influye en el efecto final del teñido (Arroyave y Gómez, 2006).

El uso de plantas medicinales como tratamiento alternativo en ciertas patologías, así como con fines cosméticos se remonta a más de cinco milenios en civilizaciones primitivas de China e India, pero es sin duda un arte tan antiguo como la humanidad. Es así, que los colorantes extraídos de especies vegetales eran utilizados en la textilería y en la preparación de alimentos, y posteriormente con el transcurrir del tiempo se utilizaron para mejorar la estética de las personas (Gokhale et al., 2004; Singh, 2014).

Bixa orellana L. denominado comúnmente achiote, pertenece a la familia Bixaceae, se cultiva comúnmente en la India, y fue ampliamente utilizada para la obtención de colorantes naturales que tenían aplicación en alimentos, pinturas corporales y artesanía; por lo que es una planta de gran potencial económico, que se está posicionando en el mercado de los colorantes naturales, con un fuerte incremento de la demanda en los países desarrollados, puesto que es utilizado por diferentes industrias como la textil, cosmética, de alimentos y farmacéutica. El menor costo de producción y la baja toxicidad, hacen que el pigmento sea muy atractivo y conveniente en sustitución a los muchos colorantes sintéticos. Al respecto, el costo de un tinte cosmético sintético es alrededor de los 10 dólares, mientras que el costo de un tinte cosmético natural es de 3 dólares, sin considerar que este costo puede disminuir si el producto es manufacturado a gran escala (Gupta, 2016; Quiñones y Yunda, 2014; Rodrigues et al., 2007; Singh, 2014).

La semilla de *Bixa orellana* L., tiene un pigmento denominado anato el cual es extraído principalmente de la cubierta exterior resinosa de las semillas de la planta y está compuesto por los pigmentos carotenoides bixina (cis-bixina), norbixina, algunos terpenoides, tocotrienoles, arenos y flavonoides (incluyendo luteolina y apigenina); además contiene 14,35% de proteínas y 25,6% de fibra bruta, tiene un alto contenido de fósforo y un bajo contenido de calcio. La composición química obtenida en el pigmento de la semilla reveló 86,81% de materia seca, 94,77% de materia orgánica, 5,23% de cenizas, 52,87% de nitrógeno (Chengaiyah et al., 2010; Giridhar et al., 2014; Giuliano et al., 2003; Gupta, 2016; Kapoor et al., 2008; Shahare et al., 2014).

El anato no es genotóxico ni cancerígeno en la concentración más alta (1000 ppm), por lo tanto, se puede utilizar ampliamente como un colorante alimentario. El colorante obtenido de la pulpa de la semilla de *Bixa orellana* denominado bixina se utiliza en todo el mundo como un colorante rojo-anaranjado para colorear algunos derivados lácteos, cárnicos, grasas, helados, cosméticos, condimentos, cerámica, pintura, tintes, jabones, esmaltes, barnices, lacas, teñido de sedas y telas de algodón y en la medicina y la industria farmacéutica (Arroyave y Gómez, 2006; Devia y Saldarriaga, 2003; Gupta, 2016; Islam et al., 2016).

La bixina es un apocaroteno altamente insaturado que se encuentra en la cubierta exterior del fruto, representa más del 80% de los pigmentos presentes y es utilizado en la formulación de formas farmacéuticas sólidas, en alimentos y también como cosmeceúticos. La bixina es una sustancia cristalina con dobles enlaces conjugados que actúan como cromóforos y le confiere el color rojo oscuro característico, soluble en alcohol, aceites y grasas e insoluble en agua. También se encuentran pequeñas cantidades de isobixina y norbixina; ésta última, de color amarillo y soluble en agua e insoluble en grasas, también es un colorante con valor comercial. La composición de los extractos obtenidos varía según el método utilizado, debido a que la bixina se isomeriza con el calor aumentando el contenido de isobixina y se hidroliza en medio alcalino dando lugar a la norbixina. Por lo tanto, el método que se utilice para extraer el colorante de las semillas influenciará en la calidad del producto final (Biltencourt *et al.*, 2005; Devia y Saldarriaga, 2003; Giridhar *et al.*, 2014; Gupta, 2016; Islam *et al.*, 2010; Kapoor *et al.*, 2008; Pérez y Cuen, 2003).

Existen diversos estudios enfocados en la obtención del colorante de semillas de *Bixa orellana* L. (Devia y Saldarriaga, 2013; Gevrenova, 2010; Giridhar *et al.*, 2014; Giuliano *et al.*, 2013; Islam *et al.*, 2016), pero no se evidencian estudios sobre formulaciones en tinción capilar, lo cual hace que el estudio sea innovador, generando que la cosmética y en concreto el campo de los tintes de cabello estén en constante desarrollo, para ofrecer productos que protejan al cabello, teniendo en cuenta aspectos que preocupan a los consumidores, como son la calidad, la ausencia de toxicidad y la protección del medioambiente. Por lo expuesto se planteó desarrollar un tinte cosmético natural con calidad farmacéutica a base de semilla de *Bixa orellana* L. (Bixaceae), y mediante la aplicación en mechones de cabello virgen evaluar su efecto *in vitro*.

2. Materiales y métodos

Material

Se utilizaron 200 g de semillas de *Bixa orellana* L. obtenidas de la provincia de Trujillo, Región La Libertad que fueron acondicionados a una temperatura de -5 ± 3 °C, después se procedió a hacer la selección del material vegetal, los frutos que no tuvieran daño en la cáscara, con madurez adecuada, buena textura, tamaño uniforme y frescos. Se descartaron los

frutos maduros, verdes o con algún daño; esta limpieza permitió desechar totalmente cualquier sustancia extraña. Los frutos seleccionados se procedieron a lavar cuidadosamente bajo chorro de agua potable, luego fueron lavados con agua destilada, y se secó mediante escurrido. Posteriormente, se procedió a extraer las semillas de cada uno de los frutos seleccionados (Arroyave y Gómez, 2006; Tenesaca, 2012)

Se adquirieron 10 mechones de cabello virgen de 10 cm de longitud, seleccionando los cabellos homogéneos, que presentaban una apariencia atractiva, libre de defectos; garantizando una aplicación precisa.

Método

Obtención del colorante

Se realizó mediante el método de álcali acuoso (Giridhar *et al.*, 2014; Kapoor *et al.*, 2008), para lo cual se utilizaron 200 g de semillas divididas en cuatro porciones y se consideraron las siguientes variables: relación cantidad de semilla-volumen de solvente y concentración de solvente, se le colocó en un vaso, se agregaron 100 mL de KOH al 2% y se dejó reposar por 12 horas, se precipitó el colorante a pH 2-2,5 con H₂SO₄ al 10% p/v. Se filtró al vacío y la masa de colorante se secó en estufa. Se trituró y se pesó el colorante en polvo. A las semillas resultantes se le agregó 100 mL de KOH al 2% p/v, se agitó y luego se lavó con KOH. Se secaron las semillas al sol y finalmente se pesó. La mayor eficiencia del proceso consideró las siguientes variables: relación cantidad de semilla/volumen de solvente de 1:3, concentración de solvente de 2% de KOH, tiempo de agitación de 60 minutos, y temperatura de 58 °C.

Diseño y elaboración de la formulación

Se prepararon dos formulaciones al 5% (5g de colorante mas 95 g de excipientes) y 10% (10 g de colorante mas 10 g de excipiente).

La formulación estuvo constituida de 6% de peróxido de hidrógeno, empleando como compuesto alcalinizante el amoniaco, con lo que se alcanzó un pH final de 9-10,5, lo que favoreció la completa penetración a través de la corteza capilar (Arroyave y Gómez, 2006; Giridhar *et al.*, 2014; Selvi *et al.*, 2013).

Se procedió a evaluar la compatibilidad de cada una de las materias primas con el colorante respectivo, obteniendo un producto estable y homogéneo (Arroyave y Gómez, 2006).

Para la preparación del área de trabajo y equipos se consideró la asepsia y el manejo de las Buenas Prácticas de Manufactura

según la Decisión 516 dada por la Comunidad Andina de Naciones ([Guía de Estabilidad de Productos Cosméticos, 2005](#); [Ministerio de Salud y Protección Social, 2015](#)).

Respecto al pesaje de los compuestos, se procedió a pesar cada componente del producto de acuerdo con la formulación.

La solución base se preparó adicionando agua destilada a los ingredientes de la formulación.

El material del envase que se utilizó para la crema colorante es un tubo de aluminio, que tiene una barrera de protección del 100% (protegidos del contacto con el aire, la luz y la humedad). Protege el producto envasado durante largos períodos de uso intermitente, posee la propiedad de no recuperar su forma, impidiendo la oxidación del producto. Las lacas sanitarias aplicadas internamente a los tubos permiten la utilización de este envase para productos de alta alcalinidad o acidez, y con la finalidad de verificar el perfecto cierre del envase se constató manualmente que la tapa rosca encaje de forma adecuada con el tubo de aluminio ([Guía de Estabilidad de Productos Cosméticos, 2005](#)).

Posteriormente se realizó el etiquetado del envase primario que debe contener el nombre del principio activo, descripción, ingredientes, preparación, fecha de elaboración y expiración, contraindicaciones, advertencia y notificación sanitaria obligatoria.

Ensayos de estabilidad del producto

El ensayo de estabilidad acelerada consistió en distribuir el tinte cosmético en 3 muestras a 5 °C y 3 muestras a 40 °C. De manera paralela, se colocaron 3 muestras en un refrigerador de laboratorio/para muestras BL°CKICE y 3 muestras en estufa marca MEMMERT, ambas con control de termómetro, luego de 24 horas se procedió a realizar el primer control, posteriormente se realizó durante 10 días ([Arroyave y Gómez, 2006](#); [Selvi et al., 2013](#)).

El ensayo de estabilidad a largo plazo o de estantería consistió en colocar 3 muestras en anaquel, que se evaluaron de la siguiente manera: 7, 14, 21, 28 días, luego a los 2, 3, 6, 12 y 18 meses posteriores a la elaboración del tinte cosmético ([Sangareswari et al., 2015](#); [Selvi et al., 2013](#)).

Control de calidad del producto

El control organoléptico consistió en observar cada 2 días diferencias notables en el color, olor, sensación al tacto y aspecto que indiquen cualquier tipo de alteración valorable, respecto a un tinte

capilar 77/44 rojo amapola de KOLESTINT WELLA utilizada como una formulación de referencia ([Giridhar et al., 2014](#); [Tenesaca, 2012](#)).

El control fisicoquímico consistió en medir el valor del pH mediante pHmetro marca METROHM serie 691 pH Meter, siendo un factor importante en las formulaciones para el cabello; además, en la formulación del tinte, fue primordial porque el grado de acidez o basicidad afectó notablemente la acción del producto ([Arroyave y Gómez, 2006](#); [Giridhar et al., 2014](#); [Selvi et al., 2013](#)).

Para la determinación de la densidad por el método de picnometría, se pesó el picnómetro de vidrio vacío de 100 cm³ marca BLAUBRAND®, luego se añadió agua destilada hasta el enrase y se pesó; se realizó el mismo procedimiento con la muestra en estudio. Al peso obtenido del picnómetro con agua se le restó el peso del picnómetro vacío, así se obtuvo el peso del agua; luego al peso del picnómetro con la muestra se le restó el peso del agua y se obtuvo el peso de la muestra. La prueba de sensibilidad se basó en aplicar sobre piel sana la formulación en estudio y luego de 10 minutos se observó el efecto ([Guía de Estabilidad de Productos Cosméticos, 2005](#); [Kapoor et al., 2008](#); [Ministerio de Salud y Protección Social, 2015](#)).

Los controles de calidad de la formulación en estudio fueron realizados de acuerdo a los tiempos establecidos en los estudios de estabilidad acelerada y a largo plazo ([Giridhar et al., 2014](#); [Sangareswari et al., 2015](#); [Selvi et al., 2013](#)).

Evaluación de su efecto *in vitro*

Los mechones de cabello vírgenes obtenidos de donantes voluntarios, de 10 cm de largo se procedieron a lavar y secar, luego se pasó a la decoloración.

La decoloración se llevó a cabo en mechones vírgenes dejando 1 mechón para aplicar el colorante y 1 mechón como blanco. Este proceso se hizo por duplicado. Para la decoloración se utilizó polvo decolorante en una relación 1: 2 con oxigenta volumen 40

La tintura cosmética se preparó mezclando en un recipiente de plástico la crema colorante (5% y 10%) con la emulsión reveladora y se procedió a la aplicación. Luego de teñir el cabello, se dejó actuar 40 minutos, se procedió a lavar, secar y evaluar el efecto deseado ([Arroyave y Gómez, 2006](#); [Selvi et al., 2013](#)).

El efecto se evaluó mediante tres métodos tomados de [Selvi et al. \(2013\)](#) y [Tenesaca \(2012\)](#). La permanencia de tono tras lava-

das consistió en lavar los mechones con un champú base elaborado de laurilsulfato de sodio, cloruro de sodio, polietilenglicol, trietanolamina y metilparabeno hasta completar 20 ciclos de lavado. Para conocer el comportamiento del tinte se realizaron evaluaciones a los lavados 10, 15 y 20.

El brillo y calidad cosmética consistió en evaluar el cambio de tono, simultáneamente se valoró qué tan sedoso y brillante se conserva el cabello.

La transferencia del tinte al tejido se evaluó la cantidad que pudo manchar la toalla con la que se secas el cabello después de teñirlo.

La evaluación del efecto *in vitro* fue realizada de acuerdo a los tiempos establecidos en los estudios de estabilidad acelerada y a largo plazo.

3. Resultados y discusión

En la [Tabla 1](#) se muestran los resultados de la determinación de las características organolépticas. Se evidenció un olor agradable, el olor de la muestra es un punto de referencia importante ya que es un primer indicio de la calidad del producto y además una de las partes fundamentales de la aceptación del producto al consumidor ([Patil y Datar, 2016](#)). De la misma forma se observó que los componentes utilizados en la formulación proporcionaron al cabello un buen aspecto.

Las características organolépticas determinan los parámetros de aceptación del producto por el consumidor, permiten evaluar inmediatamente el estado en que se encuentra la muestra en estudio por medio de análisis comparativos, con el objetivo de verificar alteraciones como separación de fases, precipitación y turbiedad permitiendo el reconocimiento primario del producto ([León et al., 2015](#)).

El aspecto del cabello juega un papel significativo en la imagen corporal. Dado que se puede cambiar con relativa facilidad sin necesidad de recurrir a procedimientos quirúrgicos, los cosméticos y técnicas con dicho fin se usan desde tiempo inmemorial. La industria cosmética ha conseguido productos eficientes que actúan sobre el cabello tanto en estado de salud como para mejorar enfermedades del pelo y cuero cabelludo concomitantes, por eso, los tintes que se encuentran en el mercado son ahora menos agresivos, mantienen saludable el cabello, dan mayor duración del color, ofrecen una amplia gama de colores y han desarrollado nuevas técnicas para facilitar su aplicación ([Guerra y González, 2014](#); [Ministerio de Salud y Protección Social, 2015](#)).

La formación de color ocurre sobre la mezcla e implica reacciones complejas en presencia de un agente oxidante. La reacción se produce en un medio alcalino que promueve la apertura de las cutículas que permite la penetración de las moléculas de los colorantes en la corteza. El agente oxidante permite el comienzo de la reacción que ocurre en la corteza y da lugar a un complejo coloreado con la alta masa molar, que evita la salida de las moléculas formadas en el cabello. Parte de la reacción también ocurre en las cutículas y moléculas que se eliminan en los primeros lavados. El hidróxido de amoníaco y las etanolaminas son los agentes más alcalinizantes utilizados, una mezcla de tensioactivos y disolventes son utilizados para dispersar las moléculas de colorante y asegurar la humectación del cabello. Asimismo, se añade una pequeña cantidad de agente reductor para evitar la auto-oxidación de los colorantes durante el almacenamiento del producto acabado, que puede formularse como emulsión, gel, solución y polvo ([Arroyave y Gomez, 2006](#); [Guerra y González, 2014](#)).

Las reacciones implicadas en la formación de colorantes permanentes son de tipo redox y requieren cuatro componentes: la amina aromática con sustituciones en las posiciones orto o para (hidroxi o amino) que representan las bases de acoplamiento; los modificadores de reacción; un compuesto alcalinizante; y un agente oxidante ([Aparecida et al., 2015](#)).

Varios parámetros pueden afectar la formación de color en el proceso de teñido del cabello, tales como pH, tiempo de pausa, queratina del cabello y pureza de la molécula de colorante, entre otros ([Arroyave y Gomez, 2006](#); [Guerra y González, 2014](#)).

Los valores de pH de la crema colorante, obtuvieron un promedio de 9,8 y desviación estándar de 0,05; esto debido a que cuando se realiza un tinte permanente, se utilizan productos alcalinos (pH 8 - 12) que abren las células planas de la cutícula del cabello, para que penetren mejor. Una vez terminado el proceso, se finaliza con productos ácidos que realizan el efecto contrario: cierran las cutículas, permitiendo conservar el producto por más tiempo. Los surfactantes tienen pH elevados en sus soluciones, es necesario disminuir el pH a rangos menos agresivos para la piel humana, el rango óptimo va desde pH 5,0 hasta 7,0. Para esto, se utilizan ácidos orgánicos débiles como cítrico y láctico que generan soluciones tampón con el exceso de álcali de los surfactantes. El

regulador de pH más usado es el ácido cítrico por su eficiencia y precio. El ácido láctico también es de uso frecuente sobre todo cuando se requiere de jabones muy suaves; en este caso los costos suben a favor de un mejor producto (Hilgert, 2012).

El pH influye directamente en la velocidad de reacción porque un pH más alcalino favorece la reacción y facilita la apertura de la cutícula, permitiendo la penetración de moléculas en la corteza. El tiempo de pausa es esencial para una reacción completa entre las bases y los modificadores de reacción. De acuerdo con las directrices del fabricante, el producto debe estar en contacto con el cabello de 30 a 45 minutos después de la aplicación, ya que es posible garantizar la reproducción del color. En el lavado, la eliminación del producto en un tiempo más corto puede detener la reacción antes de que esté completa, creando una variación en el color final (Aparecida et al., 2015).

Muchos procesos químicos (coloraciones, cambios de forma permanentes, alisados, decoloraciones, etc.) alteran significativamente el pH del cabello ya que se usan productos que tienen un pH determinado para lograr los efectos que se buscan (Parra, 2004; Hilgert, 2012; Selvi et al., 2013).

El control del pH es esencial para la estabilidad del color. Una base débil como la monoetanolamina debe ser añadida para alcanzar un pH de 9,0, y después se usa un ácido débil tal como solución cítrica al 10% para reducir el pH hasta 6,0. De esta manera, un sistema de amortiguación que asegure el mantenimiento del pH del producto acabado durante la vida de estantería (Aparecida et al., 2015).

El valor de la densidad de la crema colorante fue 0,6; y representa la relación entre la masa de una sustancia y el volumen que ocupa. Este valor de densidad

se debe a la función que cumple la carboximetilcelulosa que actúa como espesante, agente de suspensión y estabilizador de suspensiones; por lo tanto, se relaciona con la consistencia del producto y serviría como punto de referencia para una buena o mala aceptación por los usuarios (Mora, 2013).

En la **Tabla 2** se observan los resultados obtenidos de la evaluación del efecto *in vitro* respecto a sensibilidad, estabilidad y pruebas de desempeño. Los resultados evidenciaron una excelente sensibilidad, e indicaría que puede ser aplicada sin ocasionar riesgo alguno, y por tanto que el potencial consumidor no presente reacción adversa a esta formulación (Guerra y González, 2014; Fernández y Armarico, 2004; Parra, 2004).

El estudio de la estabilidad de productos cosméticos proporciona información sobre el grado de degradación en función del tiempo, y en este sentido, indicaría el grado de estabilidad relativa de un producto en las variadas condiciones, a las que pueda estar sujeto desde su fabricación hasta su expiración. Esta estabilidad es relativa, pues varía con el tiempo y en función de factores que aceleran o retardan alteraciones en los parámetros del producto. Es así, que modificaciones dentro de límites establecidos, no representaría una causal para reprobación del producto (Guía de Estabilidad de Productos Cosméticos, 2005; Ministerio de Salud y Protección Social, 2015). La crema colorante presentó una excelente estabilidad durante los 20 días que se realizó la evaluación, ya que no presentó separación de los componentes, aparición de gotas de agua o sedimentos, cambio de color; por tanto, no fue necesario realizar una reformulación (Guía de Estabilidad de Productos Cosméticos, 2005).

Tabla 1

Características organolépticas, valores de pH y densidad de la crema colorante de *Bixa orellana* L.

Día	pH	Características organolépticas				Densidad (Método del picnómetro)
		Color	Olor	Sensación al tacto	Aspecto	
0	9,75	Acaramelado	Característico	Suave	Homogéneo	0,6
1	9,82	Acaramelado	Característico	Suave	Homogéneo	0,6
7	9,78	Acaramelado	Característico	Suave	Homogéneo	0,6
14	9,74	Acaramelado	Característico	Suave	Homogéneo	0,6
21	9,76	Acaramelado	Característico	Suave	Homogéneo	0,6
28	9,79	Acaramelado	Característico	Suave	Homogéneo	0,6
60	9,84	Acaramelado	Característico	Suave	Homogéneo	0,6
90	9,87	Acaramelado	Característico	Suave	Homogéneo	0,6
180	9,88	Acaramelado	Característico	Suave	Homogéneo	0,6
360	9,85	Acaramelado	Característico	Suave	Homogéneo	0,6
540	9,73	Acaramelado	Característico	Suave	Homogéneo	0,6
Promedio	9,80					0,6
Desviación estándar	0,05					0,0

Tabla 2Evaluación del efecto *in vitro* en formulaciones de tinte cosmético de *Bixa orellana* L. (Bixaceae) al 5% y 10%

Estabilidad acelerada								
Días	Prueba de sensibilidad		Pruebas de desempeño					
			Brillo y calidad cosmética		Permanencia del tono con los lavados		Transferencia del tinte al tejido	
	5%	10%	5%	10%	5%	10%	5%	10%
1	+++	+++	+++	+++	++	+++	+++	+++
2	+++	+++	+++	+++	++	+++	++	+++
3	+++	+++	+++	+++	++	+++	++	+++
4	+++	+++	+++	+++	++	+++	++	+++
5	+++	+++	+++	+++	++	+++	++	+++
6	+++	+++	++	+++	++	+++	++	+++
7	+++	+++	++	+++	+	+++	+	+++
8	+++	+++	++	+++	+	++	+	+++
9	+++	+++	+	++	+	++	+	++
10	+++	+++	+	++	+	++	+	++
Estabilidad a largo plazo								
Días	Prueba de sensibilidad		Pruebas de desempeño					
			Brillo y calidad cosmética		Permanencia del tono con los lavados		Transferencia del tinte al tejido	
	5%	10%	5%	10%	5%	10%	5%	10%
1	+++	+++	+++	+++	++	+++	++	+++
7	+++	+++	+++	+++	++	+++	++	+++
14	+++	+++	+++	+++	++	+++	++	+++
21	+++	+++	+++	+++	++	+++	++	+++
28	+++	+++	+++	+++	++	+++	++	+++
60	+++	+++	+++	+++	++	+++	++	+++
90	+++	+++	+++	+++	++	+++	++	+++
180	+++	+++	++	+++	++	+++	+	+++
360	+++	+++	+	++	+	+++	+	++
540	+++	+++	+	++	+	+++	-	++

Leyenda: Excelente: +++; Bueno: ++; Regular: +; Malo: -

El resultado del aspecto de los mechones, en cuanto a brillo y calidad cosmética, tuvo una valoración de excelente; y estaría relacionado a la presencia de polyquaternium 7, quien según la literatura le brinda sedosidad, suavidad y lubricación al cabello húmedo y seco. Es un polímero cuaternizado, cargado catiónicamente, con excelente compatibilidad con surfactantes aniónicos (Arroyave y Gómez, 2006).

La formulación a base del tinte de *Bixa orellana* L. permitió la difusión de la molécula de colorante a la fibra interna del cabello, e implicaría la permeación de las moléculas en regiones intercuticulares, pasando por regiones no queratinizadas de endocuticulación y cemento intracelular. En etapas posteriores, migra a regiones queratinizadas y, finalmente, alcanza las microfibrillas, antes de incorporarse a la matriz (Aparecida et al., 2015).

En la estabilidad a largo plazo se observó que el color de la formulación en estudio se evaluó durante 540 días, el color marrón rojizo oscuro de la formulación mostró considerable estabilidad a 25 y 40 ° C. La dispersabilidad se consideró buena para las formulaciones almacenadas a temperatura ambiente, mostraban uniformidad sobre la aplicación, sin fragmentación o deformación. Por otro lado, en la estabilidad acelerada se observó que la formulación presentaba una consistencia

suave, sin esparcibilidad y distorsión (Patil y Datar, 2016).

Los criterios de estabilidad acelerada y a largo plazo consideran las zonas climáticas donde se desarrolla la formulación, caracterizadas por la distribución de elementos climáticos conforme a la latitud. El Perú se encuentra en la zona IVa, las condiciones para estabilidad acelerada son temperatura $40^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ y humedad relativa de $75\% \pm 5\%$ y para los estudios de estabilidad a largo plazo son temperatura $30^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ y humedad relativa $65\% \pm 5\%$ (International Conference on Harmonization of technical requirements for the registration of pharmaceutical for human use, 2003; Organización Mundial de la Salud, 2007).

La formulación en estudio estuvo expuesta a los procesos degradativos extrínsecos e intrínsecos. Los factores extrínsecos consideran el tiempo de exposición, temperatura, luz, oxígeno, humedad, material de acondicionamiento, microorganismos, vibración, etc., y de factores intrínsecos relacionados a la propia naturaleza de las formulaciones, y sobre todo a la interacción de sus ingredientes entre sí y/o con el material de acondicionamiento, pueden existir incompatibilidades de naturaleza física o química que pueden, o no ser visualizadas por el consumidor, así como también la composición del vehículo, pH, aditivos químicos, tamaño de partícula,

fuerza iónica de la solución, el envase primario y la unión molecular (ICH, 2003; Patil y Datar, 2016).

Finalmente, se determinó la vida útil de la formulación de un tinte natural a base de las semillas de *Bixa orellana* en su envase original y en condiciones de almacenamiento especificadas, presentando evidencia documentada respecto a las características fisicoquímicas, y su variación en el tiempo bajo la influencia de factores ambientales, tales como: temperatura, humedad y luz; y por tanto, definir las condiciones de almacenamiento adecuadas para establecer el periodo de caducidad de la formulación. Es por ello, que este tipo de estudios revisten especial importancia en el control de calidad de los medicamentos y fitomedicamentos.

4. Conclusiones

Se desarrolló un tinte cosmético natural a base de semillas de *Bixa orellana* L. que cumplió con las especificación cosméticas del producto referente a características organolépticas de color, olor, sensación al tacto y aspecto; se mantuvo constante el pH y la densidad, y fue estable hasta los 540 días, evaluado mediante ensayos de sensibilidad y de desempeño en pruebas aceleradas y a largo plazo. El efecto *in vitro* se evaluó en mechones de cabello virgen, siendo la crema colorante con concentración de 10% más efectiva, respecto a la permanencia del tono tras las lavadas y una mejor transferencia del tinte al tejido. Se sugiere realizar ensayos pilotos para validar métodos analíticos de cuantificación y manufactura del colorante, además ensayos clínicos para evaluar la eficacia y seguridad de la formulación, y posteriormente su producción a gran escala, para brindar a la población un tinte cosmético de *Bixa orellana* L. seguro, eficaz y con calidad cosmética.

Referencias Bibliográficas

Aparecida, S.; Ferrera, M.; Brigatto, V.; Rolim, A.; Robles, M. 2015. Types of Hair Dye and Their Mechanisms of Action. *Cosmetics* 2(1): 110-26.

Arroyave, M.; Gómez, P. 2006. Elaboración de un producto con base en colorantes naturales para teñir el cabello. Tesis. Universidad Eafit, Colombia.

Bellatín, L.; Herrera, O.; Navarro, A.; Sun-Kou, R.; Llanos, B. 2014. Estudio de la biosorción de Rojo ácido 18, Azul básico 99 y Amarillo básico 57, presentes en los tintes de cabellos, con residuos de hojas de té verde. *Revista Sociedad Química Perú* 80(1): 9-23.

Biltencourt, C.; Felicissimo, M.; Pireaux, J.; Houssiau, L. 2005. Characterization of thermal modifications of bixin from *Bixa orellana* fruit. *J Agric Food Chem* 53(16): 6195-6200.

Chengaiha, B.; Mallikarjuna, K.; Mahesh, K.; Alagusundaram, M.; Madhusudhana, C. 2010. Medicinal

importance of natural dyes review. *Int. J. Pharm Tech Res.* 2(1): 541-558.

Devia, J.; Saldarriaga, L. 2003. Planta Piloto para obtener colorante de la semilla del achiote (*Bixa orellana* L.). *EAFIT* 39(131): 8-22.

Fernández, J.; Armarico, J. 2004. Sensibilización por contacto a parafenilendiamina. *Experiencia de 10 años. Med Cutan Iber Lat Am.* 32(1): 19-22.

Gevrenova, R. 2010. Determination of natural colorants in plant extracts by high-performance liquid chromatography. *J. Serb. Chem. Soc.* 75(7): 903-915.

Giridhar, P.; Venugopalan, A.; Parimalan, R. 2014. A Review on Annatto Dye Extraction, Analysis and Processing: A Food Technology Perspective. *J. of Scientific Research & Reports* 3(2): 327-348.

Giuliano, G.; Rosati, C.; Bramley, P. 2003. To dye or not to dye: biochemistry of annatto unveiled. *Trends Biotechnol.* 21(12): 513-516.

Gokhale, S.; Tatiya, A.; Bakliwal, R.; Fursule, A. 2004. Natural dye yielding plants in India. *Natural Product Radiance* 3(4): 227-235.

Guerra, A.; González, E. 2014. Cosméticos capilares: tintes. *Actas Dermosifiliogr* 105(9): 833-839.

Guía de Estabilidad de Productos Cosméticos. 2005. *Cosméticos. Serie de Calidad en Cosméticos.* Brasilia, Brasil: Agencia Nacional de Vigilancia Sanitaria (ANVISA).

Gupta, P. 2016. *Bixa orellana*: A Review on its Phytochemistry, Traditional and Pharmacological uses. *World J Pharm Sci* 4(3): 500-10.

Hilgert, E. 2012. *Formulación y manufactura de productos para la higiene personal y cosmética.* Tesis. Pontificia Universidad católica del Perú.

ICH - International Conference on Harmonization of technical requirements for the registration of pharmaceutical for human use. 2003. *Stability testing of new drug substances and products. ICH-Q1A (R2).* Disponible en: <http://www.fda.gov/downloads/drugs/guidancecomplianceregulatoryinformation/guidances/ucm073369.pdf>

Islam, A.; Islam A.; Sarken, M.; Alam, A. Kumer, S.; Parvin, H.; Mainul, M. 2010. Preparation of Edible Grade Dye and Pigments from Natural Sources *Bixa orellana* Linn. *International Journal of Basic & Applied Sciences* 10(4): 7-15.

Islam, S.; Rather, L.; Mohammad, F. 2016. Phytochemistry, biological activities and potential of annatto in natural colorant production for industrial applications – A review. *Journal of Advanced Research* 7(1): 499-514.

Kapoor, V.; Katiyar, K.; Pushpangadan, P.; Singh, N. 2008. Development of natural dye based sindoor. *Natural Product Radiance* 7(1): 22-9.

León, M.; Surumay, Y.; Marquina, G.; Arias, D. 2015. Desarrollo de un producto cosmético utilizando un pigmento natural extraído de la fruta *Syzygium cumini* (L) Skeels. (PESJUA). *Revista de la Facultad de Ingeniería U.C.V.* 30(1): 131-136.

Ministerio de Salud y Protección Social. 2015. *Manual de Cosméticos: Recomendación y uso correcto de tinturas para el cabello.* Bogotá, Colombia: Instituto Nacional de Vigilancia de Medicamentos y Alimentos (INVIMA).

Mora, F. 2013. Efecto de la concentración de carboximetilcelulosa, goma guar y goma xantana sobre la sinéresis, características reológicas y consistencia sensorial de salsa de alcachofa (*Cynara scolymus* L.) variedad imperial star. Tesis. Universidad Particular Antenor Orrego, Perú.

Nohynek, G.; Antignac, E.; Re, T. 2010. Safety assessment of personal care products/cosmetics and their ingredients. *Toxicology and Applied Pharmacology* 243(1): 239-259.

Organización Mundial de la Salud. 2007. *Comité de expertos de OMS en especificaciones para preparaciones farmacéuticas.* Reporte 43°. Ginebra. Disponible en: <http://apps.who.int/medicinedocs/en/d/jh1790s/26.html>

- Parra, V. 2004. Estudio comparativo en el uso de colorantes naturales y sintéticos en alimentos, desde el punto de vista funcional y toxicológico. Tesis. Universidad Austral de Chile, Chile.
- Patil, N.; Datar, A. 2016. Applications of natural dye from *Ixora coccinea* L. in the field of textiles and cosmetics. *Colora. Technol.* 132: 98–103.
- Pérez, S.; Cuen, M. 2003. El achiote. *Biodiversitas* 46(1): 7-11.
- Quiñones, X.; Yunda; C. 2014. El Achiote *Bixa orellana* L. como posible alternativa productiva para el departamento del Meta. *Rev Sist Prod Agroecol.* 5(1): 142-171.
- Rodrigues, S.; Soares, V.; De Oliveira, T.; Gesteira, A.; Otoni, W.; Costa, M. 2007. Isolation and purification of RNA from tissues rich in polyphenols, polysaccharides, and pigments of annatto (*Bixa orellana* L.). *Mol Biotechnol* 37(3): 220-224.
- Sangareswari, U.; Kannappan, R. 2015. Assessment of dyeing properties and quality parameters of natural dye from *Lawsonia inermis*. *Euro. J. Exp. Bio.* 5(7): 62-70.
- Selvi, A.; Aravindhan, R.; Madhan, B.; Raghava, J. 2013. Studies on the application of natural dye extract from *Bixa orellana* seeds for dyeing and finishing of leather. *Industrial Crops and Products* 43(1): 84–86.
- Shahare, V; Kothari, P.; Kharabe, P.; Mugdiya, N.; Gedam, S. 2014. An overview to some natural colouring agents used in pharmaceutical formulations. *World Journal of Pharmaceutical Research* 3(3): 3904-3916.
- Singh, R. 2014. Antibacterial activity of the ethanolic leaves extract of *Bixa orellana*. *World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences* 3(9): 389-394.
- Tenesaca, S. 2012. Elaboración de cosméticos decorativos a partir de frutos verdes de *Genipa americana* L. Tesis. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Ecuador.
- Yusuf, M.; Shabbir, M.; Mohammad, F. 2017. Natural Colorants: Historical, Processing and Sustainable Prospects. *Nat. Prod. Bioprospect.* 7(1): 123–145.