



Evaluación del efecto del Romero (*Salvia rosmarinus L.*) y el Tomillo (*Thymus vulgaris L.*) como conservantes en la producción de un fitocosmético a base de Achiote (*Bixa orellana L.*)

Autores

Laura Gisell Ricardo Sogamoso

Luz Ángela Collazos Mosquera

Docente

Natalia Andrea Romero Dávila

Evaluación del efecto del Romero (*Salvia rosmarinus L.*) y el Tomillo (*Thymus vulgaris L.*) como conservantes en la producción de un fitocosmético a base de Achiote (*Bixa orellana L.*)

Autores

Laura Gisell Ricardo Sogamoso

Luz Ángela Collazos Mosquera

Trabajo de grado como requisito para optar el título de

Ingeniero Agroecólogo

Asesor

Natalia Andrea Romero Dávila

Grupo de investigación

Semillero de investigación Agrosistemas Sostenibles de la Orinoquía Colombiana (ASOC)

Ingeniería Agroecológica

Unidad de Ciencias Agropecuarias

Corporación Universitaria Minuto De Dios

Dedicatoria

El presente trabajo de grado lo dedico especialmente a Dios, por ser quien me inspiró y me dio fuerzas para continuar en este largo proceso y finalmente poder culminarlo, lo que significa poder cumplir con una de las metas más significativas para mi vida. A mis padres, Abercio Collazos Rojas y Luz Alba Mosquera, por su amor, su apoyo incondicional, su trabajo y sacrificio durante el transcurso de estos años de formación profesional; por enseñarme a continuar sin importar las adversidades, siempre afrontar todo con la mejor actitud, por haberme forjado para ser quien soy hoy en día; gracias a ustedes he logrado llegar hasta aquí y convertirme en profesional en Ingeniería Agroecológica. Ha sido un privilegio y orgullo para mí, ser su hija, son los mejores padres que pueda imaginar y desear. A mis hermanos Marco Collazos y Daniela Collazos por estar siempre presentes, acompañándome, guiándome con el ejemplo y por el apoyo moral, que me brindaron a lo largo de esta etapa de mi vida y en general a toda mi familia que estuvo siempre pendiente de mi formación profesional, brindado su apoyo para alcanzar mis objetivos, convertirme en una profesional integra. (Luz Ángela Collazos Mosquera)

Dedico este trabajo de grado principalmente a Dios, por guiarme durante toda mi carrera, por darme la sabiduría, entendimiento y fortaleza para culminar mis estudios de la mejor manera, por permitirme lograr uno de los tantos propósitos que tengo en mi vida. A mi mamá Elvira Sogamoso, mi papá James Ricardo, mis hermanos Dayhana Ricardo y James Ricardo, mi tío Diego Sogamoso, mi abuelita Cecilia Leal y mi ángel en el cielo (mi abuelito Fernando Sogamoso), este título de Ingeniera Agroecóloga es para ustedes, gracias por su apoyo incondicional en cada momento de mi vida, por su amor desbordante, por confiar en mí y por ser el pilar de mi vida, mi motivación para salir adelante; mi amor hacia ustedes es infinito. (Laura Gisell Ricardo Sogamoso)

A las personas que nos han apoyado durante todo este proceso, que confiaron en nuestras capacidades y buenos resultados, gracias por hacer de éste un excelente trabajo de grado, por compartirnos su tiempo y conocimiento para lograr este resultado.

Agradecimientos

A la docente Natalia Romero, nuestra directora de tesis, por guiarnos en este proyecto con sus consejos y correcciones, por compartir con nosotras su conocimiento, por el tiempo dedicado para desarrollar un excelente trabajo de grado, gracias por confiar en nosotras y enseñarnos a ser mejores profesionales.

A la docente Martha Velasco y su esposo Carlos Hernández por su tiempo y dedicación en pruebas de laboratorio para identificar correctamente los microorganismos obtenidos, por sus consejos para mejorar los procesos y así obtener mejores resultados.

A nuestros compañeros de décimo semestre de Ingeniería Agroecológica por acompañarnos y ser testigos de todo este proceso, por su amistad y apoyo en distintas circunstancias, es un verdadero honor haber compartido con ustedes cinco años de carrera profesional.

A los docentes que en algún momento de la carrera apoyaron nuestro proceso con sus conocimientos y a la Corporación Universitaria Minuto de Dios por disponer los espacios para desarrollar los procesos en campo.

Contenido

Lista de anexos	9
Resumen	10
Abstract	11
Introducción	12
1 Objetivos	14
1.1 Objetivo general	14
1.2 Objetivos específicos	14
2 Planteamiento del problema.....	15
2.1 Definición del problema.....	15
2.2 Pregunta de investigación	16
4 Justificación	17
5 Marco teórico	19
5.1 Marco conceptual	19
5.1.1 Generalidades de los cosméticos.....	19
5.1.2 Achiote (Bixa orellana L.).....	25
5.1.3 Romero (Salvia rosmarinus L.) y Tomillo (Thymus vulgaris L.) como conservante natural	27
5.2 Marco legal.....	31
6 Metodología y diseño experimental.....	35
6.1.1 Aspectos climáticos	35
6.1.2 Caracterización de la granja	36

6.2	Metodología	37
6.2.1	<i>Tipo de investigación</i>	40
6.2.2	<i>Enfoque</i>	42
6.2.3	<i>Muestra</i>	43
7	Resultados	44
7.1	Primera fase	44
7.2	Segunda fase	49
7.3	Tercera fase	51
7.4	Análisis estadísticos multifactorial	57
	Diseño Base	57
	El StatAdvisor	58
8	Conclusiones	68
9	Recomendaciones	70
	Referencias	71
	Anexos	77

Lista de figuras

Figura 1. Diagrama de los pasos a seguir para comercializar cosméticos naturales en Colombia.....	33
Figura 2. Ubicación geográfica de la Granja Agroecológica UNIMINUTO.	35
Figura 3. Procedimiento de recolección del Achiote (<i>Bixa orellana</i> L.) y extracción del pigmento.	38
Figura 4. Mezcla del polvo de Achiote (<i>Bixa orellana</i> L.) en distintas concentraciones de los conservantes Romero (<i>Salvia rosmarinus</i> L.) y Tomillo (<i>Thymus vulgaris</i> L.) extraídos por el método de enflorado y arrastre por vapor de agua.	41
Figura 5. Ubicación geográfica de los árboles de Achiote (<i>Bixa orellana</i> L.) en la Granja Agroecológica UNIMINUTO.	44
Figura 7. Ubicación de plantas de Achiote (<i>Bixa orellana</i> L.) en la Granja Agroecológica UNIMINUTO.	45
Figura 6. Ubicación de planta de Achiote en San Martín.	45
Figura 8. Secuencia del proceso de recolección y desinfección de la semilla de Achiote (<i>Bixa orellana</i> L.)...	46
Figura 9. Secuencia del proceso de secado de Romero (<i>Salvia rosmarinus</i> L.) y Tomillo (<i>Thymus vulgaris</i> L.) para la extracción de aceites por método de arrastre de vapor y enflorado.	50
Figura 10. Número de muestras contaminadas por cada tratamiento.	52
Figura 11. Purificación e identificación de microorganismos tipo hongos presentes en las muestras.	54
Figura 12. <i>Penicilium</i> sp.	55
Figura 13. <i>Aspergillus</i> sp.	55
Figura 14. <i>Glomerella</i> sp. fase sexual de <i>Colletotrichum</i> sp.	56
Figura 15. <i>Geotrichum</i> sp.	56

Lista de graficas

Grafica 1. <i>Contaminación de muestras totales en el tiempo.</i>	53
Grafica 2. <i>Dispersión para contaminación.</i>	65
Grafica 3. <i>Medias y 95,0% intervalos LSD.</i>	66
Grafica 4. <i>Interacciones</i>	67

Lista de anexos

<i>Anexo 1. Análisis de suelo Granja Agroecológica UNIMINUTO.</i>	<i>77</i>
<i>Anexo 2. Valores estadísticos.</i>	<i>78</i>

Resumen

Con el fin de mantener la etnobotánica en el uso tradicional de pigmentos naturales, además de contribuir con el medio ambiente y los servicios ecosistémicos, se evaluó la elaboración de fitocosméticos usando como colorante natural la semilla de Achiote (*Bixa orellana L.*) mediante métodos de pulverización y tamizaje hasta obtener un polvo fino después de haber sido sometida a procesos de desinfección con agua destilada, hipoclorito de sodio al 5% y jabón ecológico al 5%; como conservantes cosméticos de origen vegetal, los extractos de Romero (*Salvia rosmarinus L.*) y Tomillo (*Thymus vulgaris L.*), extraídos a través de los métodos de enflorado y arrastre por vapor de agua. Para tal fin se estableció un diseño experimental multifactorial implementando tres métodos de desinfección de la semilla y dos conservantes (solvente) en concentraciones del 0%, 1%, 3% y 5% para un total de 48 tratamientos con 5 repeticiones obteniendo 240 muestras evaluadas.

Por otro lado, se identificaron microorganismos tipo hongos que no fueron controlados por los conservantes mencionados anteriormente tales como *Aspergillus sp.*, *Penicillium sp.*, *Geotrichum sp.* y *Glomerella spp.* (fase sexual de *Colleotricum sp.*).

Palabras clave: fitocosmético, Achiote (*Bixa orellana L.*), etnobotánica, conservantes naturales, Romero (*Salvia rosmarinus L.*), Tomillo (*Thymus vulgaris L.*), bixina.

Abstract

In order to maintain ethnobotany in the traditional use of natural pigments, in addition to contributing to the environment and ecosystem services, we evaluated the development of phytocosmetics using Achiote seed (*Bixa orellana* L.) by means of pulverization and sieving methods until a fine powder was obtained after being subjected to disinfection processes with distilled water, 5% sodium hypochlorite and 5% ecological soap; as cosmetic preservatives of vegetable origin, the extracts of Rosemary (*Salvia rosmarinus* L.) and Thyme (*Thymus vulgaris* L.), extracted through the methods of enfleurage and steam dragging. For this purpose, a multifactorial experimental design was established, implementing three methods of seed disinfection and two preservatives (solvent) in concentrations of 0%, 1%, 3% and 5% for a total of 48 treatments with 5 replicates, obtaining 240 evaluated samples.

On the other hand, fungal microorganisms were identified that were not controlled by the preservatives mentioned above, such as *Aspergillus* sp., *Penicillium* sp., *Geotrichum* sp. and *Glomerella* sp. (sexual phase of *Colleotricum* sp.).

Keywords: phytocosmetic, Achiote (*Bixa orellana* L.), ethnobotany, natural preservatives, Rosemary (*Salvia rosmarinus* L.), Thyme (*Thymus vulgaris* L.), bixin.

Introducción

A través del tiempo, la industria de los cosméticos ha tenido grandes cambios desde la forma de su elaboración hasta los ingredientes que son utilizados para su producción dependiendo de la función para la cual estén diseñados; es precisamente en la selección de los insumos, donde muchas empresas han fijado su mirada buscando suplir el creciente interés del mercado por lo natural, enfocándose en desarrollar productos elaborados a base de materias primas de origen vegetal, dándole no solo un valor agregado a los productos cosméticos sino también, aportando a la consciencia ambiental que en los últimos años ha tomado gran relevancia dentro de la comunidad en general. No sólo lo natural, lo orgánico o lo considerado sano dentro de los procesos que se lleven a cabo para la elaboración de dichos cosméticos es lo que los caracteriza, asimismo es el cuidado con la piel lo que llama la atención de los consumidores, quienes al identificar que estos cosméticos no provocarán afectaciones por la presencia de ingredientes sintéticos, aumentan la preferencia de su consumo en el mercado; los cosméticos elaborados a base de ingredientes naturales generan seguridad, bienestar, salud y armonía en su uso cotidiano.

Es así como este trabajo de investigación pretende evaluar distintos métodos de lavado de la semilla y extracción de aceites usados como solventes con el fin de determinar la capacidad que pueden llegar a tener los conservantes naturales Romero (*Salvia rosmarinus L.*) y Tomillo (*Thymus vulgaris L.*) sobre una base de polvo de Achiote (*Bixa orellana L.*), para evaluar la eficacia y eficiencia en el proceso de conservación que estos tienen en una formulación cosmética y adicionalmente identificar la posible presencia de microorganismos tipo hongos que no pueden ser controlados por estos conservantes mencionados.

Este proyecto se fundamenta en la línea tres de investigación de la Corporación Universitaria Minuto de Dios que está asociada con los objetivos de desarrollo sostenible y la cual se orienta bajo Innovaciones sociales y productivas para garantizar el futuro de las regiones y los grupos humanos,

teniendo en cuenta la diversidad cultural, étnica y medioambiental; bajo la sublínea de innovación y desarrollo rural que mediante la ingeniería agroecológica busca fortalecer la agricultura familiar, reducción de pobreza, seguridad alimentaria y producción sostenible.

1 Objetivos

1.1 Objetivo general

Evaluar la eficacia del Romero (*Salvia rosmarinus L.*) y Tomillo (*Thymus vulgaris L.*) a través de dos técnicas de extracción y cuatro métodos de desinfección de la semilla de Achiote (*Bixa orellana L.*).

1.2 Objetivos específicos

Implementar tres técnicas de desinfección de la semilla de Achiote (*Bixa orellana L.*) en la obtención de base para el pigmento de fitocosméticos.

Establecer la eficiencia de dos técnicas de extracción, enflorado y arrastre por vapor de agua, para Romero (*Salvia rosmarinus L.*) y Tomillo (*Thymus vulgaris L.*), como agentes conservantes en fitocosméticos.

Identificar la presencia de microorganismos tipo hongos que no son controlados por los extractos vegetales de Romero (*Salvia rosmarinus L.*) y Tomillo (*Thymus vulgaris L.*) utilizados como agentes conservantes en fitocosméticos.

2 Planteamiento del problema

2.1 Definición del problema

En los últimos años se ha venido buscando implementar el uso de plantas para mejorar el cuidado, estética y bienestar de los seres humanos, es por esto que al hablar de cosméticos no se hace referencia únicamente a polvos, bases, rímel, rubores o productos para el rostro, también la palabra cosméticos incluye todos aquellos productos que de alguna manera buscan satisfacer necesidades relacionadas con el cuidado personal, así pues, las cremas, astringentes, geles, desodorantes, entre otros, hacen parte del gran mundo de los cosméticos y por estas razones se justifica rescatar saberes ancestrales que permitan encontrar materias primas las cuales cumplan las expectativas de los consumidores y los productores, supliendo la demanda del mercado tendiente a implementar nuevos métodos aplicables en la cosmética natural.

Los sectores cosmético y farmacéutico han incursionado en la elaboración de sus propios productos con fitoingredientes; la calidad de estos se ha convertido en un punto crítico que se debe considerar para asegurar los efectos benéficos de los productos que los incorporen, sin embargo, existen múltiples estudios que se centran en evaluar la capacidad antimicrobiana, antimicótica y antioxidante de los conservantes naturales buscando garantizar la estabilidad en los procesos de formulación con fines de reemplazar las moléculas sintéticas usadas tradicionalmente por la industria de la cosmetología.

Aunque se han realizado diferentes estudios del uso de la bixina y la norbixina extraídas del Achiote (*Bixa orellana L.*) como pigmento para ser usadas en procesos industriales relacionados con cosmética, culinaria y farmacéutica, adicionalmente también se han realizado estudios sobre la efectividad como conservantes de extractos de las especies vegetales Romero (*Salvia rosmarinus L.*) y Tomillo (*Thymus vulgaris L.*), no se evidencia literatura que haga referencia en el ámbito de la fitocosmética frente a la eficiencia y eficacia de la posible interacción que pueda existir entre el Achiote

(*Bixa orellana L.*) conservado con extractos obtenidos de Romero (*Salvia rosmarinus L.*) o con extractos obtenidos de Tomillo (*Thymus vulgaris L.*).

Con el fin de priorizar el uso de especies nativas para su conservación y su uso en procesos productivos para ser aprovechados como materias primas, productos transformados y procesados, se debe integrar la etnobotánica enfocada en plantas que presenten potencial para la generación de productos promisorios en los que sean utilizados ingredientes naturales como extractos en forma de aceites esenciales, colorantes y conservantes incorporándolos en los procesos industriales de la cosmetología, buscando con ello impactar de manera positiva en aspectos de gran relevancia como los sociales, ambientales, legales, económicos y tecnológicos.

Se debe tener en cuenta que la obtención de materias primas no es tarea sencilla, debido a que los insumos de origen vegetal tienden a ser costosos y de difícil transformación para ser llevados a condiciones que faciliten su incorporación en los procesos productivos de formulación y elaboración de fitocosméticos.

2.2 Pregunta de investigación

¿Los extractos obtenidos a partir de *Salvia rosmarinus L.* y *Thymus vulgaris L.* pueden ser usados como conservantes en la elaboración de fitocosméticos a partir del pigmento de *Bixa orellana L.*?

4 Justificación

Según la recopilación histórica realizada por Ferraro, Martino, Bandoni y Nadinic (2012) frente a la fitocosmética, los cuidados cosméticos del hombre datan desde el Paleolítico en donde usaban arcillas y jugos de semillas para adornar sus cuerpos; es así como el cuidado del hombre a partir del conocimiento tradicional utilizando plantas, extractos naturales y aceites esenciales con fines cosméticos transcurre también por épocas del Antiguo Egipto, Babilonios, griegos, romanos, Edad Media, Renacimiento, Romanticismo, siglos XIX y XX dando importancia a la forma en que durante siglos han evolucionado los hábitos de belleza e higiene para el cuidado personal, obtenidos a través de ingredientes naturales y a la fecha el uso sustentable de materia prima vegetal abarca temas de belleza, salud, bienestar y preservación de la diversidad cultural.

Dentro de la industria cosmética, las entidades que elaboran cualquier tipo de cosmético deben asegurar la calidad y eficacia del producto garantizando una vida útil a través de conservantes, para este tema en específico la Comunidad Andina de Naciones en su Resolución 1905 emite que “está prohibido el uso de parabenos en las industrias cosméticas y farmacéuticas”, es así como aquellas empresas que en su momento usaran parabenos como conservantes, deberían cambiar sus formulaciones cosméticas dando mayor relevancia a investigaciones desarrolladas en donde se ha comprobado la eficacia de conservantes naturales que a su vez son más interesantes para el consumidor.

Teniendo en cuenta los principios de la agroecología según Altieri y Toledo (2011): reciclaje de nutrientes y energía, sustitución de insumos externos, diversificación de las especies de plantas, y la productividad del sistema agrícola entre otros, han buscado satisfacer la creciente demanda de productos de origen natural, por lo tanto se ve la necesidad de desarrollar esta investigación con el fin de estudiar el posible uso de la semilla de *Bixa orellana* L. como una de las plantas que ha tomado relevancia en la región por su función etnobotánica y su valiosa contribución a los servicios ecosistémicos; el Achiote (*Bixa orellana* L.) también aporta muchas alternativas de uso para el beneficio

del ser humano, es así como en este caso en particular, se busca resaltar su importancia como pigmento natural.

Debido al creciente interés que se viene generando ante las condiciones potenciales del Romero (*Salvia rosmarinus L.*) y Tomillo (*Thymus vulgaris L.*) como agentes conservantes y antioxidantes, se evidenció la necesidad de evaluar su eficacia y eficiencia en el control de la posible presencia de actividad microbiana y micótica dentro de los procesos relacionados con la formulación y elaboración de un fitocosmético.

Este trabajo de grado, busca rescatar la relación que hay entre el uso de las plantas como materia prima vegetal en formulaciones cosméticas mediante la comprobación de la eficacia y eficiencia antimicrobiana y antimicótica en relación con la capacidad conservante que pueden ejercer el Romero (*Salvia rosmarinus L.*) y Tomillo (*Thymus vulgaris L.*) dentro de la elaboración de fitocosméticos utilizando bixina extraída de la planta de Achiote (*Bixa orellana L.*) producida agroecológicamente en la granja de la Corporación Universitaria Minuto de Dios de Villavicencio.

5 Marco teórico

5.1 Marco conceptual

Según Ferraro, Martino, Bandoni y Nadinic (2012), a través de hechos históricos se evidencia la sabiduría que tenían las civilizaciones antiguas utilizando plantas y sus derivados para fines de salud y belleza. Es así como desde el Paleolítico se encuentran rastros del uso de cosméticos para proteger y adornar el cuerpo; también hay registros del uso de plantas, extractos vegetales, arcillas, semillas, perfumes, ungüentos y variedad de materia prima vegetal durante las épocas del Antiguo Egipto, Babilonios, griegos, romanos, Edad Media, Renacimiento, Romanticismo, siglos XIX y XX desarrollando así un rol importante dentro de la cultura tradicional lo cual se relaciona con el bienestar, alimentación y cosmética mediante plantas y frutas exóticas; es por esto que en la actualidad se busca la obtención de materia prima vegetal de una forma sustentable para fines de cosméticos abarcando temas de preservación de la diversidad cultural, salud, bienestar y belleza.

A lo largo de la historia, se ha evidenciado la forma en que los cosméticos (es especial de belleza) han ido tomando más fuerza con el pasar de los tiempos, trascendiendo de un uso tradicional y casero para pasar a convertirse en un producto con un sinfín de variedades y cantidades que suplen las necesidades en un mundo industrial moderno; también se han establecido cambios trascendentales frente a la elaboración de cosméticos que siempre han sido una forma de expresión corporal.

5.1.1 Generalidades de los cosméticos

Para tener una idea más concisa, según la ley del departamento de división de protección de alimentos y medicamentos de Carolina del Norte, se dice que los cosméticos son aquellos productos que se utilizan sobre el cuerpo humano con fines de limpieza, belleza o para alterar apariencia externa sin afectar el funcionamiento o estructura del organismo (Reardon, s.f.).

Otra definición de los cosméticos, dada por el Real Decreto RD1599/1997 de 17 de octubre y citada por Martínez (2012), refiere a los cosméticos como:

“Toda sustancia o preparado destinado a ser puesto en contacto con las diversas partes superficiales del cuerpo humano (epidermis, sistema piloso y capilar, uñas, labios y órganos genitales externos) o con los dientes y las mucosas bucales, con el fin exclusivo y principal de limpiarlos, perfumarlos, modificar su aspecto, y/o corregir los olores corporales, y/o protegerlos o mantenerlos en buen estado”. (p. 5)

Teniendo esto en cuenta, cabe aclarar que no se considerarían cosméticos aquellos que requieran ser ingeridos o inyectados para su posterior efecto. Ahora bien, hablando de algo más específico de los cosméticos, éstos tienen un esquema general de su composición que como lo indica Martínez (2012), se englobarían en tres grandes categorías como son los principios activos, excipientes, aditivos y correctores.

Si bien es cierto, en el mundo de la cosmetología actualmente se evidencia la tendencia de las personas por lo natural, lo verde, lo ecológico, y es que las nuevas generaciones hoy día están tendiendo a ser más conscientes frente a lo que consumen y buscan alternativas para mitigar las afectaciones al medio ambiente, contribuyendo al consumo de productos que sean amigable con el medio ambiente.

En el tema de los cosméticos hay una clasificación general pero que, en cuanto a estándares de calidad y normativas, varían dependiendo del país. Así pues, se puede decir que hay tres grandes grupos dentro de los que se pueden clasificar los cosméticos como son los cosméticos convencionales, cosméticos naturales y cosméticos orgánicos teniendo cada uno diferencias marcadas como lo especifica Vivanco (2016) en su investigación sobre el desarrollo de un sistema-producto cosmético natural para el consumo local en el Ecuador.

Los cosméticos convencionales o también llamados tradicionales son aquellos que se componen principalmente de sustancias químicas que en su gran mayoría son muy perjudiciales para la salud de los seres humanos como también de animales cuando se realizan pruebas en ellos.

(p.17)

Si se analiza el detalle de esta definición, la mayoría de los cosméticos que se adquieren en lugares comerciales, de forma ambulante o incluso en algunas revistas, contienen en su mayoría componentes químicos para su elaboración y esta es otra falencia que muchas veces se tiene como consumidores al no tomarse el tiempo de leer las etiquetas de los productos para estar más seguros de lo que se va a utilizar en el cuerpo.

Otro tipo de cosmético que entra dentro de la clasificación, son los cosméticos naturales que en la actualidad son muy nombrados y es que según Kapsner (2007) hablar de cosmético natural indica que dentro de su composición no hay sustancias químicas y su elaboración más bien se basa en utilizar plantas, frutos, semillas, granos o cualquier parte vegetal de una planta lo que hace que no sean perjudiciales para la salud al trabajar con los principios activos de sus ingredientes.

Para finalizar la clasificación general de los cosméticos, se encuentran los cosméticos orgánicos o ecológicos que se diferencian de los naturales al tener que cumplir con una normativa que relaciona los procesos y productos utilizados en la elaboración del cosmético, es por esto que para que un cosmético sea catalogado orgánico en el mercado deberá cumplir con alrededor de 18 certificaciones de una serie de organismos oficiales que verifiquen y avalen el cumplimiento de la normativa. (Kapsner, 2007)

Según Penning (2012), dentro de las principales ventajas y atracciones que tienen los cosméticos naturales y orgánicos en la industria de los cosméticos, se destaca que su materia prima es obtenida de la naturaleza y en su elaboración no hay presencia de sustancias químicas que puedan provocar alteraciones en la piel, otro dato que no es menos importante es que estos cosméticos no son testeados en animales y al no ser fabricados con productos químicos está contribuyendo al medio ambiente otorgándole así un valor agregado a estos productos.

Otra de las razones para optar por los cosméticos naturales son los beneficios que aportarían a la piel teniendo en cuenta su elaboración como ya se ha mencionado, y es que, según Zaragoza et al., (2016), estudios realizados han demostrado que la incidencia dada por la población ante dermatitis

alérgica de contacto (ADC) a cosméticos representa más de la mitad de los casos referidos a alergias en la piel teniendo dentro de estos los labiales representados en un 3.7%.

Una de las causas por las que se producen afectaciones en la piel al tener contacto con algunos cosméticos, se debe a que los ingredientes que se utilizan son de bajo costo optando así por lo sintético, como los derivados del petróleo, “es por tanto lógico que muchos de los extractos de la industria se realicen en propilenglicol en vez de en glicerina o en glicerina de origen sintético (subproducto del petróleo) cuyo costo es inferior al de la vegetal” (Hernández y Pardo, 2015).

Además de las afectaciones que los cosméticos convencionales producen en la piel, está el factor medio ambiente que también se ve perjudicado con los residuos de estos.

Un estudio realizado por la Universidad de Stanford revela que las sustancias químicas que se añaden a los cosméticos, cremas y cientos de otros productos para el cuidado personal, perjudican al medioambiente. ¿Cómo? Al ducharse, los residuos del jabón, champú, repelente... que se usa van a parar al desagüe, siguen hasta las plantas de tratamiento de aguas residuales municipales y a partir de ahí, pueden entrar en los lagos, ríos, mares y otras fuentes de agua aportando a la contaminación. Así lo explica el ingeniero ambiental Juan Carlos Mideros. (Granda, 2014, p.2)

Ahora bien, dentro de los ingredientes que se emplean al momento elaborar un cosmético, se encuentran los conservantes que juegan un papel fundamental a la hora de mantener la vida útil del producto, éstos se definen como sustancias químicas con actividad antimicrobiana que se incorporan en los cosméticos en muy pequeña concentración (entre un 0,0005 y un 1% de sustancia activa) durante el proceso de fabricación. Su función es la de prevenir a los productos frente a la contaminación microbiana durante la fabricación, almacenaje y uso cotidiano del consumidor, pero nunca deben utilizarse para destruir los microorganismos de productos cosméticos contaminados (Lenaroz, 2002).

A pesar de que la implementación de los conservantes es en pequeñas proporciones, tienen un papel muy importante en el proceso de la elaboración y en el momento que es comprado, pues estos son los que garantizan que el producto va tener una vida útil larga y a su vez con estudios previos se debe garantizar la compatibilidad de éstos con los demás componentes del producto cosmético; por lo que deben contar con las siguientes características a la hora de su selección según Leanroz (2002):

Tener un amplio espectro de actividad antimicrobiana, que no produzca ninguna reacción de sensibilización, que tenga una estructura química conocida, que sea completamente soluble en agua, que permanezca estable en condiciones extremas de pH y temperatura, que sea compatible con todos los ingredientes de la formulación y envasado, que no altere los caracteres organolépticos del cosmético al cual se ha incorporado.

Cabe destacar que los conservantes en un primer momento no van a cumplir con todas las necesidades por lo que se deben tener en cuenta más conservantes que sean compatibles y ayuden a cumplir con lo que se necesita en el producto.

Teniendo en cuenta la información anterior, se ve la viabilidad que tienen los cosméticos naturales siendo una alternativa a los cosméticos convencionales y es en esa instancia donde se ve la oportunidad de optar por la gran biodiversidad como lo indica la Corporación Biointropic (2018) a continuación:

El sector cosmético nacional tiene una estabilidad y madurez suficiente que presenta crecimientos sostenidos a futuro; si a eso le sumamos que Colombia es el segundo país en biodiversidad en el mundo y hace parte de los 17 países megadiversos, existe la posibilidad de incorporar a los cosméticos nacionales obtenidos de la biodiversidad colombiana para obtener productos innovadores.

Como es evidente, Colombia tiene una gran ventaja frente a otros países por su diversidad biológica otorgando una amplia gama de materias primas que se pueden implementar en la elaboración

de los cosméticos naturales, ejemplo de esto son: Achiote (*Bixa orellana L.*), cúrcuma, sábila, extractos de aceites naturales, asai, sachá inchi, caléndula y un sin número de plantas que se dan en suelos llaneros.

Frente al desarrollo de la industria cosmética en Colombia, datos de interés son los aportados por COLCIENCIAS (2013):

Una ventaja de la industria cosmética nacional es el diseño de productos a través de las líneas convencionales, desarrollando una trayectoria no solamente a nivel nacional, sino a nivel internacional. Sin embargo, los mercados internacionales demandan los productos naturales y, en virtud de las ventajas comparativas como la biodiversidad del país y con la intención de acceder a mercados del extranjero, la industria cosmética nacional debería estar en la capacidad de producirlos y llevarlos a esos destinos. (p.15)

En cuanto a los ingredientes naturales en Colombia, cabe decir que, según el acuerdo firmado para mejorar la calidad de los cosméticos, este mercado muestra una madurez al observar los resultados de la industria cosmética en general el cual represente el 4% del PIB industrial de Colombia y como dato relevante, este mercado se encuentra posicionado como el tercer mercado más importante en Latinoamérica (EFE, 2014).

Teniendo en cuenta que la gran cantidad de materia prima que se puede explorar y de la cual se puede hacer un uso eficiente, es que se decide a partir de la fitocosmética implementar determinadas partes vegetales de ciertas plantas para elaborar un fitocosmético o cosmético natural, aclarando como lo indica el Instituto de Medio Ambiente de Chile (2019):

Los productos de fitocosmética son cosméticos elaborados a partir de sustancias vegetales, es decir, derivados de principios activos vegetales que se obtienen de las distintas partes de las plantas como tallos, hojas, frutos, flores y bulbos, los que son seleccionados, purificados y tratados durante delicados procesos de elaboración. (p.2)

5.1.2 *Achiote (Bixa orellana L.)*

Es así que siguiendo esta línea de lo natural y fitocosméticos, se decide trabajar con el Achiote (*Bixa orellana L.*) que será el ingrediente estrella ya que de él se va a obtener la pigmentación natural que es necesaria para el cosmético a elaborar, teniendo en cuenta que “los pigmentos naturales son generados por microorganismos, vegetales, animales o minerales es decir aquellos obtenidos de fuentes presentes en la naturaleza, usados para impartir color a algunos productos” (Molina, 2017, p. 25).

Para conocer un poco más del porqué se ha de implementar esta planta como pigmento, se ve la necesidad conocer algunos datos generales de la planta y por supuesto de la semilla que será el órgano que se utilizará en la formulación cosmética como pigmento. El Achiote (*Bixa orellana L.*) también es conocido como bixa, bija, annato, achote, urucú, u onoto, es originario de América Tropical, se caracteriza por ser una planta arbustiva de porte medio, es de ese tipo de plantas que no es exigente al momento de cultivarla por lo que es común ver que es usada como planta ornamental; su uso tiene inicios desde épocas precolombinas en donde era usado por tribus para proteger sus pieles de picaduras de mosquitos o como pigmento para los alimentos (Arce, 2010).

El principal constituyente colorante de la semilla del Achiote (*Bixa orellana L.*) es la bixina, que se encuentra en la cubierta exterior de la semilla del fruto, representa más del 80% de los pigmentos presentes, lo cual facilita su extracción; los componentes principales de la semilla del Achiote (*Bixa orellana L.*) son: resina, orellina (materia colorante amarilla), bixina (materia colorante roja) (80%), aceite volátil y aceite graso (Devia y Saldarriaga, 2012).

Dentro de los principales patógenos que llegan a afectar el cultivo de achiote, se encuentran los hongos *Oidium bixaeae*, *Collectotrichum gloeosporioides*, *Crinipellis pernicioso*, *Fusarium sp.* y *Cercospora bixae*. Algunos de los signos y síntomas que pueden ocasionar estos patógenos se encuentran el Oídium, desarrolla micelio blanco en las hojas, ramas y frutos jóvenes, provocando defoliación. La muerte

descendente se caracteriza por la pérdida de follaje y secamiento en las ramas jóvenes y cuando la infección es severa puede provocar la muerte de la planta. Por parte de la podredumbre de las cápsulas, se puede decir que es causada por el hongo *Colletotrichum gloeosporioides*, el cual provoca deformación o no desarrollo de las semillas en etapa temprana, además de sus síntomas ser visibles con manchas negras y circulares, también se puede desarrollar micelio blanco en las semillas (Quiñones y Yunda, 2014).

Según el estudio realizado sobre la Etiología de las pudriciones de cápsulas y semillas de achiote, *Bixa orellana L.* en dos regiones de Colombia, desarrollado por Hoyos y Llanos (1983), las pudriciones presentes en variedades de achiote de la Costa Atlántica y Valle del Cauca, son causadas por Micelio estéril verde, *Fusarium* y *Colletotrichum* con mayor incidencia en la semilla de la planta, por otro lado, *Penicillium*, *Aspergillus*, *Micelio estéril claro*, *Cladosporium* y *Alternaria* tuvieron menor presencia en las semillas colectadas.

En el caso de los fitocosméticos a elaborar se trabajará con la bixina que como se mencionó anteriormente, es la materia roja que cubre la semilla del Achiote (*Bixa orellana L.*), es de aclarar que la forma más común de encontrar el fruto del Achiote (*Bixa orellana L.*) es en forma de cápsula ovalada rojiza o amarilla verdosa cubierta de apéndices espinosos dentro de la cual se encuentran las semillas agrupadas en forma de racimos.

Hablando específicamente de la semilla, cabe decir que la bixina presenta ventajas frente a la implementación de esta como componente para fabricación de fitocosméticos ya que además de ser un excelente colorante, según lo citado por Ayala et al. (2016), la Organización Mundial de la Salud reconoce a la bixina como un colorante inofensivo al tener una toxicidad nula tanto para el consumo como para la aplicación en la piel, además de su baja toxicidad y biodegradabilidad, el achiote presenta varios beneficios para la salud humana lo que hace que la demanda de pigmentos de origen natural aumente cada vez más.

A los extractos de bija le han sido demostrados diversas propiedades farmacológicas, entre las cuales se encuentran: antitumoral, antiinflamatoria, astringente, emoliente, antiséptica, antibacteriana, antioxidante, cicatrizante entre otras y se ha indicado en el tratamiento de infecciones bacterianas de forma general, estomatitis, y en la curación de heridas y quemaduras. (Lourido & Martínez, 2010, párr.16)

El color rojo del Achiote (*Bixa orellana L.*) o annatto se debe a varios compuestos carotenoides, principalmente apocarotenos, que se encuentran en la semilla. La bixina es el más cotizado e importante de éstos. La bixina es una sustancia cristalina de color rojo oscuro, soluble en alcohol, aceites y grasas e insoluble en agua. También se encuentran pequeñas cantidades de isobixina y norbixina; esta última, de color amarillo y soluble en agua e insoluble en grasas, también es un colorante con valor comercial (Pérez, 2003).

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. (Ayala et al., 2018)

Es así como en el momento de seleccionar la semilla se debe tener en cuenta ~~seleccionar~~ escoger una planta sana y que en su desarrollo fenológico y post-cosecha haya contado con buenas prácticas agrícolas para obtener una buena calidad del pigmento y así garantizar un fitocosmético de calidad, eficaz por sus principios activos y seguro al contacto con la piel.

5.1.3 Romero (*Salvia rosmarinus L.*) y Tomillo (*Thymus vulgaris L.*) como conservante natural

Existen diferentes tipos de conservantes y en su mayoría los que más usa la industria de los cosméticos son los de proveniencia química, dejando a un lado los conservantes que se pueden encontrar naturalmente, como se desarrollará en esta investigación, los conservantes a implementar en la elaboración de un fitocosmético son el extracto de Romero (*Salvia rosmarinus L.*) y el extracto de

Tomillo (*Thymus vulgaris L.*). Muchas plantas son consideradas como alternativas de suplir componentes químicos como conservantes por la función antibacteriana de las plantas, que no solo puede reducir riesgos a la salud, sino por la diversidad de componentes, incluso otorgarle beneficios adicionales al producto, y de hecho existen muchas investigaciones donde se prueba la capacidad antimicrobiana in vitro de las plantas, “ los resultados no son directamente comparables debido a las diferencias metodológicas, tales como la elección de la planta, extracto (s), microorganismo (s) de prueba y métodos antimicrobianos” (Janssen, 1987).

Siendo un poco más específicos en los conservantes que se han de implementar para la formulación fitocosmética, vale la pena decir que el Romero (*Salvia rosmarinus L.*) ha sido objeto de este estudio donde se resalta la actividad antimicrobiana del aceite esencial, en la investigación realizada por Hammer, Carson y Riley (1999), genera como resultado que la concentración mínima inhibitoria (MIC) del aceite esencial se encuentra en un rango del 0,5% v/v hasta 2% v/v dependiendo del microorganismo implicado, el resultado frente a los diez microorganismos prueba es el siguiente:

Acinetobacter baumannii NCTC 7884 MIC, 1,0 / v/v, *Aeromonas veronii* biogrup sobria ATCC 10231 MIC 1.0% v/v, *Enterococcus faecali* NTCC 8213 MIC > 2,0% v/v, *Escherechia coli* NCTC 10418 MIC 1,0% v/v, *Klebsiella pneumoniae* NCTC 11228 MIC 2,0% v/v, *Pseudomonas eruginoso* NCTC 10662 MIC < 2,0% v/v, *Salmonella entérica* subsp. entérica Serotype typhimutium ATCC 13311 MIC > 2,0% v/v, *Serratia marcescens* NCTC 1377 MIC > 2,0% v/v y *Staphylococcus aureus* NCTC 6571 MIC 1,0% v/v. (Hammer, 1999)

Popularmente, el Romero (*Salvia rosmarinus L.*) se usa como antiséptico, antidepresivo, antiespasmódico, digestivo, diurético, carminativo, abortivo, insecticida y como estimulante mientras que su aceite esencial, es incorporado en pomadas para tratamientos de reumatismo, úlceras y heridas. También el aceite esencial mezclado con otras drogas se emplea para la elaboración de tónicos capilares, para el cuidado del cabello, la alopecia y la caspa. En medicina, el aceite esencial de Romero

(*Salvia rosmarinus L.*) se emplea por sus propiedades estimulantes, presumible debido a su alto contenido de alcanfor (Mosquera, 2014). Ha sido usado desde hace milenios como condimento y conocido por sus propiedades terapéuticas. Las hojas y el extracto se han usado frecuentemente como aroma o conservantes de alimentos. Las propiedades antioxidantes del extracto de Romero (*Salvia rosmarinus L.*) fueron arduamente estudiadas y su eficacia fue comprobada en la conservación de la vida útil de los alimentos. En la industria alimenticia, el extracto de Romero (*Salvia rosmarinus L.*) es una excelente alternativa como antioxidante natural (Mejía, 2019).

El Romero (*Salvia rosmarinus L.*) contiene una considerable cantidad de aceite esencial (alrededor del 1%), utilizado en la medicina tradicional, por las propiedades estimulantes tónicas, también como antiséptico pulmonar, un colerético y un colagogo, se le ha atribuido, también propiedades antirreumáticas, antidiarreicas y estomacales, su uso se ha extendido en la fitocosmética, perfumería y también en licores (Pintore, 2002).

Por otro lado, se realizaron pruebas en la elaboración de fitocosméticos, con el Tomillo (*Thymus vulgaris L.*), en donde el aceite esencial de Tomillo (*Thymus vulgaris L.*) debido a sus componentes fenólicos, timol y carvacrol, tienen actividad antibacteriana frente a bacterias gram positivas y gram negativas, actuando sobre la membrana bacteriana; antifúngica frente a *Candida albicans*, *Aspergillus spp*, *Criptococcus neoformans*, entre otros y antivírica.

El agente activo del Tomillo (*Thymus vulgaris L.*) (*Thymus vulgaris L.*) es el timol, extraído por la industria farmacéutica por su acción antimicrobiana y antiviral, es utilizada en formulación de diversos enjuagues bucales, pastas de dientes, etc., así mismo una disolución de 5% de timol en etanol se utiliza para la desinfección dermal y contra infecciones con hongos (Alonso, 2004).

Existen múltiples reportes que demuestran la actividad antimicrobiana del aceite esencial del Tomillo (*Thymus vulgaris L.*) frente a *Propionibacterium acnes*, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus* con una concentración mínima inhibitoria de 600 ppm, 200ppm y 500ppm

respectivamente, alcanzando la más baja concentración mínima inhibitoria en relación a otras hierbas en estudio (Prestes, 2008). Otros estudios mencionan que el Tomillo (*Thymus vulgaris L.*) al ser una fuente de moléculas timol y carvacrol que constituyen 40 a 50 % del aceite esencial, presenta actividad antimicótica principalmente contra *Cryptococcus neoformans* y especies de *Candida*, *Aspergillus*, *Saprolegnia* y *Zygorhynchus* (Mesa, 2004).

Estos estudios han podido mostrar la eficacia antibacteriana del aceite esencial del Tomillo (*Thymus vulgaris L.*), además es importante mencionar que en investigaciones sobre la irritabilidad/corrosión dérmica realizadas con el aceite esencial al 1% en conejos, no mostró algún signo de toxicidad. (Barrera, Acosta, 2013).

Siendo el Tomillo (*Thymus vulgaris L.*) y el Romero (*Salvia rosmarinus L.*) especies vegetales con total capacidad para actuar como agentes conservantes dentro de una formulación cosmética, es importante decir que tal efecto se puede obtener mediante la extracción de aceites esenciales de los mismos, entendiéndose como aceites esenciales aquellos compuestos volátiles presentes en muy baja concentración en las plantas, son extraídos principalmente por métodos de destilación (hidrodestilación, destilación con agua y vapor, destilación con vapor seco, hidrodestilación asistida por radiación de microondas), y expresión de fluidos supercríticos. Uno de los aceites de mayor uso es el aceite de romero (*Rosmarinus officinalis*). Es obtenido a partir de las hojas, destacando entre sus componentes más importantes: 1.-cineol, α -pineno, alcanfor y terpineol. Se emplean en casos de celulitis, acné, alopecia, y pieles envejecidas o con arrugas (Alonso, 2010).

En el caso específico de esta investigación, se realizarán los métodos de enflorado para el tomillo y romero, a partir del aceite de coco que servirá como vehículo extractor para la obtención del aceite esencial de cada una de las especies. Para llevar a cabo la destilación por arrastre con vapor, según Perdomo y Palomarez (2015): “la muestra vegetal generalmente fresca y cortada en trozos pequeños, se

coloca en un recipiente cerrado y sometida a una corriente de vapor de agua, la esencia así arrastrada es posteriormente condensada, recolectada y separada de la fracción acuosa”.

5.2 Marco legal

En la actualidad, los productos orgánicos y naturales han venido tomando gran auge por parte de los consumidores al buscar cosméticos que sean amigables tanto con el medio ambiente como con el cuidado de la piel. Aunque oficialmente no existan entidades en Colombia que se encarguen de la regulación de los insumos implementados en la elaboración de cosméticos naturales u orgánicos, refiriéndonos explícitamente de hasta qué concentración estén permitidas ciertas sustancias o la relación que hay en una formulación cosmética entre ingredientes de origen natural y aquellos de origen orgánico, a nivel nacional e internacional si hay entidades encargadas de supervisar y regular la elaboración de aquellos cosméticos que se vendan al mercado y estén certificados debidamente avalando todos sus procesos de elaboración.

En Colombia, las entidades encargadas de llevar el control frente a los requerimientos estipulados para la elaboración de cosméticos son el Ministerio de Salud, Instituto Nacional de Vigilancia de Medicamentos y Alimentos (INVIMA) y la Comunidad Andina de Naciones (CAN), en donde según el estudio del marco legal del sector cosméticos y subsistema de calidad – comparación internacional realizado con el apoyo de la Organización de las Naciones Unidas para el Desarrollo Industrial (ONUDI), el Programa de Transformación Productiva de Colombia y la Embajada de Suiza en Colombia, se muestran aquí las disposiciones nacionales expedidas por estas entidades:

El Ministerio de Salud en Colombia es a quien corresponde establecer las políticas en materia sanitaria, de vigilancia y control (Decreto 1292 de 1994) en materia de los productos cosméticos.

El INVIMA por su parte, tiene bajo su responsabilidad la ejecución de las políticas en materia de vigilancia sanitaria y de control de calidad (Decreto 1290 de 1994, art. 40); y que a las

Direcciones Territoriales de Salud les compete ejecutar las políticas en materia de vigilancia

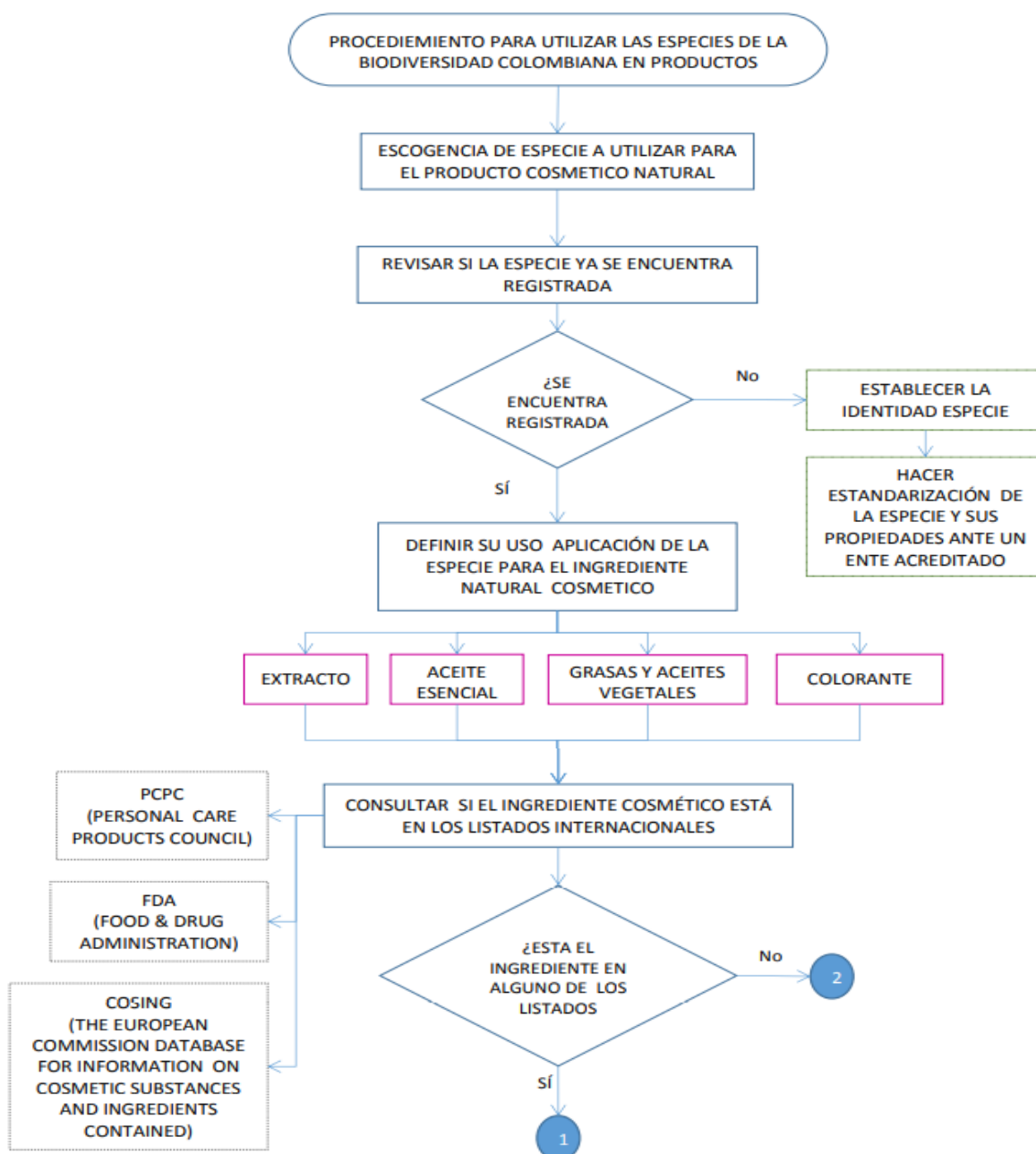
sanitaria y de control de calidad, en los términos definidos por las disposiciones vigentes, en los distintos territorios de cada jurisdicción (Decreto 219 de 1998 arts. 3 y 4). (p.19)

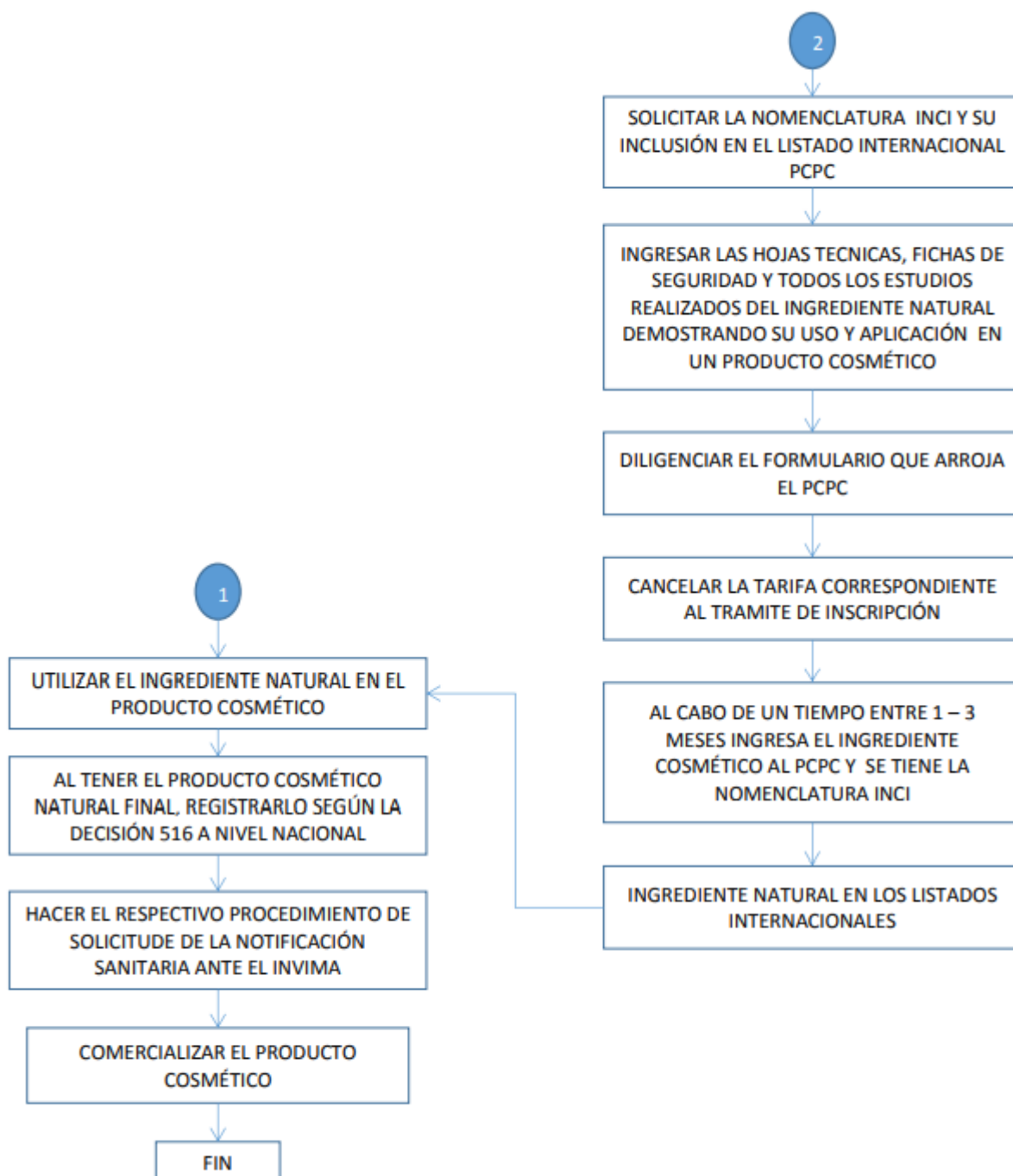
Por otra parte, hay dos certificados que según el decreto 219 de 1998 del Ministerio de Salud, el INVIMA expide y que son requisito para comercializar productos cosméticos, el primero de ellos es el certificado de capacidad de producción (CCP) en el cual se estipula “el cumplimiento de las condiciones técnicas, locativas, higiénicas, sanitarias, de dotación y de recursos humanos por parte del establecimiento fabricante de productos cosméticos que garantizan su buen funcionamiento, así como la capacidad técnica y la calidad de los productos que allí se elaboran” (Organización de las Naciones Unidas para el Desarrollo Industrial, Programa de Transformación Productiva de Colombia & Embajada de Suiza en Colombia, 2015, p. 19). El segundo certificado requisito para comercializar productos cosméticos es el certificado de cumplimiento de buenas prácticas de manufactura cosmética (BPMC) vigentes que debe cumplir cada establecimiento dedicado a la elaboración de cosméticos.

A la hora de elaborar un cosmético natural, según la decisión 516 del 2002 decretada por INVIMA, respecto a la Armonización de Legislaciones en materia de Productos Cosméticos; la Comisión de la Comunidad Andina (CAN), decide que los ingredientes a utilizar en las formulaciones cosméticas se deben encontrar dentro de los listados de la Food & Drug Administration de los Estados Unidos de América (FDA), la Cosmetics Toiletry & Fragrance Association (CTFA), la European Cosmetic Toiletry and Perfumery Association (COLIPA) y las Directivas de la Unión Europea; además de verificar la presencia de los ingredientes en las listas mencionadas anteriormente, le entidad que quiera comercializar productos cosméticos según la decisión 516, debe realizar la Notificación Sanitaria Obligatoria en donde se debe cumplir con una serie de requisitos e información técnica referente al fabricante y el cosmético para después de estudiar la información, se asigne un código de identificación para efectos del etiquetado y de la vigilancia y control sanitario en el mercado.

Hernández y Pardo (2015) en su trabajo de grado “Estudio monográfico del uso y aplicación de productos naturales en la industria cosmética natural y ecológica”, elaboran una guía de consulta para la industria cosmética buscando el aprovechamiento de la biodiversidad colombiana e indicando datos de carácter técnico y legal al momento de querer comercializar un producto cosmético natural, como se muestra en la figura 1.

Figura 1. Diagrama de los pasos a seguir para comercializar cosméticos naturales en Colombia.



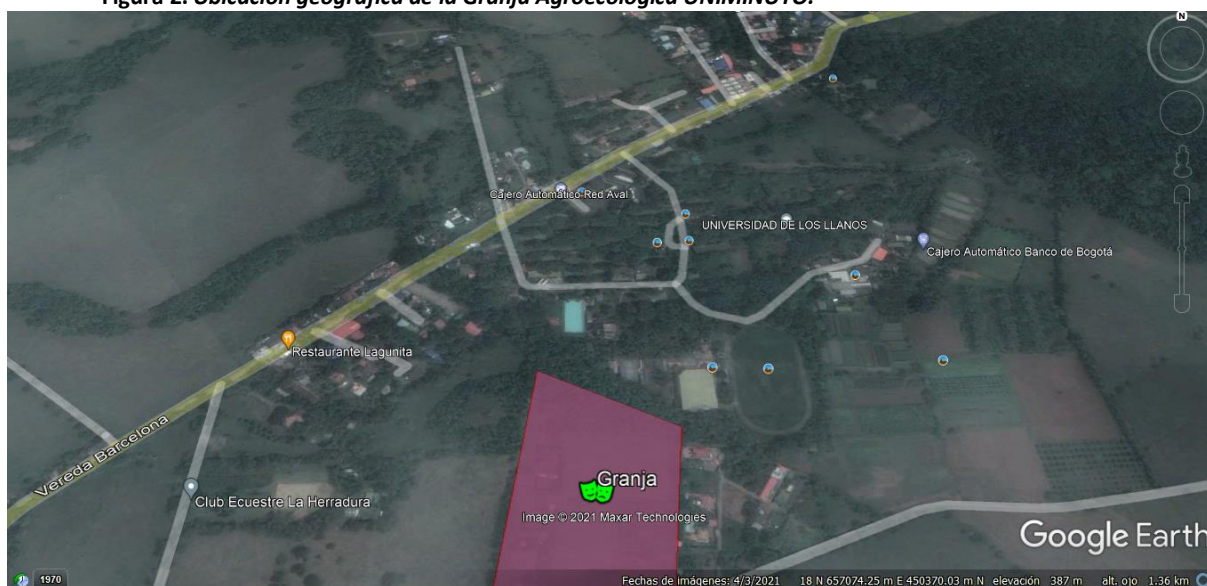


Fuente: Hernández y Pardo (2015).

6 Metodología y diseño experimental

Villavicencio es una ciudad ubicada en el departamento del Meta perteneciente a la región Orinoquía, con coordenadas 04°09 N 73°38 O, con altitud de 467 m.s.n.m., cuenta con una población de 452.472 habitantes; se identifican dos regiones las cuales son la montañosa que comprende el Occidente y Noroccidente del municipio compuesta por una parte de la Cordillera Oriental y la segunda región caracterizada por una planicie ligeramente inclinada hacia el Oriente y Nororiente de la ciudad perteneciente al piedemonte de la cordillera (Alcaldía, 2021). El presente proyecto de investigación se desarrolla en las instalaciones de la Granja Agroecológica UNIMINUTO ubicada en la vereda Barcelona vía Puerto López a 15 km de la cabecera municipal con coordenadas 4° 4'10.65"N, 73°35'9.74"W con una altitud promedio de 387 m.s.n.m.

Figura 2. Ubicación geográfica de la Granja Agroecológica UNIMINUTO.



Fuente: Google Earth

6.1.1 Aspectos climáticos

El comportamiento de lluvias es monomodal, Temperaturas promedio de 28°C., Humedad relativa es del 83%. Recibe 100 horas/mes de brillo solar. Evaporaciones de 90 mm a 120 mm anuales. Promedio de lluvias anuales es de 4383 mm (Weather, s.f.).

6.1.2 Caracterización de la granja

La Granja Agroecológica UNIMINUTO perteneciente a la Corporación Universitaria Minuto de Dios, se encuentra ubicada en el kilómetro 15 vía Puerto López, con temperatura promedio de 28°C, presencia de fauna y flora variada, presenta un ambiente paisajístico conformado por una vegetación natural y seminatural de tipo arbustiva, bosque de galería como área de reserva, áreas terrestres cultivadas e intervenidas donde se pueden encontrar pequeñas zonas de cultivo de achote, plátano, cacao, café, cítricos, sistemas productivos de pancoger (plátano, yuca, maíz), pastos y forrajes y cuerpos de agua artificiales (dos pozos piscícolas y un reservorio en área inundable).

La granja cuenta con una infraestructura representada en:

- Vivienda habitacional
- Quiosco
- Marranera
- Establo
- Galpón para gallinas ponedoras
- Laboratorios
- Bodega

6.1.2.1 Aspectos físico-bióticos de la granja

6.1.2.1.1 Características físico-químicas del suelo

Por la ubicación de la granja en el piedemonte de la cordillera, ésta se encuentra en una zona de topografía plana, en donde según el último estudio de suelos realizado para la granja (**Anexo 1**), la textura del suelo un 76% es de arena, 18% limo y 6% arcilla clasificándose como un suelo franco arenoso.

Según la caracterización química del análisis de suelos este presenta un pH de 5.2 clasificándose como un suelo fuertemente ácido, el porcentaje de materia orgánica presente es de 3.2 siendo de

valoración media, baja presencia de elementos mayores, presencia de elementos menores (B, Cu, Mn, Fe, Zn) que oscilan en los rangos de medio a alto, rangos normales en la relación de cationes y presencia de 0,60 meq/100g suelo de aluminio, en este rango probablemente no presenta toxicidad para las plantas.

6.2 Metodología

Para lograr los objetivos planteados en el proyecto, se desarrolló la siguiente metodología:

- **Primera fase: desarrollo del primer objetivo.** Se realizó el siguiente procedimiento:

- Recolección del Achiote (*Bixa orellana L.*) de los seis árboles en la Granja Agroecológica UNIMINUTO referenciados en la Figura número 5; para determinar la cantidad necesaria de fruto fresco del cual se extrajo la semilla requerida para obtener la materia prima (polvillo de achiote), se inició haciendo una prueba con una muestra de un peso conocido de fruto fresco al cual se le extrajo la semilla, que a su vez fue también pesada, para así poder conocer la equivalencia del rendimiento de peso de semilla/peso del fruto fresco recolectado.

- Se partió de la siguiente premisa que se estableció a partir de tres muestreos en los que se obtuvo como un comportamiento constante que de 500 gramos de fruto fresco recolectado se obtienen 75 gramos de semilla; posteriormente por regla de tres se determinó dependiendo de la cantidad de semilla requerida para los montajes, cuánto fruto fresco se recolectó.

- Con base en la premisa anterior se necesitaron 3 kilogramos de frutos fresco para obtener 444 gramos de semilla.

- Se extrajo la semilla de los frutos frescos del achiote y se dividió en tres partes iguales para su posterior lavado y desinfección con agua destilada, jabón ecológico (con un 90% de ingredientes activos biodegradables) e hipoclorito de sodio respectivamente.

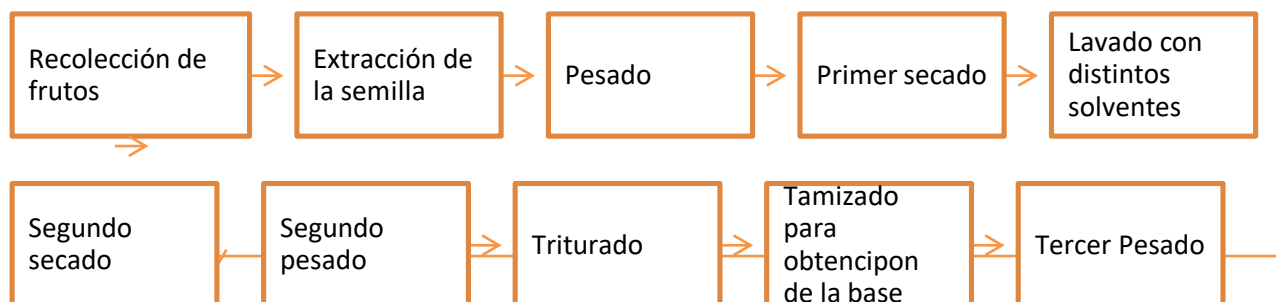
- Posteriormente las tres muestras se llevaron a un primer proceso de secado en el horno, durante noventa minutos a una temperatura constante de 120°C, con el fin de eliminar el exceso de humedad y de posibles microorganismos presentes en las mismas.

- Se preparó hipoclorito de sodio en una disolución al 5%, mezclando 5 cc de hipoclorito de sodio en 95 cc de agua destilada; el mismo procedimiento se realizó con el jabón ecológico (con el 90% de ingredientes activos biodegradables) diluyendo con agua destilada hasta los 100 cc, de la misma manera se utilizaron 100 cc de agua destilada pura como tercer método de desinfección y adicionalmente se tomó registro de una muestra sin ningún tipo de procedimiento de desinfección como testigo.

- Cada método de desinfección se realizó según la premisa planteada, depositando 148 gramos de semilla de achiote en tres vasos de precipitado a los cuales se le adicionaron las soluciones desinfectantes y se mezclaron con un agitador, posteriormente las mezclas se pasaron por un tamiz para separar la semilla de las soluciones; para el caso de los desinfectantes hipoclorito de sodio y jabón ecológico, la semilla se sometió a un nuevo lavado con agua destilada.

- Se sometieron las muestras a un segundo proceso de secado en el horno durante noventa minutos a una temperatura constante de 120°C para posteriormente pesar, triturar y pulverizar la semilla y finalmente se pesó el polvillo obtenido de la pulverización que fue utilizado como base.

Figura 3. Procedimiento de recolección del Achiote (*Bixa orellana* L.) y extracción del pigmento



Fuente: elaboración propia.

- **Segunda fase: desarrollo del segundo objetivo.** Se llevó a cabo el siguiente

procedimiento:

- Se realizaron dos montajes diferentes para destilación por arrastre de vapor para extraer el aceite esencial de Romero (*Salvia rosmarinus L.*) y aceite esencial de Tomillo (*Thymus vulgaris L.*), se depositaron 50 gramos cortados en trozos pequeños de cada material vegetal por separado en un balón de fondo redondo y 500 cc de agua en otro balón; según el procedimiento descrito por Castillo y Mendoza (2012) como se citó en Vélez et al., (2019), en su estudio para la Obtención de aceite esencial de romero con fines cosméticos, aplicaron la metodología descrita por Castillo y Mendoza en donde pesaron una muestra de 100 gramos de hojas de romero disponiéndolas en un balón de tres bocas unido a un balón generador de vapor de 1000 mL.

- El método de enflorado, inició pesando 100 gramos de material vegetal de Romero (*Salvia rosmarinus L.*) y Tomillo (*Thymus vulgaris L.*), este material se sometió a un proceso de secado en el horno durante 35 minutos a una temperatura constante de 120°C, luego de esto el material seco se trituró y se seleccionaron 28 gramos de polvo triturado por especie.

- Para la extracción del aceite de coco, se le retiró el mesocarpio y endocarpio, se cortó en trozos pequeños la pulpa, se puso en la licuadora con agua hirviendo y se licuó hasta que la mezcla quedó homogénea, luego se pasó la mezcla por un tamiz y el resultado de esta extracción se sometió a ebullición agitando de manera constante hasta que se evaporara el agua obteniendo así solamente el aceite.

- Para finalizar el proceso de enflorado buscando la obtención de un aceite esencial más aceite vegetal, en un Erlenmeyer de 100 cc se depositaron los 28 gramos de polvillo obtenido de la trituración del romero, posteriormente se agregaron 100 cc de aceite de coco y se agitó la mezcla hasta obtener una solución en dos fases de las cuales la primera (en el fondo) correspondió a polvillo impregnado al 100% de aceite y la segunda fase (parte superior) fue el remanente de aceite excedente, que por

saturación no alcanzó a ser absorbida por la cantidad de polvillo depositado en el Erlenmeyer, ésta solución en dos fases se dejó en reposo durante ocho días para finalmente poner el contenido total del Erlenmeyer en un filtro de tela que permitió obtener la solución de aceite esencial más aceite vegetal para ser utilizada como conservante natural; el mismo procedimiento se replicó para el tomillo.

- Se procedió a diluir en aceite de coco los aceites extraídos anteriormente por el método de enflorado y arrastre por vapor en concentraciones equivalentes al 1%, 3% y 5%, con el fin de obtener las soluciones que fueron incorporadas a la base de achiote para evaluar su eficiencia y eficacia como conservantes naturales.

- Para el montaje final, se utilizaron 240 recipientes recolectores coprológicos de 15 gramos, elaborados en polipropileno original debidamente esterilizados, con registro INVIMA número 2018DM0018128; en cada uno de ellos se depositó 1 gramo del polvillo de achiote procedente de los cuatro tratamientos de desinfección incluido el testigo (sin tratamiento de desinfección) mezclados con 1 cc de los aceites extraídos a concentraciones de 1%, 3% y 5% disueltos en aceites de coco, obteniendo así 48 tratamientos con 5 repeticiones cada uno para un total de 240 muestras.

- **Tercera fase: desarrollo del tercer objetivo.** Se realizó revisión de las muestras cada ocho días durante tres meses con el fin de verificar el comportamiento de las mezclas realizadas ante la presencia de posibles microorganismos tipo hongos y transcurrido el tiempo, se tomaron las muestras de los hongos más representativas para ser estudiadas en laboratorio purificando en PDA y estresando en un medio de SNA los hongos de mayor incidencia en las muestras para lograr identificar el hongo presente junto con sus características.

6.2.1 Tipo de investigación

En el laboratorio a través de un diseño experimental Multifactorial se realizaron pruebas con semillas de Achiote (*Bixa orellana L.*), manejadas con cuatro tratamientos diferentes (hipoclorito de sodio, jabón ecológico, agua destilada y semilla sin lavar) para la desinfección de la misma antes del

Aceite de Tomillo (<i>Thymus vulgaris</i> L.) – método enflorado	1%	3%	5%	1%	3%	5%	1%	3%	5%	1%	3%	5%
Aceite de Tomillo (<i>Thymus vulgaris</i> L.) – método arrastre por vapor de agua	1%	3%	5%	1%	3%	5%	1%	3%	5%	1%	3%	5%
De cada porcentaje en las soluciones de las muestras se realizaron cinco repeticiones para un total de 240 muestras.												

Fuente: Elaboración propia.

6.2.2 Enfoque

El enfoque que llevó esta investigación es de tipo mixto ya que combinó los enfoques cualitativos y cuantitativos para lograr una mejor caracterización del estudio realizado, se elaboraron diversas pruebas de laboratorio usando soluciones en distintas concentraciones de los conservantes naturales Romero (*Salvia rosmarinus* L.) y Tomillo (*Thymus vulgaris* L.) , además de realizar diferentes tratamientos de desinfección de la semilla de achiote (*Bixa Orellana* L.) para evaluar su eficacia y eficiencia, recolectando las muestras contaminadas y analizando los resultados obtenidos en base a la literatura, hasta lograr el objetivo de identificar y caracterizar los posibles microorganismos tipo hongos que se pudiesen desarrollar en las muestras. Es por esto que se decide trabajar este tipo de enfoque en donde los datos cuantitativos son el complemento de los datos cualitativos para desarrollar un análisis estadístico de los dos tipos de resultados obtenidos.

6.2.3 Muestra

Dentro de la investigación se trabajaron 444 gramos de semillas de Achiote (*Bixa orellana L.*) desinfectadas previamente con los tratamientos de hipoclorito de sodio, jabón ecológico, agua destilada y muestra sin lavar (individualmente), para su posterior secado, pulverizado y tamizado para finalmente obtener el pigmento que le daría color a la formulación cosmética. Por parte de las plantas que actuaron como conservantes, se realizaron pruebas con 100 gramos de Romero (*Salvia rosmarinus L.*) y Tomillo (*Thymus vulgaris L.*) respectivamente, para el proceso de destilación por arrastre con vapor de agua y para el proceso de enflorado.

Para obtener la formulación fitocosmética se mezcló 1 gramo de polvillo obtenido de la semilla de *Bixa Orellana L.* disuelto con 1 cc del aceite obtenido de *Salvia rosmarinus L.* y *Thymus vulgaris L.*

7 Resultados

Esta parte presentaremos los resultados del análisis de los datos obtenidos en el desarrollo del proyecto de investigación. Estos resultados mostraran el cumplimiento de los objetivos establecidos inicialmente, mostrando la evolución de cada uno, ofreciendo las posibles razones que han podido dar lugar a dichos resultados.

7.1 Primera fase

Cumplimiento del primer objetivo específico que es Implementar tres técnicas de desinfección de la semilla de Achiote (*Bixa orellana L.*) en la obtención de base para el pigmento de fitocosméticos.

En el segundo semestre del año 2018, con la asignatura de suelos se sembraron seis arboles de Achiote (*Bixa orellana L.*) asociados con el cultivo de plátano y cacao que ya estaban establecidos, la semilla fue recolectada en San Martín de los Llanos y sembrada en el vivero de la granja para su posterior trasplante dentro de la misma. En el transcurso de los semestres posteriores a la siembra con desarrollo de los Proyectos Integradores Agroecológicos se hizo seguimiento al proceso de crecimiento del cultivo el cual no tuvo mayores afectaciones por plagas y enfermedades en la parte foliar y presentó en sus etapas productivas abundante presencia de inflorescencias y fructificación acorde a su ecofisiología.

A continuación, se presentan las ubicaciones geográficas de los árboles en la granja de los cuales se hizo la recolección de Achiote (*Bixa orellana L.*) para su posterior tratamiento.

Figura 5. Ubicación geográfica de los árboles de Achiote (*Bixa orellana L.*) en la Granja Agroecológica UNIMINUTO.

Árbol 1	Árbol 2	Árbol 3	Árbol 4	Árbol 5	Árbol 6
N 04°04'11.3"	N 04°04'11.3"	N 04°04'11.4"	N 04°04'11.4"	N 04°04'11.5"	N 04°04'11.3"
W 073°35'07.0"	W 073°35'06.3"	W 073°35'07.4"	W 073°35'06.7"	W 073°35'06.8"	W 073°35'07.9"

Nota: datos tomados de GPS. Fuente: Los autores.

Figura 6. Ubicación de plantas de Achiote (*Bixa orellana* L.) en la Granja Agroecológica UNIMINUTO.



Figura 7. Ubicación de planta de Achiote en San Martín.



Nota: planta donante de semilla de Achiote en San Martín, con ubicación $3^{\circ}41'32.62''\text{N}$ y $73^{\circ}41'56.13''\text{W}$.

Con el fin de obtener la materia prima para la Evaluación del efecto del Romero (*Salvia rosmarinus* L.) y el Tomillo (*Thymus vulgaris* L.) como conservantes en la producción de un fitocosmético a base de Achiote (*Bixa orellana* L.), al año 2021 se inició el proceso de recolección del Achiote (*Bixa Orellana* L.) de los seis árboles en la Granja Agroecológica UNIMINUTO referenciados en la Figura número 5.

- Se extrajo la semilla de achiote obteniendo un total de 444 gramos de muestra que se dividió en tres partes iguales para su posterior lavado y desinfección con agua destilada, jabón ecológico e hipoclorito de sodio respectivamente.

- Posteriormente las tres muestras se sometieron a un primer proceso de secado en el horno, durante noventa minutos a una temperatura constante de 120°C, con el fin de eliminar el exceso de humedad y de posibles microorganismos presentes en las mismas.

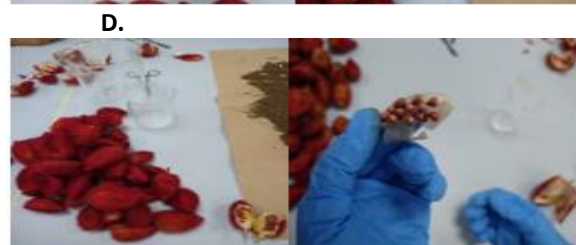
- Se preparó hipoclorito de sodio en una disolución al 5%, mezclando 5 cc de hipoclorito de sodio en 95 cc de agua destilada; el mismo procedimiento se realizó con el jabón ecológico diluyendo con agua destilada hasta los 100 cc, de la misma manera se utilizaron 100 cc de agua destilada pura como tercer método de desinfección.

- Cada método de desinfección se realizó depositando 148 gramos de semilla de achiote en tres vasos de precipitado a los cuales se le adicionaron las soluciones desinfectantes y se mezclaron con un agitador, posteriormente las mezclas se pasaron por un tamiz para separar la semilla de las soluciones; para el caso de los desinfectantes hipoclorito de sodio y jabón ecológica la semilla fue sometida a un nuevo lavado con agua destilada.

- Se sometieron las muestras a un segundo proceso de secado en el horno durante noventa minutos a una temperatura constante de 120°C para posteriormente pesar, triturar y pulverizar la semilla y finalmente pesar el polvillo obtenido de la pulverización que será utilizado como base

Figura 8. Secuencia del proceso de recolección y desinfección de la semilla de Achiote (*Bixa orellana* L.)





Nota: las siguientes imágenes representan el proceso para la obtención de la base de pigmento de Achiote:

recolección del fruto, B. fruto del Achiote, C. pesaje del fruto, D. y E. Extracción de la semilla, F. Clasificación de frutos y semillas, G. desinfección con hipoclorito de sodio, jabón ecológico y agua destilada, H. secado, I. triturado, J. tamizado, las fotografías K., L. Y M. muestran el resultado del triturado con los diferentes métodos de desinfección.

Fuente: los autores.

Los resultados obtenidos fueron los siguientes:

Desinfección de la semilla de Achiote (*Bixa orellana L.*) con agua destilada

Peso de la semilla en fresco: 148 gramos

Primera secada: 50 gramos

Lavado de la semilla con agua destilada

Peso de la semilla después de la segunda secada: 45 gramos

Peso del tamizaje obtenido de la semilla después de ser triturada: 35 gramos

Desinfección de la semilla de Achiote (*Bixa orellana L.*) con jabón ecológico

Peso de la semilla en fresco: 148 gramos

Primera secada: 109 gramos

Lavado de la semilla con jabón ecológico

Peso de la semilla después de la segunda secada: 61 gramos

Peso del tamizaje obtenido de la semilla después de ser triturada: 69 gramos

Desinfección de la semilla de Achiote (*Bixa orellana L.*) con hipoclorito de sodio

Peso de la semilla en fresco: 148 gramos

Primera secada: 117 gramos

Lavado de la semilla con hipoclorito de sodio

Peso de la semilla después de la segunda secada: 97 gramos

Peso del tamizaje obtenido de la semilla después de ser triturada: 79 gramos

Semilla de Achiote (*Bixa orellana L.*) sin tratamiento

Peso de la semilla en fresco: 74 gramos

Primera secada: 20 gramos

Peso del tamizaje obtenido de la semilla después de ser triturada: 6 gramos.

7.2 Segunda fase

Cumplimiento del segundo objetivo específico que es Establecer la eficiencia de dos técnicas de extracción, enflorado y arrastre por vapor de agua, para Romero (*Salvia rosmarinus L.*) y Tomillo (*Thymus vulgaris L.*), como agentes conservantes en fitocosméticos.

Para el desarrollo de esta fase se realizaron los siguientes procedimientos:

-Se realizaron dos montajes diferentes para destilación por arrastre de vapor para extraer el aceite esencial de Romero (*Salvia rosmarinus L.*) y aceite esencial de Tomillo (*Thymus vulgaris L.*), depositando 60 gramos cortados en trozos pequeños de cada material vegetal por separado en un balón de fondo redondo y 500 cc de agua en otro balón.

- El método de enflorado, inició pesando 100 gramos de material vegetal de Romero (*Salvia rosmarinus L.*) y Tomillo (*Thymus vulgaris L.*), este material se sometió a un proceso de secado en el horno durante 35 minutos a una temperatura constante de 120°C, luego de esto el material seco se trituró y se seleccionaron 28 gramos de polvo triturado por especie.

- Para la extracción del aceite de coco, se le retiró el mesocarpio y endocarpio, se partió en trozos pequeños la pulpa, se puso en la licuadora con agua hirviendo y se licuó hasta que la mezcla quedó homogénea, luego se pasó la mezcla por un tamiz y el resultado de esta extracción se sometió a ebullición agitando de manera constante hasta que se evaporó el agua obteniendo así solamente el aceite.

- Para finalizar el proceso de enflorado buscando la obtención de un aceite esencial más aceite vegetal, en un Erlenmeyer de 100 cc se depositaron los 28 gramos de polvillo obtenido de la trituración del romero, posteriormente se agregaron 100 cc de aceite de coco y se agitó la mezcla hasta obtener una solución en dos fases de las cuales la primera (en el fondo) corresponde a polvillo impregnado al 100% de aceite y la segunda fase (parte superior) es el remanente de aceite excedente, que por saturación no alcanzó a ser absorbido por la cantidad de polvillo depositado en el Erlenmeyer, ésta

solución en dos fases se dejó en reposo durante ocho días para finalmente poner el contenido total del Erlenmeyer en un filtro de tela que permitió obtener la solución de aceite esencial más aceite vegetal para ser utilizada como conservante natural; el mismo procedimiento se replicó para el tomillo.

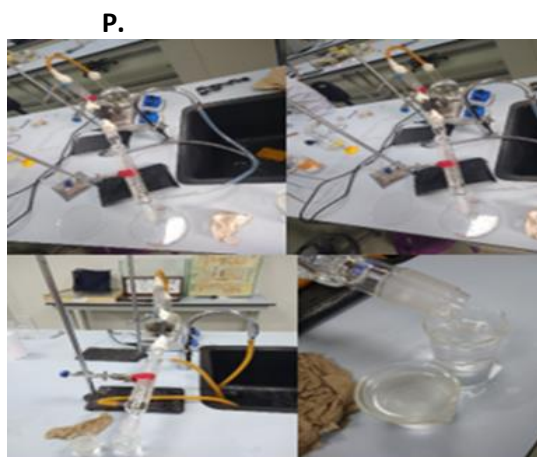
- Se procedió a diluir en aceite de coco los aceites extraídos anteriormente por el método de enflorado y arrastre por vapor en concentraciones equivalentes al 1%, 3% y 5%, con el fin de obtener las soluciones que serán incorporadas a la base de achiote para evaluar su eficiencia y eficacia como conservantes naturales.

- Para el montaje final, se utilizaron 240 recipientes recolectores coprológicos de 15 gramos, elaborados en polipropileno original debidamente esterilizados, con registro INVIMA número 2018DM0018128; en cada uno de ellos se depositó 1 gramo del polvillo de achiote mezclado con 1 cc de los aceites extraídos a concentraciones de 1%, 3% y 5% disueltas en aceites de coco obteniendo un total de 240 muestra.

Figura 9. Secuencia del proceso de secado de Romero (*Salvia rosmarinus* L.) y Tomillo (*Thymus vulgaris* L.) para la extracción de aceites por método de arrastre de vapor y enflorado.

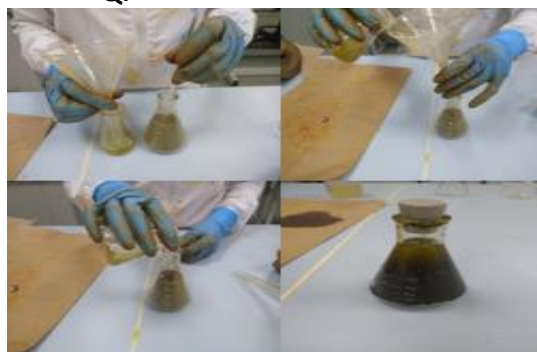


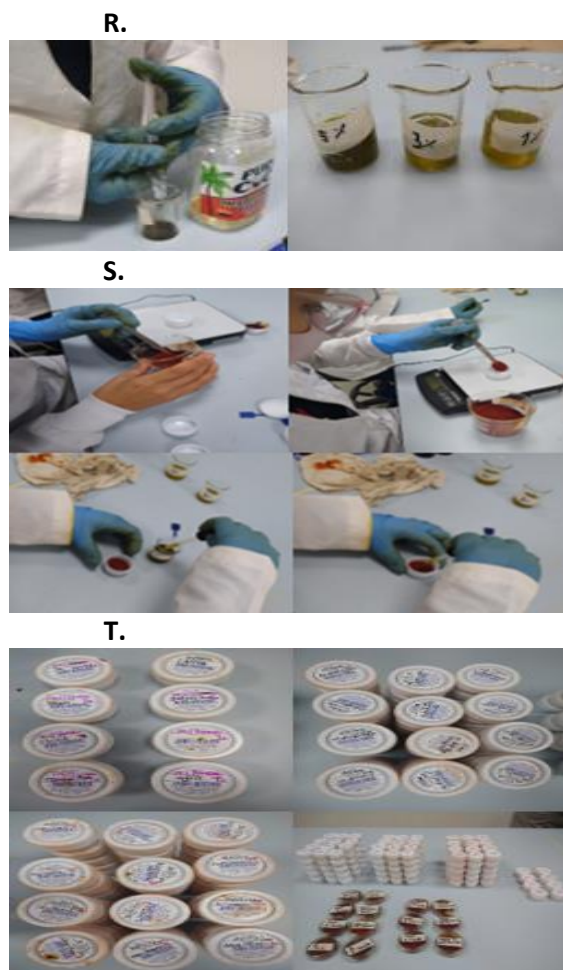
O.



P.

Q.





Romero y Tomillo, Q. montaje de método de enflorado, R. disoluciones de los aceites en porcentajes del 1%, 3% y 5%, S. mezcla de la base de Achiote (*Bixa orellana L.*), con conservantes naturales de Romero (*Salvia rosmarinus L.*) y Tomillo (*Thymus vulgaris L.*) para evaluar el efecto en un fitocosmético, T. 240 muestras de Achiote con los diferentes métodos de desinfección, con los aceites de Romero y Tomillo obtenidos por el método de arrastre de vapor y enflorado disueltos con aceite de coco para que quedaran con 1%, 3% y 5% de aceite.

Nota: secado del Romero (*Salvia rosmarinus L.*) y Tomillo (*Thymus vulgaris L.*), O. y P. son los montajes del método de arrastre de vapor para la extracción del aceite de

7.3 Tercera fase

Cumplimiento del tercer objetivo específico que es identificar la presencia de microorganismos tipo hongos que no son controlados por los extractos vegetales de Romero (*Salvia rosmarinus L.*) y Tomillo (*Thymus vulgaris L.*) utilizados como agentes conservantes en fitocosméticos.

Para el desarrollo de esta fase se realizaron los siguientes procedimientos:

-Luego de montar 240 muestras, las cuales se revisaron cada ocho días durante tres meses con el fin de verificar el comportamiento de las mezclas evaluadas ante la presencia de posibles

microorganismos tipo hongos; transcurrido 2 meses hubo aparición de micelios similares en un total de 82 muestras contaminadas, se tomaron muestras de los microorganismos tipo hongos con improntas directas en la muestra y al no poder obtener la identificación se procedió a purificar cada uno y estas se estudiaron en laboratorio para lograr identificar el hongo presente junto con sus características.

-Para hacer la purificación de los hongos se preparó medio de cultivo Agar de Dextrosa y Papa (PDA) y posteriormente se sirvió en cajas Petri.

A continuación, el número de muestras contaminadas por tratamiento

A1= Semilla desinfectada con agua destilada

A2= Semilla desinfectada con jabón ecológico

A3= Semilla desinfectada con hipoclorito de sodio

A4 = Semilla sin lavar

B1= Concentración al 1%

B2= Concentración al 3%

B3= Concentración al 5%

C1= Aceite de Romero (*Salvia rosmarinus* L.) – método enflorado

C2= Aceite de Romero (*Salvia rosmarinus* L.) – método arrastre por vapor de agua

C3= Aceite de Tomillo (*Thymus vulgaris* L.) – método enflorado

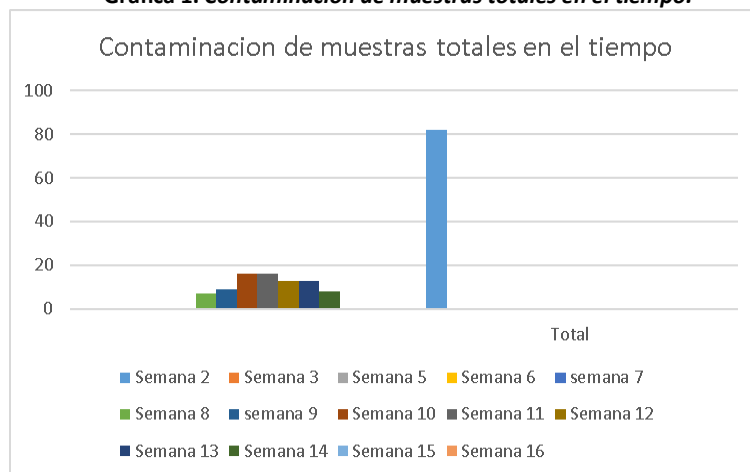
C4= Aceite de Tomillo (*Thymus vulgaris* L.) – método arrastre por vapor de agua

Figura 10. Número de muestras contaminadas por cada tratamiento.

	A1			A2			A3			A4		
	B1	B2	B3	B1	B2	B3	B1	B2	B3	B1	B2	B3
C1	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	2	1
C2	3	1	3	2	5	5	0	2	0	1	3	2

C3	3	5	1	5	4	4	0	0	0	5	3	5
C4	4	0	4	3	3	0	0	0	0	1	2	0

Grafica 1. Contaminación de muestras totales en el tiempo.



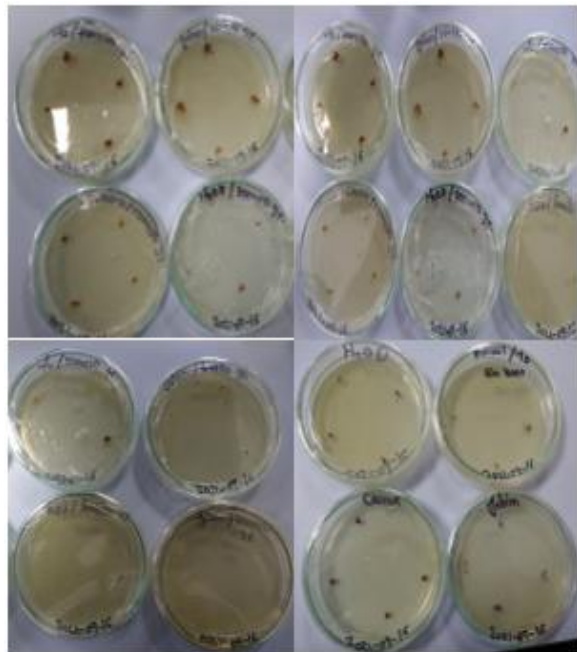
Nota: En esta grafica se puede apreciar en el tiempo la aparición de microorganismos tipo hongos y el total de estas sin discriminar el tipo de desinfección ni porcentajes utilizados para las muestras.

-Después de haber hecho el medio cultivo se procedió a seleccionar las muestras que serían purificadas y así poder evaluar los microorganismos tipo hongos presentes en estas.

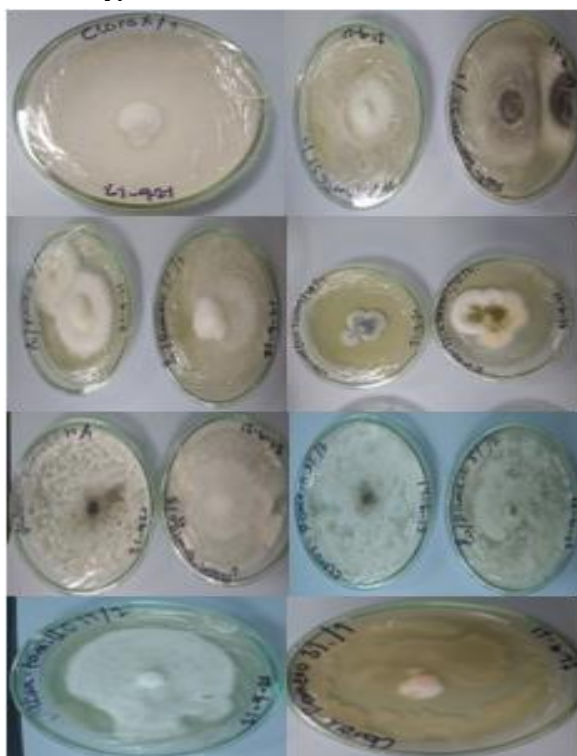
-Para identificar los microorganismos tipo hongos presentes se utilizó el método de crecimiento sucesivo por lo que se hizo una primera siembra de los hongos de mayor incidencia en las muestras en el medio de cultivo de la siguiente manera: colocando 4 puntos de micelio de estos en las cajas Petri con medio de cultivo, después se realizó una segunda siembra tomando los puntos del micelio con mayor desarrollo en el medio de cultivo, a partir de esta segunda purificación se realizó una tercera, tomando micelio ubicando un solo punto en el medio del cultivo del hongo desarrollado quedando esta como el hongo puro para hacer su identificación, el cual dio como resultado los hongos *Penicilium*, *Aspergillus*, *Glomerella* y *Geotrichum*, para llegar a la identificación de *Glomerella* que se presentó en las muestra del testigo con romero al 5%, jabón con tomillo al 3%, testigo con tomillo al 3% y 5% se le hizo un

proceso adicional el cual fue sembrarlo en medio de cultivo Spezieller Nährstoff-farmer (SNA) para generar estrés y este lograra formar estructuras (conidias) y llegar a su identificación

Figura 11. Purificación e identificación de microorganismos tipo hongos presentes en las muestras.



V.

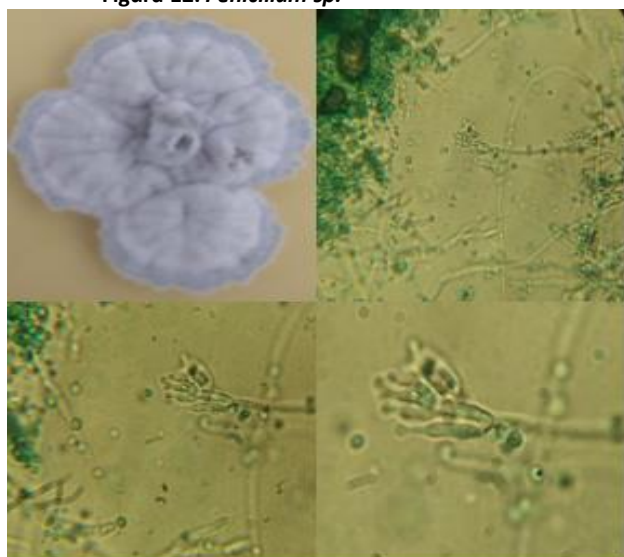


Y.



Nota: siembra de micelio presente en las muestras, v.- y. método de crecimiento sucesivo.

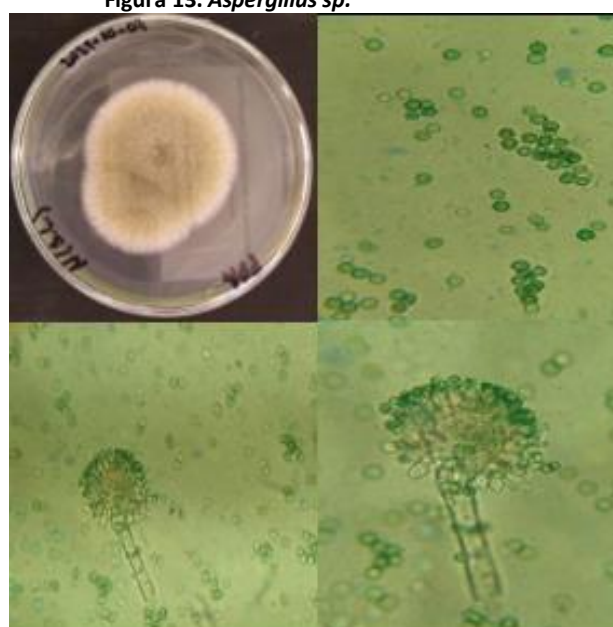
Figura 12. *Penicillium sp.*



Nota: *Penicillium Sp.*, Este género se caracteriza por formar conidios en una estructura ramificada semejante un pincel que termina en células conidiógenas llamadas fiálides. cuyas ramificaciones se ubican formando verticilos. Si hay sólo un verticilo de fiálides el pincel es monoverticilado. Las ramificaciones de un pincel poliverticilado son ramas, rámulas, métulas y fiálides. Los conidios generados en fiálides suelen llamarse fialoconidios para indicar su origen. En la fiálide, al dividirse el núcleo, se extiende simultáneamente el extremo apical que luego se estrangula separando a la espora recién formada. Se llama conectivo a la porción de pared que une entre sí a los conidios permitiendo la formación de cadenas, Los filamentos o hifas alcanzan un diámetro entre dos o tres micrómetros y tienen septos con un poro central que no es visible al microscopio óptico. Las paredes del estípote, las ramas o las métulas pueden ser lisas, rugosas o equinuladas. La pared de las fiálides es

siempre lisa. Las fiálides pueden tener forma de ánfora bien ser casi cilíndricas con la porción apical en forma de cono. El tamaño máximo de las fiálides es de 15 μm y la parte terminal no supera los 3 μm de largo. Los conidios son esféricos o elipsoidales, unicelulares, hialinos que en masa se ven de color verde, verde azulado, verde aceituna o gris. La pared de los conidios es lisa o rugosa según las especies (Webster, 1986).

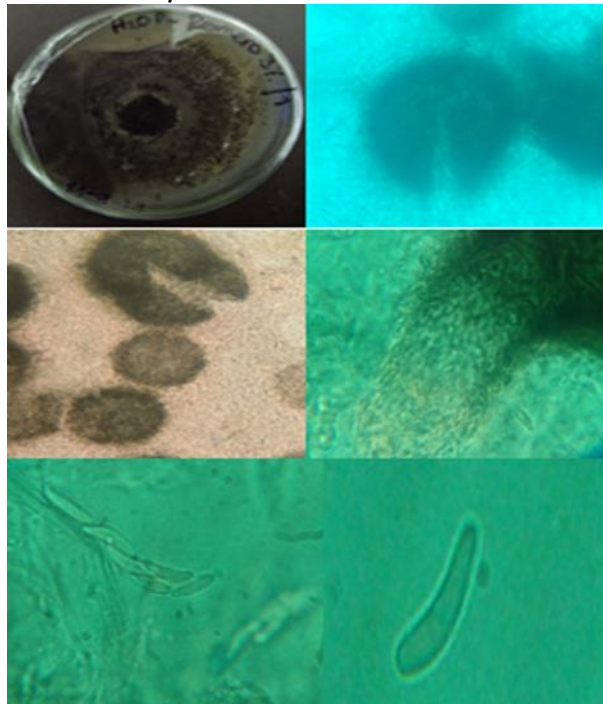
Figura 13. *Aspergillus sp.*



Nota: *Aspergillus Spp.*, Conidióforos de color marrón pálido, erectos, simples, lisos en la superficie, que llevan masas de esporas esféricas de color marrón grisáceo compuestas por conidios catenulados conidios que nacen en fialidas uniseriadas desarrolladas en vesículas globosas de color marrón pálido. Conidios fialosporosos, de color marrón amarillento, globosos o elipsoidales, rugosas en la superficie. Dimensiones: Conidióforos de unos $365 \times 5 \mu\text{m}$: vesículas de $12,5\text{-}20 \mu\text{m}$ de diámetro: fialidas $6\text{-}6,5 \times 2 \mu\text{m}$.

Conidios de 3,6-5,1 (-6,3) μm de diámetro (Watanabe, 2002).

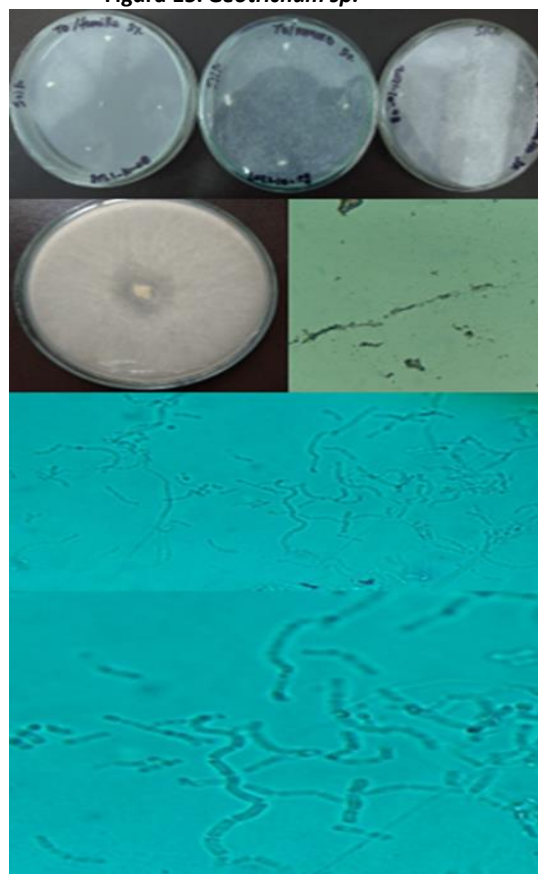
Figura 14. *Glomerella sp.* fase sexual de *Colletotrichum sp.*



Nota: *Glomerella Sp.*, es la fase sexual de *colletotrichum Spp.* Morfología: Peritecios de color marrón oscuro, globosos, cubiertos por completo de pelos blancos. Ascosporas hialinas, cilíndricas, curvadas. Anamorfo: esporodochial, rosado, semigloboso, mezclado con setas marrón oscuro. Conidios hialinos, cilíndricos, unicelulares. Dimensiones: Peritecios de 200-240 μm de diámetro. Ascosporas 80-90 \times 9,5-10,5 μm . Ascosporas 23,7-27,5 \times 4,5-5 μm . Anamorfo: esporodochios de 250-360 μm de diámetro: setas de 130-170 \times 5-5,3 μm . Conidios de unos 20 \times 4,7-5,3 μm . (Watanabe, 2002).

La presencia de los microorganismos tipo hongos reportada a los dos meses era muy baja en relación a la totalidad de tratamientos establecidos en el diseño experimental.

Figura 15. *Geotrichum sp.*



Nota: *Geotrichum Spp.* Morfología: Ausencia de conidióforos. Conidios artrósporos, terminales o intercalares, aéreas en la superficie del agar a partir de hifas rastreras, hialinas, cilíndricas, en forma de barril, subglobosas, unicelulares, a menudo gutuladas. Clamidosporas subglobosas, solitarias, que nacen en los esterigmas de las hifas. Dimensiones: Conidios (3,7-) 4,8-12,5 (-13,8) \times (1,7-) 2,4-5 μm . Clamidosporas de 4,3-6,1 μm de diámetro (Watanabe, 2002).

Después de las primeras apariciones reportadas de la presencia de los microorganismos tipo hongos (presencia en cara interior de la tapa y paredes laterales de micelio) y en las siguientes revisiones se vio mayor incidencia y presencia de micelio en la mezcla de polvillo con el conservante teniendo esta incidencia en las otras muestras y llegar a contaminar 82 muestras totales.

7.4 Análisis estadísticos multifactorial

Para cumplir con el diseño experimental propuesto se trabajó con el programa Statgraphics Centurion XIX.

Atributos del Diseño Multi-factor Categórico

Clase de diseño: Multi-factor Categórico

Nombre del archivo: <Sin Título>

Diseño Base

Número de factores experimentales: 3

Número de respuestas: 1

Número de ejecuciones: 240

Grados de libertad para el error: 210

Aleatorizar: No

Factores	Niveles	Unidades
Desinfección Semilla	4	
Concentración	3	
Conservante	4	

Respuestas	Unidades
Contaminación	

El StatAdvisor

Usted ha creado un diseño experimental el cual estimará los efectos de 3 factores categóricos.

El diseño es una factorial estándar que consiste en todas las combinaciones de los niveles de los factores. Hay un total de 240 ejecuciones en el diseño.

Modelos Lineales Generales

Número de variables dependientes: 1

Número de factores categóricos: 3

A=Desinfección

SemillaB=Concentración

C=Conservante

Número de factores cuantitativos: 0

Número de observaciones: 240

Análisis de Varianza para Contaminación

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Modelo	31,8	47	0,676596	5,70	0,0000
Residuo	22,8	192	0,11875		
Total (Corr.)	54,6	239			

Suma de Cuadrados Tipo III

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>
Desinfección Semilla	8,83333	3
Concentración (Conservante)	1,4	8
Conservante	8,4	3

Desinfección Semilla*Conservante	4,96667	9
Desinfección Semilla*Concentración(Conservante)	8,2	24
Residuo	22,8	192
Total (corregido)	54,6	239

<i>Fuente</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	
Desinfección Semilla	2,94444	24,80	
Concentración (Conservante)	0,175	1,47	
Conservante	2,8	23,58	
Desinfección Semilla*Conservante	0,551852	4,65	
Desinfección Semilla*Concentración(Conservante)	0,341667	2,88	
Residuo	0,11875		
Total (corregido)			

<i>Fuente</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>
Concentración	0,0875	0,74
Conservante	2,8	23,58
Desinfección Semilla	2,94444	24,80
Concentración*Conservante	0,204167	1,72
Concentración*Desinfección Semilla	0,148611	1,25
Conservante*Desinfección Semilla	0,551852	4,65
Concentración*Conservante*Desinfección Semilla	0,406019	3,42
Residuo	0,11875	
Total (corregido)		

<i>Fuente</i>	<i>Valor-P</i>
Desinfección Semilla	0,0000
Concentración (Conservante)	0,1690
Conservante	0,0000
Desinfección Semilla*Conservante	0,0000
Desinfección Semilla*Concentración(Conservante)	0,0000
Residuo	
Total (corregido)	

<i>Fuente</i>	<i>Valor-P</i>
Concentración	0,4800
Conservante	0,0000
Desinfección Semilla	0,0000
Concentración*Conservante	0,1184
Concentración*Desinfección Semilla	0,2819
Conservante*Desinfección Semilla	0,0000
Concentración*Conservante*Desinfección Semilla	0,0000
Residuo	
Total (corregido)	

Cuadrados Medios Esperados (CME)

<i>Fuente</i>	<i>CME</i>
Desinfección Semilla	(6)+Q1

Concentración (Conservante)	(6)+Q2
Conservante	(6)+Q3
Desinfección Semilla*Conservante	(6)+Q4
Desinfección Semilla*Concentración(Conservante)	(6)+Q5
Residuo	(6)

Fuente	CME
Concentración	(8)+Q1
Conservante	(8)+Q2
Desinfección Semilla	(8)+Q3
Concentración*Conservante	(8)+Q4
Concentración*Desinfección Semilla	(8)+Q5
Conservante*Desinfección Semilla	(8)+Q6
Concentración*Conservante*Desinfección Semilla	(8)+Q7
Residuo	(8)

Denominadores de Prueba-F

Fuente	GI	Cuadrado Medio
Desinfección Semilla	192,00	0,11875
Concentración (Conservante)	192,00	0,11875
Conservante	192,00	0,11875

Desinfección Semilla*Conservante	192,00	0,11875
Desinfección Semilla*Concentración(Conservante)	192,00	0,11875

Fuente	Denominador
Desinfección Semilla	(6)
Concentración (Conservante)	(6)
Conservante	(6)
Desinfección Semilla*Conservante	(6)

Desinfección Semilla*Concentración(Conservante)	(6)
--	-----

Fuente	Denominador
Concentración	(8)
Conservante	(8)
Desinfección Semilla	(8)
Concentración*Conservante	(8)
Concentración*Desinfección Semilla	(8)
Conservante*Desinfección Semilla	(8)
Concentración*Conservante*Desinfección Semilla	(8)

Componentes de Varianza

Fuente	Estimado
Residuo	0,11875

R-Cuadrada = 58,2418 por ciento

R-Cuadrada (ajustada por g.l.) =

48,0197 por ciento

estándar del est. = 0,344601

Error medio absoluto = 0,19

Estadístico Durbin-Watson = 2,13333 (P=0,8487)

	<i>Estimación</i>	<i>Validación</i>
N	240	
CME	0,11875	
MAE	0,19	
MAPE		
ME	1,59595E-17	
MPE		

El StatAdvisor

Esta ventana resume los resultados de ajustar un modelo estadístico lineal general que relaciona a Contaminación con 3 factores predictivos. Dado que el valor-P en la primera tabla ANOVA para Contaminación es menor que 0,05, hay una relación estadísticamente significativa entre Contaminación y las variables predictoras con un nivel de confianza del 95,0%.

La segunda tabla ANOVA para Contaminación prueba la significancia estadística de cada factor conforme fue introducido al modelo. Nótese que el valor-P más alto es 0,1690, que corresponde a B (C). Dado que el valor-P es mayor o igual que 0,05, ese término no es estadísticamente significativo con un nivel de confianza del 95,0%. Consecuentemente, debería considerar eliminar B (C) del modelo. El estadístico R-Cuadrada indica que el modelo, así ajustado,

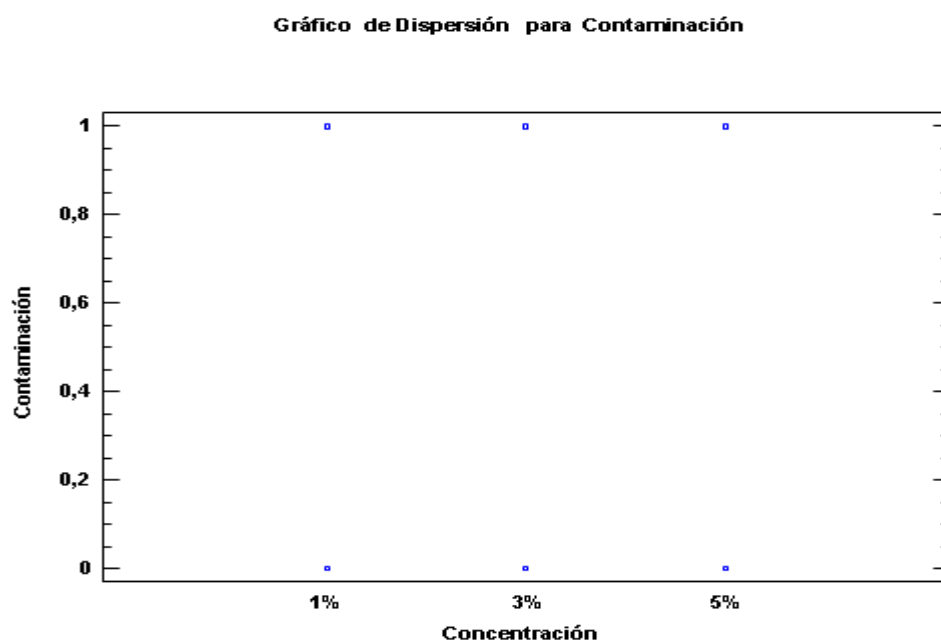
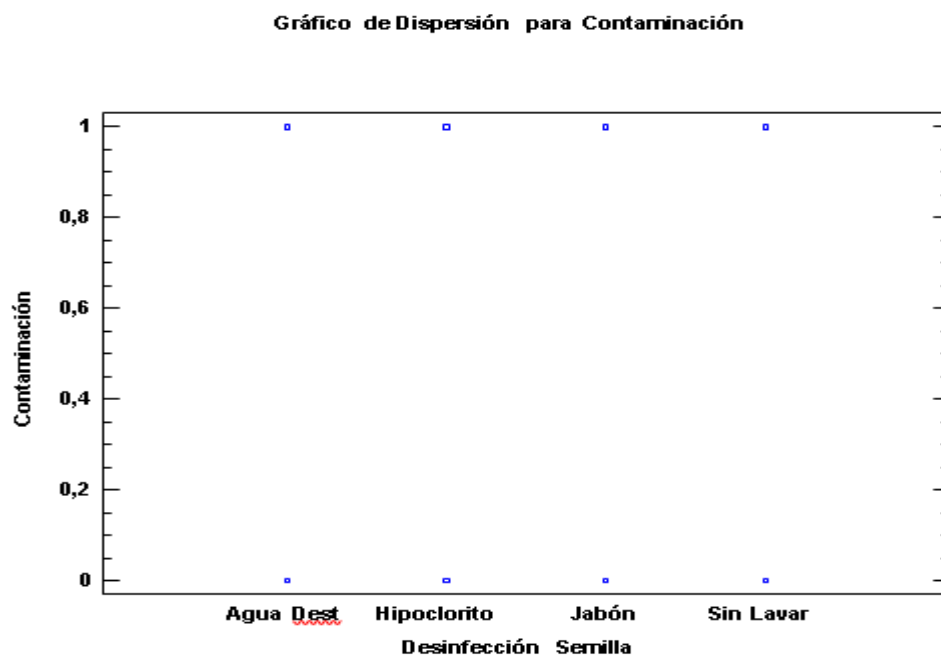
explica 58,2418% de la variabilidad en Contaminación. El estadístico R-Cuadrada ajustada, el cual es más adecuado para comparar modelos con diferente número de variables independientes, es 48,0197%. El error estándar del estimado muestra que la desviación estándar de los residuos es 0,344601. Este valor puede utilizarse para construir límites de predicción para nuevas observaciones seleccionando la opción de Reportes del menú de texto. El error medio absoluto (MAE) de 0,19 es el valor promedio de los residuos. El estadístico de Durbin-Watson (DW) prueba los residuos para determinar si hay alguna correlación significativa con base en el orden en el que se presentaron en el archivo de datos. Puesto que el valor-P es mayor que 0,05, no hay indicación de correlación serial en los residuos.

La salida también resume el desempeño del modelo para ajustar los datos, y para predecir cualquier valor retenido fuera del proceso de ajuste. Se muestra: (1) el cuadrado medio del error (CME)

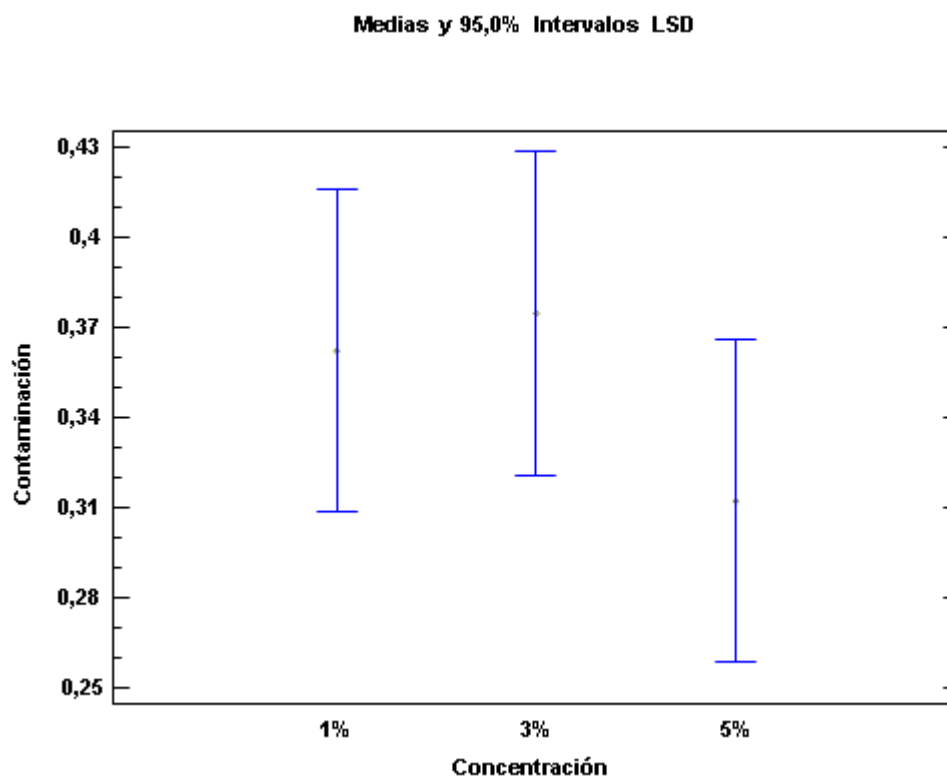
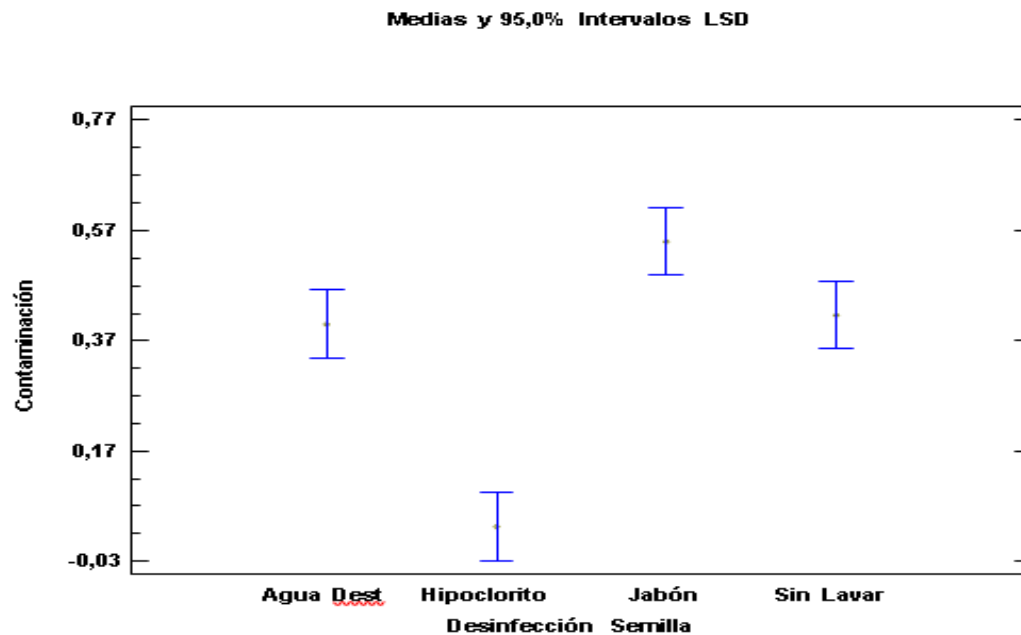
- (2) el error medio absoluto (MAE)
- (3) el porcentaje de error medio absoluto (MAPE)
- (4) el error medio (ME)
- (5) el porcentaje de error medio (MPE)

Cada uno de los estadísticos está basado en los residuos. Los primeros tres estadísticos miden la magnitud de los errores. El mejor modelo dará el valor más pequeño. Los últimos dos estadísticos miden el bias (sesgo). El mejor modelo dará un valor cercano a 0. NOTA: el MAPE y el MPE no fueron calculados debido a que el valor más pequeño en el conjunto de datos es menor o igual a 0.

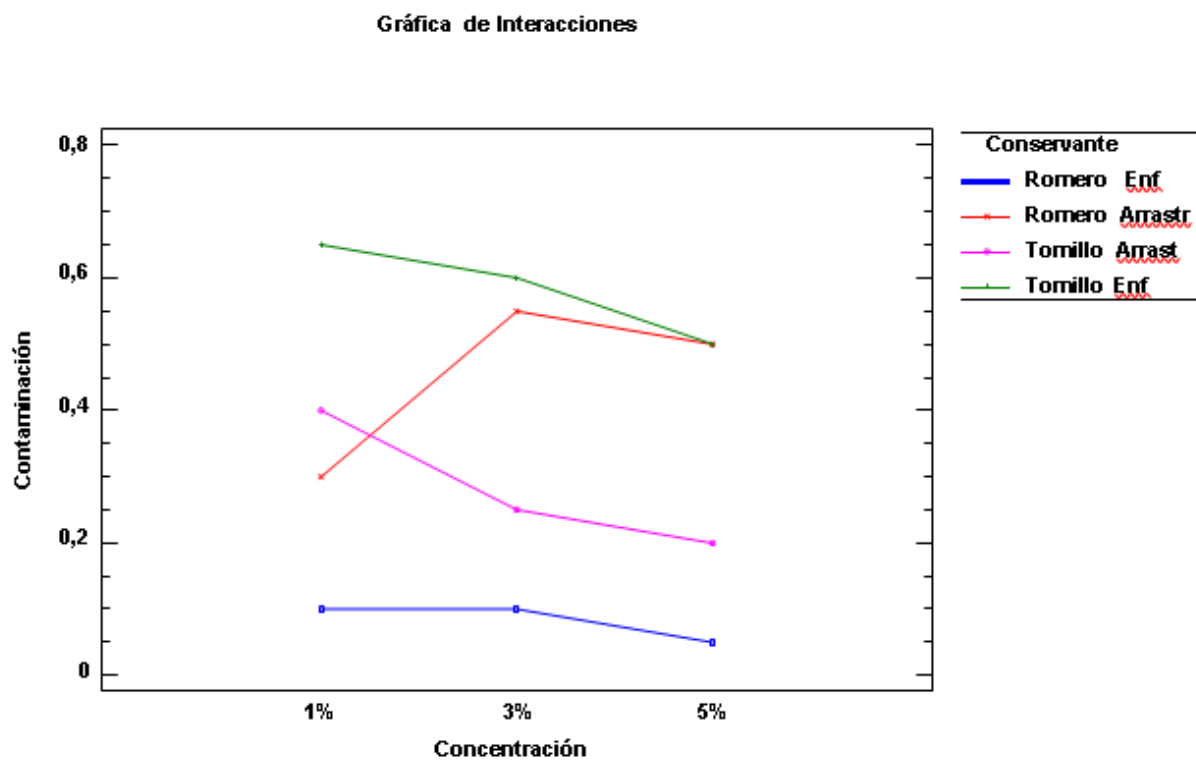
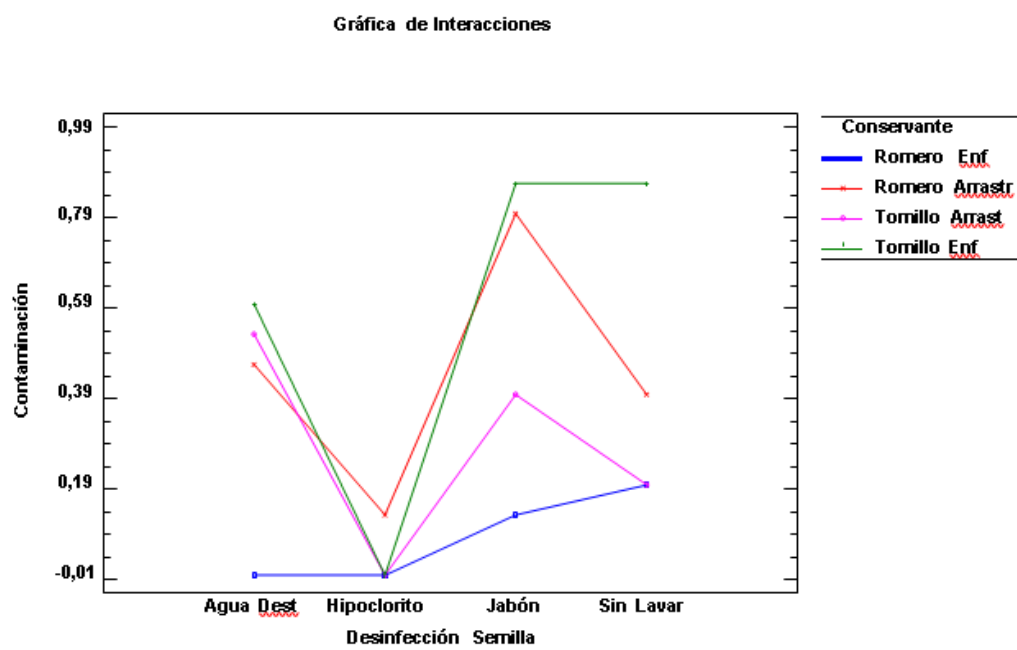
Grafica 2. Dispersión para contaminación.



Grafica 3. Medias y 95,0% intervalos LSD.



Grafica 4. Interacciones



8 Conclusiones

Solo se presentaron microorganismos tipo hongos fitopatógenos independientemente del proceso de desinfección y de las concentraciones de aceites utilizados como conservantes en la muestra.

Los microorganismos tipo hongos *Geotrichum Spp.*, *Aspergillus Sp.*, *Glomerella Sp.* y *Penicillium Sp.* presentes en las muestras son atribuidos al cultivo de Achiote (*Bixa orellana L.*).

El mejor método de desinfección de la semilla de Achiote (*Bixa orellana L.*) donde se presentó menos contaminación por microorganismos tipo hongos fue con hipoclorito de sodio.

Los microorganismos tipo hongos que se desarrollaron en las muestras tienen estructuras reproductivas altamente volátiles, esta condición aceleró el proceso de contaminación de las muestras después del segundo mes de seguimiento, observándose desarrollo de micelio en la cara interna de las tapas y en las paredes laterales de los recipientes y al no tener las condiciones adecuadas de aislamiento en las manipulaciones posteriores, la diseminación se aceleró, observándose también contaminación de la mezcla polvillo – conservante al interior de los recipientes y de manera progresiva una mayor cantidad de muestras contaminadas.

Al desinfectar la semilla de achiote con hipoclorito de sodio, se evidenció la conservación exitosa por parte de los conservantes de romero y tomillo, por los métodos de enflorado y arrastre con vapor de agua tanto a concentración de 1% como a concentración de 5%, dando como resultado la viabilidad de conservar con aceite de romero extraído mediante el método de enflorado una futura formulación cosmética al resultar más económico este procedimiento.

La contaminación presentada en la desinfección de semilla con hipoclorito de sodio conservada con aceite de romero por el método de arrastre por vapor de agua a una concentración de 3%, no se debe atribuir a la eficiencia del conservante sino a la manipulación inadecuada de las muestras en el momento de la revisión, debido a que no hay una diferencia significativa con relación a las

concentraciones del 1% y 5% reportadas con el mismo tratamiento de desinfección de la semilla de achiote.

Analizando la incidencia de la contaminación en las muestras en las que se presentó interacción de achiote con romero, se observó que entre los métodos de extracción enflorado y arrastre por vapor de agua, resultó más eficiente el conservante de romero extraído por el método de enflorado.

En la semilla desinfectada con agua destilada y a la cual se le incorporó aceite de romero extraído mediante el método de enflorado a concentraciones de 1%, 3% y 5%, no presentó contaminación en ninguna de las muestras, con esto se demuestra que el conservante más eficiente es el aceite de romero extraído por el método de enflorado.

No es necesario llevar a destilación el aceite esencial de romero en mezcla con aceite de coco obtenido mediante el método de enflorado, debido a que se demostró que con la primera fase de extracción presenta eficacia y eficiencia en el proceso de conservación.

De las muestras de polvo de achiote que se dejaron en vasos de precipitado sin incorporar conservantes y cubiertas con vinipel, el método de desinfección por hipoclorito de sodio es el único que no tiene presencia de hongos después de transcurridos tres meses.

El método de desinfección que mostró menor eficiencia y eficacia fue el de lavado con jabón ecológico.

9 Recomendaciones

Profundizar más en el proceso de perfeccionamiento de la extracción de los carotenoides bixina y norbixina obtenidos a partir de la pulverización de la semilla de Achiote (*Bixa orellana L.*).

Realizar los montajes de las mezclas en recipientes transparentes que permitan una mejor visualización del estado de las muestras con el tiempo para evitar la contaminación cruzada.

Determinar los factores que incidieron en el crecimiento y desarrollo de hongos patógenos dentro de las muestras elaboradas.

Se recomienda estudiar las propiedades y usos del aceite que contienen las cápsulas de achiote (*Bixa orellana L.*).

Establecer las labores culturales requeridas para poder garantizar la sanidad de la materia prima obtenida en el proceso de cosecha y poscosecha obtenidas de los frutos de achiote en la granja agroecológica de la Corporación Universitaria Minuto de Dios.

Evaluar el rendimiento del peso de semilla obtenida en las diferentes condiciones agroclimatológicas.

Se recomienda hacer pruebas con otros aceites utilizados en cosmética como solventes para disminuir la concentración del aceite de Romero (*Salvia rosmarinus L.*) y Tomillo (*Thymus vulgaris L.*).

Para futuras investigaciones, se recomienda restringir el libre acceso a las zonas donde se desarrolla el proceso de investigación, para evitar contaminación cruzada.

Referencias

Alcaldía de Villavicencio. (2021, 18 de marzo). *Información del municipio*.

<https://www.villavicencio.gov.co/micrositio/informaci%C3%B3n-del-municipio-237>

Alonso, J. (2004). Tratado de Fitofármacos y Nutracéuticos (Primera ed.). Argentina. 230-928 y 1037-1041.

Alonso, J. (2010). Curso de Fitodermatología. Asociación de argentina de Fitomedicina.

<http://fitomedicina.org/wp-content/uploads/2020/02/PROGRAMA-FITODERMATOLOG%C3%8DA.pdf>

Altieri, M. y Toledo, V. (2011). La revolución agroecológica en América Latina: rescatar la naturaleza, asegurar la soberanía alimentaria y empoderar al campesino. *SOCLA* 38(3), 5.

https://www.semillas.org.co/apc-aa-files/5d99b14191c59782eab3da99d8f95126/AGROECOLOGIA_ALTIERTOLEDO.pdf

Arce, J. (2010). *El Achiote (Bixa orellana L.)((Bixa orellana L.))*: Cultivo promisorio para el trópico.

[https://books.google.com.co/books/about/El_Achiote\(BixaorellanaL.\)_Bixa_orellana_L_Cultivo_promi.html?id=8zwMv8-ojx4C&redir_esc=y](https://books.google.com.co/books/about/El_Achiote(BixaorellanaL.)_Bixa_orellana_L_Cultivo_promi.html?id=8zwMv8-ojx4C&redir_esc=y)

Ayala, C., Castillo, E., Alfaro, K., Aspiros, E. y Seclén, Luis. (2018). Desarrollo de un tinte cosmético a base de semilla de (*Bixa orellana L.*) (Bixaceae) y evaluación de su efecto in vitro. *Scientia Agropecuaria*, 9(1), 133-141.

http://dev.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2077-99172018000100014&lng=en&nrm=iso&tlng=es

Ayala, C., Castillo, E., Alfaro, K. y Aspiros, E. (2016). Obtención de un colorante natural de las semillas (*Bixa orellana L.*) (Bixaceae) como alternativa para uso cosmético. *Arnaldoa*, 23 (1), 149-158.

<https://www.biodiversitylibrary.org/page/52618006#page/149/mode/1up>

Barrera, C. y Acosta, G. (2013). Actividad antibacteriana y determinación de la composición química de

los aceites esenciales de Romero (*Salvia rosmarinus L.*) (*Rosmarinus officinalis*), Tomillo (*Thymus*

- vulgaris* L.) (*Thymus vulgaris*) y cúrcuma (*Cúrcuma longa*) de Colombia. Revista Cubana de Plantas Medicinales, 237-246. http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1028-47962013000200007
- COLCIENCIAS. (2013). Desarrollo tecnológico de la industria de ingredientes naturales de aplicación cosmética y de aseo a partir del aprovechamiento de la biodiversidad del país. <https://www.ptp.com.co/documentos/Proyecto%20Bandera%20080513.pdf>
- Corporación Biointropic. (2018). *Estudios sobre la Bioeconomía como fuente de nuevas industrias basadas en el capital natural de Colombia* (Anexo 4). <https://www.dnp.gov.co/Crecimiento-Verde/Documents/ejes-tematicos/Bioeconomia/informe%201/1-INFORME%20BIOECONOMIA%20FASE%201%20FINAL%2024012018.pdf>
- Decisión 516 de 2002 [INVIMA]. Por la cual se establece la Armonización de Legislaciones en materia de Productos Cosméticos mediante la Comisión de la Comunidad Andina. Marzo 15 de 2002. <https://www.invima.gov.co/documents/20143/449018/DECISION+516.pdf>
- Devia, J. y Saldarriaga, L. (2012). Planta piloto para obtener colorante de la semilla del Achiote (*Bixa orellana* L.)(*Bixa orellana*). *Revista Universidad EAFIT*, 39(131), 8-22. <https://publicaciones.eafit.edu.co/index.php/revista-universidad-eafit/article/view/899>
- EFE. (Diciembre de 2014). Colombia firma acuerdo para mejorar la calidad de los cosméticos. <https://www.eltiempo.com/archivo/documento/CMS-14921128#:~:text=02%20de%20diciembre%202014%20%2C%2002,y%20el%20gobierno%20de%20Suiza.>
- Ferraro, G., Martino, V., Bandoni, A. y Nadinic, J. (2012). *Fitocosmética: fitoingredientes y otros productos naturales*. Eudeba. <https://bibliotecaia.ism.edu.ec/Repository/fitocosmeticaGracielaFerraroVirginia.pdf>

Granda, A. (2014). Actitud ecológica en el aseo personal. El Comercio. Quito – Ecuador. Artículo.

<https://www.elcomercio.com/tendencias/actitud-ecologica-aseo-personal-higiene-productos-caseros-ambiente.html>

Hammer, K., Carson, C. y Riley, T. (1999). Antimicrobial activity of essential oils and other plant extracts.

Journal of Natural and Engineering Sciences, 20-25.

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10438227/>

Hernández, J. y Pardo, J. (2015). *Estudio monografico del uso y aplicación de productos naturales en la industria cosmética natural y ecológica* [Trabajo de grado, Universidad de Ciencia Aplicadas y Ambientales]. Repositorio institucional UDCA.

<https://repository.udca.edu.co/bitstream/11158/387/1/TESIS%20FINAL%20JOHN%20HERNANDEZ-DIEGO%20PARDO%20ESTUDIO%20MONOGRAFICO%20DEL%20USO%20Y%20APLICACION%20DE%20PRODUCTOS%20NATURALES.pdf>

Hoyos, G. y Llanos, C. (1983). Etiología de las pudriciones de capsulas y semillas de achiote, Bixa orellana L. En dos regiones de Colombia. *Acta agronómica*, 33(4), 1-5.

https://revistas.unal.edu.co/index.php/acta_agronomica/article/view/86356/74526

Instituto de Medio Ambiente de Chile. (2019). ¿Qué es la fitocosmética Natural?. *Periódico*.

<https://www.idma.cl/2018/01/08/que-es-la-fitocosmetica-natural/>

Janssen, A. (1987). Antimicrobial activity of essential oils. *Planta Medica*, 395-398. <https://www.thieme-connect.com/products/ejournals/abstract/10.1055/s-2006-962755>

<https://www.thieme-connect.com/products/ejournals/abstract/10.1055/s-2006-962755>

Kapsner T. (2007). Organic cosmetic standars: a new formulation challenge. *Cosm&Toil*. Washington DC.

<https://www.cosmeticsandtoiletries.com/regulatory/organic/8281887.html>

Lenaroz S. (7 de julio del 2002). Conservantes cosméticos. [https://www.elsevier.es/es-revista-offarm-4-](https://www.elsevier.es/es-revista-offarm-4-pdf-13034831)

[pdf-13034831](https://www.elsevier.es/es-revista-offarm-4-pdf-13034831)

- Lourido, H. y Martínez, G. (2010). La (*Bixa orellana* L.) en el tratamiento de afecciones estomatológicas, un tema aún por estudiar. *Revista Cubana de Farmacia*, 44(2), 231-244.
http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-75152010000200012
- Martínez, J. (14 de Abril de 2012). *Cosmetología. Tema 3: Los Cosméticos: Características Generales*.
<http://docplayer.es/4277028-Cosmetologia-tema-3-los-cosmeticos-caracteristicas-generales.html>
- Mesa, A. (2004). Productos naturales con actividad antimicótica. *Revista Española de Quimioterapia*, 325-331. <https://seq.es/seq/0214-3429/17/4/325.pdf>
- Mejía, P. (2019). *Evaluación de la capacidad antioxidante de extractos alcohólico y acoso de Romero (*Rosmarinus officinalis*), frente a un compuesto sintético* [Trabajo de grado, Universidad Politécnica Salesiana, Ecuador]. Repositorio DSpace.
<https://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/17965/1/UPS-CT008529.pdf>
- Molina, K. (2017). *Uso de disoluciones de Bixa Orellana Achiote como revelador natural de placa dental frente a revelador convencional estandarizado* [Trabajo de grado, Universidad Central del Ecuador]. Repositorio de la Universidad Central del Ecuador.
<http://www.dspace.uce.edu.ec/handle/25000/8332>
- Mosquera, T. (2014). *Estudio comparativo de la eficiencia antibacteriana de una mezcla de parabenos frente al aceite de Romero (*Rosmarinus officinalis* Lamiaceae) utilizados como conservantes en una formulación cosmética* [Tesis de maestría, Universidad Politécnica Salesiana, Ecuador]. Repositorio DSpace. <https://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/7248/1/UPS-QT05931.pdf>
- Organización de las Naciones Unidas para el Desarrollo Industrial, Programa de Transformación Productiva de Colombia & Embajada de Suiza en Colombia. (2015). *Estudio del marco legal del sector cosméticos y subsistema de calidad – comparación internacional*.

<https://www.colombiaproductiva.com/CMSPages/GetFile.aspx?guid=482d01af-72fe-4287-bf51-17edac0bbbc5>

Perdomo, D. y Palomarez, B. (2015). *Extracción y evaluación de rendimientos de los aceites esenciales del árbol Aniba Perutilis Hemsley (Comino) mediante el método de arrastre con vapor* [Trabajo de grado, Universidad Nacional Abierta y a Distancia, Florencia]. Repositorio UNAD.

<https://repository.unad.edu.co/bitstream/handle/10596/3456/17685012.pdf?sequence=1>

Penning, A. (Octubre de 2012). The Lure of Organic Ingredients. 45-45.

<https://gcimagazine.texterity.com/gcimagazine/201211?folio=42&pg=44#pg44>

Pintore. (2002). Chemical composition and antimicrobial activity of *Rosmarinus officinalis* L. oils from Sardinia and Corsica. *Flavour a Fragrance Journal*, 15-19.

<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/ffj.1022>

Quiñones, X. y Yunda, M. (2014). El achiote *Bixa orellana* L. como posible alternativa productiva para el Departamento del Meta. *Sistemas productivos agroecológicos*, 5(1), 21.

<https://revistas.unillanos.edu.co/index.php/sistemasagroecologicos/article/download/646/693>

Reardon, J. (s.f.). *División de protección de alimentos y medicamentos Carolina del Norte*.

<http://www.ncagr.gov/fooddrug/espanol/documents/Cosmeticos.pdf>

Resolución N° 1905 de 2017 [Comunidad Andina de Naciones]. Por la cual se prohíbe el uso de los parabenos de cadena larga como ingredientes para productos cosméticos en la Comunidad Andina. Febrero 14 de 2017. <http://www.comunidadandina.org/StaticFiles/DocOf/RESO1905.pdf>

Vélez, P., Pita, M., Moreira, K., Pin, D., Oyervide, A. y Riera, M. (2019). obtención de aceite esencial de Romero con fines cosméticos. *Prisma tecnológico*, 10(1), 28.

<https://revistas.utp.ac.pa/index.php/prisma/article/view/2170/3120>

Vivanco, G. (Mayo de 2016). *Investigación y desarrollo gráfico de productos cosméticos* [Trabajo de grado, Universidad San Francisco de Quito. Ecuador]. Repositorio institucional USFQ.

<http://repositorio.usfq.edu.ec/bitstream/23000/5784/1/124604.pdf>

Weather atlas. (s.f.). *Previsión meteorológica y clima mensual Villavicencio, Colombia.*

<https://www.weather-atlas.com/es/colombia/villavicencio-clima>

Zaragoza, V., Blasco, R., Vilata, J., Pérez, A., Sierra, C., Esteve, A. y De la Cuadra, J. (2016). Dermatitis alérgica de contacto a cosméticos, estudio clínico-epidemiológico en un hospital terciario. *Actas Dermo-Sifiliográficas*, 107(4), 329-336.


<https://doi.org/10.1016/j.adengl.2016.02.022>

Watanabe, T. (2002). *Pictorial atlas of soil and seed fungi: morphologies of cultured fungi and key to species*. CRC press.

Webster J. (1986). *Introduction to Fungi*. 2ª ed. Cambridge University Press.

Anexos

Anexo 1. Análisis de suelo Granja Agroecológica UNIMINUTO.

 UNIVERSIDAD DE LOS LLANOS	PROCESO DE GESTIÓN DE APOYO A LA ACADEMIA			
	FORMATO ENTREGA DE RESULTADOS ANÁLISIS QUIMICO DE SUELOS			
	Código: FO-GAA-92	Versión: 02	Fecha de aprobación: 04/06/2019	Página: 1 de 1

AGRICULTOR: AGROTODOS S.A.S			Fecha: 09/04/2021		
Municipio: VILLAVICENCIO	Vereda: BARCELONA	Finca: GRANJA UNIMINUTO	Lote: 7 Y 8		
Altura (msnm)	Área: ha	Topografía: PLANA	Cultivo: YUCA Y PLATANO		
Departamento: META			Muestra N°: 399		

ANÁLISIS DE FERTILIDAD										
Parámetro	pH	Nt (%)	MO (%)	P (ppm)	Al (meq/100 g)	K (meq/100 g)	Ca (meq/100 g)	Mg (meq/100 g)	Na (meq/100 g)	B. T. (meq/100 g)
Resultado	5.2	0.16	3.2	4.3	0.60	0.08	1.75	0.25	0.04	2.12
Valoración	Fuertemente Ácido	Medio	Medio	Bajo	Probablemente no hay problemas con el Al	Bajo	Bajo	Bajo	Nivel Normal	Bajo

ELEMENTOS MENORES (ppm)						OTRAS DETERMINACIONES				
Parámetro	B	Cu	Mn	Fe	Zn	C.O (%)	S	CICA (meq/100 g)	CICe (meq/100 g)	CE (mmhos/cm)
Resultado	0.13	1.20	8.65	319.37	0.60	1.84	0.51		2.72	
Valoración	Bajo	Medio	Medio	Alto	Bajo	Medio	Bajo		Bajo	

FERTILIZACION		
Se recomienda, aplicar:		
	YUCA	PLATANO
1.- N = Nitrógeno	De 50 a 75 Kg/ha	De 50 a 100 Kg/ha
2.- P = Fósforo (como P ₂ O ₅)	De 75 a 100 Kg/ha	De 75 a 100 Kg/ha
3.- K = Potasio (como K ₂ O)	De 100 a 150 Kg/ha	De 75 a 100 Kg/ha
Se sugiere: Incorporar una de las siguientes cales.		
A. Carbonato de Calcio:	1,0 Ton/ha	C. Hidróxido de Calcio: 0,74 Ton/ha
B. Cal Dolomita:	0,97 Ton/ha	D. Oxido de Calcio: 0,56 Ton/ha
E. MgO:	0,4 Ton/ha	

Relaciones entre Cationes						
Relación	Ca/Mg	Mg/K	Ca/K	Ca+ Mg/K	Ca+ Mg+ K/Al	RAS
Resultado	7,0	3,13	21,88	25,0	3,47	0.04
Valoración	Deficiencia de Mg	Aceptable	Margen Adecuado para K	Dentro del Margen Adecuado para el K	No hay problemas con el Al	Normal
Nota: Consulte al Ingeniero Agrónomo de la zona						

TEXTURA			
% Arena	% Limo	% Arcilla	Textura
76	18	6	FA

Método		 LUIS ALFONSO GUARIN G. Director Laboratorio de Suelos	Fecha de Entrega		
M.O: Walkley Black	B: en frio HCl 0,05M		Día	Mes	Año
S: Fosfato Monobásico de Calcio	P: Bray II				
Cationes: AcNH ₄ , 7N pH 7,0	pH 1.1 (Suelo : Agua)		22	04	2021
Elementos Menores: DTPA					
Al: KCl 1N.					

Anexo 2. Valores estadísticos.

	BLOQUE	Desinfección	Semilla	Concentración	Conservante	Contaminación
1	1	Jabón		1%	Tomillo Enf	1
2	1	Jabón		1%	Tomillo Arras	1
3	1	Jabón		1%	Romero Enf	1
4	1	Jabón		1%	Romero Arrast	1
5	1	Jabón		3%	Tomillo Enf	1
6	1	Jabón		3%	Tomillo Arras	1
7	1	Jabón		3%	Romero Enf	0
8	1	Jabón		3%	Romero Arrast	1
9	1	Jabón		5%	Tomillo Enf	0
10	1	Jabón		5%	Tomillo Arras	0
11	1	Jabón		5%	Romero Enf	0
12	1	Jabón		5%	Romero Arrast	1
13	1	Agua Dest		1%	Tomillo Enf	0
14	1	Agua Dest		1%	Tomillo Arras	1
15	1	Agua Dest		1%	Romero Enf	0
16	1	Agua Dest		1%	Romero Arrast	1
17	1	Agua Dest		3%	Tomillo Enf	1
18	1	Agua Dest		3%	Tomillo Arras	0
19	1	Agua Dest		3%	Romero Enf	0
20	1	Agua Dest		3%	Romero Arrast	0
21	1	Agua Dest		5%	Tomillo Enf	1
22	1	Agua Dest		5%	Tomillo Arras	0
23	1	Agua Dest		5%	Romero Enf	0
24	1	Agua Dest		5%	Romero Arrast	1
25	1	Hipoclorito		1%	Tomillo Enf	0
26	1	Hipoclorito		1%	Tomillo Arras	0
27	1	Hipoclorito		1%	Romero Enf	0
28	1	Hipoclorito		1%	Romero Arrast	0
29	1	Hipoclorito		3%	Tomillo Enf	0
30	1	Hipoclorito		3%	Tomillo Arras	0
31	1	Hipoclorito		3%	Romero Enf	0
32	1	Hipoclorito		3%	Romero Arrast	0
33	1	Hipoclorito		5%	Tomillo Enf	0
34	1	Hipoclorito		5%	Tomillo Arras	0
35	1	Hipoclorito		5%	Romero Enf	0
36	1	Hipoclorito		5%	Romero Arrast	0
37	1	Sin Lavar		1%	Tomillo Enf	1
38	1	Sin Lavar		1%	Tomillo Arras	0
39	1	Sin Lavar		1%	Romero Enf	0
40	1	Sin Lavar		1%	Romero Arrast	1
41	1	Sin Lavar		3%	Tomillo Enf	0
42	1	Sin Lavar		3%	Tomillo Arras	1
43	1	Sin Lavar		3%	Romero Enf	0
44	1	Sin Lavar		3%	Romero Arrast	1
45	1	Sin Lavar		5%	Tomillo Enf	1
46	1	Sin Lavar		5%	Tomillo Arras	0
47	1	Sin Lavar		5%	Romero Enf	1
48	1	Sin Lavar		5%	Romero Arrast	1
49	1	Jabón		1%	Tomillo Enf	1
50	1	Jabón		1%	Tomillo Arras	1
51	1	Jabón		1%	Romero Enf	1
52	1	Jabón		1%	Romero Arrast	1
53	1	Jabón		3%	Tomillo Enf	1
54	1	Jabón		3%	Tomillo Arras	1
55	1	Jabón		3%	Romero Enf	0
56	1	Jabón		3%	Romero Arrast	1
57	1	Jabón		5%	Tomillo Enf	1

58	1	Jabón	5%	Tomillo Arras	0
59	1	Jabón	5%	Romero Enf	0
60	1	Jabón	5%	Romero Arrast	1
61	1	Agua Dest	1%	Tomillo Enf	0
62	1	Agua Dest	1%	Tomillo Arras	1
63	1	Agua Dest	1%	Romero Enf	0
64	1	Agua Dest	1%	Romero Arrast	1
65	1	Agua Dest	3%	Tomillo Enf	1
66	1	Agua Dest	3%	Tomillo Arras	0