

## FORMULACIÓN DE UN PRODUCTO COSMÉTICO CON PROPIEDADES ANTIARRUGAS A PARTIR DEL ACEITE DE SEMILLA DE MEREY

VIKY MUJICA, MARIAM DELGADO, MARYORE RAMÍREZ, INGRID VELÁSQUEZ \*, CATHY PÉREZ, MARÍA RODRÍGUEZ-CORELLA

Universidad de Carabobo. Facultad de Ingeniería. Escuela de Ingeniería Química.  
Departamento de Ingeniería Química. e-mail: vcmujica@gmail.com; vmujica@uc.edu.ve  
\* Departamento de Física de la Facultad de Ingeniería de la Universidad de Carabobo

Recibido: octubre de 2008

Recibido en forma final revisado: abril de 2010

### RESUMEN

La investigación se centra en la extracción, purificación y caracterización del aceite de la semilla de merey a escala piloto en un equipo Soxhlet. En la extracción se aplica un diseño de experimento factorial, para establecer las mejores condiciones de operación, la interacción entre las variables y su incidencia en el proceso. Del análisis proximal de la semilla se obtiene: humedad 6,744%; cenizas 2,842%; calcio 0,0267%; fibra cruda 1,768%; proteínas 19,2996% y grasa libre 43,5335%, ajustado a lo esperado. El rendimiento es 38,02% para 1,5kg de semillas y 8,0L de solvente (n-hexano). La cantidad de semilla y el volumen de solvente influyen en el proceso de extracción, no así la interacción entre ellas. De la caracterización del aceite se tienen: índice de saponificación 181,8 mg KOH/g aceite, yodo 71,4 cg I/g aceite, acidez 1,23 mg NaOH/g aceite, peróxido 1,8 meq O<sub>2</sub>/g aceite, índice de refracción 1,4721 adim, pH 5,5, densidad relativa 0,89844, viscosidad dinámica 71,6 cP y color 2,5 rojo/ 25 amarillo. El perfil de ácidos grasos obtenido permite nombrarlo como aceite linoléico. Los valores obtenidos para el producto cosmético con respecto a pH, densidad relativa, viscosidad dinámica a 40°C y 10 rpm e índice de acidez son los siguientes: 7,50; 1,2468 g/mL; 21.000 cP y 1,85 mg NaOH/g respectivamente. El estudio preliminar de mercado indica una aceptación del producto cosmético, calificando al mismo en aspecto, olor y adsorción como bueno y muy bueno. Se logra un 78,4 % de atenuación de las arrugas.

*Palabras clave:* Extracción, aceite de merey, caracterización, análisis proximal, producto cosmético

## FORMULATION OF A COSMETIC PRODUCT WITH ANTI-WRINKLE PROPERTIES BASED ON CASHEW SEED OIL (*Anacardium Occidentale L*)

### ABSTRACT

This study focuses on the pilot scale extraction, characterization and purification of cashew oil by using Soxhlet equipment. An experimental design is used in the extraction in order to set better operative conditions. Variable interaction and its influence on the process are analyzed. From oil proximal analysis, the following results are obtained: moisture 6.744%, ash 2.842%, calcium 0.0267%, fiber 1.768%, protein 19.2996%, free fat 43.5335%; these results are adjusted to the expected. A 38.02% yield was obtained by using 1.5 kg of seeds and 8.0 L of solvent (n-hexane). Seed batch and solvent volume are important variables in the extraction process, there being no interaction between them. From oil characterization properties were defined: saponification index 181.8 mg KOH/g, iodine 71.4 cg I/g, acidity 1.23 mg NaOH/g, peroxide 1.8 meq O<sub>2</sub>/g, refraction index 1.4721, pH 5.5, relative density 0.89844, dynamic viscosity 71.6 cP, color 2.5 red/25 yellow. Fatty acid profile allows us to define this oil as linoleic. The values obtained for the cosmetic product with regards to pH, relative density, dynamic viscosity a 40°C and 10 rpm, acidity index are: 7.50; 1.2468 g/mL; 21.000 cP y 1.85 mg NaOH/g respectively. The study of the market indicates acceptance of the cosmetic product in aspect, smell and adsorption as good and very good. A 78.4% attenuation in the wrinkles was obtained.

*Keywords:* Extraction, cashew oil, characterization, proximal analysis, cosmetic product

### INTRODUCCIÓN

El merey (*Anacardium Occidentale L*) es un cultivo de

múltiples usos en la industria de alimentos, farmacéutica y cosmética. Venezuela es un potencial agricultor de merey, por ello la investigación presenta una alternativa de uso

me diante la formulación de un producto cosmético con propiedades antiarrugas a partir del aceite su semilla.

## TÉCNICAS EXPERIMENTALES

### Caracterización de la semilla y extracción del aceite

Para el desarrollo del producto cosmético, se extrae con solvente el aceite de la semilla utilizando un equipo Soxhlet a escala piloto, ubicado en el Laboratorio de Ingeniería Química de la Universidad de Carabobo. En el Laboratorio de Alimentos de la Escuela de Ingeniería Química, se realiza la caracterización de la semilla de merey basada en su composición nutricional aplicando para ello la normativa venezolana COVENIN. Los nutrientes considerados son: porcentaje de cenizas (COVENIN 328-2001), porcentaje de humedad (COVENIN 1156-1979), porcentaje de calcio (COVENIN 1158-1982), fibra cruda (COVENIN, 1194-1979), proteínas (COVENIN 1195-1980) y grasa libre (COVENIN 3218-1996). Para la toma de estas muestras, se utiliza la norma COVENIN 635:1997, que establece el método general de muestreo aplicable a materias primas de origen animal, vegetal y mineral.

En la planificación del experimento se recopila información de trabajos anteriores del proceso de extracción de aceites de semillas oleaginosas y la caracterización de las mismas. Se seleccionan las variables independientes a analizar y los niveles de dichas variables. Basándose en estudios del proceso de extracción realizadas por: Colón, & González (2004); Blanco, L (2004); y Bravo, & Pérez (2005), se concluye que las variables más incidentes son: cantidad de semilla y volumen de solvente. El tamaño de partícula no es una variable que se considera por los altos costos de adquisición de la semilla. Además, presenta un alto contenido graso, que incide durante la molienda formando aglomerados que dificultan el paso del merey molido por tamices. Los niveles en volumen de solvente empleado, se seleccionan en función en los estudios citados anteriormente (Tabla 1).

**Tabla 1.** Niveles de las variables consideradas en el proceso de extracción

Variable	Nivel 1	Nivel 2
Cantidad de semilla, Kg	1,0	1,5
Volumen de solvente, L	6	8

Una vez que se establecen las variables independientes y sus niveles en el proceso de extracción, se analizan mediante un diseño de experimento factorial la influencia de cada variable sobre el proceso de extracción. El modelo del diseño es del tipo NV, donde N representa los niveles a analizar y V el número de variables independientes. Finalmente resulta

2<sup>2</sup>, obteniéndose así un total de 4 experimentos para los cuales se realizan dos réplicas, teniendo como resultado 8 experimentos (Kuehl, 2001).

En la conducción del experimento se definen los equipos a utilizar: un equipo de extracción Soxhlet a escala piloto con una capacidad de 18L de solvente en el calderín y 4L en el vaso extractor, torre de relleno y reóstatos. Adicionalmente, se tiene un distribuidor de flujo a la entrada del vaso extractor para lograr la dispersión del solvente n-hexano sobre la torta de extracción. También se emplean un refractómetro Tipo Abbe modelo 320 para la medición del índice de refracción y un molino mecánico para la molienda de las semillas. Asimismo, se diseñan los instrumentos para la recolección de datos que permiten realizar el estudio del proceso de extracción del aceite.

Para la extracción del aceite se utiliza como disolvente el n-hexano grado técnico por poseer un bajo costo, toxicidad moderada y de fácil disponibilidad. En la Tabla 2 se muestran sus principales propiedades, es una sustancia química manufacturada del petróleo, compuesta esencialmente de hidrocarburos acíclicos saturados que contienen 6 átomos de carbono. Es un líquido incoloro de olor levemente desagradable, sumamente inflamable y cuyos vapores pueden causar explosión (Mehlenbacher, 1977). El n-hexano posee propiedades fisicoquímicas apropiadas para la extracción de grasas y aceites; ya que posee un punto de ebullición relativamente bajo que le permite ser separado del extracto mediante un proceso de destilación simple, no posee polaridad lo que contribuye a disolver las grasas y aceites presentes en la matriz celular de las semillas vegetales.

**Tabla 2.** Propiedades fisicoquímicas del hexano

Propiedad	Valor
Fórmula	C <sub>6</sub> H <sub>14</sub>
Peso molecular, g/gmol	86,18
Punto de ebullición, °C	69
Punto de fusión, °C	-95
*Densidad, g/mL	0,659
*Presión de vapor, kPa	16
*Índice de refracción, adim	1,3750
Punto de inflamación, °C	-22
Temperatura de autoignición, °C	240

\*Propiedades a 20 °C

Entre las propiedades físicas del hidrocarburo se encuentran baja densidad y tensión superficial –comparadas con el agua por ejemplo que posee valores de la tensión superficial de 72 dinas/cm<sup>2</sup> y densidad de 1gr/ml– lo que favorece el proceso de extracción y disolución, valores del calor de vaporización bajo que disminuye la cantidad de energía

utilizada para llevar el solvente a las condiciones de temperatura requeridas.

Estas características permiten fundamentar la selección del n-hexano como solvente en la investigación.

Para llevar a cabo las corridas experimentales en el equipo de extracción sólido-líquido (Soxhlet), es necesario la preparación de la semilla realizando su secado y molienda. Las semillas en estudio están rodeadas por un duro pericarpio, para removerlo se dejan secar al sol por tres días y con el uso de un martillo se somete el pericarpio a golpes fuertes hasta su apertura, y de allí se extrae la semilla. Luego se seca la semilla en una estufa, durante un tiempo determinado por los resultados de la prueba de humedad. Seguidamente, se somete la semilla a un proceso de molienda en un molino mecánico para aumentar la superficie de contacto entre el sólido y el solvente.

Por otra parte, es necesaria la construcción de la curva de calibración del índice de refracción de la mezcla aceite-hexano, para conocer cuándo detener el proceso de extracción. La elaboración de la curva de calibración para el índice de refracción de la mezcla hexano-aceite constituye una herramienta fundamental, ya que a través de la misma, se logra conocer la concentración de la mezcla aceite-hexano que desciende del vaso extractor, así como el momento en que se debe detener el proceso extractivo. La curva de calibración se construye preparando soluciones de cada mezcla a diferentes concentraciones conocidas, midiéndoles a cada una el índice de refracción asociado. La preparación de las distintas mezclas se lleva a cabo midiendo volúmenes conocidos de aceite y de hexano, para posteriormente mezclar y determinarle mediante un refractómetro el índice de refracción. Una vez obtenidos varios puntos a diferentes concentraciones, se grafica la composición másica de la mezcla aceite-hexano en función su índice de refracción.

Una vez acondicionada la semilla, se carga la cantidad de semilla y solvente establecida en el diseño de experimento en el vaso extractor y calderín del equipo Soxhlet. El seguimiento del proceso se lleva a cabo tomando una muestra de la mezcla contenida en la recirculación del vaso extractor al calderín para medir su índice de refracción; con ayuda de la curva de calibración del refractómetro, se determina la fracción de aceite en la muestra para así determinar la composición másica de aceite presente; cuando ésta se hace cero, se detiene el proceso debido a que sólo hay n-hexano en el vaso extractor. Una vez realizados todos los experimentos, se determina el rendimiento de cada extracción, que consiste en la aplicación de un modelo

matemático que relaciona la cantidad de aceite obtenido y la cantidad de semilla alimentada (Badui, 1997).

$$R = \frac{m_{\text{Aceite}}}{m_{\text{Semilla}}} \times 100 \quad (1)$$

donde:

$R$ : Rendimiento, %

$m_{\text{Aceite}}$ : Cantidad de aceite obtenido, g

$m_{\text{Semilla}}$ : cantidad semilla alimentada, g

## ANÁLISIS ESTADÍSTICO

En el análisis de las interacciones de variables se utilizó el software estadístico Statgraphics Plus versión 5.1 para Windows®, siendo el indicador para cada interacción el factor de Fisher. La extracción bajo las mejores condiciones de operación, se llevó a cabo bajo las especificaciones obtenidas del software; el cual proporciona el mejor arreglo de las variables independientes en función de los niveles y con esta información se realiza la extracción del aceite en estudio.

### Caracterización del aceite extraído bajo las mejores de operación

Para la caracterización del aceite es necesario purificarlo mediante una filtración al vacío utilizando un filtro Büchner que elimina residuos sólidos. Luego se somete a un calentamiento no mayor a 70 °C, con agitación constante por 10 minutos para así remover las trazas de hexano existentes.

Se determinan las propiedades físico-químicas al aceite extraído mediante análisis de: índice de saponificación (COVENIN 323-1998), índice de yodo (COVENIN 324-2001), índice de acidez (COVENIN 325-2001), índice de peróxidos (COVENIN 508-2001). Después de purificar el aceite se realizan los siguientes análisis: índice de saponificación (COVENIN 323-1998), índice de yodo (COVENIN 324-2001), índice de acidez (COVENIN 325-2001), índice de peróxidos (COVENIN 508-2001), índice de refracción (COVENIN 702-2001), densidad relativa (COVENIN 703-2001), viscosidad (COVENIN 30-1997), color (Lovibond) realizado por el Departamento de Control de Calidad de Industrias Diana C.A. Finalmente se realiza el perfil de ácidos grasos, basándose en la norma COVENIN 2281:2002, utilizando previamente el método trifluoruro de Boro (BF<sub>3</sub>) para la preparación de la muestra en ésteres metílicos mediante una esterificación.

El perfil de ácidos grasos se lleva a cabo en un cromatógrafo

a gas HP-5890 serie II constituido por una columna DB-23 (ver Tabla 3), acoplado a un integrador HP-3396 serie II, ubicado en el Departamento de Farmacología de la Facultad de Ciencias de la Salud de la Universidad de Carabobo.

**Tabla 3.** Características de la columna DB-23 del cromatógrafo a gas

Características de la columna	Parámetro
Gas de arrastre	Hidrógeno
Velocidad del gas de arrastre	0,99 ±0,1 mL/min
Rango de temperatura	(150 – 180) ±0,1°C
Fase	(50% cianopropil) metilpolisiloxano
Diámetro Interno	0,32 ±0,1 μm
Espesor de la película	0,25 ±0,1 μm

A partir de los resultados cromatográficos se calculan los porcentajes máxicos de los ácidos presentes utilizando la siguiente ecuación (Blanco, 2004).

$$\%AG_i = \frac{A_{AG_i}}{A_T} \times 100 \quad (2)$$

donde:

$\%AG_i$ : ácido graso presente en la muestra, %

$A_{AG_i}$ : área del pico del ácido graso, mm<sup>2</sup>

$A_T$ : área total de los picos de los ácidos grasos que componen la muestra, mm<sup>2</sup>

### Formulación del producto cosmético

La formulación del producto cosmético (Comisión Europea de Cosméticos, 2006) consiste en una emulsión de aceite en agua (O/W), se realiza bajo las normativas de calidad impuestas por la industria cosmética de Farmacopea de Argentina, buenas prácticas de manufactura cosmética de la Comunidad Andina y las normas de fabricación de medicamentos de la comisión Europea de cosméticos. La formulación se elabora a través del análisis de la estabilidad de la proporción de aceite adecuada para una base (excipiente) seleccionada, caracterizándola para posteriormente realizarle pruebas de estabilidad y microbiológicas.

La elaboración del producto cosmético está definida por cuatro fases: La fase acuosa, la fase oleosa, la fase formadora de gel y la última fase compuesta por el principio activo. (Bravo, & Pérez, 2005). La fase acuosa está constituida por agua destilada y carbopol 940; el agua destilada es el principal componente en la base de la crema cosmética, pues se encuentra en una alta proporción en la fase acuosa. Su uso principal es dar volumen a la crema, disminuir la viscosidad de la mezcla, ser solvente de la fase acuosa y ser

fase continua en la emulsión. La cantidad de agua destilada usada en las emulsiones depende de la consistencia que se desee en el producto (Pérez, 2003). El Carbopol 940 es un polímero del ácido vinílico, de alta capacidad hidrofílica, formado de geles, espesante, estabilizador de emulsiones, dispersable en agua. Muy utilizado en cosmética por sus cualidades para formar geles transparentes. Generalmente se usa en pequeñas proporciones, dependiendo de que tan consistente se desee la fase (www.portalcosmetico.info, 2006).

La fase oleosa está formada por monoestearato de glicerilo, vitamina E, alcohol cetílico, emulgin B2, aceite mineral, nipasol y el perfume. El monoestearato de glicerilo es un compuesto orgánico de la familia de los ésteres, de color blanco amarillento en condiciones normales, que se disuelve en solventes orgánicos en caliente. Su principal función es actuar de agente surfactante no iónico. Es ampliamente utilizado como emulgente y espesante en cremas cosméticas (Pérez, 2003). La vitamina E o alfatocofeol protege a los ácidos grasos insaturados de su oxidación a peróxidos, también protegen de la oxidación a la vitamina A y los carotenos (Chassaigne, & Guevara, 1987); el alcohol cetílico, es un alcohol de cadena normal, tiene alto peso molecular, y presenta amplio empleo como espesante y/o estabilizante de emulsiones y posee propiedades cosméticas emolientes, humectantes y suavizantes. (www.portalcosmetico.info, 2006). Por otra parte el emulgin B2 (cetearato-20), se presenta como pequeñas partículas ovaladas de color blanco amarillento. Es un emulsificante no iónico empleado en la elaboración de emulsiones tipo O/W, compatible con todas las clases de ingredientes activos y muy efectivo para mantener la estabilidad de la emulsión (Bravo & Pérez, 2005). El aceite mineral, es una sustancia líquida, transparente, inodora, insípida, menos densa que el agua, insoluble en esta, poco soluble en alcohol y soluble en solventes orgánicos. Se usa para dar volumen y aporta propiedades emolientes e hidratantes (Chassaigne, & Guevara, 1987). El nipasol (propilparabeno), es un polvo fino, inodoro, incoloro, sin sabor, no irritante ni tóxico. Su función es prevenir la actividad microbiana, destruyendo a los hongos y levaduras que alteran la fase oleosa. El máximo permisible para productos cosméticos es de 0,4% (Bravo & Pérez, 2005). El perfume, es una mezcla de aceites esenciales aromáticos, alcohol y un fijador, utilizado para proporcionar un agradable y duradero aroma.

La fase formadora de gel está integrada por trietanolamina, propilenglicol y nipagin. La trietanolamina, es un líquido incoloro, miscible en agua y alcohol, soluble en cloroformo, ligeramente soluble en éter y benceno, no tóxico. Se usa como agente humectante. (Chassaigne & Guevara, 1987).

El propilenglicol, es un líquido incoloro, viscoso, estable, higroscópico y de olor débil. Es utilizado como disolvente y humectante. (Bravo & Pérez, 2005). El nipagin (metilparabeno) es un polvo blanco fino, inodoro, sin sabor, no tóxico ni irritante. Su función es prevenir la actividad microbiana, inhibiendo y destruyendo a los gérmenes, microbios y bacterias que deterioran o alteran la fase acuosa. El máximo permisible en productos cosméticos es de 0,4 % (Pérez, 2003). En la preparación del producto cosmético, la cantidad de principio activo que es el aceite de semilla de mery extraído que se emplea depende de la estabilidad que posea la emulsión. El máximo recomendado es de 5 % Normas de Fabricación de la Comisión Europea de Cosméticos (2006).

### **Preparación del producto cosmético**

La metodología y materiales utilizada en la formulación del producto cosmético es la empleada por Bravo & Pérez (2005). Los materiales y equipos requeridos son los siguientes: 4 beakers, 1 balanza analítica, 2 termómetros, 1 espátula de acero inoxidable, 1 plancha eléctrica y agitadores de vidrio. Se deja hidratando el carbopol 940 en el agua destilada durante 24 horas, de manera de propiciar la formación del gel. Se pesan los compuestos químicos especificados anteriormente, pesando cada fase por separado y adicionando cada componente de la fase correspondiente en un mismo beaker tarando la balanza luego de cada adición, para evitar pérdidas por trasvasado. Se agita vigorosamente cada fase hasta observar mezclas homogéneas.

Luego se calienta cada fase en un rango de 70°C-75°C aproximadamente, inmediatamente se mezcla la fase acuosa con la fase formadora de gel, manteniendo la temperatura indicada. Luego se añade a la mezcla anterior la fase oleosa, asegurándose que al unir las fases éstas posean la misma temperatura.

Se detiene el calentamiento y se mezcla utilizando la técnica de espatulación, que consiste en producir un roce fuerte entre la emulsión y las paredes del beaker en forma circular y de manera envolvente y dejando que la espátula deslice hasta el fondo del recipiente, de tal forma que no se incorpore aire a las fases. Cuando esta fase haya alcanzado la temperatura ambiente se añade el principio activo mezclando hasta obtener una mezcla homogénea y se realiza el envasado del producto. El envase debe proporcionar un adecuado nivel de protección del contenido, preservándolo de los factores adversos que lo rodean. El envase que se selecciona es un envase de polietileno con capacidad de 50 cm<sup>3</sup>. La escogencia del envase se basa en los siguientes

aspectos: Capacidad de conservar y proteger el producto, bajo costo, facilidad de almacenamiento y estética en la presentación.

### **Caracterización del producto cosmético**

Una vez formulada y preparada la crema antiarrugas se valoran las siguientes propiedades organolépticas: color, olor, brillo y apariencia. En cuanto a las propiedades fisicoquímicas son consideradas: densidad (Mehlenbacher, 1977), pH, viscosidad e índice de acidez. Las pruebas microbiológicas efectuadas al producto elaborado son: colonias bacterianas y conteo total de hongos y levaduras (COVENIN 2130-1998 y 3462-1999), realizadas por la Unidad de Microbiología Ambiental de la Facultad de Ciencias de la Salud. También se determina la sensibilidad en la piel (propiedad biológica), el método empleado es el del parche con la técnica de la Asociación Argentina de Alergia e Inmunología (2002); consiste en aplicar el producto en la espalda o el antebrazo de la persona, en una cantidad máxima de 4 gramos, colocándole encima un parche conformado por una mota de algodón y una tira de cinta adhesiva especial. Luego de 24 horas se examina la piel en búsqueda de irritación, enrojecimiento, picazón o formación de ampollas. Si se observa alguna reacción desfavorable en el transcurso de este tiempo, debe suspenderse la prueba inmediatamente. La prueba se repite dos veces dejando un día de por medio, se practica a un total de 10 personas voluntarias con diferentes tipos de piel.

También se efectúan las pruebas de estabilidad, que nos indican la preservación de sus propiedades físicas y químicas a través del tiempo. Para ello se realizan dos pruebas: estrés térmico y centrifugación, las cuales se efectúan en el Laboratorio de Química Orgánica y el Laboratorio de Alimentos de la Facultad de Ingeniería de la Universidad de Carabobo, respectivamente. Durante el estrés térmico, se toman tres muestras del producto y se someten a distintas temperaturas. Una muestra se lleva a la estufa a 40 °C, la segunda muestra se coloca a 15 °C y la tercera muestra se deja a temperatura ambiente. Este ensayo se realiza por 8 días, verificando las muestras diariamente para observar si se produce separación de fases y/o algún cambio desfavorable en cuanto a; olor, color y pH. (Guía de Trabajos Prácticos. Tecnología Farmacéutica de la Universidad de Chile, 2004). Posteriormente, se colocan dos muestras del producto en una centrífuga a una velocidad angular de 3000 rpm por un tiempo de 20 minutos y se observa si ocurre la separación de fase (Guía de Trabajos Prácticos. Tecnología Farmacéutica de la Universidad de Chile, 2004).

## RESULTADOS

### Caracterización de la semilla de merey (*Anacardium Occidentale L*) y extracción del aceite

Los resultados obtenidos de composición nutricional de la semilla de merey se muestran en la Tabla 4.

Los rendimientos que se obtienen para cada corrida experimental se muestran en la Tabla 5, se puede apreciar que el mayor rendimiento se obtiene para una cantidad de semilla de 1.500 kg y un volumen de solvente de 8,0 L, siendo éste de 38,02 %. Con los valores reportados en la

**Tabla 4.** Composición nutricional obtenida de la semilla de merey (*Anacardium Occidentale L*)

Nutriente	Valor nutritivo obtenido (g/100 g de semilla)	Valor nutritivo teórico (g/100 g de semilla)	Desviación (g/100 g de semilla)
Humedad	(6,744 ± 0,006)	5,6	1,144± 0,006
Cenizas	(2,842 ± 0,007)	2,6	0,242± 0,007
Calcio	(0,0267 ± 0,0003)	0,038	0,0113± 0,0003
Fibra cruda	(1,768 ± 0,004)	2,9	1,132± 0,004
Proteína	(19,2996 ± 0,0006)	19,4	0,1004± 0,0006
Grasa libre	(43,535 ± 0,005)	42,2	1,335± 0,005

Tabla 5 y empleando el software estadístico Statgraphics Plus versión 5.1 para Windows se tienen los resultados reportados en la Tabla 6.

Con ella se evidencian los factores influyentes en función del valor del nivel de significancia; si este valor es menor

al 5%, existe la posibilidad de que los factores sean significativos sobre el proceso (Walpolen *et al.* 1999).

El resultado del rendimiento obtenido experimentalmente correspondiente a las corridas confirmatorias del proceso de extracción se reportan en la Tabla 7.

**Tabla 5.** Rendimiento obtenido en la extracción del aceite de la semilla de merey para las distintas combinaciones de niveles de las variables involucrada

Masa de semilla (ms ± 0,0001) kg	Volumen de hexano (Vh ± 0,2) L	Masa de aceite obtenida (ma ± 0,0002) kg	Rendimiento (%R ± 0,02) %
1,0000	6,0	0,3196	31,96
1,0000	6,0	0,3130	31,30
1,0000	8,0	0,3698	36,98
1,0000	8,0	0,3728	37,26
1,5000	6,0	0,4864	32,44
1,5000	6,0	0,4804	32,02
1,5000	8,0	0,5702	38,02
1,5000	8,0	0,5616	37,44

**Tabla 6.** Resultados arrojados por el software estadístico Statgraphics Plus versión 5.1 para Windows en el análisis del proceso de extracción del aceite de la semilla de merey

Fuente	Grados de libertad (GL)	Suma de cuadrados (SS)	Suma de cuadrados ajustada	Suma de la media ajustada (MS)	Factor de Fisher (Fo)	Nivel de significancia (P)
A: Cantidad de Semilla	1	0,973	0,973	0,973	8,97	0,040
B: Volumen de solvente	1	58,374	58,374	58,374	537,95	0,000
A*B	1	0,004	0,004	0,004	0,03	0,864
Error	4	0,434	0,434	0,109	-	-
Total	7	61,732	-	-	-	-

**Tabla 7.** Rendimiento obtenido en la extracción del aceite de la semilla de merey para la mejor combinación de los niveles de las variables involucradas

Masa de semilla (ms ± 0,0001) kg	Volumen de hexano (Vh ± 0,2) L	Masa de aceite obtenida (ma ± 0,0002) kg	Rendimiento (%R ± 0,02) %
1,5000	8,0	0,5682	37,88
1,5000	8,0	0,5788	38,58

### Caracterización del aceite extraído de la semilla de merey (*Anacardium Occidentale L*)

Una vez obtenido el aceite de la semilla de merey bajo las mejores condiciones de operación, se procede a caracterizarlo para determinar las propiedades físico-químicas que se reportan en la Tabla 8.

En cuanto al perfil de ácidos grasos, los porcentajes de ácidos grasos tanto insaturados como saturados presentes en el aceite de la semilla de merey reportados en la bibliografía son: oleico 57,1%, linoléico 22,5%, palmítico 9%, esteárico 9%, linolénico 2%, no identificados 0,4% (Teco Finance Export, 2006). En el aceite obtenido, los ácidos grasos con mayor proporción son el linoléico con un 52,82% y el oleico con un 42,64% pero en diferentes proporciones.

**Tabla 8.** Propiedades fisicoquímicas del aceite de la semilla de merey

Propiedad del aceite	Valor
Índice de saponificación, $I_s$	181,8 ± 0,9 mg KOH/g aceite
Índice de iodo, $I_i$	71,4 ± 0,6 Cg I/g aceite
Índice de acidez, $I_A$	1,23 ± 0,03 mg NaOH/g aceite
Índice de peróxidos, $I_p$	1,8 ± 0,2 meq $O_2$ /g aceite
Índice de refracción, $\eta$	1,4721 ± 0,0003 adim
pH, $pH_a$	5,50 ± 0,01 adim
Densidad relativa, $\rho_r$	0,89844 ± 0,00002 adim
Viscosidad dinámica, ( $\mu_d$ )	71,6 ± 0,1 Cp
Color Lovibond (rojo / amarillo)	2,5 / 25

\* Propiedad medida en un viscosímetro de Brookfield con un spin N° 2 a 26 °C y 100 rpm.

### Formulación del producto cosmético, utilizando como ingrediente activo el aceite extraído

El producto cosmético consta de cuatro fases: la acuosa constituida por: agua destilada, y carbopol 940; la oleosa por: monoestearato de glicerilo, vitamina E, alcohol cetilico, emulgin B2 (cetearato-20), aceite mineral, nipasol (propilparabeno), perfume; la formadora de gel por: trietanolamina, propilenglicol, nipagin (metilparabeno); y el aceite de merey como principio activo (Bravo, & Pérez, 2005). Las emulsiones cosméticas son las más variadas en cuanto a tipos y formas. Las propiedades específicas que brindan son aportadas generalmente por los principios activos que poseen.

### Caracterización físico-química del producto formulado

Las propiedades fisicoquímicas del producto cosmético se aprecian en la Tabla 9.

**Tabla 9.** Propiedades fisicoquímicas del producto cosmético

Propiedad del producto cosmético	Valor experimental	Valor teórico (Castro, 1973)
pH, $pH_{pc}$	7,50± 0,01) adim	7-8
Densidad, $A_{pc}$	1,2468± 0,00002 g/mL	0,9-1,01
Viscosidad dinámica* $\mu_{pc}$	21.000± 1c	4.000-18.000
Índice de acidez, $I_{A_{pc}}$	1,85± 0,03 mg NaOH/g aceite	2%

\*Propiedad medida en un viscosímetro de Brookfield con un spin N° 5 a 40 °C y 10 rpm.

### Caracterización microbiológica y biológica del producto formulado

Las emulsiones, en especial las O/W, tienen un importante riesgo de contaminación microbiológica; esta contaminación puede provenir de las materias primas más susceptibles a contaminarse, como el agua o algunos extractos vegetales o de los envases que pueden favorecerla. Por ese motivo se realizan controles microbiológicos, para asegurar que no se produce la contaminación ni que los conservantes pueden ser inhibidos por la acción de los emulgentes empleados. Las pruebas microbiológicas efectuadas al producto cosmético evidencian que las colonias bacterianas de aerobios mesófilos se encuentran en 6 UFC/g, los mohos y levaduras en menor a 1 UFC/g.

En el estudio de los efectos que pueda tener el producto sobre la piel (características biológicas) se realiza la prueba del parche que permite reconocer si una sustancia es la causa de una inflamación cutánea al contactar con la piel.

Esta irritación se llama dermatitis de contacto. El estudio es realizado en 10 personas de las cuales dos manifestaron tener piel sensible; durante el período en estudio no se observó reacción alguna en las personas bajo estudio.

### Pruebas de estabilidad del producto formulado

Con respecto a las pruebas de estabilidad, éstas permiten garantizar que las propiedades físicas y químicas se mantengan constantes durante un periodo de tiempo. Para el estudio de la estabilidad del producto se realiza el análisis de estrés térmico y el ensayo de centrifugación. Los resultados arrojados en el análisis de estrés térmico luego de un seguimiento de 8 días se aprecian en la Tabla 10. En el estudio de estabilidad por centrifugación que indica la tolerancia a la agitación a altas revoluciones de los ingredientes del producto cosmético, se evidenció que no existe separación de fases a una velocidad angular de 3.000 rpm durante 20 min.

Tabla 10. Estabilidad del producto cosmético por estrés térmico

Muestra	Temperatura (T±0,1) °C	pH (pH± 0,01)	Apariencia	Cambio de fases
1	15	7,50	Blanco,	No
2	25	7,50	Blanco,	No
3	40	7,50	Blanco,	No

### Pruebas de aceptación del producto formulado

Para conocer la aceptación de las personas hacia el producto cosmético, fueron entregadas muestras del mismo a 51 personas de diferente sexo, con edades comprendidas entre 40 y 60 años, a las cuales se les recomendó utilizar el producto durante 15 días seguidos aplicándolo en las noches con el cutis limpio y seco.

Durante el día la piel se enfrenta a las agresiones ambientales como la radiación ultravioleta y contaminación, que alteran el funcionamiento celular, para lo cual es necesario utilizar productos que hidraten y lubriquen con activos que arrastran moléculas de agua al interior de la epidermis, y emolientes que fortalecen la capa lipídica, a fin de que la piel pueda retener mejor la humedad y disminuya su evaporación. Sin embargo, es en la noche cuando la piel se recupera. Al dormir los músculos se relajan, la sangre llega al cerebro con mayor fluidez, el sistema inmunológico se fortalece y las células se regeneran más rápido. Es por ello, que las cremas destinadas a las horas de sueño se basan en activos capaces de potenciar la regeneración celular y reactivar

procesos biológicos esenciales como la reparación de las defensas, para construir una barrera frente al exterior.

La sustitución de células deterioradas, por células nuevas ocurre mientras se duerme, así el uso de cremas de noche con potenciales para atenuar los signos de deterioro hacen que se revitalice la piel; además, de noche los tejidos se irrigan y se relajan ya que se encuentran reposando y sin contracciones, condición fundamental para que las cremas penetren mejor.

Se determinó que el 74,5% de las personas opinan que el aspecto del producto es bueno, el 25,5% que es muy bueno, de las cuales el 88,2% utilizó el producto regularmente, mientras que el 11,8% manifestó no haberlo hecho. Se exploró la característica antiarrugas del producto cosmético, encontrándose que el 78,4% afirma haber conseguido mejoras en el aspecto y/o atenuación de las arrugas y el 21,6% opina no haber conseguido cambios importantes.

También se recopiló información sobre las zonas del rostro donde se obtuvieron mejores resultados, encontrándose que



un 45,1%, 25,5%, 23,5% y 5,9% en la frente, contorno de ojos, mejillas y en el contorno de labios, respectivamente.

## DISCUSIÓN

### Caracterización de la semilla de merey (*Anacardium Occidentale L*) y extracción del aceite

El contenido de humedad obtenido es de 6,744 g/100 g de semilla observándose una diferencia con respecto al valor teórico de 1,144 g/100 g de semilla; esto se debe al carácter higroscópico de las semillas oleaginosas. De los análisis de cenizas y calcio se obtienen valores de 2,842 g/100 g de semilla y 0,0267 g/100 g de semilla respectivamente; evidenciándose desviaciones con respecto al valor teórico 0,242 g/100 g de semilla, 0,0113 g/100 g de semilla, respectivamente; las mismas ocurren debido a la calidad del suelo y los nutrientes aplicados donde se cosecha el árbol que define su riqueza nutricional. La fibra cruda consiste en el contenido de celulosa además de la lignina y hemicelulosas contenidas en la semilla.

El resultado de este análisis es 1,768g/100 g de semilla, encontrándose un valor bibliográfico de 2,9 g/100 g de semilla, lo cual indica que las semillas ensayadas tienen un contenido de fibra cruda menor al reportado en la bibliografía. Una característica fundamental de los frutos secos como la semilla de merey es su alto contenido en proteínas. El contenido proteico de la semilla estudiada es 19,2996 g/100 g de semilla, no presentándose una desviación significativa con respecto al valor teórico de 19,4 g/100 g de semilla. El contenido de grasa indica la cantidad de ácidos grasos que se encuentran en la semilla, para la semilla de merey este valor oscila entre 40-60 g/100 g de semilla. En el análisis realizado se tiene un contenido de grasa libre de 43,535 g/100 g de semilla, valor que encuentra dentro del rango citado anteriormente. El mayor rendimiento se obtiene para una cantidad de semilla de 1.500 kg y un volumen de solvente de 8,0 L, siendo éste de 38,02 %.

### Variables significativas asociadas al proceso de extracción

Tomando en cuenta los resultados que arroja el software estadístico, se establece que las variables cantidad de semilla y volumen de solvente son influyentes en el proceso de extracción, ya que el valor del nivel de significancia es menor al 5% ( $P < 0,05$ ). La interacción cantidad de semilla-volumen de solvente no es influyente en el proceso de extracción estudiado, ya que el valor del nivel de significancia es mayor al 5%. El factor de Fisher es un valor

que establece la influencia de las variables en el proceso. Si el factor de Fisher experimental ( $F_o$ ) es mayor al factor de Fisher teórico, la variable es influyente.

El valor teórico del factor de Fisher ( $F$ ) para las variables involucradas en el proceso estudiado es de 7,71, verificándose que para las dos variables en estudio  $F_o > F$ , lo cual indica que las variables son influyentes. Adicionalmente, con el análisis del nivel de significancia, las variables cantidad de semilla y volumen de solvente son influyentes en el proceso de extracción. Por otra parte, la interacción de las variables cantidad de semilla-volumen de solvente no es un factor significativo ya que  $F_o < F$  al igual que el nivel de significancia está por encima del 5%. Finalmente, las condiciones más apropiadas según el software utilizado para el análisis del proceso de extracción en estudio son 1,5000 kg de semilla y 8,0L de n-hexano, ya que proporcionan el mayor rendimiento en el equipo entre 73,88% y 38,58%.

### Caracterización del aceite extraído de la semilla de merey (*Anacardium Occidentale L*)

De las propiedades físico-químicas que se reportan en la Tabla 8, se tiene que: el índice de saponificación es de 181,8 mg KOH/g aceite, el cual se encuentra dentro del rango 180-210 mg KOH/g establecido por la norma COVENIN 30 (1997). Por otra parte, el índice de yodo resultó de 71,4 Cg I/g aceite, encontrándose dentro de los parámetros 56-145 Cg I/g aceite exigidos por la norma antes mencionada. El índice de acidez del aceite de la semilla de merey fue de 1,23 mg NaOH/g aceite, el mismo se encuentra por debajo del valor máximo 2 mg NaOH/g establecido por la norma COVENIN 30 (1997). Adicionalmente, el índice de peróxido obtenido es de 1,8 meq O<sub>2</sub>/g aceite, comparándolo con el valor máximo permitido por la norma de 2,0 meq O<sub>2</sub>/g aceite, se evidencia que esta propiedad físico-química se encuentra bajo los parámetros exigidos.

Por otra parte, el índice de refracción de los aceites vegetales oscila entre 1,463 y 1,476 a temperatura ambiente COVENIN 30 (1997); el índice de refracción del aceite obtenido es de 1,4721 adim, que se encuentra dentro del rango establecido. Normalmente el pH de los aceites vegetales es ácido, el pH del aceite de la semilla en estudio resultó 5,50, siendo éste ligeramente ácido. Para el aceite de la semilla de merey la densidad relativa obtenida es de 0,89844 adim, lo cual se encuentra dentro de 0,8969-0,9260 adim (COVENIN 30-1997). La viscosidad dinámica para el aceite de la semilla de merey es de 71,6 cP; al revisar los requisitos de calidad reportados en la norma, se evidencia que no existe un rango para esta característica. Por último,

en la determinación del color del aceite que se realiza por el método Lovibond se obtuvo, para el aceite de la semilla de merey, un valor de 2,5 rojo y 25 amarillo, resultando dentro del rango exigidos por dicha norma.

En cuanto al perfil de ácidos grasos, se tiene que la proporción de éstos en el aceite depende directamente de las condiciones en que se cultiva la semilla, es decir tipo de suelo, clima, nutrientes. Los aceites generalmente son nombrados de acuerdo al ácido graso que se encuentra en mayor proporción; en el caso del aceite de la semilla de merey extraído, el ácido graso con mayor proporción es el linoléico, por tanto el aceite de la semilla de merey analizada se nombra como aceite linoléico.

### **Formulación del producto cosmético, utilizando como ingrediente activo el aceite extraído**

El aceite de la semilla de merey posee un alto porcentaje de ácidos grasos insaturados, vitamina E y vitamina A (retinol), que aportan como principio activo reconstrucción de las capas superiores de la epidermis, permitiendo una mejor hidratación y mayor elasticidad de la piel, proporcionando una mejora parcial de su estructura. El excipiente del producto cosmético formulado está constituido por agentes microbianos (nipasol y nipagin), ingredientes que aportan consistencia y estabilidad –agua destilada, monoestearato de glicerilo, carbopol 940 y emulgin B2–, además de emolientes y humectantes (aceite mineral, propilenglicol, trietanolamina y alcohol cetílico). La formulación del producto se lleva a cabo tomando como referencia formulaciones a base de excipientes y estableciendo el porcentaje de principio activo a utilizar. Las formulaciones del excipiente base están determinadas según la estabilidad que posean las mismas, además del contenido máximo permitido de cada sustancia empleada. El excipiente seleccionado es una emulsión de aceite en agua (O/W).

### **Caracterización fisico-química del producto formulado**

En las propiedades fisicoquímicas del producto cosmético se observa que el pH e índice de acidez se encuentran dentro del rango para cremas cosméticas; mientras que la densidad y viscosidad dinámica están fuera de estos límites, esto indica que el producto es una crema con mayor consistencia y apariencia gruesa. El pH obtenido está dentro del rango permitido para cremas cosméticas, el cual debe estar entre 7 y 8. La densidad relativa de las cremas cosméticas oscila entre 0,90 - 1,01 g/mL y la viscosidad dinámica se encuentra entre 4000 a 18000 cP a 25 °C (Castro, 1973).

El valor de la densidad relativa para el producto desarrollado

así como la viscosidad dinámica está fuera de estos límites, debido a que para mejorar la acción del activo, se pretende crear una crema con mayor consistencia y apariencia gruesa, recomendándose su uso en periodo nocturno para mejorar su efecto. El índice de acidez para cremas corporales indicado por Castro, 1973, debe tener un máximo de 2%, el resultado obtenido fue de  $(1,85 \pm 0,03)\%$  lo cual se encuentra por debajo del máximo permisible.

### **Caracterización microbiológica, biológica y de estabilidad del producto formulado**

Las pruebas microbiológicas efectuadas al producto cosmético evidencian que las colonias bacterianas de aerobios mesófilos se encuentran por debajo del máximo permisible (Castro, 1973).

Los factores que influyen en el desarrollo de microorganismos son básicamente los componentes, el pH, la disponibilidad de oxígeno, la estructura biológica, el poder conservante y la cantidad de agentes antimicrobianos, es lo que determina la formación de microorganismos en el producto cosmético. En los resultados arrojados se aprecia que las colonias bacterianas, así como el conteo total de hongos y levaduras se encuentran por debajo del máximo permisible por la norma venezolana vigente COVENIN 2130 (1998) y 3462 (1999) respectivamente, asegurando así los parámetros de calidad en cuanto a asepsia y cantidad adecuada de agente antimicrobiano en la elaboración del producto.

En el estudio de los efectos que pueda tener el producto sobre la piel (características biológicas) se obtuvo que el producto cosmético no es un agente alérgico ni irritante. De la estabilidad de producto, se tiene que los resultados arrojados en el análisis de estrés térmico se observa que los valores del pH se mantienen constantes durante este periodo al igual que el color y la consistencia, y no se evidencia ningún cambio de fase. El estudio de estabilidad por centrifugación evidencia que no existe separación de fases a una velocidad angular de 3.000 rpm durante 20 min; estos resultados garantizan que el principio activo no se separará del excipiente base.

### **Pruebas de aceptación del producto formulado**

En Venezuela, el mercado de cuidado facial mueve unos 41 millones de BsF/año donde el 37% corresponde a limpieza facial, 29% a hidratación, 23% a productos anti-edad y 9,3% a tonificación, donde la categoría de mayor demanda es para artículos anti-edad (Caveinca 2006). La industria cosmética es un sector con un gran mercado tales como: laboratorios, farmacias, perfumerías, supermercados, profesionales de

la salud, institutos de belleza, etc. (Caveinca, 2006). En el año 2002, el mercado de productos de cuidado personal representaba un total aproximado de venta de 700 millones de US\$, de acuerdo a la cámara Venezolana de la Industria de los Cosméticos y Afines (Caveinca). Por otra parte, el mercado de cosméticos en Venezuela ha venido mostrando cifras estables, y se calcula que tendrá un crecimiento sostenido, que ha motivado a marcas internacionales incorporarse al mercado nacional (Caveinca, 2006).

En general la mayoría de los productos cosméticos son destinados a mujeres entre 35 y más de 45 años, aunque en Venezuela y en el mundo se viene observando un creciente interés por prevenir líneas de expresión en consumidoras de 25 años o menos, tendencia que han entendido y capitalizado las para innovar y hacer más competitivos sus productos (Caveinca, 2006).

De los resultados obtenidos, se evidencia que el producto cosmético desarrollado es capaz de potenciar la regeneración celular e inhibir la aparición de arrugas.

## CONCLUSIONES

El mayor rendimiento para la extracción del aceite se obtuvo para una masa de semilla de 1,5 kg y un volumen de solvente de 8,0L, siendo este de 38,01%.

Las propiedades fisicoquímicas del aceite extraído están en el rango permitido.

El producto cosmético consta de cuatro fases: la acuosa constituida por: agua destilada, y carbopol 940; la oleosa por: monoestearato de glicerilo, vitamina E, alcohol cetilico, emulgin B2 (cetearato-20), aceite mineral, nipasol (propilparabeno), perfume; la formadora de gel por: trietanolamina, propilenglicol, nipagin (metilparabeno) y el aceite de merey como principio activo.

Las características fisicoquímicas, organolépticas, biológicas, microbiológicas y de estabilidad valoradas lo califican adecuado para una crema para uso facial.

Al explorar la característica antiarrugas se tiene que el 78,4% afirma conseguir mejoras en el aspecto y/o atenuación de las arrugas, las zonas del rostro donde se obtuvieron mejores resultados son: la frente, contorno de ojos, mejillas y contorno de labios.

## AGRADECIMIENTOS

Al personal docente y técnico de los laboratorios de Ingeniería Química, Alimentos y Química Orgánica de la Facultad de Ingeniería de la Universidad de Carabobo, Departamento de Farmacología de la Facultad de Ciencias de la Salud de la Universidad de Carabobo, por todo el apoyo brindado para ser realidad la investigación que hoy queremos compartir con toda la gama de investigadores que muestren interés por cada día ser innovadores.

## REFERENCIAS

- ASOCIACIÓN ARGENTINA DE ALERGIA E INMUNOLOGÍA. (2002). Pagina Web en línea. Recuperada el 4 de mayo de 2008 en: [http://cordobalergia.com/mm/doc/revistas/alergia\\_suplem.2002.pdf](http://cordobalergia.com/mm/doc/revistas/alergia_suplem.2002.pdf)
- BADUI, S. (1997). Química de los alimentos. Longman de México editores, s.a de c.v. 236-239, 247.
- BLANCO, L. (2004). Análisis comparativo del método de extracción del aceite en diferentes variedades de semillas de tártago (*Ricinus communis*) en Venezuela. Trabajo Especial de Grado no publicado. Escuela de Ingeniería Química. Facultad de Ingeniería. Universidad de Carabobo. pp. 25-50.
- BRAVO, R. & PÉREZ, S. (2005). Factibilidad de desarrollar un producto cosmético empleando como principio activo el aceite extraído de una semilla vegetal. Trabajo Especial de Grado no publicado. Escuela de Ingeniería Química. Facultad de Ingeniería. Universidad de Carabobo. pp. 45-91.
- CASTRO, A. (1973). Control de calidad mínimo de los productos cosméticos. Revista de la Facultad de Farmacia de la Universidad Central de Venezuela. Volumen 26. Caracas. Venezuela. s/n.
- CAVEINCA (2006). Directorio de empresas afiliadas. Cámara Venezolana de Industria y Comercio de Productos de Higiene, Cuidado Personal, Perfumería, Cosméticos y afines. Caracas. Venezuela. s/n.
- CHASSAIGNE, G. & GUEVARA, H. (1987). Desarrollo de un producto cosmetológico con aloe vera como principio activo. Trabajo Especial de Grado no publicado. Escuela de Ingeniería Química. Facultad de Ingeniería. Universidad de Carabobo. s/n.

- COMISIÓN EUROPEA DE COSMÉTICOS (2006). Página web en línea. Recuperada el 5 de marzo de 2008 en: <http://europa.eu.int>.
- COLÓN, A. & GONZÁLEZ, L. (2004). Evaluación comparativa del proceso de extracción de aceites vegetales a partir de semillas oleaginosas. Trabajo Especial de Grado no publicado. Escuela de Ingeniería Química. Facultad de Ingeniería. Universidad de Carabobo. pp. 30-79.
- COVENIN 328 (2001). Aceites y grasas vegetales. Determinación de cenizas. 3ra revisión. 1-2.
- COVENIN 1156 (1979). Alimentos para animales. Determinación de humedad. 1-2.
- COVENIN 1158 (1982), Alimentos. Determinación de calcio. Método de referencia. 1ra revisión. pp. 1-3.
- COVENIN 1194 (1979). Alimentos para animales. Determinación de fibra cruda. 1-3.
- COVENIN 1195 (1980). Alimentos. Determinación de nitrógeno. Método de Kjeldahl. 1-4.
- COVENIN 3218 (1996). Alimentos. Determinación de la grasa libre. 1-2.
- COVENIN 635 (1997). Método general de muestreo aplicable a materias primas de origen animal, vegetal y mineral. 1-2.
- COVENIN 323 (1998). Aceites y grasas vegetales. Determinación del índice de saponificación. 1-2.
- COVENIN 324 (2001). Aceites y grasas vegetales. Determinación del índice de yodo por el método Wijs. 4ta revisión. 1-2.
- COVENIN 325 (2001). Aceites y grasas vegetales. Determinación de la acidez. 3ra revisión. 1-2.
- COVENIN 508 (2001), Aceite y grasa vegetal. Determinación del índice de peróxido. 2da revisión. 1-2.
- COVENIN 702. (2001). Aceites y grasas vegetales. Determinación del índice de refracción. 2da revisión. 1-2.
- COVENIN 703 (2001). Aceite y grasas vegetales. Determinación de la densidad relativa a t/20°C. 3ra revisión. 1-2.
- COVENIN 30 (1997). Aceites vegetales comestibles. Norma general. 3ra revisión. 1-2.
- COVENIN 2281 (2002). Aceites y grasas vegetales. Determinación del perfil de ácidos grasos e índice de yodo por cromatografía de gases. 2da revisión. 1-2.
- GUÍA DE TRABAJOS PRÁCTICOS. TECNOLOGÍA FARMACÉUTICA (2004). Universidad de Chile. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas. s/n.
- KUEHL, R. (2001). Diseño de experimentos". Editorial Thomson. México. pp. 85-103.
- MEHLENBACHER, V. (1977). Enciclopedia de la química industrial: análisis de grasas y aceites. Ediciones Urmo. España. s/n.
- PÉREZ, A. (2003). Factibilidad técnico económica de una planta productora de una crema cosmética a partir del aceite de la semilla del neem (*Azadirachta indica*). Trabajo Especial de Grado no publicado. Escuela de Ingeniería Química. Facultad de Ingeniería. Universidad de Carabobo. s/n.
- PORTAL COSMÉTICO. Página Web en línea. Recuperada el 01 de septiembre de 2007 en: <http://www.portalcosmetico.info/>.
- TECO FINANCE EXPORT. Página Web en línea. Recuperada el 12 de octubre de 2008 en: <http://www.sheabutter.com/SpainCashew/DonneesMSDS.htm>.
- WALPOLE, R., MYERS, R., MYERS, S. (1999). Probabilidad y estadística para ingenieros. Editorial Pearson Educación. México. pp. 23-85.