

PROPUESTA DE UNA CREMA EXFOLIANTE A PARTIR DE LA TORTA DE LAS SEMILLAS DE MORINGA OLEIFERA (LAM.)

Yamilet I. Gutiérrez¹, Natalia Marzoa², Arturo Sánchez¹, Ramón Scull¹, Gastón García¹, Darlin Guadarrama¹

¹ Instituto de Farmacia y Alimentos, Universidad de la Habana, Ave. 23 e/ 214 y 222 # 21425. LaCoronela, La Lisa, La Habana, Cuba.

² Instituto Finlay, Ave.27 e/198 y 200 # 19805.La Lisa. La Habana, Cuba.

email: yamiletgg@ifal.uh.cu

Resumen

Moringa oleifera (Lam.) es un árbol con múltiples beneficios y constituye un recurso de bajo costo de producción para prevenir la desnutrición y múltiples patologías. La torta a partir de las semillas, por su alto contenido de proteínas y aceite rico en ácido oleico, en tocoferoles y en ácido linoleico, hace apropiado el uso en el campo de la cosmética. Por estas razones se elaboró una formulación con fines cosméticos a partir de la torta, aspecto no informado con anterioridad dentro de sus aplicaciones. Se informan los resultados de algunos parámetros físico-químicos de calidad de la torta y el tamizaje fitoquímico, con resultados positivos para compuestos fenólicos, aceite, aminoácidos, alcaloides, triterpenoides y esteroides, saponinas, entre otros. La crema exfoliante se elaboró utilizando como ingrediente activo el polvo obtenido de la torta, previamente tamizado a un tamaño de partícula de 300 µm. Se evaluaron parámetros físico-químicos y tecnológicos durante seis meses, lográndose buena estabilidad. Se realizó una prueba de preferencia a la formulación, utilizando una escala hedónica de cinco puntos y la misma fue aceptada por los atributos de color, apariencia y textura. Finalmente, se evaluó la seguridad del producto donde no se observaron alteraciones en la piel de los animales tratados con la crema en el estudio de irritabilidad dérmica. Sin embargo, el producto resultó moderadamente irritante en la evaluación de irritabilidad oftálmica, resultado lógico de esperar dadas las características propias de la formulación exfoliante. La crema mantuvo buenas características físico-químicas y tecnológicas. Desde el punto de vista de la seguridad, es posible su uso, evitando el contacto con los ojos.

Palabras clave: *Moringa oleifera* (Lam.), torta, exfoliante, crema

Proposal of an exfoliant cream from cake seeds of *Moringa oleifera* (Lam.)

Abstract

Moringa oleifera (Lam.) is a tree with multiple benefits and is a resource of low production cost to prevent the malnutrition and multiple pathologies. The cake from the seeds, for its high protein and oil

rich in oleic acid, tocopherol and linoleic acid, makes appropriate use in the field of cosmetics. For these reasons a formulation for cosmetic purposes was elaborated from cake, aspect not previously reported within their applications. The results of some physicochemical quality parameters of cake and phytochemical screening with positive results for phenolic compounds, oil, amino acids, alkaloids, triterpenoids and steroids, saponins, among others are reported. An exfoliat cream using as active ingredient of the obtained powder cake, previously sieved to a particle size of 300 µm was elaborated. Physicochemical and technological parameters were evaluated for six months, achieving good stability. Preference test was performed to the formulation using a five point hedonic scale and the same was accepted by the attributes of color, appearance and texture. Finally, product safety where no alterations were observed on the skin of the animals treated with the cream in the study of skin irritability was evaluated. However, the product was moderately irritating in the evaluation of ophthalmic irritability, logical expected result given the inherent characteristics of the exfoliat formulation. The cream maintained good physicochemical and technological characteristics. From the point of view of safety, it is possible to use, avoiding eye contact.

Key words: *Moringa oleifera* (Lam.), cake, exfoliant, cream

Introducción

Moringa oleifera (Lam.) es un árbol originario de la India con múltiples beneficios. Partes de la planta, incluyendo hojas, tallos, raíces, semillas y flores han sido reportadas como fuentes de compuestos bioactivos con efecto anticancerígeno, antiinflamatorio, antidiabético, antioxidante y efectos antimicrobianos (Fahey, 2005; Anwar y col., 2007; Goyal y col., 2007; Chumark y col., 2008; Peixoto y col., 2011). La torta a partir de las semillas, por su alto contenido de proteínas, es una materia prima de interés para la alimentación animal (Martín y col., 2013) y su contenido en ácido oleico, en tocoferoles y en ácido linoleico hace muy apropiado el uso en el campo de la cosmética. Un ejemplo de aplicación de la torta pudiera estar dirigido hacia la elaboración de formulaciones exfoliantes, no reportadas con anterioridad dentro de sus aplicaciones.

Hoy en día existen muchos tipos de productos para exfoliar la piel. Algunos de ellos son de origen natural y otros de origen sintético y cada uno tiene sus ventajas e inconvenientes para la cara y el cuerpo. La aplicación de los cosméticos exfoliantes, consigue eliminar las células muertas y las impurezas cutáneas realizando una limpieza profunda en la piel, un efecto tonificante, favoreciendo la circulación cutánea. De esta manera se consigue que la piel adquiera un aspecto más luminoso y un tacto más suave, mejorando la eficacia de cualquier tratamiento cosmético posterior (Azcona, 2006; Garrote y Bonet, 2008).

El trabajo propone una nueva forma de uso sostenible de la torta de las semillas de *M. oleifera*, un subproducto de mucho interés para su explotación en Cuba a corto y largo plazo. Por estas razones se incursionó en la elaboración de una crema exfoliante con fines cosméticos.

Materiales y métodos

Material vegetal

La especie vegetal utilizada para la realización de este trabajo fue la *Moringa oleifera* recolectada en la Finca Cooperativa “Rosa Elena Simeón”, en el municipio Güines. Se seleccionó solamente la torta a partir de las semillas, un subproducto después de la extracción del aceite fijo mediante la utilización de una prensa industrial. La torta se fragmentó en un molino artesanal y se tamizó a un tamaño de partícula de 300 µm para su análisis y uso posterior en una formulación exfoliante.

Parámetros de calidad del polvo de la torta de *M. oleifera*

- Análisis micromorfológico: se determinaron las características microscópicas del polvo obtenido de la torta, con el propósito de observar la forma de las partículas que conformaban la misma. Sobre la muestra de ensayos se realizó la determinación de aceite, empleando una solución de sudan III. Se siguieron los procedimientos descritos por Arnol (1973) y Gattuso M. y Gattuso S. (1999). Para visualizar los diferentes caracteres anatómicos internos del vegetal, se empleó un microscopio Nikon Alphaphot-2 con cámara de video a color TK-C1380 JVC modelo TK-C1380U.
- Parámetros físico-químicos: se determinaron según procedimientos reportados por la NRSP 309 (1992) y Miranda y Cuéllar (2000): humedad residual (método azeotrópico), cenizas totales, cenizas solubles en agua y cenizas insolubles en ácido clorhídrico al 10 %.
- Tamizaje fitoquímico: la muestra se extrajo sucesivamente con éter de petróleo (30-40 °C), etanol y agua, para obtener los extractos correspondientes.

Diseño de la formulación

Dadas las características propias de la crema, la elaboración de la misma se realizó en el laboratorio, por el método de fusión e incorporación. Se empleó la torta de *M. oleifera* como principio exfoliante, previamente molinada y tamizada a un tamaño de partícula de 300 µm. El resto de los componentes de la formulación fueron de calidad farmacéutica. La composición fue la siguiente: polvo de *M. oleifera*; petrolato sólido; ácido esteárico; alcohol cetílico; propilenglicol; metilparabeno; propilparabeno; lauril sulfato de sodio; solución de KOH al 10 % y agua destilada.

Las formulaciones se envasaron en frascos de cristal color ámbar, de 200 g de capacidad con tapas de baquelita o propileno, aptas para contener productos de uso humano.

Evaluación de los parámetros físico-químicos y tecnológicos de la crema. Estabilidad de la formulación

A la formulación le fueron evaluados los parámetros físico-químicos y tecnológicos: propiedades organolépticas (olor, color, apariencia y textura), pH y área de extensibilidad, por un periodo de seis meses, en condiciones de estante (temperatura de 30 °C ± 2 °C, humedad relativa de 70 % ± 5 %). La frecuencia de los análisis fue determinada a partir de la Regulación 23 (2000) del CECMED y fue de 0, 3 y 6 meses.

Para el análisis de extensibilidad se tomaron dos láminas de vidrio de 12 x 15 cm, colocando una de ellas sobre papel milimetrado. Se añadieron 2 g de preparación, pesado en balanza técnica digital Sartorius, en el centro de la placa antes señalada y se colocó cuidadosamente la otra lámina de vidrio; esta última con un peso de 250 g. Transcurridos 5 minutos, se determinó la distancia desde el punto de aplicación hasta donde se extendió el semisólido. Se midió la extensibilidad en cuatro direcciones perpendiculares entre sí (PNO-LAB 12-002, 2002; Pérez y col., 2013).

Se calculó el área de la circunferencia formada aplicando la fórmula siguiente:

$$E = A = \frac{\pi (d1 \times d2)}{4}$$

Donde:

A: área de la circunferencia formada (cm²)

d1 y d2: diámetros perpendiculares a la circunferencia formada (cm)

E: extensibilidad del producto (cm²)

Control microbiológico

Se efectuó un conteo total de microorganismos aerobios, hongos y patógenos (*Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* y *Salmonella*). Se consideraron las normativas descritas en la USP 35 - NF 30 (2012) para los productos de Categoría 2 y según la NC 68 (2000) para productos cosméticos, entre los que se incluye el producto en investigación.

Ensayo de aceptación de la formulación

El estudio se llevó a cabo con 50 jueces no adiestrados, en un local acondicionado al efecto. Para la realización de esta prueba se utilizó una escala hedónica de cinco puntos (Arcila y col., 2006; Acevedo y col., 2009 y Castañeda y col., 2009): me gusta mucho (5 puntos); me gusta moderadamente (4 puntos); no me gusta ni me disgusta (3 puntos); me disgusta moderadamente (2 puntos) y me disgusta mucho (1 punto). Se consideraron aceptadas las puntuaciones de 3 a 5 puntos.

Estudio toxicológico: los estudios se llevaron a cabo en el Centro de Estudios para las Investigaciones y Evaluaciones Biológicas (CEIEB).

- **Irritabilidad dérmica:** el estudio fue realizado en conejos albinos de la línea Nueva Zelandia, machos, con peso corporal de 1,8 a 2,0 kg, procedentes del Centro Nacional para la Producción de Animales de Laboratorio (CENPALAB). Los conejos del estudio (3 en total) fueron depilados a ambos lados de la columna vertebral, 24 horas antes de iniciar el ensayo. Posteriormente se seleccionaron los sitios adecuados de los animales y se aplicaron 0,5 g de la crema de *M. oleifera*, por vía tópica. Se desarrolló según las metodologías descritas en el PNT/TEC/0207 (1996), la OECD # 404 (2002) y según la ISO 10993 (2010).
- **Irritabilidad oftálmica:** el estudio se desarrolló según la metodología descrita en la OECD # 405 (2002). Se confeccionó un grupo de 3 animales. A los conejos del estudio se les realizó un examen exhaustivo de la estructura ocular antes de iniciar el ensayo; posteriormente se les aplicó 0,1 g de la crema de *M. oleifera*, en el fondo del saco conjuntival del ojo derecho, el ojo izquierdo sirvió de control. La irritación oftálmica fue registrada de acuerdo con la tabla descrita por Draize (1944) y que aparece recogida en la norma de la OECD (1987).

Resultados

El análisis microscópico del polvo obtenido de la torta de *M. oleifera* se evidencia en la figura 1. Se pudo observar gran cantidad de bolsas de aceites (figura 1A), gracias a las pruebas realizadas con Sudan III, reactivo que tiñe los aceites o compuestos grasos de color rojo en diferentes tonalidades. También se pudo visualizar la forma casi redondeada de las partículas que conforman el polvo de la torta (figura 1B).

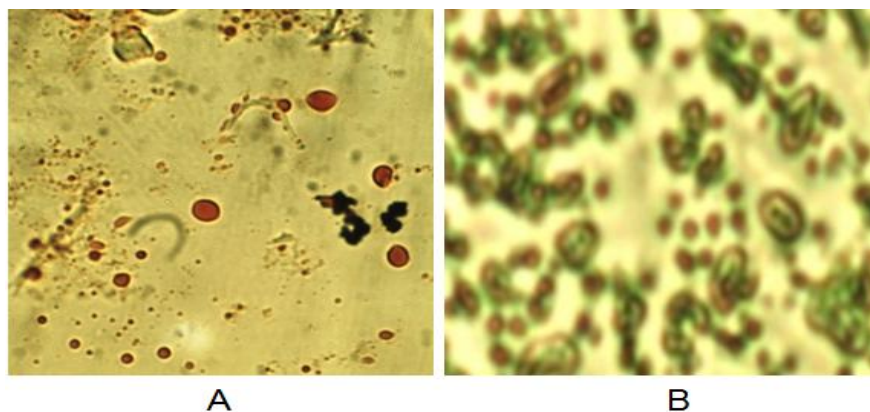


Fig. 1. Micromorfología del polvo de la torta de *M. oleifera*
A: bolsas de aceite de color rojo; **B:** forma redondeada de las partículas

El establecimiento de los parámetros físico-químicos del material vegetal es indispensable para proponer índices de calidad que puedan garantizar su eficacia y seguridad. El estudio fue desarrollado al polvo de la torta de *M. oleífera*, pues a pesar de su utilidad, la misma adolece de evidencias farmacognósticas que puedan avalar su uso. En la tabla 1 se muestran algunos de los parámetros que le fueron evaluados.

Tabla 1. Parámetros físico-químicos del polvo de la torta de *M. oleífera*

Parámetros (%)	Resultados
	\bar{x} / s
Humedad residual	8,5/0,7
Cenizas totales	4,39/0,06
Cenizas solubles en agua	0,43/0,01
Cenizas insolubles en HCl al 10%	1,00/0,08

Leyenda: \bar{x} / s : valor medio de las determinaciones/desviación estándar

Con el propósito de conocer la composición química general del polvo de la torta de *M. oleífera*, se llevó a cabo un análisis por tamizaje fitoquímico donde los resultados de cada extracto evaluado se reflejan en la tabla 2.

Tabla 2. Tamizaje fitoquímico de los extractos de la torta de *M. oleífera*

Ensayos	Metabolitos	Extractos		
		Etéreo	Alcohólico	Acuoso
Sudan	Compuestos grasos	+	NR	NR
Espuma	Saponinas	NR	+	-
Resina	Resinas	NR	+	NR
Ninhidrina	Aminoácidos	NR	+	NR
Fehling	Sustancias reductoras	NR	+	+
Cloruro férrico	Fenoles y/o taninos	NR	+	+
Lieberman-Burchard	Triterpenoides y/o esteroides	+	+	NR
Borntrager	Quinonas	NR	-	NR

Dragendorff	Alcaloides	-	+	++
Mayer	Alcaloides	-	+	++
Wagner	Alcaloides	-	+	++
Baljet	Lactonas y coumarinas	-	+	NR
Antocianidinas	Antocianidinas	NR	++	NR
Shinoda	Flavonoides	NR	+	+
Kedde	Cardiotónicos	NR	-	NR
Mucílagos	Mucílagos	NR	NR	-

Leyenda: + ensayo positivo; ++ ensayo muy positivo; - ensayo negativo; NR no realizado

Teniendo en cuenta que la torta de las semillas de *M. oleifera* es rica en alguno de los compuestos antes señalados y con el propósito de buscar otra alternativa de utilización sostenible de este subproducto, se decidió elaborar una crema exfoliante, empleando un tamaño de partícula de 300 µm.

Desde el punto de vista organoléptico la preparación presentó un color crema verdoso, olor característico al aceite de moringa, un aspecto homogéneo con brillo, buena textura y al tacto deja residuo graso con pequeñas partículas. La presencia de partículas en la formulación es característico de muchas formulaciones exfoliantes (Azcona, 2006). En la tabla 3 se muestran los resultados promedios de los análisis físico-químicos y tecnológicos determinados a la formulación durante los 6 meses de estudio.

Tabla 3. Parámetros físico-químicos y tecnológicos de la crema

Parámetros \bar{x} / s	Tiempo (meses)		
	0	3	6
pH	5,71/0,02 ^a	5,72/0,05 ^a	5,76/0,02 ^a
Extensibilidad (cm ²)	24,17/0,72 ^b	23,68/0,53 ^b	23,920/0,11 ^b

Leyenda: \bar{X} / S : valor medio/ desviación estándar

Letras iguales muestran que no existen diferencias significativas y letras diferentes que si existen diferencias significativas para un 95 % de confianza.

Los límites establecidos para la contaminación microbiana, están de acuerdo al uso para el que será destinado el material. Los límites máximos admisibles por gramo, establecidos por la literatura, así como los resultados del estudio se muestran en la tabla 4.

Tabla 4. Control microbiológico de la crema de *M. oleifera*

Análisis	Límites Microbiológicos Permisibles(UFC/g)	Resultados (UFC/g)
Conteo total de aerobios	≤ 100	10 ²
Conteo total de hongos	≤ 10	Ausencia
<i>Staphylococcus aureus</i>	Ausencia	Ausencia
<i>Pseudomona aeruginosa</i>	Ausencia	Ausencia
<i>Escherichia coli</i>	Ausencia	Ausencia
<i>Salmonella</i>	Ausencia	Ausencia

Dada la importancia que los individuos le conceden a las características organolépticas de una formulación, principalmente, si es con fines cosméticos, se realizó un análisis sensorial a 50 jueces no adiestrados, donde se evaluaron como atributos el olor, color, la apariencia y la textura grumosa (para exfoliar). Los resultados del estudio se visualizan en la tabla 5.

Tabla 5. Ensayo de aceptación de la crema de *M. oleifera*. Valores promedio de 50 consumidores encuestados

Atributos	Evaluación (valor promedio)
Olor	2,56
Color	3,02
Apariencia	3,14
Textura	4,06

En el estudio de irritabilidad dérmica, no se observaron lesiones eritematosas y edematosas en los sitios de aplicación. Desde el punto de vista clínico no se produjeron alteraciones en los animales del estudio. Se obtuvo un índice de Irritación Primario igual a 0, lo que evidencia que la crema de *M. oleifera* se puede clasificar como no irritante.

En el estudio de irritabilidad oftálmica, después de la aplicación del producto, se produjeron reacciones eritematosas, edematosas así como secreciones durante el estudio. No se apreciaron daños del iris. En la córnea los daños fueron por 24 horas. No se observó otro tipo de signos clínicos en los animales estudiados. Se obtuvo un Índice de Irritación igual a 33,8 puntos, lo que permite clasificar a la crema como moderadamente irritante.

Discusión

En los cosméticos exfoliantes o *peeling* físicos el mecanismo de acción se basa en el arrastre mecánico de los corneocitos (células superiores que forman la capa protectora de la epidermis) por parte de las partículas sólidas abrasivas que son las encargadas de pulir la piel por fricción, brindando un aspecto suave y luminoso. Se aconseja que tengan una dureza media y que sus bordes no presenten aristas para evitar la irritación cutánea, siendo la forma esférica y sin aristas la más recomendada para este tipo de formulaciones (Azcona, 2006). En el caso particular de la experiencia realizada, se pudo constatar que las partículas que conformaban el polvo de la torta de *M. oleifera* presentaban una forma casi esférica, con gran cantidad de aceite, lo cual favorece la aplicación sobre la piel sin provocar irritación por fricción.

Los parámetros físico-químicos de calidad determinados al polvo de la torta, estuvieron enmarcados dentro de los límites establecidos para plantas medicinales (Lou-Zhi-cen, 1980; WHO, 1998), o sea, valores de humedad residual entre un 8 y 14 % y porcentajes de cenizas totales y cenizas insolubles en ácido clorhídrico al 10 %, menor del 5 % y 2 %, respectivamente.

El análisis por tamizaje fitoquímico permitió detectar gran cantidad de metabolitos reportados para la especie, entre ellos compuestos triterpénicos y esteroidales (Fahey, 2005), flavonoides, taninos, antocianidinas, aminoácidos (Flora y Pachauri, 2011), saponinas coumarinas; algunos de estos compuestos presentan propiedades antioxidantes, emolientes, hidratantes y nutritivas de la piel, antiinflamatorias, entre otras, que pueden aprovecharse en el campo de la cosmética.

Fue notoria la presencia de aceite, el cual se usa en la industria de perfumería y de cosméticos como lubricante, en la alimentación humana y en la producción de biodiesel (Rashid y col., 2008; Martin y col., 2013). Los resultados positivos para alcaloides también están en concordancia con estudios efectuados por otros autores (Torres y col., 2013; Fahey, 2005; Singh, 2009; Canett y col., 2014).

El análisis estadístico de los resultados a los parámetros evaluados durante el estudio de estabilidad (pH y extensibilidad), mostró un comportamiento estable de la formulación al cabo de los seis meses, al no ponerse de manifiesto diferencias estadísticamente significativas entre los valores obtenidos. Las propiedades organolépticas también permanecieron inalterables durante el tiempo de estudio.

El pH obtenido en cada formulación, se encontraron entre 5,71 y 5,76, valores cercanos a la acidez característica de la piel, su pH es variable, según la zona del cuerpo, la edad e incluso algunos autores incluyen la raza. La superficie tiene un pH ácido y oscila entre 4 y 6 (Gil y Howard, 1996; Schmid-Wendtner y Korting, 2006).

Los valores de extensibilidad son menores que otras formulaciones cosméticas, esto es lógico de esperar, pues se trata de una crema que contiene gran cantidad de partículas para exfoliar, que le brindan mayor consistencia a la formulación y por ende menor extensibilidad, aunque la misma se extiende adecuadamente sobre la piel.

Los resultados del estudio microbiológico están dentro de los límites indicados por la literatura, cumpliendo satisfactoriamente con este parámetro, lo cual demuestra la utilización de materias primas de calidad y el buen cumplimiento de las Buenas Prácticas de Manufactura.

La prueba de preferencia efectuada a 50 jueces no entrenados, pero con conocimiento de tecnología farmacéutica, mostró que la formulación fue aceptada por la mayoría de los atributos evaluados (color, apariencia y textura), pues se alcanzaron valores medios entre 3,02 y 4,06 puntos, los cuales se pueden ubicar entre las opciones “me gusta moderadamente” y “no me gusta ni me disgusta”, superiores a los 3 puntos, aspecto este que habla a favor de la formulación. Respecto al olor, la puntuación fue menor de 3 lo que indica una menor aceptación, pudiendo recomendar en estudios posteriores la utilización de alguna fragancia para mejorar dicho atributo.

La evaluación toxicológica demuestra la no irritabilidad de la formulación por vía dérmica, aspecto este de gran importancia si se tiene en cuenta que la crema será aplicada en áreas extensas de la piel. En el estudio de irritabilidad oftálmica los resultados son lógicos de esperar, ya que el ensayo consiste en la aplicación única del producto en el saco conjuntival de los animales de experimentación (conejos). Por otra parte, la crema exfoliante, dada sus características físicas y tecnológicas, donde el principio exfoliante tiene un tamaño de partícula de 300 μm (palpable), hace que provoque cierta irritabilidad en el ojo del animal.

Los resultados del presente estudio permitieron obtener una crema exfoliante con buenas características físico-químicas y tecnológicas. Desde el punto de vista de la seguridad, es posible su uso, evitando el contacto con los ojos.

Referencias

- Acevedo IP, García O, Contreras J, Acevedo I. Elaboración y evaluación de las características sensoriales de un yogurt de leche caprina con jalea semifluida de piña. Revista UDO Agrícola 2009;9(2):442-448.

- Anwar F, Latif S, Ashraf M & Gilani AH. *Moringa oleifera*: a food plant with multiple medicinal uses. *Phytotherapy Research* 2007;21:17-25.
- Arcila N y Mendoza Y. Elaboración de una bebida instantánea a base de semillas de amaranto (*Amaranthus cruentus*) y su uso potencial en la alimentación humana. *Rev. Fac. Agron. (LUZ)*. 2006;23:114-124.
- Arnol E. Peacock's Elementary Microtechnique. 4th edition, 1973:33-7.
- Azcona L. Dermofarmacia. Exfoliación. *Farmacia profesional* 2006;20(7):56-59.
- Canett RR, Arvayo MKL, Ruvalcaba GNV. Aspectos tóxicos más relevantes de *Moringa oleifera* y sus posibles daños. *Revista de Ciencias Biológicas y de la Salud* 2014;XVI (2):36-43.
- Castañeda B, Manrique R, Gamarra F, Muñoz A y Ramos F. Formulación y elaboración preliminar de un yogurt mediante sustitución parcial con harina de tarwi (*Lupinus mutabilis Sweet*). *Medicina Naturista* 2009;3(1):2-9.
- Chumark P, Khunawat P, Sanvarinda Y, Phornchirasilp S, Phumala Morales N, Phivthongngam L, Ratanachamngong P, Srisawat S & Pongrapeeporn KS. The in vitro and ex vivo antioxidant properties, hypolipidaemic and antiatherosclerotic activities of water extract of *Moringa oleifera* Lam. leaves. *Journal of Ethnopharmacology* 2008;16:439-446.
- Draize JH, Woodard G, Calvery HO. Methods to the study of the irritation and toxicity of substances applied topically to the skin and mucous membranes. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 1944;82:377-390.
- Fahey JW. *Moringa oleifera*: A Review of the Medical Evidence for Its Nutritional, Therapeutic, and Prophylactic Properties. Part 1. *Trees for Life Journal* 2005;1:5.
- Flora SJS & Pachauri V. *Moringa (Moringa oleifera)* seed extract and the prevention of oxidative stress. In: *Nuts & seeds in health and disease prevention*. Elsevier Inc. Amsterdam, The Netherlands 2011:776.
- Garrote A y Bonet R. Exfoliantes de nueva generación. Propuestas innovadoras. *O F F A R M.* 2008;27(9):55-60.
- Gattuso MA, Gattuso SJ. Manual de procedimientos para el análisis de drogas en polvo. Editorial de la Universidad nacional de Rosario Urquiza. Argentina. ISBN N° 950-673-199-3, 1999.
- Gil Y and Howard I. Skin surface pH: A protective acid mantle. Edited by Maibach IH. *A dermatology view*. Reprint from *Cosmetics & Toiletries* 1996;111(12):101.
- Goyal BR, Agrawal BB, Goyal RK & Mehta AA. Phyto-pharmacology of *Moringa oleifera* Lam. An overview. *Natural Product Radiance* 2007;4:347-353.
- ISO 10993 part 12, 2010.

- Lou Zhi-cen. General control methods for vegetable drugs. Comparative study of methods included in thirteen pharmacopoeias and proposals on their international unification. WHO/PHARM/80.502, 1980:8-39.
- Martín C, Martín G, García A, Fernández T, Hernández E y Puls J. Potenciales aplicaciones de *Moringa oleifera*. Una revisión crítica. Pastos y Forrajes 2013;36(2):137-149.
- Miranda MM, Cuéllar AC. Manual de prácticas de laboratorio. Farmacognosia y productos naturales. Ciudad Habana, 2000:25-49, 74-79.
- NC 68/2000. Análisis microbiológico para productos cosméticos, 2000.
- NRSP 309. Norma Ramal. Medicamentos de origen vegetal. Droga cruda. Métodos de ensayo, 1992:16-29.
- OECD, Organization for Economic Co-operation and Development Eye irritation testing. OECD guidelines for testing of chemicals. Test guideline Paris, 1987:405.
- OECD Guideline for testing of chemical # 405. Acute Ocular Irritation, 2002.
- OECD Guideline for testing of chemical# 404. Acute dermal Irritation/ Corrosion, 2002.
- Peixoto JR, Silva GC, Costa RA, de Sousa FJR, Vieira GH, Filho AA & dos Fernandes VRH. *In vitro* antibacterial effect of aqueous and ethanolic *Moringa* leaf extracts. Asian Pacific Journal of Tropical Medicine 2011;4:201-204.
- Pérez PR, Nieto OMA, Bilbao OR, López AT, González LC. Diseño de una crema regeneradora con quitina para después del bronceado. Revista Cubana de Farmacia 2013;47(2):239-251.
- PNO-LAB 12-002. Edición 02-02. Determinación de caracteres organolépticos, pH y extensibilidad de cremas y ungüentos. La Habana: Empresa Laboratorio Roberto Escudero Díaz, 2002.
- PNT/TEC/0207. Ensayo de irritabilidad dérmica. CIEB-IFAL-UH, 1996.
- Rashid U, Anwar F, Moser BR & Knothe G. *Moringa oleifera* oil: a possible source of biodiesel. Biores. Technol. 2008;99:8175.
- Regulación No. 23. Requerimientos de los estudios de estabilidad para el registro de productos farmacéuticos nuevos y conocidos. República de Cuba. Ministerio de Salud Pública. Centro para el Control Estatal de la Calidad de los Medicamentos (CECMED), 2000.
- Schmid-Wendtner MH, Korting HC. The pH of the skin surface and its impact on the barrier function. Pharmacol Appl skin physiol. 2006;19:296-302.
- Singh BN. Oxidative DNA damage protective activity, antioxidant and anti-quorum sensing potentials of *Moringa oleifera*. Food Chem. Toxicol. 2009;47:1109.

- Torres CJA, Sinagawa GSR, Martínez AGCG, López FAB, El Sánchez G, Aguirre AVE, Torres ARI, Olivares SE, Osorio HE, Gutiérrez DA. *Moringa oleifera*: detección fitoquímica, antioxidantes, enzimas y propiedades antifúngicas. *Phyton* (B. Aires). 2013;82(2).
- USP 35- NF 30. Farmacopea de los Estados Unidos de América. Formulario Nacional, 2012;1:54-68.
- WHO. World Health Organization. Quality control methods for medicinal plant materials. WHO/PHARM/92.559. Ginebra, 1998.