

TRABAJO DE FIN DE GRADO

Grado en Farmacia



FORMULACIONES TÓPICAS DE EXTRACTO DE HOJA DE OLIVO, PROPIEDADES ANTIOXIDANTES, ANTIMICROBIANAS Y ENSAYOS DE CALIDAD

Autor: M^a del Pilar Cano-Cortés Pérez

Villaviciosa de Odón, 7 de junio de 2025

Tabla de contenido

1.	<i>Introducción</i>	4
1.1.	Importancia del uso de extractos naturales en formulaciones cosméticas y farmacéuticas	5
1.2.	El olivo (<i>Olea europaea L.</i>) y su interés en cosmética.....	5
1.3.	Métodos de extracción de compuestos bioactivos	8
1.4.	Formulación de productos tópicos con extractos naturales.....	9
2.	<i>Objetivos</i>	11
2.1.	Objetivo principal.....	11
2.2.	Objetivos específicos	11
3.	<i>Materiales y Métodos</i>	11
3.1.	Extracción polifenoles procedentes de hoja de olivo.....	11
3.2.	Formulaciones cosméticas enriquecidas con extracto.....	12
3.3.	Controles de calidad	13
3.4.	Ensayo antioxidante.....	15
4.	<i>Resultados y discusión</i>	16
4.1.	Formulaciones tópicas	16
4.2.	Controles de calidad	19
4.3.	Ensayo antioxidante.....	24
5.	<i>Conclusión</i>	27
6.	<i>Bibliografía</i>	28
	<i>ANEXOS</i>	31

Resumen

Este trabajo se centra en la formulación y evaluación de productos cosméticos tópicos enriquecidos con polifenoles extraídos de la hoja de olivo (*Olea europaea*), con el objetivo de beneficiarlas de sus propiedades antioxidantes y antimicrobianas. Para la obtención del extracto se utilizó un método de extracción asistido por ultrasonidos, que permitió una extracción eficiente y sostenible de compuestos bioactivos como son los polifenoles, minimizando su degradación térmica y el uso de solventes perjudiciales. Se desarrollan dos tipos de formulaciones de fase externa oleosa: un oleogel y un bálsamo labial tipo gloss, incorporando el extracto en la fase acuosa a temperaturas controladas para preservar sus propiedades.

Se llevó a cabo una caracterización integral de las formulaciones, evaluando parámetros físicos y organolépticos como pH, signo de la emulsión, extensibilidad, textura, color, olor y homogeneidad. Además, se realizaron estudios de estabilidad microbiológica para comprobar la capacidad antimicrobiana del extracto frente a la versión base de cada producto. Complementariamente, se realizó un ensayo antioxidante in vitro utilizando células fibroblásticas murinas (NIH-3T3), midiendo la reducción del estrés oxidativo inducido por tert-butil hidroperóxido a través de citometría de flujo con la sonda fluorescente DCFH.

Los resultados obtenidos mostraron que las formulaciones con extracto mantuvieron una estabilidad adecuada y presentaron posible actividad antioxidante. Este estudio destaca la posibilidad de incorporar subproductos del olivo en formulaciones cosméticas naturales, promoviendo la sostenibilidad y contribuyendo a los Objetivos de Desarrollo Sostenible, especialmente en salud y producción responsable.

Palabras clave: Hoja de olivo, polifenoles, One Health, dermocosmética, antioxidante, oleogel, bálsamo labial

1. Introducción

En los últimos años, ha crecido el interés por el uso de ingredientes naturales en la creación de productos cosméticos y farmacéuticos. Este aumento en la demanda está motivado por el deseo de contar con opciones terapéuticas seguras y sostenibles con el medio ambiente. En este contexto, los extractos vegetales han ganado protagonismo debido a su capacidad para aportar compuestos bioactivos con propiedades terapéuticas y cosméticas. Entre los extractos más destacados se encuentran los derivados del olivo (*Olea europaea*), que han captado la atención por su perfil fitoquímico y los beneficios que proporcionan a la piel. Las hojas del olivo, anteriormente consideradas un subproducto de la industria oleícola, se han revelado como una fuente rica en polifenoles, flavonoides, secoiridoides y otros componentes con gran potencial cosmético, destacándose por su potente actividad antioxidante, antiinflamatoria, regeneradora e incluso antimicrobiana, (1), (2).

La preferencia por los productos cosméticos elaborados con extractos naturales responde a una tendencia creciente en los consumidores que buscan opciones más saludables y respetuosas con el entorno. De esta manera, la industria cosmética ha intensificado la investigación sobre los principios activos derivados de plantas, aprovechando sus diversas propiedades, entre ellas, su capacidad antioxidante, antiinflamatoria, antimicrobiana e hidratante. En particular, el extracto de hoja de olivo ha demostrado ser un ingrediente prometedor en la formulación de cosméticos debido a su alto contenido en compuestos activos como el hidroxitirosol y la oleuropeína. Estos compuestos han sido asociados con efectos beneficiosos sobre la piel, como la neutralización de radicales libres, la inhibición de procesos inflamatorios y la estimulación de la regeneración celular, contribuyendo a la prevención del envejecimiento cutáneo, (3).

Además, la creciente demanda de cosméticos libres de ingredientes sintéticos ha impulsado el desarrollo de extractos naturales como alternativas seguras y eficaces. Los compuestos bioactivos presentes en los extractos vegetales, sumados a su bajo impacto ambiental, han llevado al desarrollo de cosméticos basados en plantas medicinales, que se posicionan como una opción eficiente frente a los agentes químicos tradicionales, (1). Este trabajo se enfoca en el estudio del extracto de hoja de olivo, su composición fitoquímica, los métodos de extracción utilizados y los efectos que este ingrediente tiene sobre la piel, con el objetivo de explorar su potencial como componente activo en productos cosméticos de uso tópico.

1.1. Importancia del uso de extractos naturales en formulaciones cosméticas y farmacéuticas

La industria cosmética ha experimentado una notable evolución hacia la utilización de productos naturales, impulsada tanto por una mayor conciencia ambiental como por la preferencia por evitar ingredientes sintéticos que puedan tener efectos adversos. En respuesta a esta demanda, la industria ha intensificado la investigación y el desarrollo de cosméticos formulados a base de extractos vegetales, que son cada vez más apreciados por su capacidad para promover la salud cutánea y ofrecer propiedades terapéuticas, (1).

Los cosméticos naturales no solo son valorados por su menor impacto ambiental, sino también por su fórmula libre de químicos nocivos, como parabenos, sulfatos o fragancias sintéticas. Diversos estudios han demostrado que los extractos vegetales, en este caso el extracto de hoja de olivo, son ricos en compuestos bioactivos que favorecen la salud de la piel, tales como polifenoles, flavonoides y terpenoides. Estos componentes actúan como potentes antioxidantes, protegiendo la piel del daño causado por los radicales libres y la radiación ultravioleta. Además, su acción antiinflamatoria contribuye a reducir irritaciones y afecciones dermatológicas como la dermatitis y la rosácea, (3), (4).

Otro beneficio relevante de los extractos vegetales es su actividad antimicrobiana, lo que los convierte en ingredientes ideales para formulaciones sin conservantes sintéticos, lo que resulta especialmente beneficioso para pieles sensibles o propensas a alergias. La capacidad de estos extractos para sustituir conservantes químicos sintéticos contribuye al desarrollo de productos cosméticos más seguros y menos propensos a causar reacciones adversas, (5).

1.2. El olivo (*Olea europaea* L.) y su interés en cosmética

El olivo (*Olea europaea* L.) es una especie perenne de la familia *Oleaceae*, ampliamente cultivada en la región mediterránea, especialmente en España, Italia y Grecia. Se trata de un árbol de gran longevidad, resistente a la sequía y bien adaptado a suelos pobres y condiciones climáticas adversas. Su importancia en España es notable, no solo por su relevancia económica en la producción de aceite de oliva y aceitunas de mesa, sino también por la generación de subproductos valiosos para la industria cosmética y farmacéutica, (6) (7).

Desde un punto de vista botánico, *Olea europaea* se caracteriza por tener hojas lanceoladas coriáceas y de color verde grisáceo en el haz, con un envés más claro. Sus flores son pequeñas y blanquecinas, agrupadas en inflorescencias, y su fruto, la aceituna, varía en tamaño y color según la variedad y su grado de maduración, (7). España es el principal productor de aceite de

oliva a nivel mundial, y cada año genera grandes cantidades de hojas como subproducto de la poda y recolección, lo que ha despertado el interés en su aprovechamiento para la obtención de compuestos bioactivos de interés cosmético, (8).

1.2.1. Composición química relevante de la hoja del olivo

Las hojas del olivo contienen una gran cantidad de compuestos bioactivos con propiedades beneficiosas para la piel, entre ellos destacan, los polifenoles como la oleuropeína, el hidroxitirosol y el verbascósido, los flavonoides, como el luteolina-7-glucósido y el apigenina-7-glucósido, así como los secoiridoides, un grupo exclusivo de la familia *Oleaceae*, esenciales en la bioactividad de los extractos de hoja de olivo, (9).

1.2.2. Oleuropeína e hidroxitorosol: compuestos clave en cosmética

La oleuropeína es el polifenol mayoritario en la hoja del olivo y el responsable de su característico sabor amargo. Se trata de un glucósido secoiridoide compuesto por tres partes clave: un grupo polifenólico (hidroxitirosol), un derivado del ácido elenólico y una molécula de glucosa. Esta estructura le otorga una alta capacidad antioxidante, gracias a la presencia de varios grupos hidroxilo (-OH) en su anillo fenólico. Estos grupos actúan como donadores de protones (H^+), estabilizando los radicales libres mediante la cesión de hidrógeno y la formación de compuestos más estables, lo que detiene las reacciones en cadena de oxidación celular. Además, su capacidad quelante permite atrapar metales pesados como el hierro o el cobre, que suelen catalizar reacciones de radicales libres, previniendo así la oxidación lipídica en las membranas celulares, (10).

A nivel cosmético, esta potente acción antioxidante permite proteger las células de la piel frente al estrés oxidativo inducido por factores como la radiación UV, contaminación o inflamación. Esto se traduce en una reducción del envejecimiento prematuro, mejoría de la barrera cutánea y prevención de procesos inflamatorios. De hecho, la oleuropeína también ha mostrado propiedades antiinflamatorias y antimicrobianas, actuando sobre citoquinas proinflamatorias y agentes patógenos de la piel, o que la hace ideal para cosméticos dirigidos a pieles sensibles, con tendencia al acné o expuestas a estrés ambiental, (11).

El hidroxitirosol, por su parte, es un fenol simple que se genera principalmente por la hidrólisis de la oleuropeína, tanto en procesos naturales como durante la maduración o el procesamiento de las hojas de olivo. Posee una de las estructuras más eficaces frente al estrés oxidativo, debido a la presencia de dos grupos hidroxilo en posiciones orto del anillo bencénico, lo que le confiere una alta reactividad frente a especies reactivas de oxígeno (ROS) como el anión

superóxido (O_2^-) o el radical hidroxilo ($-OH$). Su mecanismo de acción se basa en neutralizar directamente estas especies o bien en inhibir procesos celulares que las generan, como el estallido respiratorio de los neutrófilos. Además, se ha demostrado que estimula las enzimas antioxidantes celulares (como el glutatión peroxidasa o la superóxido dismutasa), promoviendo un entorno celular menos prooxidante, (12).

Ambos compuestos pertenecen a la gran familia de los polifenoles de la hoja del olivo, clasificados principalmente en secoiridoides (como la oleuropeína) y fenoles simples (como el hidroxitirosol). Mientras los secoiridoides representan hasta el 85% del total de compuestos fenólicos del olivo y están presentes casi exclusivamente en esta especie vegetal, los fenoles simples son más comunes en diversas plantas. Sin embargo, el hidroxitirosol del olivo destaca por su alta biodisponibilidad, su eficacia antioxidante y su perfil de seguridad, ya que se absorbe rápidamente, no presenta toxicidad y no se acumula en el organismo. Ambos compuestos son objeto de gran interés por sus propiedades fotoprotectoras, regeneradoras y antiinflamatorias, lo que los convierte en ingredientes funcionales clave en productos antienvjecimiento, protectores solares y cosméticos para pieles reactivas, (11).

1.2.3. Propiedades terapéuticas y beneficios en cosmética

Los polifenoles son un grupo amplio y diverso de compuestos bioactivos presentes en plantas, como la hoja de olivo, que han despertado gran interés en el campo cosmético debido a sus múltiples beneficios para la salud de la piel. Su acción se debe principalmente a su estructura química, caracterizada por la presencia de varios grupos fenólicos, lo que les permite intervenir eficazmente en diferentes procesos biológicos relacionados con la protección y regeneración cutánea, (8).

Uno de los principales mecanismos por los que los polifenoles ejercen sus efectos protectores es su capacidad antioxidante. Gracias a sus grupos fenólicos, pueden donar electrones o protones a especies reactivas de oxígeno (ROS), como radical hidroxilo, superóxido o peróxido de hidrógeno, transformándolas en moléculas estables y menos dañinas. De esta forma, interrumpen las reacciones en cadena que dañan lípidos, proteínas y ADN celular, procesos asociados al envejecimiento prematuro y diversas patologías cutáneas, (13).

Los polifenoles actúan mediante múltiples mecanismos que explican su capacidad antioxidante, antiinflamatoria y antimicrobiana. Son capaces de quelar metales de transición como el hierro y el cobre, impidiendo reacciones tipo Fenton que generan radicales libres altamente reactivos, lo que ayuda a preservar el equilibrio redox celular. A nivel intracelular, activan la vía de señalización Nrf2/ARE, que estimula la expresión de enzimas antioxidantes endógenas como

glutación peroxidasa, catalasa y superóxido dismutasa, potenciando las defensas naturales frente al estrés oxidativo. Además, los polifenoles inhiben enzimas proinflamatorias como la ciclooxigenasa (COX-2) y la lipoxigenasa (LOX), reduciendo la síntesis de mediadores inflamatorios como prostaglandinas y leucotrienos, así como la expresión de citoquinas como TNF- α , IL-1 β e IL-6, lo que contribuye a limitar procesos inflamatorios crónicos en la piel. En cuanto a su acción antimicrobiana, estos compuestos pueden desestabilizar la membrana celular bacteriana, alterando su permeabilidad y funcionalidad, lo que favorece la lisis celular, un mecanismo especialmente útil en infecciones cutáneas como el acné. Finalmente, aunque no actúan como filtros solares físicos, los polifenoles protegen frente al daño inducido por la radiación UV al reducir la generación de ROS y modular mecanismos que previenen la apoptosis celular y la degradación de colágeno, ayudando así a preservar la integridad estructural y funcional de la piel, (12).

1.3. Métodos de extracción de compuestos bioactivos

Para obtener los compuestos bioactivos de la hoja de olivo se emplean diversas técnicas de extracción, que pueden clasificarse en métodos tradicionales y emergentes, (9).

1.3.1. Métodos tradicionales de extracción

Existen tres métodos tradicionales de extracción: la maceración, la extracción Soxhlet y la destilación. La maceración consiste en la inmersión del material vegetal en un disolvente durante un tiempo prolongado, y aunque es un método sencillo y eficaz, requiere grandes volúmenes de solvente y tiempos de extracción largos, la extracción Soxhlet es una técnica eficiente que permite una extracción continua, pero implica un alto consumo de disolventes y un riesgo de degradación térmica de los compuestos, mientras que la destilación se emplea principalmente en la obtención de aceites esenciales, (9).

1.3.2. Métodos emergentes de extracción

Con el avance de la ciencia, han surgido métodos de extracción alternativos que buscan superar las limitaciones de las técnicas tradicionales, las cuales suelen requerir largos tiempos de operación, altos volúmenes de disolventes y equipos de gran tamaño, lo que puede comprometer la estabilidad de los compuestos de interés. Una de las técnicas más destacadas es la extracción asistida por ultrasonidos, donde ondas acústicas de alta frecuencia generan burbujas en el líquido que, al colapsar, liberan energía suficiente para romper las estructuras celulares del

material vegetal, facilitando así la liberación de los compuestos internos de forma eficiente y con un bajo impacto ambiental. A esta se suma la extracción asistida por microondas, que emplea radiación electromagnética para calentar directamente las moléculas polares presentes en la muestra, acelerando el proceso de difusión del soluto hacia el disolvente mediante un mecanismo rápido y selectivo, sin necesidad de aplicar calor de manera convencional. También se encuentra la extracción con fluidos supercríticos, que aprovecha las propiedades únicas de sustancias como el dióxido de carbono cuando se encuentran por encima de su punto crítico, permitiendo que actúen como disolventes eficaces capaces de penetrar la matriz sólida y arrastrar los compuestos deseados sin dejar residuos peligrosos. Finalmente, la extracción con líquidos presurizados o extracción acelerada con disolventes utiliza temperaturas elevadas y presión constante para reducir la viscosidad del disolvente, mejorar su capacidad de penetración y optimizar la liberación de analitos en tiempos cortos, todo ello en un entorno controlado que evita la oxidación o degradación de las moléculas extraídas. Estas tecnologías representan una evolución hacia procesos más sostenibles, seguros y eficaces en la obtención de compuestos valiosos, tanto en la industria como en investigación, (9).

1.4. Formulación de productos tópicos con extractos naturales

La formulación de productos cosméticos con extractos de origen vegetal representa una tendencia consolidada dentro de la dermocosmética moderna, debido a su perfil seguro, natural y eficaz. En este contexto, el extracto de hoja de olivo (*Olea europaea*) se ha afianzado como un activo valioso en formulaciones tópicas por su alto contenido en compuestos bioactivos como la oleuropeína y el hidroxitirosol, que aportan propiedades antioxidantes, antiinflamatorias y regeneradoras de gran interés para el cuidado cutáneo, (14), (15)(16).

1.4.1. Oleogeles con extracto de hoja de olivo

Los oleogeles son sistemas semisólidos que integran una fase oleosa con un agente gelificante, formando una matriz estable que facilita la administración cutánea de sustancias lipofílicas. Esta base es especialmente adecuada para transportar activos como los polifenoles del extracto de hoja de olivo, cuya afinidad lipídica permite una mejor penetración y bioactividad en la piel. En estudios recientes, se ha evidenciado que la inclusión de extracto de hoja de olivo en vehículos oleosos mejora las propiedades antioxidantes y emolientes del sistema, resultando en formulaciones que favorecen la hidratación, elasticidad y protección de la piel frente al estrés oxidativo, (14) (15) .

En particular, los oleogeles ofrecen ventajas en formulaciones cosméticas destinadas a zonas con tendencia a la sequedad, irritación o exposición ambiental, ya que permiten una liberación sostenida del principio activo y una aplicación sensorialmente agradable. La estabilidad del sistema, junto con la alta compatibilidad cutánea del extracto, hacen de este tipo de formulación una alternativa funcional y natural en el desarrollo de cosméticos tópicos, (15).

1.4.2. Bálsamos labiales con extracto de hoja de olivo

Los bálsamos labiales tienen como función principal proteger la delicada piel de los labios, creando una película oclusiva que evita la pérdida de agua transepidérmica y promueve la reparación cutánea. La inclusión de extracto de hoja de olivo en estas formulaciones añade un valor añadido gracias a su acción antioxidante y su capacidad para estimular la regeneración celular, (14).

Aunque la literatura específica sobre bálsamos labiales con este extracto aún es limitada, estudios relacionados han demostrado que su aplicación en productos hidratantes contribuye a mejorar visiblemente la textura y el estado de la piel, lo que avala su potencial uso en el cuidado labial, (14), (15).

Investigaciones recientes proponen formulaciones con alto contenido de hidroxitirosol en el extracto, que favorece la protección frente a factores externos como el frío, la radiación UV o la contaminación, condiciones que afectan especialmente a los labios, (16).

1.4.3. Beneficios y aplicaciones

Tanto en oleogeles como en bálsamos labiales, el extracto de hoja de olivo proporciona una serie de beneficios que justifican su inclusión en formulaciones cosméticas tópicas; actúa como un potente antioxidante, protege la piel frente al daño causado por los radicales libres, reduce el estrés celular y retrasa los signos del envejecimiento; también posee un efecto antiinflamatorio, calma la piel irritada o inflamada y favorece la recuperación de su barrera natural; además, estimula los mecanismos de reparación celular, promueve la cicatrización y mejora tanto la textura como la elasticidad de la piel, (14) (16).

Estos beneficios convierten al extracto de hoja de olivo en un ingrediente idóneo para el desarrollo de productos cosméticos naturales orientados al cuidado intensivo de la piel y los labios. Su integración en vehículos como oleogeles y bálsamos permite aprovechar al máximo sus propiedades bioactivas, alineándose con la tendencia actual hacia formulaciones más limpias, seguras y efectivas.

2. Objetivos

2.1. Objetivo principal

El objetivo principal del presente trabajo consiste en elaborar formulaciones cosméticas enriquecidas con polifenoles extraídos de hoja de olivo (*Olea europaea*), valorando su estabilidad y potencial antioxidante y antiséptico.

2.2. Objetivos específicos

Para alcanzar este objetivo principal se seguirán los siguientes objetivos específicos:

1. Formular y caracterizar cosméticos tópicos con dicho extracto.
2. Analizar la estabilidad de los productos elaborados.
3. Evaluar el potencial del extracto de hoja de olivo (*Olea europaea*) como ingrediente activo en formulaciones cosméticas tópicas, mediante el análisis de sus propiedades antioxidantes y antisépticas.
4. Integrar los Objetivos de Desarrollo Sostenible en el diseño y justificación de las formulaciones cosméticas, promoviendo la salud y el bienestar (ODS 3), la innovación sostenible (ODS 9), la sostenibilidad urbana (ODS 11), el consumo responsable (ODS 12) y la conservación de los ecosistemas terrestres (ODS 15).

3. Materiales y Métodos

3.1. Extracción polifenoles procedentes de hoja de olivo

Para este estudio, se ha empleado un método de extracción asistida por ultrasonidos, que consiste en la trituration y tamizado de las hojas para obtener un polvo homogéneo. Posteriormente, éste se somete a extracción en etanol (2 g en 10 ml) y se aplica ultrasonido en pulsos durante 5 minutos. Tras la centrifugación, se recupera el sobrenadante, rico en compuestos fenólicos, y se procede a la eliminación del solvente mediante rotavaporación y posterior liofilización. La elección de esta técnica responde a su eficiencia en la extracción de compuestos bioactivos sin comprometer su estabilidad. A diferencia de otros métodos, la extracción asistida por ultrasonidos permite una recuperación más rápida y eficaz de polifenoles y flavonoides, minimizando la degradación térmica de los mismos. Además, reduce el tiempo de extracción y el uso de disolventes, lo que la hace una opción más sostenible y rentable para la industria cosmética, (9).

Este método fue seleccionado por su alta eficiencia en la extracción de compuestos bioactivos

como polifenoles y flavonoides, minimizando la degradación térmica, reduciendo el consumo de disolvente y acortando los tiempos de extracción, lo que lo convierte en una técnica adecuada para su aplicación en la industria cosmética. El perfil biológico del hidroxitirosol y de los extractos será caracterizado completamente por el equipo interdisciplinar del grupo One Health.

3.2. Formulaciones cosméticas enriquecidas con extracto

El objetivo de esta parte experimental fue el desarrollo de dos tipos de formulaciones cosméticas de fase externa oleosa (W/O): un oleogel y un bálsamo labial tipo gloss, ambas enriquecidas con extracto de hoja de olivo. Las formulaciones fueron desarrolladas, adaptadas y optimizadas progresivamente en el laboratorio durante el proceso experimental.

3.2.1. Material y equipamiento empleado

- **Reactivos:**

Como reactivos se utilizaron AOVE, aceite de coco (eliminado en formulaciones finales), aceite de aguacate, aceite de caléndula, monoestearato de glicerilo, miristato de isopropilo, estearato de magnesio, cera de abeja, glicerina (glicerol), agua destilada, agua de hamamelis, Carboximetilcelulosa, talco, vitamina E, alantoína, dexpantenol, extracto de hoja de olivo.

- **Equipamiento básico de laboratorio:**

Para la realización de las formulaciones se utilizó material básico de laboratorio, incluyendo placa calefactora con agitación magnética, imán de agitación, báscula de precisión, vasos de precipitado de diferentes capacidades (25-100 ml), varillas de vidrio, espátulas, cucharillas de medición, y pipetas Pasteur de plástico.

- **Protección personal:**

Como material de protección se utilizó bata de laboratorio y guantes de nitrilo.

3.2.2. Procedimiento general para la elaboración de las formulaciones

Todas las formulaciones fueron preparadas bajo condiciones controladas de laboratorio, respetando la higiene y buenas prácticas de fabricación cosmética.

Para la formulación de una emulsión, se comienza con el diseño y selección de los ingredientes, diferenciando claramente entre la fase oleosa, la fase acuosa y el emulgente. La fase oleosa está compuesta por aceites, ceras y otros componentes lipofílicos que no se mezclan con el agua, como aceites vegetales, cera de abeja o monoestearato de glicerilo. La fase acuosa contiene agua purificada, agentes gelificantes como la carboximetilcelulosa, extractos hidrosolubles y

otros ingredientes que necesitan un medio de acuoso para su correcta dispersión. El emulgente, que puede ser de naturaleza hidrofílica u oleofílica, dependiendo del tipo de emulsión que se desee obtener, cumple un papel fundamental al permitir la unión estable entre las fases oleosa y acuosa, disminuyendo la tensión superficial entre fases.

Cada fase se prepara por separado para asegurar su correcta integración posterior. La fase oleosa se calienta aproximadamente a 60 ° C cuando es necesario disolver componentes sólidos como la cera de abeja o el monoestearato de glicerilo, logrando así una mezcla homogénea. La fase acuosa se mantiene en constante agitación para facilitar la dispersión de los agentes gelificantes, lo cual es fundamental para evitar la formación de grumos y asegurar una textura adecuada en la emulsión final.

Una vez preparada la fase acuosa, se incorpora el extracto de hoja de olivo, que es una fuente rica en polifenoles antioxidantes. Este extracto debe añadirse siempre al final, asegurándose de que la temperatura de la fase acuosa haya descendido por debajo de los 40 ° C. Esto es crucial para evitar la degradación de los polifenoles, preservando así las propiedades bioactivas del extracto.

Con ambas fases listas y a las temperaturas adecuadas, se procede a la unión de estas para formar la emulsión. Dependiendo del tipo de formulación que se desea obtener, se vierte lentamente una fase sobre la otra, la acuosa sobre la oleosa o viceversa, dependiendo del tipo de emulsión que se desee, mientras se agita de manera constante con una varilla de vidrio. Esta agitación asegura la correcta dispersión de los componentes y la formación de una emulsión homogénea y estable.

Inmediatamente después de su preparación, la emulsión es sometida a una evaluación inicial que incluye la observación de su aspecto visual, la valoración de su textura, la comprobación de su homogeneidad y la percepción de su olor, permitiendo así detectar posibles irregularidades o problemas de formulación desde un primer momento.

Finalmente, la emulsión se almacena en condiciones adecuadas, protegida de la luz y en recipientes herméticos, para realizar evaluaciones de estabilidad en los días posteriores, observando cualquier posible cambio en su apariencia, textura, olor o comportamiento, asegurando así la calidad y durabilidad del producto final.

3.3. Controles de calidad

Al finalizar la formulación del oleogel y del bálsamo labial tipo gloss con y sin extracto de hoja de olivo, se llevaron a cabo los controles de calidad correspondientes para asegurar que ambos

productos cumplieran con los requisitos establecidos en cuanto a eficacia, estabilidad y seguridad. Para ello, se aplicaron una serie de procedimientos recogidos como obligatorios en el Formulario Nacional, complementando con una evaluación organoléptica adecuada al tipo de formulación. Estos ensayos permiten garantizar que las características físicas y sensoriales del producto final sean consistentes, adecuadas para su uso previsto y seguras para el consumidor.

3.3.1. Determinación del valor de pH

Para la determinación del pH de las formulaciones se emplean tiras reactivas (*METRIA*®) y un pH-metro digital (*sensION+*® *HACH*®). Las tiras se utilizan aplicándolas directamente sobre una pequeña cantidad del bálsamo y el oleogel, usando una varilla de vidrio. Para el uso del pH-metro, se preparan disoluciones diluyendo una pequeña porción de cada formulación en 2 ml de agua desionizada, con el fin de proteger el electrodo del aparato. Este procedimiento se realiza tanto en las formulaciones base como en las que contienen extracto de hoja de olivo.

3.3.2. Signo de la emulsión

Se realizan dos pruebas para identificar la naturaleza de la fase externa de las formulaciones, por un lado, la prueba de coloración, en la que se deposita una gota de azul de metileno (*Panreac*®) sobre una pequeña cantidad del producto. Si el colorante se dispersa, indica presencia de una fase externa acuosa; si no se mezcla, se confirma una fase externa oleosa. También, la prueba de dilución, en la que se añade una pequeña porción de producto a agua desionizada y se observa si se dispersa o no. La ausencia de dispersión sugiere una matriz oleosa con comportamiento similar a emulsiones W/O.

3.3.3. Extensibilidad

Se mide la capacidad de las formulaciones para extenderse sobre una superficie plana. Se colocan cantidades específicas del producto sobre papel milimetrado y se observa el diámetro que alcanza con y sin aplicación de peso. En el caso del oleogel se utilizan 0,25 g, 0,5 g y 1 g de muestra, con una pesa de 36 g (disponía en el laboratorio de 9 pesas de 4 g). Para el bálsamo labial se emplean 0,1 g, 0,2 g y 0,4 g, aplicando una pesa de 4 g.

3.3.4. Características organolépticas

Se lleva a cabo una observación detallada de las características físicas y sensoriales de las formulaciones. Se valoran aspectos como el color, el brillo, la transparencia, el olor, la

homogeneidad, la presencia de partículas o burbujas, y la consistencia visual y al tacto.

Además, se evalúa la evanescencia (en el caso del oloegel) y la oclusión y extensibilidad aparente (en ambas formulaciones), utilizando escalas codificada tipo Likert para clasificar la percepción sensorial de cada parámetro en intervalos de tiempo (1, 2, 3, 4, 5 y más de 5 minutos).

3.3.5. Estabilidad microbiológica

Se realiza un seguimiento microbiológico colocando muestras de cada formulación (con y sin extracto) en placas de agar sangre y Mueller-Hinton. Las muestras se observan diariamente durante varios días para detectar crecimiento microbiano. El objetivo es evaluar si la presencia de extracto de hoja de olivo aporta efecto antimicrobiano frente a la versión base de cada producto.

3.4. Ensayo antioxidante

Se llevó a cabo un ensayo in vitro para evaluar la capacidad antioxidante del extracto de hoja de olivo, mediante cultivo celular. Se emplearon células NIH-3T3 (fibroblastos murinos), cultivadas en condiciones estándar siguiendo protocolos desarrollados en estudios previos, (17), y sembradas en placas de 96 pocillos (p96), dejándolas adherirse durante 24 horas. El experimento se desarrolló en condiciones estériles dentro de una cabina de flujo laminar.

El extracto de hoja de olivo, con una concentración inicial de 5,85 mg/ml, fue previamente filtrado mediante jeringa estéril y diluido en PBS, también estéril, para obtener tres concentraciones: alta (5,85 mg/ml), media (2,93 mg/ml) y baja (1,46 mg/ml). Cada concentración se aplicó por triplicado.

En la placa de cultivo se establecieron los siguientes grupos experimentales, también por triplicado: células control (sin tratamiento), células + extracto (alta, media y baja concentración), células + tBOOH (como agente oxidante) y células + extracto + tBOOH. La dosis de tBOOH empleada como inductor del estrés oxidativo fue de 50 μ M.

Para la detección del estrés oxidativo intracelular se utilizó la sonda DCFH, un marcador fluorescente que permite cuantificar la presencia de especies reactivas de oxígeno (ROS), siguiendo protocolos validados, (18). Tras la incubación con los tratamientos y la sonda, las células fueron lavadas con PBS para eliminar el exceso de sonda no internalizada.

La fluorescencia generada, proporcional al nivel de estrés oxidativo, fue medida mediante citometría de flujo utilizando el citómetro *BD Accuri™ C6 FlowCytometer* (BD Biosciences®).

Los datos obtenidos fueron analizados y procesados posteriormente con el software *FlowJo*®, permitiendo evaluar tanto la intensidad de fluorescencia como la viabilidad celular en cada condición experimental.

4. Resultados y discusión

4.1. Formulaciones tópicas

4.1.1. Formulación 1: Oleogel (Emulsión W/O)

La formulación 1 tuvo como objetivo el desarrollo de un oleogel, una emulsión tipo W/O con propiedades hidratantes y calmantes, utilizando AOVE y extracto de hoja de olivo como activos principales. En una primera versión fallida, la composición incluía monoestearato de glicerilo al 6 % como emulgente, una fase acuosa compuesta por agua destilada, glicerina y carboximetilcelulosa, y una fase oleosa con AOVE, aceite de aguacate y cera de abeja, incorporándose el extracto tras la unión de fases. Esta formulación presentó problemas de separación de fases a las pocas horas, textura inestable y grumosa y un gel poco estructurado, atribuyéndose el fallo a una cantidad insuficiente de emulgente para estabilizar el sistema W/O, una proporción elevada de fase acuosa y la ausencia de un agente gelificante en la fase oleosa. Para corregir estos defectos, se aumentó el contenido de emulgente al 8 %, se redujo la fase acuosa del 60 a 52 %, se incorporó estearato de magnesio al 5 % como gelificante oleoso, se eliminó la cera de abeja y se ajustó el orden de mezclado, vertiendo la fase oleosa caliente sobre la acuosa fría y agitada. Además, se cuidó que el extracto de hoja de olivo se incorporara a temperaturas inferiores a 40 ° C para preservar su contenido en polifenoles. Como resultado, se obtuvo una emulsión estable durante al menos cinco días sin separación visible, de textura suave, homogénea y agradable al tacto, con un aroma natural dominado por el AOVE. Se realizaron seis réplicas, todas estables durante varios días.

Sin embargo, tras un periodo de 25 días de almacenamiento, se observó una desestabilización de la formulación, con separación visible de la fase oleosa y la acuosa. Este fenómeno se atribuyó principalmente a las bajas temperaturas del entorno de conservación, que pudieron afectar a la viscosidad y comportamiento reológico del sistema, especialmente en presencia de carboximetilcelulosa, cuyo rendimiento como agente gelificante puede verse comprometido en condiciones frías. Además, una vez producida la separación de fases, no fue posible reconstituir el oleogel, lo que evidenció la fragilidad del equilibrio alcanzado.

Ante esta situación, se decidió reformular el oleogel manteniendo la misma composición previamente optimizada, pero incorporando ácido cítrico en cantidad suficiente para ajustar el

pH a un rango más fisiológico (entre 5 y 5,5), favoreciendo así la compatibilidad con la piel y contribuyendo a la estabilidad del sistema. Esta corrección no solo tuvo en cuenta la estabilidad fisicoquímica, sino también su funcionalidad tópica. Las nuevas réplicas con el ajuste de pH mostraron nuevamente buena estabilidad inicial, aunque se continúa con la monitorización a largo plazo.

La composición optimizada final fue la siguiente (Tabla 1):

Fase	Ingrediente	Función	% (p/p)	Peso (g)
Acuosa 52 %; 20,8 g	Agua Destilada	Vehículo	23	9,2
	Agua de Hamamelis	Calmante	15	6
	Glicerina	Humectante	12	4,8
	Extracto Hoja (pa)	Antioxidante	1	0,4
	Carboximetilcelulosa	Agente gelificante	1	0,4
Oleosa 40 %; 16 g	AOVE	Emoliente	20	8
	Aceite Aguacate	Emoliente	15	6
	Estearato de Magnesio	Gelificante oleoso	5	2
Emulgente W/O 8 %; 3,2 g	Monoestereato de Glicerilo	Unión fase oleosa con acuosa	8	3,2

Tabla 1. Formulación 1: Composición del Oleogel. Fuente: Elaboración propia.

El procedimiento específico final consistió en mezclar el agua destilada, agua de hamamelis y glicerina en un vaso de precipitados, añadiendo lentamente la carboximetilcelulosa bajo agitación magnética hasta formar un gel homogéneo. Una vez enfriada la mezcla por debajo de 40 ° C, se incorporó el extracto de hoja de olivo. Paralelamente, la fase oleosa se calentó ligeramente para fundir monoestearato de glicerilo y homogeneizar los aceites, incorporándose el estearato de magnesio bajo agitación manual. Finalmente, la fase oleosa caliente se vertió sobre la fase acuosa fría en agitación vigorosa para formar la emulsión W/O. Se realizaron seis réplicas de esta formulación final, todas estables durante varios días de almacenamiento.

4.1.2. Formulación 2: Bálsamo labial tipo gloss

La formulación 2 consistió en el desarrollo de un bálsamo labial tipo gloss, con efecto hidratante y regenerador, manteniendo el aroma natural del AOVE como componente diferenciador. En una primera versión fallida se utilizó una fase oleosa compuesta por AOVE, aceite de coco y aceite de caléndula, una fase acuosa formada por glicerina, alantoína y dexpanthenol, con monoestearato de glicerilo (6 %) y cera de abeja (4 %) como emulgentes, y extracto de hoja de olivo (1%). Sin embargo, se detectaron problemas de olor poco atractivo dominado por el aceite

de coco, separación de fases en la base del envase y una textura inconsistente, muy líquida o densa según la temperatura, atribuyéndose estos fallos al predominio aromático del aceite de coco, la falta de un emulgente líquido que mejorara la extensibilidad y un desequilibrio entre ceras y aceites.

Se realizaron modificaciones, eliminando el aceite de coco y aumentando la proporción de AOVE, incorporando miristato de isopropilo al 10 % como emoliente fluido para mejorar la aplicación, reformulando la fase acuosa para disolver alantoína y dexpanthenol en la glicerina antes de su incorporación y ajustando la relación entre ceras y aceites para obtener una textura fluida pero estable. El resultado fue un producto de textura semisólida fluida, ideal para envase tipo gloss, con un aroma natural suave dominado por el AOVE, homogéneo y estable durante más de cinco días, con evaluación sensorial positiva por parte de la empresa colaboradora.

La composición optimizada se puede ver a continuación (Tabla 2):

Fase	Ingrediente	Función	% (p/p)	Peso (g)
Acuosa 40 %; 4 g	Glicerol	Humectante	37	3,7
	Extracto de Hoja (pa)	Antioxidante	1	0,1
	Alantoína	Reparadora, calmante	1	0,1
	Dexpanthenol	Hidratante	1	0,1
Oleosa 50 %; 5 g	AOVE	Emoliente	30	3
	Monoesterato de Glicerilo	Emulgente	6	0,55
	Aceite de Caléndula	Calmante, emoliente	6,5	0,7
	Cera de Abeja	Barrera protectora	4	0,4
	Vitamina E	Antioxidante	2	0,2
	Talco	Aporta brillo	1,5	0,15
Emulgente 10 %; 1 g	Miristato de Isopropilo	Emulgente	10	1

Tabla 2. Formulación 2: Composición del Bálsamo Labial. Fuente: Elaboración propia.

El procedimiento consistió en fundir la cera de abeja y el monoestearato de glicerilo a 60 ° C, añadiendo los aceites restantes y el talco bajo agitación manual. La fase acuosa se preparó a temperatura ambiente, disolviendo previamente la alantoína y el dexpanthenol en glicerina. Posteriormente, la fase acuosa se incorporó lentamente sobre la oleosa mezclada con el emulgente, agitando manualmente hasta obtener una textura homogénea. Se realizaron seis réplicas estables sin signos de separación.

4.2. Controles de calidad

4.2.1. Características organolépticas

En cuanto a color, el oleogel presenta un color blanquecino uniforme en todas las réplicas, sin variaciones visibles entre ellas. Por otro lado, el bálsamo labial mostró un color amarillo verdoso con brillo, claramente influenciado por el AOVE utilizado en su formulación (Anexo III). Este tono recuerda al color natural del propio aceite, lo que refuerza la percepción de un producto natural y atractivo. Además, este matiz verdoso aporta un valor añadido desde el punto de vista comercial, ya que se asocia visualmente con ingredientes frescos, vegetales y saludables, (19).

A la hora de hablar del brillo, presentan una notable diferencia las dos formulaciones. El bálsamo labial presenta un acabado brillante, lo cual se atribuye a la incorporación de talco en la formulación, que mejora el efecto gloss deseado para un producto de aplicación en labios. En cambio, el oleogel carece de brillo y presenta un aspecto mate y opaco. En cuanto a la transparencia, el bálsamo tipo gloss muestra cierto grado de translucidez, favoreciendo por su consistencia fluida y la naturaleza del sistema W/O, mientras que el oleogel permanece completamente opaco. Atendiendo al olor, en ambos productos se percibe un aroma característico al AOVE, lo cual indica que los compuestos volátiles del aceite se mantienen estables en la matriz. Sin embargo, el bálsamo presenta un olor más intenso. El oleogel ofrece un perfil aromático más sutil. Tanto el oleogel como el bálsamo labial se muestran homogéneos y visualmente estables. No se observan grumos, gotas de agua separadas ni microburbujas. La textura es continua en todas las réplicas, lo que refleja un buen control en el proceso de elaboración y una correcta integración de fases e ingredientes.

Refiriéndonos a la consistencia se identifican diferencias entre réplicas: las muestras 1, 3, 4 y 6 presentan una textura semifluida, mientras que las réplicas 2 y 5 son más fluidas. Esta diferencia puede estar motivada por ligeras variaciones en temperatura ambiental o en el peso de la fase oleosa. Cabe destacar que el oleogel no contiene cera, por lo que su consistencia depende principalmente del grado de gelificación del sistema oleoso. El bálsamo labial, que sí contiene cera de abeja como agente estructurante, muestra una consistencia fluida en todas las réplicas, lo que resulta ideal para su aplicación como gloss, facilitando textura suave y deslizante sobre los labios.

La oclusividad se evaluó como la capacidad de formar una barrera que evite la pérdida de agua transepidérmica, observando la sensación de hidratación mantenida a los 15 minutos de aplicación en el brazo (Tabla 3). Los datos correspondientes a esta evaluación descrita se

categorizan a través de una escala Likert, donde todas las réplicas del bálsamo obtuvieron una puntuación de 5, lo que muestra una oclusión muy alta. Se percibe claramente una película protectora que sella la piel, lo cual es beneficioso en zonas sensibles como los labios. El oleogel muestra una oclusividad de 3 en todas las muestras, lo que se traduce en hidratación mantenida, pero sin efecto de barrera evidente, lo que resulta favorable para zonas corporales donde se desea un equilibrio entre hidratación y ligereza.

	BÁLSAMO	OLEOGEL	
TIEMPO (min)	OCCLUSIVIDAD	OCCLUSIVIDAD	EVANESCENCIA
1	5	3	2
2	5	3	4 (1,3,4) 3
3	5	3	4
4	5	3	4
5	5	3	4
>5	5	3	5

Tabla 3. Oclusividad de las dos formulaciones tópicas y Evanescencia del Oleogel a diferentes tiempos. 1: Muy baja (permanece sobre la piel, sensación pegajosa o grasa prolongada); 2: Baja (se absorbe parcialmente, deja película perceptible); 3: Moderada (se absorbe sin dificultad, leve residuo); 4: Alta (se extiende bien y desaparece casi por completo); 5: Muy alta (absorción rápida, sin residuo ni brillo). Fuente: Elaboración propia

La evanescencia del gel, entendida como la capacidad del producto para extenderse y desaparecer tras su aplicación, se evaluó mediante una escala Likert basada en el tiempo de absorción. Este parámetro es relevante en formulaciones de uso tópico, ya que condiciona la sensación de absorción inmediata en la piel tras la aplicación.

A partir de los 2 minutos, se observa una mejora notable en la absorción del oleogel. A partir de los 5 minutos, todas las réplicas muestran una buena capacidad de desaparición, lo que refleja una textura funcional para productos que no deben dejar residuos perceptibles tras la aplicación.

4.2.2. Determinación del valor de pH

En la fase inicial del experimento, se observa que el bálsamo labial base presenta un pH de 5,5, considerado adecuado para la mucosa oral, por lo que no se requiere ajuste. Sin embargo, el oleogel muestra un pH inicial de 6,5, algo elevado para su uso tópico, que suele requerir un pH más cercano al fisiológico (alrededor de 5,5).

Para corregirlo, se prepara en un vaso de precipitados una disolución acuosa añadiendo una pequeña cantidad de ácido cítrico (una punta de cuchara) en agua desionizada, asegurando su completa disolución. A partir de esta solución, se toman pequeñas cantidades con la pipeta Pasteur, y se incorporan gota a gota a la muestra del oleogel hasta alcanzar el pH deseado de 5,5. Esta técnica permite un control progresivo y seguro del ajuste, evitando sobresaturar el

sistema con ácido y garantizando una distribución homogénea del mismo. Posteriormente, se repiten las mediciones tras la adición del extracto de hoja de olivo a ambas formulaciones. En este caso, ambas formulaciones mantienen una estabilidad en el valor de pH, lo que nos quiere decir que la incorporación del extracto no modifica significativamente la acidez del sistema.

Los valores de pH obtenidos para ambas formulaciones, tanto antes como después de incorporar el extracto vegetal, se encuentran dentro del intervalo recomendado para productos cosméticos o tópicos, lo cual garantiza la compatibilidad con la piel. En estudios similares, se ha observado que los oleogeles elaborados con aceite de oliva presentan pH ligeramente ácidos, en torno a $5,8 \pm 0,6$, mientras que, otros hidrogeles, preparados con Pluronic® F127 (copolímero tribloque no iónico) alcanzan valores promedio cercanos a $6,6 \pm 0,8$. Estos valores se consideran seguros y poco irritantes para la piel, (20), (21).

4.2.3. Signo de la emulsión

En la prueba de coloración, el azul de metileno no se dispersa en ninguna de las muestras, permaneciendo en la superficie. Este comportamiento confirma que la fase externa es oleosa, lo cual es coherente con la naturaleza de los dos productos que se buscaban conseguir. Asimismo, la prueba de la dilución refuerza esta observación, ya que las formulaciones no se dispersan en agua. Esto se puede observar, ya que el agua se mantiene clara, indicando una baja afinidad con el sistema formulado. Solo en las muestras 2 y 5 del oleogel se nota una ligera tendencia a mezclarse parcialmente, aunque sin llegar a formar una dispersión homogénea (Anexo IV).

Ambos ensayos demuestran que las formulaciones se comportan estructuralmente como sistemas W/O (agua en aceite), (22). Esta característica puede aportar ventajas como una mayor capacidad oclusiva, así como mejor poder de remanencia y permanencia sobre la piel, lo cual es especialmente relevante en formulaciones cosméticas tópicas, (23). Además, favorece una protección más eficaz frente a la degradación oxidativa de compuestos sensibles, como los polifenoles presentes en el extracto de hoja de olivo, (24).

Los ensayos realizados permiten confirmar que las formulaciones desarrolladas corresponden a sistemas de tipo agua en aceite (W/O). Esta conclusión se basa en la manera en que reaccionaron ante pruebas sencillas como la del colorante y la dilución en agua. El hecho de que el azul de metileno no se mezcle con las muestras, y que estas no se diluyan en agua, indica que la parte externa del sistema es oleosa, lo cual impide la dispersión de sustancias hidrosolubles.

Este tipo de estructura tiene beneficios importantes para el uso cosmético. Por ejemplo, los

sistemas W/O suelen ofrecer mayor resistencia al agua y pueden permanecer más tiempo sobre la piel.

Los resultados no solo permiten entender cómo están compuestas las formulaciones, sino también anticipar algunas de sus ventajas prácticas en términos de duración y eficacia.

4.2.4. Extensibilidad

En las pruebas con papel milimetrado, se observa que tanto el peso del producto como el uso de una pesa externa influyen directamente en el diámetro de extensión. El bálsamo labial tiende a extenderse más que el oleogel, especialmente cuando se aplican las cantidades mayores. Los diámetros son mayores al aplicar peso, confirmando su buena extensibilidad y su adaptabilidad al contacto con la piel o los labios (Tabla 4).

R	OLEOGEL						BÁLSAMO LABIAL					
	0,25 g	0,25 g + P1	0,5 g	0,5 g + P1	1 g	1 g + P1	0,1 g	0,1 g + P2	0,2 g	0,2 g + P2	0,4 g	0,4 g + P2
	EXTENSIBILIDAD											
1	1,8 cm	2 cm	1,3 cm	2,5 cm	2,1 cm	3 cm	1,4 cm	2 cm	1,7 cm	3 cm	2,1 cm	2,9 cm
2	1,5 cm	2 cm	1,8 cm	2,4 cm	2,1 cm	3 cm	1,3 cm	2 cm	1,6 cm	2 cm	2,1 cm	2,6 cm
3	1,6 cm	2,1 cm	1,5 cm	2 cm	2,2 cm	2,7 cm	1,6 cm	2,1 cm	1,9 cm	2,5 cm	2 cm	2,5 cm
4	1,5 cm	2 cm	1,9 cm	2,4 cm	2,5 cm	3,1 cm	1,5 cm	2,8 cm	1,7 cm	2 cm	2 cm	2,5 cm
5	1,7 cm	2,2 cm	1,8 cm	2,6 cm	2,3 cm	2,9 cm	1,2 cm	1,6 cm	1,7 cm	1,9 cm	1,9 cm	2,3 cm
6	1,5 cm	2,4 cm	2 cm	2,6 cm	2,4 cm	2,8 cm	1,5 cm	2 cm	1,6 cm	2,1 cm	2,1 cm	2,4 cm

Tabla 4. Extensibilidad en centímetros del oleogel y el bálsamo labial. Con y sin peso adicional. R: Réplicas de cada formulación; P1: Peso aplicado sobre Oleogel de 36 g; P2: Peso aplicado sobre Bálsamo Labial de 4 g. Fuente: Elaboración propia.

La extensibilidad es un parámetro crucial en formulaciones tópicas, ya que condiciona la facilidad de aplicación del producto sobre la piel o los labios y, en consecuencia, influye en la experiencia del usuario y la eficacia del tratamiento.

Los datos que se pueden observar en la Tabla 4 reflejan que el bálsamo labial presenta, en general, una mayor extensibilidad que el oleogel, especialmente cuando se incrementa la cantidad aplicada y se utiliza una pesa. Este comportamiento puede atribuirse a la composición del bálsamo, posiblemente más rica en componentes emolientes y menos estructurantes, lo que facilita su desplazamiento sobre la superficie al ejercer presión. La diferencia se nota especialmente a partir de los 0,2 g aplicados, donde el bálsamo alcanza diámetros de hasta 3 cm con peso, frente a valores ligeramente inferiores observados en el oleogel bajo condiciones similares, (25).

Asimismo, se confirma que el uso de peso incrementa de forma consistente los diámetros de extensión de ambas formulaciones. Este resultado era esperable, ya que la presión ejercida

favorece la distribución del producto, reduciendo la resistencia a la extensión. No obstante, el efecto del peso parece más marcado en el bálsamo labial, lo que podría indicar una mayor plasticidad o menor viscosidad en comparación con el oleogel, que mantiene una consistencia algo más firme y cohesiva. Esta mayor extensibilidad del bálsamo podría atribuirse, en parte, a la presencia de miristato de isopropilo en su composición, un éster de naturaleza líquida que actúa como emoliente, reduciendo la fricción interna de la mezcla y facilitando su deslizamiento sobre la superficie.

En el caso del oleogel, los valores de extensibilidad también aumentan el peso, pero de forma más contenida. Este comportamiento sugiere una estructura interna más densa, que ofrece mayor resistencia a la deformación. Este tipo de características podría resultar útil en aplicaciones donde se requiere una mayor permanencia del producto en el lugar de aplicación, con menor tendencia al deslizamiento o desplazamiento.

En resumen, los resultados muestran que ambas formulaciones poseen un grado de extensibilidad adecuado para uso tópico. El bálsamo destaca por su mayor capacidad de extensión, ideal para aplicaciones que requieran cobertura uniforme sobre superficies más amplias o sensibles, como labios. Por su parte, el oleogel muestra un comportamiento más contenido, pero igualmente funcional, favoreciendo una aplicación localizada con buena adherencia.

4.2.5. Estabilidad microbiológica

Se realizó un seguimiento del crecimiento microbiano en las formulaciones de bálsamo labial y oleogel, con y sin extracto de hoja de olivo, empleando medios de cultivo específicos: Agar sangre y Mueller-Hilton.

En el medio Mueller Hinton, adecuado para el crecimiento de bacterias gramnegativas y grampositivas no exigentes (como *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, entre otros), el bálsamo labial sin extracto presentó crecimiento en dos réplicas, mientras con extracto presentó crecimiento en todas las réplicas. En el caso del oleogel, la versión sin extracto mostró crecimiento en una réplica, y la con extracto en todas.

En el agar sangre, medio enriquecido que favorece el crecimiento de bacterias grampositivas exigentes (como *Streptococcus spp.* *Listeria spp.*), el bálsamo labial mostró crecimiento en una sola réplica, tanto en la versión con extracto como sin extracto. Para el oleogel, en las formulaciones sin extracto no se observó crecimiento en ninguna réplica, mientras que, con extracto, se observó crecimiento microbiano en todas las réplicas excepto en dos. (Anexo V)

Los resultados obtenidos no evidencian un efecto antimicrobiano significativo del extracto de

hoja de olivo en las formulaciones ensayadas. De hecho, en el medio Mueller-Hinton, que permite el crecimiento de una amplia gama de bacterias no exigentes tanto grampositivas como gramnegativas, se observó un aumento del crecimiento microbiano en las formulaciones con extracto, especialmente en el caso del oleogel.

El crecimiento observado podría corresponder a microorganismos ambientales comunes como *Staphylococcus spp.*, *Micrococcus spp.* (grampositivos) o *Pseudomonas spp.* y *Enterobacteriaceae* (gramnegativos), todos ellos capaces de desarrollarse en Mueller-Hinton. Esto sugiere que la incorporación del extracto de hoja de olivo, al menos en las concentraciones empleadas, no proporcionó una acción antimicrobiana efectiva bajo condiciones del ensayo. Estos resultados son contrarios a los esperados encontrar, ya que existen trabajos previos que indican el potencial efecto antimicrobiano de los polifenoles, (26).

En el agar sangre, más selectivo para bacterias hemolíticas (*Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus pneumoniae*), el crecimiento fue más limitado. Sin embargo, también aquí se observó crecimiento en algunas réplicas con extracto, lo que refuerza la idea de que la matriz de la formulación y la posible carga microbiana inicial tienen un papel más determinante en el desarrollo de contaminaciones que la acción del propio extracto, ya que las formulaciones no se desarrollaron en condiciones de esterilidad ni en cabinas de flujo laminar.

Cabe destacar que algunos compuestos fenólicos del extracto de hoja de olivo poseen potencial antimicrobiano documentado, pero su eficacia puede depender fuertemente de su concentración, estabilidad en el vehículo cosmético, y del tipo de microorganismo presente, (27), (28).

Estos hallazgos subrayan la necesidad de realizar ensayos más específicos, como test de difusión en agar, recuento de UFC o determinación de la concentración mínima inhibitoria (CMI), además de una identificación precisa de las cepas presentes, para poder confirmar o descartar el potencial conservante del extracto en formulaciones cosméticas.

4.3. Ensayo antioxidante

Las observaciones realizadas mediante citometría de flujo mostraron diferencias significativas en la viabilidad celular según el tratamiento recibido. Como se puede observar en la Figura 1, las células control mostraron una viabilidad elevada, mientras que aquellas expuestas a tBOOH presentaron una marcada disminución de supervivencia. La co-incubación con el extracto de hoja de olivo evidenció un efecto protector frente al daño oxidativo inducido por tBOOH, especialmente a concentraciones medias y bajas. En cambio, a dosis altas, se observó una

disminución en la viabilidad, sugiriendo un posible efecto prooxidante en concentraciones elevadas, resultados que estarían en consonancia con trabajos desarrollados previamente, (29).

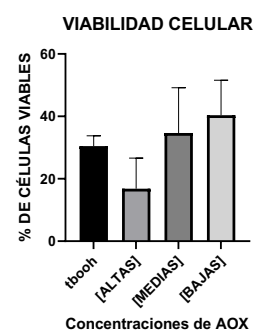


Figura 1. Porcentaje de viabilidad celular de las diferentes concentraciones de extracto comparadas con el tBOOH. Imágenes obtenidas de FlowJo.

En cuanto a la emisión de fluorescencia de DCFH, los valores más altos se observan en los pocillos tratados únicamente con tBOOH, indicando un elevado nivel de ROS intracelular. En los grupos tratados con el extracto + tBOOH, la fluorescencia disminuyó notablemente en las concentraciones media y baja, evidenciando una reducción del estrés oxidativo. No obstante, a dosis altas de extracto, la intensidad de fluorescencia fue similar o incluso mayor a la del grupo solo con tBOOH, lo que sugiere una posible acción prooxidante a estas concentraciones, (30).

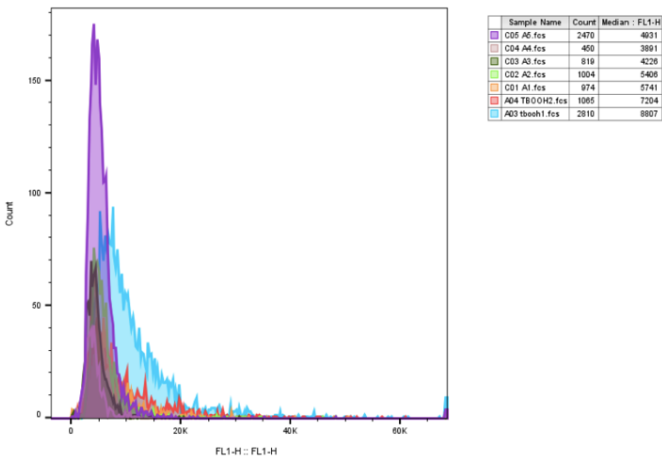


Figura 2. Células estresadas con tBOOH pretratadas con concentraciones altas de antioxidante. Imágenes obtenidas de FlowJo.

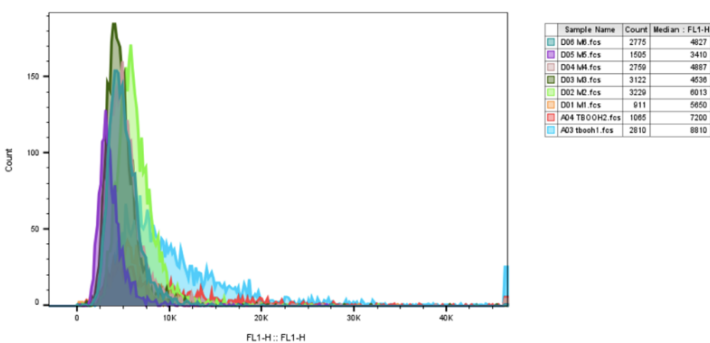


Figura 3. Células estresadas con tBOOH pretratadas con concentraciones medias de antioxidante. Imágenes obtenidas de FlowJo.

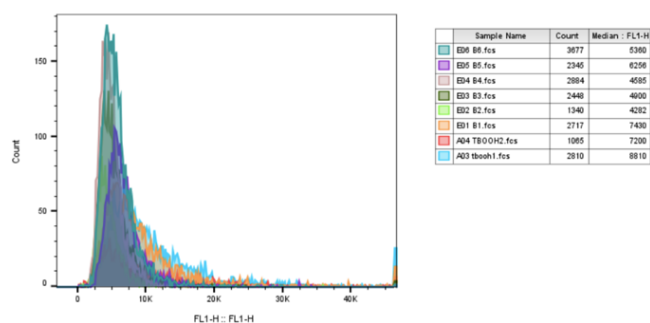


Figura 4. Células estresadas con tBOOH pretratadas con concentraciones bajas de antioxidante. Imágenes obtenidas de FlowJo.

Las imágenes microscópicas obtenidas durante el experimento mostraron morfología celular observada en los controles y en las muestras tratadas con extracto en dosis bajas y medias. En cambio, en los grupos con 50 μ M de tBOOH y dosis altas de extracto, se evidenció retracción celular y pérdida de integridad morfológica.

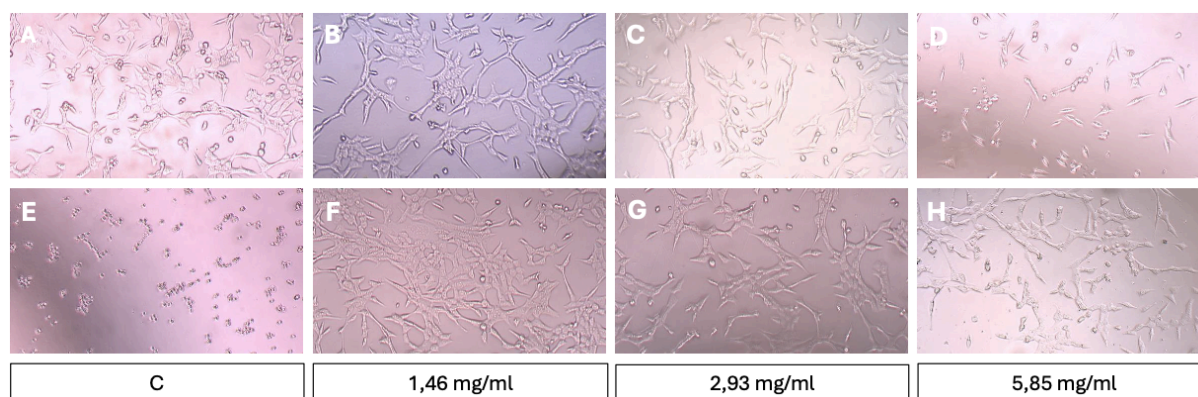


Ilustración 1. Imágenes microscópicas de las células 3T3. A: Células control sin tratamiento; B: Células con extracto a dosis bajas; C: Células con extracto a dosis medias; D: Células con extracto a dosis altas; E: tBOOH 50 μ M; F: Células con extracto a dosis bajas + tBOOH; G: Células con extracto a dosis medias + tBOOH; H: Células con extracto a dosis altas + tBOOH.

Los resultados obtenidos confirman el potencial antioxidante del extracto de hoja de olivo en un modelo celular de fibroblastos murinos. A concentraciones bajas y medias, los polifenoles presentes en el extracto demostraron una capacidad significativa para reducir la generación de ROS inducida por tBOOH, protegiendo así la viabilidad celular. Esto se alinea con estudios previos atribuyen a los compuestos fenólicos propiedades antioxidante eficaces en modelos biológicos, (31). No obstante, el comportamiento observado a concentraciones elevadas del extracto plantea la hipótesis de una posible actividad prooxidante, (32)

La evaluación cualitativa mediante imágenes microscópicas apoya estos hallazgos, mostrando cambios morfológicos que concuerdan con los perfiles de viabilidad y fluorescencia registrados. La combinación de métodos cualitativos y cuantitativos ha permitido una interpretación más completa del efecto del extracto sobre las células en condiciones de estrés oxidativo.

En conjunto, este estudio contribuye a caracterizar el comportamiento del extracto de hoja de

olivo como agente funcional en formulaciones tópicas, respaldando su inclusión como ingrediente antioxidante, siempre considerando las dosis empleadas para evitar efectos adversos.

El presente Trabajo de Fin de Grado se alinea de manera global con varios Objetivos de Desarrollo Sostenible, integrando la sostenibilidad en cada fase del desarrollo cosméticos. El ODS 3 (Salud y Bienestar) se refleja en la formulación de productos beneficiosos para la piel, elaborados con ingredientes naturales como el extracto de hoja de olivo. A través del aprovechamiento de subproductos vegetales, se contribuye al ODS 9 (Industria, Innovación e Infraestructura) y al ODS 12 (Producción y Consumo Responsables), fomentando un modelo de economía circular. Además, del enfoque respetuoso con el entorno apoya el ODS 11 (Ciudades y Comunidades Sostenibles) y el ODS 15 (Vida de Ecosistemas Terrestres), al promover el uso de materias primas biodegradables y locales. Así, el trabajo ofrece una propuesta cosmética innovadora y comprometida con el desarrollo sostenible.

5. Conclusión

1. En cuanto a la formulación y caracterización, se obtuvieron dos productos cosméticos funcionales, estables y sensorialmente adecuados, enriquecidos con extracto de hoja de olivo.
2. Los análisis de estabilidad confirmaron que ambas formulaciones mantienen sus propiedades fisicoquímicas bajo condiciones controladas, garantizando su conservación.
3. El extracto de hoja de olivo mostró una destacada actividad antioxidante a concentraciones medias y bajas, consolidando su valor como ingrediente activo en cosmética natural.
4. La integración de subproductos vegetales en cosmética se alineó con los ODS 3, 9, 11, 12 y 15, promoviendo salud, innovación y sostenibilidad ambiental y social.

6. Bibliografía

1. González Minero FJ, Bravo Díaz L. Botanical and pharmaceutical study of cosmetics and skin care products. *Ars Pharmaceutica*. 2017;58(4):175–91.
2. Borjan D, Leitgeb M, Knez Ž, Hrnčič MK. Microbiological and Antioxidant Activity of Phenolic Compounds in Olive Leaf Extract. Vol. 25, *Molecules*. MDPI; 2020.
3. Cádiz-Gurrea M de la L, Pinto D, Delerue-Matos C, Rodrigues F. Olive fruit and leaf wastes as bioactive ingredients for cosmetics—a preliminary study. *Antioxidants*. 2021 Feb 1;10(2):1–18.
4. Şahin S, Bilgin M. Olive tree (*Olea europaea* L.) leaf as a waste by-product of table olive and olive oil industry: a review. Vol. 98, *Journal of the Science of Food and Agriculture*. John Wiley and Sons Ltd; 2018. p. 1271–9.
5. Smeriglio A, Denaro M, Mastracci L, Grillo F, Cornara L, Shirooie S, et al. Safety and efficacy of hydroxytyrosol-based formulation on skin inflammation: in vitro evaluation on reconstructed human epidermis model. *DARU, Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2019 Jun 1;27(1):283–93.
6. Romani A, Ieri F, Urciuoli S, Noce A, Marrone G, Nediani C, et al. Health effects of phenolic compounds found in extra-virgin olive oil, by-products, and leaf of *olea europaea* L. *Nutrients*. 2019 Aug 1;11(8).
7. Şahin S, Bilgin M. Olive tree (*Olea europaea* L.) leaf as a waste by-product of table olive and olive oil industry: a review. Vol. 98, *Journal of the Science of Food and Agriculture*. John Wiley and Sons Ltd; 2018. p. 1271–9.
8. Nunes A, Marto J, Gonçalves L, Martins AM, Fraga C, Ribeiro HM. Potential therapeutic of olive oil industry by-products in skin health: a review. Vol. 57, *International Journal of Food Science and Technology*. John Wiley and Sons Inc; 2022. p. 173–87.
9. De Jaén U. *Grado en Química*.
10. Vogel P, Machado IK, Garavaglia J, Zani VT, de Souza D, Dal Bosco SM. Beneficios polifenoles hoja de olivo (*Olea europaea* L) para la salud humana. *Nutr Hosp*. 2015 Oct 3;31(3):1427–33.
11. de Lima Cherubim DJ, Buzanello Martins CV, Oliveira Fariña L, da Silva de Lucca RA. Polyphenols as natural antioxidants in cosmetics applications. Vol. 19, *Journal of Cosmetic Dermatology*. Blackwell Publishing Ltd; 2020. p. 33–7.
12. Andrés CMC, Pérez de la Lastra JM, Juan CA, Plou FJ, Pérez-Lebeña E. Polyphenols as

- Antioxidant/Pro-Oxidant Compounds and Donors of Reducing Species: Relationship with Human Antioxidant Metabolism. Vol. 11, Processes. Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI); 2023.
13. Kouka P, Priftis A, Stagos D, Angelis A, Stathopoulos P, Xinos N, et al. Assessment of the antioxidant activity of an olive oil total polyphenolic fraction and hydroxytyrosol from a Greek *Olea europea* variety in endothelial cells and myoblasts. *Int J Mol Med*. 2017 Sep 1;40(3):703–12.
 14. Rimawi A, Yateem H, Afaneh. FORMULATION AND EVALUATION OF A MOISTURIZING DAY CREAM CONTAINING OLIVE LEAVES EXTRACT [Internet]. 2014. Available from: <http://www.journalijdr.com>
 15. Wanitphakdeedecha R, Ng JNC, Junsuwan N, Phaitoonwattanakij S, Phothong W, Eimpunth S, et al. Efficacy of olive leaf extract-containing cream for facial rejuvenation: A pilot study. *J Cosmet Dermatol*. 2020 Jul 1;19(7):1662–6.
 16. Gorzynik-Debicka M, Przychodzen P, Cappello F, Kuban-Jankowska A, Gammazza AM, Knap N, et al. Potential health benefits of olive oil and plant polyphenols. Vol. 19, *International Journal of Molecular Sciences*. MDPI AG; 2018.
 17. Dzhambazov B, Batsalova T, Merky P, Lange F, Holmdahl R. NIH/3T3 Fibroblasts Selectively Activate T Cells Specific for Posttranslationally Modified Collagen Type II. *Int J Mol Sci*. 2023 Jul 1;24(13).
 18. Walker JM. *Methods in Molecular Biology*™ Series Editor [Internet]. Available from: www.springer.com/series/7651
 19. Fonseca-Santos B, Antonio Corrêa M, Chorilli M. Sustainability, natural and organic cosmetics: Consumer, products, efficacy, toxicological and regulatory considerations. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2015 Jan 1;51(1):17–26.
 20. Elmowafy M, Musa A, Alnusaire TS, Shalaby K, Fouda MMA, Salama A, et al. Olive oil/pluronic oleogels for skin delivery of quercetin: In vitro characterization and ex vivo skin permeability. *Polymers (Basel)*. 2021 Jun 1;13(11).
 21. Ansong JA, Asante E, Johnson R, Boakye-Gyasi M El, Kuntworbe N, Owusu FWA, et al. Formulation and Evaluation of Herbal-Based Antiacne Gel Preparations. *Biomed Res Int*. 2023;2023.
 22. Oficial del Estado B, Del Signo La Emulsión D DE. A G E N C I A E S P A Ñ O L A D E M E D I C A M E N F O R M U L A R I O N A C I O N A L.
 23. Vila Jato JL (Editor). Volumen II: Formas farmacéuticas. Vol. II. Síntesis Farmacia; 2001.

24. Mosca M, Diantom A, Lopez F, Ambrosone L, Ceglie A. Impact of antioxidants dispersions on the stability and oxidation of water-in-olive-oil emulsions. *European Food Research and Technology*. 2013 Feb 1;236(2):319–28.
25. Rahman MS, Hasan MS, Nitai AS, Nam S, Karmakar AK, Ahsan MS, et al. Recent developments of carboxymethyl cellulose. Vol. 13, *Polymers*. MDPI AG; 2021.
26. Melguizo-Rodríguez L, Illescas-Montes R, Costela-Ruiz VJ, Ramos-Torrecillas J, de Luna-Bertos E, García-Martínez O, et al. Antimicrobial properties of olive oil phenolic compounds and their regenerative capacity towards fibroblast cells. *J Tissue Viability*. 2021 Aug 1;30(3):372–8.
27. Ghalandari M, Naghmachi M, Oliverio M, Nardi M, Shirazi HRG, Eilami O. Antimicrobial effect of hydroxytyrosol, hydroxytyrosol acetate and hydroxytyrosol oleate on staphylococcus aureus and staphylococcus epidermidis. *Electronic Journal of General Medicine*. 2018;15(4).
28. Al-Rimawi F, Sbeih M, Amayreh M, Rahhal B, Mudalal S. Evaluation of the antibacterial and antifungal properties of oleuropein, olea Europea leaf extract, and thymus vulgaris oil. *BMC Complement Med Ther*. 2024 Dec 1;24(1).
29. Park EH, Kim SJ. Protective effect of Buddha's Temple extract against tert-butyl hydroperoxide stimulation-induced oxidative stress in DF-1 cells. *Anim Biosci*. 2023 Jul 1;36(7):1120–9.
30. Lee KJ, Choi JH, Hwang YP, Chung YC, Jeong HG. Protective effect of caffeic acid phenethyl ester on tert-butyl hydroperoxide-induced oxidative hepatotoxicity and DNA damage. *Food and Chemical Toxicology*. 2008 Jul;46(7):2445–50.
31. Kouka P, Priftis A, Stagos D, Angelis A, Stathopoulos P, Xinos N, et al. Assessment of the antioxidant activity of an olive oil total polyphenolic fraction and hydroxytyrosol from a Greek Olea europea variety in endothelial cells and myoblasts. *Int J Mol Med*. 2017 Sep 1;40(3):703–12.
32. Bernatoniene J, Kopustinskiene DM. The Role of Catechins in Cellular Responses to Oxidative Stress. Vol. 23, *Molecules*. MDPI AG; 2018.

ANEXOS

ANEXO I. Prólogo One Health

Este proyecto nace bajo el enfoque integrador de One Health, una perspectiva que entiende la salud humana, animal y ambiental como partes interconectadas de un mismo sistema. En un contexto global donde los desafíos sanitarios son cada vez más complejos, esta visión resulta clave para encontrar soluciones sostenibles, interdisciplinarias y basadas en la evidencia científica.

En este marco, dos estudiantes universitarias —una del grado en Biotecnología y otra de Farmacia— han llevado a cabo un estudio conjunto centrado en el aprovechamiento de un residuo vegetal común: la hoja seca de olivo (*Olea europaea*). Este subproducto agrícola, fácilmente disponible en nuestro entorno, contiene compuestos bioactivos polifenólicos de gran interés con propiedades destacadas tanto en salud como en cosmética.

Desde el ámbito de la biotecnología, se trabajó en la extracción y transformación de compuestos fenólicos mediante el uso de microorganismos seleccionados, como especies de *Lactobacillus*, con el objetivo de optimizar la obtención de hidroxitirosol. Esta línea de investigación no solo busca valorizar residuos vegetales, sino también explorar el potencial antimicrobiano del producto final.

Paralelamente, desde la perspectiva farmacéutica, se evaluó la capacidad antioxidante del extracto y se desarrollaron formulaciones cosméticas, sometidas a distintas pruebas de estabilidad. Esto permitió trasladar los resultados del laboratorio a aplicaciones concretas en el ámbito del cuidado personal, con productos seguros y sostenibles.

Este trabajo ha sido una experiencia formativa muy enriquecedora, donde la colaboración entre disciplinas ha dado lugar a propuestas innovadoras con impacto real en la salud global, en línea con los principios de One Health.

ANEXO II. Conclusiones One Health

El estudio demuestra cómo la unión entre biotecnología y farmacia permite abordar de forma integral la revalorización de un residuo agrícola, que puede ser reintegrado en la cadena productiva.

El uso de hojas secas de olivo como materia prima pone en valor un recurso natural poco aprovechado, alineando el proyecto con los principios de sostenibilidad y economía circular que promueve One Health.

A través de procesos biotecnológicos, se ha tratado de obtener hidroxitirosol, un compuesto con propiedades terapéuticas prometedoras.

Además, la incorporación del extracto en formulaciones cosméticas estables que se pueden usar directamente permite establecer un puente entre el laboratorio y el consumidor, con productos eficaces y respetuosos con el medio ambiente.

Este trabajo es un ejemplo concreto de cómo la ciencia, desde distintas áreas, puede contribuir a una salud global más integrada, mediante el uso responsable de recursos naturales, la reducción de residuos y la posibilidad de emplear derivados naturales como alternativa a compuestos sintéticos.

ANEXO III. Características organolépticas

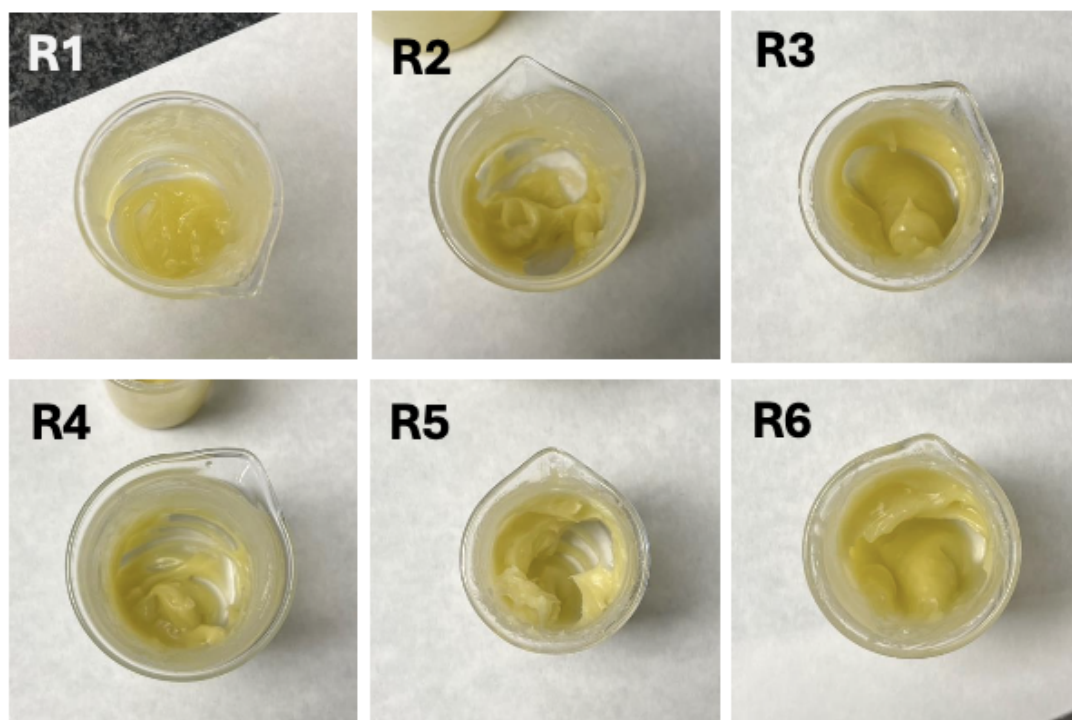


Ilustración 2. Bálsamo labial. R1: Réplica 1; R2: Réplica 2; R3: Réplica 3; R4: Réplica 4; R5: Réplica 5; R6: Réplica 6. Fuente: Elaboración propia.

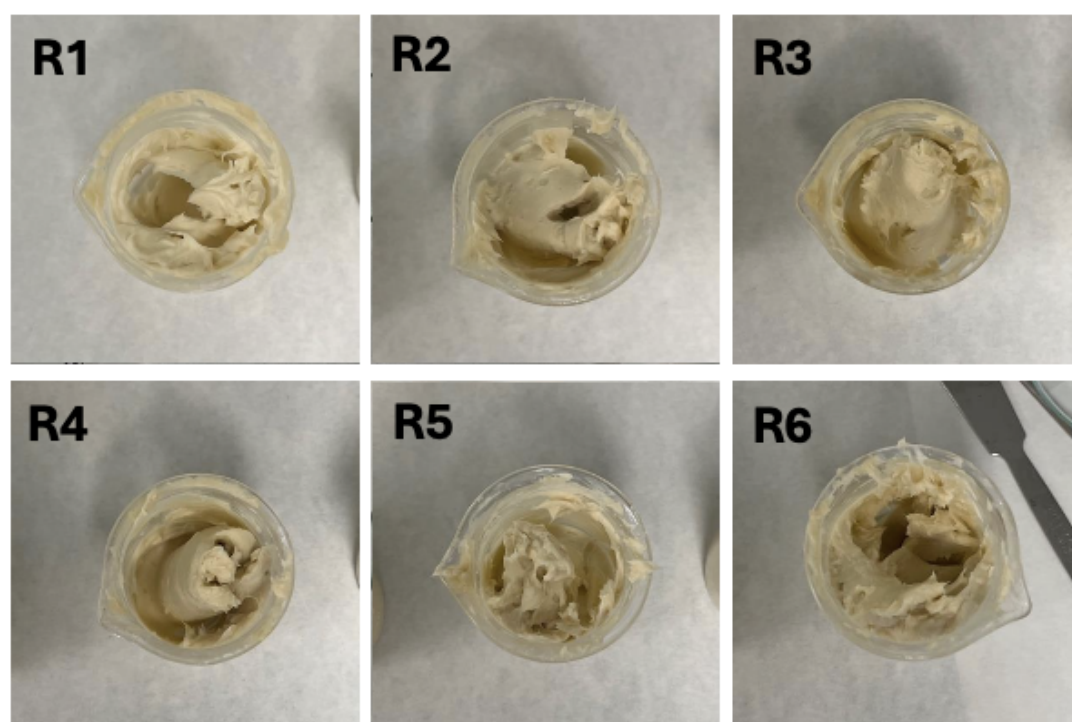


Ilustración 3. Oleogel. R1: Réplica 1; R2: Réplica 2; R3: Réplica 3; R4: Réplica 4; R5: Réplica 5; R6: Réplica 6. Fuente: Elaboración propia.

ANEXO IV. Signo emulsión

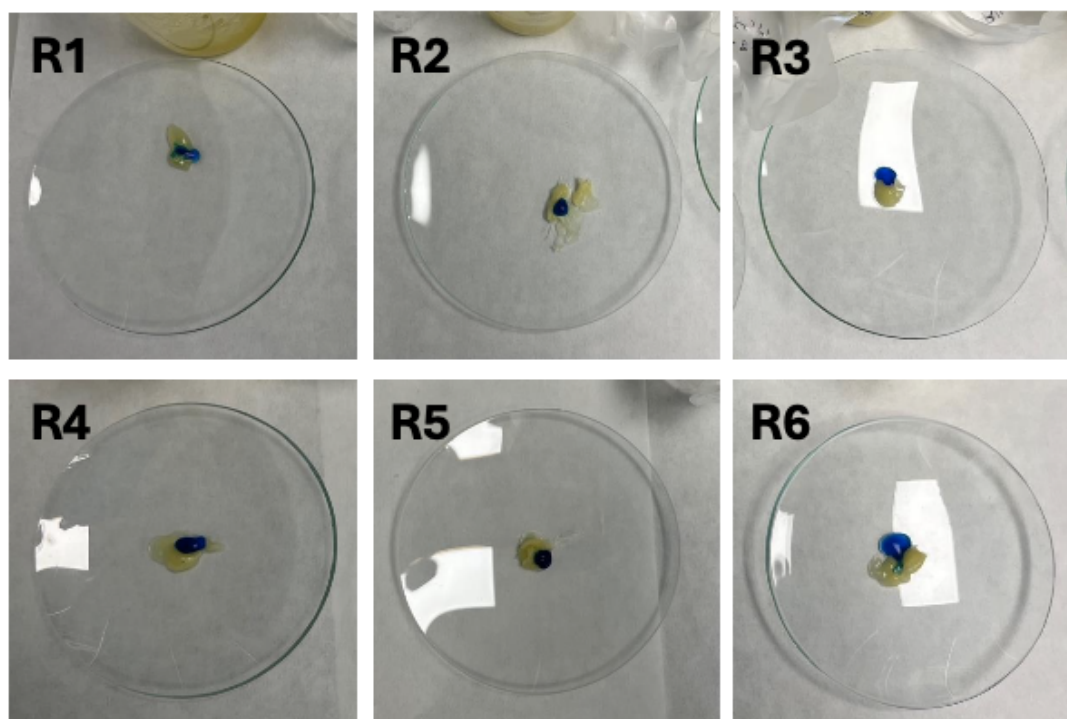


Ilustración 4. Método coloración con azul de metileno. Bálsamo labial. R1: Réplica 1; R2: Réplica 2; R3: Réplica 3; R4: Réplica 4; R5: Réplica 5; R6: Réplica 6. Fuente: Elaboración propia.

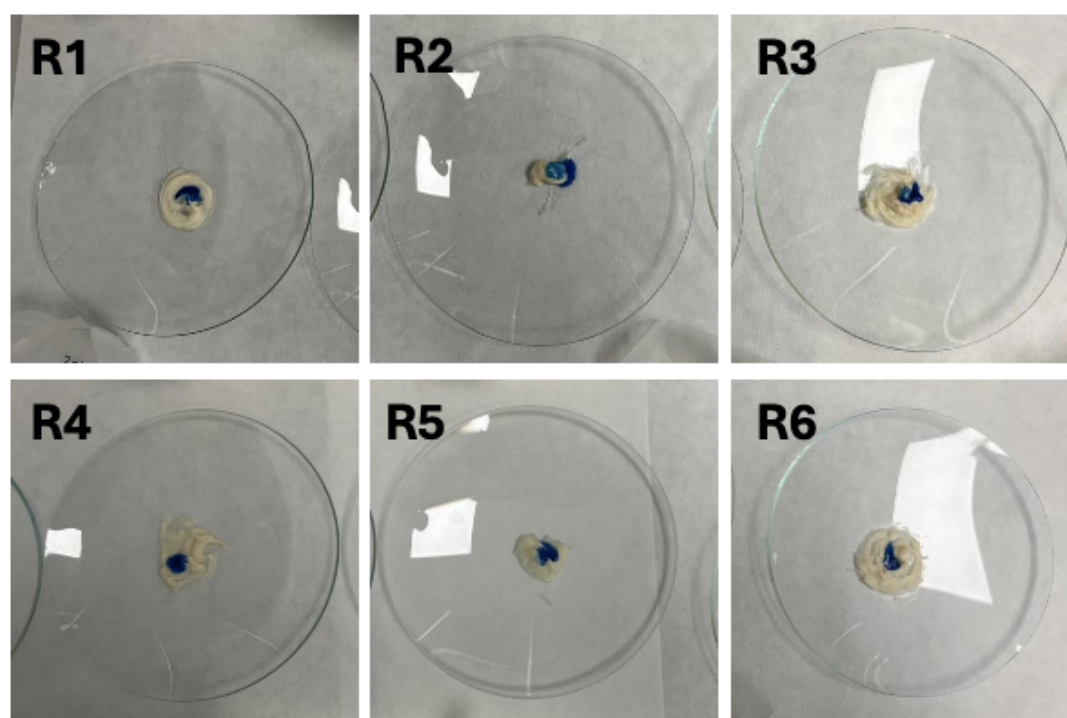


Ilustración 5. Método coloración con azul de metileno. Oleogel. R1: Réplica 1; R2: Réplica 2; R3: Réplica 3; R4: Réplica 4; R5: Réplica 5; R6: Réplica 6. Fuente: Elaboración propia.

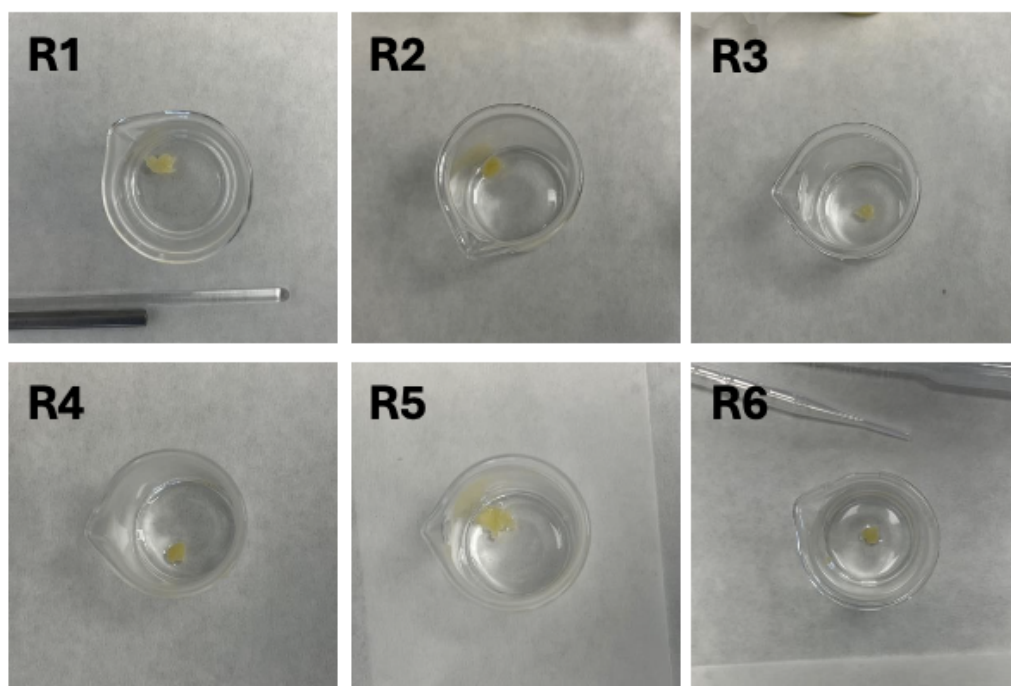


Ilustración 6. Método dilución. Bálsamo labial. R1: Réplica 1; R2: Réplica 2; R3: Réplica 3; R4: Réplica 4; R5: Réplica 5; R6: Réplica 6. Fuente: Elaboración propia.

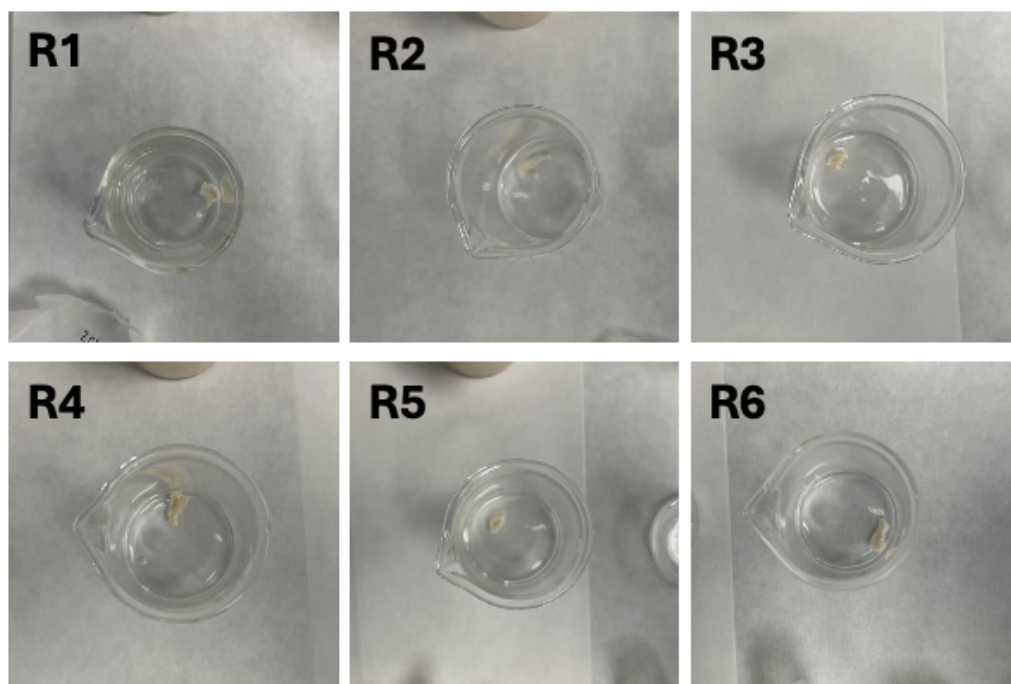


Ilustración 7. Método dilución. Oleogel. R1: Réplica 1; R2: Réplica 2; R3: Réplica 3; R4: Réplica 4; R5: Réplica 5; R6: Réplica 6. Fuente: Elaboración propia.

ANEXO V. Estabilidad microbiológica

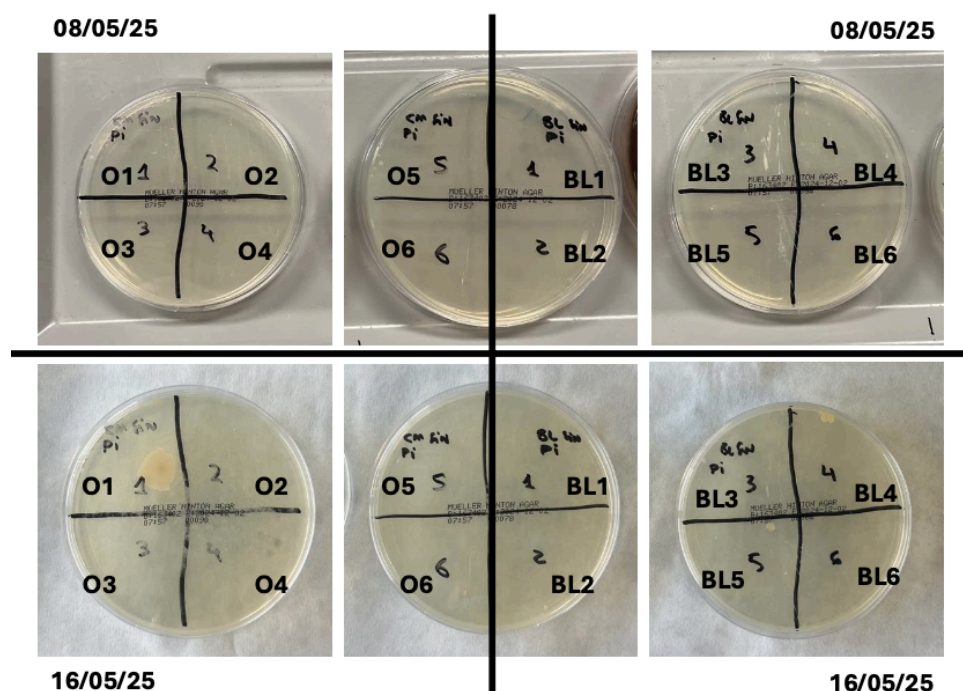


Ilustración 8. Crecimiento microbiano en placas Mueller-Hinton dividido en 4 cuadrantes, correspondientes a réplicas de oleogel y bálsamo labial, ambas sin extracto de hoja de olivo. En condiciones del día 1 y tras 8 días de incubación. O1: Oleogel 1; O2: Oleogel 2; O3: Oleogel 3; O4: Oleogel 4; O5: Oleogel 5; O6: Oleogel 6; BL1: Bálsamo Labial 1; BL2: Bálsamo Labial 2; BL3: Bálsamo Labial 3; BL4: Bálsamo Labial 4; BL5: Bálsamo Labial 5; BL6: Bálsamo Labial 6. Fuente: Elaboración propia.

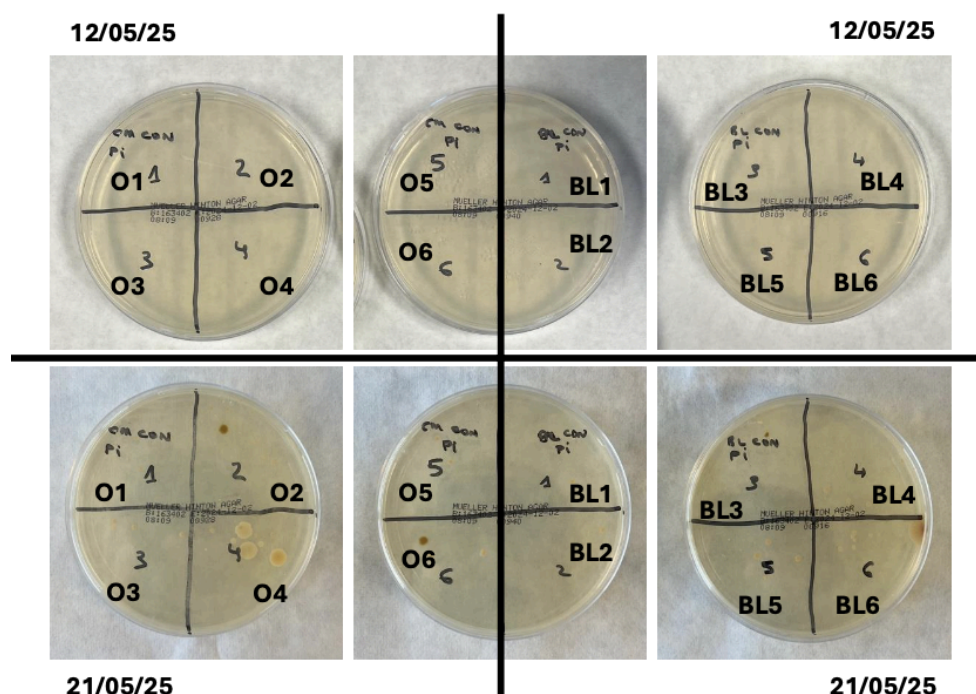


Ilustración 8. Crecimiento microbiano en placas Mueller-Hinton dividido en 4 cuadrantes, correspondientes a réplicas de oleogel y bálsamo labial, ambas con extracto de hoja de olivo. En condiciones del día 1 y tras 9 días de incubación. O1: Oleogel 1; O2: Oleogel 2; O3: Oleogel 3; O4: Oleogel 4; O5: Oleogel 5; O6: Oleogel 6; BL1: Bálsamo Labial 1; BL2: Bálsamo Labial 2; BL3: Bálsamo Labial 3; BL4: Bálsamo Labial 4; BL5: Bálsamo Labial 5; BL6: Bálsamo Labial 6. Fuente: Elaboración propia.

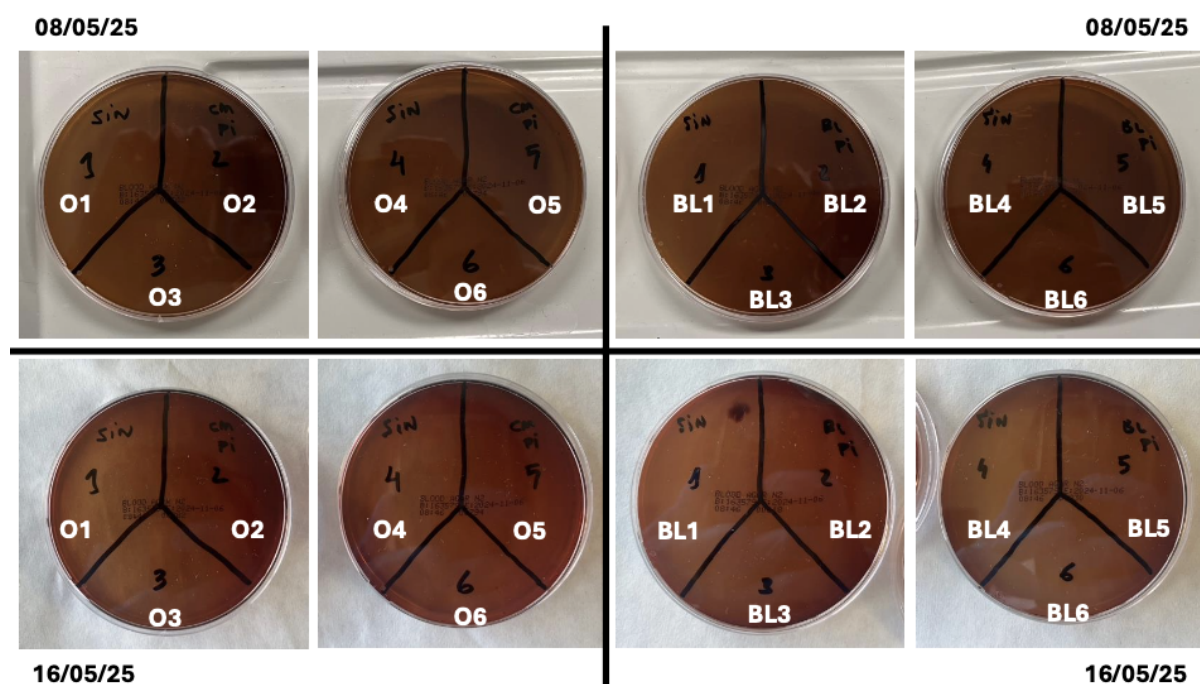


Ilustración 9. Crecimiento microbiano en placas Agar sangre dividida en 4 cuadrantes, correspondientes a réplicas de oleogel y bálsamo labial, ambas sin extracto de hoja de olivo. En condiciones del día 1 y tras 8 días de incubación. O1: Oleogel 1; O2: Oleogel 2; O3: Oleogel 3; O4: Oleogel 4; O5: Oleogel 5; O6: Oleogel 6; BL1: Bálsamo Labial 1 ; BL2: Bálsamo Labial 2 ; BL3: Bálsamo Labial 3; BL4: Bálsamo Labial 4; BL5: Bálsamo Labial 5 ; BL6: Bálsamo Labial 6. Fuente: Elaboración propia.

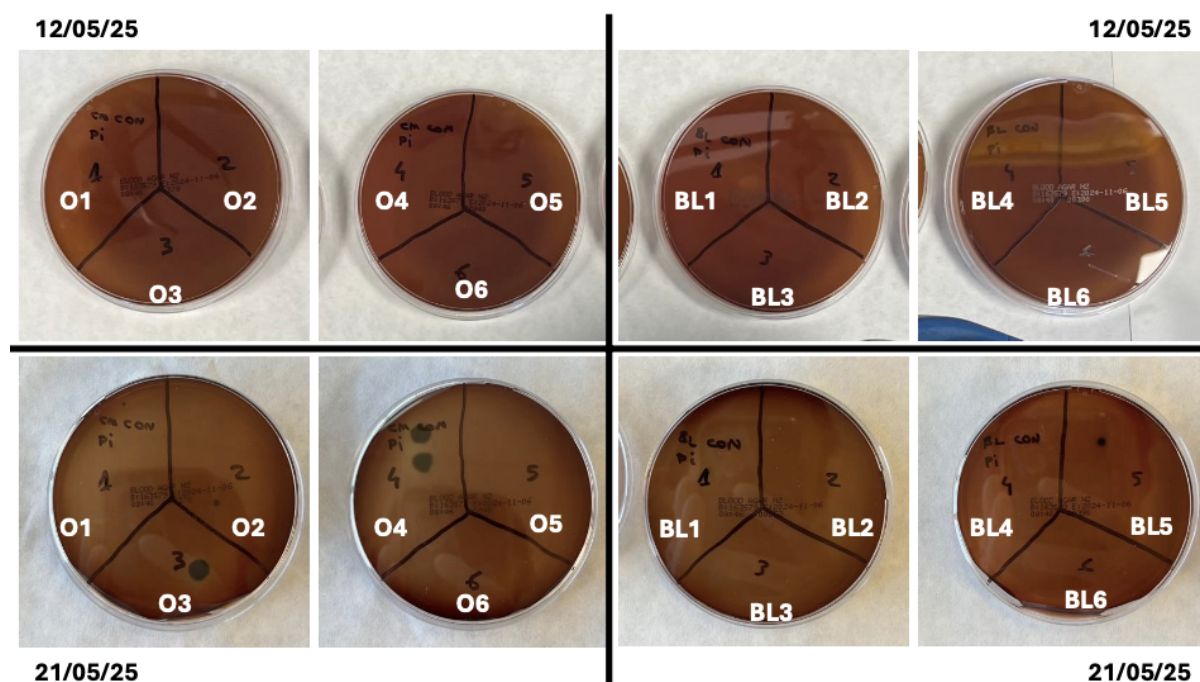


Ilustración 10. Crecimiento microbiano en placas Agar sangre dividida en 4 cuadrantes, correspondientes a réplicas de oleogel y bálsamo labial, ambas con extracto de hoja de olivo. En condiciones del día 1 y tras 9 días de incubación. O1: Oleogel 1; O2: Oleogel 2; O3: Oleogel 3; O4: Oleogel 4; O5: Oleogel 5; O6: Oleogel 6; BL1: Bálsamo Labial 1 ; BL2: Bálsamo Labial 2 ; BL3: Bálsamo Labial 3; BL4: Bálsamo Labial 4; BL5: Bálsamo Labial 5 ; BL6: Bálsamo Labial 6. Fuente: Elaboración propia.

AGRADECIMIENTOS

Quiero comenzar agradeciendo profundamente a mis padres, por darme la oportunidad de estudiar la carrera que siempre soñé y que, con el tiempo, he descubierto que realmente me apasionaba. Gracias por confiar en mí y por acompañarme en cada paso.

A mi hermana, a quien quiero con todo mi corazón, gracias por estar siempre presente. Y a mis abuelas, por rezar cada día por mí y enviarme ánimos.

A mi abuelo Fermín, que no llegó a verme cumplir este sueño y me llena de orgullo convertirme en farmacéutica como él. A mi abuelo Juan, que me acompañó hasta segundo de carrera. También a mi tío Ángel, porque sé que está muy orgulloso de poder compartir profesión conmigo durante unos años.

A José María, mi compañero de vida, por acompañarme en todos mis años de carrera, por su apoyo constante, por aguantarme como nadie y por no dejarme nunca sola. Su presencia ha sido esencial en todo este proceso.

A mi tutora Laura Redondo, para la que no tengo suficientes palabras para agradecerle su dedicación, su cercanía y todo lo que me ha enseñado. He sido muy afortunada de tenerla.

A Laura Pérez, con quien he podido compartir laboratorio, por su entrega, generosidad y apoyo constante durante este proceso.

Finalmente, quiero agradecer a todos los profesores que me han acompañado a lo largo del Grado de Farmacia. Cada uno ha contribuido a mi formación, no solo académica, sino también personal. Gracias a ellos, hoy me siento más preparada para ejercer esta profesión con responsabilidad y vocación.

A todos lo que, de una forma u otra, han formado parte de este camino: gracias, de todo corazón.