
Miristato de miristilo “100% natural”. *Estudio del proceso de síntesis biocatalítica*

S. Ortega, M.C. Montiel, M. Serrano, M.F. Máximo y J. Bastida*

Departamento de Ingeniería Química. Facultad de Química. Universidad de Murcia. Campus de Espinardo. 30100 Murcia, España

“100% natural” myristyl myristate. Study of the biocatalytic synthesis process

Miristat de miristilo “100% natural”. Estudi del procés de síntesi biocatalítica

Recibido: 29 de octubre de 2014; aceptado: 1 de marzo de 2015

RESUMEN

El miristato de miristilo es uno de los ésteres cerosos más utilizados en las formulaciones cosméticas como emoliente. La legislación europea permite catalogar como productos naturales a todos aquellos obtenidos directamente de la naturaleza o los sintetizados mediante procedimientos biocatalíticos. En este contexto, el presente trabajo recoge los estudios realizados para optimizar la síntesis biocatalítica de miristato de miristilo con lipasa de *Candida antarctica* inmovilizada (Novozym® 435). Operando a 70°C, a vacío y con circulación de N₂ seco, se ha podido obtener, en tan sólo 2 horas, un éster que presenta las mismas características (número ácido, valor de hidroxilo, índice de yodo e índice de saponificación), que los productos que se encuentran actualmente en el mercado, con la notable ventaja de que este miristato de miristilo permite el etiquetado de los productos cosméticos que lo contienen como “100% natural”.

Palabras clave: Lipasa B de *Candida antarctica*; miristato de miristilo; síntesis biocatalítica; síntesis enzimática.

SUMMARY

Myristyl myristate is one of the more used waxy esters in cosmetic formulations due to its emollient properties. European legislation allows classifying as natural products to those extracted from nature sources by physical procedures or those obtained using biocatalytic methods. In this context, this work summarizes the optimization of the biocatalytic synthesis of myristyl myristate using immobilized *Candida antarctica* lipase (Novozym® 435) as

catalyst. This study demonstrates that operating at 70°C, working at low pressure (below atmospheric) and circulating dry N₂, it is possible to obtain, in only 2 hours, an ester having the same properties (acid number and hydroxyl, iodine and saponification values) that products currently on the market. In addition, cosmetic products containing this biocatalytic myristyl myristate can be labeled as “100% natural”, which is a notable commercial advantage.

Keywords: *Candida antarctica* lipase B; myristyl myristate; biocatalytic synthesis; enzymatic synthesis.

RESUM

El miristat de miristilo és un dels èsters cerosos més utilitzats en les formulacions cosmètiques com emol·lient. La legislació europea permet catalogar com a productes naturals a tots aquells obtinguts directament de la natura o els sintetitzats mitjançant procediments biocatalítics. En aquest context, el present treball recull els estudis realitzats per optimitzar la síntesi biocatalítica del miristat de miristilo amb lipasa de *Candida antarctica* immobilitzada (Novozym® 435). Operant a 70°C, al buit i amb circulació de N₂ sec, s'ha pogut obtenir, en tan sols 2 hores, un éster que presenta les mateixes característiques (nombre àcid, valor de hidroxil, índex de iode i índex de saponificació), que els productes que es troben actualment al mercat, amb la notable avantatge que aquest miristat de miristilo permet l'etiquetatge dels productes cosmètics que el contenen com “100% natural”.

Paraules clau: Lipasa B de *Candida antarctica*; miristat de miristilo; síntesi biocatalítica; síntesi enzimàtica.

INTRODUCCIÓN

Hoy en día existen en el mercado multitud de productos para el cuidado de la piel que satisfacen una gran variedad de funciones, bien actuando directamente sobre la piel o siendo vehículos para la dosificación de algún principio activo.

La forma más común en la que se presentan los productos para el cuidado de la piel es en emulsión, siendo las denominadas O/W (aceite en agua) las que se usan con más frecuencia, ya que proporcionan una sensación menos grasienta. Su contenido en aceite varía entre el 10 y el 35% y el agua ayuda a la hidratación del estrato córneo de la piel (1). Los emulsionantes (7%) y los emolientes (18%) son componentes esenciales para mantener las emulsiones. Los emolientes, además, tiene la propiedad de aliviar zonas inflamadas, suavizando y protegiendo la piel o las mucosas (2, 3).

Entre los emolientes destacan por su amplia aplicabilidad los ésteres, normalmente obtenidos a partir de ácidos grasos y alcoholes de cadena larga que exhiben propiedades diferentes dependiendo de la longitud de la cadena y la estructura (4). Actualmente, se dispone de cerca de 50 ésteres emolientes diferentes, dependiendo la elección de uno u otro de las preferencias del consumidor y de su aplicación concreta (5, 6). Con un volumen de producción de varios cientos de metros cúbicos por año, el miristato de miristilo es el más importante entre ellos (5).

El miristato de miristilo ($C_{28}H_{56}O_2$), que se encuentra en la naturaleza en proporciones muy pequeñas (7), se obtiene, principalmente, mediante una reacción de esterificación catalizada por oxalato de estaño (II) y realizada a 240°C (8, 9). Otros trabajos, en cambio, refieren que sólo son necesarias temperaturas de 160°C (2, 10). En estas condiciones son muy probables las reacciones secundarias, que dan lugar a la formación de subproductos que confieren a los productos finales propiedades organolépticas indeseables y que provocan el rechazo por parte de los consumidores.

Una alternativa para minimizar estos problemas es la obtención de estos ésteres de ácidos grasos mediante síntesis enzimática, utilizando una lipasa (11, 12). La reacción de esterificación se favorece en un medio con una mínima cantidad de agua, sólo la necesaria para mantener la estructura terciaria de la enzima.

En la bibliografía disponible se han encontrado algunos trabajos en los que se describe la síntesis enzimática de miristato de miristilo, aunque éstos se han centrado únicamente en el estudio de de evaluación del ciclo de vida (ECV). Los resultados obtenidos han puesto de manifiesto que estos procesos son muy ventajosos puesto que las lipasas son capaces de operar en condiciones suaves (algunas incluso a temperaturas inferiores a 60°C) y presentan una elevada selectividad, de forma que se evitan otras reacciones indeseables, siendo innecesarias las costosas etapas de separación y purificación que tanto encarecen estos productos (2, 13, 14). Además, los ésteres emolientes obtenidos mediante catálisis enzimática, permitirían el etiquetado "producto 100% natural" a los productos cosméticos que los contengan (15).

Por otro lado, es importante reseñar que, en un trabajo anterior, se ha descrito el modelo cinético de esta reacción de síntesis, aunque no se aportan datos suficientes sobre las características del producto final obtenido ni se com-

para con los compuestos disponibles en el mercado que han sido obtenidos por vía química (16).

A la vista de todo lo anteriormente expuesto, en el presente trabajo se va a estudiar la síntesis enzimática de miristato de miristilo utilizando como biocatalizador la lipasa B de *Candida antarctica* Novozym® 435, en un sistema libre de disolventes, lo que la enmarca dentro del campo de la "química verde". Para conseguir el objetivo anteriormente descrito, en primer lugar se van a determinar las condiciones óptimas de la reacción enzimática, tanto en reactores abiertos a la atmósfera como en reactores de atmósfera controlada y a vacío. A continuación, se va a proceder a la caracterización del producto obtenido para, finalmente, comparar sus especificaciones con las de otros productos disponibles en el mercado.

MATERIALES Y MÉTODOS

Materiales

Lipasa B (CalB) de *Candida antarctica*, Novozym® 435, donada por Novozymes. Ácido mirístico, 98%, suministrado por Fluka y alcohol mirístico, 97%, de Aldrich. Los restantes reactivos fueron de calidad analítica, suministrados por diferentes casas comerciales y se utilizaron sin purificación previa.

Métodos

Síntesis enzimática de miristato de miristilo en un reactor abierto

Se utilizó un reactor tanque discontinuo de vidrio encamisado, de 250 mL, suministrado por Afora. El reactor estaba abierto a la atmósfera y provisto de un agitador vertical (RZR 1 de Heidolph, con una turbina de cuatro palas planas rectas). Todos los experimentos se realizaron con 20 g de sustratos (ácido y alcohol mirísticos, relación molar 1:1). Ambos reactivos son sólidos a temperatura ambiente por lo que, en primer lugar, se conectó el baño termostático a la temperatura adecuada y se esperó hasta su completa fusión. En ese momento se conectó el agitador vertical y, cuando la mezcla fue homogénea, se añadió la cantidad de enzima correspondiente a cada experimento. Se realizaron experimentos variando la cantidad de enzima, la temperatura y la velocidad de agitación:

- Cantidades de enzima variables entre 0.08 y 1 g de Novozym® 435.
- Temperaturas de reacción entre 50 y 70°C.
- Velocidades de agitación comprendidas entre 125 y 350 rpm.

La toma de muestras se realizó de forma periódica, para la cual se desconectó la agitación y se esperó unos segundos hasta que la enzima inmovilizada se hubiera depositado en el fondo del reactor. El seguimiento de la reacción se realizó mediante la determinación del número ácido, que cuantifica grupos ácidos no esterificados y se expresa como los miligramos de hidróxido potásico necesarios para neutralizar 1 g de muestra (17).

Síntesis enzimática de miristato de miristilo en un reactor a vacío con circulación de N_2

Se utilizó un reactor tanque discontinuo modelo 5101 de Parr, con recipiente de vidrio encamisado de 100 ml de capacidad y un agitador vertical de cuatro palas planas inclinadas. Está conectado a una bomba de vacío de membrana KNF N816.3.KN18 y el N_2 es suministrado por un generador de nitrógeno modelo 3848 – NitroFlow Lab

de Parker y se hace fluir por una columna de gel de sílice antes de ser introducido en el reactor.

El procedimiento operativo en este equipo es similar al descrito para el reactor abierto a la atmósfera, con la única diferencia de que, una vez adicionada la enzima inmovilizada, se conecta la entrada de nitrógeno seco (50 l/h) y la bomba de vacío, regulándose la presión en el interior del reactor a 160 mm Hg. Todos los experimentos se realizaron a 70°C, 350 rpm y 0.5 g de Novozym® 435.

Para el estudio de la reutilización del derivado inmovilizado, al finalizar cada reacción se separó éste por filtración, se lavó con acetona y se utilizó en una nueva reacción.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Determinación de las condiciones óptimas de reacción

En primer lugar se determinó la cantidad óptima de biocatalizador Novozym® 435 necesaria para la síntesis de miristato de miristilo. Para ello, se realizaron siete experimentos variando la cantidad de Novozym® 435 en un rango de valores comprendido entre 0.08 y 1 g. Los resultados obtenidos se muestran en la Figura 1, en la que se ha representado la variación del número ácido del medio de reacción frente al tiempo.

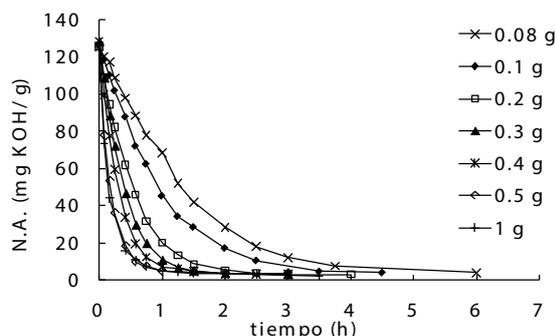


Figura 1.- Influencia de la cantidad de biocatalizador en la reacción de síntesis de miristato de miristilo. Reactor tanque discontinuo abierto a la atmósfera, 20 g de sustratos (relación molar 1:1), 60°C y 350 rpm.

Como era de esperar, al aumentar la cantidad de biocatalizador presente se produce un incremento de la velocidad de reacción, si bien éste no se produce de forma proporcional ya que, al variar la cantidad de enzima de 0.08 g a 0.1 g, la velocidad de reacción aumenta considerablemente, mientras que este incremento es insignificante al aumentar de 0.5 g a 1 g. A la vista de estos resultados no se consideró necesario realizar experimentos con mayor cantidad de enzima, ya que la velocidad de la reacción no aumentaría. Tras 24 horas de reacción, el número ácido final alcanzado es muy similar en todos los casos, comprendido entre 2 y 4 mg KOH/g.

Con los resultados obtenidos se puede decir que, para elegir la concentración de Novozym® 435 óptima, se deberá realizar un estudio económico en el que se tenga en cuenta tanto los costes de derivado inmovilizado empleado, como los costes de operación que dependerán del tiempo de reacción. En el caso de considerar solamente el aspecto relacionado con el tiempo de reacción, se consideraría óptima una cantidad de derivado enzimático del 0.5 g (para 20 g de sustratos), ya que a partir de ésta la velocidad de reacción no aumenta.

Para determinar la temperatura óptima de la reacción de síntesis del miristato de miristilo, se ha variado ésta entre 50°C y 70°C. La elección del rango de temperaturas a estudiar se ha determinado en base a información disponible en de la bibliografía. La lipasa CalB presenta una temperatura de desnaturalización entre 50°C y 60°C, sin embargo puede llegar a mantener su actividad a temperaturas más elevadas en el caso de estar inmovilizada y en un medio de reacción anhidro, como es el caso que nos atañe (18, 19). Respecto a los sustratos de la reacción, el ácido mirístico tiene un punto de fusión de 52-54°C y el alcohol mirístico de 37-39°C. Por otro lado, el miristato de miristilo tiene un punto de fusión de 36-40°C. Por todo ello se ha establecido, como límite mínimo de temperatura de trabajo 50°C, para evitar la solidificación del medio de reacción. Aunque esta temperatura es ligeramente inferior al punto de fusión del ácido mirístico, se ha comprobado que éste se disuelve en el alcohol mirístico fundido. Los resultados obtenidos en los tres experimentos realizados se presentan en la Figura 2, que muestra la evolución del número ácido de cada una de las reacciones con el tiempo.

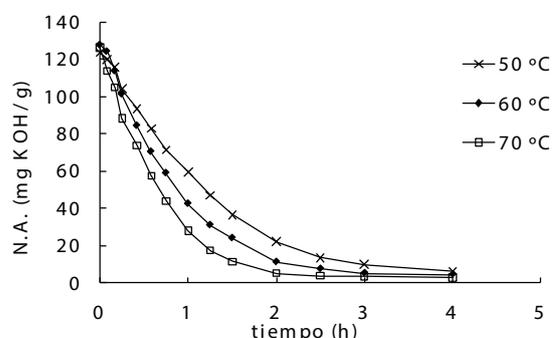


Figura 2.- Influencia de la temperatura en la reacción de síntesis de miristato de miristilo. Reactor tanque discontinuo abierto a la atmósfera, 20 g de sustratos (relación molar 1:1), 0.1 g de Novozym® 435 y 350 rpm.

Como era de esperar, un aumento de la temperatura del medio de reacción provoca un incremento de la velocidad de esterificación. En el rango de temperaturas estudiado, al aumentar la temperatura 10°C, ya sea de 50°C a 60°C o de 60°C a 70°C se produce una disminución del número ácido en una proporción similar. Así, comparando los resultados obtenidos tras 1 h de reacción, el número ácido es un 29% más bajo cuando se aumenta la temperatura de 50°C a 60°C y un 33% menor si se eleva hasta 70°C. Además de la velocidad de reacción, el valor de número ácido final alcanzado, tras 24 horas, también se ha visto influenciado por la temperatura del proceso, consiguiendo un número ácido de 2.82 mg KOH/g a 70°C, frente a los 5.22 mg KOH/g alcanzados a 50°C.

Otra variable que adquiere una gran importancia en la velocidad de las reacciones heterogéneas es la velocidad de agitación, que debe ser tal que los fenómenos de transporte no sean los limitantes de la velocidad de la reacción. Sin embargo, al tratarse de una reacción enzimática, elevadas velocidades de agitación pueden suponer la rotura del soporte de la enzima inmovilizada y con ello, una pérdida importante de su actividad catalítica. Se han llevado a cabo tres experimentos utilizando en todos ellos un agitador vertical provisto de una turbina de cuatro palas planas, que proporciona un flujo radial, a tres velocidades de agitación diferentes. La Figura 3 recoge los resultados

obtenidos en términos de evolución del número ácido de las reacciones con el tiempo y en ella se puede observar que el aumento de la velocidad de agitación provoca un incremento de la velocidad de reacción, lo que pone de manifiesto el control difusional del proceso.

A la vista de estos resultados preliminares, se ha podido determinar que las mejores condiciones para realizar la síntesis del miristato de miristilo son 0.5 g de Novozym® 435 (para 20 g de sustratos, lo que supone un 2.5% del peso de los sustratos), 70°C y 350 rpm de velocidad de agitación.

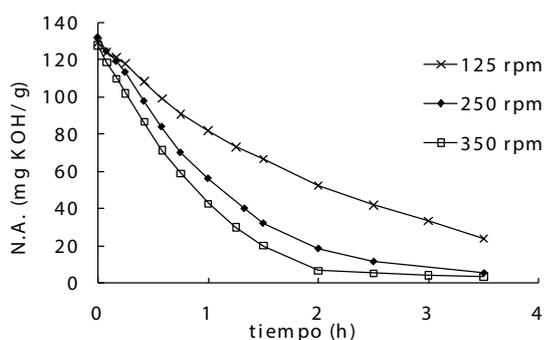


Figura 3.- Influencia de la velocidad de agitación en la reacción de síntesis de miristato de miristilo. Reactor tanque discontinuo abierto a la atmósfera, 20 g de sustratos (relación molar 1:1), 0.1 g de Novozym® 435 y 60°C.

Obtención del miristato de miristilo en un reactor de altas prestaciones. Reutilización del biocatalizador

El contenido en agua de la mezcla reaccionante es un factor determinante sobre el equilibrio de la reacción de síntesis de miristato de miristilo. Hasta el momento, se han utilizado reactores abiertos a la atmósfera y, en todos los experimentos realizados, se ha podido observar que el valor de número ácido final alcanzado viene condicionado por la humedad ambiental. Con el fin de minimizar esta influencia y, además, desplazar el equilibrio de la reacción en el sentido de la síntesis, se ha procedido a realizar la reacción de obtención del miristato de miristilo en un reactor cerrado, de atmósfera controlada, operando a vacío y con burbujeo continuo de N₂ seco. Operando en las condiciones óptimas anteriormente expuestas, se ha podido obtener un éster con número ácido inferior a 2 mg KOH/g en tan sólo 2 h de operación.

Una de las principales ventajas del uso de enzimas inmovilizadas es la posibilidad de utilización del biocatalizador en sucesivos ciclos de reacción, lo cual supone un considerable ahorro económico en el desarrollo del proceso. Por esta razón, se ha estudiado la posibilidad de reutilizar el derivado inmovilizado Novozym® 435 en varias reacciones consecutivas de síntesis de miristato de miristilo. Los resultados obtenidos ponen de manifiesto que esta lipasa comercial es capaz de mantener su actividad catalítica en, al menos, tres ciclos de reacción y que se podría, probablemente, continuar reutilizando el derivado inmovilizado en más reacciones. Esta afirmación se fundamenta, no sólo en la similitud de los valores de número ácido alcanzados tras 24 horas de reacción (2.58 mg KOH/g, 1.73 mg KOH/g y 1.26 mg KOH/g, respectivamente), sino también en una referencia bibliográfica (20) en la que se afirma que se puede utilizar Novozym® 435 hasta en 9 reacciones consecutivas de síntesis de laurato de poliglicerol-3, sin pérdida evidente de actividad enzimática.

Caracterización del miristato de miristilo enzimático

El miristato de miristilo, al igual que el resto de componentes de las formulaciones cosméticas, no tiene que cumplir especificaciones estrictas en cuanto a sus características y pureza. Algunos fabricantes y proveedores de este producto facilitan a sus clientes la correspondiente hoja de especificaciones donde se recogen las propiedades físicas y químicas que se utilizan habitualmente para caracterizar este tipo de productos: número ácido (17), valor de hidroxilo (21), índice de yodo (22) e índice de saponificación (23). En este trabajo se han recopilado algunas de ellas para tomarlas como punto de referencia y poder establecer la aplicabilidad práctica del producto obtenido. Como puede observarse en la Tabla 1, el miristato de miristilo obtenido por vía enzimática presenta características muy parecidas a los ésteres comerciales, lo que avala su adecuación para ser utilizado como aditivo en la industria cosmética.

Tabla 1.- Características del miristato de miristilo de diferentes suministradores y del obtenido por síntesis enzimática.

	CE-TIOL® MM BASF (24)	JEE-CHEM MM FLAKE (25)	EXCE-PARL MY-M KAO (26)	Waxy Solid Myristyl Myristate Yasho Industries (27)	Enzi- mático
Número ácido (mg KOH/g) (17)	≤ 5	≤ 3	< 1	≤ 3	1.23
Valor de hidroxilo (mg KOH/g) (21)	≤ 7	-	< 6	-	6.27
Índice de yodo (g I ₂ /100 g) (22)	≤ 1	-	< 1	≤ 2	0.04
Índice de saponificación (mg KOH/g) (23)	125 - 135	125 - 135	115 - 135	-	124

CONCLUSIONES

El estudio de la síntesis biocatalítica de miristato de miristilo con la lipasa comercial Novozym® 435 ha permitido establecer que para obtener un éster con características similares a los disponibles en el mercado de cosméticos, es necesario operar a vacío (160 mm Hg) y circulación de N₂ seco (50 l/h). De esta forma se desplaza el equilibrio de la reacción enzimática en el sentido de la síntesis y es posible obtener un producto con número ácido próximo a 1 mg KOH/g. Utilizando una concentración de Novozym® 435 del 2.5% (referido al peso de sustratos) y operando a 70°C y 350 rpm de velocidad de agitación, el tiempo de reacción es sólo de 2 horas.

Además, se ha demostrado que el derivado enzimático utilizado en este trabajo se puede reutilizar en al menos tres reacciones consecutivas, lo cual supondría un notable abaratamiento del proceso industrial.

Finalmente, es importante resaltar que el miristato de miristilo enzimático es un producto que puede ser catalogado como "natural" ya que cumple las recomendaciones de la Directiva Europea (15).

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo ha sido financiado con fondos del proyecto del MICINN (CTQ2011-24091) y de la Comisión Europea (FEDER/ERDF). M. Serrano es becaria pre-doctoral (FPI) del MINECO. Expresamos nuestro agradecimiento a D. Ramiro Martínez Gutiérrez (Novozymes Spain S.A.) por proporcionar el biocatalizador desinteresadamente.

BIBLIOGRAFÍA

1. Epstein H. "Skin care products" en Handbook of Cosmetic Science and Technology, 3ª edición. André O. Barel, Marc Paye y Howard I. Maibach, Eds. Informa Healthcare USA, Inc. 2009.
2. Hills G. Industrial use of lipases to produce fatty acid esters. European Journal of Lipid Science and Technology, 105, 601-607, 2003.
3. Issberner U. y Ark R. Emollients from Cognis Care Chemicals: providing excellent characteristics and sensory properties in cosmetic properties. <http://www.readbag.com/cognis-nr-rdonlyres-3fe3025f-5fd5-40b0-8a90-6a8bbe653db8-0-cognis-emollientsfactsheet-e>, 2013.
4. Obukowho P. y Woldin B. Selecting the right emollient ester. Cosmetic and Toiletries, 116, 61-72, 2001.
5. Thum O. Sustainability that gets under the skin. Elements25, Evonik Science Newsletter, Diciembre, 6-10, 2008.
6. Natale M. Biocatalytic process to synthesize cosmetic esters via enzymatic esterifications. Society of Cosmetic Chemists, SCC Midwest Chapter, Teamworks Technical Symposium, Chicago, USA, 2012.
7. Gunstone F.D., Harwood J.L. y Dijkstra A.J. The Lipid Handbook. 3ª edición. CRC Press, Taylor & Francis Group, Boca Raton, USA, 2007.
8. Thum O. Enzymatic production of care specialties based on fatty acid esters. Tenside Surfactants Detergents, 41, 287-290, 2004.
9. Thum O. Enzymatic emollients. Sustainability that gets under the skin. COSSMA 1-21/2010, 32-33, 2010.
10. Veit T. Biocatalysis for the production of cosmetic ingredients. Engineering Life Science, 4, 508-511, 2004.
11. Bornscheuer U.T. Microbial carboxyl esterases: Classification, properties and application in biocatalysis. FEMS Microbiology Reviews, 26, 73-81, 2002.
12. Gandhi N.N. Applications of lipase. Journal of the American Oil Chemists Society, 74, 621-634, 1997.
13. Macrae A.R., Roehl E.L. y Brand H.M. Bio-esters. Seifen Öle Fette Wachse, 116, 201-205, 1990.
14. Macrae A.R., Roehl E.L. y Brand H.M. Bio-esters in cosmetic. Drug & Cosmetic Industry, 147, 36-39, 1990.
15. Newerli-Guz J. Labelling of organic and natural cosmetic products in harmonized standards. Zeszyt Naukowy 74, 36-42, 2012.
16. Garcia T., Coteron A., Martinez M. y Aracil J. Kinetic modelling of esterification reactions catalysed by immobilized lipases. Chemical Engineering Science, 51, 2841-28-46, 1996.
17. Standard Test Method for Acid and Base Number by Color-Indicator Titration. ASTM D974-12.
18. Anderson E.M. y Larsson K. M. One biocatalyst-many applications: the use of *Candida antarctica* B-lipase in organic synthesis. Biocatalysis and Biotransformation, 16, 181-204, 1998.
19. Kirk O. y Christensen M.W. Lipases from *Candida antarctica*: Unique biocatalysts from a unique origin. Organic Process Research & Development, 6, 446-451, 2002.
20. Hilterhaus L., Minow B., Müller J., Berheide M., Quitmann H., Katzer M., Thum O., Antranikian G., Zeng A.P. y Liese A. Practical application of different enzymes immobilized on sepabeads. Bioprocess & Biosystem Engineering, 31, 163-171, 2008.
21. Standard Test Method for Hydroxyl Value of Fatty Oils and Acids. ASTM D1957-86.
22. Standard Test Method for Determination of the Iodine Value of Fats and Oils. ASTM D5554-95.
23. Standard Test Method for Determination of the Saponification Value of Fats and Oils. ASTM D5558-95.
24. [http://e-applications.basf-ag.de/data/basfpcan/pds2/pds2-web.nsf/0A36166769D38F05C1257657004195F3/\\$File/CETIOL_r_MM_E.pdf](http://e-applications.basf-ag.de/data/basfpcan/pds2/pds2-web.nsf/0A36166769D38F05C1257657004195F3/$File/CETIOL_r_MM_E.pdf). Último acceso 13/10/2014.
25. <http://www.jeen.com/technical/SPEC169F.pdf>. Último acceso 13/10/2014.
26. http://chemical.kao.com/global/products/B0002082_glen.html. Último acceso 13/10/2014.
27. http://suppliers.jimtrade.com/92/91396/waxy_solid_myristyl_myristate.htm. Último acceso 13/10/2014.