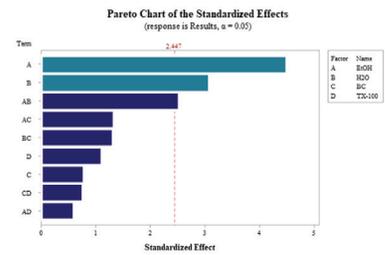


Optimización rápida de desinfectantes asistida por análisis de imagen fotográfico y diseño de experimentos



Rapid optimization of disinfectants by photographic image-based analysis and design of experiments



Benjamín Valdez-Salas¹, Jorge Salvador-Carlos¹, Ernesto Beltrán-Partida¹, Mario Curiel-Álvarez¹, Nelson Cheng² y Ernesto Valdez-Salas³

¹ Universidad Autónoma de Baja California, Instituto de Ingeniería, Departamento de Corrosión y Materiales Avanzados. Calle de la Normal, s/n Blvd. Benito Juárez – 21280 Mexicali, Baja California (México).

² Magna International Pte Ltd. 10H Enterprise Rd – 629834 Singapur (Singapore).

³ Centro Médico Ixchel. Av. Nicolás Bravo 270 – 21000. Mexicali, Baja California (México).

DOI: <https://doi.org/10.6036/10666> | Recibido: 14/jul/2022 • Inicio Evaluación: 10/feb/2023 • Aceptado: 08/may/2023

To cite this article: VALDEZ-SALAS, Benjamin; SALVADOR-CARLOS, Jorge; BELTRAN-PARTIDA, Ernesto Alonso et al. RAPID OPTIMIZATION OF DISINFECTANTS BY PHOTOGRAPHIC IMAGE-BASED ANALYSIS AND DESIGN OF EXPERIMENTS. *DYNA* March - April 2024, vol. 99, n.2, pp. 154-158. DOI: <https://doi.org/10.6036/10666>

ABSTRACT

- The current pandemic of coronavirus disease 2019 (COVID-19) introduced the need for the development and optimization of new alcohol-water based disinfectant formulations. Moreover, the limited supply chain of traditional active ingredients such as ethanol (EtOH) has excessively increased the base formula cost, thus, novel platforms are needed to design new strategies for disinfectant development. In this work, we devise a novel quantification method of disinfectant turbidity and foam thickness based on photographic image analysis of disinfectant to optimize formula preparation, which improves critical physicochemical parameters related to colloidal stability. Next, the numerical data obtained from the pixel photograph's values were ordered by applying a 2^4 factorial design, considering each disinfectant ingredient, followed by an analysis of variance (ANOVA) and counter with contour and surface plots, respectively. Furthermore, our novel method was validated using a linear regression test, consequently outlining the method's error value. Our results suggest that the photographic image analysis supported by the statistical model correlated satisfactorily with the real physicochemical behavior of disinfectant, showing that the EtOH-H₂O system plays a crucial role in turbidity and foam height control. In addition, we predicted by Minitab Optimizer Tool the physicochemical and aesthetic conditions of the disinfectant, having an error of 5%. Our current approach opens up a novel path to incorporate novel active ingredients for a rapid formulation and potentially scalable method to fabricate disinfectants.
- **Keywords:** image analysis, factorial design, disinfectant, foaming, active ingredients, optimization.

RESUMEN

La pandemia actual debida a las infecciones del coronavirus 2019 (COVID-19) introdujo la necesidad del desarrollo y optimización de nuevas formulaciones de desinfectantes de base alcohol-agua. Además, la cadena de suministro limitada de ingredientes activos tradicionales como el etanol (EtOH) ha incrementado excesivamente el costo de las fórmulas base, exigiendo plataformas novedosas para el diseño racional de nuevas estrategias para el desarrollo de desinfectantes. En este trabajo ideamos un método novedoso de cuantificación de la turbidez del desinfectante y el

espesor de la espuma basado en un análisis de imagen fotográfico del desinfectante para optimizar la preparación de la fórmula, lo que mejora parámetros fisicoquímicos críticos relacionados con la estabilidad coloidal. A continuación, los datos numéricos obtenidos de los valores de la fotografía de píxeles se ordenaron aplicando un diseño factorial 2^4 , considerando cada ingrediente del desinfectante, seguido de un análisis de varianza (ANOVA) y contador con gráficos de contorno y superficie, respectivamente. Además, nuestro método novedoso se validó mediante una prueba de regresión lineal, por lo que se delineó el valor de error del método. Nuestros resultados sugieren que el análisis de imagen fotográfico asistido por el método estadístico correlacionaron satisfactoriamente con el comportamiento fisicoquímico del desinfectante, mostrando que el sistema EtOH-H₂O juega un papel crucial en el control de la turbidez y el espesor de la espuma. Además, predijimos por Minitab Optimizer Tool las condiciones fisicoquímicas y estéticas del desinfectante, teniendo un error del 5%. Nuestro enfoque actual abre un camino novedoso para la incorporación de nuevos ingredientes activos para una formulación rápida y un método potencialmente escalable para fabricar desinfectantes.

Palabras clave: Análisis de imagen, diseño factorial, desinfectante, espumado, ingredientes activos, optimización.

1. INTRODUCCIÓN

La infección por coronavirus enfermedad-2019 (COVID-19) ha traído consigo una gran demanda de productos de desinfección para limpiar y erradicar cualquier partícula vírica del Coronavirus 2 del Síndrome Respiratorio Agudo Severo (SARS-CoV-2). Así, cada vez que un país dicta una contingencia sanitaria, se llega a una escasez extrema de productos desinfectantes. Como resultado, la industria de los desinfectantes y la limpieza se enfrenta a un aumento exponencial de las ventas y la producción, lo que provoca una escasez extrema de disponibilidad de desinfectantes, perjudicando así a la cadena de suministro [1]-[2].

En respuesta a la escasez mencionada, han aparecido en el mercado nuevos productos desinfectantes que llaman la atención, ya que dan prioridad al control o la eliminación de la propagación del COVID-19. Sin embargo, no todos los productos desinfectantes comerciales son eficaces para eliminar la mayoría de los virus y bacterias [4]-[5]. Además, se ha informado de que algunos pro-

ductos podrían causar problemas de salud de riesgo perjudiciales para los consumidores debido a la falta de descripciones en la etiqueta y/o a ingredientes de formulación mal seleccionados [6]. Un ejemplo crítico de apoyo se produjo en Estados Unidos, donde diferentes productos desinfectantes contenían metanol en lugar de etanol (EtOH) o isopropanol [7]. En respuesta, varias organizaciones, entre ellas el Methanol Institute, hicieron hincapié en que el metanol no debería utilizarse en desinfectantes de manos o superficies, ya que no elimina el Coronavirus y es tóxico para las células de mamíferos [8]-[10]. Como estrategia para superar los inconvenientes mencionados, la Food and Drug Administration (FDA), la Organización Mundial de la Salud (OMS) y el Center for Disease Control and Prevention (CDC) han publicado directrices sobre la composición de los productos desinfectantes, haciendo hincapié en los reactivos y porcentajes esenciales en las formulaciones [11]-[13].

Uno de los reactivos base más utilizados para la desinfección es el etanol (EtOH), en el que diferentes artículos y foros han concluido que un porcentaje entre el 60 y el 95% (%v/v) es eficaz contra una amplia gama de microorganismos, entre los que podría encontrarse el SARS-CoV-2 [14]. No obstante, la elevada necesidad de EtOH e isopropanol ha elevado sus costes, lo que da lugar a que los desinfectantes a base de alcohol sean caros, reduciendo así su accesibilidad a toda la población [15]-[16]. Por lo tanto, es imperativo combinar y complementar nuevos compuestos desinfectantes en las formulaciones para reducir o sustituir los ingredientes activos tradicionales (como el alcohol) al tiempo que se garantiza la eliminación de microorganismos sin perjudicar la salud humana [17]-[18]. Por esta razón, es crucial lograr una sinergia antibacteriana, antifúngica y, lo que es más imperativo, antivírica, incluyendo diferentes reactivos además del EtOH o el isopropanol.

Sin embargo, incorporar nuevos ingredientes a las formulaciones es un proceso arduo que limita la innovación de los productos. En el caso de los desinfectantes líquidos, no sólo es necesaria una evaluación microbiológica para demostrar la eficacia del producto, sino que también hay que tener en cuenta características estéticas y de producción como la transparencia de la solución y la producción de espuma, que están relacionadas con la química física del sistema, así como las preferencias estéticas y el proceso de producción a gran escala. Por ello, la incorporación de herramientas

como los sistemas informáticos (redes neuronales) y la estadística (diseño de experimentos) se presentan como soluciones novedosas a estos problemas.

El presente trabajo propone por primera vez un método de cuantificación de píxeles de imagen seguido de un enfoque estadístico de análisis de varianza para formular la mejor combinación química adecuada para conseguir funcionalidad, claridad y propiedades estéticas. Además, proponemos la fabricación de un nuevo desinfectante con porcentajes reducidos de EtOH para hacer frente a su reducida cadena de suministro actual.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1 FORMULACIÓN DEL DESINFECTANTE

Para el posterior análisis de imágenes fotográficas, diseño de experimentos y caracterización, se formularon desinfectantes acuosos a base de EtOH utilizando: EtOH de 52 a 54% p/p, agua destilada (H₂O) de 42 a 44% p/p, Microdacyn (Microdacyn®) de 1 a 5% p/p, cloruro de benzalconio (Sanisol CR 80 (BC)) de 0,2 a 0,4% p/p, triclosán (Fenol, 5-cloro-2-(2,4-dicloro fenoxi)-, Conjunto LAR SKU 99019) de 0,03 a 0,05% p/p, Tritón X-100 (Octoxynol) de 0,03 a 0,05% p/p, agua destilada (H₂O) de 0,03 a 0,05% p/p, Triton X-100 (Octoxynol, (p-tert-Octylphenoxy polyethoxyethanol), Hycel, (TX-100)) de 0,2 a 0,4 % p/p, y de 0,15 a 0,55% p/p de una solución de 10 ppm de nanopartículas de plata (AgNPs) sintetizada utilizando ácido tánico como agente reductor (Tabla SU-1).

2.2. REGISTRO DE LOS VALORES NUMÉRICOS DE TURBIDEZ

Para obtener los datos numéricos de píxeles, cada muestra se colocó por separado en una cámara aislada (21 cm x 21 cm x 21 cm, largo, ancho, alto) con luz artificial controlada (STEREN HER-740BL, 120V, 50/60 Hz, 8W), a una distancia de 12 cm, de la cámara (ZTE Blade A5 2020, sistema de cámara de 13 Mpx+2 Mpx) y a temperatura ambiente. A continuación, capturamos imágenes de las muestras experimentales (Figura SU-1) utilizando una configuración estandarizada de cámara e iluminación para minimizar la variabilidad técnica. Las imágenes resultantes se procesaron con el software IMAGE COLOR SUMMARIZER mediante la herramienta "Analyze" con parámetros específicos, incluidos el formato de salida

Corrida	Variables independientes calculadas				Variables dependientes medidas	
	X1	X2	X3	X4	Turbidez	Altura de la espuma (cm)
1	-1	-1	-1	-1	13.87±1.21	1.42±0.51
2	+1	-1	-1	-1	5.08±0.82	0.05±0.00
3	-1	+1	-1	-1	10.60±1.36	5.80±0.61
4	+1	+1	-1	-1	14.58±1.26	0.05±0.00
5	-1	-1	+1	-1	9.47±0.61	1.67±0.29
6	+1	-1	+1	-1	3.63±0.41	0.05±0.00
7	-1	+1	+1	-1	7.41±0.92	4.07±0.82
8	+1	+1	+1	-1	15.02±0.97	1.18±0.29
9	-1	-1	-1	+1	5.96±0.95	0.05±0.00
10	+1	-1	-1	+1	3.15±0.12	0.05±0.00
11	-1	+1	-1	+1	2.83±0.35	6.17±1.15
12	+1	+1	-1	+1	4.35±0.03	0.05±0.00
13	-1	-1	+1	+1	11.06±0.69	1.20±0.27
14	+1	-1	+1	+1	3.66±0.26	0.05±0.00
15	-1	+1	+1	+1	12.07±0.26	2.50±0.70
16	+1	+1	+1	+1	7.33±0.96	0.07±0.03

Tabla 1. Datos del diseño experimental y resultados

Fuente	Grado de libertad	Suma de cuadrados ajustada	Cuadrados medios ajustados	Valor F	Valor P
Modelo	8	187.214	23.402	4.94	0.024
Lineal	4	80.437	20.109	4.25	0.047
EtOH	1	16.892	16.892	3.57	0.101
H ₂ O	1	16.281	16.281	3.44	0.106
BC	1	6.175	6.175	1.30	0.291
TX-100	1	41.088	41.088	8.67	0.022
Interacciones bidireccionales	4	106.778	26.694	5.64	0.024
EtOH*H ₂ O	1	57.532	57.532	12.15	0.010
EtOH*TX-100	1	6.605	6.605	1.39	0.276
H ₂ O*BC	1	11.560	11.560	2.44	0.162
BC*TX-100	1	31.081	31.081	6.56	0.037
Error	7	33.158	4.737		
Total	15	220.372			
R ²	0.8495				

Tabla 2. Análisis de varianza para el índice de turbidez (unidades codificadas)

HTML, las estadísticas de clúster de color, 5 clústeres de color y el delimitador de espacio con una alta precisión de 200 píxeles. El porcentaje de píxeles en cada cluster de color se utilizó como valor de salida para el diseño factorial. Realizamos cada muestra por triplicado y repetimos el experimento tres veces para garantizar la fidelidad del método. En particular, el porcentaje de píxeles aumentó con la turbidez de la muestra (Figura SU-2). Estos rigurosos métodos y controles garantizan la exactitud y reproducibilidad de nuestros resultados experimentales.

2.3. REGISTRO DE DATOS DEL VALOR DE LA PRODUCCIÓN DE ESPUMA

Las muestras se agitaron manualmente durante 10 s y se dejaron reposar durante 5 min a temperatura ambiente. A continuación, se tomaron medidas de la altura de la espuma con un escalímetro y se analizaron los datos numéricos mediante un diseño factorial. Para esta prueba se utilizó la misma cámara aislada que en la prueba de turbidez. Cada muestra se realizó por triplicado y se repitió el experimento tres veces para garantizar la fidelidad del método.

2.4. DISEÑO EXPERIMENTAL Y ANÁLISIS DE DATOS

Para el estudio de la turbidez, se realizó un diseño factorial en el software estadístico Minitab 19 (State College, PA: Minitab, Inc. (www.minitab.com)) para establecer un rango de concentración de los reactivos del desinfectante. Inicialmente, se aplicó el

análisis 2ⁿ, seleccionando 4 factores y 2 niveles, generando 16 muestras para analizar. Este intervalo se selecciona en función de la cantidad mínima y máxima ideal para cada reactivo, teniendo en cuenta el coste del reactivo (Tabla SU-2 y Tabla 1).

La relación entre las variables de datos dependientes e independientes se validó estadísticamente mediante el análisis de la varianza (ANOVA) para determinar la significación estadística ($p < 0,05$) y la ecuación de regresión polinómica (Ec. 1) [19]:

$$Y = \beta_0 + \sum_{i=1}^n \beta_i X_i + \sum \beta_{ij} X_i X_j \quad (1)$$

donde Y es la respuesta; n es el número de factores; β_0 es el término de intercepción y el término restante; X_{ij} son los niveles estudiados de las variables independientes; y β_{ij} son los coeficientes ajustados para X_{ij} . De la misma manera, se implementó el Software Estadístico Minitab 19 para el análisis estadístico a través de diagrama de Pareto, Normal, Contornos, y Superficie.

3. RESULTADOS

3.1. EFECTO SOBRE LA TURBIDEZ

Para comprobar el grado de turbidez de los desinfectantes formulados, aplicamos una prueba ANOVA de 4 vías seguida de un modelo de regresión polinómica. Sin embargo, no detectamos nin-

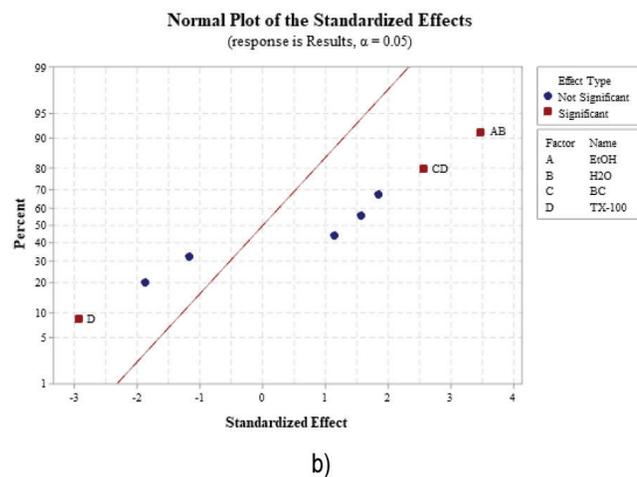
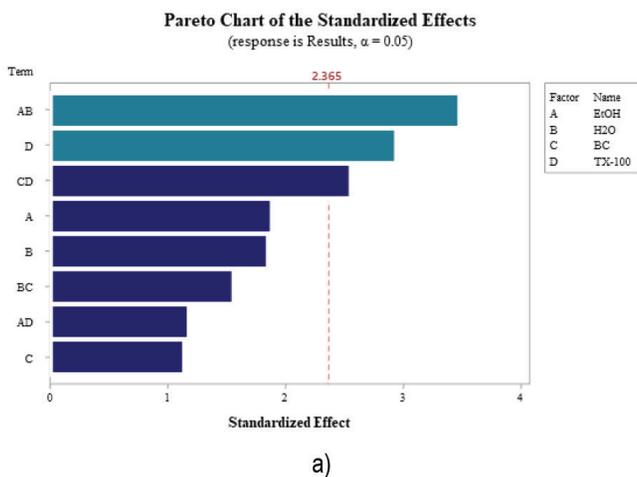


Figura 1. a) Diagrama de Pareto de los efectos de la turbidez de la muestra y b) Diagrama normal de los efectos de la turbidez de la muestra

Fuente	DF	Adj SS	Adj MS	Valor F	Valor P
Modelo	9	78.3477	8.7053	4.73	0.036
Lineal	4	58.3144	14.5786	7.92	0.014
EtOH	1	37.3627	37.3627	20.30	0.004
H ₂ O	1	17.5352	17.5352	9.53	0.021
BC	1	1.1289	1.1289	0.61	0.463
TX-100	1	2.2877	2.2877	1.24	0.308
Interacciones bidireccionales	5	20.0333	4.0067	2.18	0.186
EtOH*H ₂ O	1	11.8164	11.8164	6.42	0.044
EtOH*BC	1	3.2852	3.2852	1.79	0.230
EtOH*TX-100	1	0.6602	0.6602	0.36	0.571
H ₂ O*BC	1	3.1952	3.1952	1.74	0.236
BC*TX-100	1	1.0764	1.0764	0.58	0.473
Error	6	11.0409	1.8402		
Total	15	89.3886			
R ²		0.8765			

Tabla 3. Análisis de varianza para el índice de turbidez (unidades codificadas)

$$\begin{aligned}
 \text{Results} = & 7.843 - 1.027 \cdot \text{EtOH} + 1.009 \cdot \text{H}_2\text{O} + 0.621 \cdot \text{BC} - 1.602 \cdot \text{TX100} + 1.896 \cdot \text{EtOH} \cdot \text{H}_2\text{O} \\
 & - 0.643 \cdot \text{EtOH} \cdot \text{TX100} + 0.850 \cdot \text{H}_2\text{O} \cdot \text{BC} + 1.394 \cdot \text{BC} \cdot \text{TX100}
 \end{aligned}
 \tag{2}$$

guna interacción significativa entre los modelos de 4 y 3 vías. Por otro lado, se detectó un comportamiento significativo cercano a las condiciones ideales establecidas ($p < 0,05$) al aplicar un análisis de 2 vías (Tabla 2). Así, descubrimos que las interacciones entre el EtOH-H₂O ($p = 0,022$) y el TX-100 ($p = 0,010$) fueron las más relevantes. Por lo tanto, considerando los resultados del diseño factorial presentados en la Tabla 2, sugerimos que el análisis de la imagen fotográfica apoyado por el modelo de regresión polinomial se correlacionaba satisfactoriamente con el comportamiento real de la turbidez del desinfectante y los valores de píxeles registrados.

Es importante destacar que aplicando un diagrama de Pareto y un diagrama Normal de los Efectos Estandarizados (Figura 1) apoyamos los resultados mencionados anteriormente. Así, podemos postular que la turbidez se modifica principalmente al controlar la tasa de EtOH y H₂O, lo que resulta en un efecto estandarizado positivo: al aumentar la concentración se promueve la turbidez de la formulación. Por el contrario, el TX-100 afecta negativamente

a los resultados normalizados; por tanto, al aumentar la concentración de la formulación, disminuye la turbidez. Además, la ecuación de regresión (Ecuación 2) muestra conclusiones similares en cuanto a los efectos estandarizados positivos y negativos de la turbidez.

3.2. EFECTO SOBRE LA PRODUCCIÓN DE ESPUMA

De forma similar a la turbidez, los resultados ANOVA (Tabla 3) y Pareto (Figura 2a) de la producción de espuma mostraron un comportamiento significativo cercano a las condiciones ideales establecidas ($p < 0,05$) sólo en un análisis de 2 vías que indica que el EtOH ($p < 0,004$) desempeña el factor más crucial, seguido del H₂O ($p < 0,021$) y, lo que es mucho más importante, la combinación de esos dos reactivos ($p < 0,044$). Curiosamente, la ecuación de regresión (Ecuación 3) y el gráfico normal (Figura 2b) sugieren que la dirección de los componentes desinfectantes es la opuesta. En consecuencia, el EtOH tiene un efecto negativo sobre la produc-

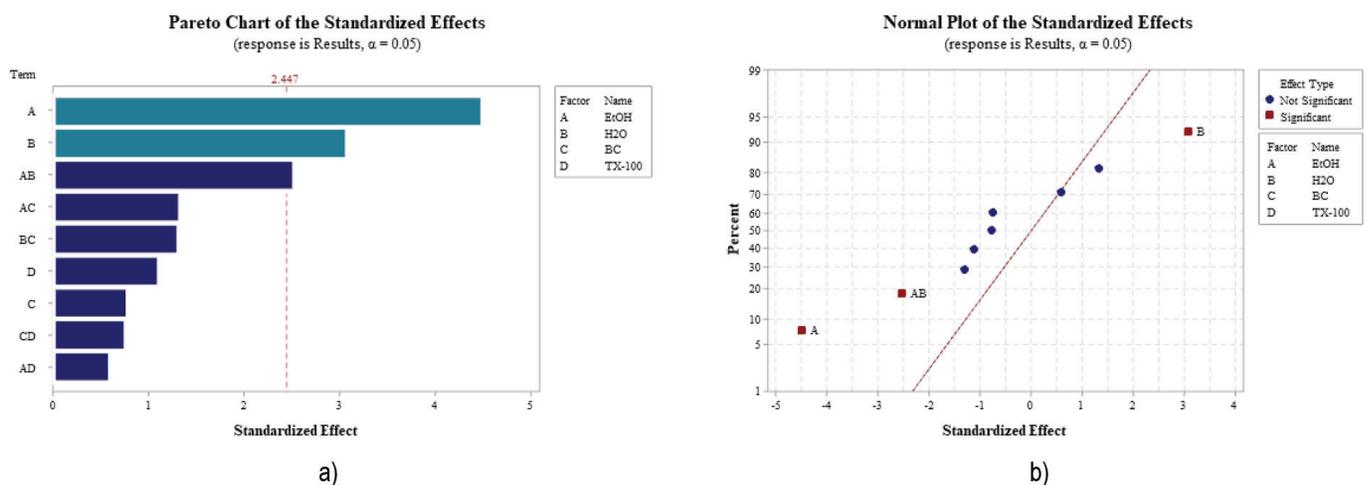


Figura 2. a) Efectos de la producción de espuma de la muestra y b) gráfico normal de los efectos de la producción de espuma de la muestra

$$\begin{aligned}
 \text{Results} = & 1.766 - 1.528 \cdot \text{EtOH} + 1.047 \cdot \text{H}_2\text{O} - 0.266 \cdot \text{BC} - 0.378 \cdot \text{TX100} - 0.859 \cdot \text{EtOH} \cdot \text{H}_2\text{O} \\
 & + 0.453 \cdot \text{EtOH} \cdot \text{BC} + 0.203 \cdot \text{EtOH} \cdot \text{TX100} - 0.447 \cdot \text{H}_2\text{O} \cdot \text{BC} - 0.259 \cdot \text{BC} \cdot \text{TX100}
 \end{aligned}
 \tag{3}$$

	Turbidez	Altura de la espuma
Valor objetivo	3.5	0.1
Valor experimental	3.3±0.41	0.095±0.03
Error experimental	5.71%	5.00%

Tabla 4. Validación de los parámetros óptimos propuestos

ción de espuma, y el H₂O tiene un efecto positivo. Además, nuestros resultados proponen firmemente que el equilibrio EtOH-H₂O en un sistema desinfectante desempeña un papel fundamental en la producción de espuma [20].

3.3. OPTIMIZACIÓN DE DATOS CRUZADOS

Teniendo en cuenta los resultados del ANOVA y del diseño factorial, se seleccionaron EtOH y H₂O como parámetros de optimización. La estrategia inicial consistió en analizar el comportamiento físico de cada componente de la formulación base mediante un análisis factorial. Así, la fórmula desinfectante se optimizó equilibrando la espuma y la claridad, comparando las 16 muestras realizadas para formar el diseño factorial. Para ello, se seleccionaron los gráficos de contorno y superficie (Figura SU-3), ya que pueden ayudar adecuadamente a identificar la relación entre el EtOH y el H₂O en la turbidez y el comportamiento espumante. A continuación, los gráficos de contorno y superficie mostraron que el valor más bajo de turbidez se obtuvo con los valores más altos de EtOH y los valores más bajos de H₂O. Un comportamiento similar se obtuvo para la generación de espuma, pero esta se vuelve baja con un valor alto de H₂O. Con estos resultados y apoyados con la herramienta Optimizer de MINITAB, la formulación adecuada con valores objetivo correspondientes a un espesor de espuma de 0.1 y turbidez de 3.5, se muestra en la Tabla SU-3.

Cabe destacar que la nueva formulación obtenida aplicando la novedosa estrategia de cuantificación considera la turbidez y la producción de espuma mediante la prueba ANOVA, presentando así significativamente un valor de error (x%) de aproximadamente el 5% (Tabla 4). La Tabla 4 muestra los resultados de la muestra optimizada, resultando un valor de 3,3 para la turbidez y 0,095 para el espesor de espuma, concluyendo que la fusión del software y el diseño factorial pueden alcanzar una buena aproximación a la turbidez y a la producción de espuma.

4. CONCLUSIÓN

El desarrollo de estrategias novedosas para controlar o eliminar el SARS-CoV-2 es imperativo para contrarrestar su propagación desenfrenada. La exploración de nuevos reactivos que hagan más eficaces los productos desinfectantes es una medida obligatoria que se vio obligada a evolucionar en respuesta a la crisis sanitaria del COVID-19. Este trabajo tuvo como objetivo desarrollar un nuevo método de cuantificación para optimizar la preparación de fórmulas basado en el análisis de imágenes fotográficas y un nuevo desinfectante EtOH de baja concentración proponiendo la sinergia de nuevos reactivos activos. La aplicación del software Image para la turbidez y la altura de la espuma, seguida del diseño factorial completo, mostró que la interacción entre EtOH-H₂O era la principal contribución a la turbidez, pero TX-100 también tiene un efecto significativo. Del mismo modo, EtOH y H₂O fue la principal contribución a la producción de espuma. Estos resultados ayudaron a seleccionar una formulación que dio lugar a un error experimental aproximado del 5% junto con el software mencionado anteriormente. Por lo tanto, concluimos que el diseño factorial junto con la metodología de análisis de imagen es una herramienta útil para optimizar las formulaciones desinfectantes de EtOH-H₂O.

REFERENCIAS

- [1] Liu H, Manzoor A, Wang C, Zhang L, Manzoor Z. "The COVID-19 outbreak and affected countries stock markets response". *Int. J. Environ. Res. Public Health*. 2020. Vol.17-8. p.2800. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijerph17082800>
- [2] Gursoy D, Chi CG. 2020. "Effects of COVID-19 pandemic on hospitality industry: review of the current situations and a research agenda". *Journal of Hospitality Marketing & Management*. 2020. Vol.29-5. p.527-529. DOI: <https://doi.org/10.1080/19368623.2020.1788231>
- [3] World Health Organization (WHO). Coronavirus disease (COVID-19) advice for the public. [updated 2022 May 10; cited 2022 Jul 9]. Available from: <https://www.who.int/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019/advice-for-public>
- [4] Welch SR, Davies KA, Buczkowski H, et al. "Analysis of Inactivation of SARS-CoV-2 by specimen transport media, nucleic acid extraction reagents, detergents, and fixatives". *Journal of Clinical Microbiology*. 2020. Vol.58-11. p.1-13. DOI: <https://doi.org/10.1128/JCM.01713-20>
- [5] Carrouel F, Gonçalves LS, Conte MP, et al. "Antiviral activity of reagents in mouth rinses against SARS-CoV-2". *Journal of Dental Research*. 2020. Vol.100-2. p.1-9. DOI: <https://doi.org/10.1177/0022034520967933>
- [6] Atolani O, Baker MT, Adeyemi OS, et al. "COVID-19: Critical discussion on the applications and implications of chemicals in sanitizers and disinfectants". *EXCLI Journal*. 2020. Vol.19. p.785-799. DOI: <https://doi.org/10.17179/excli2020-1386>
- [7] Chan APL, Chan TYK. "Methanol as an unlisted ingredient in supposedly alcohol-based hand rub can pose serious health risk". *Int J Environ Res Public Health*. 2018. Vol.15-7. P.1440. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijerph15071440>
- [8] Amirhosein Mahdavi S, Zamani N, McDonald R, et al. "A cross-sectional multicenter linkage study of hospital admissions and mortality due to methanol poisoning in Iranian adults during the COVID-19 pandemic". *Scientific Reports*. 2022. Vol. 12-9741. p. 1-12. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-022-14007-1>
- [9] Methanol Institute. "Methanol safety during the COVID-19 pandemic". [updated 2022 Jul 5; cited 2022 Jul 9]. Available from: <https://www.methanol.org/wp-content/uploads/2020/04/Methanol-Safety-During-the-COVID-19-Pandemic-3.pdf>
- [10] U.S. Food and Drug Administration (FDA). "Coronavirus (COVID-19) update: FDA reiterates warning about dangerous alcohol-based hand sanitizers containing methanol, takes additional action to address concerning products". [updated 2020 Jul 27; cited 2022 Jul 9]. Available from: <https://www.fda.gov/news-events/press-announcements/coronavirus-covid-19-update-fda-reiterates-warning-about-dangerous-alcohol-based-hand-sanitizers>
- [11] Center for Drug Evaluation and Research (CDER). "Temporary policy for preparation of certain alcohol-based hand sanitizer products during the public health emergency (covid-19) guidance for industry". [updated 2021 Feb 10; cited 2022 Jul 9]. Available from: <https://www.fda.gov/media/136289/download>. Accessed 6 January 2021.
- [12] Pan American Health Organization (PAHO). "Recommendations for the preparation of disinfectant solutions". [updated 2020 May 11; cited 2022 Jul 9]. Available from: <https://www.paho.org/en/documents/covid-19-recommendations-preparation-disinfectant-solutions-11-may-2020>
- [13] World Health Organization (WHO). "WHO-recommended handrub formulations". [updated 2010 May 7; cited 2022 Jul 9]. Available from: https://www.who.int/gpsc/5may/Guide_to_Local_Production.pdf. Accessed 6 January 2021.
- [14] Edmonds SL, Macinga DR, Suko PM, et al. "Comparative efficacy of commercially available alcohol-based hand rubs and World Health Organization-recommended hand rubs: formulation matters". *American Journal of Infection Control*. 2012. Vol.40-6. p.521-525. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ajic.2011.08.016>
- [15] Kampf G, Scheithauer S, Lemmen S, et al. "COVID-19-associated shortage of alcohol-based hand rubs, face masks, medical gloves, and gowns: proposal for a risk adapted approach to ensure patient and healthcare worker safety". *Journal of Hospital Infection*. 2020. Vol.105. p.424-427. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jhin.2020.04.041>
- [16] Delgado D, Quintana FW, Perez G, et al. "Personal safety during the COVID-19 pandemic: Realities and perspectives of healthcare workers in Latin America". *Int. J. Environ. Res. Public Health*. 2020. Vol.17-8. p.2798. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijerph17082798>
- [17] Berardi A, Perinelli DR, Merchant HA, et al. "Hand sanitisers amid COVID-19: A critical review of alcohol-based products on the market and formulation approaches to respond to increasing demand". *Int J Pharm*. 2020. Vol. 584. p.119431. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2020.119431>
- [18] Nakama Y. "Surfactants". In: Sakamoto N, Lochhead H, Maibach H Yamashita Y, editors. *Cosmetic Science and Technology, Theoretical Principles and Applications*. Amsterdam: Elsevier; 2017. p.231-244. DOI: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-802005-0.00015-X>
- [19] Romalho MJ, Loureiro JA, Coelho MAN, et al. "Factorial design as a tool for the optimization of plga nanoparticles for the co delivery of temozolomide and o6-benzylguanine". *Pharmaceutics*. 2019. Vol.11-8. p.401. DOI: <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics11080401>
- [20] Bonfillon-Collin A, Langevin D. "Why do ethoxylated nonionic surfactants not foam at high temperature". *Langmuir*. 1997. Vol. 13-4. p.599-601. DOI: <https://doi.org/10.1021/la950439i>

MATERIAL SUPLEMENTARIO

https://www.revistadyna.com/documentos/pdfs/_adic/10666-1.pdf

