**Universidad Nacional Mayor de San Marcos**
**Universidad del Perú. Decana de América**
Facultad de Farmacia y Bioquímica
Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica

# Actividad antioxidante del aceite esencial de *Clinopodium bolivianum* (Benth.) Kunth. "koa" y su utilización en tres formulaciones de productos cosméticos capilares

**TESIS**

Para optar el Título Profesional de Químico Farmacéutica

**AUTOR**

Raymí Celeste OBISPO HUAMANI

**ASESORES**

Oscar HERRERA CALDERÓN

Luis Miguel Visitacion FÉLIX VELIZ (Coasesor)

Lima, Perú

2024



Reconocimiento - No Comercial - Compartir Igual - Sin restricciones adicionales

https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/

Usted puede distribuir, remezclar, retocar, y crear a partir del documento original de modo no comercial, siempre y cuando se dé crédito al autor del documento y se licencien las nuevas creaciones bajo las mismas condiciones. No se permite aplicar términos legales o medidas tecnológicas que restrinjan legalmente a otros a hacer cualquier cosa que permita esta licencia.

**Referencia bibliográfica**

---

Obispo R. Actividad antioxidante del aceite esencial de *Clinopodium bolivianum* (Benth.) Kunth. “koa” y su utilización en tres formulaciones de productos cosméticos capilares [Tesis de pregrado]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica; 2024.

---

## Metadatos complementarios

| | |
|---|---|
| **Datos de autor** | |
| Nombres y apellidos | Raymí Celeste Obispo Huamani |
| Tipo de documento de identidad | DNI |
| Número de documento de identidad | 74985817 |
| URL de ORCID | - |
| **Datos de asesor** | |
| Nombres y apellidos | Oscar Herrera Calderón |
| Tipo de documento de identidad | DNI |
| Número de documento de identidad | 44789288 |
| URL de ORCID | https://orcid.org/0000-0001-7264-0961 |
| **Datos de coasesor** | |
| Nombres y apellidos | Luis Miguel Visitacion Félix Veliz |
| Tipo de documento de identidad | DNI |
| Número de documento de identidad | 07371298 |
| URL de ORCID | https://orcid.org/0000-0001-5138-3396 |
| **Datos del jurado** | |
| **Presidente del jurado** | |
| Nombres y apellidos | Ernesto Raúl Torres Veliz |
| Tipo de documento | DNI |
| Número de documento de identidad | 21849530 |
| **Miembro del jurado 1** | |
| Nombres y apellidos | José Fidel Jáuregui Maldonado |

| | |
|---|---|
| Tipo de documento | DNI |
| Número de documento de identidad | 06960780 |
| **Miembro del jurado 2** | |
| Nombres y apellidos | Juan José Ponce Cobos |
| Tipo de documento | DNI |
| Número de documento de identidad | 10303874 |
| **Datos de investigación** | |
| Línea de investigación | Recursos y productos naturales con potencial farmacéutico y alimentario |
| Grupo de investigación | - |
| Agencia de financiamiento | Sin financiamiento. |
| Ubicación geográfica de la investigación | País: Perú<br>Departamento: Lima<br>Provincia: Lima<br>Distrito: Cercado de Lima, Chorrillos<br>Laboratorio de Química Orgánica, Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, coordenadas (-12.055599, -77.023324), Jr. Puno 1002, Lima 15303.<br>Laboratorio Life Beauty Corporation, coordenadas (12.200120775698046, 76.9892425525735), Q2X6+H92, Av. Cordillera Central, Lima 15057. |
| Año o rango de años en que se realizó la investigación | 2023 - 2024 |
| URL de disciplinas OCDE | Farmacología, Farmacia<br>http://purl.org/pe-repo/ocde/ford#3.01.05 |

**Universidad Nacional Mayor de San Marcos**
Universidad del Perú. Decana de América
**Facultad de Farmacia y Bioquímica**
**Decanato**

# ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS

Los miembros del Jurado Examinador y Calificador de la Tesis titulada:

**Actividad antioxidante del aceite esencial de *Clinopodium bolivianum* (Benth.) Kunth. "koa" y su utilización en tres formulaciones de productos cosméticos capilares**

Que presenta la Bachiller en Farmacia y Bioquímica:

## RAYMÍ CELESTE OBISPO HUAMANI

Que reunidos en la fecha se llevó a cabo la **SUSTENTACIÓN** de la **TESIS**, y después de las respuestas satisfactorias a las preguntas y objeciones formuladas por el Jurado, ha obtenido la siguiente calificación final:

19 (Aprobado con máximos honores)

de conformidad con el Art. 14.º del Reglamento General de Grados y Títulos de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos para la obtención del Título Profesional de Químico Farmacéutico (a) de la Facultad de Farmacia y Bioquímica.

Lima, 06 de noviembre de 2024.

Dr. Ernesto Raúl Torres Veliz
**Presidente**

Mg. José Fidel Jauregui Maldonado
**Miembro**

Mg. Juan José Ponce Cobos
**Miembro**

# Universidad Nacional Mayor de San Marcos

Universidad del Perú. Decana de América

## FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA

## ESCUELA PROFESIONAL DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA

## CERTIFICADO DE SIMILITUD

Yo Oscar Herrera Calderón identificada con DNI **N°44789288** en mi condición de asesor(a) acreditado con la resolución Decanal **N°000727-2024-D-FFB/UNMSM**, que la Tesis cuyo título es **Actividad antioxidante del aceite esencial de *Clinopodium bolivianum* (Benth.) Kunth. "koa" y su utilización en tres formulaciones de productos cosméticos capilares,** presentado por la Bachiller **Raymí Celeste Obispo Huamani**, para optar al título profesional de Químico Farmacéutica.

**CERTIFICO**: que se ha cumplido con lo establecido en la Directiva de Originalidad y de Similitud de Trabajos Académicos, de Investigación y Producción Intelectual. Según la revisión, análisis y evaluación mediante el software de similitud textual, el documento evaluado cuenta con el porcentaje de **17%** de similitud, nivel **PERMITIDO** para continuar con los trámites correspondientes y para su **publicación en el repositorio institucional.**

Se emite el presente certificado en cumplimiento de lo establecido en las normas vigentes, como uno de los requisitos para la obtención del grado correspondiente.

Jardín Botánico, Lima, 25 de octubre del 2024

.....

Firma del asesor
DNI: **44789288**
Oscar Herrera Calderón



## DEDICATORIA

Primero a Dios, por estar siempre a mi lado, cuidarme, guiarme en el camino de la vida y permitirme compartir 10 años más a lado de mi padre: 10 años bien disfrutados, 10 años inolvidables.

A mi padre, David Obispo Jiménez, por educarme, guiarme, enseñarme, y hacer de mí la persona quien soy. El verdadero gran amor que la vida me pudo dar y mi compañero de risas y aventuras. Gracias por ser el mejor papá, mejor amigo y cómplice. Te amo papá. Este logro y los que vendrán, serán todos a tu nombre, papito.

A mi madre, María Idee, por darme la vida, por siempre creer en mí y por todo el sacrificio y amor que me entrega día a día.

A Jhoan Mantilla la persona a quien admiro, por estar presente en los momentos más tristes de mi vida y por dejarlo ir para no sentir apego por falta de papá.

A mis hermanos, que fueron mi inspiración.

A mis maestros, que me apoyaron en mi formación profesional.

## AGRADECIMIENTOS

A Dios, por darme la vida y el consuelo de seguir adelante con mis proyectos

A David Obispo Jiménez, mi padre, por presentarme esta maravillosa carrera, apoyarme y acompañarme hasta el último momento.

A mis docentes y a todos los que hicieron posible concretar este proyecto.

Al Dr. Oscar Herrera y al Dr. Félix Veliz, por apoyarme en el desarrollo de esta investigación.

A Juan Ponce Cobos, mi tutor, que me orientó en mi desarrollo profesional durante el paso por la universidad.

# ÍNDICE

I. INTRODUCCIÓN ..... 1
I.1. Planteamiento del problema ..... 1
I.1.1. Determinación del problema ..... 1
I.1.2. Formulación del problema ..... 1
I.2. Objetivos ..... 2
I.2.1. Objetivo general ..... 2
I.2.2. Objetivos específicos ..... 2
I.3. Importancia y alcance de la investigación ..... 2
II. REVISIÓN DE LA LITERATURA ..... 4
II.1. Marco teórico ..... 4
II.1.1. Clasificación taxonómica ..... 4
II.1.2. Descripción botánica ..... 5
II.1.3. Descripción gráfica y ubicación en el Perú ..... 5
II.1.4. Usos ..... 5
II.1.5. Aceites esenciales ..... 6
II.1.6. Antioxidantes ..... 9
II.1.7. Utilización de aceite esencial en productos cosméticos: ..... 12
II.2. Antecedentes del estudio ..... 15
II.3. Glosario de términos ..... 18
III. HIPÓTESIS Y VARIABLES ..... 20
III.1. Hipótesis ..... 20
III.2. Variables ..... 20
III.3. Operacionalización de variables ..... 20
IV. MATERIALES Y MÉTODOS ..... 23
IV.1. Área de estudio ..... 23

IV.2. Diseño de investigación ..... 23
IV.3. Población y muestra ..... 23
IV.4. Procedimientos, técnicas e instrumentos de recolección de información 24
IV.4.1. Procedimiento para la obtención del aceite esencial ..... 24
IV.4.2. Procedimientos analíticos y experimentales ..... 25
IV.4.3. Evaluación de la actividad antioxidante de las tres formulaciones cosméticas capilares ..... 33
IV.5. Análisis estadístico ..... 42
V. RESULTADOS ..... 43
V.1. Ensayos preliminares y fisicoquímicos ..... 43
V.1.1. Rendimiento de la extracción del aceite esencial ..... 43
V.2. Procedimientos analíticos- experimentales ..... 44
V.2.1. Constituyentes químicos del aceite esencial ..... 44
V.2.2. Actividad antioxidante total por el radical DPPH ..... 48
V.2.3. Actividad antioxidante con el radical ABTS ..... 50
V.2.4. Características de la elaboración de las formulaciones cosméticas capilares 52
V.2.5. Estudios de estabilidad acelerada de las tres formulaciones con el aceite esencial de *Clinopodium bolivianum* (Benth.) Kunth. "koa" ..... 53
V.2.6. Evaluación de la actividad antioxidante de las tres formulaciones cosméticas con aceite esencial de *Clinopodium bolivianum* (Benth.) *Kunth.* "koa" 59
VI. DISCUSIÓN ..... 60
VII. CONCLUSIONES ..... 64
VIII. RECOMENDACIONES ..... 65
IX. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS ..... 66

X. ANEXOS.....71

## ÍNDICE DE FIGURAS

**Figura 1.** Imagen de la especie vegetal *Clinopodium bolivianum* (Benth.) Kunth. Fuente: El autor. ..... 4

**Figura 2.** Fotografía de la especie vegetal *Clinopodium bolivianum (Benth.) Kunth.* Fuente: El autor. ..... 5

**Figura 3.** Estructura de eugenol. Fuente: Chemsketch. ..... 8

**Figura 4.** Estructura del ácido shikímico. Fuente: Chemsketch. ..... 9

**Figura 5.** Limpieza de cabello con champú. Fuente: El autor. ..... 12

**Figura 6.** Crema de peinar para cabello. Fuente: El autor. ..... 13

**Figura 7.** Proceso de disolución de la muestra de aceite esencial para el método DPPH. Fuente: El autor. ..... 27

**Figura 8.** Proceso de disolución de la muestra de aceite esencial para el método ABTS. Fuente: El autor. ..... 29

**Figura 9.** Proceso de disolución y preparación del champú con aceite esencial y sin aceite esencial para realizar el método del DPPH. Fuente: El autor. ..... 33

**Figura 10.** Proceso de disolución y preparación del champú con aceite esencial y sin aceite esencial para realizar el método del ABTS. Fuente: El autor..... 35

**Figura 11.** Proceso de disolución y preparación de la crema de peinar con aceite esencial y sin aceite esencial para realizar el método del DPPH. Fuente: El autor. ..... 36

**Figura 12.** Proceso de disolución y preparación de la crema de peinar, con aceite esencial y sin aceite esencial, para realizar el método de ABTS. Fuente: El autor. ..... 38

**Figura 13.** Proceso de disolución y preparación de la loción capilar con aceite esencial y sin aceite esencial para realizar el método del DPPH. Fuente: El autor ..... 39

**Figura 14.** Proceso de disolución y preparación de la loción capilar con aceite esencial y sin aceite esencial para realizar el método del ABTS. Fuente: El autor ..... 41

**Figura 15.** Curva de captación del radical DPPH. Fuente: El autor ..... 49

**Figura 16.** Curva de captación del radical DPPH por Trolox. Fuente: El autor..... 50

**Figura 17.** Curva de captación del radical ABTS. Fuente: El autor ..... 51

**Figura 18.** Curva de captación del radical ABTS por Trolox. Fuente: El autor ..... 52

## ÍNDICE DE TABLAS

**Tabla 1.** Lista de materias primas del champú.....30

**Tabla 2.** Lista de materias primas de la crema de peinar.....31

**Tabla 3.** Lista de materias primas de la loción de cabello.....32

**Tabla 4.** Rendimiento del aceite esencial de las hojas de *Clinopodium bolivianum* (Benth.) Kunth. "koa" .....43

**Tabla 5.** Análisis de refracción del aceite esencial de las hojas de *Clinopodium bolivianum* (Benth.) Kunth. "koa".....43

**Tabla 6.** Densidad relativa del aceite esencial de las hojas de *Clinopodium bolivianum* (Benth.) Kunth. "koa".....44

**Tabla 7.** Análisis por cromatografía de gases acoplado a masas del *Clinopodium bolivianum* (Benth.) Kunth. “koa”.....44

**Tabla 8.** Estructura mayoritaria del aceite esencial de *Clinopodium bolivianum* (Benth.) Kunth. “koa”.....48

**Tabla 9.** Resultados de la actividad antioxidante del aceite esencial de *Clinopodium bolivianum* (Benth.) Kunth. “koa” por el método del radical DPPH .....48

**Tabla 10.** Actividad antioxidante del estándar Trolox por el radical DPPH.....49

**Tabla 11.** Actividad antioxidante del aceite esencial de *Clinopodium bolivianum* (Benth.) Kunth. "koa" por el método ABTS.....50

**Tabla 12.** Actividad antioxidante del estándar Trolox por el método ABTS .....51

**Tabla 13.** Características organolépticas de las tres formulaciones cosméticas capilares con aceite esencial de *Clinopodium bolivianum* (Benth.) Kunth. "koa"..52

**Tabla 14.** Cálculo del pH de las tres formulaciones con el aceite esencial de *Clinopodium bolivianum* (Benth.) Kunth. "koa" .....52

**Tabla 15.** Cálculo de la viscosidad de las tres formulaciones con el aceite esencial de *Clinopodium bolivianum* (Benth.) Kunth. "koa" .....53

**Tabla 16.** Determinación del estudio de estabilidad acelerada del champú con el aceite esencial de *Clinopodium bolivianum* (Benth.) Kunth. "koa".....54

**Tabla 17.** Determinación del estudio de estabilidad acelerada de la crema de peinar con el aceite esencial de *Clinopodium bolivianum* (Benth.) Kunth. "koa" .....56

**Tabla 18.** Determinación del estudio de estabilidad acelerada de la loción capilar con el aceite esencial de *Clinopodium bolivianum* (Benth.) Kunth. "koa" .....57

**Tabla 19.** Resultados de la actividad antioxidante de las formulaciones de *Clinopodium bolivianum* (Benth.) Kunth. "koa" por los métodos DPPH y ABTS.....59

## ÍNDICE DE ANEXOS

**Anexo 1.** Constancia taxonómica y elección de la especie vegetal de *Clinopodium bolivianum* (Benth.) Kunth. ..... 71

**Anexo 2.** Equipo de extracción por arrastre de vapor de agua de aceite esencial ..... 72

**Anexo 3.** Recolección del aceite esencial en la pera de decantación ..... 73

**Anexo 4.** Preparación de las muestras para el análisis del método DPPH ..... 74

**Anexo 5.** Batería de tubos en los 30 min de espera para la evaluación del espectrofotómetro con el reactivo DPPH ..... 75

**Anexo 6.** Preparación de los tubos de ensayo de la muestra diluida con el reactivo ABTS ..... 75

**Anexo 7.** Medición de las absorbancias de las diluciones de las muestras. ..... 76

**Anexo 8.** Preparación de la formulación del champú ..... 76

**Anexo 9.** Formulación del champú base junto al aceite esencial de la muestra .. 77

**Anexo 10.** Preparación de muestras para el ingreso al estudio de estabilidad .... 77

**Anexo 11.** Preparación de la formulación de la crema de peinar ..... 78

**Anexo 12.** Ingredientes que forman parte de la formulación de la crema de peinar ..... 78

**Anexo 13.** Preparación de la loción capilar ..... 79

**Anexo 14.** Preparación de muestras para el ingreso al estudio de estabilidad ... 80

**Anexo 15.** Evaluación del estudio de estabilidad, observación del champú ..... 80

**Anexo 16.** Medición de la viscosidad del champú .....81

**Anexo 17.** Medición del pH del champú .....82

**Anexo 18.** Medición de la viscosidad como parte del estudio de estabilidad de champú.....82

**Anexo 19.** Preparación de la formulación champú para la evaluación del DPPH 83

**Anexo 20.** Medición del pH de la crema de peinar como parte del estudio de estabilidad .....83

**Anexo 21.** Fraccionamiento de la crema de peinar para la evaluación del análisis DPPH.....84

**Anexo 22.** Resultados de análisis microbiológico de la loción capilar.....85

**Anexo 23.** Resultados de análisis microbiológico del champú capilar .....86

## RESUMEN

La muña, conocida como "koa" en la lengua aimara de la provincia de Puno, tiene como nombre científico *Clinopodium bolivianum* (Benth.) Kunth. Esta especie vegetal crece en forma de arbusto y es utilizada por los pobladores a modo de infusión para el mal de altura. Sin embargo, en algunas zonas más alejadas de su lugar de origen, también se le encontró una aplicación tópica. Esta investigación tuvo como objetivo determinar la actividad antioxidante del aceite esencial de *C. bolivianum* y su posterior utilización en la formulación de tres productos cosméticos capilares. Para ello, se recolectó la muestra de *C. bolivianum* y de sus hojas se extrajo el aceite esencial mediante el sistema de destilación por arrastre de vapor. Se realizó la cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC/MS) para identificar los componentes químicos volátiles y se obtuvieron 33 compuestos, de los cuales la pulegona (63,82%), el carvacrol (5,52%), el eucaliptol (1,8-cineol) (5,5%) y el isocitral (4,98%) fueron los metabolitos con mayor abundancia en el aceite esencial. La capacidad antioxidante del aceite esencial de *C. bolivianum* se analizó por los métodos del DPPH y ABTS, lo que resultó en una $CI_{50}$ de 1344,00 µg/mL y 40,123 µg/mL, respectivamente. Posteriormente, se prepararon tres formulaciones cosméticas capilares: champú, crema de peinar y loción de cabello. Además de la evaluación antioxidante de cada formulación, terminando con el estudio de estabilidad acelerada para garantizar y estimar la vida útil de los productos preparados. En conclusión, el aceite esencial de *C. bolivianum* presentó actividad antioxidante, pero menor con el estándar Trolox. En cuanto a las formulaciones, se presentó mayor actividad antioxidante en la loción capilar con respecto a las otras dos formulaciones; además en el estudio de estabilidad acelerada, las tres formulaciones estuvieron dentro de los parámetros de control (organoléptico y fisicoquímicos).



**Palabras claves**: *Clinopodium bolivianum* (Benth.) Kunth, "koa", antioxidante, formulaciones cosméticas, DPPH, ABTS, estabilidad formal.

## ABSTRACT

Muña, known as "koa" in the Aymara language of the province of Puno, has the scientific name *Clinopodium bolivianum* (Benth.) Kunth. This plant species grows in the form of a bush and is used by the inhabitants as an infusion for altitude sickness. However, in some areas further away from its place of origin, it has also been found to be used topically. This research aimed to determine the antioxidant activity of the essential oil of C. *bolivianum* and its subsequent use in the formulation of three hair cosmetic products. To do this, a sample of C. *bolivianum* was collected and the essential oil was extracted from its leaves using the steam distillation system. Gas chromatography coupled with mass spectrometry (GC/MS) was performed to identify the volatile chemical components and 33 compounds were obtained, of which pulegone (63,82%), carvacrol (5,52%), eucalyptol (1,8-cineole) (5,5%) and isocitral (4,98%) were the most abundant metabolites in the essential oil. The antioxidant capacity of C. *bolivianum* essential oil was analyzed by DPPH and ABTS methods, resulting in an $IC_{50}$ of 1344,00 µg/mL and 40,123 µg/mL, respectively. Subsequently, three hair cosmetic formulations were prepared: shampoo, styling cream and hair lotion. For this purpose, C. *bolivianum* essential oil was used. And the antioxidant evaluation of each formulation ended with the accelerated stability study to guarantee and estimate the shelf life of the prepared products. In conclusion, the essential oil of C. *bolivianum* presented antioxidant activity, but lower with the Trolox standard. Regarding the formulations, the hair lotion showed greater antioxidant activity compared to the other two formulations; in addition, in the accelerated stability study, the three formulations were within the control parameters (organoleptic and physicochemical).



**Keywords:** *Clinopodium bolivianum* (Benth.) Kunth, "koa", antioxidant, cosmetic formulations, DPPH, ABTS, formal stability.

# I. INTRODUCCIÓN

## I.1. Planteamiento del problema

### I.1.1. Determinación del problema

Actualmente, existen varios factores que pueden causar daños en el cabello, como los radicales libres, el uso de planchas, secadoras, los rayos UV del sol, la exposición a la sal del mar, al cloro de las piscinas, alisados, tintes entre otros. La actividad antioxidante en los productos capilares puede prevenir y retrasar los daños a los que el cabello está expuesto[9].

Los radicales libres poseen un numero impar de electrones por lo que tienden a emparejar su electrón no apareado; los producidos por radiación ultravioleta pueden dañar el cabello debilitándolo y rompiendo las uniones de queratina causando la alteración de la melanina por lo que se produce la decoloración del cabello[17].

El aceite de *C. bolivianum* podrá aportar actividad antioxidante a las formulaciones cosméticas, influyendo de manera positiva en el cabello al fortalecerlo y prevenir futuros daños causados por exposiciones ambientales (polución, radiación UV), especialmente en cabellos maltratados por el uso de tintes, alisados, etc.[9] Por ello, se plantea la investigación de la actividad antioxidante del aceite esencial de las hojas de *Clinopodium bolivianum*, (Benth.) Kunth. y su utilización en tres formulaciones de productos cosméticos capilares: el champú, la crema de peinar y la loción de cabello.

### I.1.2. Formulación del problema

¿El aceite esencial de *Clinopodium bolivianum* (Benth) Kunth presentará actividad antioxidante que el cual influirá en la formulación de tres productos cosméticos capilares?

## I.2. Objetivos

### I.2.1. Objetivo general

Determinar la actividad antioxidante del aceite esencial de *Clinopodium bolivianum* (Benth.) Kunth. por GC/MS que influirá en la formulación de tres productos cosméticos capilares.

### I.2.2. Objetivos específicos

1. Identificar los componentes químicos del aceite esencial de *Clinopodium bolivianum* (Benth.) Kunth. por GC/MS.
2. Determinar la actividad antioxidante del aceite esencial de *Clinopodium bolivianum* (Benth.) Kunth. por los métodos DPPH y ABTS.
3. Formular tres productos cosméticos capilares a base del aceite esencial de *Clinopodium bolivianum* (Benth.) Kunth.
4. Evaluar la actividad antioxidante de las tres formulaciones que contenga el aceite esencial de *Clinopodium bolivianum* (Benth.) Kunth. por los métodos DPPH y ABTS.
5. Evaluar la estabilidad acelerada de las tres formulaciones que contenga el aceite esencial de *Clinopodium bolivianum* (Benth.) Kunth. mediante la evaluación organoléptica y fisicoquímica.

## I.3. Importancia y alcance de la investigación

El Perú cuenta con una amplia biodiversidad de flora y fauna, lo que lo convierte en un gran proveedor de activos naturales en beneficio de la industria cosmética, gracias a las propiedades benéficas en distintas aplicaciones (tópicas y capilares). Actualmente, los pobladores que habitan en los Andes del Perú no cuentan con una economía estable. Por lo tanto, la entrada de industrias para la utilización de sus recursos naturales puede generar beneficios para ellos e implementar medidas de sostenibilidad para estas especies vegetales nativas.

La utilización de productos antioxidantes está en constante aumento. Es fundamental mantener un cabello saludable, ya que esto contribuye al aspecto personal y tiene un impacto positivo en la autoestima de las personas. Los antioxidantes actúan a través de diversos mecanismos, tales como agentes reductores, captadores de oxígeno y agentes sinérgicos. Es así que, la actividad antioxidante en los productos capilares puede prevenir y retrasar los daños a los que el cabello está expuesto.

Por este motivo, el proyecto busca evaluar, conocer y analizar la capacidad antioxidante no solo del aceite esencial de *Clinopodium bolivianum* (Benth.) Kunth, conocido como "koa", sino también de las fórmulas cosméticas capilares que contienen este aceite esencial. Se pretende evaluar la capacidad antioxidante de los productos capilares elaborados para contribuir a la reducción de daños causados por los radicales libres. Adicionalmente, se agrega que esta investigación también busca fomentar la utilización y elaboración de productos cosméticos capilares basados en componentes naturales de la biodiversidad peruana, promoviendo así la sostenibilidad de nuestras especies vegetales.

Por ello, se plantea la investigación de la actividad antioxidante del aceite esencial de las hojas de *Clinopodium bolivianum*, (Benth.) Kunth. y su utilización en tres formulaciones de productos cosméticos capilares: el champú, la crema de peinar y la loción de cabello.

# II. REVISIÓN DE LA LITERATURA

## II.1. Marco teórico

### II.1.1. Clasificación taxonómica




**Figura 1.** Imagen de la especie vegetal *Clinopodium bolivianum* (Benth.) Kunth. Fuente: El autor.

**Reino**: Plantae

**División:** Magnoliopsida

**Orden**: Lamiales

**Familia**: Lamiaceae

**Género**: Clinopodium

**Especie**: *Clinopodium bolivianum* (Benth.) Kunth

**Nombre común:** "koa" (puno), "muña" (lima); Perú

### II.1.2. Descripción botánica

La muña o "koa" también es conocida por los pobladores del Perú como “inca muña”, “*chuña* muña”, etc. Esta especie vegetal es un pequeño arbusto que crece de forma abundante en las zonas andinas del Perú, durante los meses de enero a marzo. Entre sus características, se sabe que mide entre 60 y 80 cm de alto; las hojas son pecioladas (1-1.5 mm), laminas obovadas a elípticas, sub- obtusas, bordes enteros o aserrado y 1-2 cm de largo[1].



**Figura 2.** Fotografía de la especie vegetal *Clinopodium bolivianum (Benth.) Kunth.*
Fuente: El autor.

### II.1.3. Descripción gráfica y ubicación en el Perú

La “koa” o “inca muña”, considerada como el orégano de los incas, es una especie vegetal aromática perteneciente a la familia Lamiaceae, que crece entre los 3810 a 4050 msnm. Es propia de los andes centrales y sur del Perú[1,2].

### II.1.4. Usos

En el tratamiento de diversas afecciones en el cuerpo humano, se pueden distinguir dos enfoques principales: la aplicación interna y la aplicación externa de la muña. En la aplicación interna de la muña, se utiliza internamente a través de infusiones para tratar problemas como náuseas, indigestión, diarrea y mal de altura. Además,

las hojas y flores de muña se emplean como condimentos en la preparación de sopas y dulces, agregando sabor y propiedades medicinales a estos alimentos[1,2].

Para aplicación externa, se pueden realizar macerados de muña con alcohol que se utilizan como frotamientos. Estos macerados son aplicados sobre la piel para aliviar daños nerviosos y proporcionar un efecto terapéutico directo en las áreas afectadas[1].

### II.1.5. Aceites esenciales

Los aceites esenciales de una especie vegetal son mezclas de compuestos volátiles complejos que incluyen monoterpenos, aldehídos, cetonas, esteres y ácidos. Su extracción se realiza comúnmente por el método de arrastre de vapor de agua, aunque existen otros procesos. La mayoría de estos compuestos mencionados tienen un olor agradable, a excepción de los compuestos azufrados, como los que se encuentran en el ajo y la cebolla, que sí pueden tener un olor desagradable. Además, estos mismos compuestos suelen ser de bajo peso molecular y, en conjunto con su lipoficidad, atraviesan las membranas celulares con facilidad. Por estas características mencionadas, los aceites esenciales tienen vital importancia en la industria cosmética e industria alimentaria[3].

Su clasificación en base a su origen las divide en naturales, sintéticas y artificiales. Los aceites de origen natural se obtienen sin modificaciones físicas ni químicas; sin embargo, a pesar de su pureza, su costo suele ser más alto en relación con el rendimiento obtenido. Los aceites de origen artificial, a diferencia de los primeros, se obtienen por procesos de enriquecimiento de uno o más de diferentes componentes, por ejemplo, la mezcla de esencias (rosa, geranio y jazmín) enriquecida con un componente llamado linalol, o la esencia de anís enriquecida con anetol. Por último, tenemos los de origen sintético que son producidos por medio de síntesis química, siendo estos los más económicos. Son utilizados como aromatizantes y saborizantes como por ejemplo las esencias de fresa, limón, vainilla, entre otras[3].

#### II.1.5.1. Obtención de aceites esenciales

El aceite esencial se puede obtener mediante diferentes métodos de extracción, los cuales generalmente están relacionados con las características específicas del aceite a trabajar. Entre algunas características fisicoquímicas relevantes tenemos viscosidad, solubilidad y volatilidad, aunque existen otras. Además, se debe agregar que, en algunos métodos de extracción, la presencia o ausencia de ciertos elementos puede influir en la eficacia y el resultado del proceso.

#### II.1.5.1.1. Destilación por vapor

En este proceso se obtiene al pasar el vapor a través de la materia prima vegetal. El vapor de agua y los vapores del aceite se condensan, usando una fuente: externa o el agua hirviendo como catalizador. Por último, por decantación se separa el aceite esencial del agua[4].

#### II.1.5.1.2. Destilación en seco

Se logra calentando sin agua ni vapor en un aparato calificado para ello a una temperatura elevada los tallos o cortezas.

#### II.1.5.1.3. Proceso mecánico

Este proceso se conoce como “prensado en frío” y no utiliza calentamiento. Se usa con los frutos de los cítricos y requiere su separación por medios físicos, es decir, exprimir el aceite.
Este método convencional requiere aplicar a toda la superficie una acción abrasiva bajo una corriente de agua. Luego, se separa la fase acuosa por centrifugación, una vez eliminados los residuos sólidos del aceite esencial[4].

### II.1.5.2. Características fisicoquímicas de aceites esenciales:

Los aceites esenciales son sustancias volátiles compuestas por diversos constituyentes que les confieren una densidad menor que la del agua. Esto los hace solubles en lípidos y en la mayoría de los disolventes orgánicos, pero poco solubles en agua. Así también, los aceites esenciales suelen tener un ligero color y un alto índice de refracción, lo que provoca la desviación de la luz polarizada. Estas características fisicoquímicas influyen en el método de extracción de los aceites

esenciales porque ayudan a identificar sus componentes. De esa manera, para identificar y analizar los componentes presentes en los aceites esenciales, se emplean técnicas cromatográficas. La cromatografía de gases ya sea en fases estacionarias polares, apolares o quirales, se acopla a un espectrómetro de masas o a un detector de infrarrojos por transformada de Fourier (FTIR) para realizar un análisis detallado[5].

### II.1.5.3. Principales componentes químicos del aceite esencial

Existen tipos de aceites esenciales que, según su composición química, pueden ser monomoleculares o contener de 2 a 3 moléculas; sin embargo, la mayoría son polimoleculares, es decir, compuestos por centenares de moléculas que están en trazas[4].

Además, los aceites esenciales pueden incluir terpenos, como los monoterpenos y sesquiterpenos, que pueden ser monocíclicos, bicíclicos o acíclicos. Así también, se encuentran compuestos oxigenados y no oxigenados, tales como aldehídos cinámicos, eugenol, anetol, aldehído anísico, entre otros[4].

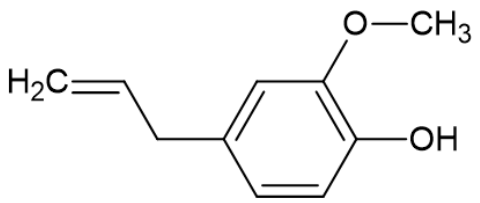



**Figura 3.** Estructura de eugenol. Fuente: Chemsketch.

Los aceites esenciales que derivan del ácido shikímico, policétidos y alcaloides se conocen como terpenos y fenilpropanoides. Aunque los terpenos y terpenoides son abundantes en los aceites esenciales, algunas especies también contienen altas concentraciones de derivados del ácido shikímico, como los fenilpropanoides.

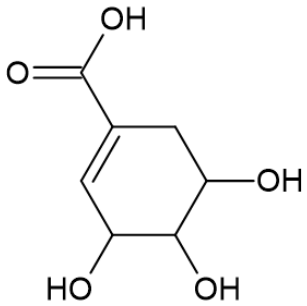



**Figura 4.** Estructura del ácido shikímico. Fuente: Chemsketch.

Los constituyentes más significativos son los terpenos y terpenoides, que son responsables del olor y sabor específico en la especie vegetal. La estructura química de los terpenos consiste en moléculas repetitivas de isopreno, y estas son unidades básicas de construcción en la biosíntesis de los terpenos[6].

#### II.1.5.4. Acción antioxidante de los aceites esenciales

Los aceites esenciales se obtienen de especies vegetales y contienen una variedad de compuestos, como alcoholes, ácidos, ésteres acíclicos, aldehídos, lactonas, monoterpenoides y sesquiterpenoides. Dentro de su composición, son los compuestos fenólicos los que confieren propiedades antioxidantes a los aceites esenciales.

Dada la creciente demanda de alternativas naturales, se está reforzando la exploración de nuevas fuentes vegetales. Los polifenoles, presentes en estos aceites, tienen propiedades reconocidas que incluyen la inhibición de enzimas hidrolíticas oxidativas, la estabilización de radicales libres y la acción antiinflamatoria[7].

### II.1.6. Antioxidantes

Son sustancias y constituyentes que tienen la capacidad de neutralizar los radicales libres e inhibir la síntesis acelerada de metaloproteinasas, degradadoras de colágeno inducida por la radiación UV[17].

Estos antioxidantes, al interactuar con los radicales libres, generan un radical más estable y menos dañino. Este proceso ocurre cuando el antioxidante reacciona con la especie radical mediante un mecanismo redox, en el cual se dona un electrón (o átomo de hidrógeno) a la especie radical. El resultado es la formación de un radical derivado del antioxidante, que puede ser inerte, estable o presentar una mínima reactividad[1].

#### II.1.6.1. Métodos de cuantificación de antioxidantes de aceites esenciales

La identificación de los componentes principales en los aceites esenciales se realiza mediante cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas. Para determinar la capacidad antioxidante de los aceites, se utilizan dos métodos principales: ABTS+ (capacidad de atrapamiento del catión radical ABTS+) y DPPH (capacidad de atrapamiento del radical).

El ácido 2,2-azinobis-3etil benzotioazolín-6-sulfónico (ABTS+), se basa en la obtención de los antioxidantes por el radical catión ABTS+, que posee una coloración verdeazulada con un máximo de absorción a 415 nm. Este se genera en el medio de la reacción, usando como patrón el ácido 6-hidroxi-2,5,7,8 tetrametilcromán-2-carboxílico (Trolox), conocido como un análogo sintético hidrosoluble de la vitamina E[23].

El DPPH (2,2-difenil-1picrilhidracilo) compuesto estable consiste en la reducción de esta molécula por los compuestos antioxidantes de la muestra del aceite esencial. Este radical presenta un color púrpura que se pierde gradualmente cuando se agrega la muestra que contiene compuestos antioxidantes. Así, la decoloración del radical se determina a 515 nm y la cuantificación se realiza empleando soluciones patrón de Trolox[23].

#### II.1.6.2. Radicales libres

Los radicales libres se pueden definir como moléculas inestables que resultan del metabolismo normal de las células y que, al acumularse en otras células, puede

causar daño celular. También se describe como un conjunto de especies reactivas de oxígeno que actúan como agentes oxidantes convertidos en radicales.

El oxígeno, como molécula principalmente oxidante, es el responsable de la producción de especies reactivas del oxígeno (ERO)[9]. Estas especies reactivas de oxígeno pueden originarse de dos maneras: de forma endógena (dentro del organismo) o exógena (fuera del organismo), como ocurre con la radiación solar, toxinas fúngicas, pesticidas o xenobióticos[9]. Entonces, cuando los antioxidantes interactúan con los radicales libres (especies reactivas de oxígeno), se neutralizan mediante la liberación de electrones, contribuyendo a proteger las células del daño oxidativo.

### II.1.7. Utilización de aceite esencial en productos cosméticos:

Actualmente, la legislación cosmética no define específicamente los aceites esenciales, y su uso aún no está completamente regulado. Los aceites esenciales pueden estar compuestos de diferentes constituyentes, que incluyen mezclas de ingredientes vegetales líquidos, volátiles y liposolubles, como también de sustancias aromáticas sintéticas con una cierta fragancia[4]. Así, estas mezclas llamadas aceites esenciales se componen químicamente de terpenos y sus derivados.

Según la Digemid, la fragancia de las plantas se denomina “quinta esencia” o aceite esencial. Estos metabolitos secundarios están basados en la estructura del isopreno y se conocen como terpenos, pero cuando contiene un elemento adicional como el oxígeno, se clasifica como terpenoide. Entonces, estos compuestos cuya síntesis se logra a partir del acetato presentan actividad antimicrobiana contra bacterias, virus, hongos y protozoos.

La seguridad del uso de los productos cosméticos con los aceites esenciales va a depender de la materia prima utilizada y también del método de extracción para obtener el aceite esencial. Para garantizar su estabilidad y eficacia, los aceites esenciales deben almacenarse en contenedores bien sellados, protegidos de la luz y herméticos, de acuerdo con sus características fisicoquímicas.

Champú: Se define como una emulsión diseñada para proporcionar una limpieza y cuidado profundo del cabello. El objetivo del champú es eliminar la acumulación de sebo en el cabello[16,18].



**Figura 5.** Limpieza de cabello con champú. Fuente: El autor.

Crema de peinar: es un producto cosmético que se emplea después de la limpieza del cabello para conseguir un buen desenredo. De acuerdo con sus ingredientes puede brindar hidratación, definir rizos, brillo, termoprotección, antifriz[16,18].



**Figura 6.** Crema de peinar para cabello. Fuente: El autor.

Loción capilar: este producto cosmético se aplica directamente y brinda propiedades al cabello para estimular, nutrir y fortalecer el cabello[16,18].

#### II.1.7.1. Actividad antioxidante en productos cosméticos capilares

Los antioxidantes presentes en los productos cosméticos son una estrategia para prevenir el fotoenvejecimiento y la formación de estrés oxidativo. Estos compuestos tienen la capacidad de neutralizar los radicales libres, inhibiendo así la síntesis acelerada de metaloproteinasas inducida por la radiación UV. Investigaciones previas han demostrado que los antioxidantes tienen efectos positivos tanto en la dermis como en el cabello, siendo evidentes en el cuero cabelludo y en la fibra capilar[9].

Los activos antioxidantes fortalecen y mantienen saludables los folículos pilosos, lo que resulta en un cabello vigoroso y fuerte. Estos activos antioxidantes actúan ayudando a estimular e impulsar a los folículos pilosos también contribuyen con la alimentación de los nutrientes del cuero cabelludo, así los folículos no se debilitan con el tiempo.

Estos antioxidantes actúan como una barrera frente a los radicales libres. Podemos definirlos como catalizadores de las reacciones de oxidación, lo que significa que aumentan la velocidad de las reacciones y se regeneran de forma continua para causar cada vez más daño[9]. Por ello se recomienda que estén dentro de la composición de un champú, crema de peinar, loción de cabello.

#### II.1.7.2. Estabilidad de productos cosméticos

La estabilidad de productos cosmético se refiere a la evaluación y determinación de su vida útil del producto. Es crucial realizar pruebas de estabilidad durante la elaboración del producto, que comprenden tres etapas: diseño, desarrollo y comercialización. Estas pruebas tienen como objetivo garantizar y asegurar la calidad del producto cosmético durante su almacenamiento y uso, ya que la estabilidad del producto puede verse afectada por diversos factores, como la selección de ingredientes, el proceso de fabricación, y el material de acondicionamiento, incluidos los tipos de envases. Además, las condiciones ambientales, como la exposición a la luz solar, pueden provocar la degradación de algunos productos e incluso el transporte puede influir en la estabilidad del producto. Para asegurar que el producto mantenga sus especificaciones establecidas durante el tiempo determinado, se deben considerar parámetros de control: Organoléptico, fisicoquímico y microbiológico[10].

## II.2. Antecedentes del estudio

Para la presente investigación se encontraron diversos estudios del género *Clinopodium* que se pueden considerar como antecedentes y son los siguientes:

Marianella Zegarra et al.[11] realizaron una investigación titulada "Mitigación de la formación de acrilamida en papas fritas tipo chips mediante la adición de antioxidantes fenólicos de 'inca muña' *Clinopodium bolivianum*". La investigación señala que la formación de acrilamidas ocurre a temperaturas superiores a 120ºC y se considera un probable cancerígeno para los humanos. Por lo tanto, se han recomendado varios métodos de procesamiento para reducir su formación, tales como freidoras de aire, microondas y adición de extractos antioxidantes naturales. El extracto de "inca muña" se purificó mediante cromatografía de adsorción, seguido de la elución de polifenoles hasta obtener el extracto purificado. Luego, se impregnó al vacío mediante tratamiento de inmersión a presión atmosférica para eliminar compuestos hidrofílicos. La identificación de los compuestos se realizó mediante espectrometría de masas (LC-MS). Los componentes antioxidantes más abundantes en las papas fritas impregnadas fueron hesperidina y luteolina glucósido.

Asimismo, Herrera et al.[2], en el estudio titulado "El extracto de *Clinopodium bolivianum* protege contra la invasión de *Escherichia coli* de células uroepiteliales", obtuvieron el extracto mediante maceración en etanol al 70%, que luego se concentró en un rotavapor y se secó bajo presión en un liofilizador. Se identificaron más de 70 componentes del extracto mediante análisis LC-MS, incluyendo azúcares y compuestos fenólicos. Entre los tentativamente asignados son: pico 14, luteolina-7-O-glucósido, PM=448; Pico 30, eriodictiol-7-orutinósido, PM=596; Pico 48, ácido rosmarínico, MW=360; Pico 57, Apegenina-7-Oapioglucósido, PM=564; Pico 61, eriodictiol-glucósido, PM=450.

De igual modo, Mohanty et al.[12] evidenciaron la presencia de varios metabolitos secundarios en el extracto etanólico de Inca muña, incluyendo compuestos fenólicos, flavonoides y triterpenos, que muestran propiedades antioxidantes frente a lesiones gástricas. Estos compuestos podrían actuar contra los radicales libres y

contribuir a la depleción de prostaglandinas (inhiben la secreción de ácido y estimulan la secreción de moco y bicarbonato), que protegen el estómago. Los resultados mostraron que el extracto etanólico de *Clinopodium bolivianum*, a una dosis de 300 mg/kg, tiene actividad gastroprotectora, por tanto, su intervención a nivel gástrico puede ser por una posible acción antioxidante.

También, Tapia et al.[13] publicó un artículo titulado "Actividad antioxidante del aceite esencial de *Clinopodium pulchellum* (Kunt) Govaerts 'panizara'". Analizó la actividad antioxidante por el método DPPH y ABTS y determinó que el aceite esencial de *Clinopodium pulchellum* (Kunt) Govaerts "panizara" sí posee actividad antioxidante. En el ensayo DPPH, se evidencia la actividad donadora y secuestrante de electrones respectivamente ($IC_{50}$=2288,31 µg/mL y $IC_{50}$=3,8 µg/mL), ya que indica la acción resaltante como donador de electrones. Asimismo, en el ensayo ABTS, del $IC_{50}$ para el aceite esencial de "panizara" se obtuvo 30,87 µg/mL y 17,04 µg/mL para el Trolox. Esto sugiere que el aceite esencial podría usarse como ingrediente o conservante natural en la industria farmacéutica o alimentaria.

Posteriormente, Apaza[14] realizó un estudio titulado "Análisis de la difusión del aceite esencial de 'muña' *Clinopodium bolivianum* en vapor de agua", que caracterizó el aceite esencial utilizando instrumentos como el refractómetro (índice de refracción: 1,550-1,551), potenciómetro (pH: 5,12), polarímetro (ángulo de rotación: 29°24') y picnómetro (densidad: 0,955 g/mL). Asimismo, de una muestra de 700 g, se extraen 12,05 ml en una hora aproximadamente, obteniendo un rendimiento de 1,362% de hojas y tallos.

Chirinos et al. [15], en su investigación "Caracterización de los compuestos fenólicos de las hojas de 'inca muña' *Clinopodium bolivianum* y la factibilidad de su aplicación para mejorar la estabilidad oxidativa del aceite de soya durante la fritura", determinaron que el contenido de fenoles totales en las hojas de Inca muña era de 67,7 mg AGE/g peso seco (PS) y 581 µmol TE/g (PS). Se logró la adhesión para evitar la oxidación del aceite de soja durante la fritura y se concluyó que la inca muña tiene abundantes compuestos fenólicos y los principales corresponden a la

familia de las flavanonas. Estas serían una Fuente: potencial de antioxidantes naturales.

Soto et al.[16] realizó un estudio titulado “Productos para el cuidado personal formulados con extractos naturales antioxidantes”, que utilizó extractos etanólicos de orujo de uva, astillas de madera de *Pinus pinaster*, flores de acacia y *Lentinula edodes* para desarrollar formulaciones cosméticas (champú, crema de manos, aceite corporal, máscara de arcilla, exfoliante corporal, limpiador de piel). La propiedad antioxidante siempre ha sido de gran interés en el mundo de la cosmética y se utilizan cada vez más en los cosméticos antienvejecimiento. Dentro de los componentes antioxidantes encontramos a los fenoles y flavonoides que pueden actuar mediante diferentes mecanismos como agentes reductores, captadores de oxígeno, agentes sinérgicos y agentes quelantes. La actividad antioxidante se determinó mediante varios métodos, sin embargo, en el caso de los fenoles totales, el estudio menciona el método de colorimétrica con el reactivo de Folin-ciocalteu. Se comprobó la capacidad antioxidante mediante ABTS de los extractos alcohólicos, por consiguiente, la evaluación sensorial de los productos cosméticos de cuidado personal con extractos naturales está relacionado con la buena aceptabilidad por parte de los consumidores. Este análisis indica que el éxito del desarrollo de nuevos productos cosméticos con extractos naturales depende de la preferencia del consumidor.

Castaño y Hernández[17,] en otro estudio titulado “Activos antioxidantes en la formulación de productos cosméticos antienvejecimiento”, se describe cómo la presencia de radicales libres y los cambios que se producen en la piel aceleran el envejecimiento cutáneo. Estos cambios incluyen la disminución de componentes clave como ceramidas, elastina y escualeno, lo que resulta en una disminución de funciones vitales como la producción de sebo, la síntesis de vitamina D, y la proliferación y reparación celular. Asimismo, el estudio menciona que diversos grupos de activos antioxidantes pueden intervenir positivamente en la prevención y reducción de factores tanto extrínsecos como intrínsecos que afectan la piel. Estos antioxidantes ayudan a aumentar la fotoprotección y actúan como una barrera

contra el daño celular. Por lo tanto, es crucial que estén presentes en los productos cosméticos destinados a tratar los signos del envejecimiento celular.

Bravo et al. [18], llevaron a cabo un estudio titulado “Análisis de base de datos *cosing* y estudios experimentales para promover la biodiversidad vegetal americana para uso cosmético”. Este estudio destacó las propiedades potenciales de diversas plantas latinoamericanas como antioxidantes, filtros UV y protectores de la piel y promovió el desarrollo de productos cosméticos a base de estas plantas. Asimismo, utilizaron diversas plataformas para la obtención de datos, entre ellos, el *Cosing* (base de datos creada por la comisión europea). Aquí encontraron que la mayoría de los ingredientes cosméticos pertenecen al continente asiático y solo el 9% son plantas latinoamericanas. Entre los métodos para determinar la capacidad antioxidante, se utilizaron los ensayos de ORAC (Capacidad de absorción de radicales de oxígenos), FRAP (Poder antioxidante reductor de iones férricos) y TPC (contenido de fenoles totales). Este estudio demostró el gran potencial de las especies vegetales latinoamericanas frente a las asiáticas para la innovación y desarrollo de ingredientes o productos cosméticos, siempre y cuando se genere la sostenibilidad de la biodiversidad vegetal.

Finalmente, Rodríguez et al.[19], en el estudio “Uso de materias primas naturales en la elaboración de cosméticos y su control de calidad”, indican diferentes pruebas de control de calidad que evaluaron en el estudio de estabilidad. Asimismo, las pruebas fisicoquímicas (viscosidad, determinación de pH.), sensoriales y microbiológicas son de gran ayuda para la obtención de productos de calidad inocuos y que no alteren su característica con el tiempo. También menciona que cada componente o activo pueden afectar la estabilidad de un producto.

### II.3. Glosario de términos

- *Clinopodium bolivianum* (Benth.) Kunth*:* Especie vegetal cuyo registro oral de propiedades antioxidantes reside la provincia de Puno. Es la especie de investigación del presente trabajo.

- Actividad antioxidante: Disminución o neutralización de los radicales libres producto de la contaminación, radiación, concentración elevada de oxígeno etc.
- DPPH: 2,2-difenil-1-picrilhidracilo. Este compuesto químico es estable
- ABTS+: Radical para determinar la actividad antioxidante es de color verde azulado.
- Formulaciones cosméticas: Fabricación de productos a base de mezclas.
- Estabilidad acelerada: Estudio que se realiza a los productos para estimar la vida útil de estos.

# III. HIPÓTESIS Y VARIABLES

## III.1. Hipótesis

El aceite esencial de *Clinopodium bolivianum* (Benth.) Kunth. presenta actividad antioxidante el cual influye en la formulación de tres productos cosméticos capilares.

## III.2. Variables

Variable Independiente:

- Aceite esencial de *Clinopodium bolivianum* (Benth.) Kunth.
- Formulaciones cosméticas capilares

Variable dependiente:

- Actividad antioxidante
- Estabilidad de las formulaciones cosméticas

## III.3. Operacionalización de variables

| VARIABLES | TIPO DE VARIABLE | DEFINICIÓN CONCEPTUAL | DEFINICIÓN OPERACIONAL | DIMENSIONES | INDICADOR | UNIDAD DE MEDIDA |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Aceite esencial de *Clinopodium bolivianum* "MUÑA" | Independiente | Es un conjunto de metabolitos secundarios pertenecientes a la especie vegetal muña son volátiles y utilizados en aromaterapia | Estudio fisicoquímico del aceite esencial de la especie vegetal muña. | Componentes químicos<br>Pureza<br>Volatilidad | Caracterización organoléptica<br>Rendimiento total de aceite<br>Cromatógrafo de gases<br>Densidad, Índice de Acidez, Índice de refracción | Sin unidad<br>Porcentaje (%)<br>Porcentaje (%)<br>g/ml<br>Porcentaje (%) |
| Formulaciones cosméticas capilares | Independiente | Son elaboraciones de mezclas con fines de limpieza o correcciones. | Evaluación fisicoquímica de la emulsión cosmética. | Eficacia de limpieza<br>Apariencia<br>Presentación cosmética<br>Forma de aplicación | Evaluación visual<br>Homogeneidad y color<br>Velocidad<br>Temperatura<br>Peso | (%)<br>Rpm<br>°C<br>Gr<br>Kg |

| | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Actividad antioxidante | Dependiente | Es la prevención de la formación de los radicales libres de oxígeno. | Evaluación de la capacidad de neutralizar los radicales libres. | Inhibición del radical DPPH<br>Inhibición del radical ABTS | TEAC-DPPH<br>TEAC-ABTS<br>$CI_{50}$ | mg Trolox/g Aceite<br>µg/ml |
| Estabilidad de formulaciones cosméticas | Dependiente | Es la conservación de las propiedades físicas, químicas dentro de especificaciones. | Evaluación de la apariencia, textura, color y compatibilidad de ingredientes. | Estudio de estabilidad acelerada<br>Estabilidad física<br>Estabilidad química<br>Estimación de la vida útil | pH<br>Temperatura<br>Separación de fases<br>Viscosidad<br>Tiempo de estabilidad<br>meses, años | Cp |

# IV. MATERIALES Y MÉTODOS

## IV.1. Área de estudio

Se desarrollo en el laboratorio de química orgánica de la facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, ubicado en el Cercado de Lima, Jr. Puno 1002 con las coordenadas (-12,055599, -77,023324).

Se colectó en la provincia de Puno distrito de Ollaraya con las coordenadas (-16,232315, -69,003572)

## IV.2. Diseño de investigación

El estudio tiene un diseño experimental por la evaluación de la actividad antioxidante del aceite esencial *Clinopodium bolivianum* (Benth.) Kunth “koa” en diferentes concentraciones y un grupo control, además de su utilización en tres formulaciones de productos cosméticos capilares.

## IV.3. Población y muestra

**Población**:

- La especie vegetal *Clinopodium bolivianum* (Benth.) Kunth “koa” procedente de la región de Ollaraya, provincia de Puno.
- Las formulaciones cosméticas capilares: Todas las posibles formulaciones cosméticas capilares que podrían contener aceite esencial *de C. bolivianum.*

**Muestra**:

- 1000g de las hojas secas del *Clinopodium bolivianum* (Benth.) Kunth “koa” procedente de la región de Ollaraya provincia de Puno.
- Tres formulaciones cosméticas con diferentes concentraciones de aceite esencial de *C. bolivianum*. (champú, crema de peinar y loción capilar).

## IV.4. Procedimientos, técnicas e instrumentos de recolección de información

### IV.4.1. Procedimiento para la obtención del aceite esencial

#### IV.4.1.1. Colecta e identificación de la especie vegetal

La especie vegetal se recolectó en el distrito de Ollaraya, provincia de Yunguyo, departamento de Puno a 3827 msnm en el periodo de agosto setiembre del 2022. Constancia taxonómica (anexo I).

La especie vegetal fue seleccionada y lavada con abundante agua destilada. Retirando restos de suciedad, Luego se secó a temperatura ambiente y la muestra seca se colocó en el destilador y pasa el vapor a través del mismo (la separación se realizó por diferentes densidades). Se utilizó el embudo de vidrio de decantación. Se utilizó el $Na_2SO_4$ anhidro para la eliminación de restos de agua y se pasó por filtros de 0,25 µm. El aceite esencial obtenido se conservó en un frasco ámbar de vidrio a 4ºC.

#### IV.4.1.2. Ensayos preliminares y fisicoquímico

##### IV.4.1.2.1. Índice de refracción

Se colocó la muestra del aceite esencial en el refractómetro y se procedió con la lectura, esta operación se realiza por 3 veces.

##### IV.4.1.2.2. Densidad relativa

Para el cálculo de la densidad relativa se utilizó una balanza analítica y pesó el picnómetro solo totalmente seco, picnómetro con agua destilada y picnómetro con la muestra (Aceite esencial de *Clinopodium bolivianum* (Benth.) Kunth.

Donde:

$$\text{Densidad relativa} = (P.MP - P) / (P.\ \text{agua} - P) \times \text{Densidad del agua}$$

Donde:

P. MP: Peso del picnómetro con muestra en gramos.

P. agua: Peso del picnómetro con agua destilada en gramos.

P: Peso del picnómetro vacío en gramos.

D. agua: 0,99823 g/mL

### IV.4.2.Procedimientos analíticos y experimentales

#### IV.4.2.1. Composición química del aceite esencial de las hojas *Clinopodium bolivianum* (Benth.) Kunth. "koa" por cromatografía de gases acoplado a espectrometría de masas

Se identificaron los componentes volátiles del aceite esencial de las hojas de *Clinopodium bolivianum* (Benth.) Kunth. "koa" mediante cromatografía de gases acoplado a espectrometría de masas (GCMS-QP2010 SE, *Shimadzu*) con una columna capilar Quadrex (007 METILO 5%) (30 m × 0,25 mm, 0,20 µm espesor de la película, Agilent Technologies). El EO se diluyó en cloroformo grado HPLC (1000 µL) (1:100). Mediante la comparación de los índices de retención relativa (RI) y los datos de espectros de masas (biblioteca NIST-5) se obtuvo la identificación de los componentes volátiles. Cada índice de retención se calculó en comparación con una serie homóloga de n -alcanos C9-C25 (C9, 99% de pureza BHD y C10-C25, 99% de pureza Fluka).

#### IV.4.2.2. Actividad antioxidante total por el radical DPPH

El radical DPPH tiene una coloración púrpura la cual cambia por la presencia en un componente antioxidante y tiene un electrón desapareado.

**Preparación de la muestra:**

Se realizaron las diluciones del aceite esencial de *Clinopodium bolivianum* (Benth.) Kunth. "koa" con el solvente metanol (11722,5 µg/mL; 5861,25 µg/mL; 2930,625 µg/mL; 1465,31 µg/mL; 732,656 µg/mL)

**Estándar Trolox**

Preparación: Se pesó 2,4 mg de Trolox y se diluyó con 10 mL de agua destilada, que equivale a 0,96 mM (milimolar)

**Preparación de la solución DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil):**

Se obtuvo una solución de DPPH de trabajo respectivamente (10 mg de DPPH en 100 mL de metanol). Luego, se midió la absorbancia final para que la absorbancia este dentro de 0,600 – 0,700 ± 0,02, teniendo como valor la absorbancia de nuestra solución de 0,65.

**Procedimiento**

El aceite esencial de *Clinopodium bolivianum* (Benth.) Kunth. “koa” a diferentes concentraciones (11722,5 µg/mL; 5861,25 µg/mL; 2930,625 µg/mL; 1465,31 µg/mL; 732,656 µg/mL) reaccionó con 1800 µL de DPPH. La reacción duró 30 min y las absorbancias se leyeron a 517 nm.

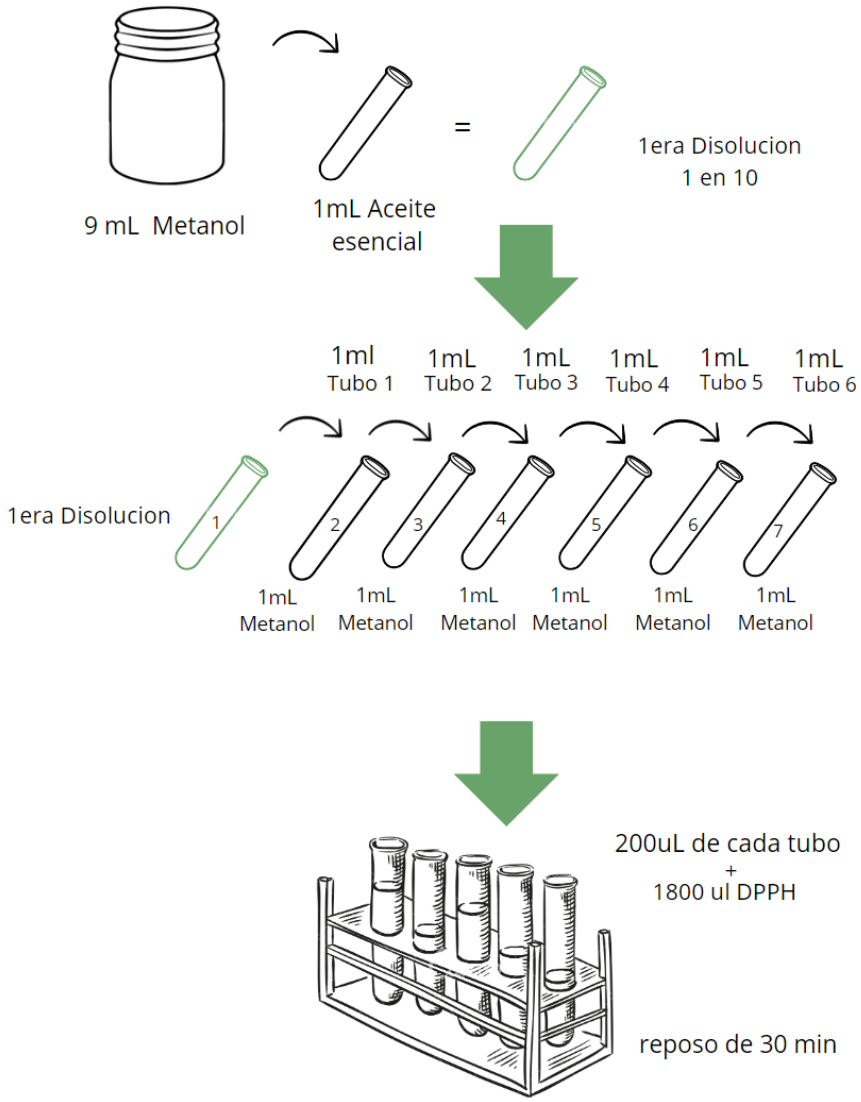



**Figura 7.** Proceso de disolución de la muestra de aceite esencial para el método DPPH. Fuente: El autor.

### IV.4.2.3. Actividad antioxidante total por el radical ABTS

**Preparación de la muestra**

Se realizaron las diluciones del aceite esencial de *Clinopodium* bolivianum (Benth.) Kunth. “koa” (9370 µg/mL; 4685 µg/mL; 2342,5 µg/mL; 1171,25 µg/mL; 585,63 µg/mL; 292,81 µg/mL). Se utilizó el solvente metanol. El estándar Trolox se preparó a concentraciones (12 µg/mL; 24 µg/mL; 48 µg/mL; 72 µg/mL; 96 µg/mL)

**Procedimiento**

Se tomó 40 µL del aceite esencial de *Clinopodium bolivianum* (Benth.) Kunth. "koa" a diferentes concentraciones (9370 µg/mL; 4685 µg/mL; 2342,5 µg/mL; 1171,25 µg/mL; 585,63 µg/mL; 292,81 µg/mL) y reaccionó con 1960 µL de solución de radical ABTS. La reacción, en condiciones de oscuridad con papel aluminio, se deja en reposo durante 7 min y las absorbancias se leyeron a 734 nm, calculándose el porcentaje de inhibición de acuerdo con la siguiente fórmula.

$$\% \text{ Inhibición} = (\text{Abs. ABTS} - \text{Abs. muestra}) / (\text{Abs. ABTS}) \times 100$$

Se determinó el valor TEAC según la siguiente formula:

$$\text{TEAC} = CI_{50} \text{ Trolox µg/mL} / CI_{50} \text{ ABTS muestra mg/mL}$$

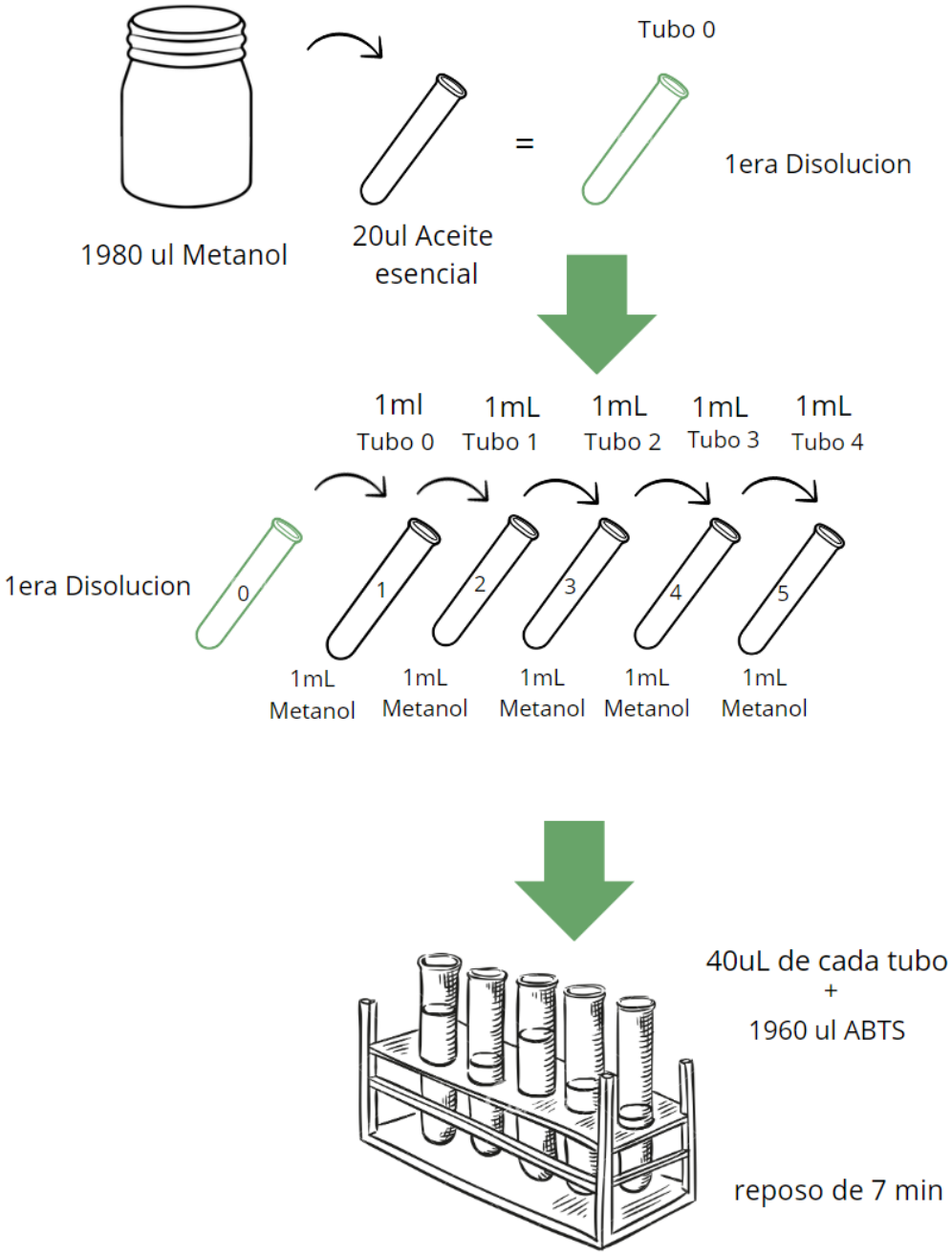



**Figura 8.** Proceso de disolución de la muestra de aceite esencial para el método ABTS. Fuente: El autor.

### IV.4.2.4. Elaboración de las formulaciones cosméticas capilares

Se elaboraron las 3 formulaciones cosméticas capilares[14,15,16]

Champú: con un 0,5 % de concentración dentro de la formula con pH: 6,39

Primero, se obtuvo la materia prima. Luego se procedió con la fabricación del champú en el laboratorio, la cual consiste en 3 fases:

**Fase A:** En el recipiente auxiliar, se pesaron los ingredientes de la fase acuosa y se calentó la fase A a 80°C.

**Fase B:** En el recipiente principal, se pesaron los ingredientes de la fase B y se calentó la fase B a 80°C. Luego, se añadió la fase B a la fase A y se agitó a 350 RPM. Se enfría la fase A/B a 40°C.

**Fase C:** Se agregaron los ingredientes de la fase C en el recipiente principal y se agitó hasta homogenizar. Todo ello a 40°C.

A 25°C se determina apariencia, color, olor, viscosidad y pH.

**Tabla 1.** Lista de materias primas del champú

| | **INCI NAME** |
|---|---|
| **Fase A** | Aqua |
| **Fase A** | Polyquaternium-10 |
| **Fase A** | Glicerina |
| **Fase A** | Propylene glycol |
| **Fase A** | Tetrasodium edta |
| **Fase B** | Sodium c14-16 olefin sulfonate |
| **Fase B** | Cocamidopropyl betaine |
| **Fase B** | Disodium laureth sulfosuccinate 29 |
| **Fase B** | Cocamide mipa |
| **Fase B** | Dimethyl lauramide/myristamide |
| **Fase C** | Citric acid |
| **Fase C** | Metilisotiazolinona y metilcloroisotiazolinona |
| **Fase C** | Essential oil “muña” |

**Crema de peinar; con un 0,45% de concentración dentro de la fórmula** Primero, se obtuvo la materia prima, luego se procedió con la fabricación de la crema de peinar en el laboratorio, la cual consiste en 3 fases:

**Fase A:** En el recipiente auxiliar, se pesaron los ingredientes de la fase acuosa y calentó la fase A a 80°C.

**Fase B:** En el recipiente principal, se pesaron los ingredientes de la fase B y se calentó la fase B a 80°C. Luego, se añadió la fase B a la fase A y se agitó a 350 RPM con el homogeneizador. Enfriar la fase A/B a 40°C.

**Fase C:** Se añadieron los ingredientes de la fase C en el recipiente principal y se agitó hasta homogenizar. Todo ello a 40°C.

A 25°C se determinó la apariencia, color, olor, viscosidad y pH.

**Tabla 2.** Lista de materias primas de la crema de peinar

| | **INCI NAME** |
|---|---|
| **Fase A** | Aqua |
| **Fase A** | Propylene glycol |
| **Fase A** | Tetrasodium edta |
| **Fase A** | Polyquaternium-55 |
| **Fase B** | Sorbitan caprylate (and) propanediol (and) benzoic acid |
| **Fase B** | Cetyl alcohol |
| **Fase B** | Stearyl alcohol |
| **Fase B** | Cetearyl alcohol |
| **Fase B** | Cetrimonium chloride 50% |
| **Fase B** | Butyrospermum parkii (shea) butter |
| **Fase B** | Behentrimonium methosulfate and cetearyl alcohol |
| **Fase B** | Dimethicone (and) dimethiconol |
| **Fase B** | Amodimethicone and cetrimonium chloride and trideceth-12 |

| | |
|---|---|
| **Fase C** | Essential oil “muña” |
| **Fase C** | Citric acid |
| **Fase C** | Metilisotiazolinona y metilcloroisotiazolinona |

Loción de cabello, con un 1% de concentración dentro de la formula

Primero, se obtuvo la materia prima. Luego, se procedió con la fabricación de la base de la loción en el laboratorio, la cual consiste en 3 fases:

**Fase A:** En el recipiente auxiliar, se pesaron los ingredientes de la fase A y se mezcló todo a temperatura ambiente. Se añadió la totalidad de los ingredientes y se agito hasta homogenizar.

A 25°C se determinó la apariencia, color, olor, viscosidad y pH.

**Tabla 3.** Lista de materias primas de la loción de cabello

| | **INCI NAME** |
|---|---|
| **Fase A** | Sodium hydroxide |
| **Fase A** | Essential oil “muña” |
| **Fase A** | Glycerine |
| **Fase A** | Alcohol |
| **Fase A** | Polysorbate 20 |
| **Fase A** | Sorbitan Caprylate (and) Propanediol (and) Benzoic Acid |
| **Fase A** | Aqua |
| **Fase A** | Dmdm hydantoin |

### IV.4.3. Evaluación de la actividad antioxidante de las tres formulaciones cosméticas capilares

#### IV.4.3.1. Actividad antioxidante por el radical DPPH del champú base sin aceite esencial y el champú con aceite esencial de *Clinopodium bolivianum* (Benth.) Kunth. "koa"

**Preparación de la muestra**

Se procedió a realizar el fraccionamiento del champú con el aceite esencial de *Clinopodium bolivianum* (Benth.) Kunth. "koa" y sin el aceite esencial obteniendo el 0,0161g y 0,0241g respectivamente. En cada vaso precipitado se disolvió con 10 mL de metanol cada peso.

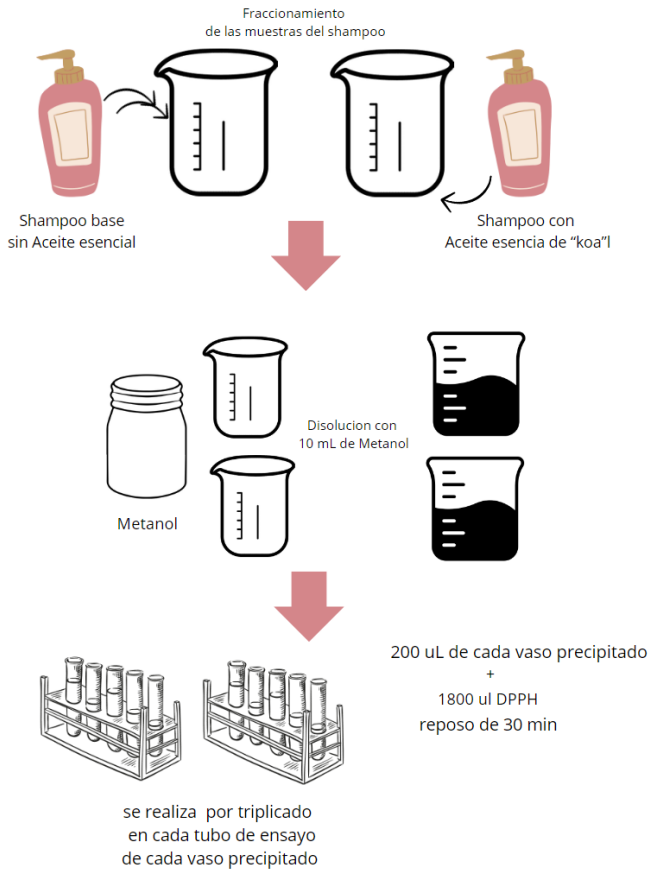



**Figura 9.** Proceso de disolución y preparación del champú con aceite esencial y sin aceite esencial para realizar el método del DPPH. Fuente: El autor.

**Preparación de la solución DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil):**

Se obtuvieron dos soluciones de DPPH, llamadas stock y trabajo, respectivamente (20 mg de DPPH en 50 mL de metanol; 1,7mL de la solución preparada (stock) se lleva a 20 mL como volumen final con metanol). Se determinó la absorbancia final (longitud de 517nm) para que la absorbancia se mantenga dentro de 0,600 – 0,700 nm ± 0,02.

**Procedimiento**

De la disolución del champú con el aceite esencial de *Clinopodium bolivianum* (Benth.) Kunth. "koa" y sin el aceite esencial, se utilizó 200 µL de cada muestra y reaccionó con 1800 µL de solución metanólica de DPPH. La reacción duró 30 min y las absorbancias se leyeron a 517 nm. Cada prueba se realizó por triplicado.

### IV.4.3.2. Actividad antioxidante total por el radical ABTS del champú con el aceite esencial de *Clinopodium* bolivianum (Benth.) Kunth. "koa"

**Preparación de la muestra**

Se procedió a realizar el fraccionamiento del champú con el aceite esencial de *Clinopodium bolivianum* (Benth.) Kunth. "koa" y sin el aceite esencial obteniendo el 0,0259 g y 0,0227g respectivamente. Se colocó en vasos precipitados y cada vaso se disolvió con 5 mL de metanol.

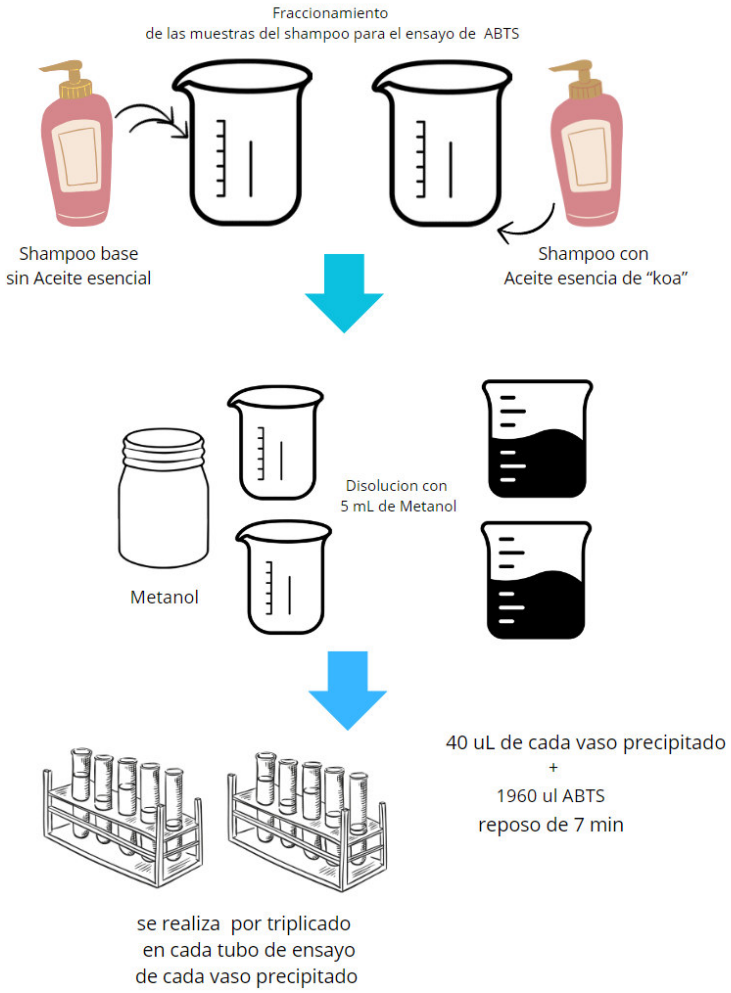



**Figura 10.** Proceso de disolución y preparación del champú con aceite esencial y sin aceite esencial para realizar el método del ABTS. Fuente: El autor.

**Procedimiento**

De la disolución del champú con el aceite esencial de *Clinopodium bolivianum* (Benth.) Kunth. "koa" y sin el aceite esencial, se utilizó 40 µL de cada muestra y reaccionó con 1960 µL de solución metanólica de ABTS (0,758). La reacción duró 7 min y las absorbancias se leyeron a 734 nm. Cada prueba se realizó por triplicado.

### IV.4.3.3. Actividad antioxidante por el radical DPPH de la crema de peinar sin el aceite esencial y con el aceite esencial de *Clinopodium bolivianum* (Benth.) Kunth. "koa"

**Preparación de la muestra**

Se procedió a realizar el fraccionamiento de la crema de peinar con el aceite esencial de *Clinopodium bolivianum* (Benth.) Kunth. "koa" y sin el aceite esencial, obteniendo el 0,0134 g y 0,0203 g, respectivamente. En cada vaso precipitado se disolvió con 10 mL de metanol cada peso.

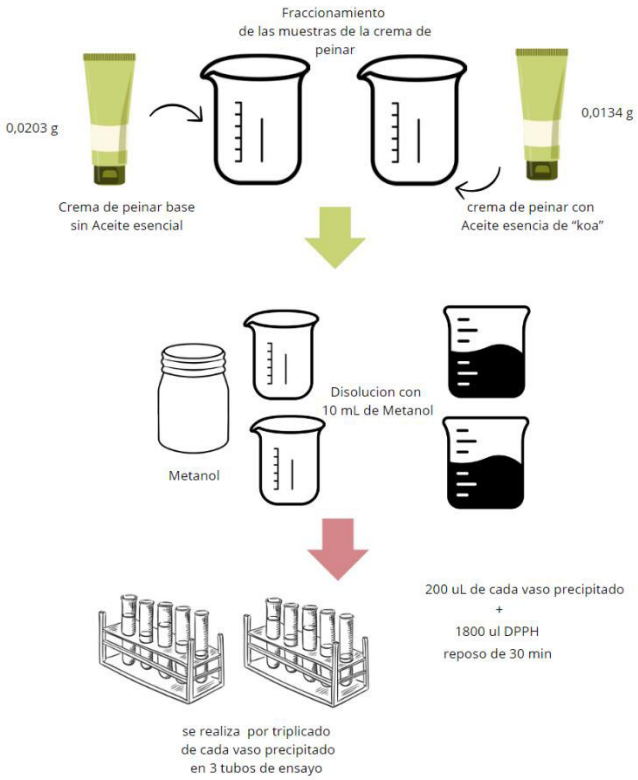



**Figura 11.** Proceso de disolución y preparación de la crema de peinar con aceite esencial y sin aceite esencial para realizar el método del DPPH. Fuente: El autor.

**Preparación de la solución DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil):**

Se obtuvieron dos soluciones de DPPH, llamadas stock y trabajo, respectivamente (20 mg de DPPH en 50 mL de metanol; 1,7mL de la solución preparada (stock) se lleva a 20 mL como volumen final con metanol). Se determinó la absorbancia final (longitud de 517nm) para que la absorbancia se mantenga dentro de 0,600 – 0,700 nm ± 0,02.

**Procedimiento**

De la disolución de la crema de peinar con el aceite esencial de *Clinopodium bolivianum* (Benth.) Kunth. "koa" y sin el aceite esencial, se utilizó 200 µL de cada muestra y se reaccionó con 1800 µL de solución metanólica de DPPH. La reacción duró 30 min y las absorbancias se leyeron a 517 nm. Cada prueba se realizó por triplicado.

#### IV.4.3.4. Actividad antioxidante total por el radical ABTS de la crema de peinar con el aceite esencial de *Clinopodium bolivianum (Benth.) Kunth.* "koa"

**Preparación de la muestra**

Se procedió a realizar el fraccionamiento de la crema de peinar con el aceite esencial de *Clinopodium bolivianum* (Benth.) Kunth. "koa" y sin el aceite esencial obteniendo el 0,0237 y 0,0230 g respectivamente. En cada vaso precipitado se disolvió con 5 mL de metanol cada peso.

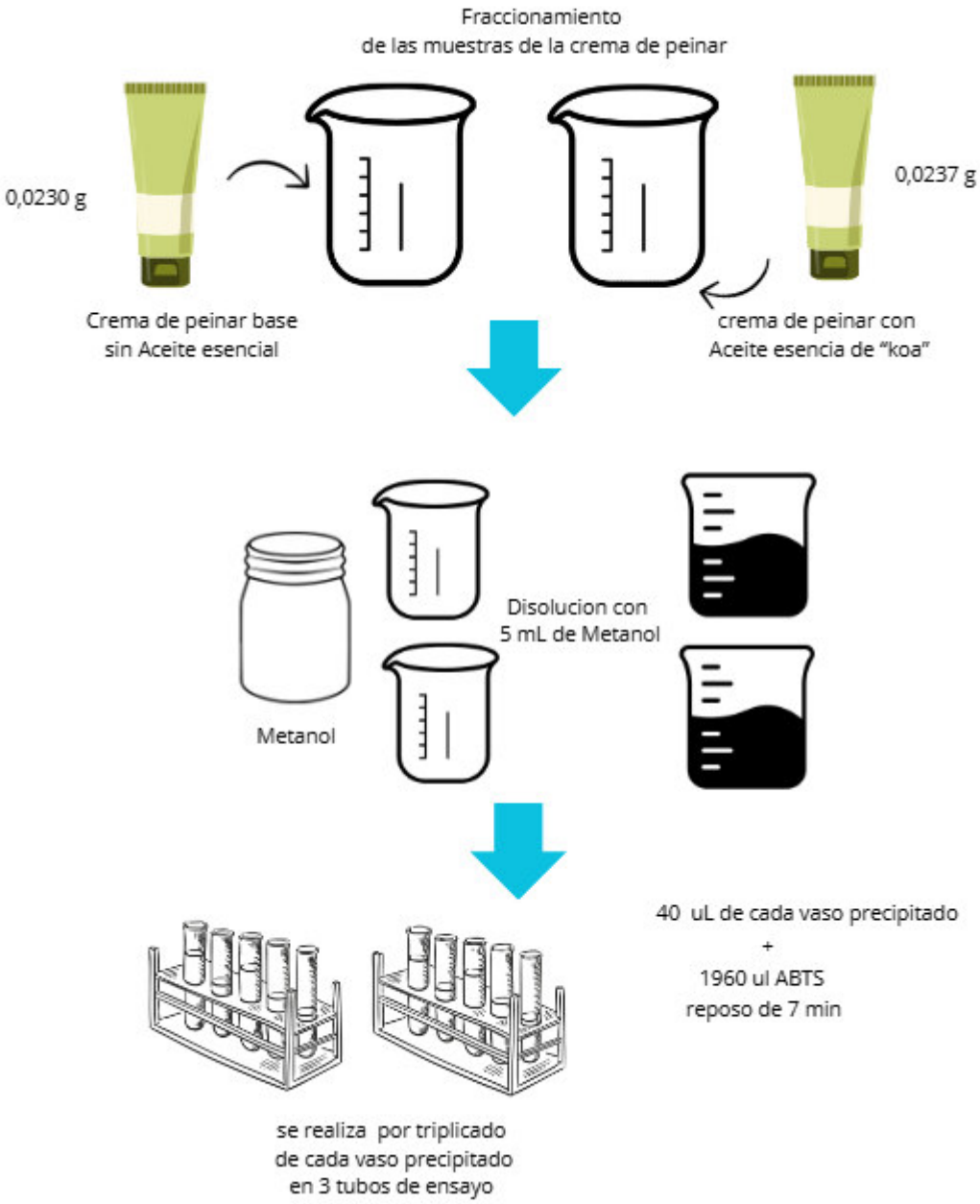



**Figura 12.** Proceso de disolución y preparación de la crema de peinar, con aceite esencial y sin aceite esencial, para realizar el método de ABTS. Fuente: El autor.

**Procedimiento**

De la disolución de la crema de peinar con el aceite esencial de *Clinopodium bolivianum* (Benth.) Kunth. "koa" y sin el aceite esencial, se utilizó 40 µL de cada muestra y se reaccionó con 1960 µL de solución metanólica de ABTS (0,758). La

reacción duró 7 min y las absorbancias se leyeron a 734 nm. Cada prueba se realizó por triplicado.

#### IV.4.3.5. Actividad antioxidante por el radical DPPH de la loción capilar sin el aceite esencial y con aceite esencial de *Clinopodium bolivianum* (Benth.) Kunth. "koa"

**Preparación de la muestra**

Se procedió a realizar el fraccionamiento de la loción capilar con el aceite esencial de *Clinopodium bolivianum* (Benth.) Kunth. "koa" y sin el aceite esencial 1 mL de cada muestra y se colocó en 2 tubos de ensayo. En cada tubo de ensayo se agregó 10 mL de metanol para la disolución.

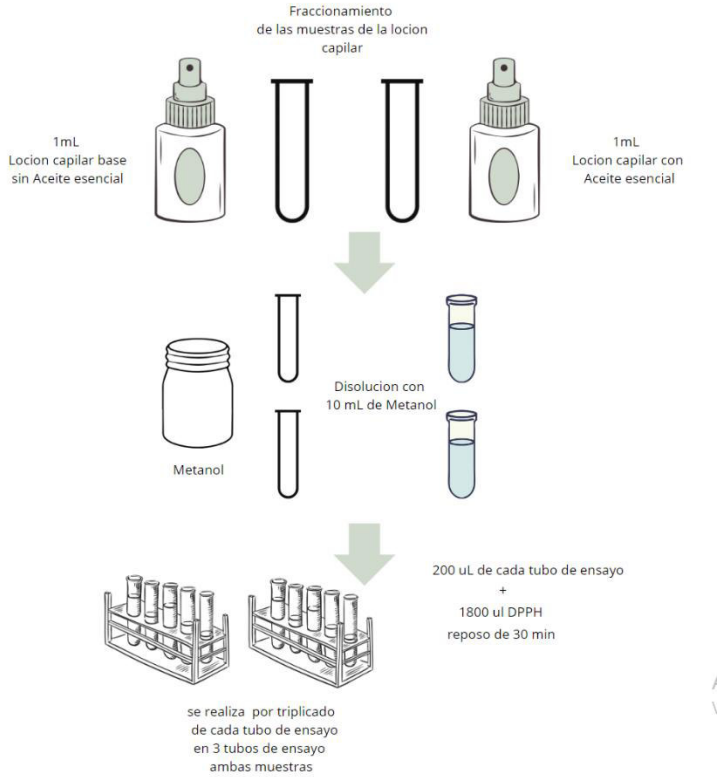



**Figura 13.** Proceso de disolución y preparación de la loción capilar con aceite esencial y sin aceite esencial para realizar el método del DPPH. Fuente: El autor

**Preparación de la solución DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil):**

Se obtuvieron dos soluciones de DPPH, llamadas stock y trabajo, respectivamente (20 mg de DPPH en 50 mL de metanol; 1,7mL de la solución preparada (stock) se lleva a 20 mL como volumen final con metanol). Se determinó la absorbancia final (longitud de 517nm) para que la absorbancia se mantenga dentro de 0,600 – 0,700 nm ± 0,02.

**Procedimiento**

De la disolución de la loción capilar con el aceite esencial de *Clinopodium bolivianum* (Benth.) Kunth. "koa" y sin el aceite esencial, se utilizó 200 µL de cada muestra y reaccionó con 1800 µL de solución metanólica de DPPH. La reacción duró 30 min y las absorbancias se leyeron a 517 nm. Cada prueba se realizó por triplicado.

#### IV.4.3.6. Actividad antioxidante total por el radical ABTS de la loción capilar con aceite esencial de *Clinopodium* bolivianum (Benth.) Kunth. "koa"

**Preparación de la muestra**

Se procedió a realizar el fraccionamiento de la loción capilar con el aceite esencial de *Clinopodium bolivianum* (Benth.) Kunth. "koa" y sin el aceite esencial. Cada muestra de 1 mL fue colocada en 2 tubos de ensayo. En cada tubo de ensayo se agregó 5 mL de metanol para la disolución.

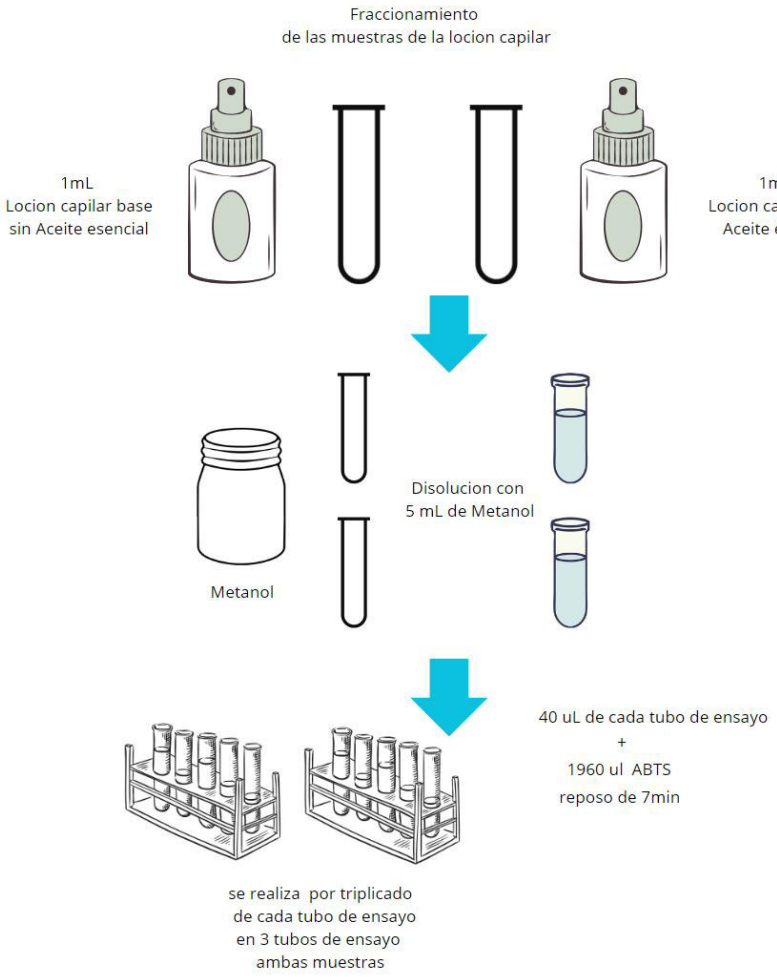



**Figura 14.** Proceso de disolución y preparación de la loción capilar con aceite esencial y sin aceite esencial para realizar el método del ABTS. Fuente: El autor

## Procedimiento

De la disolución de la loción capilar con el aceite esencial de *Clinopodium bolivianum* (Benth.) Kunth. "koa" y sin el aceite esencial, se utilizó 40 µL de cada muestra y reaccionó con 1960 µL de solución metanólica de DPPH. La reacción duró 7 min y las absorbancias se leyeron a 734 nm. Cada prueba se realizó por triplicado.

#### IV.4.3.7. Estabilidad acelerada de las tres formulaciones con el aceite esencial de *Clinopodium bolivianum* (Benth.) Kunth. "koa"

Se analizó la estabilidad física y química de las formulaciones cosméticas capilares, tanto con el aceite esencial de *Clinopodium bolivianum* (Benth.) Kunth. "koa" y sin el aceite esencial. Asimismo, se acondicionó la temperatura en 30ºC, 40ºC y 5ºC, como también se estableció la recolección de datos en los 15 días, 1 mes, 2 meses y 3 meses respectivamente.

Entre los criterios de aceptación para el estudio de estabilidad de esta investigación, la muestra no debe presentar cambios de textura ni separación de fases, como tampoco debe existir una degradación de los ingredientes.

### IV.5. Análisis estadístico

Los valores numéricos de la actividad antioxidante fueron analizados por medias +/- desviación estándar mediante el programa SPSS 23.0.

Se obtuvo los valores de la actividad antioxidante del aceite esencial de *Clinopodium bolivianum* (Benth.) Kunth. por GC/MS, así como las tres formulaciones con el aceite esencial por DPPH y ABTS. El análisis de datos se ejecutó con la desviación estándar y se utilizó Graph Pad Prism v4.0 para presentar los resultados obtenidos.

Se utilizó la capacidad antioxidante equivalente de Trolox (TEAC) con su expresión µmol, el equivalente de Trolox/g de EO y la regresión lineal junto con Microsoft Excel para el cálculo de la concentración inhibidora media ($CI_{50}$).

En el análisis de la actividad antioxidante de las tres formulaciones cosméticas capilares, se realizó por triplicado calculando las desviaciones estándar.

# V. RESULTADOS

## V.1.Ensayos preliminares y fisicoquímicos

### V.1.1. Rendimiento de la extracción del aceite esencial

**Tabla 4.** Rendimiento del aceite esencial de las hojas de *Clinopodium bolivianum* (Benth.) Kunth. "koa"

| **Muestra** | **Cantidad de muestra fresca (Kg)** | **Cantidad de aceite esencial (mL)** | **Rendimiento (%) v/p** |
|---|---|---|---|
| Hojas de *Clinopodium bolivianum* (Benth.) Kunth. "koa" | 1,7 | 4 | 0,235 |

**Tabla 5.** Análisis de refracción del aceite esencial de las hojas de *Clinopodium bolivianum* (Benth.) Kunth. "koa"

| **Índice de refracción** | **Promedio y DS** |
|---|---|
| 1,534<br>1,535<br>1,535 | 1,534 ± 0,0047 |

**Densidad relativa**

**Tabla 6.** Densidad relativa del aceite esencial de las hojas de *Clinopodium bolivianum* (Benth.) Kunth. "koa"

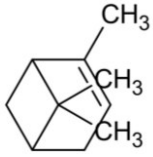
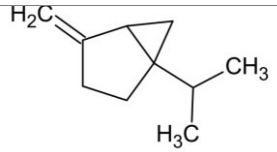
| Densidad Relativa | Promedio y DS |
|---|---|
| 0,9378 g/mL<br>0,9376 g/mL<br>0,9379 g/mL | 0,9377 g/mL ± 0,0001 |

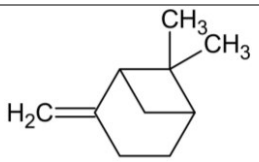
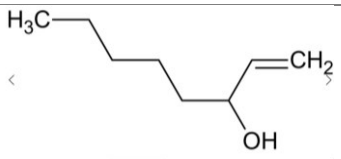
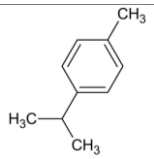
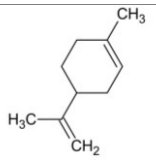
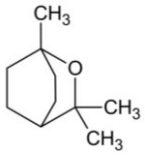
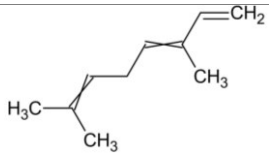
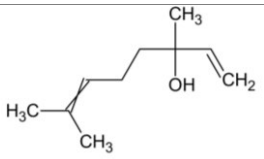
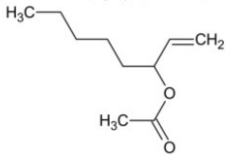
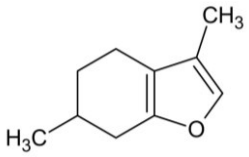
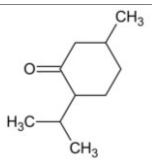
Densidad relativa = (P.MP – P) / (P. agua – P) x Densidad del agua

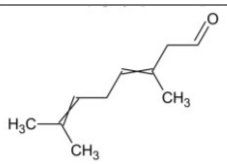
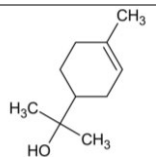
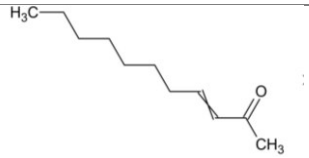
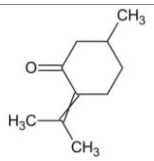
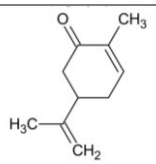
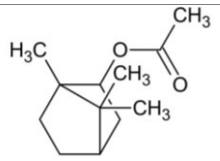
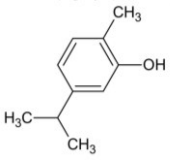
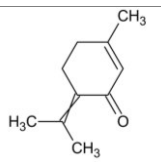
## V.2.Procedimientos analíticos- experimentales

### V.2.1. Constituyentes químicos del aceite esencial

**Tabla 7.** Análisis por cromatografía de gases acoplado a masas del *Clinopodium bolivianum* (Benth.) Kunth. “koa”

| N° | Compuesto | RT | IR CAL | IRC LIT | Fórmula molecular masa molecular | Estructura química | % |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | α - Pineno | 8,64 | 936 | 932 | $C_{10}H_{16}$/ 136,23 g/mol |  | 0,63 |
| 2 | Sabineno | 10,512 | 977 | 969 | $C_{10}H_{16}$/ 136,23 g/mol |  | 1,09 |

| | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 3 | β – Pineno | 10,729 | 983 | 974 | $C_{10}H_{16}$/ 136,23 g/mol |  | 0,62 |
| 4 | 1- octen-3-ol | 11,175 | 989 | 979 | $C_8H_{16}O$/ 128,21 g/mol |  | 0,50 |
| 5 | p-cimoneno | 13,005 | 1022 | 1020 | $C_{10}H_{14}$/ 134,22 g/mol |  | 1,23 |
| 6 | Limoneno | 13,127 | 1025 | 1024 | $C_{10}H_{16}$/ 136,23 g/mol |  | 0,36 |
| 7 | 1,8 Cineol | 13,348 | 1030 | 1026 | $C_{10}H_{18}O$/ 154,25 g/mol |  | 5,50 |
| 8 | E- β – Ocimeno | 13,947 | 1042 | 1044 | $C_{10}H_{16}$/ 136,23 g/mol |  | 0,28 |
| 9 | Linalol | 16,773 | 1102 | 1095 | $C_{10}H_{18}O$/ 154,25 g/mol |  | 1,37 |
| 10 | Acetato de 1-octen-3ilo | 16,981 | 1106 | 1110 | $C_{10}H_{18}O_2$/ 170,25 g/mol |  | 2,53 |
| 11 | Mentofurano | 19,800 | 1165 | 1159 | $C_{10}H_{14}O$/ 150,22 g/mol |  | 0,58 |
| 12 | (-)- Mentona | 19,991 | 1169 | 1158 | $C_{10}H_{18}O$/ 154,25 g/mol |  | 1,38 |

| | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 13 | Isocitral | 20,613 | 1182 | 1177 | $C_{10}H_{16}O$/ 152,23 g/mol |  | 4,98 |
| 14 | α-Terpineol | 21,565 | 1202 | 1186 | $C_{10}H_{18}O$/ 154,25 g/mol |  | 1,12 |
| 15 | 3-Decen-2-uno | 22,562 | 1233 | 1234 | $C_{10}H_{18}O$/ 154,25 g/mol |  | 0,33 |
| 16 | Pulegona | 23,698 | 1248 | 1233 | $C_{10}H_{16}O$/ 152,23 g/mol |  | 63,82 |
| 17 | Carvona | 23,943 | 1243 | 1239 | $C_{10}H_{14}O$/ 150,22 g/mol |  | 0,53 |
| 18 | Acetato de isobornilo | 25,405 | 1285 | 1283 | $C_{12}H_{20}O_2$/ 196,29 g/mol |  | 0,69 |
| 19 | Acetato de sabinilo <trans-> (IPP vs. Acetyl) | 25,640 | 1299 | 1289 | - | - | 0,14 |
| 20 | Carvacrol | 26,459 | 1308 | 1298 | $C_{10}H_{14}O$/ 150,22 g/mol |  | 5,52 |
| 21 | NI | 26,810 | 1316 | - | - | - | 0,63 |
| 22 | Piperitenona | 28,323 | 1351 | 1340 | $C_{10}H_{14}O$/ 150,22 g/mol |  | 0,26 |

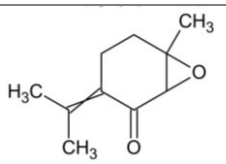
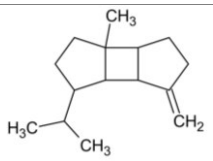
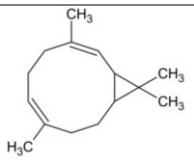
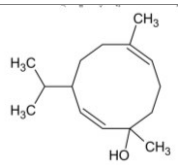
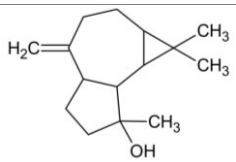
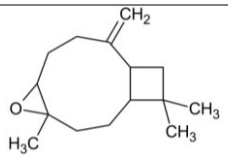
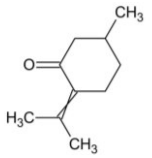
| | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 23 | Oxido de piperitenona | 29,279 | 1372 | 1366 | $C_{10}H_{14}O_2$/ 166,22 g/mol |  | 0,35 |
| 24 | β-Bourboneno | 29,592 | 1389 | 1387 | $C_{15}H_{24}$/ 204,35 g/mol |  | 0,29 |
| 25 | NI | 29,871 | 1396 | - | - | - | 0,03 |
| 26 | Caryophyllene <€-> | 31,194 | 1417 | 1417 | - | - | 1,54 |
| 27 | γ-Muuroleno | 33,850 | 1480 | 1478 | - | - | 1,14 |
| 28 | Biciclogermacreno | 34,462 | 1504 | 1500 | $C_{15}H_{24}$/ 204,35 g/mol |  | 0,82 |
| 29 | δ-Amorfeno | 35,363 | 1517 | 1511 | | | 0,33 |
| 30 | NI | 35,687 | 1525 | - | - | - | 0,02 |
| 31 | Germacreno D-4-ol | 37,907 | 1581 | 1574 | $C_{15}H_{26}O$/ 222,37 g/mol |  | 0,35 |
| 32 | Espatulanol | 38,023 | 1584 | 1577 | $C_{15}H_{24}O$/ 220,35 g/mol |  | 0,79 |
| 33 | Óxido de Cariofileno | 38,163 | 1588 | 1582 | $C_{15}H_{24}O$ / 220,35 g/mol |  | 0,26 |

**Tabla 8.** Estructura mayoritaria del aceite esencial de *Clinopodium bolivianum* (Benth.) Kunth. “koa”

| | **Estructura principal** |
|---|---|
| **Aceite esencial de *Clinopodium bolivianum* (Benth.) Kunth. “koa”** | Pulegona<br>$C_{10}H_{16}O$/152,23 g/mol<br> |

### V.2.2. Actividad antioxidante total por el radical DPPH

**Tabla 9.** Resultados de la actividad antioxidante del aceite esencial de *Clinopodium bolivianum* (Benth.) Kunth. “koa” por el método del radical DPPH

| **Concentración del aceite esencial (µg/mL)** | **Valor de la absorbancia promedio** | **Media $CI_{50}$ (µg/mL)** |
|---|---|---|
| 1172,25 | 0,325 | |
| 586,125 | 0,449 | |
| 293,062 | 0,500 | 1344,0 ± 12,23 |
| 146,531 | 0,528 | |
| 73,265 | 0,566 | |
| 0 | 0,650 | |

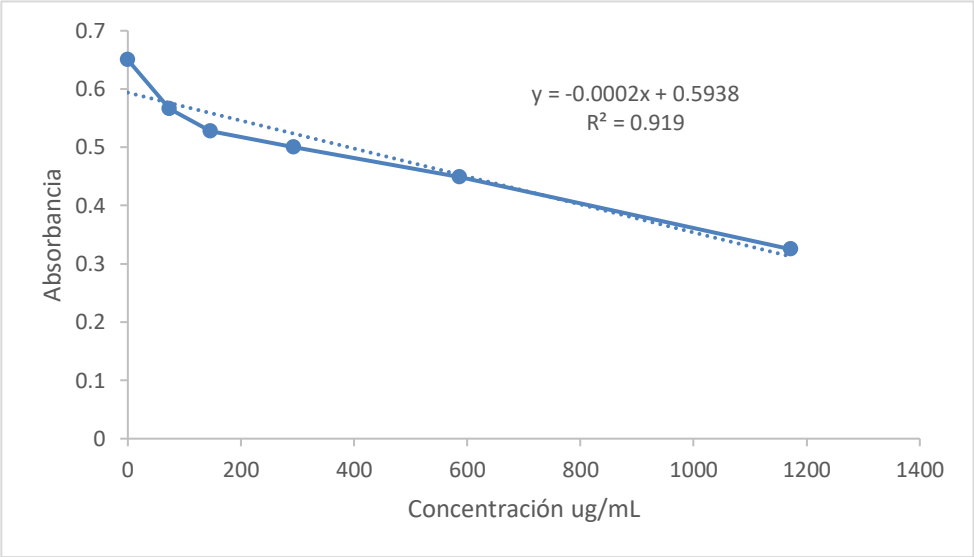



**Figura 155.** Curva de captación del radical DPPH. Fuente: El autor

**Tabla 10.** Actividad antioxidante del estándar Trolox por el radical DPPH

| **Concentración Trolox (µg/mL)** | **Absorbancia promedio 517 nm** | **Media $CI_{50}$ (µg/mL)** |
|---|---|---|
| 0 | 0,650 | |
| 1,2 | 0,518 | |
| 2,4 | 0,461 | 3,967 ± 0,05 |
| 4,8 | 0,274 | |
| 7,2 | 0,058 | |

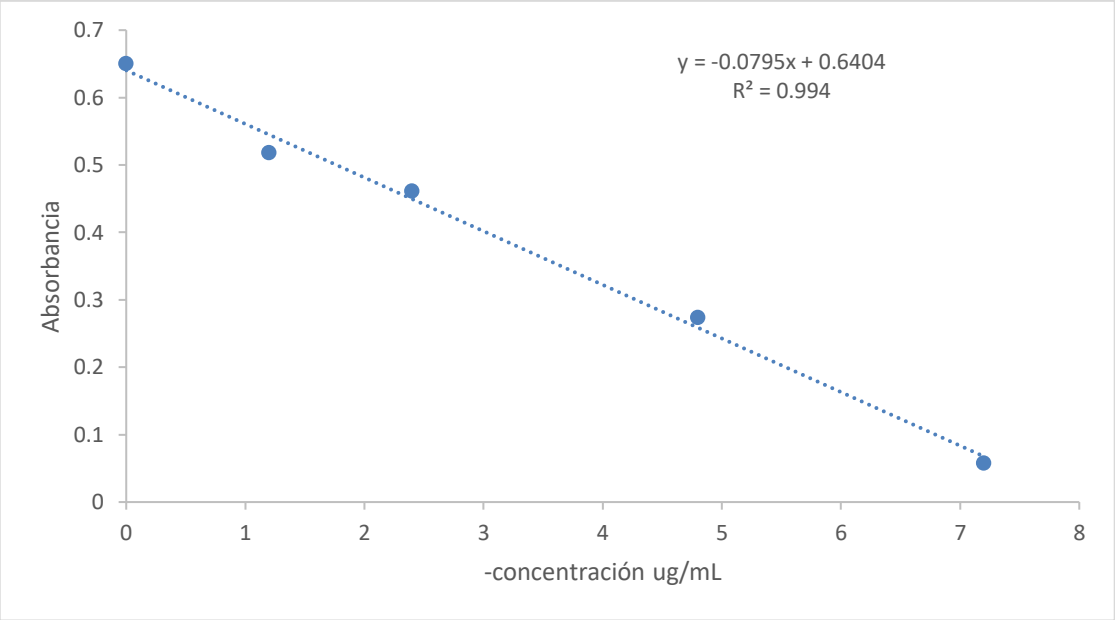



**Figura 16.** Curva de captación del radical DPPH por Trolox. Fuente: El autor

### V.2.3. Actividad antioxidante con el radical ABTS

**Tabla 11.** Actividad antioxidante del aceite esencial de *Clinopodium bolivianum* (Benth.) Kunth. "koa" por el método ABTS

| Concentración del aceite esencial (µg/mL) | Absorbancia promedio 734 nm | Media $CI_{50}$ (µg/mL) |
|---|---|---|
| **46,85** | 0,291 | |
| **23,425** | 0,528 | |
| **11,712** | 0,586 | 40,125 ± 1,25 |
| **5,856** | 0,659 | |
| **0** | 0,717 | |

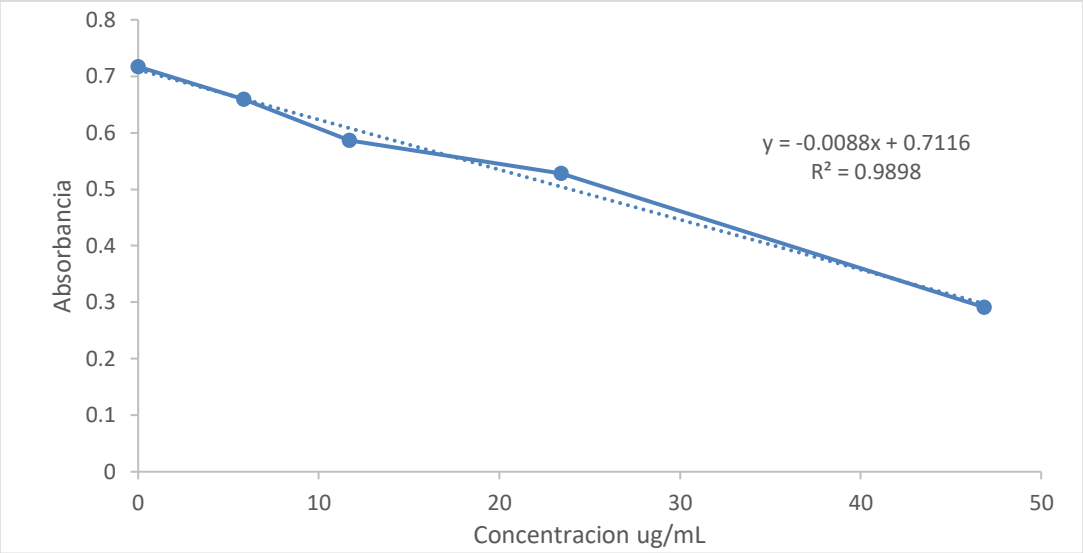



**Figura 17.** Curva de captación del radical ABTS. Fuente: El autor

**Tabla 12.** Actividad antioxidante del estándar Trolox por el método ABTS

| **Concentración Trolox (µg/mL)** | **Absorbancia promedio a 734 nm** | **Media $CI_{50}$ (µg/mL)** |
|---|---|---|
| 0 | 0,721 | |
| 0,24 | 0,668 | |
| 0,48 | 0,630 | |
| 0,96 | 0,535 | 1,728 ± 0,002 |
| 1,44 | 0,412 | |
| 1,92 | 0,320 | |

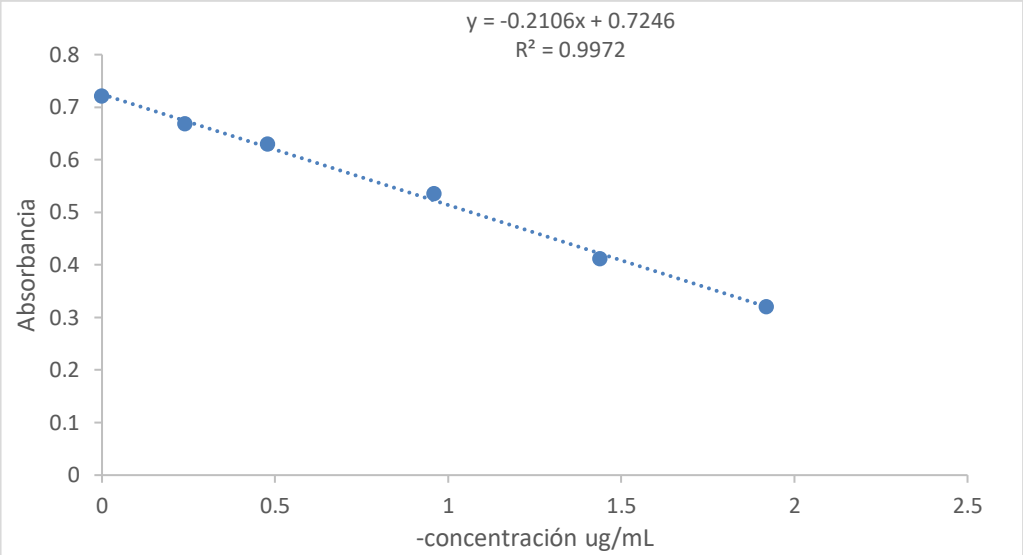



**Figura 18.** Curva de captación del radical ABTS por Trolox. Fuente: El autor

### V.2.4. Características de la elaboración de las formulaciones cosméticas capilares

**Tabla 13.** Características organolépticas de las tres formulaciones cosméticas capilares con aceite esencial de *Clinopodium bolivianum* (Benth.) Kunth. "koa"

| | **Champú** | **Crema de peinar** | **Loción capilar** |
|---|---|---|---|
| **Aspecto** | Líquido viscoso transparente | Emulsión viscosa | Transparente |
| **Color** | Amarillo claro | Ligeramente amarillento | Ligeramente amarillento |
| **Olor** | Herbal muña | Herbal-muña | Herbal-muña |

**Tabla 14.** Cálculo del pH de las tres formulaciones con el aceite esencial de *Clinopodium bolivianum* (Benth.) Kunth. "koa"

| | **Champú** | **Crema de peinar** | **Loción capilar** |
|---|---|---|---|
| **pH** | 6,39 | 4,00 | 5,10 |
| **Rango** | 5,5 – 7,5 | 3,0 – 5,0 | 4,0 – 6,0 |

**Tabla 15.** Cálculo de la viscosidad de las tres formulaciones con el aceite esencial de *Clinopodium bolivianum* (Benth.) Kunth. "koa"

| | **Champú** | **Crema de peinar** | **Locion capilar** |
|---|---|---|---|
| **Viscosidad (25ºC) x1min LVDV** | 12600 | 234000 | - |
| **Rango** | 4000-20000 | 100 000-250 000 | - |

### V.2.5. Estudios de estabilidad acelerada de las tres formulaciones con el aceite esencial de *Clinopodium bolivianum* (Benth.) Kunth. "koa"

**Tabla 16.** Determinación del estudio de estabilidad acelerada del champú con el aceite esencial de *Clinopodium bolivianum* (Benth.) Kunth. "koa"

| | **Mes:** | **JULIO** | **JULIO** | **AGOSTO** | **SETIEMBRE** | **OCTUBRE** |
|---|---|---|---|---|---|---|
| **Organoléptico** | Fecha: temperatura | 5/07/2023 inicio | 20/07/2023 15 días | 4/08/2023 1er mes | 9/09/2023 2do mes | 9/10/2023 3er mes |
| **Aspecto (25ºC)** | 30ºC | Líquido transparente viscoso | Líquido transparente viscoso | ID | ID | ID |
| | 40ºC | | Líquido transparente viscoso | ID | ID | ID |
| **Color (25ºC)** | 30ºC | Amarillo claro | Amarillo claro | Amarillo claro | Amarillo claro | Amarillo claro |
| | 40ºC | | Amarillo claro | Ligeramente más amarillo | Amarillento | Amarillento |
| **Olor (25ºC)** | 30ºC | Herbal muña (+++) | Herbal muña (+++) | Herbal muña (+++) | Herbal muña (++) | Herbal muña (+) |
| | 40ºC | | Herbal muña (+++) | Herbal muña (+++) | Herbal muña (++) | Herbal muña (+) |
| **Fisicoquímico** | | | | | | |
| **pH (25ºC)** | 30ºC | 6,39 | 6,46 | 6,29 | 6,29 | 6,29 |
| | 40ºC | | 6,46 | 6,20 | 6,18 | 6,12 |
| **Viscosidad (25ºC) x1min** | 30ºC | 12600cP | 14217cP | 13940cP | 16456cP | 18336 cP |
| | 40ºC | | 14100cP | 13740cP | 19896cP | EEE |

ID: Idénticamente.

**Tabla 16.** Determinación del estudio de estabilidad acelerada de la crema de peinar con el aceite esencial de *Clinopodium bolivianum* (Benth.) Kunth. "koa"

| | **Mes:** | **JULIO** | **JULIO** | **AGOSTO** | **SETIEMBRE** | **OCTUBRE** |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | Fecha: | 5/07/2023 | 20/07/2023 | 4/08/2023 | 9/09/2023 | 9/10/2023 |
| **Organoléptico** | temperatura | inicio | 15 días | 1er mes | 2do mes | 3er mes |
| **Aspecto (25ºC)** | 30ºC | Emulsión viscosa | Emulsión viscosa | Emulsión viscosa | Emulsión viscosa | Emulsión viscosa |
| | 40ºC | | Emulsión viscosa | Emulsión viscosa | Emulsión viscosa | Emulsión viscosa |
| **Color (25ºC)** | 30ºC | Ligeramente amarillento | Ligeramente amarillento | Ligeramente amarillento | Ligeramente amarillento | Amarillento |
| | 40ºC | | Ligeramente amarillento | Ligeramente amarillento | Ligeramente amarillento | Amarillento |
| **Olor (25ºC)** | 30ºC | Herbal muña | Herbal muña | Herbal muña | Herbal muña | Herbal muña |
| | | (+++) | (+++) | (+++) | (++) | (+) |
| | 40ºC | | Herbal muña | Herbal muña | Herbal muña | Herbal muña |
| | | | (+++) | (+++) | (++) | (+) |
| **Fisicoquímico** | | | | | | |
| **pH (25ºC)** | 30ºC | 4,06 | 4,11 | 4,1 | 4,14 | 4,23 |
| | 40ºC | | 4,09 | 4,18 | 4,16 | 4,2 |
| | 30ºC | 234000cP | 277200cP | 13940cP | 239700cP | 412000 cP |

| | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| **Viscosidad (25ºC) x1min** | 40ºC | 250600cP | 13740cP | 253800cP | 395000cP |

**Tabla 17.** Determinación del estudio de estabilidad acelerada de la loción capilar con el aceite esencial de *Clinopodium bolivianum* (Benth.) Kunth. "koa"

| | **Mes:** | **JULIO** | **JULIO** | **AGOSTO** | **SETIEMBRE** | **OCTUBRE** |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | Fecha: | 5/07/2023 | 20/07/2023 | 4/08/2023 | 9/09/2023 | 9/10/2023 |
| **Organoléptico** | temperatura | inicio | 15 días | 1er mes | 2do mes | 3er mes |
| **Aspecto (25ºC)** | 30ºC | Líquido transparente sin presencia de partículas | Líquido transparente | ID | ID | ID |
| | 40ºC | | Líquido transparente | ID | ID | ID |
| **Color (25ºC)** | 30ºC | Ligeramente amarillento | Ligeramente amarillento | Ligeramente amarillento | Ligeramente amarillento | Ligeramente amarillento |
| | 40ºC | | Ligeramente amarillento | Ligeramente amarillento | Ligeramente amarillento | Amarillento |
| **Olor (25ºC)** | 30ºC | Herbal intenso muña | Herbal muña | Herbal muña | Herbal muña | Herbal muña |
| | | (+++) | (+++) | (+++) | (++) | (++) |
| | 40ºC | | Herbal muña | Herbal muña | Herbal muña | Herbal muña |
| | | | (+++) | (+++) | (++) | (++) |
| **Fisicoquímico** | | | | | | |
| **pH (25ºC)** | 30ºC | 5,1 | 5,21 | 5,06 | 4,91 | 4,96 |
| | 40ºC | | 5,22 | 5,02 | 4,97 | 4,92 |
| **Viscosidad (25ºC) x1min** | 30ºC | - | - | - | - | - |
| | 40ºC | | - | - | - | - |

ID: Idénticamente

### V.2.6. Evaluación de la actividad antioxidante de las tres formulaciones cosméticas con aceite esencial de *Clinopodium bolivianum* (Benth.) *Kunth.* "koa"

**Tabla 19.** Resultados de la actividad antioxidante de las formulaciones de *Clinopodium bolivianum* (Benth.) Kunth. "koa" por los métodos DPPH y ABTS

| | **TEAC-DPPH µmol/g Promedio +/- DE** | **TEAC-ABTS µmol/g Promedio +/- DE** |
|---|---|---|
| **Formulación de champú con aceite esencial** | 0,115 ± 0,0181 | 0,025 ± 0,008 |
| **Formulación de champú base** | 0,046 ± 0,015 | 0,028 ± 0,009 |
| **Formulación de loción con aceite esencial** | 5,537 ± 0,216 | 25,34 ± 1,460 |
| **Formulación de loción base** | 1,826 ± 0,142 | 0,888 ± 0,752 |
| **Formulación de crema de peinar con aceite esencial** | 0,062 ± 0,051 | 0,021 ± 0,009 |
| **Formulación de crema de peinar base** | 0,026 ± 0,010 | 0,025 ± 0,021 |

DE: Desviación estándar.

# VI. DISCUSIÓN

*Clinopodium bolivianum* (Benth.) Kunth. "koa" es una especie que se ubica en el Perú. El aceite esencial se obtuvo de las hojas de esta especie vegetal procedente de la provincia de Yunguyo, distrito de Ollaraya, departamento de Puno. La muestra problema se obtuvo por el método arrastre de vapor de agua, siendo el más utilizado para la obtención de aceites esenciales por su bajo costo.

Se realizó la identificación de componentes químicos del aceite esencial de *Clinopodium bolivianum* (Benth.) Kunth. "koa" y se obtuvieron 33 compuestos químicos que se muestran en la tabla 7. Los principales metabolitos y con un mayor porcentaje fueron pulegona (63,82%), carvacrol (5,52%), eucaliptol (1,8-cineol) (5,5%), isocitral (4,98%), los cuales representan 79,82% del total de contenido. En comparación con un estudio realizado por Hospino Cosme del aceite esencial de la especie *Clinopodium bolivianum* (Benth.) Kunth, se reportaron 107 componentes volátiles en estado seco de la especie vegetal, mencionando que los más altos porcentajes fueron ciclohexanona, 5-metil-2-(1-metiletilo)-, (2R-cis)- (28,65%), linalol (15,80 %) y pulegona (15,32%)[20].

Huanqui Franco[24], en su estudio, determinó la composición química del *Clinopodium bolivianum* (Benth.) Kuntze “Cjuñuca” mediante GC/SM, donde evidenció la presencia de 38 componentes químicos del aceite esencial y obtuvieron pulegona con 38,69%; isopulegona con 11,94%; eucaliptol con 10,63% e isomentona con 6,65%. Pulegona se mostró como el componente mayoritario.

Zulñiga Olaguibel[21] evaluó la composición química de los aceites esenciales de la especie *Clinopodium bolivianum* (Benth.) Kunth, siendo los de mayor porcentaje los siguientes: isomentona (24,08%), mentona (16,3%), timol (15,82%), p-cimeno (10,7%), terpineno (7,21%) y la pulegona (6,55%).

Solis Tito[22] determinó 17 componentes de la especie vegetal y dentro de los componentes mayoritarios obtuvo: isomentona (24,08%), mentona (16,13 %), timol (15,82%), p-cimeno (10,17%), γ – terpineno (6,65%), pulegona (6,55%) y eucaliptol (2,87 %).

Se determinó la actividad antioxidante del aceite esencial de las hojas de *Clinopodium bolivianum* (Benth.) Kunth. "koa" por el método DPPH, obteniendo un $CI_{50}$ de 1344,00 µg/mL y del estándar Trolox, con un $CI_{50}$ de 3,9672 µg/mL. En el método ABTS, se obtuvo un $CI_{50}$ de 40,125 µg/mL y del estándar Trolox, con un $CI_{50}$ de 1,728 µg/mL.

En el estudio de Huanqui Franco[24], titulado “Determinación de la actividad antioxidante y antibacteriana del aceite esencial de *Clinopodium bolivianum* (Benth.) Kuntze “Cjuñuca” frente a la cepa *de Cutibacterium acnes* ATCC 6919”. determinaron la actividad antioxidante *in vitro* por el radical DPPH. El valor porcentual de captación fue de 92,738 % a una concentración de 100 µg/mL, utilizando al ácido ascórbico como patrón y teniendo un valor porcentual de captación de DPPH 95,31 %. Se demostró la presencia de la actividad antioxidante por pasar el 90 %.

En la investigación “Composición química, actividad bioautográfica antimicrobiana y antioxidante del aceite esencial de hojas de la planta amazónica *Clinopodium brownei* (Sw.)”, Noriega, Calderón, Ojeda y Paredes [25], determinaron la actividad antioxidante por el ensayo de captación de DPPH, en la cual el $CI_{50}$ fue 1,77 mg/mL y el $CI_{50}$ por el método ABTS fue 0,06 mg/mL. Esta especie vegetal fue proveniente del Ecuador.

Se puede observar la diferencia entre los resultados obtenidos por diferentes métodos antioxidantes DPPH y ABTS. Los resultados de esta investigación también muestran grandes diferencias entre los métodos utilizados teniendo en cuenta la diferencia de la especie vegetal.

Una investigación, realizada por Tepe Bektas et al.[26], mencionaron la especie vegetal *Clinopodium vulgare* L. y cómo su evaluación de la capacidad antioxidante, en el estudio “Composición química y actividad antioxidante del aceite esencial de *Clinopodium vulgare* L.”, resultó en el $CI_{50}$ 63,0 ± 2,71 µg/mL.

En el estudio de “Actividad antioxidante del aceite esencial de *Clinopodium pulchellum* (Kunt) Govaerts “panizara”, se determinó la actividad antioxidante por el

método de DPPH y ABTS, obteniendo como resultado 2288,31 µg/mL y, para el Trolox, 3,8 µg/mL. Para el ABTS 30,87 µg/mL y para el Trolox, 17,04 µg/mL. Asegurando la presencia de la actividad antioxidante[13].

Se evaluó la estabilidad acelerada de las tres formulaciones durante los meses de julio, agosto, setiembre y octubre del 2023, evaluando los cambios organolépticos y fisicoquímicos de cada formulación con el aceite esencial de *Clinopodium bolivianum* (Benth.) Kunth. Se puede indicar que nuestras formulaciones son estables en el tiempo evaluado; sin embargo, a una temperatura extrema de 40 ºC, se presentó un ligero aumento en el color y en la viscosidad del champú, como también en la crema de peinar. En el proceso de la fabricación del champú, también se observó que el aceite esencial actuó rápido, aumentando la viscosidad. Esto se tomó en cuenta al agregar la cantidad del aceite esencial de *Clinopodium bolivianum* (Benth.) Kunt.

Los estudios de estabilidad de un producto cosmético son de suma importancia dado que su objetivo es evaluar la capacidad de un producto para conservar sus propiedades químicas, físicas y microbiológicas durante un largo tiempo. En el estudio “Propuesta de guía para el desarrollo de estudios de estabilidad de productos cosméticos en el Perú” se menciona que el Perú no cuenta con una directiva que establezca los requisitos mínimos para la realización de estudios de estabilidad de los productos cosméticos, por lo que el estudio de estabilidad no es requisito para el registro sanitario. El resultado de la situación conlleva a la exposición de la población peruana que adquiere estos productos hacia los efectos que pueden causar los ingredientes químicos sin regular[27].

El estudio de estabilidad aplicado en la presente investigación, se tomó como base la guía internacional que titula “Recomendaciones para el desarrollo de estudios de estabilidad de productos cosméticos”, donde se indican las condiciones, los factores que influyen, los tipos de estudios, las posibles alteraciones, además de los parámetros apropiados y pertinentes de los estudios de estabilidad de acuerdo al tipo de producto seleccionado. Este estudio es necesario para diseñar y fabricar los productos cosméticos con seguridad, de manera que duren el tiempo estimado,

como para el almacenamiento del producto. Si un producto no presenta observaciones en el estudio de estabilidad es apto para su comercialización y uso[10].

Las formulaciones realizadas en esta investigación no presentaron observaciones y se encuentran dentro de los rangos establecidos, es decir, durante los 4 meses de estudio de estabilidad acelerada. Por ello se determina que son aptos para su utilización.

En la revisión de Turek C. y Stintzing F.[28], "Estabilidad de los aceites esenciales: una revisión" se mencionan los factores que influyen en la estabilidad de los aceites esenciales, como la temperatura, luz visible, luz ultravioleta, el oxígeno y las impurezas presentes, además de los posibles cambios que puedan desarrollarse en el aceite esencial. De todos los factores, se deduce que también pueden provocar una pérdida de calidad y de propiedades farmacológicas.

En la presente investigación, durante la fabricación del champú, se observó que el aceite esencial de *Clinopodium bolivianum* (Benth.) Kunt afectó la formulación al aumentar la viscosidad de manera significativa. En el estudio de Shkreli R. et al.[29], titulado "Formulación y evaluación de la estabilidad de una emulsión cosmética cargada con diferentes concentraciones de conservantes sintéticos y naturales" evaluaron el estudio de estabilidad de la emulsión cosmética de un conservante sintético en comparación del aceite esencial de limoncillo, que es un conservante natural. Ambas emulsiones fueron estables en olor, apariencia, color y homogeneidad; Sin embargo, se mencionó que la viscosidad fue afectada por la concentración del aceite esencial que, a mayor concentración menor viscosidad. Adicionalmente se resaltó que la adición del aceite esencial a la formulación no afectó el valor de pH, pero sí tuvo efecto en su viscosidad. En comparación con la presente investigación, Se concluyó que esto se debe a la diferencia de ingredientes utilizados en cada una de las formulaciones.

## VII. CONCLUSIONES

1. Se determinó la actividad antioxidante del aceite esencial de *Clinopodium bolivianum* (Benth.) Kunth. el cual influyó en el desarrollo de las formulaciones de los tres productos cosméticos especialmente en la formulación de la loción capilar al permanecer una elevada actividad antioxidante.
2. Se identificó los componentes químicos del aceite esencial de *Clinopodium bolivianum* (Benth.) Kunth. por GC/MS y los de mayor presencia fueron pulegona, carvacrol, y eucaliptol en el total del contenido.
3. Se determinó la actividad antioxidante del aceite esencial de *Clinopodium bolivianum* (Benth.) Kunth. mediante los métodos DPPH y ABTS, obteniendo un $CI_{50}$ 1344,00 µg/mL y un $CI_{50}$ de 40,125 µg/mL, respectivamente.
4. Se formuló tres productos cosméticos capilares con el aceite esencial de las hojas de *Clinopodium bolivianum* (Benth.) Kunth: champú, crema de peinar y loción capilar; a una concentración de 0,5%, 0,45%, 1%, respectivamente, siendo compatible en las tres formulaciones.
5. Se evaluó la actividad antioxidante de las tres formulaciones con el aceite esencial de *Clinopodium bolivianum* (Benth.) Kunth. mediante los métodos de DPPH y ABTS, siendo la formulación de la loción capilar con el aceite esencial presenta mayor actividad antioxidante en comparación con las otras dos formulaciones.
6. Se evaluó la estabilidad acelerada de las tres formulaciones con el aceite esencial de *Clinopodium bolivianum* (Benth.) Kunth. en el tiempo de julio, agosto, setiembre y octubre del 2023. Se puede indicar que las tres formulaciones son estables.

## VIII. RECOMENDACIONES

1. Ampliar el campo de investigación del aceite esencial de *Clinopodium bolivianum* (Benth.) Kunth con la finalidad de aislar los componentes químicos responsables de su actividad antioxidante.
2. Se recomienda diseñar formulaciones cosméticas empleando mayor concentración de aceite esencial de *Clinopodium bolivianum* (Benth.) Kunth.
3. Implementar más estudios dedicados al aceite esencial de la muestra de investigación en el nivel de insumo para la industria cosmética, esto debido a que la muestra presentó propiedad viscosante en la formulación que se utilizó para el champú.
4. Elaborar un estudio a nivel de formulación con diferentes bases cosméticas a las propuestas, ya que, en el estudio, solo la formulación de la loción mostró actividad antioxidante.
5. Complementar la investigación con estudios de seguridad de los productos cosméticos propuestos, aunque siendo bases estables y utilizadas, se agregó un nuevo activo como el aceite esencial de *Clinopodium bolivianum* (Benth.) Kunth. que no tiene estudios a nivel cosmético.

## IX. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS


1. Yapuchura Mamani R. Estudio de los componentes antioxidantes de las hojas de muña (Minthostachys mollis (Kunth) Griseb.) e inca muña (Clinopodium bolivianum (Benth.) Kuntze). [Tesis para optar al grado de maestro en Tecnología de Alimentos]. Lima: Universidad Nacional Agraria La Molina; 2010; Disponible en: https://repositorio.lamolina.edu.pe/server/api/core/bitstreams/2c080eb7-00a7-4142-9d88-be0a2cdf4761/content
2. Herrera O, Ventura F, Rivera A, Valenzuela R, Condorhuamán M. Efecto gastroprotector de Clinopodium bolivianum (Benth.) Kuntze “inca muña” sobre lesiones gástricas inducidas en ratones. Ciencia e investigación [Internet]. 2015; 18(2):69-72. [Consultado el 08 de agosto de 2023] Disponible en: https://revistasinvestigacion.unmsm.edu.pe/index.php/farma/article/view/13610/12018
3. Martínez A. Aceites esenciales. Universidad de Antioquía. [Internet]. 2003. [Consultado el 24 de enero de 2024]. Disponible en: https://med-informatica.com/OBSERVAMED/Descripciones/AceitesEsencialesUdeA_esencias2001b.pdf
4. Agencia Española de Medicamentos y Productos. Guía sobre aceites esenciales en productos cosméticos [Internet]. Consejo de Europa; 2016. [Consultado el 24 de enero de 2024]. Disponible en: https://www.aemps.gob.es/publicaciones/publica/docs/Guia_Aceites_Esenciales.pdf
5. López Luego, MT. Los aceites esenciales. Aplicaciones farmacológicas, cosméticas y alimentarias. Offarm [Internet]. 2004;23(7):88–91 [Consultado el 25 de enero de 2024]. Disponible en: https://www.elsevier.es/es-revista-offarm-4-articulo-los-aceites-esenciales-13064296
6. Solomons TWG. Química Orgánica. 3ra Ed. México: Limusa Wiley, 2014.
7. Huaraca Aparco R, Delgado Laime MDC, Tapia Tadeo F, Nolasco Carbajal G. Perfil químico y actividad antioxidante de aceites esenciales de hierbas aromáticas altoandinas del Perú. Revista Alfa [Internet]. 2021 [Consultado el

25 de enero de 2024];5(14):153–65. Disponible en: http://www.scielo.org.bo/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2664-09022021000200153

8. Granados C, Yañez X, Acevedo D. Evaluación de la Actividad Antioxidante del Aceite Esencial Foliar de Myrcianthes leucoxyla de Norte de Santander (Colombia) [Consultado el 30 de enero de 2024]. Disponible en: https://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0718-07642014000300003
9. Avello M, Suwalsky M. Radicales libres, antioxidantes naturales y mecanismos de protección. Atenea (Concepc, Impresa) [Consultado el 30 de enero de 2024]. Disponible en: https://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0718-04622006000200010
10. ONUDI 2018. Recomendaciones para el desarrollo de estudios de estabilidad de productos cosméticos [Consultado el 25 de enero de 2024]. Disponible en: https://www.studocu.com/latam/document/universidad-de-la-republica/farmacologia/onudi-guia-de-estabilidad-final-003/64831105
11. Zegarra M, Aguilar-Gálvez A, Chirinos R, García-Ríos D, Calsin M, Pedreschi R, et al. Mitigación de la formación de acrilamida en papas fritas tipo chips mediante la adición de antioxidantes fenólicos de inca muña (Clinopodium bolivianum). Quim Nova [Internet]. 2022 [Consultado el 26 de enero de 2024];45(10):1223–9. Disponible en: https://www.scielo.br/j/qn/a/m9NhyB7CVJdBjmcnKM9rHFy/
12. Mohanty S, Kamolvit W, Zambrana S, Sandström C, Gonzales E, Östenson CG, et al. El extracto de Clinopodium bolivianum protege contra la invasión de células uroepiteliales por E. coli. J Etnofarmaco (Internet). 2017; (Consultado el 08 de agosto de 2023) 198:214–20. Disponible en: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378874116312284
13. Tapia Manrique ER, Acaro Chuquicaña FE, Castro Luna AJ. “Actividad antioxidante del aceite esencial de Clinopodium pulchellum (Kunt) Govaerts “panizara”. Ágora Rev Cient [Internet]. 2017 (Consultado el 11 de agosto de

2023); 4(2):1–6. Disponible en: https://www.revistaagora.com/index.php/cieUMA/article/view/62

14. Málaga Apaza V. Análisis de la difusión del aceite esencial de muña Clinopodium bolivianum en vapor de agua. 2019 (Consultado el 11 de agosto de 2023); Disponible en: https://alicia.concytec.gob.pe/vufind/Record/2617-6033_ee52d4c5069aea1cce2aabe85267e705/Details
15. Chirinos R, Huamán M, Betalleluz-Pallardel I, Pedreschi R, Campos D. Characterisation of phenolic compounds of “inca muña” Clinopodium bolivianum leaves and the feasibility of their application to improve the oxidative stability of soybean oil during frying. Food Chem [Internet]. 2011; (Consultado el 11 de agosto de 2023) 128(3):711–6. Disponible en: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814611004948
16. Soto ML, Parada M, Falqué E, Domínguez H. Productos de cuidado personal formulados con extractos antioxidantes naturales. Cosméticos (Internet). 2018 (Consultado el 11 de agosto de 2023); 5(1):13. Disponible en: https://www.mdpi.com/2079-9284/5/1/13
17. Castaño Amores C, Hernández Benavides PJ. Activos antioxidantes en la formulación de productos cosméticos antienvejecimiento. Ars Pharm (Internet). 2018 (Consultado el 12 de agosto de 2023) ;59(2):77–84. Disponible en: https://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2340-98942018000200003
18. Bravo K, Quintero C, Agudelo C, García S, Bríñez A, Osorio E. CosIng análisis de base de datos y estudios experimentales para promover la biodiversidad vegetal latinoamericana para uso cosmético. Ind Cultivos Prod [Internet]. 2020 (Consultado el 12 de agosto de 2023 ;144(112007):112007. Disponible en: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0926669019310179
19. Rodríguez Ruiz S, Arroyo Figueroa G, Trejo Basurto RI. Uso de materias primas naturales en la elaboración de cosméticos y su control de calidad. (Internet). 2016 (Consultado el 13 de agosto de 2023); 2(1):1476–80. Disponible en:

https://www.jovenesenlaciencia.ugto.mx/index.php/jovenesenlaciencia/article/view/1311

20. Hospino Cosme LM, Mallma Garzon F de M. Composición química y actividad antibacteriana del aceite esencial de inca muña en estado fresco y seco. Universidad Nacional del Centro del Perú; 2019. Disponible en: https://repositorio.uncp.edu.pe/handle/20.500.12894/5650
21. Zuñiga Olaguibel M. Composición química de los aceites esenciales de Minthostachys spicata (Benth) Epling, Clinopodium bolivianum (Benth) Kuntze, Tanacetum vulgare Linnaeus y Mentha x piperita var. Citrata (Ehrh.) Briq y su efecto insecticida para Pagiocerus frontalis. Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cuzco; 2022. Disponible en: https://repositorio.unsaac.edu.pe/handle/20.500.12918/6866
22. Tito Solis EM. Composición química, citotoxicidad en Artemia salina Leach y toxicidad aguda en ratones albinos de los aceites esenciales de Clinopodium bolivianum (Benth) Kuntze y Tagetes multiflora Kunth. Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cuzco; 2021. Disponible en: https://repositorio.unsaac.edu.pe/handle/20.500.12918/6866
23. Ponce Cobos J. Composición química, actividad antioxidante y antimicrobiana del aceite esencial de Peperomia galioides Kunth y actividad fotoprotectora in vitro en una emulsión dermocosmética 2019 (Consultado el 18 de marzo de 2024) Disponible en: https://hdl.handle.net/20.500.12672/11528
24. Huanqui Franco AS. Determinación de la actividad antioxidante y antibacteriana del aceite esencial de Clinopodium bolivianum (Benth.) Kuntze “Cjuñuca” frente a la cepa de Cutibacterium acnes ATCC 6919. Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco; 2019.
25. Noriega P, Calderón L, Ojeda A y Paredes E. Composición química, actividad bioautográfica antimicrobiana y antioxidante del aceite esencial de hojas de la planta amazónica Clinopodium brownei 2023 (Consultado el 12 de mayo del 2023) Disponible en: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9962765/

26. Bektas T, Sihoglu-tepe A, Daferera D, Polissiou M, Sokmen A. Composición química y actividad antioxidante del aceite esencial de Clinopodium vulgare L. 2006 (Consultado el 12 de mayo del 2023) Disponible en: https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0308814606007345
27. Daneri K. Propuesta de guía para el desarrollo de estudios de estabilidad de productos cosméticos en el Perú 2014 (Consultado el 21 de setiembre del 2024) Disponible en: https://cybertesis.unmsm.edu.pe/item/e3c7bda2-3cce-40ac-a023-9dcfed9774d7
28. Turek C, Stintzing F. Estabilidad de los aceites esenciales: una revisión (Consultado el 21 de setiembre del 2024) Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/260727283_Stability_of_Essential_Oils_A_Review
29. Shkreli R, Terziu R, Memushaj L, Dhamo K. Formulación y evaluación de la estabilidad de una emulsión cosmética cargada con diferentes concentraciones de conservantes sintéticos y naturales (Consultado el 22 de setiembre del 2024) Disponible en: https://onlinejbs.com/index.php/jbs/article/view/6373/5271

# X. ANEXOS

**Anexo 1.** Constancia taxonómica y elección de la especie vegetal de *Clinopodium bolivianum* (Benth.) Kunth.

UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS
Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA
VICERRECTORADO DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO
MUSEO DE HISTORIA NATURAL

"Año del Fortalecimiento de la Soberanía Nacional"

**C O N S T A N C I A N°012-USM-MHN-2022**

LA JEFA DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM) DEL MUSEO DE HISTORIA NATURAL, DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS, DEJA CONSTANCIA QUE:

La muestra vegetal (planta estéril) recibida de **Raymi Celeste OBISPO HUAMANI**, bachiller de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, ha sido estudiada y clasificada como: ***Clinopodium bolivianum,*** (Benth.) Kunth. y tiene la siguiente posición taxonómica, según el
según el Sistema de Clasificación de APG IV (2016):

**ORDEN: LAMIALES**

**FAMILIA: LAMIACEAE**

**GENERO: *Clinopodium***

**ESPECIE**: ***Clinopodium bolivianum,*** (Benth.) Kunth.

Nombre vulgar : "muña"
Determinado por: Mg. Hamilton Beltrán Santiago.

Se extiende la presente constancia a solicitud de la parte interesada, para los fines que estime conveniente.

Lima, 01 de abril de 2022

**Dra. JOAQUINA ALBAN CASTILLO**
JEFA DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM)

JAC/ddb



**Anexo 2.** Equipo de extracción por arrastre de vapor de agua de aceite esencial



**Anexo 3.** Recolección del aceite esencial en la pera de decantación



**Anexo 4.** Preparación de las muestras para el análisis del método DPPH



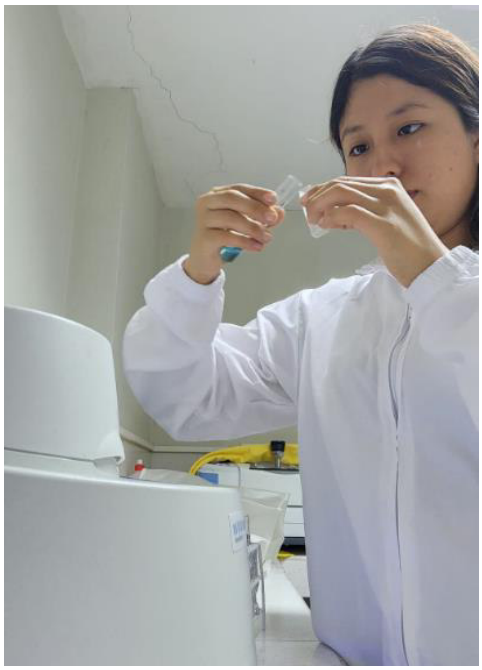
**Anexo 5.** Batería de tubos en los 30 min de espera para la evaluación del espectrofotómetro con el reactivo DPPH



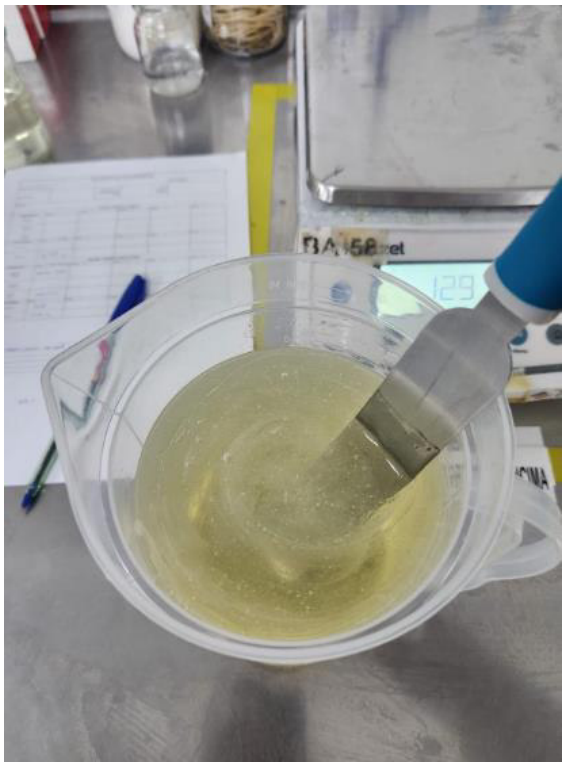
**Anexo 6.** Preparación de los tubos de ensayo de la muestra diluida con el reactivo ABTS



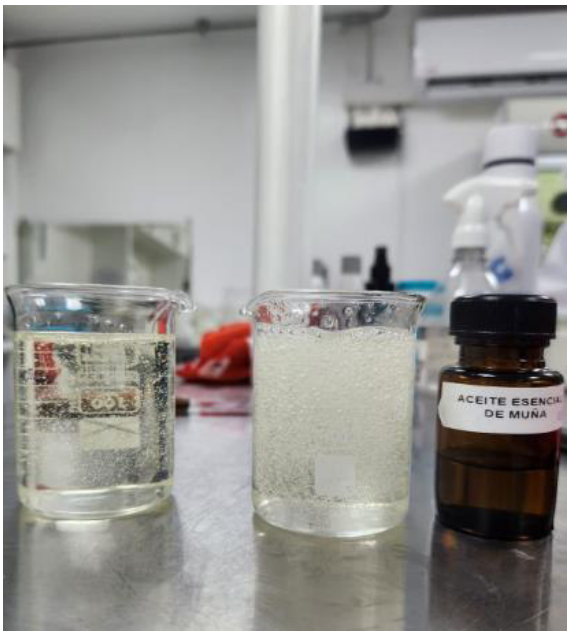
**Anexo 7.** Medición de las absorbancias de las diluciones de las muestras.



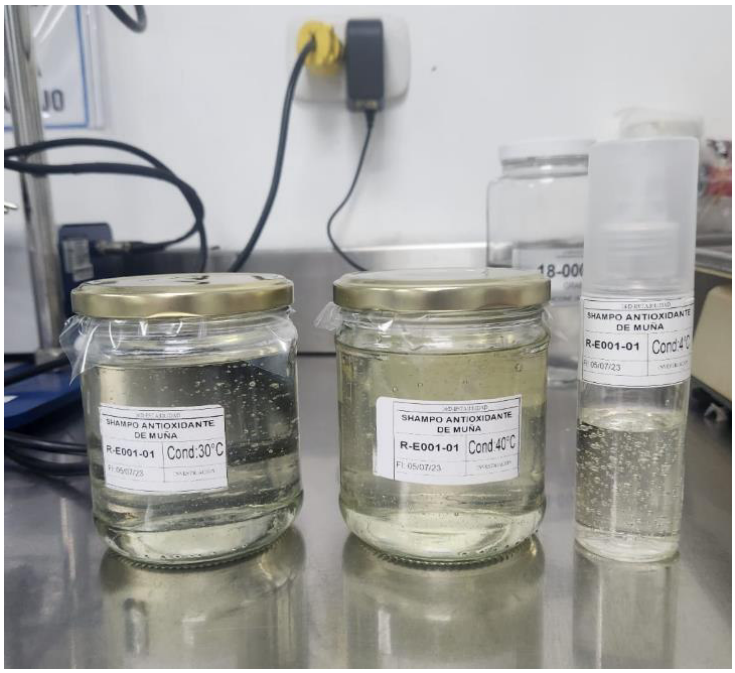
**Anexo 8.** Preparación de la formulación del champú



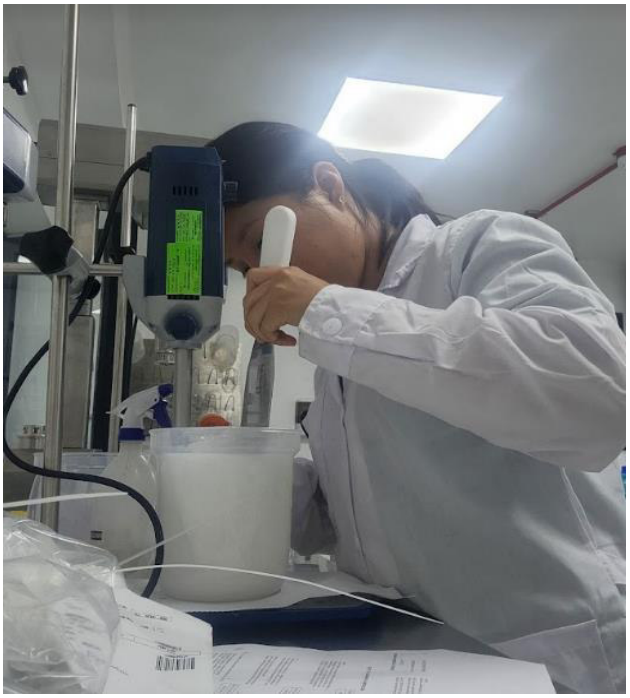
**Anexo 9.** Formulación del champú base junto al aceite esencial de la muestra




**Anexo 10.** Preparación de muestras para el ingreso al estudio de estabilidad



**Anexo 11.** Preparación de la formulación de la crema de peinar





**Anexo 12.** Ingredientes que forman parte de la formulación de la crema de peinar



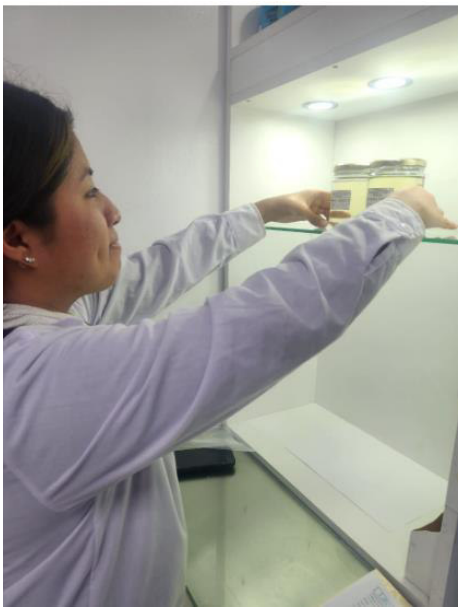

**Anexo 13.** Preparación de la loción capilar



**Anexo 14.** Preparación de muestras para el ingreso al estudio de estabilidad




**Anexo 15.** Evaluación del estudio de estabilidad, observación del champú



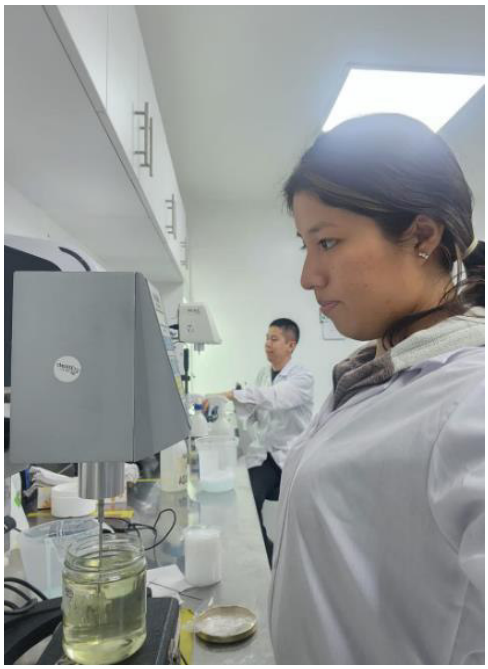
**Anexo 16.** Medición de la viscosidad del champú



**Anexo 17.** Medición del pH del champú




**Anexo 18.** Medición de la viscosidad como parte del estudio de estabilidad de champú



**Anexo 19.** Preparación de la formulación champú para la evaluación del DPPH



**Anexo 20.** Medición del pH de la crema de peinar como parte del estudio de estabilidad



**Anexo 21.** Fraccionamiento de la crema de peinar para la evaluación del análisis DPPH



**Anexo 22.** Resultados de análisis microbiológico de la loción capilar

Life

**SOLICITUD DE ANALISIS MICROBIOLOGICO**

SOLICITUD N° 491 / 2023

SOLICITANTE : ESTABILIDAD
ANALISIS : MICROBIOLOGICO
FECHA DE SOLICITUD : 06/07/2023

**DESCRIPCION:**

NOMBRE : LOCION HAIR ANTIOXIDANTE DE MUÑA

COD. ENSAYO R-E003-01 COD. FILE : R-003

CONDICION: T° AMBIENTE - INICIO FECHA INICIO ESTUDIO: 06/07/2023

ENVASE: 01 FRASCO

**II.- ANALISIS SOLICITADO :**

| | | | |
|---|---|---|---|
| MEA-11-178 | RECUENTO DE MICROORGANISMOS MESOFILOS AEROBIOS TOTALES | ufc/g o mL | Limite Máximo <=1000 UFC/mL |
| MEA-29-381 | RECUENTO TOTAL DE MOHOS Y LEVADURAS | ufc/g o mL | Limite Máximo <=100 UFC/mL |
| MEA--14-183 | Escherichia coli | g ó mL | Ausente en 1 mL. |
| MEA--12-179 | Pseudomonas aeruginosa | g ó mL | Ausente en 1 mL. |
| MEA-13-182 | Staphylococcus aureus | g ó mL | Ausente en 1 mL. |

**III.- RESULTADOS CDC :**

| | |
|---|---|
| RECUENTO DE MICROORGANISMOS MESOFILOS AEROBIOS TOTALES | <10 UFC/mL |
| RECUENTO TOTAL DE MOHOS Y LEVADURAS | <10 UFC/mL |
| Escherichia coli | Ausente |
| Pseudomonas aeruginosa | Ausente |
| Staphylococcus aureus | Ausente |

FECHA DE ANALISIS : 06-07-2023

APROBADO ☒ RECHAZADO ☐

VM
ANALISTA DE CDC

JEFE DE CDC

OBSERVACIONES :

(*) MNPC : MUY NUMEROSO PARA CONTAR

F/I&D-006-V

**Anexo 23.** Resultados de análisis microbiológico del champú capilar

Life

**SOLICITUD DE ANALISIS MICROBIOLOGICO**

SOLICITUD N° 492 / 2023

SOLICITANTE : ESTABILIDAD
ANALISIS : MICROBIOLOGICO
FECHA DE SOLICITUD : 06/07/2023

**DESCRIPCION:**

NOMBRE : SHAMPOO ANTIOXIDANTE DE MUÑA
COD. ENSAYO R-E001-01 COD. FILE : R-001
CONDICION: T° AMBIENTE - INICIO FECHA INICIO ESTUDIO: 06/07/2023
ENVASE: 01 FRASCO

**II.- ANALISIS SOLICITADO :**

| | | | |
|---|---|---|---|
| MEA-11-178 | RECUENTO DE MICROORGANISMOS MESOFILOS AEROBIOS TOTALES | ufc/g o mL | Limite Máximo <=1000 UFC/mL |
| MEA-29-381 | RECUENTO TOTAL DE MOHOS Y LEVADURAS | ufc/g o mL | Limite Máximo <=100 UFC/mL |
| MEA--14-183 | Escherichia coli | g ó mL | Ausente en 1 mL. |
| MEA--12-179 | Pseudomonas aeruginosa | g ó mL | Ausente en 1 mL. |
| MEA-13-182 | Staphylococcus aureus | g ó mL | Ausente en 1 mL. |

**III.- RESULTADOS CDC :**

| | |
|---|---|
| RECUENTO DE MICROORGANISMOS MESOFILOS AEROBIOS TOTALES | <10 UFC/mL |
| RECUENTO TOTAL DE MOHOS Y LEVADURAS | <10 UFC/mL |
| Escherichia coli | Ausente |
| Pseudomonas aeruginosa | Ausente |
| Staphylococcus aureus | Ausente |

FECHA DE ANALISIS : 06-07-2023

APROBADO ☐ RECHAZADO ☐

VM
ANALISTA DE CDC

JEFE DE CDC

OBSERVACIONES :
(*) MNPC : MUY NUMEROSO PARA CONTAR

F/I&D-006-V1