

**ESTUDIO DE LA CAPACIDAD DE PROTECCIÓN DE LOS ACEITES
ESENCIALES DE *Pogostemon cablin*, *Rosmarinus officinalis*, *Salvia
officinalis*, y *Thymus vulgaris* CONTRA LA OXIDACIÓN LIPÍDICA EN UN
JABÓN LÍQUIDO**

MARÍA EMILIA GARCÍA DOMÍNGUEZ

UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER

FACULTAD DE CIENCIAS

ESCUELA DE QUÍMICA

BUCARAMANGA

2013

**ESTUDIO DE LA CAPACIDAD DE PROTECCIÓN DE LOS ACEITES
ESENCIALES DE *Pogostemon cablin*, *Rosmarinus officinalis*, *Salvia
officinalis*, y *Thymus vulgaris* CONTRA LA OXIDACIÓN LIPÍDICA EN UN
JABÓN LÍQUIDO**

MARÍA EMILIA GARCÍA DOMÍNGUEZ

**Trabajo presentado como requisito
parcial para optar al título de Química.**

Directores:

Elena E. Stashenko, Química, Ph.D.

Jairo René Martínez, Químico, Ph.D.

UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER

FACULTAD DE CIENCIAS

ESCUELA DE QUÍMICA

BUCARAMANGA

2013

DEDICATORIA

A mi mamá que siempre ha sido, es y será mi motor, la persona que nunca me ha dejado caer ni rendir. Hoy le debo todo lo que soy.

A mi papá que siempre ha confiado en mí, gracias a sus consejos y sabias palabras lograron que llegara a mi primera meta como profesional.

A mi hermano, mi orgullo y mi ejemplo a seguir. Porque me ha demostrado que sólo los valientes y luchadores como él, llegan lejos.

A Diego, mi novio, por acompañarme en el final de mi etapa universitaria. Por su amor, paciencia, consejos y apoyo. Porque a pesar de la distancia y dificultades no me desamparó.

AGRADECIMIENTOS

A Dios, por darme la fuerza necesaria para no rendirme y luchar hasta el final.

A mis padres y hermano, por apoyarme en todo momento, guiarme por el camino de la perseverancia y con su ejemplo ayudarme a formar como persona de valores para la sociedad.

A la Dra. Elena y el Dr. Jairo René, que gracias a sus conocimientos contribuyeron en mi formación como profesional.

A Joaco Orozco, quién me extendió su mano y fue mi guía en la realización de esta investigación.

A mis dos inseparables amigos CROM-MASS: Aleja, con quién trabaje la parte experimental de mi tesis, y fue ahí donde nació la amistad que hoy en día nos une, y Javi por estar conmigo siempre, por su apoyo, y convertirse en un amigo incondicional para mí.

A mis demás compañeros del laboratorio CROM-MASS: Yuri, Cori, Gioha, Yuyeimi, Silvia Natalia, Guspi, Eliza, Laurita Güarguati, Roger, Leo, Juank, Silvita, Wendy, Juli, Oscar Iván por su paciencia, de todos ellos recibí aportes y ayudas en el trabajo diario.

A mis amigos de carrera que compartieron conmigo vivencias, aprendizajes, alegrías, tristezas, e hicieron que este camino recorrido fuera más ameno. Monis, Eli, Veri, Lelys, Pao, Luis, Diana, Chía. Infinitas gracias por dejarme entrar en su corazón y hacer parte de sus vidas. A Elkin, mi parcerero del alma por su ayuda, su dedicación, su lealtad y su incondicionalidad hacia mí en todo momento.

A los docentes de la escuela de química, especialmente el Doctor Rodrigo Torres por brindarme una mano amiga, por ser mi apoyo y estar conmigo como evaluador y orientador alentándome en las dificultades que se presentaban. Muchas gracias por depositar su confianza en mí profe. Espero nunca defraudarlo.

A todas las personas que han pasado por mi vida, las que permanecen y las que el tiempo y las circunstancias las han alejado. Gracias porque de alguna forma aportaron un granito de arena en mi formación, en mi superación y en lo que hoy en día soy.

TABLA DE CONTENIDO

INTRODUCCIÓN	17
1. ESTADO DEL ARTE	21
1.1 ANTECEDENTES.....	21
1.2 HISTORIA DEL JABÓN	25
1.3 PROCESO PRODUCTIVO PARA LA OBTENCIÓN DE JABONES	26
1.4 MATERIAS PRIMAS.....	28
1.4.1 Aceite de palmiste.....	28
1.4.2 Hidróxido de potasio	28
1.5 ACEITES ESENCIALES EN LA INDUSTRIA COSMÉTICA	29
1.6 GENERALIDADES DE LOS ACEITES ESENCIALES	29
1.7 ANTIOXIDANTES SINTÉTICOS	30
1.7.1 Butilhidroxitolueno (BHT)	30
1.8 ANTIOXIDANTES NATURALES	31
1.8.1 Vitamina E.....	31
1.9 RADICALES LIBRES.....	32
1.10 ESTRÉS OXIDATIVO	33
1.10.1 Especies reactivas de oxígeno (ERO)	33
1.11 PEROXIDACIÓN LIPÍDICA	35
1.12 ESPECIES VEGETALES.....	35
1.12.1 <i>Pogostemon cablin</i>	35
1.12.2 <i>Rosmarinus officinalis</i>	36
1.12.3 <i>Salvia officinalis</i>	37
1.12.4 <i>Thymus vulgaris</i>	38
2. PARTE EXPERIMENTAL.....	40

2.1	REACTIVOS, MATERIALES Y EQUIPOS DE LABORATORIO	40
2.1.1	Reactivos	40
2.1.2	Materiales	41
2.1.3	Material vegetal.....	43
2.1.4	Aceite de palmiste.....	43
2.1.5	Equipos menores	43
2.1.6	Equipos mayores	43
2.2	METODOLOGÍA	44
2.2.1	Obtención de los AE	45
2.2.2.	Formulación para la preparación de jabón líquido	45
2.2.3	Pruebas de calidad regidas por la Norma Técnica Colombiana.	49
2.2.4	Caracterización e identificación de los AE.	54
2.2.6	Peroxidación lipídica en el jabón líquido sometido a la radiación UV. ..	59
2.2.7	Evaluación de la actividad antioxidante <i>in-vitro</i> en un jabón líquido de la mezcla de AE de <i>Pogostemon cablin</i> , <i>Rosmarinus officinalis</i> , <i>Salvia officinalis</i> y <i>Thymus vulgaris</i> , sistema lipídico modelo, sometido a radiación UV.....	61
3.	DISCUSIÓN DE RESULTADOS.....	64
3.1	FORMULACIÓN DE JABÓN LÍQUIDO A ESCALAS DE LABORATORIO Y PILOTO.....	64
3.1.1	Escala de laboratorio.	64
3.1.2	Escala piloto.....	66
3.2	NORMA TÉCNICA COLOMBIANA (NTC 709) PARA CONTROL DE CALIDAD DEL JABÓN LÍQUIDO.....	68
3.2.1	Pruebas físico-químicas realizadas al jabón líquido.	68
3.2.2	Pruebas de calidad realizadas al jabón líquido.	69
3.3	CARACTERIZACIÓN POR GC-MS DE LOS ACEITES ESENCIALES A EVALUAR.	70
3.3.1	<i>Pogostemon cablin</i>	70

3.3.2 <i>Rosmarinus officinalis</i>	72
3.3.3 <i>Salvia officinalis</i>	75
3.3.4 <i>Thymus vulgaris</i>	77
3.4 MEDICIÓN DEL GRADO DE PROTECCIÓN FRENTE A LA PEROXIDACIÓN LIPÍDICA.	79
3.4.1 Formación de la pentaflúorfenilhidrazona (PFPH).	79
3.4.2 Calibración externa para la cuantificación del derivado de hexanal con la PFPH.	80
3.4.3 Análisis cualitativo y cuantitativo del derivado hidrazónico por GC- μ ECD.	80
4. CONCLUSIONES.....	86
5. RECOMENDACIONES	87
6. BIBLIOGRAFÍA.....	88

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Lista de reactivos y disolventes usados en el proyecto	40
Tabla 2. Requisitos del jabón líquido.....	50
Tabla 3. Muestras evaluadas sometidas a radiación UV	63
Tabla 4. Cantidades exactas para elaboración de pasta base para jabón líquido.....	64
Tabla 5. Cantidades exactas para dilución y neutralización de jabón líquido. .	65
Tabla 6. Cantidades exactas de conservantes utilizados	65
Tabla 7. Cantidades exactas de AE agregados al jabón líquido.	66
Tabla 8. Cantidades exactas para elaboración de pasta base.	67
Tabla 9. Cantidades exactas para dilución y neutralización de jabón líquido. ...	67
Tabla 10. Cantidades exactas de conservantes utilizados.....	67
Tabla 11. Cantidades exactas de AE agregados al jabón líquido	68
Tabla 12. Ensayos realizados dentro de la Norma Técnica Colombiana NTC 709 para obtener la aceptación del producto.	70
Tabla 13. Composición química del AE de <i>Pogostemon cablin</i> , aislado por MWHD.....	71

Tabla 14. Composición química del AE de <i>Rosmarinus officinalis</i> aislado por arrastre con vapor	73
Tabla 15. Composición química del AE de <i>Salvia officinalis</i> , aislado por arrastre con vapor.....	75
Tabla 16. Composición química del AE de <i>Thymus vulgaris</i> aislado por arrastre con vapor.....	77
Tabla 17. Áreas cromatográficas, desviación estándar (S), coeficiente de variación (%CV) y grado de protección (%GP), de los derivados hidrazónicos de la mezcla de AE, BHT y vitamina E en jabón líquido después de someter a peroxidación, y empleando μ -ECD como sistema de detección.....	84

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Número de publicaciones, por año, sobre el uso de los AE en producción de jabones. Período de observación: 1990-2013. Base de datos: *Science Direct*. Fecha de consulta: julio 30 de 2012. Ecuación de búsqueda: Pub – date: 1989 and (“essential oil*”) and soap.....21
- Figura 2.** Número de publicaciones, por áreas de investigación, sobre el uso de los AE en la elaboración de jabones. Periodo de observación: 1990-2013. Base de datos: *Science Direct*. Fecha de consulta: julio 30 de 2012. Ecuación de búsqueda: Pub – date: 1989 and (“essential oil*”) and soap. 22
- Figura 3.** Número de investigaciones relacionadas con el uso de los AE como aditivos en la producción de jabones. Periodo de observación: 1990-2013. Base de datos: *Science Direct*. Fecha de consulta: julio 30 de 2012. Ecuación de búsqueda: Pub – date: 1989 and (“essential oil*”) and soap. 23
- Figura 4.** Reacción de saponificación27
- Figura 5.** Planta de *Pogostemon cablin*. Cultivo en el Complejo Agroindustrial Piloto CENIVAM. UIS, Bucaramanga. Foto: María E. García, junio de 2012.36
- Figura 6.** Planta de *Rosmarinus officinalis*. Cultivo en el Complejo Agroindustrial Piloto CENIVAM. UIS, Bucaramanga. Foto: María E. García, junio de 2012.....37
- Figura 7.** Planta de *Salvia officinalis*. Cultivo en el Complejo Agroindustrial Piloto CENIVAM. UIS, Bucaramanga. Foto: María E. García, junio de 2012.38
- Figura 8.** Planta de *Thymus vulgaris*. Cultivo en el Complejo Agroindustrial Piloto CENIVAM. UIS, Bucaramanga. Foto: María E. García, junio de 2012.39

Figura 9. Metodología seguida en la presente investigación.	44
Figura 10. Reactor diseñado exclusivamente para la elaboración de jabón con un soporte de carga de 26 kg por lote de jabón. A. Exterior del reactor; B. Caja de control de temperatura y velocidad; C. Interior del reactor. Salón de máquinas Sombra El Terrible, Complejo Agroindustrial Piloto, CENIVAM. Foto: María E. García, marzo de 2012	47
Figura 11. Jabón líquido sin aditivos (izquierda), jabón líquido con aceites esenciales (derecha). Laboratorio de Producción “Teofrasto Paracelso”, Complejo Agroindustrial Piloto, CENIVAM. Foto: María E. García, abril de 2012.	49
Figura 12. Cromatógrafo de gases <i>Agilent Technologies</i> 6890 <i>Plus</i> (Palo Alto, CA, EE.UU.) acoplado a un detector selectivo de masas <i>Agilent Technologies</i> MSD 5973 <i>Network</i> . Centro de Cromatografía y Espectrometría de Masas Mikhail Tswet, CROM-MASS, CENIVAM. Foto: María E. García, julio de 2012.....	56
Figura 13. Cromatógrafo de gases <i>Hewlett-Packard</i> (Palo Alto, CA, EE.UU.), HP 6890 <i>Plus</i> , dotado con microdetector de captura de electrones (GC- μ ECD). Centro de Cromatografía y Espectrometría de Masas, Mikhail Tswet, CROM-MASS, CENIVAM. Foto: María E. García, septiembre de 2012.	57
Figura 14. Reactor dotado con lámparas UV, empleado en el estudio de la peroxidación lipídica. Laboratorio de preparación de muestras Marie Skłodowska Curie, Complejo Agroindustrial Piloto, CENIVAM. Foto: María E. García, septiembre de 2012.....	61
Figura 15. Cromatograma típico, obtenido por GC-MS de los compuestos mayoritarios del AE de <i>Pogostemon cablin</i>	71
Figura 16. Cromatograma típico, obtenido por GC-MS, del AE de <i>Rosmarinus officinalis</i>	73

Figura 17. Cromatograma típico, obtenido por GC-MS de los compuestos mayoritarios del AE de <i>Salvia officinalis</i> .	75
Figura 18. Cromatograma típico, obtenido por GC-MS, del AE de <i>Thymus vulgaris</i> .	77
Figura 19. Curva de calibración del hexanal.	80
Figura 20. Perfil cromatográfico obtenido por GC-ECD, de los productos secundarios generados en el sistema lipídico (base de jabón) sometido a la radiación UV, sin antioxidante.	81
Figura 21. Perfil cromatográfico obtenido por GC-ECD, de los productos secundarios generados en el sistema lipídico (base de jabón) sometido a la radiación UV, en presencia de mezcla de AE	82
Figura 22. Perfil cromatográfico obtenido por GC-ECD, de los productos secundarios generados en el sistema lipídico (base de jabón) sometido a la radiación UV, en presencia de BHT	83
Figura 23. Perfil cromatográfico obtenido por GC-ECD, de los productos secundarios generados en el sistema lipídico (base de jabón) sometido a la radiación UV, en presencia de vitamina E	83
Figura 24. Grado de protección de la mezcla de los AE bajo estudio, BHT y vitamina E en el jabón líquido	84

LISTA DE ABREVIATURAS Y SIGLAS

AA	Actividad antioxidante
AE	Aceite(s) esencial(es)
BHT	Butilhidroxitolueno
BJ	Blanco de jabón líquido
Cenivam	Centro Nacional de Investigaciones para la Agroindustrialización de Especies Vegetales Aromáticas y Medicinales Tropicales
ERO	Especies reactivas de oxígeno
GC-ECD	<i>Gas Chromatography with Electron Capture Detector</i> (Cromatografía de gases acoplada a un detector de captura de electrones)
GC-MS	<i>Gas Chromatography Coupled to Mass Spectrometry</i> (Cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas)
HS – SPME	<i>Head Space Solid – Phase Microextraction</i> (Microextracción en fase sólida del espacio de cabeza)
INVIMA	Instituto Nacional de Vigilancia de Medicamentos y Alimentos
JAE	Jabón líquido con AE
JBHT	Jabón líquido con BHT
JVE	Jabón líquido con vitamina E
MWHD	Microwave – Assisted Hydro – Distillation (Hidrodestilación asistida por la radiación de microondas)
PDMS/DVB	Poli(dimetilsiloxano)/Divinilbenceno
PFPH	Pentaflúorofenilhidracina

RL	Radical(es) libre(s)
t_R	Tiempo de retención

RESÚMEN

TÍTULO: ESTUDIO DE LA CAPACIDAD DE PROTECCIÓN DE LOS ACEITES ESENCIALES DE *Pogostemon cablin*, *Rosmarinus officinalis*, *Salvia officinalis*, y *Thymus vulgaris* CONTRA LA OXIDACIÓN LIPÍDICA EN UN JABÓN LÍQUIDO.*

AUTOR: María Emilia García Domínguez**

PALABRAS CLAVES: Antioxidantes, cromatografía de gases, peroxidación lipídica, aceites esenciales, cosméticos, radiación ultravioleta.

Los antioxidantes sintéticos fueron creados e investigados con la finalidad de disminuir la acción de los radicales libres (RL) en productos cosméticos y alimentos. Sin embargo, estos son susceptibles a la degradación oxidativa.

Algunos antioxidantes sintéticos como el butilhidroxitolueno (BHT) presenta serias restricciones a nivel internacional por sus efectos nocivos a la salud del consumidor.

En vista de lo anterior, esta investigación demuestra que los antioxidantes naturales extraídos de cuatro aceites esenciales (AE) de las especies *Pogostemon cablin* (patchulí), *Rosmarinus officinalis* (romero), *Salvia officinalis* (salvia) y *Thymus vulgaris* (tomillo), poseen el efecto protector contra la oxidación lipídica en un jabón líquido, demostrando ser una alternativa eficiente a los antioxidantes sintéticos en productos de higiene personal.

La medida de la actividad antioxidante se realizó monitoreando el hexanal como producto del deterioro oxidativo del ácido linoléico presente en la matriz del jabón líquido formulado en el laboratorio, el cual fue expuesto a radiación UVA. Para esto, se empleó la microextracción en fase sólida en modo *headspace* (HS-SPME), y la cromatografía de gases con detector de captura de electrones (GC-ECD) para la medición del derivado hidrazónico obtenido por derivación del hexanal con pentafluorfenilhidracina (PFPH).

Los resultados obtenidos determinan que la capacidad antioxidante indicada como porcentaje de grado de protección y entre paréntesis de la mezcla de AE de Patchulí, romero, salvia y tomillo (50 %) es mayor a los antioxidantes de referencia BHT (46 %) y vitamina E (31%).

* Trabajo de grado.

** Facultad de Ciencias, Escuela de Química, Directores: Elena E. Stashenko y Jairo R. Martínez.

ABSTRACT

TITLE: STUDY OF THE CAPACITY OF PROTECTION OF THE ESSENTIAL OILS OF *Pogostemon cablin*, *Rosmarinus officinalis*, *Salvia officinalis*, AND *Thymus vulgaris* AGAINST THE LIPIDIC OXIDATION IN A LIQUID SOAP.*

AUTHOR: María Emilia García Domínguez**

KEYWORDS: Antioxidants, gas chromatography, lipidic peroxidation, essential oils, cosmetics, ultraviolet radiation.

Antioxidants were created and investigated in order to decrease the action of free radicals (RL) in cosmetic products and food, being these susceptible to oxidative degradation; However, the presence of synthetic preservatives like the butylated hydroxytoluene (BHT) presents serious restrictions on international level for its harmful effects to the health of the consumer.

For this reason, this research uses the antioxidant capacity of four essential oils (EO) of *Pogostemon cablin* (patchouli), *Rosmarinus officinalis* (rosemary), *Salvia officinalis* (sage) and *Thymus vulgaris* (thyme) species, measuring the protective effect against lipid oxidation in liquid soap, thus, seek natural alternatives to synthetic antioxidants in personal hygiene products.

The measurement of antioxidant activity was monitoring the hexanal as a product of the oxidative degradation of linoleic acid present in the matrix of the liquid soap formulated in the laboratory, which was exposed to UVA radiation. For this we used the micro extraction mode *headspace* solid-phase (HS-SPME) and gas chromatography with capture detector (GC-ECD) electrons to the measurement of the hidrazonic derivative obtained by derivation of the hexanal with pentafluorophenylhydrazine (PFPH).

The results determine that the antioxidant capacity indicated as a percentage of the level of protection and in parentheses from the mixture of oil of patchouli, Rosemary, Sage and thyme (50%) is higher than the reference BHT antioxidant (46%) and vitamin E (31%).

*Graduation proyect

**Science Faculty, School of Chemistry, Directors: Elena E. Stashenko and Jairo R. Martínez.

INTRODUCCIÓN

Antes de la Primera Guerra Mundial, todos los jabones líquidos se preparaban mediante saponificación con hidróxido de potasio, pero el racionamiento de grasas y aceites en tiempos de guerra obligó a los fabricantes industriales de jabón a pensar en otras alternativas. Así, los jabones detergentes “sintéticos” pronto se convirtieron en los más comunes y han permanecido, desde entonces, hasta la actualidad. Sin embargo, hoy en día, sectores productivos como el industrial, el cosmético, el agrícola y el turístico, buscan alternativas a los “jabones detergentes”, influenciados por su conciencia social y ambiental. El número de consumidores “verdes”, preocupados por gastar su dinero en productos extraídos, procesados y comercializados siguiendo patrones que evitan o reducen impactos negativos sobre el ambiente y las personas, es cada vez mayor. El jabón de potasio y los aditivos de aceites esenciales (AE) son una alternativa ideal para ello, ya que se componen de ingredientes naturales, que no afectan diferentes tipos de piel, y que, por sus propiedades antioxidantes, evitan el daño oxidativo por radicales libres (RL); lo anterior es de gran importancia, teniendo en cuenta que la piel es el órgano más expuesto de manera directa a este daño, y que el desequilibrio de su defensa antioxidante acelera el mecanismo de envejecimiento y predispone al cáncer cutáneo.

El estrés oxidativo y el proceso biológico de envejecimiento prematuro son algunas de las causas de aceleración de este proceso, que contribuyen al desarrollo de patologías crónicas. El ser humano está constantemente luchando contra los RL; sin embargo, los problemas de salud se producen cuando se tiene que soportar un exceso de RL durante años, producido principalmente por sustancias tóxicas que penetran en el organismo como consecuencia de la contaminación atmosférica, el humo de cigarrillos, entre otros factores.

Los RL de oxígeno se han investigado con mayor dedicación, y con base en dichos estudios se han evaluado las sustancias antioxidantes que ejercen una influencia benéfica en los procesos oxidativos.

Actualmente, existen ensayos clínicos que proporcionan evidencia del beneficio de las sustancias antioxidantes, al ser aplicadas de manera tópica; como consecuencia de esto, el desarrollo de productos cosméticos y farmacéuticos, que las contienen, ha crecido de modo acelerado en los últimos años, principalmente, como complemento en la terapia contra el envejecimiento cutáneo [8].

Muchos AE han demostrado actividad antioxidante marcada, la cual se debe a que algunos de sus componentes presentan capacidad de atrapar radicales libres. Las plantas de patchoulí, romero, salvia y tomillo son aromáticas, y sobre éstas existen reportes de la presencia de metabolitos secundarios con capacidades antioxidantes, así como también se ha comprobado que sus infusiones presentan propiedades medicinales [4].

Por tal motivo, el objetivo de esta investigación fue medir el efecto protector de los AE estudiados y los antioxidantes de referencia, mediante el proceso de peroxidación lipídica en un jabón líquido formulado y fabricado en un reactor industrial, diseñado exclusivamente para elaboración de jabones, al cual se le incorporaron los AE con posible bioactividad, con el fin de buscar alternativas naturales a antioxidantes sintéticos que, con el paso del tiempo, pueden llegar a ser tóxicos y causar serios problemas de salud.

1. ESTADO DEL ARTE

1.1 ANTECEDENTES

Con el fin de analizar el constante desarrollo y crecimiento científico en cuanto al estudio de AE como agentes antioxidantes, y teniendo en cuenta la necesidad de encontrar alternativas de origen natural que permitan conservar y mejorar los productos de tipo cosmético, se realizó un estudio cienciométrico, utilizando la base de datos *Science Direct*.

Con el paso de los años, el número de publicaciones relacionadas con el estudio de los AE como aditivos en la elaboración de jabones se ha mantenido en un intervalo constante de publicaciones. La revisión se hizo para los últimos 22 años, siendo el 2011 el que presentó mayor número de publicaciones (Véase **Figura 1**).

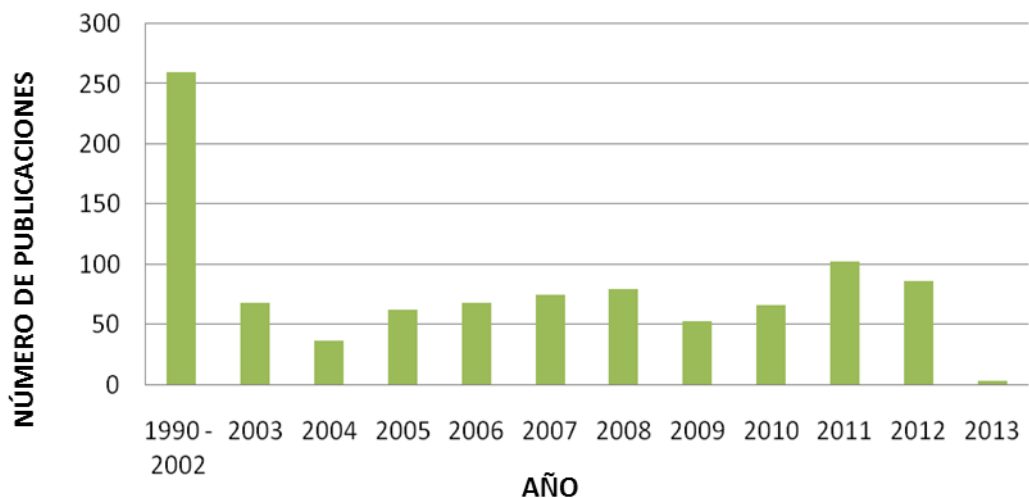


Figura 1. Número de publicaciones, por año, sobre el uso de los AE en producción de jabones. Período de observación: 1990-2013. Base de datos: *Science Direct*. Fecha de consulta: julio 30 de 2012. Ecuación de búsqueda: Pub – date: 1989 and (“essential oil*”) and soap.

Los estudios sobre la utilización de los AE en diferentes plantas como aditivos en la elaboración de jabones, han sido desarrollados principalmente en temas como cosméticos, fragancias, antibacteriales, productos naturales, actividad antioxidante, dermatitis de contacto, entre otras (Véase **Figura 2**).

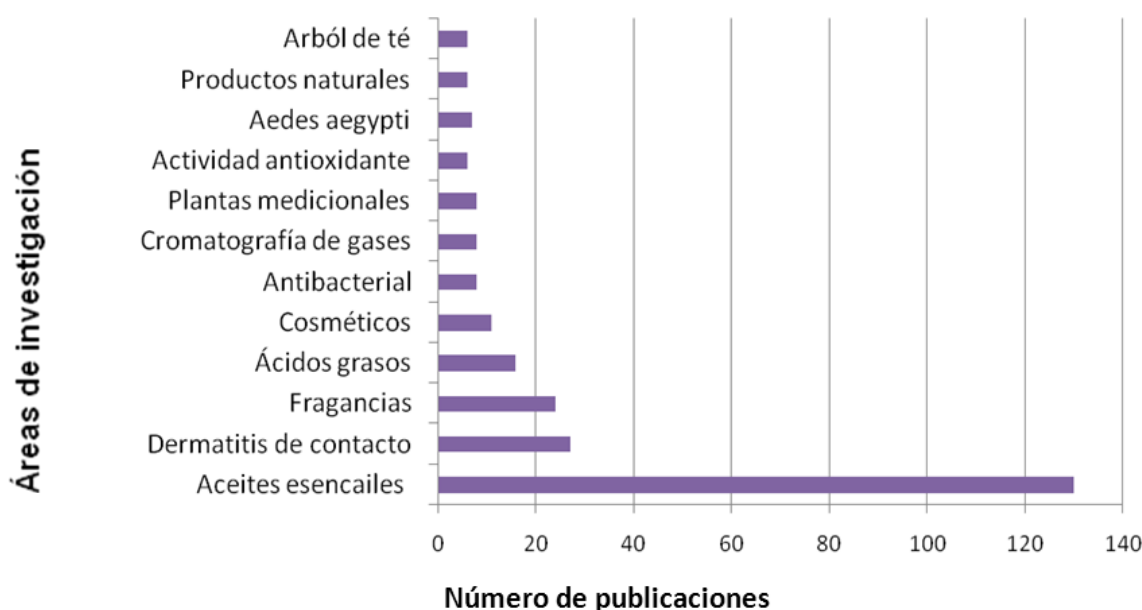


Figura 2. Número de publicaciones, por áreas de investigación, sobre el uso de los AE en la elaboración de jabones. Periodo de observación: 1990-2013. Base de datos: *Science Direct*. Fecha de consulta: julio 30 de 2012. Ecuación de búsqueda: Pub – date: 1989 and (“essential oil*”) and soap.

Desde la década de los noventa, se ha mostrado el aumento de publicaciones científicas sobre AE y todo lo relacionado con su actividad biológica en la aplicación de diversas áreas; siendo las revistas especializadas, en donde más se ha publicado sobre el tema (Véase **Figura 3**).

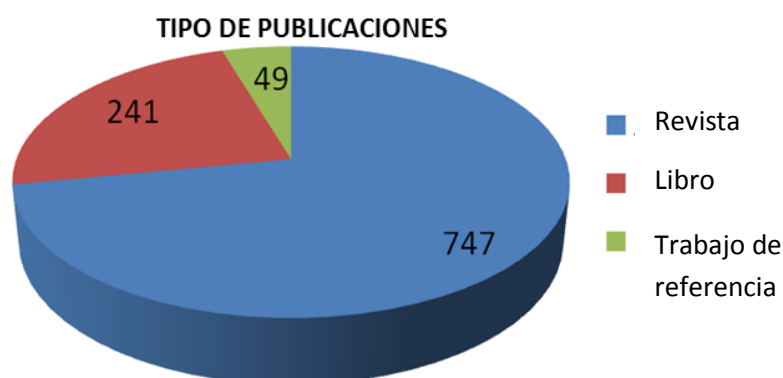


Figura 3. Número de investigaciones relacionadas con el uso de los AE como aditivos en la producción de jabones. Periodo de observación: 1990-2013. Base de datos: *Science Direct*. Fecha de consulta: julio 30 de 2012. Ecuación de búsqueda: Pub – date: 1989 and (“essential oil*”) and soap.

En los años sesenta se aisló del romero (*Rosmarinus officinalis*), un antioxidante natural, que más adelante fue identificado como carnosol [35], que es un diterpeno fenólico; de igual manera, se aisló otro compuesto de estructura similar, el cual recibió el nombre de rosmanol [10].

Teniendo en cuenta, que los extractos del romero poseían la mayor actividad antioxidante en muchos sustratos grasos, esta planta fue estudiada por muchos investigadores y se registraron varias patentes: una, para obtener una fracción antioxidante extrayendo la planta con un aceite [6]; otra, por un proceso de extracción seguido de una destilación a vacío, y otra, por destilación molecular en dos etapas [10].

Baratta, M.T. *et al.* [5], en 1998, determinaron las actividades antimicrobial y antioxidante de algunos aceites esenciales, entre ellos, se destacó el aceite de *Rosmarinus officinalis*, por su alto potencial de inhibición de crecimiento de hongos y bacterias, así como por su gran contenido de compuestos fenólicos

que le confieren una buena capacidad antioxidante comparada con la de otros antioxidantes sintéticos como el BHT. Nogala-Kalucka *et al.* [31], han determinado la eficiencia del extracto de romero para interactuar con radicales libres formados en emulsiones acuosas del ácido linoléico con β -caroteno y, por medio de un modelo cinético, evaluaron su actividad antioxidante.

En los últimos años, algunos estudios se han dirigido hacia la búsqueda de actividad de tipo antimicrobiana, citotóxica y antiviral de los aceites esenciales derivados de especies de *Salvia* y sus principales componentes. Tal es el caso de *S. fruticosa*, *S. tomentosa*, *S. officinalis*, *S. triloba* o *S. aucheri*, *S. aramiensis* y *S. pilífera*, donde los principales componentes identificados (alcanfor, tuyona y 1,8-cineol), en algunos de sus aceites esenciales, presentaron actividad antimicrobiana contra diversas cepas bacterianas, o actividad antiviral, contra el virus del herpes tipo I, el cual se presenta en algunos seres humanos [26].

De las hojas de *Salvia officinalis*, se obtiene un AE rico en tuyona (30–50%) y cineol (14%); además, los extractos contienen, pineno, linalol, salveno, y luteolina. Por sus propiedades antisépticas y cicatrizantes, podría ser adecuado para el tratamiento de las anomalías de la piel. Su riqueza en fragancia lo hace aplicable en la industria de la perfumería, y en la elaboración de jabones, champús, entre otros [24].

En varias publicaciones, se ha demostrado que *Thymus vulgaris* L. presenta diversas actividades biológicas, con acción antiséptica, expectorante, carminativa y antiespasmódica, relacionadas con el contenido de timol y carvacrol, los cuales constituyen del 40 al 50 % del AE utilizado como antiséptico, saborizante y antioxidante en diversos productos [13,18].

1.2 HISTORIA DEL JABÓN

La necesidad de limpiar parece ser tan antigua como las civilizaciones. A lo largo de la historia, el ser humano ha empleado gran variedad de materiales jabonosos para lavar su cuerpo, sus elementos de uso diario y, en general, para mantener limpias todas aquellas cosas que requieren de pulcritud, higiene, y buena presentación estética. Las primeras sustancias no eran jabones auténticos, sino materiales y productos químicos (actualmente conocidos como “saponinas”) extraídos de diversas fuentes vegetales. Es probable que su uso inicial fuera accidental y que se descubriera mezclando un puñado de plantas que contenían saponinas con la colada en la orilla de un riachuelo [29].

Se presume, que fue en Roma donde apareció el jabón por primera vez. Fue por casualidad, al contemplar cómo brotaba espuma al caer la lluvia sobre la grasa de los animales sacrificados. Desde hace más de 5000 años, los israelíes ya lo incluían sobre sus propias leyes para mantener la higiene personal. En los últimos 20 años, la investigación de las plantas con principios aromáticos y sus aceites esenciales se ha centrado principalmente en su autenticidad, sus efectos biocidas y su actividad antioxidante y farmacológica. Los consumidores e industriales se han interesado en la seguridad de los aditivos sintéticos; lo que ha incrementado la demanda y las investigaciones de los productos naturales, que podrían tener un efecto benéfico sobre la salud [2].

En el siglo I d.C., el historiador romano Plinio describió las diversas formas de jabones duros y blandos que contenían colorantes. Eran conocidos como “*rutilandis capilis*” y se utilizaban por las mujeres romanas para limpiar sus cabellos y teñirlos de colores brillantes.

En 1783, en forma accidental, se descubrió la reacción que se produce hoy en el proceso de fabricación del jabón: cuando el aceite de oliva se hirvió con el óxido de plomo, produjo una sustancia de sabor dulce que en ese entonces se denominó *olsüss*, pero que hoy se conoce como “glicerina”. Este descubrimiento permitió, en 1823, investigar la naturaleza química de las

grasas y los aceites que se usan para fabricar el jabón. Así, se descubrió que las grasas simples no se combinan con el álcali para formar el jabón, sino que se descomponen antes para formar ácidos grasos y glicerol [9].

Por otro lado, en 1791, el químico francés Nicolás Leblanc inventó un proceso para la obtención de carbonato de sodio, utilizando sal ordinaria; esto revolucionó la fabricación del jabón más adelante. Para los últimos años del siglo XIX, se introdujo el calentamiento con vapor y el batido con transmisión mecánica, lo que permitió un trabajo más rápido y seguro [2].

1.3 PROCESO PRODUCTIVO PARA LA OBTENCIÓN DE JABONES

Como ya se ha mencionado, la preparación del jabón es una de las más antiguas reacciones químicas de las que se tienen constancia, junto con la fermentación y las aleaciones. Durante mucho tiempo, fue una labor artesanal que se realizaba en las casas. Para ello, se empleaban, como materias primas, las cenizas vegetales y grasas animales o vegetales.

Para la producción industrial de jabones se utilizan sales de potasio y de sodio provenientes de ácidos grasos como el oleico, esteárico, láurico, de palmiste, de soya, entre otros. El sebo es el principal material graso empleado en la producción de jabones; alcanza cerca de tres cuartas partes del total de materiales grasos empleados en la industria de jabones. Este se mezcla con otro tipo de aceites, por ejemplo, el aceite de palmiste y de coco, lo cual contribuye a que el jabón sea más hidrosoluble.

Al igual que los detergentes, los jabones contienen elementos constructores que fortalecen su acción limpiadora. En este caso, es frecuente el uso de productos como la soda cáustica, la sal, el potasio cáustico, el silicato de sodio y el bicarbonato de sodio. Por lo general, los jabones no contienen muchos aditivos; sin embargo, es usual la utilización de fragancias para que el producto tenga un aroma agradable.

El proceso productivo de jabones se inicia por hidrólisis de las grasas y aceites naturales. Luego, pasa a la etapa de la saponificación que consiste en fundir

las materias primas (grasas o aceites) en calderas de forma cilíndrica y fondo cónico. Se agrega una solución concentrada de un hidróxido fuerte (lejía o sosa cáustica). La masa se mezcla y agita mediante vapor de agua inyectado en el seno del líquido. Posteriormente, pasa a la cocción para completar la saponificación (4-6% no saponificado); en esta etapa, se aplican vapor directo y demás sustancias químicas hasta la obtención de gránulos secos a presión, de aspecto traslúcido.

La reacción entre una grasa y un álcali, conocida por reacción de saponificación, produce además de jabón, glicerol que también se aprovecha (Ver **Figura 4**).

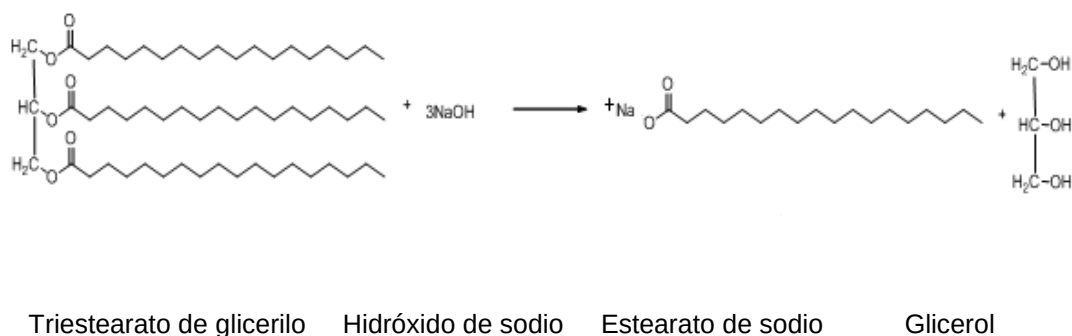


Figura 4. Reacción de saponificación

La química moderna ha refinado las materias primas, así como la técnica, y sus propiedades; pero la fabricación de jabón es básicamente igual a la de hace dos mil años. En una reacción química, llamada “saponificación”, un ácido graso de origen animal o vegetal, se combina con una solución de agua y de un álcali (hidróxido de sodio o potasio), para producir jabón y glicerina [29].

1.4 MATERIAS PRIMAS

1.4.1 Aceite de palmiste

El aceite de palmiste se extrae de la almendra de la semilla del fruto de la palma. Representa entre un 3-6 % del peso fresco del racimo. Su composición química es completamente diferente a la del aceite de palma rojo. Este aceite vegetal es semisólido a temperatura ambiente. Tras su transformación, es el más utilizado por la industria cosmética (jabones y cremas), la industria química (barniz, pintura, resina), la fabricación de detergentes y también en la industria agroalimentaria [1].

1.4.2 Hidróxido de potasio

El hidróxido de potasio (también conocido como potasa cáustica) es un compuesto químico inorgánico de fórmula KOH , es una base fuerte muy utilizada para fines industriales y comerciales. La mayoría de las aplicaciones explotan su reactividad con ácidos y su corrosividad natural.

El hidróxido de potasio se emplea en la producción de carbonato y fosfatos de potasio, fertilizantes líquidos, jabones y detergentes de potasio, teniendo una mayor importancia en la producción de carbonato de potasio, el cual se usa principalmente en la fabricación de vidrios especiales, incluyendo los tubos de televisión. El carbonato de potasio se puede encontrar en alimentos, jabones, tintes y pigmentos, compuestos de calderas, baños de galvanoplastia, extracción de dióxido de carbono de las corrientes de gas industrial, agentes deshidratantes, esmaltes de titanio, coloración en cubas e impresión de textiles, polvos para extinguidores de incendios, y como sustancia química intermedia para la producción de varios productos químicos del potasio, incluyendo acetato de potasio, bisulfito, ferrocianuro, fluoruro, silicato y otros.

1.5 ACEITES ESENCIALES EN LA INDUSTRIA COSMÉTICA

Al ser aplicados en la piel, los AE regulan la actividad de los vasos capilares y restauran la vitalidad de los tejidos. Son agentes rejuvenecedores naturales, facilitan la eliminación de sustancias o materias de desperdicio y de células muertas y promueven la regeneración de células nuevas y saludables (poder citofiláctico). Las esencias más agradables (especialmente aceites florales) son las más útiles para el cuidado de la piel. Pueden emplearse para baños faciales, compresas, mascarillas, como también pueden añadirse a cualquier clase de loción, crema cutánea, gel, jabones, maquillaje, entre otros [26].

Para este tipo de industria, se pueden citar como ejemplo los aceites de geranio, lavanda, rosas y patchoulí.

1.6 GENERALIDADES DE LOS ACEITES ESENCIALES

Los aceites esenciales son fracciones líquidas volátiles, obtenidos de partes de plantas, las cuales proporcionan aroma, y son importantes para la industria cosmética (perfumes y aromatizantes), de alimentos (condimentos y saborizantes) y farmacéutica. En su gran mayoría, son de olor agradable aunque existen algunos de olor relativamente desagradable [40].

Se clasifican con base en diferentes criterios: consistencia, origen y naturaleza de los componentes mayoritarios.

De acuerdo con su consistencia, los aceites esenciales se clasifican en esencias fluidas, bálsamos y oleorresinas; las esencias fluidas son líquidos volátiles a temperatura ambiente; los bálsamos son de consistencia más espesa, son poco volátiles y propensos a sufrir reacciones de polimerización y las oleorresinas tienen el aroma de las plantas en forma concentrada y son, típicamente, líquidos muy viscosos o sustancias semisólidas [4].

Sin embargo, teniendo en cuenta su origen, estos aceites se clasifican como naturales, artificiales y sintéticos. En cuanto a los naturales, son los que se

obtienen directamente de la planta, sin ningún tipo de modificación. Los artificiales se producen por medio de mezclas o enriqueciendo la esencia con uno o varios de sus componentes [45].

Existe otro tipo de aceites sintéticos, los cuales son los elaborados por la combinación de sus componentes, que, a su vez, son sintetizados químicamente; estos son más económicos y, por lo tanto, son mucho más utilizados como aromatizantes y saborizantes.

Otra clasificación se da por la composición química de las sustancias mayoritarias presentes en el aceite; es decir, aquellos ricos en monoterpenos se denominan aceites esenciales de tipo monoterpenoides (e.g., hierbabuena, albahaca, salvia, etc.); en sesquiterpenos, que son los aceites esenciales de tipo sesquiterpenoides (e.g., copaiba, pino, junípero, etc.) y en fenilpropanos, que son los aceites esenciales de tipo fenilpropanoides (e.j., clavo, canela, anís, etc.) [13].

Para extraer estos principios volátiles, existen diversos procedimientos. Entre ellos figuran: destilación por arrastre con vapor, hidrodestilación asistida por la radiación de microondas (MWHD, por sus siglas en inglés). La técnica más empleada, que ha sido reportada hasta la fecha en muchos trabajos de investigación, ya que corrobora su efectividad, es MWHD, siendo ésta la que favorece la composición y el rendimiento de los aceites esenciales; puesto que se obtienen los AE puros, libres de solventes, a bajos costos y sin alteraciones químicas. La obtención con solvente presenta desventaja, debido a que su eliminación aumenta los costos energéticos y los riesgos de pérdida de compuestos volátiles durante su obtención [13].

1.7 ANTIOXIDANTES SINTÉTICOS

1.7.1 Butilhidroxitolueno (BHT)

Es un antioxidante sintético, procedente de la industria petrolífera, que se usa como aditivo alimentario. Esta sustancia no es mutagénica, pero es capaz de

modificar la acción de ciertos carcinógenos. Se elimina en la orina combinado a otras sustancias, por una vía metabólica común a muchos otros compuestos extraños al organismo [17].

1.8 ANTIOXIDANTES NATURALES

Numerosas plantas se han identificado como fuentes de componentes fenólicos con actividad antioxidante. La lista de antioxidantes naturales está creciendo como resultado de las diferentes investigaciones que se han llevado a cabo para aislar e identificar estos componentes en las plantas. Algunos derivados flavonoides presentes en el arroz, la malta, la cebada, las hierbas y las especias, se han identificado como potentes antioxidantes. Su actividad antioxidante se basa primero en la presencia de compuestos fenólicos, especialmente, ácidos fenólicos, y flavonoides pero, su fuerte sabor puede ser una limitante en la aplicación para ciertos productos. Los investigadores han tratado de aislar e identificar aquellos componentes de estas hierbas y especias que también pueden aportar el aroma agradable. Hasta la fecha, en el comercio solo están disponibles los extractos antioxidantes sin sabor, olor y color del romero y la salvia [48].

Actualmente, el uso de extractos de romero y salvia están aumentando significativamente con la creciente demanda, por parte del consumidor, por aditivos alimenticios de origen natural. Estos extractos, son más costosos que los antioxidantes sintéticos.

1.8.1 Vitamina E

Existen varias teorías sobre la función de la vitamina E en el organismo, la más aceptada es que la vitamina E actúa coordinada con otras moléculas y enzimas, para la defensa de las células (especialmente, glóbulos rojos, células musculares y células nerviosas) frente a los efectos nocivos producidos por los radicales libres, se considera actualmente un importante antioxidante, que aporta sustanciales beneficios al organismo [39].

Esta actividad antioxidante radica en su capacidad de protección de las membranas celulares, acción que realiza impidiendo la oxidación por los radicales libres. Dicha oxidación llevaría a una degradación del organismo, especialmente, a la aparición de enfermedades cardíacas o posibles cánceres. Esta vitamina, junto con las vitamina A y C, forma el grupo de las vitaminas antioxidantes. El mecanismo de acción antioxidante consiste en la interrupción de las etapas de propagación del proceso de autooxidación y en la reacción con el oxígeno singulete en el proceso de fotooxidación. En la autooxidación, los tocoferoles interrumpen las reacciones en cadena mediante la donación de un hidrógeno al radical peroxilo originando un radical ariloxilo y un hidroperóxido [7]. Los radicales ariloxilo resultantes se estabilizan por deslocalización electrónica de la estructura fenólica, reaccionando fácilmente con otros radicales peroxilo para formar productos estables, resultando poco probable que abstraigan átomos de hidrógeno de moléculas lipídicas intactas. Los múltiples productos de oxidación de los tocoferoles, que pueden formarse a partir de los radicales ariloxilo mediante una complicada gama de reacciones, incluyendo reacciones bimoleculares de radicales ariloxilo para formar dímeros, constituyen un tema de estudio complejo de gran importancia debido a que no se conoce claramente su contribución al efecto antioxidante [32].

1.9 RADICALES LIBRES

Son átomos o grupos de átomos que tienen un electrón desapareado o libre, por lo que son muy reactivos, ya que tienden a captar un electrón de moléculas estables con el fin de alcanzar su estabilidad electroquímica. Una vez que el radical libre ha conseguido sustraer el electrón que necesita, la molécula estable que se lo cede se convierte, a su vez, en un radical libre por quedar con un electrón desapareado, iniciándose así una verdadera reacción en cadena que, en sistemas biológicos, puede destruir nuestras células.

La vida media biológica del radical libre es de microsegundos, pero tiene la capacidad de reaccionar con todo lo que esté a su alrededor provocando un gran daño a moléculas, membranas celulares y tejidos. Los radicales libres no

son intrínsecamente deletéreos; de hecho, nuestro propio cuerpo los produce en cantidades moderadas para luchar contra bacterias y virus. Estas acciones se dan constantemente en las células de nuestro cuerpo, proceso que debe ser controlado con una adecuada protección antioxidante [44].

1.10 ESTRÉS OXIDATIVO

Especies reactivas del oxígeno (ERO) es el término que se aplica colectivamente a las moléculas radicales y no radicales, que son agentes oxidantes y son fácilmente convertidos a radicales. En la última década, se han acumulado evidencias que permiten afirmar que los radicales libres, y el conjunto de especies reactivas que se les asocian, juegan un papel en el equilibrio homeostático, que es el normal funcionamiento de los mecanismos de regulación que conservan el estado fisiológico normal de los organismos. En los mamíferos, son varios los procesos fisiopatológicos causados por estas especies tales como los mecanismos patogénicos asociados a virus, bacterias, parásitos y células anormales. Cuando el aumento del contenido intracelular de ERO sobrepasa las defensas antioxidantes de la célula, se produce el estrés oxidativo, a través del cual se induce daño a moléculas biológicas como lípidos, proteínas y ácidos nucleicos. El estrés oxidativo se presenta en diversos estados patológicos, en los cuales se altera la funcionalidad celular, contribuyendo o retroalimentando el desarrollo de enfermedades degenerativas como la aterosclerosis, cardiomiopatías, enfermedades neurológicas y cáncer [17].

1.10.1 Especies reactivas de oxígeno (ERO)

El oxígeno es una molécula con propiedades oxidantes, hasta el punto que en las células, que lo utilizan para su metabolismo, es el principal responsable de la producción de especies reactivas del oxígeno (ERO). Sin embargo, no todas las especies oxidantes tienen un origen endógeno; la existencia de factores exógenos, como la radiación solar, toxinas fúngicas, pesticidas o xenobióticos,

pueden incrementar su nivel. En condiciones normales, las células metabolizan la mayor parte del oxígeno (O_2) con la formación de agua sin generación de intermediarios tóxicos, mientras que un pequeño porcentaje (ca, 5%) forman tres intermediarios altamente tóxicos, dos de los cuales son propiamente radicales (el anión superóxido y el hidroxilo). En situaciones en las que exista una mayor actividad metabólica (etapas del crecimiento, desarrollos activos o procesos inflamatorios) ocurre una mayor demanda tisular de O_2 , y parte de él se metaboliza, generándose un alto número de sustancias oxidantes.

La segunda gran fuente de ERO también es endógena y está constituida por el metabolismo de las células defensivas tales como los polimorfonucleares, los monocitos sensibilizados, los macrófagos y los eosinófilos. Para cumplir su misión, estas células están dotadas de diversas proteínas, así como de vías metabólicas que generan varias especies químicamente reactivas como peróxido de hidrógeno, radicales superóxido e hidroxilo, cuyo fin último es lesionar y destruir elementos extraños. En condiciones normales, estas especies reactivas son producidas y utilizadas en compartimentos celulares como los lisosomas que, aunque en el interior de los fagocitos, no tienen por qué dañar a las células, siempre y cuando los mecanismos antioxidantes de éstas funcionen adecuadamente.

Los oxidantes pueden también proceder del exterior, bien sea directamente o como consecuencia del metabolismo de ciertas sustancias. Algunos ejemplos lo constituyen la contaminación ambiental, la luz solar, las radiaciones ionizantes, una concentración de oxígeno demasiado elevada, los pesticidas, metales pesados, la acción de ciertos xenobióticos (cloroformo, paracetamol, etanol, tetracloruro de carbono, violeta de genciana) o el humo de tabaco. Sin embargo, el papel de los radicales libres no ha de ser abordado sólo desde una perspectiva negativa o patológica. Estos compuestos cumplen también una función fisiológica en participar, en condiciones normales, en la defensa frente a las infecciones, en el metabolismo normal, en la fagocitosis e inflamación [50].

1.11 PEROXIDACIÓN LIPÍDICA

Todas las células están rodeadas por una membrana que las separa del medio extracelular. La membrana celular contiene proteínas que juegan papeles vitales en la interacción de la célula con otras células, hormonas y agentes reguladores del líquido extracelular. La estructura básica de todas las membranas biológicas es la bicapa lipídica, la que funciona como una barrera de permeabilidad selectiva. Éstas son ricas en ácidos grasos poliinsaturados (PUFA, por sus siglas en inglés) y, por lo tanto, vulnerables al ataque de radicales libres que traen como consecuencia la peroxidación lipídica. Esta es generalmente inducida por un radical hidroxilo que sustrae un hidrógeno a la cadena lateral de un ácido graso formando un radical carbonado, lo que genera una cadena de reacciones oxidativas. Los antioxidantes, pueden formar complejos estables impidiendo la acción catabólica de los radicales libres en la membrana celular [19].

Los mecanismos homeostáticos, con que el organismo enfrenta el daño oxidativo, que habitualmente causan estas especies, son numerosos y diversos, lo que refleja la multiplicidad de formas de radicales libres y especies reactivas, como también los numerosos compartimientos donde actúan en el organismo y las propiedades físicas de éstos [22].

1.12 ESPECIES VEGETALES

1.12.1 *Pogostemon cablin*

Comúnmente conocida como patchulí, la planta, perteneciente a la familia Lamiaceae, es originaria del sureste de Asia, y en Filipinas crece en zona silvestre. El cultivo de *Pogostemon cablin* se encuentra en India e Indonesia, razón por la cual, actualmente, son sus productores principales. Es una hierba perenne, hasta de un metro de alto, de hojas verde claro, triangulares, con los bordes lobados irregularmente y cubiertas de tricomas, especialmente, en el

lado inferior. Las flores moradas aparecen raramente; la planta en cultivo se propaga por estacas [33].

Las hojas de *Pogostemon cablin*, y otras especies del mismo género, se utilizan para extraer aceites aromáticos, por destilación. Los aceites tienen usos en perfumería y, en menor proporción, en medicina.

Otras especies de *Pogostemon*, *P. heyneanus* y *P. hortensis*, muy afines a *Pogostemon cablin*, se utilizan con el mismo propósito, aunque su producto es de calidad inferior [46].



Figura 5. Planta de *Pogostemon cablin*. Cultivo en el Complejo Agroindustrial Piloto CENIVAM. UIS, Bucaramanga. Foto: María E. García, junio de 2012.

1.12.2 *Rosmarinus officinalis*

Rosmarinus officinalis, conocido popularmente como romero, pertenece a la familia Lamiaceae; es un arbusto leñoso, de aspecto espigado, que crece entre 50 a 150 cm de alto. Su origen es de Mediterráneo; se cultiva en lugares con

terrenos secos y rocosos. El agradable aroma del romero y sus propiedades digestivas, lo convierten en un condimento ideal para platos fuertes y grasos. De las hojas, se obtienen perfumes para jabones y otros productos [4].



Figura 6. Planta de *Rosmarinus officinalis*. Cultivo en el Complejo Agroindustrial Piloto CENIVAM. UIS, Bucaramanga. Foto: María E. García, junio de 2012.

1.12.3 *Salvia officinalis*

La salvia, cuyo nombre significa “salvar”, pertenece a la familia de las Labiadas, es una planta de origen Mediterráneo, que alcanza hasta 80 cm de altura, de tallo erecto, cuadrangular y leñoso; de hojas muy aromáticas, de ellas, se extrae el aceite esencial. Posee un aroma fuerte, herbáceo y penetrante; por lo cual suele emplearse en cosmética y culinaria.

En estudios realizados sobre metabolitos secundarios presentes en salvia, se puede afirmar, que contiene flavonoides, ácidos fenólicos, cetonas terpénicas y

otros derivados terpénicos. Tiene propiedades antiespasmódicas, antisépticas, astringentes y antioxidantes [15].



Figura 7. Planta de *Salvia officinalis*. Cultivo en el Complejo Agroindustrial Piloto CENIVAM. UIS, Bucaramanga. Foto: María E. García, junio de 2012.

1.12.4 *Thymus vulgaris*

Esta especie vegetal, conocida popularmente como tomillo, es una planta aromática de la familia Labiatae, de alta distribución, de hasta 40 cm de altura, con tallos leñosos y grisáceos. Se cultiva en Europa central y meridional, y se emplea como condimento y planta medicinal. Es una especie muy variable, tanto en su fenología como en la composición química de su aceite esencial, habiéndose detectado siete quimiotipos diferentes, de los cuales, el quimiotipo “timol”, es el más abundante [18].



Figura 8. Planta de *Thymus vulgaris*. Cultivo en el Complejo Agroindustrial Piloto CENIVAM. UIS, Bucaramanga. Foto: María E. García, junio de 2012.

2. PARTE EXPERIMENTAL

2.1 REACTIVOS, MATERIALES Y EQUIPOS DE LABORATORIO

2.1.1 Reactivos

Los reactivos y disolventes, utilizados en la realización de este estudio, pueden observarse en la **Tabla 1**.

Tabla 1. Lista de reactivos y disolventes usados en el proyecto.

REACTIVOS / SOLVENTES	PUREZA / CONCENTRACIÓN	PROVEEDORES
Hidróxido de potasio	99.9 %	Mercaquímicos (Bucaramanga)
Ácido cítrico	99.5 %	Mercaquímicos (Bucaramanga)
Alcohol etílico	96 %	Mercaquímicos (Bucaramanga)
Solución de fenolftaleína	1 %	Mercaquímicos (Bucaramanga)
Ácido clorhídrico	0.1 N	Mercaquímicos (Bucaramanga)
Pentaflúorfenilhidracina (PFPH)	97 %	Aldrich Chemical Co., Milwaukee WI 53233, EE.UU.
Butilhidroxitolueno (BHT)	99 %	Sigma Chemical Co., St. Louis, MO 63178, EE.UU.

Tabla 1. Continuación.

α-Tocoferol	97 %	Sigma Chemical Co., Milwaukee T 3634, EE.UU.
Hexanal	98 %	Aldrich Chemical Co., Milwaukee WI 53233, EE.UU.
Metanol	100%	Mallinckrodt, Phillipsburg, NJ 08865 EE.UU.
Diclorometano	100%	Sigma Chemical Co., Milwaukee, EE.UU.
Agua destilada	HPLC	CROM-MASS

2.1.2 Materiales

Los siguientes materiales se emplearon para realizar esta investigación.

- Vasos de precipitado de 50, 250, 600 y 1000 mL;
- Recipiente en acero inoxidable con capacidad aproximada de 2L;
- Batidora para el hogar;
- Bolsas *ziploc*;
- Envases plásticos para jabón líquido con cremera de 250 mL;
- Papel indicador de pH;
- Embudo *Bücher* de 250 mL;

- Vidrio de reloj;
- Erlenmeyer de 250 mL;
- Bomba de vacío;
- Bureta de 50 mL;
- Termómetro;
- Micropipeteador 25-250 μ L (BRAND GMBH Co, Wertheim, Alemania);
- Puntas plásticas para las micropipetas (BRAND GMBH Co, Wertheim, Alemania);
- Pipetas Pasteur en vidrio (BRAND GMBH Co, Wertheim, Alemania);
- Tubos cónicos de poli(propileno) de 1.5 mL;
- Barras magnéticas (2 x 10 mm, 1 x 5 mm);
- Vaso refrigerante (10 cm x 80 mm y 10 cm x 70 mm, ancho 1.8 mm);
- Consumibles cromatográficos (septa, gases, viales de 1.5 mL, entre otros);
- Fibra para SPME de PDMS/DVB, 65 μ m, 57310-U. Sigma Chemical Co., Supelco Inc., Bellefonte, Pennsylvania, EE.UU;
- Holder manual para SPME. Sigma Chemical Co., Supelco, Bellefonte, Pennsylvania, EE.UU.

2.1.3 Material vegetal

El romero, la salvia y el tomillo se recolectaron en la zona de cultivos experimentales, localizada en el municipio de Sucre (Santander); la especie vegetal patchoulí fue cultivada y obtenida en el Complejo Agroindustrial Piloto de CENIVAM, ubicado en la Universidad Industrial de Santander, en la ciudad de Bucaramanga.

2.1.4 Aceite de palmiste

El aceite de palmiste en estado sólido, a temperatura ambiente, fue suministrado por Saceites, en la ciudad de Bucaramanga, en presentación de 5 L.

2.1.5 Equipos menores

- Balanza de precisión (Mettler Toledo AG258, Zurich, Suiza);
- Balanza de precisión BA310S Sartorius Basis, Göttinger, Alemania;
- Plancha de calentamiento con agitación magnética (SCHOTT MR 1065, Schott-Geräte GmbH, D-65719 Hofheim, Alemania);
- Baño circulatorio de refrigeración (Fisher Scientific, Model 901, Pittsburg, EE.UU.).

2.1.6 Equipos mayores

- Cromatógrafo de gases *Agilent Technologies* 6890 *Plus* (Palo Alto, CA, EE.UU), acoplado a un detector selectivo de masas *Agilent Technologies* MSD 5975 Network, equipado con puerto de inyección *split/splitless* (250°C, relación split 1:30) e inyector automático *Agilent* 7863.

- Cromatografo de gases *Hewlett – Packard* (Palo Alto, CA, EE.UU.), HP 6890 *Plus*, con control electrónico de presión, dotado con microdetector de captura de electrones (μ -ECD, 63 Ni, 280°C), puerto de inyección *split/splitless* (250°C, relación *split* 1:10) y sistema de datos HP ChemStation HP, Rev. A.06.03.
- Planta piloto diseñada exclusivamente para elaboración de jabones, que consta de un reactor y un tanque de glicerina, con capacidad de 26 kg de jabón por lote.

2.2 METODOLOGÍA

En la **Figura 9**, se resumen las etapas desarrolladas en la presente investigación, con el fin de evaluar la capacidad de protección de los aceites esenciales de *Pogostemon cablin*, *Rosmarinus officinalis*, *Salvia officinalis* y *Thymus vulgaris* contra la oxidación lipídica, en un jabón líquido formulado y elaborado en una planta piloto para la fabricación de jabones.

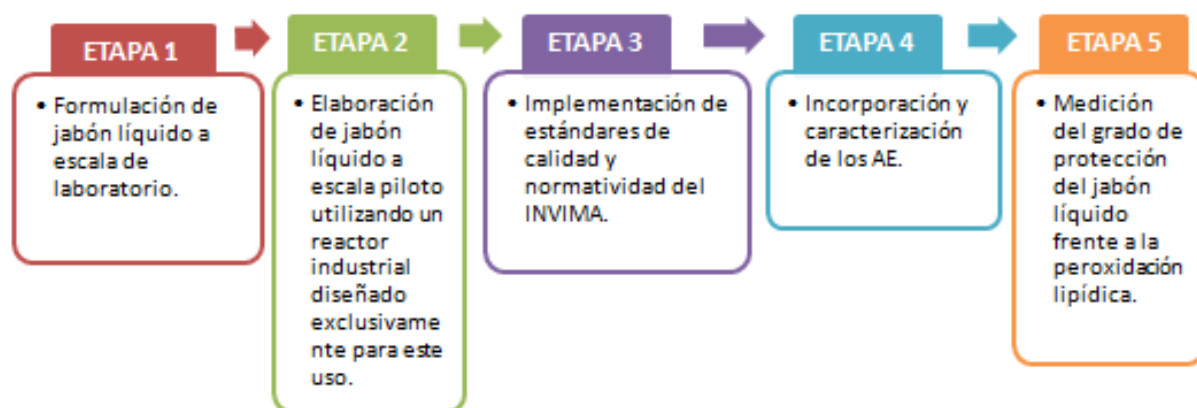


Figura 9. Metodología seguida en la presente investigación.

2.2.1 Obtención de los AE

Los aceites esenciales de *Rosmarinus officinalis*, *Salvia officinalis* y *Thymus vulgaris*, fueron obtenidos por arrastre con vapor, en un destilador industrial construido por el Centro de Investigación de Excelencia CENIVAM, con capacidad de carga de 300 kg, el cual fue puesto en marcha en el centro de acopio de la comunidad campesina de la Vereda El Retiro en el municipio de Sucre (Santander).

El aceite esencial de *Pogostemon cablin* fue obtenido por hidrodestilación asistida por la radiación de microondas (MWHD).

2.2.2. Formulación para la preparación de jabón líquido

2.2.2.1 Método para la fabricación de la pasta base. Antes de iniciar cualquier operación, se comprobó que las conexiones de las líneas y equipos adicionales unidos al reactor (Véase **Figura 10**), se encontraran del modo indicado. La planta piloto consta de una caldera, la cual es la fuente de calentamiento y debe encenderse teniendo en cuenta los pasos descritos en su manual, y también de un termostato, que indica la temperatura a la que se encuentra el sistema.

Teniendo en cuenta lo descrito anteriormente, se pesó el aceite de palmiste, materia prima del jabón, se añadió al reactor y se subió la temperatura hasta alcanzar los 70°C.

En un recipiente de acero inoxidable, se preparó la solución de álcali. Esto se hizo, midiendo una proporción de agua y agregando sobre ésta el hidróxido de potasio (KOH), previamente pesado, hasta observar que se disolviera completamente (Nota: La temperatura ascendió casi al instante a unos 80°C).

Posteriormente, se dejó enfriar la solución cáustica hasta unos 70°C y, con un chorro fino y regular, se añadió al aceite de palmiste que se encontraba en el reactor, a la misma temperatura. Se mantuvo agitación lenta y constante a una velocidad entre 45 y 50 rpm.

La mezcla se agitó, y se aumentó la velocidad a 60 y 65 rpm, hasta que el jabón se puso bastante viscoso. Al poco tiempo, este empezó a espesarse, y el espeso caldo tomó la consistencia pegajosa de la melcocha. La pasta se agitó, durante 6 horas, para cocerse por completo, manteniendo un rango de temperatura constante entre 70 y 72°. Transcurrido este tiempo, se detuvo la agitación y se abrió la llave de la parte inferior del reactor, para comprobar que no hubiera una capa acuosa en el fondo del recipiente, lo que demostró que la solución de álcali no se separó y que la pasta quedó completamente cocida (Nota: En el caso que se presenten dos fases y haya separación de álcali, se agita nuevamente y este no tardará mucho en volverse a mezclar).

Al finalizar las 6 horas de cocción de la pasta, se buscaron indicios de ácidos grasos libres. Esto se hizo disolviendo, 28 g de jabón, en 57 g de agua en ebullición. El líquido caliente puede estar traslúcido, pero lo que realmente determina si el jabón se coció completamente fue el aspecto de la solución después de haberse enfriado. Una muestra enfriada, que presente un intenso aspecto lechoso, indica que la pasta todavía contiene ácidos grasos libres no neutralizados y que hay que agitar nuevamente, por un lapso de 30 minutos.



A

B



C

Figura 10. Reactor diseñado exclusivamente para la elaboración de jabón con un soporte de carga de 26 kg por lote de jabón. A. Exterior del reactor; B. Caja de control de temperatura y velocidad; C. Interior del reactor. Salón de máquinas Sombra El Terrible, Complejo Agroindustrial Piloto, CENIVAM. Foto: María E. García, marzo de 2012.

2.2.2.2 Preparación del jabón líquido. Después de comprobar que no hubo ácidos grasos libres, la pasta base para jabón estuvo lista para la disolución. La pasta se colocó en una bolsa de plástico y se guardó en una nevera, para utilizarla cada vez que sea necesario. Para comenzar la dilución, se puso a hervir agua y a continuación se añadió a la pasta; esta comienza a disolverse a medida que se va calentando dentro del agua. El recipiente se cubre y se disminuye la temperatura a 50°C, dejándola constante por una hora o un poco más; el proceso es sencillo y en él no se produce espuma.

Una vez se comprobó que el jabón se había diluido completamente, se tuvo que añadir ácido cítrico para bajar el pH a neutro (pH = 7). Esto se hizo hirviendo agua en un recipiente y, posteriormente, adicionando el neutralizante, en este caso, ácido cítrico; jamás se debe añadir directamente al jabón, pues las reacciones localizadas de ácido cítrico pueden separar el jabón del resto de la solución y originar una nevada de copos blancos suspendidos. Cuando se diluyó completamente el ácido cítrico en el agua, y aún hirviendo, se añadió esta solución a la dilución del jabón que se encontraba, también, a temperatura de ebullición, y se agitó suavemente a unas 45 rpm hasta que homogeneizó completamente el jabón. Se requiere de aproximadamente 30 minutos de agitación suave.

Inmediatamente después de la dilución y neutralización, mientras el jabón continuó en calentamiento y agitación, se añadieron los colores, conservantes y aceites esenciales. Esto se hizo en caliente, ya que, en frío, no se disuelven completamente, lo que provoca una superficie de grasa. Los aceites esenciales se añadieron a una temperatura de 50°C, y aunque se produjo algo de enturbiamiento inmediatamente después de añadir los aceites esenciales, el producto fue traslúcido al cabo de unos días.

Se dejó enfriar el jabón y, cuando estuvo completamente frío, se vertió en envases plásticos y se taparon muy bien. El jabón se dejó reposar por una semana (Véase **Figura 11**).



Figura 11. Jabón líquido sin aditivos (izquierda), jabón líquido con aceites esenciales (derecha). Laboratorio de Producción “Teofrasto Paracelso”, Complejo Agroindustrial Piloto, CENIVAM. Foto: María E. García, abril de 2012.

2.2.3 Pruebas de calidad regidas por la Norma Técnica Colombiana.

2.2.3.1 Norma Técnica Colombiana NTC 709: Jabón líquido

- 1. Objetivo:** Esta norma establece los requisitos que debe cumplir el jabón líquido, para uso personal.
- 2. Condiciones generales:** El jabón líquido en solución no debe presentar turbiedad a 5° C y debe ser fluido a la temperatura ambiente, poseer olor agradable y no ser irritante a la piel normal.
- 3. Procedimiento:** Un grupo de jabones líquido fue puesto en una nevera, a 8°C, durante una semana para hacer la prueba de turbiedad. Al mismo tiempo, otro grupo fue puesto a temperatura ambiente, en un lugar seco y fresco, la misma cantidad de días, con el fin de observar y comparar los cambios presentados en ambos grupos. Finalmente, el jabón fue usado por los integrantes del grupo de investigación CIBIMOL, para descartar cualquier tipo de reacción adversa.

4. Requisitos: Los jabones líquidos deberán cumplir los requisitos indicados en la Tabla 2.

Tabla 2. Requisitos del jabón líquido.

Requisitos	Porcentaje en masa
Jabón anhidro, expresado como potásico, mínimo	15
Materia insoluble en alcohol, máximo	0.1
Álcali libre, expresado como KOH, máximo	0.1

2.2.3.2 Norma Técnica Colombiana NTC 514: Determinación del álcali o ácido libre:

1. Objetivo: Esta norma tiene como objeto establecer el método para determinar el álcali o ácido libre presente en los jabones. Esta norma no se aplica a jabones que contengan bórax.

2. Procedimiento: Se pesaron 2 ± 0.01 g de jabón y se transfirieron a un vaso de precipitados (250 mL). Posteriormente, se agregó alcohol etílico (100 mL) y se cubrió el vaso con un vidrio de reloj. Se sometió el conjunto a calentamiento en un baño de vapor, agitándolo frecuentemente hasta que la mezcla se disolviera completamente. Seguidamente, se realizó una filtración a 60°C con ayuda de succión, a través de un embudo Büchner y papel filtro franja negra, previamente pesado. Se repitió la extracción, decantación y filtración 3 veces, usando en cada operación 150 mL de alcohol etílico. Se recogió todo el filtrado en un Erlenmeyer de 250 mL, se calentó nuevamente en baño de vapor hasta ebullición y se agregaron 0.5 mL de solución de fenolftaleína. Finalmente, se tituló la solución con ácido clorhídrico 0.1 N.

3. Cálculos: El porcentaje de álcali libre o ácido libre en el jabón se calcula por medio de las ecuaciones 1 y 2.

$$A = \frac{V * N * 4}{m}$$

Ecuación 1

Donde:

A = Porcentaje de masa de álcali libre, expresado como hidróxido de sodio.

V = Volumen de la solución de ácido clorhídrico utilizado en la titulación.

N = Normalidad de la solución de ácido clorhídrico.

m = Masa de la muestra, g.

$$B = \frac{V * N * 28.25}{m}$$

Ecuación 2

Donde:

B = Porcentaje en masa de ácido libre, expresado como ácido oleico.

V = Volumen de la solución de hidróxido de sodio utilizado en la titulación.

N = Normalidad de la solución de hidróxido de sodio.

m = Masa de la muestra, g.

2.2.3.3 Norma Técnica Colombiana NTC 563: Determinación de la materia insoluble en alcohol.

1. Objetivo: Esta norma establece los métodos para determinar la materia insoluble en alcohol, presente en los jabones.

2. Procedimiento: Se pesó la muestra de jabón (2 ± 0.01 g), se colocó en un vaso de precipitados (250 mL) y se le agregó alcohol etílico (100 mL). Posteriormente, se cubrió con un vidrio de reloj y se calentó en un baño de vapor agitando completamente hasta que la muestra se disolvió completamente. Seguidamente, se realizó una filtración a 60°C con ayuda de succión, a través de un embudo Büchner y papel franja negra, previamente pesada. Se repitió la extracción, decantación y filtración 3 veces, usando cada vez 50 mL de alcohol etílico. Finalmente, se precipitó la materia insoluble en alcohol, agregando lentamente y con agitación rápida, 50 mL de alcohol 96° G.L, se transfirió el precipitado al filtro y se lavó el vaso de precipitados varias veces con el alcohol caliente. También, se lavó varias veces el residuo dentro del embudo Büchner con alcohol caliente, con el fin de remover cualquier materia soluble. Se secó el residuo en la estufa a $105 \pm 2^{\circ}\text{C}$ durante aproximadamente 2 h se enfrió a temperatura ambiente, para terminar el proceso se pesó.

3. Cálculos: El porcentaje de materia insoluble en alcohol, se calculó aplicando la siguiente ecuación.

$$MI = \frac{R * 100}{P}$$

Ecuación 3

Donde:

MI = Porcentaje en masa de materia insoluble en alcohol.

R = Masa del residuo, g.

P = Masa de la muestra, g.

2.2.3.4 Norma Técnica Colombiana NTC 609: Determinación del jabón anhidro.

1. Objetivo: Esta norma establece los métodos para determinar el jabón anhidro que contienen los jabones.

2. Procedimiento: En un vaso de precipitados (250 mL) se colocó la muestra de jabón líquido (2 ± 0.01 g) y se agregó agua destilada (75 mL). Se calentó la mezcla sin pasar los 60°C , hasta que formó una solución y se pasó inmediatamente a un embudo de separación. Posteriormente, se agregaron unas gotas de anaranjado de metilo junto con ácido clorhídrico hasta reacción ácida; luego, se agregó un exceso de ácido (10 mL). Se dejó en reposo hasta que los ácidos grasos se separaron en una capa clara, y se agregó solución saturada de cloruro de sodio (100 mL), sin invertir o mezclar el contenido del embudo. Inmediatamente, se le adicionó éter etílico (50 mL), dejándose reposar hasta que se observó que los ácidos grasos se disolvieron completamente en el éter. Se transfirió la capa acuosa ácida (capa superior) a un embudo de separación, y se le añadió éter etílico (50 mL), se agitó y se dejó reposar hasta observar cómo se separaron nuevamente las capas. A la capa acuosa ácida, se le hicieron dos extracciones más. Se lavó el extracto étereo en el embudo de separación con porciones de solución al 10% de cloruro de sodio, hasta que los lavados fueron neutros al anaranjado de metilo. Se transfirió el extracto a un Erlenmeyer, previamente tarado, se evaporó en un baño de vapor hasta un volumen aproximado de 50 mL. Para finalizar, se agregaron 1 mL de fenolftaleína y 100 mL de alcohol etílico y se tituló con solución de hidróxido de potasio. Se evaporaron el éter y el alcohol de la titulación en un baño de vapor, se secó el jabón potásico en una estufa a $105 \pm 2^{\circ}\text{C}$, se dejó enfriar a temperatura ambiente y se pesó obteniéndose un resultado.

3. Cálculos:

$$J_P = \frac{P + (T * 0.0161)}{M} * 100 - U$$

Ecuación 4

Donde:

J_P = Porcentaje de jabón anhidro para jabón potásico, g

P = Peso del jabón potásico obtenido en la etapa final, g

T = Volumen en mL de la solución de hidróxido de potasio empleado en la neutralización.

U = Porcentaje de grasa no saponificada y de la materia insaponificable.

M = Peso de la muestra, g.

2.2.4 Caracterización e identificación de los AE.

Las soluciones para análisis cromatográfico se prepararon disolviendo aceite esencial (50 µL) y *n*-tetradecano (patrón interno, 1.0 µL) en un vial, y aforándolo, con diclorometano, hasta completar un volumen final de 1.0 mL. Una vez preparadas las muestras, se procedió a su análisis por cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC-MS), en un equipo *Agilent Technologies* 6890 *Plus* (Palo Alto, CA, EE.UU.) acoplado a un detector selectivo de masas *Agilent Technologies* MSD 5973 *Network*, equipado con puerto de inyección *split/splitless* (250°C, relación *split* 1:30), e inyector automático *Agilent* 7863 (Véase **Figura 12**). La separación de los compuestos se llevó a cabo en una columna capilar, con fase estacionaria (f.e.) apolar de 5%-fenil-poli(metilsiloxano) (DB-5MS, *J & W Scientific*, Folsom, CA, EE.UU.) de 60 m x 0.25 mm, D.I. x 0.25 µm, d_f. Como gas de arrastre en el análisis cromatografico, se utilizó helio (99.995%, gas AP, Linde, Colombia), con una

presión de entrada en la cabeza de la columna de 16.45 psi, y una velocidad volumétrica de flujo constante de 1 mL/min. La temperatura del horno inició en 45°C, permaneciendo constante durante 5 min. Posteriormente, con una velocidad de calentamiento de 4°/min, se alcanzaron los 150°C, manteniéndolos estables durante 2 min. Luego, se calentó hasta llegar a 250°C, a una razón de 5°C/min, para permanecer estable durante 5 min. y, finalmente, se alcanzó una temperatura de 275°C, calentando a razón de 10°C/min, dejándose constante durante otros 15 min. La identificación de los componentes presentes en los aceites esenciales, se realizó por comparación de los índices de retención y patrones de fragmentación de los espectros de masas obtenidos, con los encontrados en la literatura [3] y en bases de datos *QuadLib* 2007 (Adams), *NIST* 2005 y *Wiley* 2002. Los índices de retención lineales se calcularon teniendo en cuenta los tiempos de retención de patrones de hidrocarburos C₁₀–C₂₅, analizados bajo las mismas condiciones operacionales que los aceites esenciales. Para esto, se utilizó la ecuación que aparece a continuación:

$$I_R = 100n + 100 \frac{t_{RX} - t_{Rn}}{t_{RN} - t_{Rn}}$$

Ecuación 5

Donde:

I_R = Índice de retención lineal.

n = Número de átomos de carbono del hidrocarburo lineal que eluye antes del compuesto de interés.

t_{RX} = Tiempo de retención del compuesto de interés, min.

t_{Rn} = Tiempo de retención del hidrocarburo lineal que eluye antes del compuesto de interés, min.

t_{RN} = Tiempo de retención del hidrocarburo lineal que eluye después del compuesto de interés, min.



Figura 12. Cromatógrafo de gases *Agilent Technologies* 6890 Plus (Palo Alto, CA, EE.UU.) acoplado a un detector selectivo de masas *Agilent Technologies* MSD 5973 Network. Centro de Cromatografía y Espectrometría de Masas Mikhail Tswet, CROM-MASS, CENIVAM. Foto: María E. García, julio de 2012.

2.2.5 Implementación y validación del método cromatográfico para la determinación del hexanal como derivado PFPH.

2.2.5.1 Determinación de la concentración de la pentaflúorfenilhidracina (PFPH). Se empleó una solución acuosa de PFPH (500 ppm).

2.2.5.2 Valoración del tipo de fibra y tiempos de equilibrio. Se utilizó la fibra PDMS/DVB, con un tiempo de saturación de la fibra de 10 min. en el espacio de cabeza de una solución acuosa de PFPH (agente derivatizante) a temperatura ambiente. Para la derivatización de los compuestos carbonílicos, productos de la peroxidación lipídica, a sus respectivas hidrazonas, se usó un tiempo de exposición de la fibra de 40 min. Se tuvieron en cuenta los resultados de trabajos de investigación realizados por Stashenko *et.al.* [41], sobre peroxidación lipídica, empleando la misma técnica de extracción en fase sólida, y bajo las mismas condiciones de derivatización.

2.2.5.3 Análisis por GC-ECD del derivado PFPH-hexanal. Se empleó un cromatógrafo de gases *Hewlett-Packard* (Palo Alto, CA, EE.UU.), HP 6890 *Plus* con control electrónico de presión, dotado con microdetector de captura de electrones (μ -ECD, ^{63}Ni) (Véase **Figura 13**), la temperatura del inyector y detector permaneció a 280°C, puerto de inyección *split/splitless* (250°C, relación *split* 1:10) y sistema de datos HP ChemStation HP, Rev. A.06.03, para el análisis de los derivados PFPH. Se utilizó una columna de HP-5, 30m x 0.25mm, D.I. x 0.25 μm , d_f 5%- fenil-poli(dimetilsiloxano). La programación de la temperatura del horno fue, inicialmente, de 100°C, durante 5 min. Posteriormente, a razón de 2°C/min, la temperatura se elevó hasta 250°C, donde permaneció constante durante 2 min. Se utilizó helio (99.995%), como gas de arrastre, con una velocidad de 1 mL/min, y mezcla de argón-metano (9:1), como gas auxiliar.

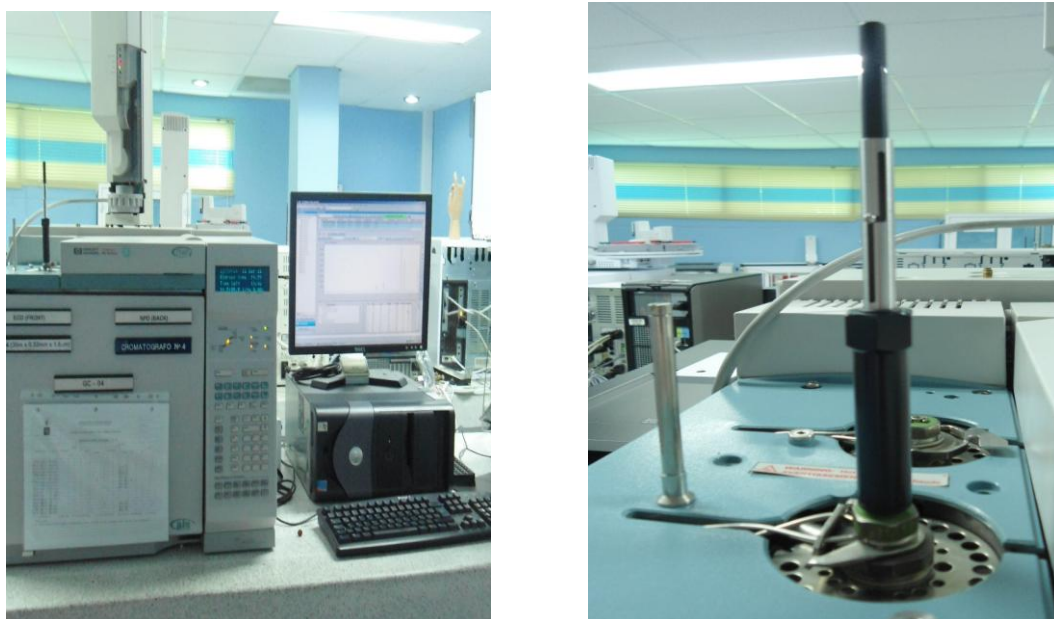


Figura 13. Cromatógrafo de gases *Hewlett-Packard* (Palo Alto, CA, EE.UU.), HP 6890 *Plus*, dotado con microdetector de captura de electrones (GC- μ ECD). Centro de Cromatografía y Espectrometría de Masas, Mikhail Tswet, CROM-MASS, CENIVAM. Foto: María E. García, septiembre de 2012.

2.2.5.4 Preparación de hexanal y determinación de la repetibilidad de los t_R y las áreas cromatográficas. Se preparó una solución “stock” de hexanal en metanol (500 ppm). La fibra de PDMS/DVB (65 μm), se expuso a una solución acuosa de PFPH, (2 mL, 500 ppm), durante 10 min con agitación constante de 1000 rpm; transcurrido este tiempo, la fibra se expuso al espacio de cabeza de la solución patrón de hexanal (2 mL), durante 40 min. con agitación constante de 1000 rpm diluida a diferentes concentraciones (0.2, 0.5, 1.0, 2.0, 5.0 y 10.0 ppm). Los derivados formados sobre la fibra se desorbieron individualmente durante 10 min. en el puerto de inyección del cromatógrafo de gases. De ahí, se obtuvo la pentaflúorfenilhidrazona de hexanal, que genera una alta respuesta en el detector de captura de electrones ($\mu\text{-ECD}$), durante su análisis por cromatografía de gases. Con la derivación se mejoran los niveles de sensibilidad para la determinación del hexanal. Este aldehído, junto con otros compuestos carbonílicos volátiles, se encuentra presente al nivel de trazas en los productos oxidativos.

Con los valores de concentración, tiempos de retención (t_R) y las correspondientes áreas cromatográficas de cada derivado, se procedió a calcular la reproducibilidad y la repetitividad de las áreas cromatográficas y la concentración del patrón del hexanal. Para esto, se escogieron los patrones de 0.2 y 1.0 ppm, para realizar un triplicado, con el fin de terminar el valor promedio ($\bar{X}$), la desviación estándar (S) y el coeficiente de variación (%CV) de las áreas cromatográficas del pico de interés. Para esto, se utilizaron las siguientes ecuaciones:

$$\bar{X} = \sum_{i=1}^n \frac{X_i}{n}$$

Ecuación 6

$$S = \sqrt{\frac{\sum (X_i - \bar{X})^2}{(n - 1)}}$$

Ecuación 7

$$\% CV = \frac{S}{\bar{X}} * 100$$

Ecuación 8

Donde:

$\bar{X}$ = Valor promedio de la variable X (área).

X_i = Valor “iésimo” obtenido para la variable X en una medición.

2.2.6 Peroxidación lipídica en el jabón líquido sometido a la radiación UV.

2.2.6.1 Oxidación del jabón. La degradación oxidativa del jabón líquido, acelerada por la acción de la radiación UV, se midió en tubos cónicos de poli(propileno) que contenían jabón (400 mg), sellados herméticamente con un *septum*, papel parafina y teflón. Esto, con el fin de no permitir la fuga de volátiles generados durante la radiación. Se prepararon cuatro muestras las cuales contenían, respectivamente, jabón sin ningún tipo de esencias, ni antioxidantes sintéticos, jabón, con la mezcla de aceites esenciales a evaluar, jabón, con butilhidroxitolueno (BHT) y jabón, con vitamina E; estas se ubicaron en el portamuestras del reactor (Véase **Figura 14**) y se irradiaron durante 12 h teniendo en cuenta que no les llegara ningún tipo de luz exterior, que estuviera a una temperatura entre 4 y 5°C. Transcurrido el tiempo de irradiación, los tubos cónicos fueron retirados, cubiertos y puestos en una nevera industrial INDUSTRIAL.

2.2.6.2 Pre-equilibrio térmico de la PFPH

En un frasco ámbar de 4.5 mL, con sello de teflón/silicona, se colocaron 2 mL de solución de PFPH (pentaflúorfenilhidracina, 500 ppm), a temperatura ambiente, y agitación magnética (1000 rpm) durante 5 minutos.

2.2.6.3 Derivación y extracción simultánea por HS-SPME de los compuestos carbonílicos sobre la fibra de PDMS/DVB

La fibra de SPME [65 μm – (polidimetilsiloxano)/divinilbenceno, PDMS/DVB] se saturó con agente derivatizante, PFPH (pentaflúorfenilhidracina), exponiéndola a los vapores de esta solución, durante 10 min a temperatura ambiente ($\pm 25^\circ\text{C}$) y agitación magnética (1000 rpm).

La fibra saturada se colocó de inmediato por 40 min. a una temperatura de 40°C , en el espacio de cabeza de un tubo cónico, que contenía la muestra del sistema lipídico sometido a peroxidación.

Finalmente, una vez derivados los compuestos carbonílicos sobre la fibra, se desorbieron térmicamente en el puerto de inyección del GC-ECD en un período de 10 min.

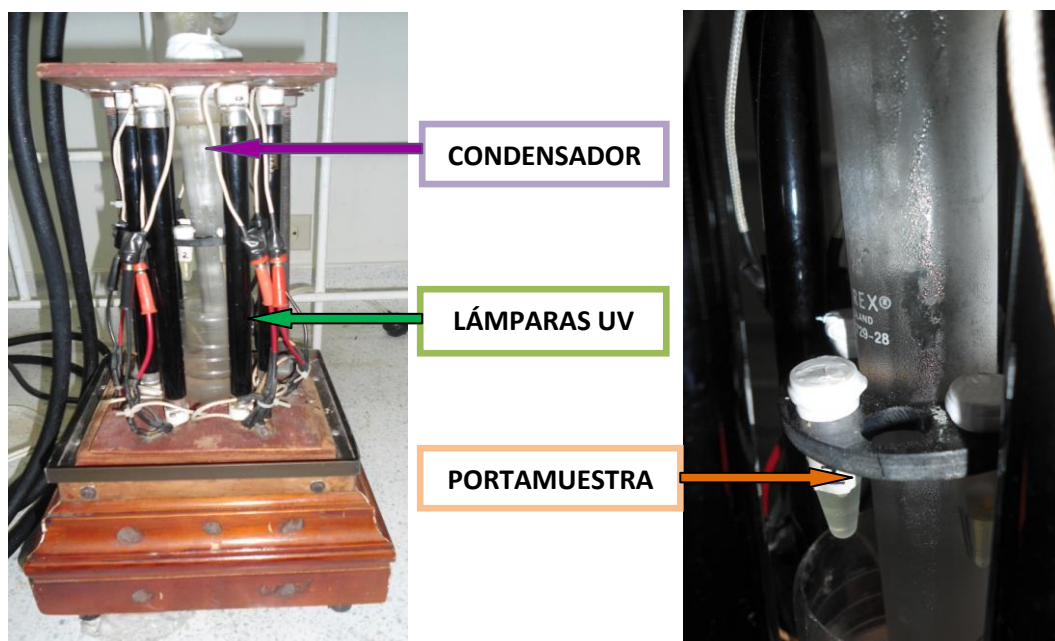


Figura 14. Reactor dotado con lámparas UV, empleado en el estudio de la peroxidación lipídica. Laboratorio de preparación de muestras Marie Sklodowska Curie, Complejo Agroindustrial Piloto, CENIVAM. Foto: María E. García, septiembre de 2012.

2.2.7 Evaluación de la actividad antioxidante *in-vitro* en un jabón líquido de la mezcla de AE de *Pogostemon cablin*, *Rosmarinus officinalis*, *Salvia officinalis* y *Thymus vulgaris*, sistema lipídico modelo, sometido a radiación UV.

En la **Tabla 3**, se listan las muestras evaluadas en el presente estudio; éstas se prepararon agregando jabón líquido (400 mg), que contenía la mezcla de aceites esenciales estudiados para la presente investigación. Paralelo a esto, también se prepararon muestras agregando jabón líquido (400 mg), las cuales contenían butilhidroxitolueno (BHT) y α -tocoferol (vitamina E) por separado, con el fin de establecer una comparación entre estos dos tipos de antioxidantes (naturales y sintéticos). El grado de protección (% GP) de las muestras en el

sistema lipídico, contra su degradación oxidativa, se calculó empleando la **Ecuación 9**, con base en la determinación y cuantificación del hexanal, ya que esta, es una las sustancias que se produce en mayor proporción durante la peroxidación lipídica.

$$\% GP = \left[\left(\frac{A_o - A_x}{A_o} \right) * 100 \right]$$

Ecuación 9

Donde:

$\% GP$ = Grado de protección de las muestras en el sistema lipídico;

A_o = Área del pico cromatográfico del hexanal medida en el sistema lipídico sometido a radiación UV, sin antioxidante;

A_x = Área del pico cromatográfico del hexanal medida en el sistema lipídico sometido a radiación UV, con antioxidante.

Tabla 3. Muestras evaluadas sometidas a radiación UV.

N° MUESTRA	CONVENCIONES DE LAS MUESTRAS	
1	BJ1	Blanco de jabón líquido sin antioxidantes (Réplica 1)
2	BJ2	Blanco de jabón líquido sin antioxidantes (Réplica 2)
3	JAE1	Jabón líquido con mezcla de AE (Réplica 1)
4	JAE2	Jabón líquido con mezcla de AE (Réplica 2)
5	JBHT1	Jabón líquido con BHT (Réplica 1)
6	JBHT2	Jabón líquido con BHT (Réplica 2)
7	JVE1	Jabón líquido con vitamina E (Réplica 1)
8	JVE2	Jabón líquido con vitamina E (Réplica 2)

3. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

3.1 FORMULACIÓN DE JABÓN LÍQUIDO A ESCALAS DE LABORATORIO Y PILOTO.

3.1.1 Escala de laboratorio. En la **Tabla 4**, se muestran las cantidades exactas que se utilizaron en la elaboración de pasta base para jabón líquido. Esto se realizó en cantidades pequeñas (escala de laboratorio) como primera medida para evitar la pérdida de materia prima a la hora de realizarse para la producción. En las **Tablas 5 y 6** se expresan las cantidades usadas para la dilución, neutralización y adición de conservantes. Finalmente, en la **Tabla 7** se registran las cantidades de AE, que fueron utilizadas para dar al producto no solo una agradable fragancia, sino también protección antioxidante, en beneficio de la piel.

Tabla 4. Cantidades exactas para elaboración de pasta base para jabón líquido.

ACEITE DE PALMISTE, g	HIDRÓXIDO DE POTASIO (KOH), g	AGUA, g
100	24.6	82
500	123	410
1000	246	820

Tabla 5. Cantidades exactas para dilución y neutralización de jabón líquido.

DILUCIÓN		NEUTRALIZACIÓN	
Pasta, g	Agua, g	Ácido Cítrico, g	Agua, g
100	196	6.80	27.13
500	978	39.17	135.70
1000	1956	68.15	271.40

Tabla 6. Cantidades exactas de conservantes utilizados.

JABÓN, g	METILPARABENO, g	PROPILPARABENO, g	EDTA, g
100	0.26	0.26	0.12
500	1.31	1.31	0.63
1000	2.63	2.63	1.26

Tabla 7. Cantidades exactas de AE agregados al jabón líquido.

JABÓN	g/ 100 g	g/ 500 g	g/ 1000 g
<i>Pogostemon cablin</i>	0.52	2.63	5.26
<i>Rosmarinus officinalis</i>	0.94	4.73	9.47
<i>Salvia officinalis</i>	0.94	4.73	9.47
<i>Thymus vulgaris</i>	0.63	3.15	6.31
<i>Eucalyptus globulus</i>	1.36	6.84	13.6
<i>Hidrolato de naranja</i>	0.73	3.68	7.36
<i>Hidrolato de ylang – ylang</i>	2.42	12.10	24.21

3.1.2 Escala piloto. Después de realizada la formulación del producto a escala de laboratorio (**Véase Numeral 3.1.1**), se procedió a la elaboración de jabón a escala piloto. En la **Tabla 8**, se muestran las cantidades utilizadas para la elaboración de la pasta base en el jabón líquido. En las **Tablas 9, 10 y 11**, se mencionan las cantidades utilizadas en la dilución, neutralización, la adición de conservantes y AE, de las cuales se obtuvieron 80 unidades por lote.

Tabla 8. Cantidades exactas para elaboración de pasta base.

ACEITE DE PALMISTE, kg	HIDRÓXIDO DE POTASIO (KOH), kg	AGUA, kg
5	1.23	4.1
10	2.46	8.2
15	3.69	12.3

Tabla 9. Cantidades exactas para dilución y neutralización de jabón líquido.

DILUCIÓN		NEUTRALIZACIÓN	
Pasta, kg	Agua, kg	Ácido Cítrico, g	Agua, kg
5	9.78	340.75	1.36
10	19.56	681.52	2.71
15	29.35	1.04	4.16

Tabla 10. Cantidades exactas de conservantes utilizados.

JABÓN, kg	METILPARABENO, g	PROPILPARABENO, g	EDTA, g
5	13.15	13.15	6.31
10	26.31	26.31	12.63
15	39.47	39.47	18.94

Tabla 11. Cantidades exactas de AE agregados al jabón líquido.

JABÓN	g/ 5 kg	g/ 10 kg	g/ 15 kg
<i>Pogostemon cablin</i>	26.31	52.63	78.94
<i>Rosmarinus officinalis</i>	47.36	94.73	142.10
<i>Salvia officinalis</i>	47.36	94.73	142.10
<i>Thymus vulgaris</i>	31. 57	63.15	94.73
<i>Eucalyptus globulus</i>	68.42	136.84	205.26
<i>Hidrolato de naranja</i>	36.84	73.68	110.52
<i>Hidrolato de ylang – ylang</i>	121.0	242.10	363.15

3.2 NORMA TÉCNICA COLOMBIANA (NTC 709) PARA CONTROL DE CALIDAD DEL JABÓN LÍQUIDO.

3.2.1 Pruebas físico-químicas realizadas al jabón líquido. El jabón fue sometido a pruebas fisicoquímicas tales como temperatura, presión, solubilidad, turbidez y pH. Para ello, fue necesario, como primera medida, almacenar el producto por varias semanas, en un cuarto a temperatura ambiente; en este caso, no hubo variación en el color, fluidez, ni aroma. Posteriormente, se colocó el producto en una nevera a 8°C, por el mismo periodo de tiempo, y solo se observó un leve cambio en su coloración (más opaco); en los demás aspectos no hubo ninguna variación al transcurrir los

días. Finalmente, fue necesario someter al producto a temperaturas que alcanzaran los 30°C, para comprobar una vez más que no hubiera ningún tipo de cambio.

El producto no presenta turbidez; sin embargo, no muestra transparencia. Por lo tanto, su color es fuerte, pero opaco. En el momento de la neutralización se utilizó, un indicador de pH, para corroborar su neutralidad. Terminada esta parte, el producto, fue probado en diferentes tipos de piel, para así demostrar que cumplía con las condiciones generales regidas por la norma técnica colombiana NTC 709, ya que no se observó ningún tipo de reacción o contraindicación.

3.2.2 Pruebas de calidad realizadas al jabón líquido. Los cosméticos son productos utilizados tanto para la higiene personal, como para fines meramente estéticos. Por su naturaleza, están en contacto directo con la piel de las personas. La producción de cosméticos debe ser sumamente meticulosa en el aspecto del control de calidad de ingredientes y procesos de fabricación. Si se utiliza algún ingrediente, que no tiene la calidad necesaria, las personas que lo utilicen pueden padecer, entre otras cosas, complicaciones como: Irritación de la piel, imperfecciones, sequedad, deshidratación cutánea. A fin de evitar estas y otras complicaciones, los fabricantes de cosméticos tienen la obligación de mantener una estrecha vigilancia y control de sus procesos productivos y hacer una adecuada elección de las materias primas. El Instituto Nacional de Vigilancia de Medicamentos y Alimentos (INVIMA) ha publicado una serie de normas relacionadas con productos cosméticos, que pueden ser consultadas en el **Numeral 2.2.3.**

En la **Tabla 12**, se mencionan los ensayos realizados al jabón líquido, con el fin de entregar un producto que cumpla con todas normas de calidad establecidas.

Tabla 12. Ensayos realizados dentro de la Norma Técnica Colombiana NTC 709 para obtener la aceptación del producto.

NORMA	% EN MASA PERMITIDA	% MASA OBTENIDA
NTC 514: Determinación del álcali o ácido libre, máximo.	0.1	Esta norma no es aplicable para jabones potásicos, debido a la solubilidad del carbonato de potasio en alcohol etílico.
NTC 563: Determinación de la materia insoluble en alcohol, máximo.	5.0	2.5
NTC 609: Determinación del jabón anhidro, mínimo.	15	27

3.3 CARACTERIZACIÓN POR GC-MS DE LOS ACEITES ESENCIALES A EVALUAR.

La identificación de los aceites esenciales obtenidos mediante arrastre con vapor, en un destilador industrial y por MWHD, se realizó tal como se describe en el **Numeral 2.2.4**.

3.3.1 *Pogostemon cablin*. Para el aceite esencial de patchulí obtenido por MWHD, se lograron identificar, por GC-MS, positivamente 13 compuestos en cantidad relativa > 1%. En la **Figura 15**, se ilustra el perfil cromatográfico típico de los metabolitos secundarios de *Pogostemon cablin*, en la **Tabla 13**, se registran los nombres y la cantidad relativa de los compuestos identificados.

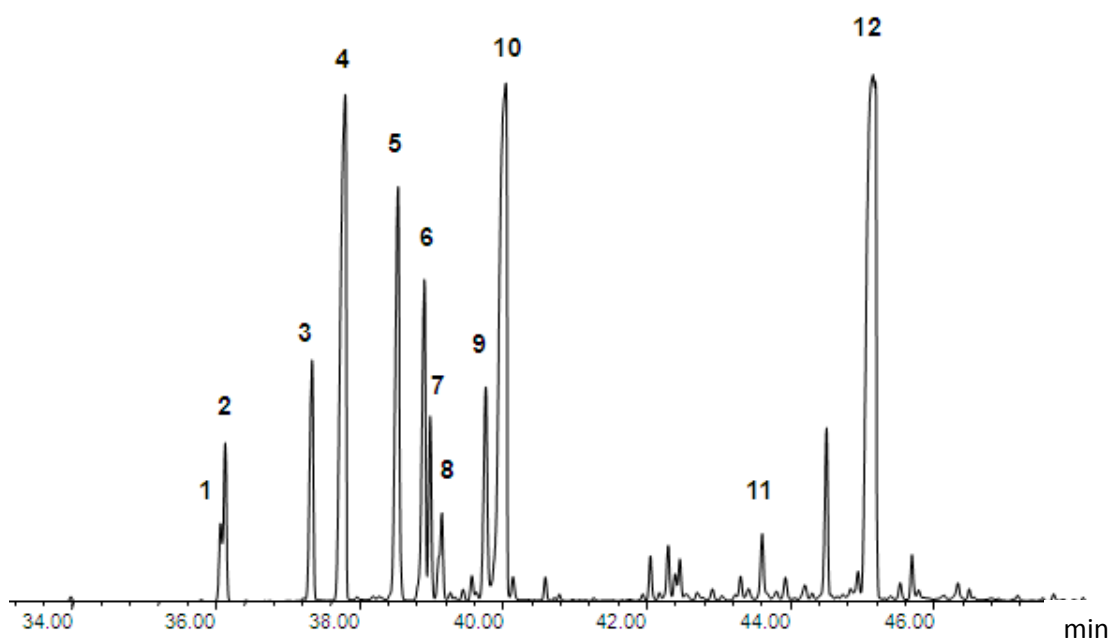


Figura 15. Cromatograma típico, obtenido por GC-MS de los compuestos mayoritarios del AE de *Pogostemon cablin*.

Tabla 13. Composición química del AE de *Pogostemon cablin*, aislado por MWHD.

Nº PICO Fig. 15	COMPUESTO	IR calculado	AREA, %
1	β -Elemeno	1397	1.13
2	β - Patchuleno	1399	2.46
3	<i>cis</i> - Tujopseno	1435	4.45
4	α - Guaieno	1448	14.45
5	Seycheleno	1470	8.92
6	α - Patchuleno	1481	6.10

Tabla 13. Continuación

7	α - Gurjuneno	1483	2.63
8	α - Selineno	1488	1.72
9	Acifileno	1507	4.17
10	α - Bulneseno	1517	19.86
11	α - Aromandreno	1642	1.17
12	No identificado	No identificado	2.65
13	Patchulol	1700	24.63

El AE de patchulí está compuesto, en su mayoría, por sesquiterpenos como el patchuleno (2%), al cual se le atribuyen propiedades antiinflamatorias, α – guaiano (15%), α – bulneseno (20%), también contiene patchulol (aprox. 25%), entre otros. Se les atribuyen propiedades antisépticas, sedantes e insecticidas.

El AE de patchuli obtenido, tiene una persistente fragancia dulce y almizclada. Es utilizado en perfumería, en donde puede actuar como un fijador natural. Es un tónico para la piel y astringente, cuando se le diluye. Es excelente para manos y pies secos, ya que ayuda a la regeneración de nuevas células [46], y es muy utilizado en la elaboración de jabones, ya sea solo o mezclado con otros aceites, como es el caso en esta investigación.

3.3.2 *Rosmarinus officinalis*. En el AE de romero, obtenido por arrastre con vapor en un destilador industrial, se detectaron por GC-MS, 14 componentes, en cantidad relativa >1%. En la **Figura 16** se muestra el perfil cromatográfico típico de los metabolitos secundarios de *Rosmarinus officinalis*, y en la **Tabla**

14, se registran los nombres y la cantidad relativa de los compuestos identificados.

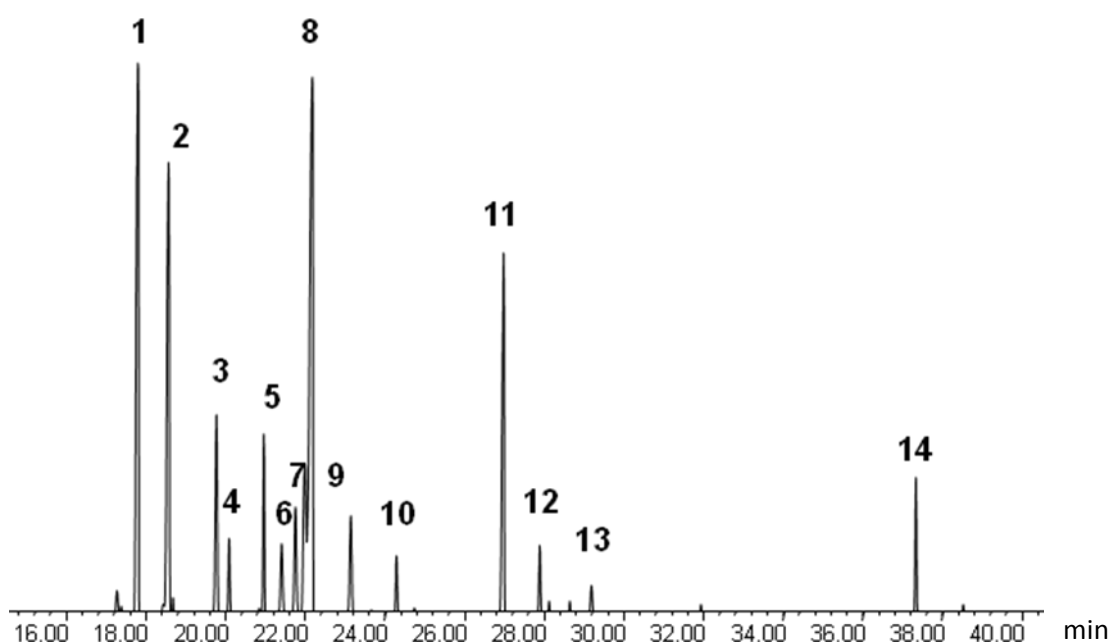


Figura 16. Cromatograma típico, obtenido por GC-MS, de los compuestos mayoritarios del AE de *Rosmarinus officinalis*.

Tabla 14. Composición química del AE de *Rosmarinus officinalis* aislado por arrastre con vapor.

Nº PICO Fig. 16	COMPUESTO	IR calculado	AREA, %
1	α - Pineno	938	21.82
2	Canfeno	955	12.98
3	β - Pineno	982	4.20
4	β - Mirceno	990	1.54
5	α - Felandreno	1010	3.77

Tabla 14. Continuación

6	α - Terpineno	1020	1.52
7	Limoneno	1034	6.26
8	1,8-Cineol	1039	25.36
9	γ - Terpineno	1062	2.00
10	Terpinoleno	1089	1.18
11	Alcanfor	1154	10.52
12	Borneol	1180	1.44
13	Verbenona	1215	0.61
14	<i>trans</i> - β - Cariofileno	1434	3.00
15	α - Humuleno	1466	3.00

Los componentes mayoritarios son α -pineno (22%), 1,8-cineol (25%), canfeno (13%) y alcanfor (11%). A este último, se le atribuyen propiedades antisépticas, anticatarrales, antiespasmódicas y tónicas; también se usa para estimular el sistema hepatobiliar y el drenaje hepático. Igualmente, el aceite contiene borneol (1.4%), que puede tener propiedades antioxidantes (atrapamiento de radicales), por la presencia del grupo hidroxilo [47].

El AE de romero, tiene un intenso aroma alcanforado, fresco, herbal y con tonos de eucalipto. Es muy utilizado en productos cosméticos, por sus excelentes propiedades antioxidantes. Algunos de sus componentes, promueven la formación de nuevas células. También, se le atribuyen propiedades descongestivas, desinflamatorias, cicatrizantes, refrescantes y astringentes.

3.3.3 *Salvia officinalis*. En el AE de salvia, obtenido por arrastre con vapor en un destilador industrial, se detectaron por GC-MS, 28 componentes, de los cuales 11 tienen cantidad relativa >1%. En la **Figura 17**, se muestra el perfil cromatográfico típico de los metabolitos secundarios de *Salvia officinalis*, y en la **Tabla 15**, se registran los nombres y la cantidad relativa de los componentes mayoritarios identificados.

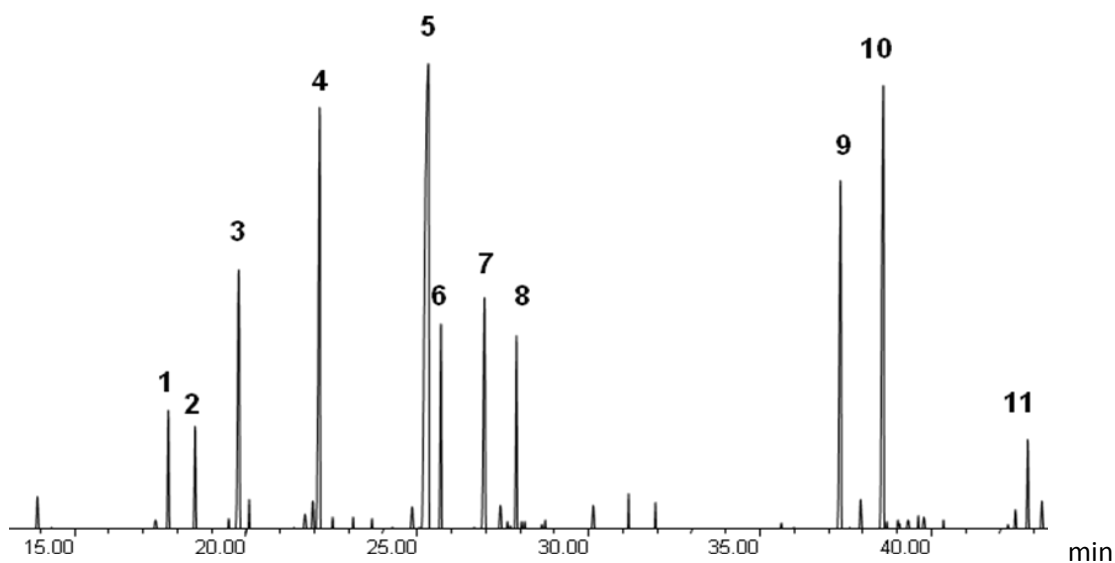


Figura 17. Cromatograma típico, obtenido por GC-MS de los compuestos mayoritarios del AE de *Salvia officinalis*.

Tabla 15. Composición química del AE de *Salvia officinalis*, aislado por arrastre con vapor.

Nº PICO	COMPUESTO	IR calculado	AREA, %
1	α -Pineno	937	2.47
2	Canfeno	954	2.14
3	β -Pineno	983	5.87
4	1,8-Cineol	1038	13.70

Tabla 15. Continuación

5	<i>cis</i> -Tujona	1115	25.66
6	<i>trans</i> -Tujona	1125	4.65
7	Alcanfor	1157	5.63
8	Borneol	1181	4.58
9	<i>Trans</i> - β - Cariofileno	1435	9.42
10	α - Humuleno	1472	14.50
11	Globulol	1611	1.78

El AE de salvia, está compuesto, en su mayoría, por monoterpenos y sesquiterpenos. La *cis*-tujona (25%) fue el compuesto mayoritario, seguido del α - humuleno (15%) y el 1,8-cineol (14%). Además contiene, entre otros, α - pineno (3%), β -pineno (6%), *trans*-tujona (5%), borneol (5%), alcanfor (6%) y *trans*- β -cariofileno (10%).

La composición química de los AE aislados en este trabajo, se diferencia sólo en algunos componentes, a la que reportan Taarit y colaboradores [43], quienes aislaron el AE por hidrodestilación a partir de plantas cultivadas en Túnez, y encontraron como compuestos mayoritarios viridiflorol ($17 \pm 0.1\%$) y tujona ($11.13 \pm 0.04\%$); Sin embargo, los demás componentes mencionados poseen una cantidad relativa similar, variando únicamente $\pm 0.1\%$.

El AE de salvia obtenido se caracterizó por su color amarillo claro y su aroma fresco, muy similar al alcanfor, puesto que es uno de los componentes que le aportan su singular fragancia. La característica más notable de esta planta, es la inhibición de la transpiración, aunque también se le atribuyen propiedades antisépticas, antibacteriales, estimulantes, cicatrizantes, antioxidantes, digestivas y antiespasmódicas [15].

3.3.4 *Thymus vulgaris*. En el AE de tomillo, obtenido por arrastre con vapor en un destilador industrial, se detectaron por GC-MS, 20 compuestos, de los cuales 17 poseen una cantidad relativa >1%. En la **Figura 18**, se muestra el perfil cromatográfico típico de los metabolitos secundarios de *Thymus vulgaris*, y en la **Tabla 16**, se registran los nombres y la cantidad relativa de los componentes mayoritarios.

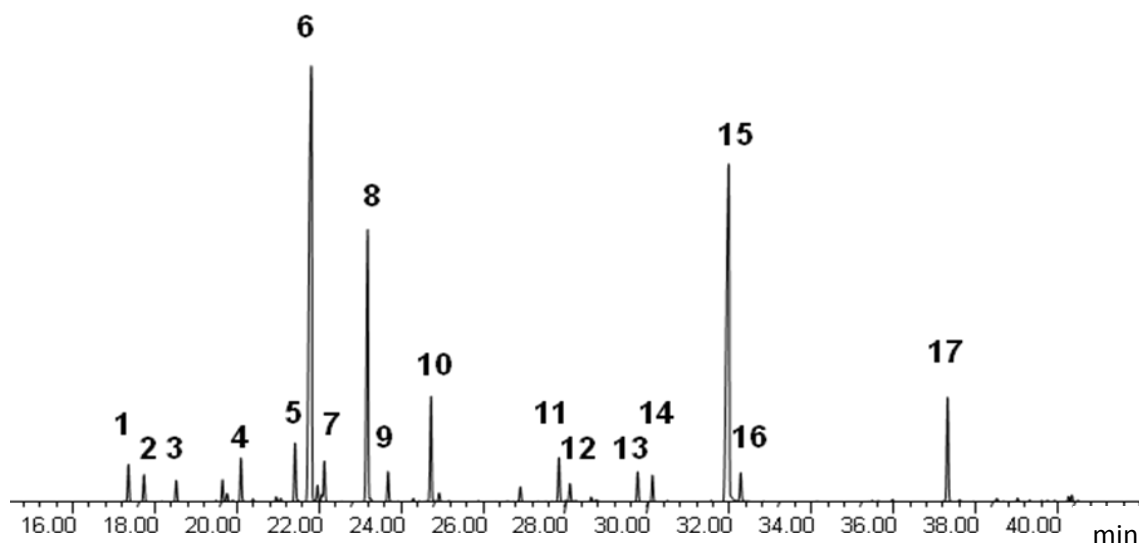


Figura 18. Cromatograma típico, obtenido por GC-MS de los compuestos mayoritarios del AE de *Thymus vulgaris*.

Tabla 16. Composición química del AE de *Thymus vulgaris* aislado por arrastre con vapor.

N° PICO Fig.18	COMPUESTO	IR calculado	AREA, %
1	α - Tujeno	928	1.52
2	α - Pineno	937	1.14
3	Canfeno	954	1.00

Tabla 16. Continuación

4	β -Mirceno	989	1.73
5	α - Terpineno	1020	2.61
6	p - Cimeno	1030	32.79
7	1,8 - Cineol	1037	1.59
8	γ - Terpineno	1062	13.51
9	Cis-Hidrato de sabineno	1074	1.23
10	Linalol	1100	4.40
12	Borneol	1180	1.93
13	Metil timil éter	1231	1.26
14	Metil carvacril éter	1241	1.09
15	Timol	1291	25.57
16	Carvacrol	1299	1.22
17	<i>trans</i> - β - Cariofileno	1434	4.61

El AE de tomillo fue rico en hidrocarburos monoterpénicos, tales como p – cimeno (33%), el cual fue el componente mayoritario, y α -terpineno (3%); posee monoterpenos oxigenados, tales como timol (26%), linalool (5%) y carvacrol (2%), siendo éstos unos potentes antioxidantes (atrapamiento de radicales), debido a la presencia del grupo hidroxilo [34]. Finalmente, está compuesto también por un hidrocarburo sesquiterpenico, el *trans*- β - cariofileno (5%).

Los resultados alcanzados muestran que la especie cultivada en Colombia, presenta alto contenido de timol, segundo componente mayoritario, con grandes propiedades antisépticas. En la literatura se encuentran, publicaciones sobre la composición química del AE de tomillo, que varía en función de las condiciones de cultivo, la época de cosecha y la edad de las plantas [18].

El AE de tomillo también es bactericida, antiespasmódico, diurético, antifúngico, e insecticida. Posee un aroma profundo, picante y herbáceo, considerándose así, una de las plantas aromáticas más potentes.

3.4 MEDICIÓN DEL GRADO DE PROTECCIÓN FRENTE A LA PEROXIDACIÓN LIPÍDICA.

3.4.1 Formación de la pentafluorfenilhidrazona (PFPH).

Para la preparación de las disoluciones del agente derivatizante pentafluorfenilhidracina (PFPH), se empleó el agua como solvente, siguiendo la metodología de trabajos realizados en el Laboratorio de Cromatografía de la Universidad Industrial de Santander [16]. A pesar que en estas investigaciones se mencionan también el metanol y el hexano, se eligió preparar una solución acuosa de 2 mL de PFPH de 500 ppm, ya que al exponer la fibra de PDMS/DVB al espacio de cabeza del vial, que contenía esta disolución, con agitación constante de 1000 rpm durante 10 min, y desorber en el puerto de inyección del sistema GC-ECD, el agua permite el paso de un mayor número de moléculas de PFPH a la fase vapor, facilitando su mayor adsorción sobre la fibra, en comparación de los otros dos solventes mencionados. Esto se evidenció en el área relativa obtenida para el derivado hidrazónico [16].

3.4.2 Calibración externa para la cuantificación del derivado de hexanal con la PFPH.

Para determinar la linealidad de la respuesta del μ -ECD, se trabajó con distintas concentraciones: 0.2, 0.5, 1.0, 5.0 y 10.0 ppm. Los valores que indican la linealidad de la respuesta del detector van desde 0.05 a 100 ppm. En la **Figura 19**, se muestran la curva de calibración y el rango lineal de respuesta del detector. A la concentración más baja, 0.2 ppm, y a la concentración del medio, 1.0 ppm, se le realizó duplicado, mientras que a las otras concentraciones, se les determinó un único valor.

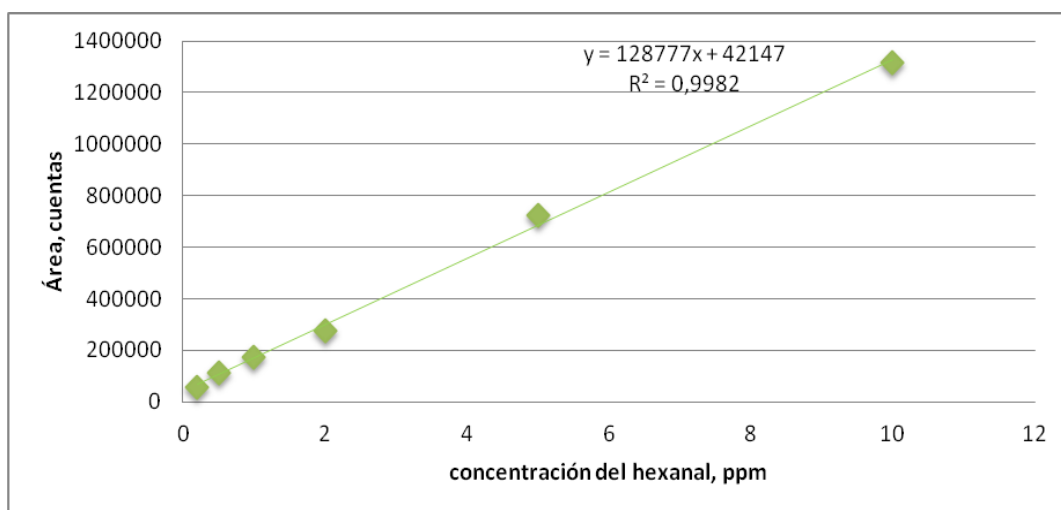


Figura 19. Curva de calibración del hexanal.

3.4.3 Análisis cualitativo y cuantitativo del derivado hidrazónico por GC- μ ECD.

La cuantificación del hexanal se basó en la determinación de las áreas cromatográficas generadas por su derivado PFPH, resultado de la descomposición producida por la peroxidación térmica, inducida durante 12 h en la matriz del jabón, y sometido al agente derivatizante (PFPH), con posterior extracción SPME. Esto se puede observar en la **Figura 20**.

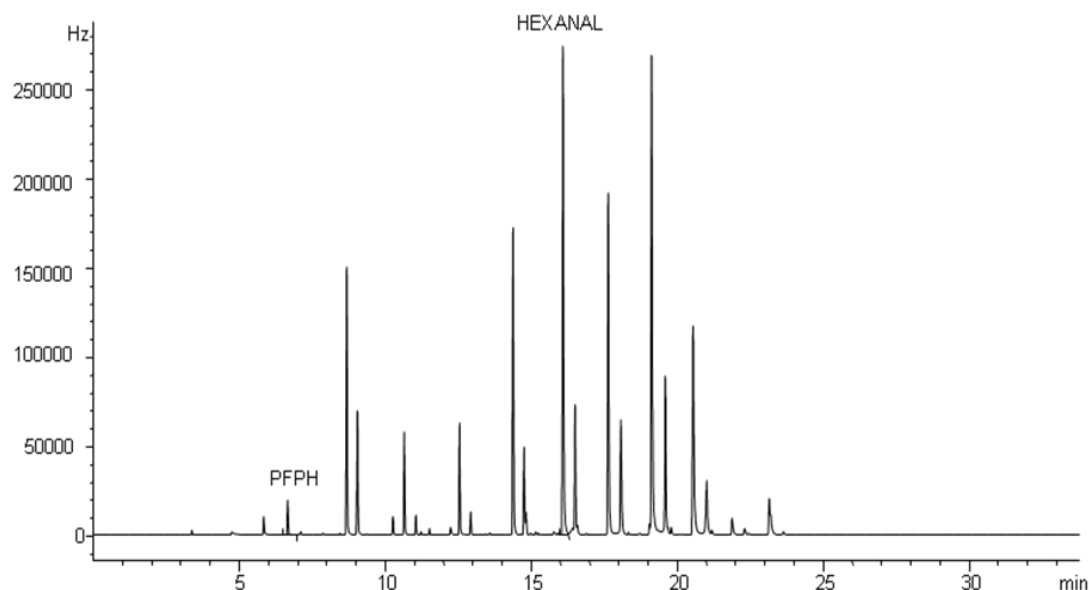


Figura 20. Perfil cromatográfico obtenido por GC-ECD, de los productos secundarios generados en el sistema lipídico (base de jabón) sometido a la radiación UV, sin antioxidante.

La presencia del ácido linoléico en la matriz del jabón líquido (BJ), se puede relacionar con la elevada concentración del hexanal generado durante el proceso de peroxidación lipídica, ya que el hexanal es el compuesto carbonílico volátil que se generó, en mayor proporción, durante la degradación oxidativa de este ácido.

Al someter el jabón líquido de AE a la radiación UV, se observó cómo el producto presentó un mayor efecto protector, actuando como secuestrador de los radicales libres y generando especies estables que inhibieron la consecuente degradación de la matriz del jabón.

En la **Figura 21**, se presenta el perfil cromatográfico de la mezcla de aceites esenciales, donde se aprecia el grado de protección de estos como antioxidantes naturales, JAE (50 %), superando al antioxidante de referencia α -

tocoferol (vitamina E), JVE (31 %) y, a su vez, igualando al antioxidante de referencia butilhidroxitolueno, BHT (46 %).

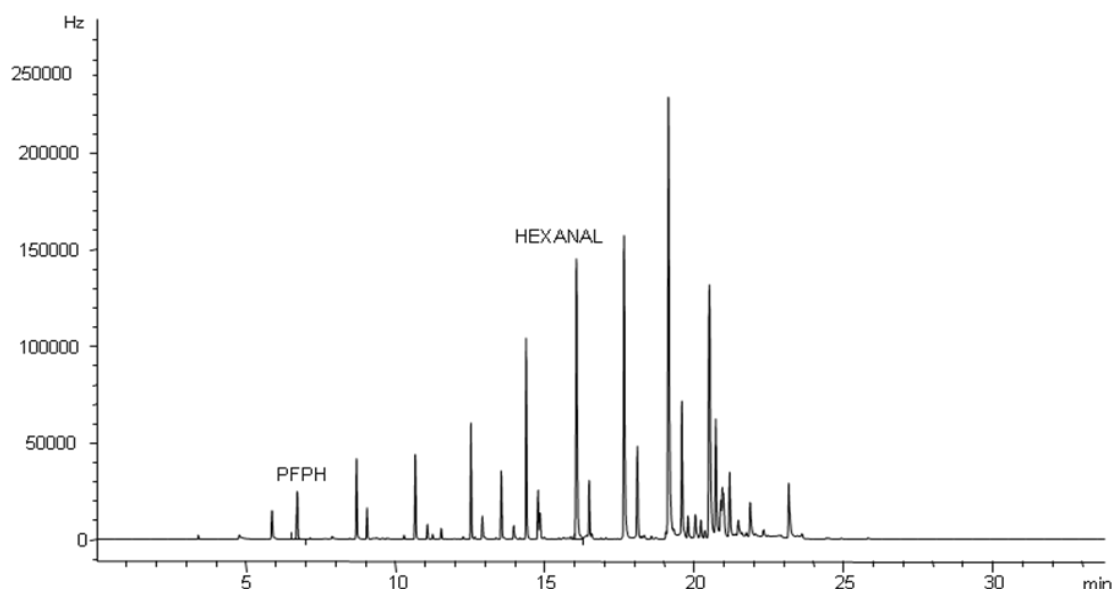


Figura 21. Perfil cromatográfico obtenido por GC-ECD, de los productos secundarios generados en el sistema lipídico (base de jabón) sometido a la radiación UV, en presencia de mezcla de AE.

En las **Figuras 22 y 23**, se presenta el perfil cromatográfico del jabón líquido con los antioxidantes de referencia mencionados anteriormente, los cuales evidencian la similitud en el grado de protección del jabón líquido con aditivos de aceites esenciales y el jabón líquido con antioxidante de referencia BHT. La vitamina E mostró el menor grado de protección, debido posiblemente a que no se homogeneizó completamente en la matriz del jabón, lo cual pudo no brindar la suficiente protección.

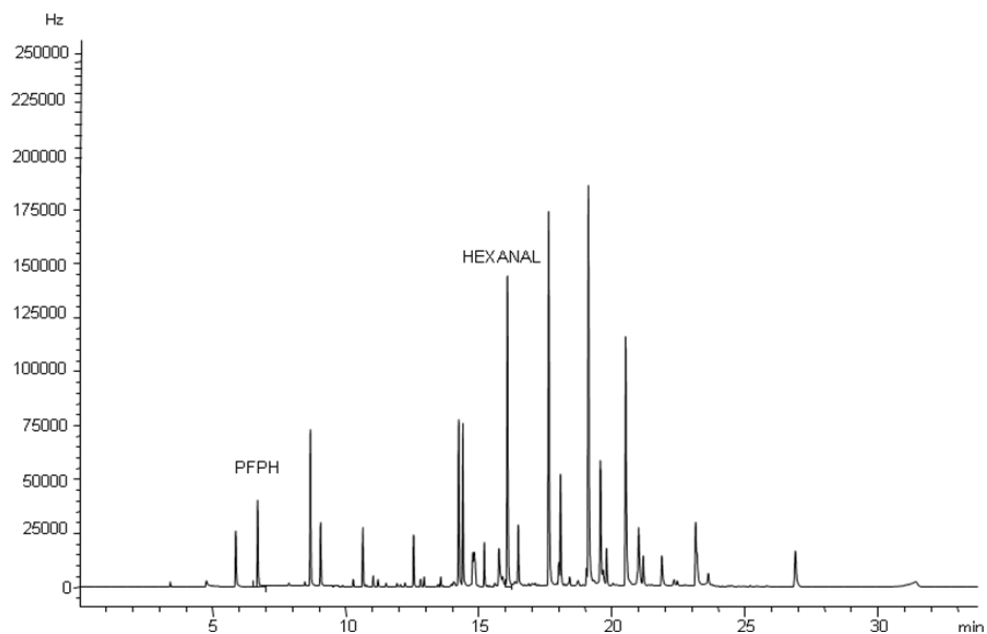


Figura 22. Perfil cromatográfico obtenido por GC-ECD, de los productos secundarios generados en el sistema lipídico (base de jabón) sometido a la radiación UV, en presencia de BHT.

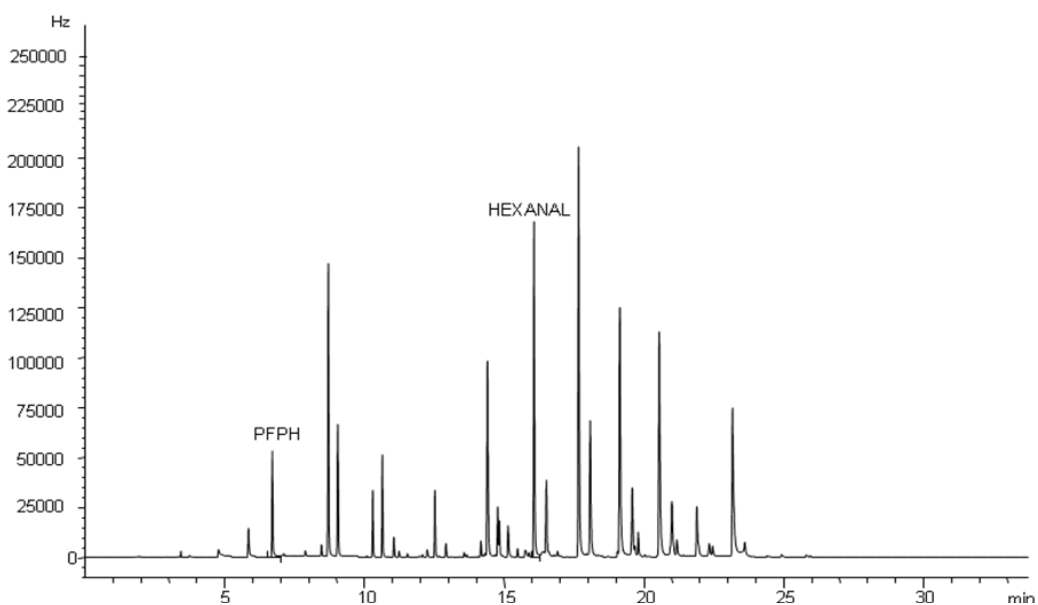


Figura 23. Perfil cromatográfico obtenido por GC-ECD, de los productos secundarios generados en el sistema lipídico (base de jabón) sometido a la radiación UV, en presencia de vitamina E.

Tabla 17. Áreas cromatográficas, desviación estándar (S), coeficiente de variación (%CV) y grado de protección (%GP) de los derivados hidrazónicos de la mezcla de AE, BHT y vitamina E en jabón líquido después de someterlo a peroxidación, y empleando μ -ECD como sistema de detección.

Muestra		Área, cuentas 1	Área, cuentas 2	$\bar{x}$	S	%CV	%GP
Blanco	BJ	816368.9	662704.8	739545.8	108656.92	14.69	0
Aceites esenciales	JAE	381189.3	353233.0	367211.1	19768.089	5.38	50
Referencia	JBHT	401921.3	399928.6	400924.9	73967.046	21.16	46
	JVE	531504.3	487371.8	509438.1	31206.39	6.13	31

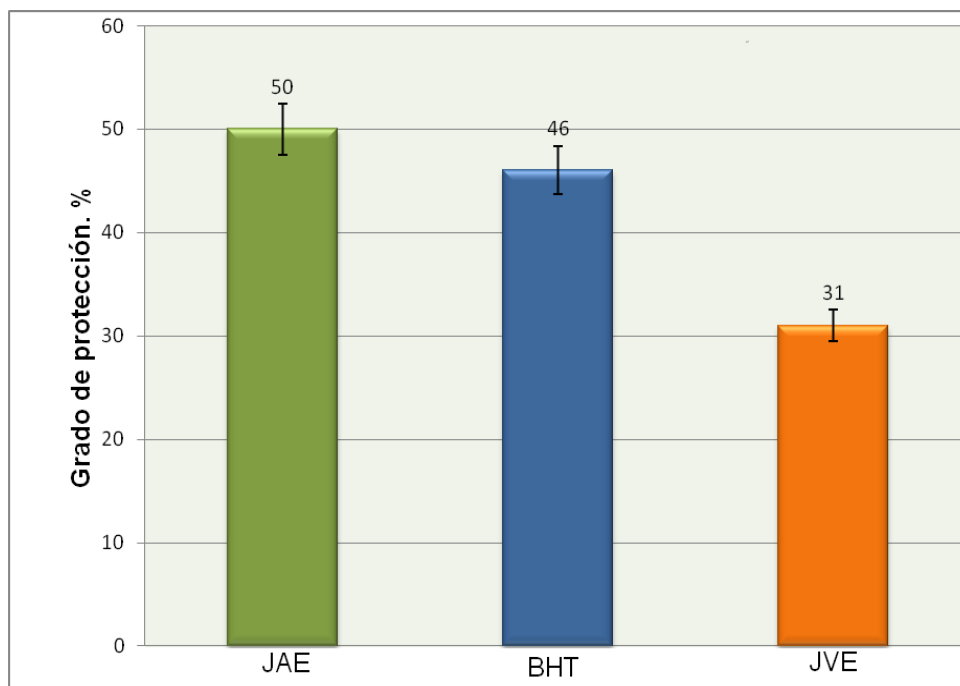


Figura 24. Grado de protección de la mezcla de los AE bajo estudio, BHT y vitamina E en el jabón líquido.

La actividad antioxidante de la mezcla de AE, se comparó con la de los antioxidantes de referencia, vitamina E y butilhidroxitolueno (BHT). En el modelo del sistema lipídico (base del jabón líquido), se determinó que el grado de protección o capacidad antioxidante de la mezcla de AE de patchulí, romero, salvia y tomillo (50 %) superó el grado de protección de los antioxidantes de referencia BHT (46 %) y vitamina E (31 %).

4. CONCLUSIONES

- Empleando como aditivos una mezcla de AE de *Pogostemon cablin*, *Rosmarinus officinalis*, *Salvia officinalis* y *Thymus vulgaris* que poseen alta actividad biológica, se formuló un jabón líquido con características naturales, partiendo de aceite de palmiste y potasa cáustica, en relación 2:1, preparado en un reactor industrial, diseñado exclusivamente para este proceso.
- Se establecieron condiciones fisicoquímicas, tales como solubilidad, turbidez y pH neutro, que permitieron obtener un jabón líquido que cumple con los estándares de calidad y normatividad exigidos por el INVIMA (Norma Técnica Colombiana NTC 709).
- La mezcla de los aceites esenciales (romero, salvia, tomillo y patchoulí) y el antioxidante de referencia BHT, mostraron una capacidad antioxidante similar, entre ellos: la mezcla, con un grado de protección de 50%, y el BHT, con un grado de protección de 46%. Por otro lado, el antioxidante de referencia α -tocoferol (vitamina E) ejerció el menor grado de protección al producto (31%).
- Mediante la cuantificación del hexanal se midió el efecto protector contra la oxidación lipídica en un jabón líquido que contiene la mezcla de cuatro AE de las especies *Pogostemon cablin*, *Rosmarinus officinalis*, *Salvia officinalis* y *Thymus vulgaris*; se encontró que esta mezcla, podría ser la indicada para reducir o reemplazar a los antioxidantes sintéticos convencionales, tales como el BHT.

5. RECOMENDACIONES

- Formular diferentes tipos de productos naturales de uso personal que contengan la mezcla de AE de *Pogostemon cablin*, *Rosmarinus officinalis*, *Salvia officinalis* y *Thymus vulgaris*, para seguir buscando alternativas naturales al uso de los antioxidantes sintéticos.
- Implementar este mismo método de peroxidación lipídica, pero utilizando como aditivos otros aceites esenciales.
- Evaluar el grado de protección del producto directamente en la piel, dado que en la investigación solo se reportan resultados favorables en cuanto a la inhibición de la peroxidación lipídica y la preservación del producto mismo.

BIBLIOGRAFÍA

- [1] AarhusUnited. El aceite de de palma y sus aplicaciones. (En línea). <http://www.tierra.org/spip/IMG/pdf/Aceite_de_Palma.pdf> [Consultado 14 de junio de 2012].
- [2] ABUD, Lead. Todo sobre jabones. Editorial Albatros. Buenos Aires Argentina. 2004. p.p 4, 5.
- [3] Adams, RP. Identification of Essential Oils Components by Gas Chromatography / Quadrupole Mass Spectroscopy. Allured Publ. Corp., Carol Stream, IL. 2007.
- [4] BANDONI, A. Los recursos vegetales aromáticos en Latinoamérica, su aprovechamiento industrial para la producción de aromas y sabores, Ed. primera, La Plata, Argentina, 2000. p.p 29-43, 94-96, 149-171, 197-232.
- [5] BARATTA, T.M., DORMAN, H.J., DEANS, S., FIGUEIREDO, C. BARROSO, J., and RUBERTO, G. Antimicrobial and antioxidant properties of some comercial essential oils. *Flavour Fragr. J.*, (1998), 13: 235-244.
- [6] Berner, D.L. y Jacobson, G.A.- "Spice antioxidant principle by extraction". Patente US.8. n° 3.732.111 (1973).
- [7] Burton GW, Ingold KU. Vitamin E: Application of the principles of physical organic chemistry to the exploration of its structure and function. *Acc. Chem. Res.*1986. **19**,194–201.
- [8] CASTELLANOS, Gissel y ALCALA, Daniel. Antioxidantes en dermatología. *Dermatología Cosmética, Médica y Quirúrgica*. Volumen 8. N° 4. Octubre – Diciembre 2010.

[9] CAVICH, Susan Miller. Guía práctica para hacer jabón. Barcelona: Editorial Paidotribo, 2001. p.p 9 -12.

[10] Chang, 8.8. , Ostric-Matijasevic, B., Hsieh, O.A.L. y Huang, C.L. "Production of natural antioxidant from Rosemary and Sage". Patente U.S. n°3.950.266. 1976.

[11] CONTRERAS, N. MARTÍNEZ, J.R, STASHENKO, E. Determinación de la actividad antioxidante *in vitro* de los aceites volátiles de cuatro plantas de uso tradicional mediante la medición de la peroxidación lipídica de aceite. *Scientia et Técnica*, 2006. p.p 415-419.

[12] COROMINAS J. La química de la cosmética. Aula de innovación, N° 69. 1998. 24-26.

[13] DAPKEVICIUS, A. Antioxidant activity of extracts obtained by different isolation. p.p 140-146.

[14] DÍAZ M, José Andrés. Análisis del mercado internacional de aceites esenciales y aceites vegetales. Minambiente – Instituto Alexander von Humboldt – Biocomercio sostenible. Bogotá. 2002.

[15] FARHAT, M., JORDAN, M., CHAOUECH – HAMADA, R., LANDOULSI, A., and SOTOMAYOR, J. Variations in essential oil, phenolic components, and antioxidant activity of Tunisian cultivated *Salvia officinalis* L. *Agric. Food Chem.*, 2009. p.p 10349 – 10356.

- [16] FERREIRA, M. Desarrollo y validación de un método para el análisis cuantitativo de compuestos carbonílicos, productos finales de degradación oxidativa de lípidos. Tesis de maestría. Facultad de Ciencias. Universidad Industrial de Santander. 1997.
- [17] Gerald F., Combs, Jr. The Vitamins: Fundamental Aspects in Nutrition and Health. Department of Nutritional Sciences. University of California. Academic Press Inc, San Diego (California). 1992. p. 528.
- [18] GUILLÉN MD, MANZANOS MJ. Study of the composition of the different parts of a Spanish *Thymus vulgaris* L plant. *Food Chem.*1998. p.p 373-83.
- [19] Gutteridge, J. & Halliwell, B. *Reactive oxygen species in biological systems*, New York, USA: D.L. Gilbert and C.A. Colton (Eds). 1999. pp. 189-218.
- [20] Halliwell, B. "How to characterize a biological antioxidant", in *Free Radical Research Communication*. p.p 1-32. 1990.
- [21] Inatani, R., Nakatani, N., Fuwa, H. y Seto, H. "Constituents of spice of the family Labiatae. I. Structure of a new antioxidative phenolic diterpene isolated from rosemary". 1982. p.p 1661-1666.
- [22] Kamal-Eldin A, Appelqvist LA. The chemistry and antioxidant properties of tocopherols and tocotrienols. *Lipids*.1996. p.p 671-701.
- [23] Kinsella, J.E.; Frankel, E.; German, B. & Kanner, J. "Possible mechanism for the protective role of antioxidants in wine and plants foods", in *Food Technology*, 1993. p.p 85-89.

- [24] KURECHI, T; KATO, T. Studies on Antioxidants: XI. Oxidation products of concomitantly used Butylated Hydroxyanisole and Butylated Hidroxytoluene, *J.Am. Oil Chem. Soc.* [JAOCS], 1980. p.p 220 – 223.
- [25] LANZA, J., MORENO, S., ORTIZ, S., FUENTES, J. Caracterización por cromatografía de gases y evaluación de la actividad citotóxica de *Salvia occidentalis* (Lamiaceae) provenientes del estado Monagas, Venezuela. 2011. Volumen 5. N°3. p.p 143-151.
- [26] LAVABRE, Marcel. Libro práctico AROMATERAPIA. Innver Traditions Lasser Press. Primera edición. México 1995. p. 62.
- [27] LEÓN, Jorge. Botánica de los cultivos tropicales. Segunda edición revisada y aumentada IICA. 1987. p. 161.
- [28] MAESTRO, R., BORJA, R. Actividad antioxidante de los compuestos fenólicos. Consejo Superior de Investigaciones Científicas. Instituto de la grasa y sus derivados (C.S.I.C). Sevilla – España. Volumen 44, 1993. p 101.
- [29] MARTINEZ, María Laura. El libro de jabones. Editorial Albatros. Buenos Aires 2004. p.p 4,5.
- [30] McDANIEL, Robert. Jabones esenciales. Ed. Paidotribo. 2002. p 9.
- [31] NOGALA-KALUCKA, M., KORCZAK, J., DRATWIA, M., LAMPART-SZCZAPA, E., SIGER, A., and BUXHOWSKI, M., Changes in antioxidant activity and free radical scavenging potential of Rosemary extract and tocoferons in isolated rapeseed oil triacylglycerols during accelerated test. *Food Chem.* 2005. p.p 227-235.

[32] PACKER, L. OBERMÜLLER-JEVIC, U. Vitamin E: An introduction, en Packer L, Traber M, Kraemer K, Freib. (Ed.) The Antioxidant vitamins C and E. 2002. 133-151. AOCS Press, California.

[33] «Pogostemon cablin». Royal Botanic Gardens, Kew: World Checklist of Selected Plant Families. (En línea). <<http://www.essentialoils.co.za/essential-oils/patchouli.htm>> [Consultado el 23 de marzo de 2012].

[34] REDDY, M., ANGERS, P., GOSSELIN, A., and ARUL, J. Characterization and use of essential oil from *Thymus vulgaris* against *Botrytis cinerea* and *Rhizopus stolonifer* in strawberry fruits. *Phytochemistry*, 1998. p.p 1515 – 1520.

[35] ROATTA, C. Nuevo antioxidante de romero para conservar cosméticos, alimentos y bebidas. NOTICyT No. 9. Domingo, 30 julio 2006. Disponible en internet: <http://www.universia.net.co> - Universia Colombia.

[36] SALGAR, W. Evaluación en dos sistemas lipídicos modelo, la actividad *in vitro* de aceites esenciales de plantas pertenecientes a la familia *Labiatae*. Tesis de Maestría. Facultad de ciencias. Universidad Industrial de Santander. 2001.

[37] SAYAGO, A; MARÍN, M. Vitamina E y aceites vegetales. Universidad de Sevilla. Departamento de Química Analítica. Facultad de Farmacia. Enero – Marzo de 2007. p. 74, 77.

[38] SIATIS NG, KIMBARIS AC, PAPPAS CS, TARANTILIS PA, DAFERERA DJ, POLISSIOU MG. Rapid Method for Simultaneous Quantitative Determination of Four Major Essential Oil Components from Oregano (*Oreganum* sp.) and Thyme (*Thymus* sp.) Using FT-Raman Spectroscopy. *J Agric. Food. Chem.* 2005. p.p. 202-206.

[39] STANLEY J. Vitamin E supplements and vascular disease. *Lipid Tech.* 2005. 17, p.p.15-21.

[40] STASHENKO, E. Estudio prospectivo de aceites esenciales Colombianos de interés industrial. Conferencia, segundo seminario internacional de plantas medicinales y aromáticas y foro sobre mercado. Palmira. Universidad Nacional de Colombia. Septiembre.16 y 17 de 2006.

[41] STASHENKO, E.; PUERTAS, MA.; SALGAR W.; DELGADO, W.; MARTÍNEZ, J.R. Solid – phase microextraction with on–fibre derivatisation applied to the analysis of volatile carbonyl compounds. *J. Chromatographic. A.* 2000. p.p 175 – 181.

[42] SUMAYA, María Teresa. Innovación de productos de alto valor agregado a partir de la tuna mexicana. Quinta edición. Volumen 27. Julio – Diciembre, 2010. 437 – 438.

[43] TAARIT, M., MSAADA, K., HOSNI, K., HAMMAMI, M., KCHOUK, M., and MARZOUK, B. Plant growth essential oil yield and composition of sage (*Salvia officinalis* L.) fruits cultivated under salt stress conditions. *Ind. crop.* 2009. p.p 333-337.

[44] TAFURT, G. Evaluación de la actividad antioxidante de aceites esenciales en emulsiones degradadas por radiación ultravioleta. Tesis de Maestría. Facultad de Ciencias. Universidad Industrial de Santander. 2003.

[45] VALENZUELA, A and NIETO, S. Synthetic and natural antioxidants: food quality protectors. Unidad de bioquímica farmacológica y lípidos. Instituto de nutrición y tecnología de alimentos. CSIC. Universidad de Chile. 1996.

- [46] W. Henderon, James W. Hart, P. How, J. Judge. Chemical and morphological studies on sites of sesquiterpene accumulation in *Pogostemon cablin* (Patchulí). *Phytochemistry*. 1970. p.p 1219 – 1228.
- [47] WANG, W., WU, N.,ZU, Y.,FU, Y. Antioxidative activity of *Rosmarinus officinalis* L. essential oil compared to its main components. *Food Chem*. 2008. p.p 1019 – 1022.
- [48] Wu, J.W., Lee, M.H., Ho, C.T. y Chang, S.S. Elucidation of the chemical structures of natural antioxidants isolated from rosmmary. *JAOCoS*.1982. p.p 339-345.
- [49] WULF,D. Free radicals in the physiological control of cell function. *physiol Rev*, 2002. p.p 47 - 95.
- [50] YOUNGSON, Robert. Antioxidantes y radicales libres. Editorial EDAF, S.A. Madrid. 2003. p.p 15-30, 51-74.